

# КОРОНАВИРУСНЫЕ БОЛЕЗНИ ЖИВОТНЫХ И ВАКЦИНЫ ПРОТИВ НИХ



**Николай Ковалев,**  
главный научный сотрудник  
РУП «Институт  
экспериментальной ветеринарии  
им. С.Н. Вышелесского»,  
доктор ветеринарных наук,  
профессор, академик  
НАН Беларуси



**Юрий Ломако,**  
директор РУП «Институт  
экспериментальной ветеринарии  
им. С.Н. Вышелесского»,  
кандидат ветеринарных наук,  
доцент



Усилия ученых многих стран в условиях пандемии, вызванной коронавирусом SARS-CoV-2, направлены на создание эффективных вакцин против данного заболевания. В мире разрабатывается около 200 их видов, поставлена такая задача и в Беларуси. Некоторые уже испытываются или применяются в разных государствах, в том числе российская «Спутник V» и др. В свете этих событий интерес представляют вакцины против коронавирусных заболеваний животных, работа над которыми в течение ряда лет ведется в РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского» [1]. Изыскания касаются регистрируемых в нашей стране инфекций: коронавирусный энтерит крупного рогатого скота, вирусный (трансмиссивный) гастроэнтерит свиней, инфекционный бронхит кур.

## Коронавирусный энтерит КРС (КВЭ)

Данная остропротекающая болезнь новорожденных телят характеризуется профузным поносом, иногда со слизью и кровью в каловых массах, дегидратацией организма, депрессией и истощением. Возбудитель – вирус из семейства *Coronaviridae*, выделенный в 1972 г. Е. Стар и соавторами (США) – состоит из спиралевидного нуклеокапсида, покрытого внешней липопротеидной оболочкой с булавовидными выступами длиной 10–24 нм, напоминающей корону. Имеет сферическую форму диаметром 80–180 нм,

чувствителен к эфиру, хлороформу и трипсину, обладает гемадсорбирующими свойствами и способен агглютинировать эритроциты крыс, мышей и хомяков. Репродуцируется в цитоплазме первично-трипсинизированных клеток ПЭК, почки теленка и в перевиваемых культурах клеток MDBK, Vero, НРТ-18, вызывая образование синцития и симпластов.

Болезнь регистрируется в любое время года (чаще – в стойловый период) у животных 7–18-дневного возраста, более предрасположены к ней телочки (37,9%), чем бычки (23,8%). Источник заражения – больные и переболевшие телята, возрастные животные, выделяющие вирус с экскрементами и мочой. Передается алиментарным путем, но возможен и воздушно-капельный. Инфицированность телят достигает 100% (летальность – 10–47%), коров в некоторых хозяйствах – 50–80%. Протекает 1–2 недели, проявляется остро и подостро, инкубационный период – 18–48 ч. Вначале возникают признаки угнетения, затем развивается понос, переходящий в профузный. Температура тела, как правило, в пределах нормы, может быть ниже. Фекалии жидкой консистенции, желтого или зеленовато-желтого цвета, иногда с примесью свернувшегося молока, слизи и крови. Далее отмечают изъязвление слизистой оболочки ротовой полости с выделением пенистой слюны. Животные угнетены, живот вздут, аппетит сохранен, однако телята очень быстро худеют, развивается экзикоз, и наступает гибель от обезвоживания. У взрослых животных протекает субклинически.

Исследования сывороток крови коров и телят на наличие противовирусных антител в РНГА, а также фекалий на присутствие антигенов вирусов методом ИФА в хозяйствах, неблагополучных по пневмоэнтеритам телят, показали, что значительный удельный вес (от 42 до 64%) в этиологии этих заболеваний занимают возбудители корона- и ротавирусных инфекций, которые часто протекают в ассоциации [2, 3]. Это послужило основанием для разработки ассоциированной инактивированной вакцины. Ее конструирование включало подбор, отработку методов культивирования и изучение антигенной активности штаммов вирусов, соотношения монокомпонентов и дозы вакцины, методов контроля, изучение ее иммуногенной и противоэпизоотической эффективности. Из четырех выделенных в неблагополучных хозяйствах республики и двух имеющихся в институте эпизоотических штаммов коронави-

руса КРС наиболее активным оказался Белорусский-4, который и использовали для изготовления вакцины. После 12 пассажей на перевиваемых клетках MDBK он имел титр  $6,0 \lg \text{ТЦД}50/\text{см}^3$  и был депонирован в институтскую коллекцию микроорганизмов под названием КМИЭВ-1. При однократном внутримышечном введении кроликам и телятам по 2 мл через 14 дней вызывал у них образование антител в титрах  $3,2 \pm 0,2$  и  $4,0 \pm 0,2 \log_2$  соответственно, что свидетельствует о высокой антигенной активности [4].

Для изготовления ротавирусного компонента вакцины применен эпизоотический штамм 243, который после депонирования в коллекцию микроорганизмов получил название КМИЭВ-3. Вирус после 12 пассажей на культуре клеток СПЭВ имел титр  $7,5 \lg \text{ТЦД}50/\text{см}^3$  и вызывал у кроликов и телят образование антител на 14-й день после внутримышечного введения в дозе 2 мл в титрах  $4,0 \pm 0,2$  и  $5,0 \pm 0,4 \log_2$  соответственно [5].

Для отработки методов инактивации вакцинных вирусов были испытаны прополис, формалин и теотропин. Оптимальным оказался последний, который в 0,2%-ной концентрации при комнатной температуре в течение 48 часов инактивировал оба вируса, которые сохраняли наибольшую антигенную активность. Из трех испытанных адъювантов – эмульсигена, смеси эмульсигена с прополисом и суспензии активированной целлюлозы – наиболее эффективны последняя (производство БГУ) в 2%-ной концентрации и эмульсиген (США) в 100%-ной концентрации. Их и использовали при конструировании вакцины.



В опытах на 40 коровах установлено, что оптимальным соотношением компонентов в вакцине было 1:1. При этом титр антител к обоим вирусам наиболее высок. На лабораторных животных были отработаны методы контроля вакцины на стерильность, безвредность, иммуногенность и определен срок ее хранения – 12 мес. Изучение иммунологической эффективности в лабораторных условиях и в широком производственном опыте в 4 хозяйствах республики на 5780 стельных коровах показало, что вакцина вызывает активный биосинтез антител к обоим вирусам (до  $5,9 \log_2$  к корона- и  $7,6 \log_2$  к ротавирусу в РН). Ее вводили стельным коровам внутримышечно в дозе  $5,0 \text{ см}^3$  двукратно с интервалом 21 день за 2 мес. до отела. При выпойке телятам в течение первых двух часов молозива от иммунизированных коров у них формировался напряженный колостральный иммунитет к обеим инфекциям (титры от  $10,4 \pm 1,6$  до  $11,3 \pm 2,7 \log_2$  в РНГА), который сохранялся в течение 2 и более месяцев и полностью предохранял от заболеваний. Исследования показали высокую профилактическую эффективность вакцины (88,9–95,6%). На этом основании подготовлена и утверждена нормативно-техническая документация на «Ассоциированную вакцину против рота- и коронавирусной инфекций новорожденных телят», и она внедрена в производство [6]. По схожим схемам созданы «Трехвалентная инактивированная вакцина против вирусной диареи, рота- и коронави-

русных инфекций КРС», «Поливалентная инактивированная вакцина против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, рота- и коронавирусной инфекций КРС «Тетравак». На последнюю получен патент Республики Беларусь [7–10].

## Вирусный трансмиссивный гастроэнтерит свиней (ТГС)

Данное острое контагиозное заболевание характеризуется рвотой, изнурительной диареей и высокой смертностью поросят до 2-недельного возраста. Распространено во многих странах мира, в том числе и у нас. Впервые его описали и доказали вирусную природу американские ученые L.P. Doyl и L.M. Hutchings в 1946 г. Возбудитель – коронавирус семейства *Coronaviridae* с диаметром частиц 60–160 нм примерно с теми же характеристиками, что и описанный выше. Поросята заражаются преимущественно алиментарным путем, реже – аэрогенным от больных и переболевших свиней, которые выделяют вирус с фекалиями на протяжении 2 мес. после выздоровления. Заболевание протекает в виде эпизодов или энзоотий. По результатам наших исследований в 1970–1990 гг. вирус ТГС обнаружился в свиноводческих хозяйствах Беларуси в 81,6% случаев. Вспышки возникали обычно через 2–3 дня после завоза в благополучные хозяйства свинок или хряков, а также продуктов животного происхождения из неблагополучных



хозяйств. В крупных свиноводческих комплексах заболевание имело тенденцию к стационарности и растягивалось на многие месяцы и годы в связи с круглогодичными непрерывными опоросами свиноматок. На традиционных свиноводческих фермах продолжительность энзоотии ТГС составляла 3–4 недели, после чего происходило угасание.

Клинические признаки зависят от возраста животных. У новорожденных – внезапная рвота, которая вскоре начинает сопровождаться изнуряющей диареей, быстрым обезвоживанием, исхуданием и вялостью. Фекалии водянистые, желто-зеленого цвета, щетина липкая, грязного цвета. Погибают до 90–100% поросят. У молодняка постарше и взрослых свиней наблюдается угнетение, частичный отказ от корма, кратковременная диарея и рвота в течение 2–3 дней. У свиноматок развивается гипо- или агалактия. Заболевание, как правило, заканчивается выздоровлением [11, 12]. В ряде случаев в неблагополучных по ТГС хозяйствах одновременно выявлялась ротавирусная болезнь свиней (РБС), которая клинически проявлялась гастроэнтеритом и вызывалась РНК-содержащим вирусом семейства *Rotaviridae* [13].

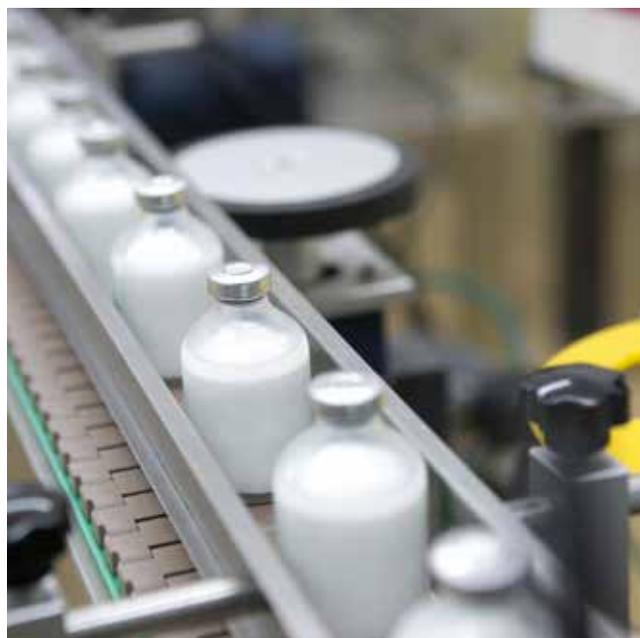
Нами была поставлена цель – разработать ассоциированную инактивированную вакцину против ТГС и РБС. Для ее конструирования взяли один из выделенных эпизоотических изолятов вируса ТГС с титром  $3,25 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$  (после 25 пассажей на клетках СПЭВ имел титр  $6,5 \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ ) и один из изоля-

тов ротавируса свиней с титром  $3,75 \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$  (после 20 пассажей на клетках СПЭВ – титр  $7,2 \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ ). Вирусы репродуцировали на клетках СПЭВ в 1,5-литровых матрасах или роллерах со средой 189 или ИГЛА.

В качестве инактивантов использовали формалин и димер этиленимина (ДЭИ). Было установлено, что первый в 0,1%-ной концентрации инактивировал вирус ТГС при  $37^\circ\text{C}$  за 9 ч, при комнатной температуре – за 12 ч, ДЭИ в 0,02%-ной концентрации – соответственно за 12 и 24 ч. Предпочтение было отдано ДЭИ как более щадящему.

В качестве адъювантов в конструируемой вакцине испытаны алюмокалиевые квасцы и масляные адъюванты – эмульсиген (США) и Montanide ISA-206 VG. В опыте на 18 свиньях и 18 кроликах установлено, что парентеральное введение им антигенов вирусов с адъювантом алюмокалиевые квасцы (0,5%) или эмульсиген (15%) вызывает образование более высокого уровня антител, чем введение без адъювантов. Для конструирования вакцины были использованы алюмокалиевые квасцы. Оптимальным соотношением антигена ТГС и ротавируса в вакцине было 2:1. В опыте на 12 свиноматках установлено, что при этом титры антител на 21-й день после вакцинации были наиболее высокими к обоим компонентам ( $3,7$  и  $5,37 \log_2$  в РН) [14].

Отдельные исследования проведены по супоросным свиноматкам. Установлено, что внутримышечное введение им вакцины за 10 недель



до опороса двукратно с интервалом 21 день в дозах 6,0 и 7,0 см<sup>3</sup> позволяет защитить от экспериментального заражения эпизоотическими штаммами ТГС и ротавируса 87,5% и 83,3% новорожденных поросят соответственно. Такая схема оказалась наиболее рациональной. У вакцинированных таким образом супоросных свиноматок после опороса выявлено увеличение IgM и IgG глобулинов, интерферона до 53,3%, лизоцима 2,4 мкг/л, количества Т-лимфоцитов до 44,4% в сыворотке крови, а также высокий уровень колостральных антител до 8,0–11,0 log<sub>2</sub>, которые передавались поросятам.

Разработаны методы контроля и определен срок годности вакцины – 18 мес. Она прошла производственные испытания в 7 свиноводческих комплексах Беларуси. От 4303 привитых свиноматок получено 36 978 поросят. Заболели и пали от гастроэнтерита 11,9%, сохранены 88,1% (от 209 непривитых (контрольных) свиноматок получено 1787 поросят, заболели и пали от гастроэнтерита 47,9%, выжили 51,2%). Вакцина по эффективности не уступала импортной TP-1 («Нарвак»).

В 2000–2009 гг. вакцина с масляным адьювантом внедрена в 10 свиноводческих комплексах. Привиты 21456 свиноматок. Профилактическая эффективность составила 87,2%. На нее получен патент [15], ТНПА передан ОАО «БелВитунифарм», где налажен выпуск и реализация препарата. По аналогичным принципам сконструирована инактивированная вакцина против трансмиссивного гастроэнтерита, ротавирусной болезни и колибактериоза поросят, которая также внедряется в практику [1].

## Инфекционный бронхит кур (ИБК)

Это высококонтагиозное заболевание молодня и взрослых кур, сопровождающееся поражением дыхательных путей и репродуктивных органов. Возбудитель – РНК-содержащий *Coronavirus avium* семейства *Coronaviridae*, который индуцирует в организме кур нейтрализующие и преципитирующие антитела, чувствителен к эфиру и хлороформу, при 56 °С инактивируется через 10–15 мин. Заражение происходит аэрогенным и алиментарным путями. Различают три клинических синдрома ИБК: респираторный, нефрозно-нефритный и репродуктивный. Первый сопровождается респираторными симптомами и наблюдается у молодых цыплят. Через 18–36 ч после внедрения патогена у них насту-

пает угнетенное состояние, крылья опускаются, дыхание становится затрудненным, появляются хрипы в трахее, выделения из ноздрей, конъюнктивиты, риниты, теряется аппетит. В основном протекает остро (1–3 недели), летальность – 5–33%. У цыплят старше 2 недель симптомы более сглажены и могут исчезнуть через 8–14 дней. Заболевание вызывает задержку роста птицы. У взрослых особей наблюдается синдром поражения репродуктивных органов, риниты и конъюнктивиты, а на 7–14-й неделе – снижение яйценоскости, которая не восстанавливается даже после выздоровления. Отдельные штаммы могут вызывать нефрозно-нефритный синдром, который сопровождается поражением почек и мочеточников (диспепсия и диарея с примесью уратов), протекает остро, летальность доходит до 70% [16].

Основное средство борьбы с ИБК – специфическая профилактика с применением живых и инактивированных вакцин. Учитывая наличие ИБК на птицефабриках республики, нами разработана вакцина с использованием штамма вируса КМИЭВ-V103, полученного путем адаптации штамма Н-120 (депонирован в коллекции микроорганизмов НИИЭВ им. С. Н. Вышелесского) к СПФ-куриным эмбрионам в течение 5 пассажей.

Вирус имеет титр 10<sup>6</sup> ЭИД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup> на куриных эмбрионах, вызывает эффект их карликовости, активен в РН, РНГА, ИФА, не патоген для цыплят в дозе, в 10 раз превышающей иммунизирующую. Определены метод и доза заражения эмбрионов (в аллантоисную полость 0,2 мл, разведение 10–2) срок их инкубации 72 ч, метод введения вакцины – выпаивание, срок взятия крови после вакцинации 14 дней и период наблюдения после заражения 10 дней.

Вакцина представляет собой лиофилизированную эмбриональную жидкость, полученную из СПФ-яиц кур, инфицированных штаммом КМИЭВ-V103. Среда высушивания состоит из 2,5% сахарозы, 0,5% желатозы, 3,5% гидролизата, лактоальбумина, сохраняет стабильность при хранении в сухом темном месте при 3–6 °С в течение 12 мес. [17].

На СПФ-эмбрионах кур изучена биологическая эффективность вакцины, которая составила 6,2 lg ЭИД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>. Каждая иммунизирующая доза в 1,0 см<sup>3</sup> содержала не менее 3,0 lg ЭИД<sub>50</sub>. При испытании на 25 цыплятах 14-суточного возраста, которым с помощью зонда проводилось выпаивание вакцины в десятикратной иммунизирующей дозе, в течение 21-днев-

ного наблюдения ни одна птица не заболела, что свидетельствует о безвредности препарата.

При даче СПФ-цыплятам 14–20-суточного возраста одной иммунизирующей дозы вакцины в объеме 1 см<sup>3</sup> в 80% и более случаях наблюдалось образование поствакцинальных антител в ИФА не ниже 1:400, что говорит о ее высокой антигенной активности и иммуногенности. Производственные испытания проведены на Минской птицефабрике им. Н. К. Крупской. 7 тыс. цыплят были иммунизированы дважды: суточные – спрей-методом, в возрасте 14 суток – методом выпаивания с водой. Через 14 дней после второй иммунизации у 25 цыплят опытной и контрольной групп исследовали кровь на наличие антител в ИФА.

Базой для сравнения являлась вакцина «Биореп Н120» (Франция), которой по той же схеме иммунизировали 38 тыс. цыплят. В результате в течение 30 дней ни один вакцинированный обеими вакцинами цыпленок не заболел. Уровень индуцированных белорусской вакциной вируснейтрализующих антител существенно не отличался от данного показателя у французской. Вакцина и НТПА на нее переданы для внедрения на ОАО «БелВитунифарм», где в 2010 г. налажено производство и выпущено 500 тыс. доз. Уже в 2012 г. она была применена на 5 птицефабриках республики, рекламаций не поступало [17].

Наряду с живой вакциной против ИБК были сконструированы инактивированные эмульгированные комбинированные против Ньюкаслской болезни, инфекционного бронхита кур, синдрома снижения яйценоскости, инфекционной бурситной болезни [19]. Вместе с нормативно-технической документацией они переданы на ОАО «БелВитунифарм» для внедрения.

Следует отметить, что инфекционные болезни животных, среди которых более 70% являются вирусными, наносят существенный ущерб животноводству, а следовательно, и экономике страны. Основная мера профилактики и борьбы с ними – вакцинация. До 2000-х гг. производство противовирусных вакцин для животных, да и для людей, в нашей стране отсутствовало. Их приходилось закупать за границей. После ряда постановлений Правительства Республики Беларусь (1999, 2005, 2010 гг.), создания экспериментального отдела по производству биопрепаратов в Институте экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского НАН Беларуси, реконструкции Витебской биофабрики (ныне ОАО «БелВитунифарм») ситуация в корне изменилась.

Разработкой, апробацией и внедрением занимается РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского» – головное научное учреждение в этой области в нашей стране. Успешная работа по созданию эффективных вакцин против коронавирусных инфекций животных в какой-то мере вселяет надежду и на появление столь же эффективных вакцин против COVID-19, в том числе и в Беларуси. ■

#### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Биологические препараты для профилактики вредных заболеваний животных: разработка и производство в Беларуси / П. А. Красочко, И. А. Ковалев и др.; под ред. И. А. Ковалева. – Минск, 2016.
2. Красочко П. А. Вирусные пневмоэнтериты телят / П. А. Красочко, Ю. Т. Зелютков, И. А. Красочко. – Минск, 1999.
3. Красочко П. А. Роль вирусных инфекций в патологии сельскохозяйственных животных // Наука и инновации. 2014. №8. С. 12–15.
4. Атенуированный штамм коронавируса крупного рогатого скота Bovine coronavirus КМИЭВ-V112 – штамм-антиген: пат. 18413 Респ. Беларусь: МПКС12 №7/08 (2006.01), С12R, 1/93 (2006.01) / П. А. Красочко, Ю. В. Ломако, И. А. Красочко, Я. П. Яромчик, Д. С. Борисовец; заявитель и патентообладатель Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского; опубл. 30.08.2014.
5. Атенуированный штамм ротавируса крупного рогатого скота Bovine rotavirus КМИЭВ-V116 – штамм-антиген: пат. 18412 Респ. Беларусь: МПКС 12 №7/08 (2006.01), С12R, 1/93 (2006.01) / П. А. Красочко, Ю. В. Ломако, И. А. Красочко, Я. П. Яромчик, Д. С. Борисовец; заявитель и патентообладатель Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского; опубл. 30.08.2014.
6. Ассоциированная вакцина против рота- и коронавирусной инфекции новорожденных телят: ТУ ВУ600049853.093–2008 / П. А. Красочко, П. В. Белянко, Н. А. Ковалев и др. – Минск, 2008.
7. Вакцина трехвалентная инактивированная против вирусной диареи, рота- и коронавирусной инфекции крупного рогатого скота: ТУ ВУ 600049853.В3–2009 / П. А. Красочко, И. А. Красочко, Ю. В. Ломако, А. М. Ламан. – Минск, 2009.
8. Ковалев И. А. Перспективы профилактики и терапии пневмоэнтеритов телят / И. А. Ковалев, П. А. Красочко, И. А. Красочко // Аграрная наука на рубеже 21 века. – Минск, 2000.
9. Красочко П. А. и др. Иммуный ответ у крупного рогатого скота после вакцинации против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, рота- и коронавирусной инфекций / Ветеринарная практика. 2008. №3(42). С. 63–171.
10. Поливалентная инактивированная вирус-вакцина против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, рота- и коронавирусной инфекций крупного рогатого скота: пат.10697 Респ. Беларусь: МПК (2006) А61К 39/295 / П. А. Красочко, И. А. Красочко, С. С. Кабась, Г. И. Жих, И. П. Иванова, Н. А. Ковалев, В. А. Машеро, С. В. Бойчук, Ф. Н. Капуцкий, Э. В. Терт, В. И. Торгашев, О. В. Зубец; заявитель и патентообладатель Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского; опубл. 30.06.2008.
11. Ястребов А. С. Вирусные гастроэнтериты свиней в свиноводческих хозяйствах Республики Беларусь // Вести Академии аграрных наук Республики Беларусь. 1998. №3. С. 72–74.
12. Ястребов А. С. Вирусные гастроэнтериты свиней. – Минск, 1999.
13. Ястребов А. С. Культуральные свойства вирусов трансмиссивного гастроэнтерита и ротавирусной болезни свиней, выделенных в свиноводческих хозяйствах Республики Беларусь / А. С. Ястребов, Т. А. Савельева, А. М. Бычковский // Ветеринарные и зооинженерные проблемы животноводства: тез. докл. 1-й Междунар. науч.-практ. конф. – Витебск, 1996.

Полный список использованных источников размещен

 [SEE http://innosfera.by/2021/08/vaccine](http://innosfera.by/2021/08/vaccine)