

**БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ РАЗРАБОТКИ
И ПРОИЗВОДСТВА ПРОТИВОБАКТЕРИАЛЬНЫХ,
ПРОТИВОВИРУСНЫХ И ДРУГИХ БИОПРЕПАРАТОВ**

УДК 619:615.371

Н. А. Ковалев, Д. В. Бучукури, М. М. Усеня, П. А. Красочко

**ПОЛИВАЛЕНТНЫЕ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ
ВИРУСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПЛОТОЯДНЫХ ЖИВОТНЫХ,
РАЗРАБОТАННЫЕ В БЕЛАРУСИ**

*РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского»,
г. Минск, Беларусь*

Введение

Из вирусных заболеваний плотоядных животных в Беларуси наиболее распространены бешенство, чума, парвовирусный энтерит и инфекционный гепатит. Ими болеют собаки и пушные звери – лисицы песцы, норки, хорьки и др. Данные заболевания представляют угрозу, а временами наносят и значительный экономический ущерб собаководству и пушному звероводству. Кроме того, бешенство представляет смертельную опасность для человека.

Основным методом профилактики вышеуказанных заболеваний является вакцинация. В настоящее время против них разработан ряд моно- и поливалентных вакцин. Однако они в Беларуси не производятся, а закупаются за рубежом, что требует значительных затрат валюты. Поэтому в РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского» были проведены исследования по разработке и освоению производства указанных вакцин на территории Республики Беларусь.

Поскольку плотоядные животные одинаково высоко восприимчивы к бешенству, чуме, парвовирусному энтериту и инфекционному гепатиту, они нуждаются в биологической защите с использованием ассоциированных вакцин. В связи с этим наряду с разработкой моновакцин, основное внимание было уделено разработке поливалентных вакцин против этих заболеваний, применение которых позволяет облегчить техническую организацию и снизить затраты на проведение профилактических мероприятий.

В процессе научных исследований сотрудниками РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского» был разработан ряд

поливалентных вакцин против вирусных инфекций плотоядных: вакцина жидкая культуральная инактивированная сорбированная против бешенства и парвовирусного энтерита собак «Парвораб», вакцина инактивированная против бешенства, чумы и парвовирусного энтерита плотоядных животных «Тривак», вакцина инактивированная против бешенства, чумы, парвовирусного энтерита и инфекционного гепатита плотоядных животных «Поливак» [1, 4, 5].

Основным технологическим этапом при разработке и изготовлении вакцин является наработка вирусных монокомпонентов, которая включает накопление вирусов на культуре клеток, их инактивацию и конструирование вакцины.

Накопление вирусов на культуре клеток

Вирус бешенства репродуцируют реакторным или роллерным способом. При первом способе вирус вносят в биореактор с клетками ВНК-21/13 на среде Игла с 10,0 %-ной сывороткой КРС в количестве $0,6 \pm 0,14$ ТКИД₅₀/кл и культивируют при постоянном перемешивании при температуре 37 °С и поддержании рН 7,2–7,4 в течение 3–4 сут. При втором способе в среду Игла с клетками ВНК-21/13 в количестве 0,1–1,2 млн/мл, разлитую в роллерные флаконы по 200,0 см³, вносят вирус в количестве 0,1–0,6 МЛД₅₀/кл и культивируют его при температуре 37 °С и скорости вращения флаконов 18–28 об/мин в течение 3–4 сут. Перед сливом вирусосодержащей жидкости флаконы для разрушения клеток подвергают замораживанию и оттаиванию.

Вирус парвовирусного энтерита собак репродуцируют на культуре клеток CrFK со средой Игла и 10,0 %-ной сывороткой КРС в статических условиях в 1,5-литровых матрасах или в 2-литровых роллерных флаконах при температуре 37 °С. Заражающая доза вируса составляет 0,0005 ГАЕ/кл. Урожай собирают через 3–4 сут. культивирования после предварительного замораживания и оттаивания матрасов и флаконов.

Вирус чумы плотоядных репродуцируют на культуре клеток Vero со средой Игла или Игла МЕМ 2,0–10,0 %-ной сывороткой КРС в статических условиях в 1,5-литровых матрасах или в 2-литровых роллерных флаконах при температуре 37 °С. Заражающая доза вируса чумы плотоядных составляет 0,6–0,14 ТКИД₅₀/кл. Урожай собирают через 3–4 сут. культивирования после предварительного замораживания и оттаивания матрасов и флаконов.

Вирус инфекционного гепатита репродуцируют на культуре клеток МДСК; эффективным способом выращивания – роллерный со средой Игла или Игла МЕМ с добавлением 2,0–10,0 %-ной сыворотки КРС. Заражающая доза вируса инфекционного гепатита – 0,1–0,3 ТКИД₅₀/кл. Урожай собирают через 3–4 сут. культивирования после предварительного замораживания и оттаивания матрасов и флаконов.

Вирусное сырье после проверки на бактериальную и грибковую стерильность инактивируют в течение 24 ч при температуре 37 °С теотропином в 0,15%-ной концентрации.

Вакцина жидкая культуральная инактивированная сорбированная против бешенства и парвовирусного энтерита «Парвораб» в качестве вирусодержащего материала включает смешанные в равных объемах селекционированный штамм вируса бешенства КМИЭВ-94 в титре $6,8-7,0 \lg$, выращенный в культуре клеток ВНК-21, и вирус парвовирусного энтерита собак ПВЭС КМИЭВ-14в в титре $7,0-8,0 \log_2$, выращенный в культуре клеток СгФК; в качестве инактиватора вирусов использован теотропин в 0,15 %-ной концентрации; в качестве адьюванта – гидроксал в концентрации 10,0 об.%. Хранение при температуре $+4...+8$ °С обеспечивает годность вакцины в течение 18 мес. со дня изготовления. На основании проведенных исследований разработаны технические нормативные правовые акты (ТНПА) (технические условия (ТУ), опытно-промышленный регламент, инструкция по применению) на вакцину жидкую культуральную инактивированную сорбированную против бешенства и парвовирусного энтерита собак «Парвораб».

Разработанная вакцина «Парвораб» прошла регистрационные испытания в ГУ «Белорусский государственный ветеринарный центр», одобрена Ветбиофармсоветом, внесена в реестр ветеринарных препаратов Республики Беларусь (госрегистрация № 3443-10-11 БВВИЖ от 08.04.2011 г.) и рекомендована к производству [1].

Вакцина инактивированная против бешенства, чумы и парвовирусного энтерита плотоядных животных «Тривак» сконструирована на основе селекционированных штаммов вируса бешенства КМИЭВ-94, вируса чумы плотоядных КМИЭВ-82 и вируса парвовирусного энтерита плотоядных КМИЭВ-14в.

Вакцина содержит в равных объемах инактивированные теотропином в 0,15%-ной концентрации вирус бешенства с титром $6,5-7,0 \lg \text{MLD}_{50}/1,0 \text{см}^3$, вирус чумы плотоядных с титром $4,0-4,5 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, вирус парвовирусного энтерита плотоядных с титром $8,0-10,0 \log_2$ и в качестве адьюванта гидроксал в концентрации 10,0 об.%. Вакцина представляет собой гомогенную суспензию светло-розового цвета с рыхлым осадком, который легко разбивается при встряхивании в однородную взвесь. Она является стерильной в бактериальном и грибковом отношении, безвредной и при внутримышечном введении кроликам и собакам в дозе $2,0 \text{ см}^3$ двукратно с интервалом 21 день индуцирует у них образование антител через 14 дней после иммунизации к вирусу бешенства в титрах $6,0 \pm 1,0-7,0 \pm 1,0 \log_2$, к парвовирусу – $7,0 \pm 1,0-8,0 \pm 1,0 \log_2$ и к вирусу чумы плотоядных – $5,0 \pm 1,0-6,0 \pm 1,0 \log_2$. Примерно такие же титры антител были при введении животным коммерческой вакцины Мультикан-8, что свидетельствует о высокой иммуногенности сконструированной вакцины и перспективности внедрения ее в практику. Хранение при температуре $+4...+8$ °С обеспечивает годность вакцины в течение 18 мес. со дня изготовления.

На основании проведенных исследований разработаны ТНПА (ТУ, технологический регламент, инструкция по применению). Вакцина прошла регистрационные испытания в ГУ «Белорусский государственный ветеринарный центр», одобрена Ветбиофармсоветом, внесена в реестр ветеринарных препара-

ратов Республики Беларусь (госрегистрация 4733-10-14 БВВИЖ от 03.02.2014 г.) и рекомендована к производству [5].

Вакцина инактивированная против бешенства, чумы, парвовирусного энтерита и инфекционного гепатита плотоядных животных «Поливак» сконструирована на основе селекционированных штаммов вируса бешенства КМИЭВ-94, вируса чумы плотоядных КМИЭВ-82, вируса парвовирусного энтерита плотоядных КМИЭВ-14в и инфекционного гепатита плотоядных КМИЭВ-83.

Вакцина содержит в равных объемах вирус бешенства с титром $6,5 \lg \text{MLD}_{50}/\text{см}^3$, вирус чумы плотоядных с титром $4,5 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, вирус парвовирусного энтерита плотоядных с титром $8,0 \log_2$, вирус инфекционного гепатита с титром $5,0 \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, инактивированные тетрапином в 0,15%-ной концентрации, и в качестве адьюванта использован гидроксал в концентрации 10,0 об.%.

Вакцина представляет собой гомогенную суспензию светло-розового цвета с рыхлым осадком, который легко разбивается при встряхивании в однородную взвесь. Она является стерильной в бактериальном и грибковом отношении, безвредной и при внутримышечном введении кроликам и собакам в дозе $2,0 \text{ см}^3$ двукратно с интервалом 21 день индуцирует у них образование антител через 14 дней после иммунизации к вирусу бешенства в титрах $6,0 \pm 1,0$ – $7,0 \pm 1,0 \log_2$, к парвовирусу – $7,0 \pm 1,0$ – $8,0 \pm 1,0 \log_2$, к вирусу чумы плотоядных – $5,0 \pm 1,0$ – $6,0 \pm 1,0 \log_2$ к вирусу инфекционного гепатита – $6,0$ – $7,0 \pm 1,0 \log_2$. Примерно такие же титры антител были при введении животным коммерческой вакцины Мультикан-8, что свидетельствует о высокой иммуногенности сконструированной вакцины и перспективности внедрения ее в практику [2, 3].

На основании проведенных исследований разработаны ТНПА (инструкция по применению, ТУ, промышленный регламент по изготовлению вакцины). Вакцина прошла регистрационные испытания в ГУ «Белорусский государственный ветеринарный центр», одобрена Ветбиофармсоветом и рекомендована к производству [2].

Заключение

Технология производства разработанных вакцин освоена в экспериментально-производственном отделе РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского», а их апробация в условиях производства показала высокую профилактическую эффективность и по показателям иммуногенности и эффективности не уступает импортным аналогам.

Литература

1. Вакцина инактивированная для профилактики бешенства и парвовирусного энтерита : пат. 18504 Респ. Беларусь / Н. А. Ковалев, А. А. Гусев, Д. В. Бучукури, М. М. Усеня, П. А. Красочко ; дата публ.: 07.05.2014.
2. Вакцина против бешенства, чумы, парвовирусного энтерита и инфекционного гепатита плотоядных животных. Часть 1 : Репродукция и инактивация вакцинных вирусов /

Н. А. Ковалев [и др.] // Основные направления развития ветеринарной науки : материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 90-летию РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского», Минск, 24–25 окт. 2013 г. / Ин-т эксперимент. вет. им. С. Н. Вышелесского ; под. ред. А. А. Гусева. – Минск, 2013. – С. 199–207.

3. Вакцина против бешенства, чумы, парвовирусного энтерита и инфекционного гепатита плотоядных животных. Часть 2 : Конструирование вакцины и изучение ее иммуногенности / Н. А. Ковалев [и др.] // Основные направления развития ветеринарной науки : материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 90-летию РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского», Минск, 24–25 окт. 2013 г. / Ин-т эксперимент. вет. им. С. Н. Вышелесского ; под. ред. А. А. Гусева. – Минск, 2013. – С. 208–215.

4. Вакцина «Тривак» против бешенства, парвовирусного энтерита и чумы плотоядных животных, инактивированная : Технологический нормативный правовой акт ТУ ВУ 600049853.217-2013, № госрегистрации 7433-10-14БВВИЖ от 03.02.2014 г. / Н. А. Ковалев, А. А. Гусев, Д. В. Бучукури, М. М. Усея, П. А. Красочко. – Минск, 2014. – 15 с.

5. Разработка вакцины жидкой культуральной инактивированной сорбированной против бешенства и парвовирусного энтерита собак «Парвораб» / Н. А. Ковалев [и др.] // Эпизоотология. Иммунобиология. Фармакология. Санитария. – 2011. – № 1. – С. 19–26.

Поступила 11.07.2017 г.

УДК 619:615.37.102

Т. А. Гирш¹, Е. А. Шубина², Н. М. Пухова³

АНАЛИЗ РИСКОВ В ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ПРОЦЕССАХ ИЗГОТОВЛЕНИЯ КУЛЬТУРАЛЬНЫХ ПРОТИВОВИРУСНЫХ ВАКЦИН ДЛЯ ЖИВОТНЫХ

¹АО «Всероссийский научно-исследовательский институт сертификации», г. Москва, Россия

²ООО «Ветбиохим», г. Москва, Россия

³ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности», г. Щелково, Россия

Введение

Производство и применение противовирусных вакцин для животных объективно связано с рисками, среди которых наиболее важными являются риски качества и безопасности продукции [1]. Определение и уменьшение рисков позволяет сократить общие расходы, улучшить эффективность производства, повысить общую безопасность и качество конечной продукции, поэтому их анализ должен стать главным объектом внимания в процессе всех аспектов производства, включая планирование производства, собственно производство, пост-производство и поддержку производства. Анализ рисков широко применяется за рубежом [2] и в ряде случаев даже стал единственным требованием регуляторных органов [3].

Цель работы – установить и применить релевантность различных методик анализа рисков в отношении производства ветеринарных противовирусных