

ДИНАМИКА ИММУННОГО ОТВЕТА У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ НА ВВЕДЕНИЕ ПРОТЕКТИВНОГО БЕЛКА ВОЗБУДИТЕЛЯ РЕСПИРАТОРНО-СИНЦИТИАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

К.В. Колесникович, аспирант

П.П. Красочко, доктор биологических наук, доцент

Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия ветеринарной медицины, Витебск, Республика Беларусь

E-mail: 5875775@bk.ru

Ключевые слова: респираторно-синцициальная инфекция, белок, вирус, антитела, протективный.

Реферат. Приведены результаты оценки иммунного ответа морских свинок на применение протективного белка вируса респираторно-синцициальной инфекции крупного рогатого скота (РСИ КРС), полученного с помощью рекомбинантной *E. coli* BRSV-F1. Исследования проводились в отраслевой лаборатории ветеринарной биотехнологии и заразных болезней животных Витебской ордена «Знак Почёта» государственной академии ветеринарной медицины. Исследован средний титр специфических антител морских свинок на применение протективного белка вируса РСИ КРС у 9 подопытных групп и 1 контрольной. Отбор проб крови осуществляли в начале опыта, перед второй иммунизацией и спустя 14 суток после повторной иммунизации. Средний титр специфических антител на применение протективного белка вируса РСИ КРС определяли с помощью реакции непрямой гемагглютинации с эритроцитарным диагностикумом, содержащим респираторно-синцициальный вирус крупного рогатого скота (РСВ КРС). При введении образцов прототипа вакцины, содержащих ген, кодирующий продукцию белка вируса РСИ КРС: 1-й группе – цельных бактерий *E. coli* BRSV-F1 с индуктором синтеза белка IPTG; 2-й – цельных бактерий *E. coli* BRSV-F1 с индуктором синтеза белка IPTG + 15% адьюванта ИЗА-15; 3-й – лизата бактерий *E. coli* BRSV-F1 с индуктором синтеза белка IPTG; 4-й – лизата бактерий *E. coli* BRSV-F1 с индуктором синтеза белка IPTG + 15% адьюванта ИЗА-15; 5-й – протективного белка F1 + 15% адьюванта ИЗА-15; 6-й – протективного белка F1 + 2% целлюлозы, 7-й – инактивированного РСВ КРС (ОАО «Белвитунифарм») + 15% адьюванта ИЗА-15; 8-й – вакцины Hiprabovis 4 (HIPRA, Испания) и 9-й – вакцины Bovi-shield Gold FP 5 L5 (Zoetis, США) – у подопытных групп отмечено увеличение титра антител в парных сыворотках крови по сравнению с контрольной группой. Из полученных данных сделан вывод, что исследуемые образцы прототипа вакцины, содержащие ген, кодирующий продукцию белка РСВ КРС, не уступают по иммуногенной активности вакцинам Bovi-shield Gold FP 5 L5 и Hiprabovis 4. Следовательно, протективный белок вируса РСИ КРС может быть включен в состав вакцин против данной патологии с целью замены культурального вируса.

DYNAMICS OF THE IMMUNE RESPONSE IN LABORATORY ANIMALS TO THE INTRODUCTION OF A PROTECTIVE PROTEIN OF THE CAUSE OF RESPIRATORY SYNCYTIAL INFECTION IN CATTLE

K.V. Kolesnikovich, PhD student

P.P. Krasochko, Doctor of Biological Sciences, Associate Professor

Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

E-mail: 5875775@bk.ru

Keywords: respiratory syncytial infection, protein, virus, antibodies, protective.

Abstract. The authors in the article presented the results of assessing the immune response of guinea pigs using the protective protein of the bovine respiratory syncytial infection virus (RSI), obtained using recombinant *E. coli* BRSV-F1. The research was carried out in the branch laboratory of veterinary biotechnology and infectious animal diseases of the Vitebsk Order of the Badge of Honor of the State Academy of Veterinary Medicine. The average titer of specific antibodies of guinea pigs to the use of the protective protein of the bovine RSI virus was studied in 9 experimental groups and one control group. Blood sampling was carried out at the beginning of the experiment, before the second immunisation and 14 days after the second immunisation. The average titer of specific antibodies to the use of the protective protein of the bovine RSI virus was determined using an indirect hemagglutination reaction with an erythrocyte diagnosticum containing the bovine respiratory syncytial virus

(RSV). With the introduction of samples of the prototype vaccine containing the gene encoding the production of the bovine RSV virus protein: group 1 - whole bacteria *E. coli* BRSV-F1 with an inducer of protein synthesis IPTG; 2nd, whole bacteria *E. coli* BRSV-F1 with protein synthesis inducer IPTG + 15% adjuvant IZA-15; 3rd, bacterial lysate *E. coli* BRSV-F1 with an inducer of protein synthesis IPTG; 4th – *E. coli* bacterial lysate BRSV-F1 with protein synthesis inducer IPTG + 15% adjuvant IZA-15; 5th - protective protein F1 + 15% adjuvant IZA-15; 6th - protective protein F1 + 2% cellulose, 7th - inactivated bovine RSV (JSC «Belvitunipharm») + 15% adjuvant IZA-15; 8th - Hiprabovis 4 vaccines (HIPRA, Spain) and 9th - Bovi-shield Gold FP 5 L5 vaccines (Zoetis, USA) - in the experimental groups, an increase in antibody titer in paired blood sera was noted compared to the control group. From the data obtained, it was concluded that the studied samples of the vaccine prototype containing the gene encoding the production of the bovine RSV protein are not inferior in immunogenic activity to the vaccines Bovi-shield Gold FP 5 L5 and Hiprabovis 4. Therefore, the protective protein of the bovine RSV virus can be included in the composition of vaccines against this pathology to replace the cultural virus.

Вирусные респираторные инфекции телят в условиях промышленных животноводческих предприятий Республики Беларусь имеют широкое распространение и наносят большой экономический ущерб животноводству [1, 2].

В этиологической структуре вирусных респираторных инфекций наиболее часто основную роль играют вирусы инфекционного ринотрахеита (ИРТ), вирусной диареи (ВД), парагриппа-3 (ПГ-3), респираторно-синцитиальной инфекции (РСИ) [3–5].

Одним из эффективных способов в борьбе с факторными болезнями молодняка крупного рогатого скота является специфическая профилактика [6, 7]. Немаловажным этапом при изготовлении вакцин является процесс накопления вирусов [8]. Однако не все вирусы способны накапливаться в высоких титрах в культуре клеток. Так, если вирусы ИРТ, ВД и ротавирусы могут накапливаться до титра 7,5-8,5 lg ТЦД 50/мл, что достаточно для изготовления вакцин, то репродукция таких вирусов, как вирус ПГ-3, РСИ и коронавирус, не всегда высокая, и после культивирования их титр часто не достигает и 4,5 lg ТЦД 50/мл, что требует концентрирования вирусосодержащего материала для получения высокоактивной вакцины [9, 10]. В связи с этим для повышения накопления антигенов актуальным является использование генно-инженерных технологий [11]. Их применяют для получения как рекомбинантных антигенов, так и рекомбинантных вакцин. Генно-инженерные (рекомбинантные) вакцины получают путем введения генов, кодирующих основные антигены патогенов вирусов, в геном микроорганизмов-реципиентов. Такие вакцины являются безопасными для введения, инфекционные агенты не реплицируются в организме животных, просты в производстве, экономичны и не имеют вредного воздействия из-за нежелательных антигенных материалов [12, 13, 14].

Целью исследований явилась оценка иммунного ответа морских свинок на применение протективного белка вируса РСИ КРС.

Использование протективного белка вируса РСИ КРС, полученного с помощью рекомбинантной *E. coli* BRSV-F1, позволит:

- частично заменить в ассоциированных противовирусных вакцинах монокомпонент культурального РСВ протективным белком, что снизит себестоимость дозы ассоциированных вакцин против вирусных инфекций крупного рогатого скота на 20–25 % за счет удешевления специфического монокомпонента вакцин;

- повысить эффективность действия ассоциированных вакцин, содержащих протективный белок вируса РСИ КРС и используемых против вирусных инфекций, до 96 % за счет повышения иммуногенности вакцин.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В Институте микробиологии Национальной академии наук Беларуси был проведен эксперимент по созданию генетической конструкции, включающей в себя ген F1, кодирующий субъединицу фьюжн-белка РСВ КРС, выделенный методом ПЦР и встроенный в вектор pET42a(+) *E. coli*. На основе полученного вектора создан новый штамм – продуцент субъединицы фьюжн-белка, которая содержит на С-конце молекулы октогистидиновый олигопептид, упрощающий очистку до одной стадии. Новый штамм *E. coli* F1 продуцирует субъединицу фьюжн-белка РСВ КРС, которую в дальнейшем можно использовать для изготовления вакцин против респираторной инфекции, вызываемой данным вирусом.

Экспериментальные исследования применения образцов прототипа вакцины, содержащих ген, кодирующий продукцию белка вируса РСИ КРС, проводились в условиях отраслевой лаборатории ветеринарной биотехнологии и заразных болезней животных Витебской орде-

на «Знак Почёта» государственной академии ветеринарной медицины.

Для оценки иммунного ответа морских свинок на применение образцов прототипа вакцины, содержащих ген, кодирующий продукцию белка вируса РСИ КРС, сформировали 10 групп в возрасте 60–90 дней по 5 голов: 1–9-я – подопытные, 10-я – контрольная. Первой группе были введены цельные бактерии *E. coli* BRSV-F1 с индуктором синтеза белка IPTG (суспензия от белого до соломенно-желтого цвета со специфическим запахом, в дозе 0,5 мл/гол. с концентрацией 1,5 млрд м. т.); 2-й – цельные бактерии *E. coli* BRSV-F1 с индуктором синтеза белка IPTG + 15% адьювант ИЗА-15 (эмульсия белого цвета, в дозе 0,5 мл/гол. с концентрацией 1,5 млрд м. т.); 3-й – лизат бактерий *E. coli* BRSV-F1 с индуктором синтеза белка IPTG (эмульсия светло-желтого цвета, в дозе 0,5 мл/гол. с концентрацией 1,5 млрд м. т.); 4-й – лизат бактерий *E. coli* BRSV-F1 с индуктором синтеза белка IPTG + 15% адьювант ИЗА-15 (эмульсия белого цвета, в дозе 0,5 мл/гол. с концентрацией 1,5 млрд м. т.); 5-й – протективный белок F1 (прозрачная жидкость, 30 мкг на дозу) + 15% адьюванта ИЗА-15; 6-й – протективный белок F1 (прозрачная жидкость, 30 мкг на дозу) + 2 % целлюлозы; 7-й – инактивированный РСВ КРС (эмульсия розового цвета, производство ОАО «Белвитунифарм») + 15% адьюванта ИЗА-15; 8-й и 9-й – вакцины Hiprabovis 4 (производство Laboratorios Hipra, S.A., Испания) и Bovi-shield Gold FP 5 L5 (производство Zoetis Inc., США) соответственно, содержащих культуральный РСВ (в дозе по 6 мл/гол.).

Наработку биомассы клеток *E. coli* проводили в двухлитровых колбах Эрленмейера с 500 мл жидкой питательной среды. Стерилизацию среды проводили горячим паром под давлением в режиме 0,5 атм в течение 15 мин. После стерилизации в среду вносили канамицин до концентрации 100 мкг/мл. Культивирование бактерий осуществляли при температуре 37 °С и со скоростью вращения шейкера-инкубатора 200 об/мин до оптической плотности бактериальной культуры $A_{600}=0,6$, после чего проводили индукцию синтеза добавлением в среду культивирования изопропил-Р-D-1-тиогалактопиранозид до конечной концентрации 0,5 мМ. После индукции клеток культивирование продолжали в течение 24 ч. По окончании выращивания клетки осаждали центрифугированием при 15000 g в течение 10 мин и дважды отмывали от питательной среды 0,15 М раствором NaCl. Получили клеточную биомассу в количестве 11,3 г сухих клеток. Масса протективного белка вируса РСИ КРС соста-

вила 7 мг. Трансформацию клеток *E. coli* BL21 (DE3) проводили методом электропорации с помощью вектора pET42a(+), несущего последовательность гена субъединицы фьюжн-белка РСВ КРС, полученного стандартными генно-инженерными методами.

Исследуемые образцы вводили в объеме по 0,5 мл внутримышечно в бедренную область два раза с промежутком 14 дней. Отбор проб крови осуществляли в начале опыта, перед второй иммунизацией и спустя 14 дней после повторной иммунизации. Средний титр специфических антител морских свинок на применение протективного белка вируса РСИ КРС определяли с помощью РНГА с эритроцитарным диагностикумом, содержащим РСВ КРС. РНГА ставили в соответствии с учебным пособием «Вирусология. Практикум» под ред. Р.Б. Корочкина [15] и с методическими указаниями по применению набора жидких цветных эритроцитарных диагностикумов. Диагностический титр РС-инфекции у телят в РНГА составляет 1:16. Статистическую обработку данных проводили в программе Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

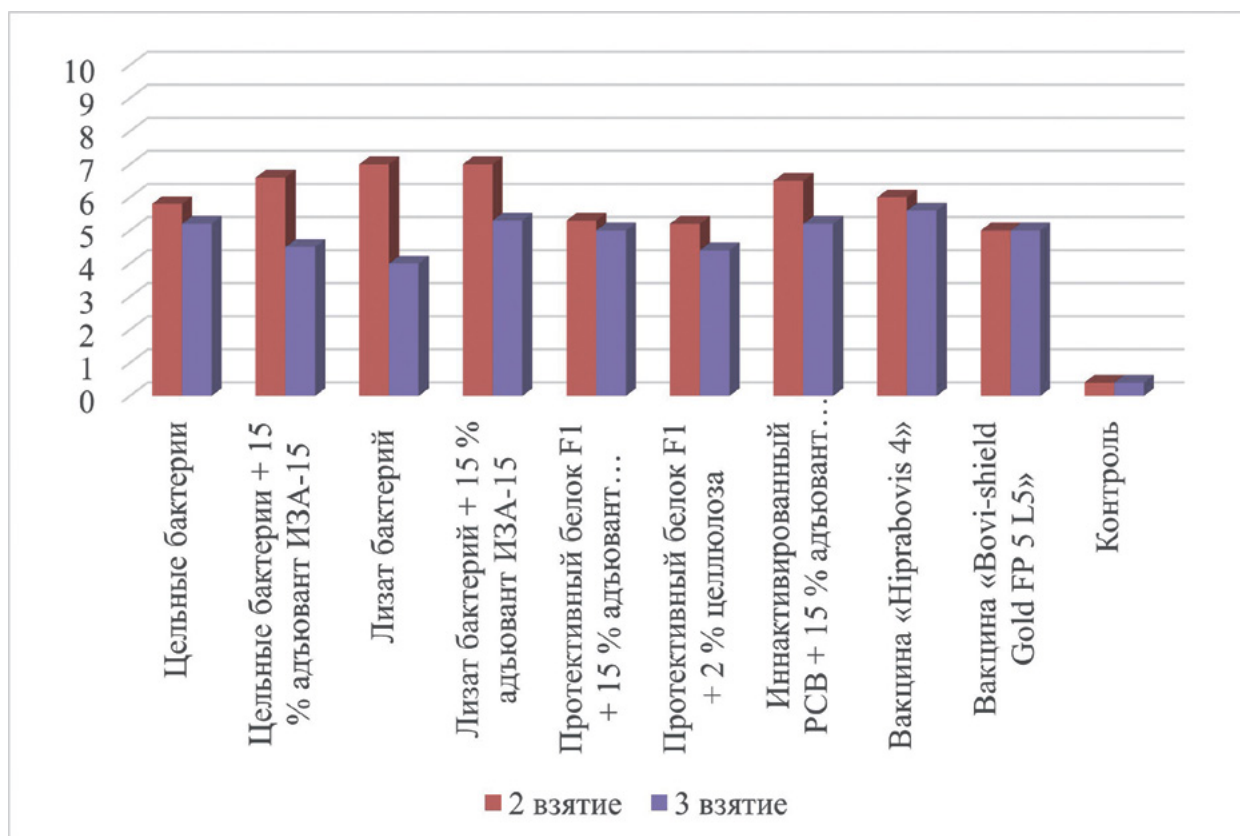
Для повышения профилактической эффективности вакцин и снижения их себестоимости перспективным является конструирование вакцин с использованием протективного белка вируса РСИ КРС.

Результаты оценки иммунного ответа морских свинок на применение протективного белка вируса РСИ КРС отражены на рисунке. Средний титр специфических антител на применение протективного белка вируса РСИ КРС определялся у животных подопытных и контрольной групп. В начале эксперимента титр специфических антител у подопытных групп составил $0,40 \pm 0,24 \log_2$.

Через 14 суток после введения цельных бактерий *E. coli* BRSV-F1 с индуктором синтеза белка IPTG у морских свинок наблюдалось увеличение титра антител с $0,40 \pm 0,24$ до $5,80 \pm 1,07 \log_2$, а затем снижение до $5,20 \pm 0,58 \log_2$ после второго введения. После введения цельных бактерий *E. coli* BRSV-F1 с индуктором синтеза белка IPTG + 15% адьюванта ИЗА-15 титр антител увеличился с $0,40 \pm 0,24$ до $6,60 \pm 0,74 \log_2$, а затем снизился до $4,50 \pm 1,50 \log_2$ после второго введения. После введения лизата бактерий *E. coli* BRSV-F1 с индуктором синтеза белка IPTG титр антител увеличился с $0,40 \pm 0,24$ до $7,00 \pm 0,00 \log_2$, а затем снизился до $4,00 \pm 0,57 \log_2$ после второго введения. После введения лизата бактерий *E. coli* BRSV-F1 с ин-

дуктором синтеза белка IPTG +15% адьюванта ИЗА-15 титр антител увеличился с $0,40 \pm 0,24$ до $7,00 \pm 0,68 \log_2$, а затем снизился до $5,3 \pm 0,80 \log_2$ после второго введения. После введения протективного белка F1 + 15% адьюванта ИЗА-15 титр антител возрос с $0,40 \pm 0,24$ до $5,30 \pm 0,88 \log_2$, а затем снизился до $5,00 \pm 1,00 \log_2$ после второго введения. После введения протективного белка F1 + 2 % целлюлозы титр антител повысился с $0,40 \pm 0,24$ до $5,20 \pm 1,07 \log_2$, а затем снизился до $4,40 \pm 0,81 \log_2$ после второго

введения. После введения инактивированного РСВ КРС + 15% адьюванта ИЗА-15 титр антител увеличился с $0,40 \pm 0,24$ до $6,50 \pm 0,56 \log_2$, а затем снизился до $5,20 \pm 0,60 \log_2$ после второго введения. После использования вакцин Hiprabovis 4 и Bovi-shield Gold FP 5 L5 титр антител увеличился с $0,40 \pm 0,24$ до $6,00 \pm 0,84$ и $5,00 \pm 0,45 \log_2$ соответственно, а затем снизился до $5,60 \pm 0,67$ и $5,00 \pm 0,77 \log_2$ после второго введения.



Средний титр специфических антител морских свинок на применение протективного белка вируса РСВ КРС ($\log_2$)

The average titer of specific antibodies of guinea pigs to the use of the protective protein of the bovine RSV ($\log_2$)

Изучая динамику уровня специфических антител у морских свинок подопытных групп, мы пришли к выводу, что иммунный ответ морских свинок после введения цельных бактерий *E. coli* BRSV-F1 с индуктором синтеза белка IPTG; цельных бактерий *E. coli* BRSV-F1 с индуктором синтеза белка IPTG + 15% адьюванта ИЗА-15; лизата бактерий *E. coli* BRSV-F1 с индуктором синтеза белка IPTG + 15% адьюванта ИЗА-15; лизата бактерий *E. coli* BRSV-F1 с индуктором синтеза белка IPTG и протективного белка F1 + 15% адьюванта ИЗА-15; протективного белка F1 + 2 % целлюлозы находится на уровне, соответствующем при-

менению коммерческих вакцин, содержащих культуральный вирус.

ВЫВОДЫ

1. Исследуемые образцы прототипа вакцины, содержащие ген, кодирующий продукцию белка вируса РСВ КРС, не уступают по иммуногенной активности вакцинам Bovi-shield Gold FP 5 L5 и Hiprabovis 4.

2. Протективный белок вируса РСВ КРС может быть включен в состав вакцин против данной патологии с целью замены культурального вируса.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Синица А.Е.* Роль вирусов в возникновении респираторных болезней телят // Студенты – науке и практике АПК: материалы 104-й Междунар. науч.-практ. конф. студентов и магистрантов, г. Витебск, 23 мая 2019 г. / Витеб. гос. акад. вет. медицины. – Витебск: ВГАВМ, 2019. – С. 141–142.
2. *Диагностика, лечение, профилактика и меры борьбы с респираторными болезнями молодняка крупного рогатого скота инфекционной этиологии: рекомендации / Н. В. Синица [и др.].* – Витебск: ВГАВМ, 2019. – 56 с.
3. *Эпизоотическая ситуация по инфекционным болезням молодняка крупного рогатого скота в Республике Беларусь / В.В. Максимович [и др.]* // Учёные записки Учреждения образования «Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины»: научно-практический журнал. – Витебск, 2013. – Т. 49, вып. 1. – С. 37–41.
4. *Пташок А.Л.* Анализ результатов производственных испытаний инактивированной вакцины против инфекционного ринотрахеита и парагриппа-3 крупного рогатого скота // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины». – 2017. – Т. 53, вып. 3. – С. 74–77.
5. *Влияние инактивированной вакцины против вирусных респираторных инфекций на морфологические показатели крови у коров и телят / А.В. Притыченко [и др.]* // Научные основы производства и обеспечения качества биологических препаратов для АПК: материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 100-летию со дня рождения Ивана Васильевича Звягина, октябрь 2020 г. / Всерос. н.-и. и технол. ин-т биол. пром-сти. – Щелково, 2020. – С. 132–137.
6. *Бурова О.А., Блохин А.А.* Системный подход к разработке методов профилактики желудочно-кишечных болезней новорожденных телят // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2017. – № 2 (57). – С. 46–50.
7. *Ламан А.М., Тумилович Г.А.* Современные аспекты специфической профилактики вирусно-бактериальных пневмоэнтеритов телят крупного рогатого скота // Современные технологии сельскохозяйственного производства: сб. науч. ст. по материалам XXI Междунар. науч.-практ. конф. (г. Гродно, 18 мая 2018 г.). – Гродно: ГГАУ, 2018. – С. 52–56.
8. *Viruses and Virus-Like Particles in Biotechnology: Fundamentals and Applications / A. Roldão [et al.]* // Comprehensive Biotechnology. – 2017. – Vol. 5. – P. 633–656.
9. *Current Animal Models for Understanding the Pathology Caused by the Respiratory Syncytial Virus / M.J. Altamirano-Lagos, F.E. Díaz, M.A. Mansilla [et al.]* // Front. Microbiol. – 2019. – Vol. 10, N 5. – P. 330–332.
10. *McGill J.L.* The Immunology of Bovine Respiratory Disease: Recent Advancements // Vet. Clin. North Am Food Anim. Pract. – 2020. – Vol. 36, N 2. – P. 333–348.
11. *Ciftci K.* Applications of genetic engineering in veterinary medicine // Advanced drug delivery reviews. – 2000. – Vol. 43. – P. 57–64.
12. *Макаревич Е.В.* Промышленная микробиология и основы биотехнологии: учеб. пособие для студентов вузов. – Мурманск: МГТУ, 2009. – 303 с.
13. *Jorge S.* The development of veterinary vaccines: a review of traditional methods and modern biotechnology approaches // Biotechnol. Res. Innov. – 2017. – Vol. 1. – P. 6–13.
14. *Van Kampen K.R.* Recombinant vaccine technology in veterinary medicine // Vet. Clin. North Am Small Anim. Pract. – 2001. – Vol. 31, N 3. – P. 5–8.
15. *Вирусология. Практикум: учеб. пособие / Р.Б. Корочкин [и др.]; под ред. Р.Б. Корочкина.* – Минск: ИВЦ Минфина, 2013. – 256 с.

REFERENCES

1. *Sinita N.V., Studenty – nauke i praktike APK (Students – science and practice of agriculture), [Materials of the 104th International Scientific and Practical Conference, Vitebsk: VGAVM, 2019, pp. 141–142. (In Russ.)*

2. Sinitza N.V. et al., *Diagnostika, lechenie, profilaktika i mery bor'by s respiratornymi boleznyami molodnyaka krupnogo rogatogo skota infektsionnoy etiologii* (Diagnostics, treatment, prevention and measures to combat respiratory diseases of young cattle of infectious etiology), Vitebsk: VGAVM, 2019, 56 p.
3. Maksimovich V.V. et al., *Uchenye zapiski Uchrezhdeniya obrazovaniya «Vitebskaya ordena «Znak Pocheta» gosudarstvennaya akademiya veterinarnoy meditsiny»*, Vitebsk, 2013, Vol. 49, Iss. 1, pp. 37–41. (In Russ.)
4. Ptashok A.L., *Uchenye zapiski Uchrezhdeniya obrazovaniya «Vitebskaya ordena «Znak Pocheta» gosudarstvennaya akademiya veterinarnoy meditsiny»*, 2017, Vol. 53, Iss. 3, pp. 74–77. (In Russ.)
5. Pritychenko A.V. i dr., *Nauchnye osnovy proizvodstva i obespecheniya kachestva biologicheskikh preparatov dlya APK* (Scientific bases of production and quality assurance of biological preparations for agriculture), Materials of the International scientific and practical conference, Shchelkovo, 2020, pp. 132–137. (In Russ.)
6. Burova O.A., Blokhin A.A., *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka*, 2017, No. 2 (57), pp. 46–50. (In Russ.)
7. Laman A.M., Tumilovich G.A., *Sovremennye tekhnologii sel'skokhozyaystvennogo proizvodstva* (Modern technologies of agricultural production), Collection of scientific articles based on the materials of the XXI International Scientific and Practical Conference (Grodno, May 18, 2018), Grodno: GGAU, 2018, pp. 52–56.
8. Roldão A. et al., Viruses and Virus-Like Particles in Biotechnology: Fundamentals and Applications, *Comprehensive Biotechnology*, 2017, Vol. 5, P. 633–656.
9. Altamirano-Lagos M.J., Díaz F.E., Mansilla M.A. et al., Current Animal Models for Understanding the Pathology Caused by the Respiratory Syncytial Virus, *Front. Microbiol.*, 2019, Vol. 10, No. 5, pp. 330–332.
10. McGill J.L., The Immunology of Bovine Respiratory Disease: Recent Advancements, *Vet. Clin. North Am Food Anim. Pract.*, 2020, Vol. 36, No. 2, P. 333–348.
11. Ciftci K., Applications of genetic engineering in veterinary medicine, *Advanced drug delivery reviews*, 2000, Vol. 43, pp. 57–64.
12. Makarevich E.V., *Promyshlennaya mikrobiologiya i osnovy biotekhnologii* (Industrial microbiology and fundamentals of biotechnology), Murmansk: MSTU, 2009, 303 p.
13. Jorge S., The development of veterinary vaccines: a review of traditional methods and modern biotechnology approaches, *Biotechnol. Res. Innov.*, 2017, Vol. 1, pp. 6–13.
14. Van Kampen K.R., Recombinant vaccine technology in veterinary medicine, *Vet. Clin. North Am Small Anim. Pract.*, 2001, Vol. 31, No. 3, P. 5–8.
15. Korochkin R.B. et al., *Virusologiya* (Virology), Minsk: IVC of the Ministry of Finance, 2013, 256 p.