



БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ

**ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ
ВИРУСНЫХ
ЗАБОЛЕВАНИЙ
ЖИВОТНЫХ**

РАЗРАБОТКА И ПРОИЗВОДСТВО В БЕЛАРУСИ

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ

**ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ
ВИРУСНЫХ
ЗАБОЛЕВАНИЙ
ЖИВОТНЫХ**

РАЗРАБОТКА И ПРОИЗВОДСТВО В БЕЛАРУСИ

Под редакцией академика Н. А. Ковалева

Минск
«Беларуская навука»
2016

УДК 619:[616.98:615.281]-084

Биологические препараты для профилактики вирусных заболеваний животных: разработка и производство в Беларуси / П. А. Красочко [и др.] ; под ред. Н. А. Ковалева. – Минск : Беларуская навука, 2016. – 492 с. – ISBN 978-985-08-2013-6.

В книге обобщены результаты исследований по разработке новых вакцин против наиболее распространенных вирусных болезней крупного рогатого скота, свиней, плотоядных животных и птиц, выполненных сотрудниками РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского» НАН Беларуси. Приводятся сведения по селекции вакцинных вирусов, изысканию эффективных систем и методов их культивирования, конструированию, разработке технологии изготовления и определению сроков годности вакцин, отработке доз, схем вакцинации и изучению иммунологической и противоэпизоотической эффективности ветпрепаратов, в том числе в практических условиях. Представлены краткие данные по эпизоотолого-клиническому проявлению и специфической профилактике наиболее распространенных в Беларуси вирусных болезней животных, а также о противоиноммунитете, его особенностях при вирусных инфекциях и типах современных противовирусных вакцин.

Предназначена для научных и практических работников биологической промышленности, ветеринарных врачей, биологов, аспирантов, магистров, бакалавров и студентов ветеринарных, зоотехнических и фармацевтических факультетов учебных заведений.

Табл. 288. Ил. 37. Библиогр.: 175 назв.

А в т о р ы:

П. А. Красочко, Н. А. Ковалев, И. В. Насонов, А. С. Ястребов, Д. В. Бучукури,
М. М. Усеня, П. П. Красочко, Д. С. Борисовец, В. П. Красочко, Н. М. Авласко

Р е ц е н з е н т ы:

доктор биологических наук, профессор А. И. Ерошов,
доктор ветеринарных наук, профессор В. В. Максимович

ISBN 978-985-08-2013-6

© Оформление. РУП «Издательский дом
«Беларуская навука», 2016

ВВЕДЕНИЕ

Инфекционные болезни людей и животных были известны человечеству с древних времен. На протяжении многих столетий люди были беспомощны в борьбе с ними, поэтому порой эти болезни приобретали угрожающие размеры, охватывая огромные территории, вызывая гибель десятков тысяч людей и животных и принимая характер настоящих народных бедствий. Сущность инфекционных заболеваний животных и человека в течение многих веков оставалась до конца не распознанной. Однако постоянно накапливающиеся наблюдения позволили высказать предположение, что каждой инфекционной болезни свойственен строго специфический возбудитель. Было также замечено, что люди, выздоровевшие после того или иного перенесенного инфекционного заболевания, становились к нему невосприимчивыми, обычно надолго, а иногда и на всю жизнь, как, например, к оспе, чуме.

Со временем такую невосприимчивость к повторному заражению станут называть иммунитетом, а изучающую ее науку – иммунологией. Становлению иммунологии как медико-биологической науки предшествовали длительные эмпирические поиски средств защиты от заразных болезней. С того времени, как английский врач Э. Дженнер впервые доказал возможность предупреждения натуральной оспы у людей с помощью прививки им вируса оспы коров, исследователи всех стран работают над предупреждением инфекционных болезней методом иммунизации.

Теоретическое обоснование возможности специфической профилактики инфекционных заболеваний животных и человека дано великим французским ученым Луи Пастером, который в начале 80-х гг. XIX в. впервые разработал метод направленного ослабления вирусных свойств патогенных микробов и использования ослабленных штаммов для искусственного создания иммунитета. Это позволило ему приготовить эффективные вакцины против холеры кур, сибирской язвы, рожи свиней, бешенства и тем самым положить начало стремительному развитию экспериментальной иммунологии и практической вакцинологии.

В настоящее время известно около 500 инфекционных болезней животных. Из них около 200 относятся к зооантропонозам или антропозонозам. В Республике Беларусь зарегистрировано около 100 инфекционных болезней животных, из которых около 20 являются общими для человека и животных.

Против подавляющего большинства указанных заболеваний разработаны специфические вакцины с различной степенью эффективности. Однако основная их масса производится в зарубежных странах. В Беларуси имеется лишь

единственное ветеринарное биологическое предприятие – Витебская биофабрика (с 2012 г. – ОАО «БелВитунифарм»), которая выпускает небольшое количество бактериальных вакцин. Остальные препараты, необходимые нашей стране, приходится закупать в других государствах за валюту. На ОАО «БелВитунифарм» до сих пор не налажено масштабное производство противовирусных вакцин, а ведь вирусные заболевания, как известно, составляют свыше 70% всех инфекционных болезней животных и человека. С учетом этого РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского» НАН Беларуси в последние годы активно приступил к конструированию, разработке технологий и производству в экспериментальном отделе отечественных вакцин, главным образом противовирусных, против наиболее распространенных в нашей стране инфекционных заболеваний животных.

Разработке ряда таких противовирусных вакцин и посвящена настоящая монография, написанная научными сотрудниками института – ведущими разработчиками описанных биопрепаратов.

Книга состоит из 6 глав. В первой главе приведены современные сведения о противои инфекционном иммунитете и его особенностях при вирусных инфекциях. Описывается история научного изучения иммунитета, его системы и механизмы осуществления, в том числе при вирусных инфекциях, типы современных противовирусных вакцин.

Следующие четыре главы посвящены разработке новых вакцин против наиболее распространенных или представляющих опасность для Республики Беларусь вирусных заболеваний крупного рогатого скота, свиней, птиц, плотоядных и пушных зверей. В отдельную главу выделены антирабические вакцины, поскольку бешенство поражает все виды животных.

Приводятся результаты научных исследований по селекции вакцинных вирусов, изысканию эффективных систем и методов их культивирования, конструированию и разработке технологии изготовления и определению сроков годности вакцин, отработке доз, схем вакцинации и изучению иммунологической и противозооотической эффективности препаратов. Сообщаются результаты их практического применения.

Описанию разработки вакцин против вирусных болезней каждого вида животных предшествует изложение кратких данных по эпизоотолого-клиническому проявлению, диагностике и специфической профилактике заболеваний, против которых эти вакцины предназначены. Описывается история изучения болезней, возбудители, патогенез, клиника, эпизоотологические данные и распространение на территории Беларуси, применяемые для их профилактики вакцины.

Разработанные вакцины по эффективности не уступают зарубежным аналогам. На все вакцины разработана техническая нормативно-правовая документация, которая передана ОАО «БелВитунифарм». Освоение их производства на ОАО «БелВитунифарм» и расширение производства опытно-экспериментальным отделом РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского» НАН Беларуси позволит полностью удовлетворить потребность в них Республики Беларусь и выйти на экспорт в другие страны.

ПРОТИВОИНФЕКЦИОННЫЙ ИММУНИТЕТ И ЕГО ОСОБЕННОСТИ ПРИ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЯХ

Иммунитет (от лат. *immunitas* – освобождение от чего-либо) в широком понимании – это система защитных реакций организма против факторов внешней среды (в том числе микроорганизмов), нарушающих функциональную целостность организма.

В генетическом аспекте иммунитет рассматривается как способ организма отличить чужеродный материал от своего, так как поступление во внутреннюю среду организма веществ с чужеродной информацией грозит нарушением его химического и структурного состава.

В формировании иммунитета участвует весь организм как целостная система, все защитные механизмы которого взаимосвязаны. Наряду с факторами специфической защиты действуют многочисленные неспецифические факторы.

В противоинфекционной защите организма участвуют неспецифические анатомо-физиологические факторы и высокоспециализированная иммунная система. Естественно, что иммунная система, действующая против распознанного чужеродного патогена с помощью антител и специфически sensibilizированных лимфоцитов, более эффективно обеспечивает противоинфекционную защиту. Однако сопротивляемость и защита организма от инфекций зависит и от многих неспецифических факторов и механизмов (кожные и слизистые барьеры, бактерицидность секретов, лизоцим, комплемент и др.).

Учение об иммунитете к инфекционным агентам берет свое начало от эмпирических наблюдений, сделанных в XVII–XVIII вв., о развитии пожизненной невосприимчивости к заражению оспой, свинкой, корью у людей, переболевших этими инфекциями в детском возрасте.

Возможность создания противовирусного иммунитета искусственным путем была впервые доказана Эдвардом Дженнером, предложившим предупредить натуральную оспу с помощью введения детям безвредного для человека вируса коровьей оспы.

Научный подход к изучению противовирусного иммунитета заложен в конце XIX в. работами основоположников иммунологии Л. Пастера, И. И. Мечникова, П. Эрлиха. Их идеи и концепции легли в основу успешного развития современной иммунологии в середине XX в. и в последние 30–50 лет, когда осуществилось открытие молекулярной структуры главной основы наследствен-

ности – ДНК – и получили развитие молекулярная биология и молекулярная генетика.

Современная иммунология рассматривает иммунитет как защитное биологическое свойство живого организма: биологический механизм обусловлен и реализуется исключительно с участием клеток лимфоидной системы – лимфоцитов – в кооперации между собой и клетками других систем организма. Иммунная система функционально связана с другими системами организма, и иммунитет как функция организма является сложным многокомпонентным феноменом.

Иммунитет – эволюционное историческое приобретение многоклеточных. Начиная с челюстных рыб у многоклеточных появились особые клетки – лимфоциты, с которыми связан новый и самый уникальный механизм защиты, работающий на клеточном и молекулярном уровнях, – лимфоцитарный иммунитет. И это эволюционное событие оказалось весьма важным для выживания видов многоклеточных животных, особи которых оставляют относительно малочисленное потомство. Таких видов многоклеточных всего 1,4%. Следовательно, естественный отбор в процессе эволюции закрепил феномен иммунитета для выживания особей малопродуктивных видов.

Что нового появилось в организме многоклеточных по сравнению с одноклеточными, от чего многоклеточным надо защищаться в целях своего выживания и сохранения целостности вида? Иммунитет защищает организм многоклеточных от агрессивных патогенных микроорганизмов и гельминтов, а также от онтогенетически отживших и поврежденных, травмированных собственных клеток. Таким образом, иммунитет очищает организм от агрессивного проникновения в его внутреннюю среду чужеродных ингаляционных и аппликаторных вредных субстратов и веществ из окружающей среды через барьерные ткани (ЖКТ, слизистые оболочки дыхательной и выделительной систем, кожа).

Самораспознавание и элиминация (выведение) из организма чужеродных субстанций, собственных, но отживших клеток – уникальный механизм защиты, ставший тем новым эволюционным приобретением многоклеточных, которое лежит в основе функционирования лимфоцитарного иммунитета. Он обусловлен генетической программой синтеза специфических молекул иммуноглобулинов, нейтрализующих, обезвреживающих патоген. Уникальные гены, экспрессия которых обеспечивает синтез антител, функционируют исключительно в единственном типе дифференцированных клеток многоклеточных – в лимфоцитах.

Таким образом, иммунитет защищает организм от внешних факторов: патогенов, ингаляционных, аппликаторных и ядовитых пищевых внешних веществ, проникающих во внутреннюю среду организма. Также иммунитет обуславливает реакцию организма на трансплантат: при пересадке органов, переливании крови, введении кровепродуктов.

Лимфоцитарный иммунитет является биологической основой гомеостаза организма – динамически равновесного состояния внутренней среды, обеспечивающего нормальное функционирование всех систем организма. Лимфоцитарный иммунитет, как главный биологический механизм защиты организма от генетически чужеродных агентов, распознает «свое» и «чужое», элиминирует «чужое», т. е. осуществляет иммунный надзор. Обобщая вышеизложенное, можно вывести краткую «формулу» иммунитета: «иммунитет = распознавание генетически чужеродной субстанции + обезвреживание и элиминация патогена».

1.1. Становление научного изучения иммунитета

Наблюдения естествоиспытателей конца XIX в. и эксперименты доказали, что сыворотка крови человека и животных, больных и выздоровевших от инфекционных болезней, способна инактивировать инфекционность (заразительность, болезнетворность) патогена, вызвавшего данное заболевание. Возникло предположение, что в процессе инфекционного заболевания в крови появляются специфические защитные субстанции, которых нет в крови здоровых.

Первыми теоретическими концепциями о механизмах защиты организма от инфекции были клеточная фагоцитарная теория И. И. Мечникова (1883 г.) и гуморальная теория П. Эрлиха (1890 г.), так называемая теория боковых цепей, которая обосновывала образование антител. Эрлих впервые выдвинул понятия «антитело» и «антиген», очень образно объяснил специфичность взаимодействия этих иммуногенных субстанций, их взаимную комплементарность, подобно тому, как ключ подходит к замку. П. Эрлих как химик предположил, что на поверхности клеток, вырабатывающих антитела под действием антигена, появляются разнообразные химические группы, играющие роль рецепторов, комплементарно соединяющихся с соответствующими химическими группами антигена (патогена), тем самым стимулируется выработка большого количества антител. Часть этих антител отрывается от цитомембраны и включается в циркуляцию крови.

К. Ландштайнер в 1937 г. выдвинул гипотезу об активной роли антигена в формировании специфичностей образующихся антител. Опыты К. Ландштайнера в получении специфических антисывороток против искусственно синтезированных веществ стали предпосылкой для выдвинутой им инструктивной теории иммунитета, или теории прямой матрицы. Согласно этой теории антитела в организме исходно все одинаковы, но при контактах с разными антигенами приобретают различие во вторичной структуре – «приспосабливаются» к молекулам антигена.

Позднее А. Л. Полинг в 1940 г. и Ф. Гауровиц в 1953 г. на основе этой гипотезы К. Ландштайнера сформулировали гипотезу прямой матрицы (штампа): антиген проникает в клетку и выполняет роль матрицы, обуславливающей

конформационные изменения молекул синтезируемых антител, обеспечивающих их специфичность к антигену.

Ф. Бернет и Ф. Феннер в 1949 г. предложили теорию непрямой матрицы, выдвинув понятие «аутометка», предположив, что все клетки организма несут молекулярные группы (антигены), свойственные данному организму.

Теории непрямой матрицы предшествовало открытие феномена двойного распознавания Питером Догерти и Рольфом Цинкернагелем (Нобелевская премия 1996 г.), который лежит в основе взаимодействия антигенпредставляющей клетки (макрофага) с Т-лимфоцитом. Макрофаги осуществляют фагоцитоз чужеродных субстанций, в том числе и патогенов, производя захват и метаболизирование захваченного субстрата (процессирование антигена); оставшиеся частицы экспонируются на поверхность цитомембраны – небольшая доля антигена (<1%). Т-лимфоциты, осуществляя иммунный надзор, распознают чужеродные молекулы в ассоциации с молекулами класса I и класса II МНС на макрофагах. Эти фрагменты антигена активируют (сенсibiliзируют) Т-лимфоциты. Рецепторы Т-лимфоцита распознают аминокислотную последовательность фрагментов антигена, связываемых в полости молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС) на макрофагах, паратопы антител в отличие от этого распознают конформационные детерминанты антигена – эпитопы. Макрофаги передают сигнал от антигена не любому Т-лимфоциту, а только «своему», тождественному по генам МНС. Специальный рецептор CD на Т-лимфоците (CD4+ Т-лимфоцит) узнает антигенпредставляющую клетку (АПК). При этом распознавание идет еще по нескольким антигенам, генетически детерминированным, при этом взаимодействующие клетки обмениваются рядом различных цитокинов, среди которых интерлейкины, факторы некроза опухоли, колониестимулирующий фактор и другие вещества (рис. 1.1).

Н. Йерне и Ф. Бернет в 1964 г. сформулировали клонально-селекционную теорию – теорию развития иммунного ответа на основе свойства иммунокомпетентных клеток распознавать отдельные эпитопы антигена с помощью синтезируемых ими антигенспецифических рецепторов. Теория предложена Ф. Бернетом и развита Н. Йерне. По предположению Ф. Бернета, в организме существует до 10 тыс. Т-лимфоцитов и до 10 тыс. В-лимфоцитов, потенциально готовых специфически реагировать на определенный антиген и преадаптированных синтезировать специфические антитела.

Клонально-селективная теория постулирует образование клонов Т- и В-лимфоцитов, имеющих комплементарные данному антигену рецепторы, которые связывают его, взаимно регулируют активность друг друга. В результате происходит антигенспецифическая селекция соответствующего клона лимфоцитов, их клональная пролиферация и дифференциация, превращение в эффекторные (плазматические для В-лимфоцитов, хелперные или киллерные для Т-лимфоцитов) клетки и клетки памяти. Антиген как бы служит индуктором отбора специфических ему лимфоцитов, выполняя селекционирующую роль. Эта теория получила наибольшее признание в иммунологии.

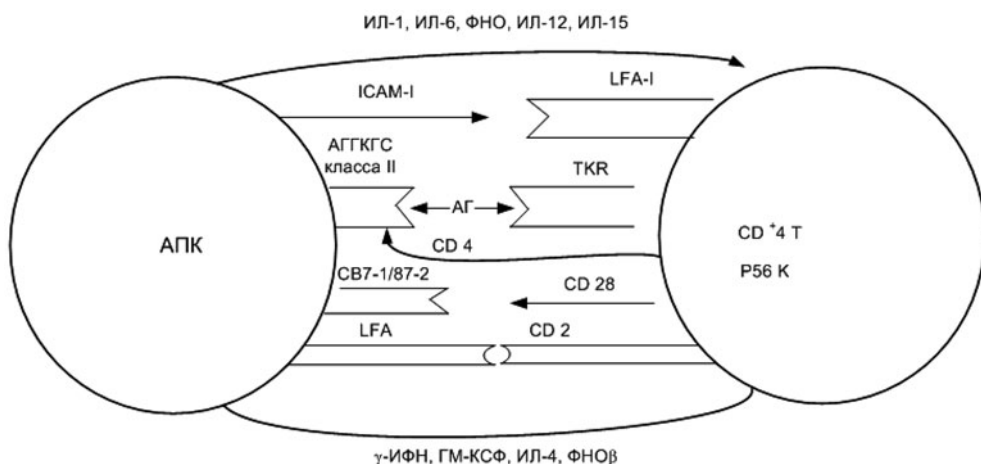


Рис 1.1. Комплексы, участвующие в представлении антигена Т-лимфоцитам антигенпредставляющими клетками: АПК – антигенпредставляющая клетка; CD4+ Т-лимфоцит; АГ – антиген; АГ ГКГС класса II – антигены МНС класса II; ТKR – антигенраспознающий Т-клеточный рецептор; ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-12, ИЛ-15 – интерлейкины-1, 4, 6, 12, 15; ФНО – фактор некроза опухоли; γ -ИФН – гамма-интерферон; ГМ-КСФ – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор

Последующие успехи нескольких поколений отечественных и зарубежных ученых-иммунологов привнесли в учение об иммунитете множество новых идей и научных концепций. Признано, что в основе гуморального и клеточного иммунного ответа, аллергии и аутоиммунных процессов лежит интенсивный иммунный ответ популяции лимфоцитов, составляющих клон определенной специфичности (экспансия клона) на действие конкретного антигена (эпитопа).

1.2. Системы противoinфекционного иммунитета

1.2.1. Антитела

Антитела (иммуноглобулины) – биологически активные белковые молекулы (гликопротеины), синтезируемые антителообразующими клетками (АОК) пула В-лимфоцитов в ответ на воздействие антигенов. Основная функция антител состоит в специфичном распознавании и связывании чужеродного антигена и индукции важнейших иммунофизиологических процессов в организме, направленных на его защиту от чужеродных субстанций. Антитела представляют собой сложные белковые молекулы и сами могут служить антигенами. Иммуноглобулины – особое семейство белков. Они составляют 15–20% белков плазмы крови. В состав их входит 18 аминокислот, большая часть которых представлена дикарбоновыми и оксиаминокислотами: глутаминовой и аспа-

рагиновой кислотами, треонином, серином и валином. Различия между γ -глобулинами нормальной и иммунной сыворотки проявляются в способности последних соединяться со специфическим антигеном, а также в константной седиментации, большей вязкости и устойчивости к пепсину и трипсину. Антитела не разрушаются при кратковременном воздействии на них слабых кислот и щелочей, выдерживают нагревание до 60 °С, не инактивируются трипсином в течение 7 дней при температуре 37 °С. Обычно электрический заряд антител противоположен заряду специфического антигена.

АОК иммунной системы продуцируют антитела в форме иммуноглобулинов (Ig) – сложных белков, состоящих из длинных цепей аминокислот, связанных друг с другом с помощью углеводного компонента. Расположение аминокислот в молекуле иммуноглобулина определяет форму укладки и ее конформацию, что обуславливает иммунологические свойства антител. Впервые идентифицировал антитела как γ -глобулины в 1939 г. шведский биохимик Тизелиус Арне Вильгельм Каузин (1902–1971, Нобелевская премия 1948 г.). При электрофорезе сыворотки крови млекопитающих Ig располагаются в зоне наименее подвижной фракции γ -глобулинов и образуют на электрофорреграмме диффузную полосу, что указывает на их гетерогенность (разнообразие). Во фракции γ -глобулинов содержатся все антитела, секретлируемые АОК лимфоцитной системы организма, обладающие специфическим сродством к соответствующим антигенам, которые индуцировали их образование. Сохраняя почти одинаковую общую структуру, антитела отличаются функциональной гетерогенностью, специфичностью к антигену. Число различающихся по специфичности антител оценивается примерно в 20 млн. По современным представлениям, это обеспечивает распознавание 10^5 – 10^6 различных антигенов. В соответствии с международной классификацией сывороточные белки, несущие «антительную» активность, называвшиеся ранее гамма-глобулинами (антителами), получили название иммуноглобулинов. Поэтому термины «антитело» и «иммуноглобулин» используются как синонимы, однако последнему ныне обычно отдается предпочтение, так как он предопределяет иммунологический статус этих белков.

1.2.1.1. Классы и подклассы иммуноглобулинов

В любом организме, синтезирующем антитела, популяция иммуноглобулинов невероятно гетерогенна. У человека известно пять классов иммуноглобулинов: IgM, IgG, IgA, IgE, IgD. Иммуноглобулины каждого класса имеют свой характерный тип тяжелых цепей (γ , μ , α , δ , ϵ). От типа тяжелых цепей зависит принадлежность молекул иммуноглобулинов к тому или иному классу и подклассу. Иммуноглобулины разных классов различаются по физико-химическим и иммунобиологическим свойствам, особенностями специфичного связывания антигенов, размерам молекул, электрзарядам, аминокислотному составу, содержанию углеводов.

Иммуноглобулины классов IgG, IgM, IgA в большом количестве находятся в крови здорового человека; содержание их относительно общего числа в плазме крови здорового человека составляет 70–80, 5–10 и 10–20% соответственно. У сельскохозяйственных животных имеется три основных класса иммуноглобулинов: IgM, IgG, IgA; у отдельных видов теплокровных животных выявлены и IgE.

На основании различий в химическом строении тяжелых цепей в пределах класса у человека выделяют подклассы – изоотипы (от лат. *isos* – подобие) иммуноглобулинов: 4 для IgG, 2 для IgA, 2 для IgM, IgD, IgE.

Молекулы каждого класса иммуноглобулинов могут существовать как в виде секретируемых антител, так и в виде молекул, прикрепленных к клеточной мембране, в последнем случае они являются клеточными трансмембранными белками. Рецепторы подавляющего большинства В-лимфоцитов относятся к IgM и IgG-классам антител. Способность Ig функционировать в виде секретируемых белков (IgA) и в виде стабильных мембранных клеточных рецепторов (IgM, IgG) обеспечивается структурными различиями в концевых участках этих двух разновидностей молекул. Клеточные рецепторы опосредуют ряд эффекторных функций клеток (фагоцитоз, зависимость от антител клеточная цитотоксичность, презентация антигена).

Многообразие классов и подклассов Ig выдвигает проблему познания биологического смысла столь большой гетерогенности антител и их эволюции. Существование классов и подклассов характерно для иммуноглобулинов не только человека, но и всех изученных на сегодняшний день млекопитающих – обезьян, кроликов, морских свинок, крыс, мышей, лошадей, собак, коз, коров, домашней птицы.

У лошадей описаны три класса иммуноглобулинов – IgM, IgG и IgA. У крупного рогатого скота обнаружено три основных класса иммуноглобулинов (IgG, IgM, IgA), которые по многим свойствам близки соответствующим классам Ig человека. Иммуноглобулины IgG представлены двумя подклассами – IgG1, IgG2. При этом IgG2 электрофоретически менее подвижны, чем IgG1. В молозиве обнаружены только IgG1, которые связывают комплемент.

У овец и коз имеются иммуноглобулины классов IgG, IgA, IgM; обнаружены подклассы IgG1 и IgG2. У свиней выявлены классы IgG, IgA, IgM, два подкласса IgG, IgA. У собак описано шесть различных классов, некоторые из них могут соответствовать подклассам Ig человека. У домашних птиц имеются иммуноглобулины классов IgG и IgM. Сравнение Ig животных и человека весьма приблизительно, поскольку идентификация проводится по признаку электрофоретической подвижности.

Иммуноглобулины класса M (IgM) и IgM-подобные белки содержатся в плазме крови человека и почти всех позвоночных. Эволюционно они возникли раньше других классов антител. Равным образом в онтогенезе они также первыми начинают синтезироваться в организме плода и первыми появляются в сыворотке крови после иммунизации организма большинством антигенов.

В пуле сывороточных иммуноглобулинов они составляют около 15% всех классов Ig, средняя концентрация в сыворотке крови 0,4–2,2 г/л, период полураспада – 5 дней. В ходе иммунного ответа сначала появляются антитела класса М (IgM). IgM синтезируются в ответ на проникновение в организм корпускулярных антигенов. Они служат основными рецепторами для антигенов на поверхности клеток. Первичный иммунный ответ на антиген реализуется быстрым синтезом IgM. Однако иммунологическая память у клонов плазматических клеток, синтезирующих IgM, сохраняется недолго или отсутствует вовсе. Поэтому синтез IgM при повторном введении того же антигена осуществляется по первичному типу иммунного ответа. Молекула IgM имеет десять активных центров и способна связывать 10 детерминантных групп антигена, т. е. является десятивалентной. IgM обладают высокой иммунологической активностью, хорошо выраженными агглютинирующими, преципитирующими свойствами, образуют крупные иммунные комплексы, активируют комплемент, что приводит к бактериолизису корпускулярного антигена, усиливает фагоцитоз. Синтез IgM у млекопитающих в основном осуществляется в плазматических клетках селезенки.

Имуноглобулины класса G (IgG) являются основным классом антител, составляют 80% всех иммуноглобулинов сыворотки крови высших позвоночных животных. Концентрация IgG в крови колеблется в пределах от 7 до 18 г/л. Молекулярная масса (ММ) молекул IgG составляет 154 кДа, скорость седиментации – 7S.

IgG имеют два антигенсвязывающих центра. С поливалентными антигенами IgG образуют сетевую структуру, вызывают преципитацию растворимых антигенов, агглютинацию и лизис корпускулярных антигенов благодаря связыванию комплемента. Этот класс иммуноглобулинов синтезируется на протяжении более длительного времени антигенного стимула.

Синтез IgG происходит на высоте иммунного ответа. В значительном количестве IgG синтезируются на повторное введение антигена. Вторичный ответ обладает достаточно высокой авидностью, т. е. сравнительно высокой скоростью связывания с антигеном. Наличие клеток памяти, синтезирующих IgG, позволяет в течение короткого времени в случае необходимости резко увеличить продукцию IgG и создать на протяжении длительного времени иммунитет высокого напряжения.

IgG обладают достаточно высокой эффективностью в противоинойфекционной защите организма, высокой специфичностью и скоростью связывания с антигеном, участвуют в нейтрализации бактериальных токсинов, в иммуногенезе противовирусного иммунитета.

IgG являются единственным классом антител, проникающих через плаценту в организм плода от матери, поэтому у новорожденного имеются IgG, что обеспечивает ему пассивный иммунитет.

Имуноглобулины класса А (IgA) составляют только 5–15% от всех иммуноглобулинов плазмы крови, но преобладают они в экстравакулярных секретах, поэтому их еще называют секреторными (sIgA). sIgA состоит из двух мономер-

ров и одного секреторного компонента. Димерная форма IgA – коэффициент седиментации 11S, ММ 380 кДа, мономерная IgA – константа седиментации 7S, ММ 160 кДа, Сывороточный IgA существует в обычной мономерной форме, составляет 80% от суммарного количества иммуноглобулинов этого класса, на димерную форму приходится до 20%. Субкласс Ig1 преобладает (до 70–95%) в слюне, слезной жидкости, секретах слизистых оболочек носа, рта, бронхов, влагалища, мочевого пузыря.

Важнейшей особенностью sIgA является независимость (автономность) от сывороточных IgA. При наличии IgA в секретах sIgA может отсутствовать в сыворотке крови и наоборот, при наличии секреторного IgA может отсутствовать сывороточный иммуноглобулин. В составе sIgA имеется секреторный s-фрагмент. Секреторный, или экзокринный, sIgA синтезируется не в плазматических клетках, а в клетках секреторного эпителия серозного типа, приобретает секреторный компонент при прохождении молекулы через секреторную эпителиальную клетку. IgA играет существенную роль в местном иммунитете, поскольку препятствуют адгезии микроорганизмов на эпителиальных клетках слизистых оболочек рта, кишечника, дыхательных и мочевыделительных путей. sIgA активирует комплемент по альтернативному пути, что приводит к стимуляции местной фагоцитарной защиты. Этот иммуноглобулин препятствует адсорбции и репродукции вирусов в эпителиальных клетках слизистых оболочек, например, при аденовирусной инфекции, полиомиелите, кори.

Иммуноглобулины класса E (IgE) отличаются от других иммуноглобулинов высокой цитотильностью, т. е. способностью присоединяться к клеткам, в частности, к поверхностным мембранам тучных клеток и базофилов. К этим клеткам молекулы IgE прикрепляются своими Fc-фрагментами. Присоединение антигена к IgE, находящемуся на этих клетках, приводит к выделению гистамина и других активных субстанций, что способствует развитию аллергических заболеваний (сенная лихорадка, бронхиальная астма и др.). Эти антитела получили название реагинов.

IgE содержатся в сыворотке лишь в очень небольших количествах (0,25 мг/л). Они участвуют в противопаразитарной реакции, присоединяясь к тучным клеткам, помогают защищать организм от паразитов, поскольку освобождающиеся при этом из клеток медиаторы способны привлекать атакующие их эозинофилы. IgE термолабильны. Синтез IgE протекает в 100 раз медленнее, чем синтез IgG.

Биологическая роль иммуноглобулинов класса D (IgD) не установлена. В крови здоровых лиц находится в низкой концентрации (0,02–0,03 мг/л), содержание максимума (около 1%) достигает к 10 годам жизни. Период полураспада составляет три дня. IgD мономерны. Экспрессия IgD в большом количестве происходит в основном на мембране развивающихся В-лимфоцитов, которые обнаруживаются в слизистой оболочке толстого кишечника при колитах. IgD принимают участие в дифференцировке В-лимфоцитов и совместно с IgM выполняют функцию рецепторов.

IgM, IgG, IgA, синтезирующиеся в лимфоузлах, селезенке, костном мозге, поступают в кровь и лимфу. Секреторные IgA продуцируются преимущественно в лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистыми оболочками, поэтому они содержатся в больших количествах в секрете слизистых оболочек и в подслизистой ткани.

Механизм и причины переключения в антителосинтезирующей клетке синтеза Ig одного класса на другой пока не ясны. Полагают, что они являются отражением общего закона проявления филогенеза в онтогенезе.

1.2.1.2. Биологические свойства и функции иммуноглобулинов

Имуноглобулины – бифункциональные молекулы. Каждый Ig выполняет две функции. Одна часть молекулы Ig распознает и специфично связывает антиген. Другая часть молекулы Ig осуществляет так называемые эффекторные функции: представляет антиген макрофагам и лимфоцитам, лизирует клетки, содержащие чужеродные антигенные субстанции, оказывает опсонизирующее воздействие, активирует систему комплемента, обуславливает повреждение тканевых базофилов (тучных клеток), по классическому пути нейтрализует токсины, предотвращает проникновение вируса в клетку, избирательно взаимодействует с различными типами клеток организма при участии рецепторов клеточной поверхности. Антитела – единственный фактор безотлагательной защиты организма от сильных ядов (при укусах змей, скорпионов, пчел). Для антител характерна незамедлительность и специфичность связывания антигена. Иммуноглобулины – группа гликопротеинов, которые содержатся в плазме, крови, лимфе, в тканевой жидкости человека и всех других млекопитающих. Все пять классов иммуноглобулинов гомологичны у всех млекопитающих. Участок молекулы антигена, взаимодействующий с антигенсвязывающим центром антитела, называется эпитопом (от греч. *epi* – на, над, сверх, *topos* – место), а соответствующий эпитопу антигена комплементарный участок молекулы антитела – паратопом (греч. *para* – возле, при, *topos* – место).

Антитела функционируют как молекулы-посредники, вовлекающие различные компоненты иммунной системы в распознавание патогенов и продуктов их метаболизма. Нейтрофилы, макрофаги и другие мононуклеарные фагоциты несут на своей поверхности рецепторы для Fc-фрагмента антитела, что обеспечивает поглощение (фагоцитоз) патогена.

Антитела способны не только активировать систему комплемента и стимулировать фагоцитоз, но и специфически связываться с микроорганизмами (антигеном), внедрившимися в организм. Молекулы антител имеют стерическую пространственную конфигурацию, комплементарную антигену, благодаря чему они проявляют свои функциональные свойства. Специфическое распознавание антителами чужеродного антигена – основная функция специфического иммунного ответа.

Организм млекопитающих должен иметь в своем распоряжении сотни и даже миллионы антител с различными антигенраспознающими зонами. Каждый В-лимфоцит, дифференцирующийся в костном мозге, запрограммирован на образование иммуноглобулинов (антител) только одной специфичности. Молекулы этих антител экспрессируются на поверхности цитомембраны лимфоцита и функционируют как рецепторы, имеющие свой индивидуальный распознающий участок. Антиген связывается только с теми рецепторами, которые стереохимически ему соответствуют, т. е. структурно комплементарны.

В-лимфоциты, связавшие антиген, получают пусковой сигнал и дифференцируются в плазматические АОК, продуцирующие свободные циркулирующие антитела (Ig).

В-клетки – предшественники АОК – в обычных условиях делятся медленно, однако в результате стимуляции антигеном В-лимфоцит превращается в плазматическую клетку, специализированную, способную очень активно синтезировать, продуцировать антитела одного класса.

Как происходит стимуляция лимфоцитов под действием специальных антигенов? В отсутствие антигена молекулы антител на поверхности лимфоцита распределяются случайным образом. Добавление антигена оказывает поразительный эффект: расположенные на поверхности лимфоцита антитела вместе с присоединенными антигенами собираются вместе на одном конце клетки, образуя так называемые колпачки. По завершении перераспределения молекулы антител оказываются внутри клетки посредством эндоцитоза. Образование «колпачка» идет с потреблением энергии и при участии сократительных элементов клетки. Следовательно, формирование на поверхности клетки лимфоцита решетки из комплексов «антиген–антитело» ведет к образованию «колпачка», а это стимулирует клеточное деление.

Молекулы разных пяти классов иммуноглобулинов (IgG, IgM, IgD, IgA, IgE) отличаются друг от друга числом активных центров и иммунобиологическими свойствами. У мономеров IgG и IgE в связывании антигенов участвуют два антигенсвязывающих участка (активных центра), обуславливающих бивалентность антител. Наряду с бивалентными антителами известны моновалентные антитела, у которых функционирует только один из двух активных центров, способный связываться лишь с единичной антигенной детерминантой без последующего образования сетевой структуры иммунных комплексов. Такие антитела получили название неполных. Они выявляются в сыворотке крови с помощью реакции Кумбса.

Имуноглобулины проявляют эффекторные функции двух типов: антигензависимые и антигеннезависимые. Антигензависимые функции антитела проявляются после его взаимодействия с антигеном и связаны с инициацией ряда физико-химических процессов, ведущих к уничтожению антигена (чужеродной субстанции). Антигеннезависимые функции антител проявляются там, где они не могут вступать в контакт с антигенами, присоединяясь к мембранам клеток, проходят через плаценту (нормальные антитела).

ОГЛАВЛЕНИЕ

Перечень условных обозначений	3
Введение	5
Глава 1. ПРОТИВОИНФЕКЦИОННЫЙ ИММУНИТЕТ И ЕГО ОСОБЕННОСТИ ПРИ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЯХ	7
1.1. Становление научного изучения иммунитета	9
1.2. Системы противоиногокционного иммунитета	11
1.2.1. Антитела	11
1.2.1.1. Классы и подклассы иммуноглобулинов	12
1.2.1.2. Биологические свойства и функции иммуноглобулинов	16
1.2.1.3. Биосинтез иммуноглобулинов и его механизмы	18
1.2.2. Интерфероны	19
1.2.3. Фагоциты	20
1.2.4. Система комплемента	23
1.2.5. Лизоцим	27
1.2.6. Нормальные клетки-киллеры	29
1.2.7. Системы иммунитета кожи и слизистых оболочек	31
1.3. Эффекторные механизмы иммунитета	32
1.4. Особенности иммунитета при вирусных инфекциях	38
1.5. Противовирусные вакцины и их типы	42
Глава 2. БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ ПРИ ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЯХ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА	50
2.1. Клинико-эпизоотологическое проявление наиболее распространенных вирусных респираторных и желудочно-кишечных болезней крупного рогатого скота	50
2.1.1. Инфекционный ринотрахеит	50
2.1.2. Вирусная диарея	56
2.1.3. Парагрипп-3	60
2.1.4. Ротавирусная инфекция	64
2.1.5. Коронавирусный энтерит	68
2.1.6. Парвовирусная инфекция крупного рогатого скота	70
2.2. Разработка вакцин для профилактики вирусных респираторных и желудочно-кишечных инфекций КРС	72
2.2.1. Общие подходы к конструированию вакцин для профилактики вирусных респираторных и желудочно-кишечных инфекций КРС	72
2.2.2. Подбор, селекционирование и отработка режимов культивирования вакцинных штаммов вирусов	73

2.2.3. Изучение антигенной активности аттенуированных штаммов инфекционного ринотрахеита, диареи, парагриппа-3, рота- и коронавируса на лабораторных и сельскохозяйственных животных	81
2.2.4. Живые моно- и ассоциированные вакцины против вирусных респираторных и желудочно-кишечных инфекций КРС	82
2.2.4.1. Живая моновакцина против инфекционного ринотрахеита КРС	82
2.2.4.2. Живая моновакцина против вирусной диареи КРС.....	88
2.2.4.3. Живая моновакцина против парагриппа-3 КРС.....	93
2.2.4.4. Живая бивалентная вакцина против ИРТ и ВД КРС.....	99
2.2.4.5. Живая трехвалентная вакцина против ИРТ, ВД и ПГ-3 КРС	108
2.2.5. Инактивированные вакцины против вирусных пневмоэнтеритов крупного рогатого скота	118
2.2.5.1. Инактивированная вакцина против ИРТ КРС.....	119
2.2.5.2. Инактивированная ассоциированная вакцина против рота- и коронавирусной инфекций КРС	138
2.2.5.3. Вирус-вакцина инактивированная против ИРТ, ВД и парвовирусной инфекции для профилактики заболеваний репродуктивных органов коров и желудочно-кишечного тракта телят	149
2.2.5.4. Трехвалентная инактивированная вакцина против вирусной диареи, рота-, коронавирусной инфекций КРС	162
2.2.5.5. Поливалентная инактивированная вакцина против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, рота- и коронавирусной инфекций КРС «Тетравак»	175

Глава 3. БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ ПРИ ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЯХ СВИНЕЙ

3.1. Краткие данные по эпизоотолого-клиническому проявлению и специфической профилактике наиболее распространенных в Беларуси вирусных болезней свиней....	189
3.1.1. Вирусный (трансмиссивный) гастроэнтерит свиней	189
3.1.2. Ротавирусная болезнь свиней	192
3.1.3. Болезнь Ауески.....	195
3.1.4. Репродуктивно-респираторный синдром свиней.....	198
3.1.5. Парвовирусная инфекция свиней	201
3.2. Конструирование и разработка технологии производства моно- и ассоциированных вакцин против наиболее распространенных вирусных болезней свиней	203
3.2.1. Моновакцины	204
3.2.1.1. Вакцина инактивированная против ротавирусной болезни свиней «Ротавак»	204
3.2.1.2. Живая вакцина против болезни Ауески свиней	208
3.2.1.3. Инактивированная вакцина против репродуктивно-респираторного синдрома свиней	210
3.2.1.4. Инактивированная вакцина против парвовирусной инфекции свиней «Парвак»	213
3.2.2. Ассоциированные вакцины	217
3.2.2.1. Ассоциированная вакцина против трансмиссивного гастроэнтерита и ротавирусной болезни свиней	217
3.2.2.2. Инактивированная вакцина против трансмиссивного гастроэнтерита, ротавирусной болезни и колибактериоза поросят.....	228
3.2.2.3. Ассоциированная инактивированная вакцина против репродуктивно-респираторного синдрома и пастереллеза свиней.....	232
3.2.2.4. Вакцина ассоциированная против репродуктивно-респираторного синдрома и парвовирусной инфекции свиней	237

Глава 4. СРЕДСТВА СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ПТИЦ	242
4.1. Краткая характеристика наиболее распространенных вирусных болезней птиц	242
4.1.1. Инфекционный ларинготрахеит птиц	242
4.1.2. Инфекционная бурсальная болезнь	248
4.1.3. Ньюкаслская болезнь	253
4.1.4. Инфекционный бронхит кур.....	257
4.1.5. Реовирусная инфекция птиц	260
4.1.6. Синдром снижения яйценоскости.....	264
4.2. Разработка вакцин для профилактики вирусных инфекций птиц	266
4.2.1. Вакцина живая сухая для профилактики инфекционного ларинготрахеита птиц.....	266
4.2.1.1. Селекционирование штамма для изготовления вакцины	266
4.2.1.2. Изготовление и контроль качества вакцины и изучение ее эффективности	276
4.2.2. Вакцины против инфекционной бурсальной болезни.....	287
4.2.2.1. Выделение и изучение полевого изолята вируса ИББ и проведение его аттенуации с целью создания живой вакцины	287
4.2.2.2. Конструирование вакцин живых сухих против ИББ из штаммов КМИЭВ-13 и КМИЭВ-15 и изучение их эффективности	298
4.2.3. Вакцина против ньюкаслской болезни	314
4.2.4. Вакцина против инфекционного бронхита кур.....	319
4.2.5. Инактивированные вакцины против синдрома снижения яйценоскости поливалентные	325
4.2.5.1. Конструирование инактивированных эмульгированных вакцин против НБ, ИБК и ССЯ и против НБ, ССЯ, ИББ и ИБК	325
4.2.5.2. Изучение физико-химических и иммунобиологических свойств поликомпонентных инактивированных вакцин	333
4.2.6. Вакцины против реовирусной инфекции птиц.....	338
4.2.6.1. Вакцина против реовирусной инфекции птиц живая.....	338
4.2.6.2. Вакцина против реовирусной инфекции птиц инактивированная.....	362
Глава 5. АНТИРАБИЧЕСКИЕ ВАКЦИНЫ	369
5.1. Эпизоотолого-клиническое проявление и специфическая профилактика бешенства	369
5.2. Разработка и производство новых антирабических вакцин	376
5.2.1. Вакцина антирабическая жидкая культуральная инактивированная сорбированная из штамма 71 БелНИИЭВ-ВГНКИ «Белраб».....	376
5.2.2. Вакцина антирабическая сухая культуральная инактивированная из штамма 71 БелНИИЭВ-ВГНКИ «Рабириф».....	388
5.2.3. Вакцины для пероральной вакцинации диких плотоядных животных	396
5.2.3.1. Антирабическая вакцина для пероральной вакцинации диких плотоядных животных из штамма КМИЭВ-94 в блистер-приманках	399
Глава 6. БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ ПРИ ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЯХ ПЛОТОЯДНЫХ ЖИВОТНЫХ	409
6.1. Краткие данные по эпизоотолого-клиническому проявлению и специфической профилактике чумы, парвовирусного энтерита и инфекционного гепатита плотоядных животных	409
6.1.1. Чума плотоядных.....	409
6.1.2. Парвовирусный энтерит	414
6.1.3. Инфекционный гепатит.....	421
	491

6.2. Разработка и изучение эффективности новых вакцин против чумы, парвовирусного энтерита и инфекционного гепатита плотоядных животных	426
6.2.1. Моновакцины.....	426
6.2.1.1. Вакцина жидкая культуральная инактивированная сорбированная против чумы плотоядных	426
6.2.1.2. Вакцина жидкая культуральная инактивированная сорбированная против парвовирусного энтерита собак «Парвовак».....	432
6.2.1.3. Вакцина против жидкая культуральная инактивированная сорбированная против инфекционного гепатита плотоядных	438
6.2.2. Поливалентные вакцины	444
6.2.2.1. Вакцина жидкая культуральная инактивированная сорбированная против бешенства и парвовирусного энтерита собак «Парвораб»	444
6.2.2.2. Вакцина «Тривак» против бешенства, чумы и парвовирусного энтерита плотоядных животных, инактивированная.....	454
6.2.2.3. Вакцина «Тетравак» против бешенства, чумы, парвовирусного энтерита и инфекционного гепатита плотоядных животных, инактивированная	464
Заключение	474
Литература	479

Научное издание

Красочко Петр Альбинович,
Ковалев Николай Андреевич,
Насонов Игорь Викторович и др.

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ
ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ВИРУСНЫХ
ЗАБОЛЕВАНИЙ ЖИВОТНЫХ:
РАЗРАБОТКА И ПРОИЗВОДСТВО В БЕЛАРУСИ**

Редактор *О. Н. Пручковская*
Художественный редактор *И. Т. Мохнач*
Технический редактор *О. А. Толстая*
Компьютерная верстка *Ю. А. Агейчик, О. А. Толстая*

Подписано в печать 16.06.2016. Формат 70×100 ¹/₁₆. Бумага офсетная. Печать цифровая.
Усл. печ. л. 40,1+0,33 вкл. Уч.-изд. л. 35,0. Тираж 120 экз. Заказ 120.

Издатель и полиграфическое исполнение:
Республиканское унитарное предприятие «Издательский дом «Беларуская навука».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/18 от 02.08.2013. Ул. Ф. Скорины, 40, 220141, г. Минск.