

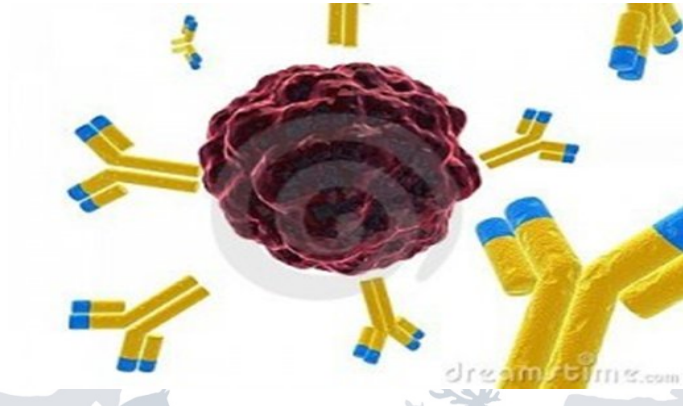


**АНО «НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ДИАГНОСТИКИ
И ПРОФИЛАКТИКИ БОЛЕЗНЕЙ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ»**

**МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
«ВЕТЕРИНАРИЯ В АПК-2022»**

О. А. Верховский, доктор биологических наук, профессор

**Стратегия DIVA в борьбе с инфекционными болезнями
свиней (болезнь Ауески, классическая чума свиней)**



г. Новосибирск - 02 июня 2022 г.

Современные вакцины в ветеринарии:

- Живые
- Инактивированные
- Субъединичные
- Маркированные (рекомбинантные, ДНК-вакцины)

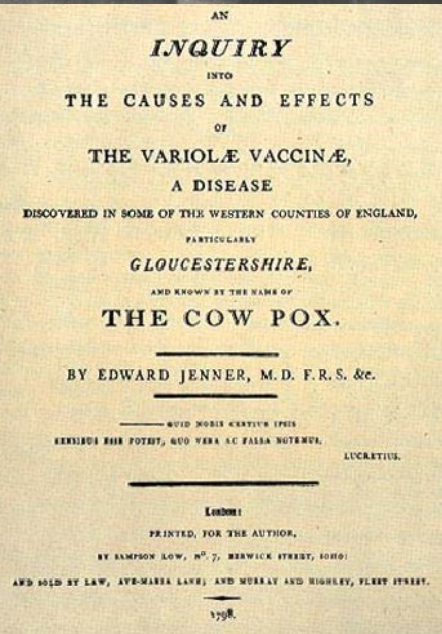
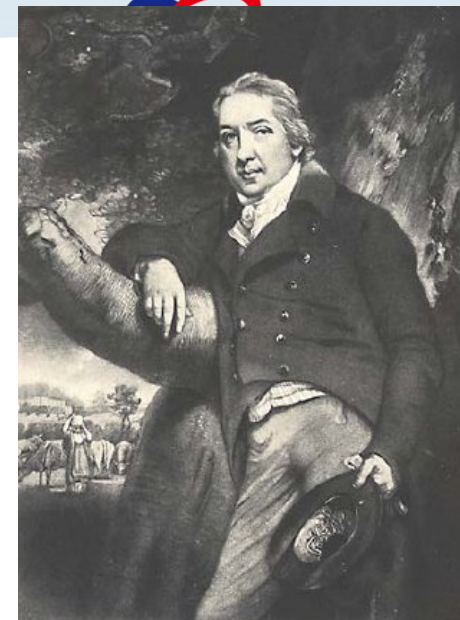
Гуморальный иммунный ответ

Антитела

Материнские

Пост-вакцинальные

Пост-инфекционные



Стратегия DIVA (Differentiating Infected from Vaccinated Animals)



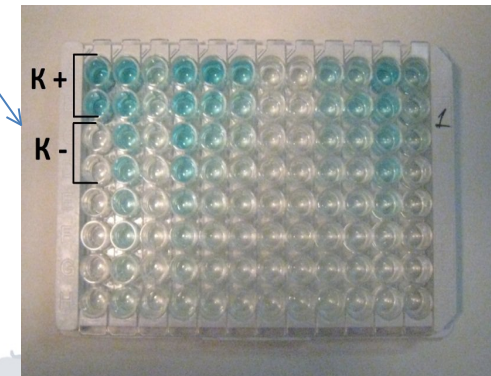
дифференциация инфицированных и вакцинированных ЖИВОТНЫХ

1999 - J. T. van Oirschot, Central Veterinary Institute, Нидерланды

Маркированная вакцина + ИФА
(использование ИФА на фоне вакцинопрофилактики)



Стратегия основана на выявлении антител методом ИФА к антигену (маркеру), отсутствующему в вакцине





Успешно реализована в
ряде стран ЕС

- **болезнь Ауески**
- **инфекционный ринотрахеит**
- **ящур**
- **КЧС**
- **грипп птиц**
- **бруцеллез**

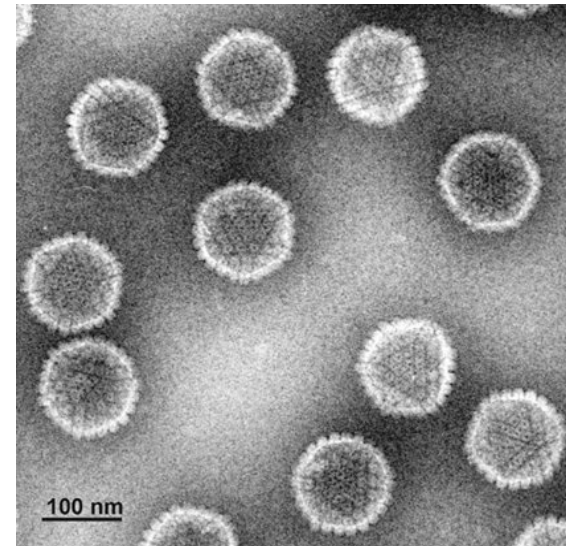
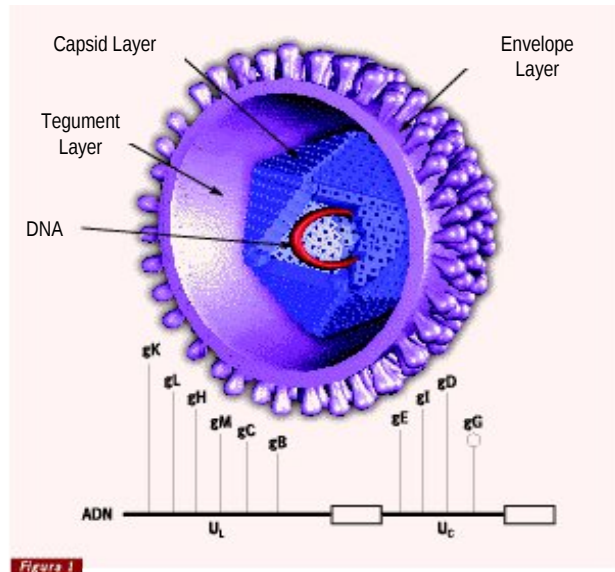
герпесвирусы



Болезнь Ауески - остро протекающая болезнь свиней, характеризующаяся поражением головного и спинного мозга. Характеризуется высокой контагиозностью. Известна с 1902 г.

Возбудитель – ДНК-содержащий вирус

Семейство: *Herpesviridae* Подсемейство: *Alphaherpesviridae*
Род: *Varicellovirus* Вид: *herpesvirus suis*



ВБА вначале размножается в эпителиальных клетках, затем по нервным путям проникает в центральную нервную систему. Репликация вируса в головном мозге сопровождается развитием негнойного менингоэнцефалита. Вирус размножается также в альвеолярных макрофагах, селезенке и лимфатических узлах, выделяется из организма через носовые и вагинальные секреты, с мочой и молоком более 2 недель после заражения.

- Высокая смертность новорожденных поросят с проявлением клинических признаков поражения ЦНС
- Высокий процент абортос у свиноматок

Восприимчивые животные

- Естественный хозяин – свиньи
- Спорадические случаи – собаки, кошки, крупный и мелкий рогатый скот, лошади.
- Природный резервуар – грызуны (мыши, крысы)

Источник вируса и основные факторы передачи

- Прямой контакт между животными: слюна, моча, носовые, вагинальные секреты
- Вода, корм, одежда, обувь, предметы ухода за животными



Метод	Подтверждение отсутствия инфекции в популяции	Подтверждение отсутствия инфекции у животного перед транспортировкой	Оценка эффективности оздоровительных мероприятий	Подтверждение клинических случаев болезни	Проведение эпизоотологического мониторинга инфекции	Оценка иммунного статуса животного или популяции после вакцинации
Идентификация возбудителя						
Выделение вируса	-	-	-	+++	-	-
ПЦР-РВ	-	+	+	+++	+	-
Детекция иммунного ответа						
РЛА	+++	+++	+++	+	+++	+++
ИФА	+++	+++	+++	+	+++	+++
РН	+	+	+	+	+	+++



В настоящее время существует два подхода к искоренению БА, один из которых заключается в отсутствии вакцинации и постоянном серологическом мониторинге поголовья свиней с выбраковкой положительно реагирующих животных. Второй - рассматривает вакцинопрофилактику БА в качестве важнейшего звена в системе оздоровительных мероприятий на ранее неблагополучных территориях.

Страны, свободные от БА, и где вакцинация запрещена	Страны, где реализуются национальные программы по искоренению БА
Дания, Финляндия, Швеция, Австрия, Германия, Бельгия, Люксембург, Чехия, Кипр, Нидерланды, Словения, Словакия, Франция (часть), Великобритания	Ирландия, Испания, Италия, Венгрия, Польша



Болезнь Ауески

Традиционные (классические)

Вакцина БАК

Вакцина инактивированная концентрированная эмульгированная.

Содержит инактивированный вирус болезни Ауески. Адьювант: минеральное масло

Используется как компонент стратегии DIVA



Вакцина против болезни Ауески и рожи свиней

Содержит инактивированные антигены: - вирус болезни Ауески; - *Erysipelotrix rhusiopathiae* серовар 2а. Адьювант: ГОА



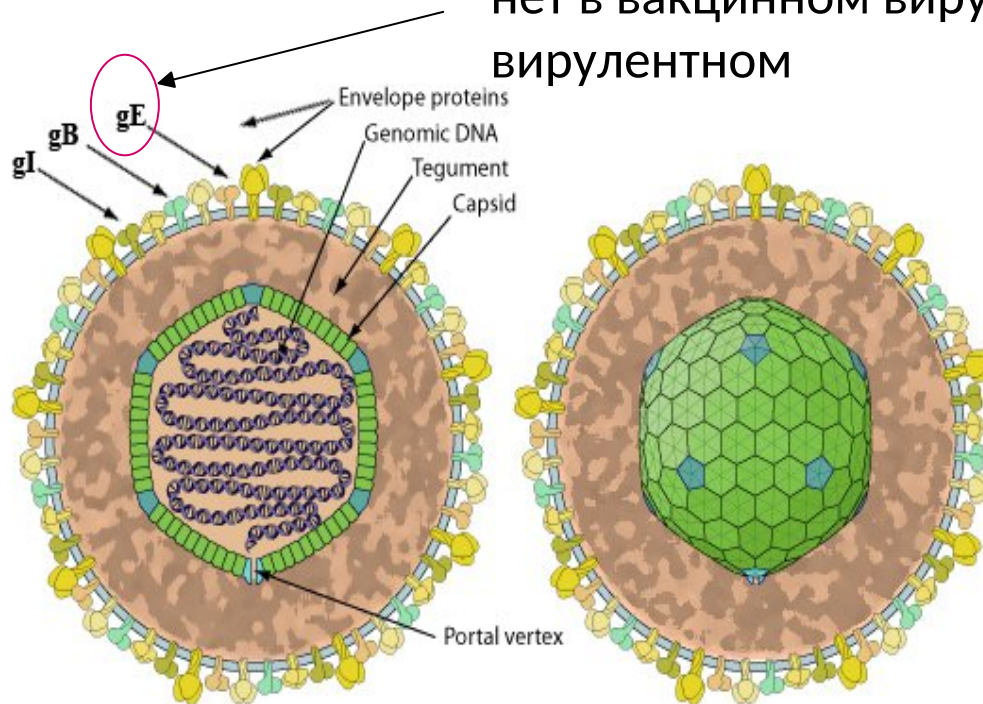
ВЕРРЕС-БАgE-

Содержит живой аттенуированный штамм «СКИФ» вируса болезни Ауески, маркированный по гликопротеину gE (вакцинный штамм имеет делецию соответствующего гена).

Стратегия DIVA

Структура вириона герпесвирусов

нет в вакцинном вирусе, но есть в вирулентном

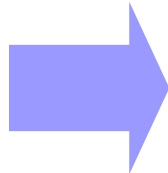


Назначение: дифференциация инфицированных от вакцинированных животных при использовании вакцины, маркированной по гену гликопротеина E, кодирующему фактор вирулентности.

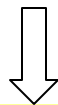
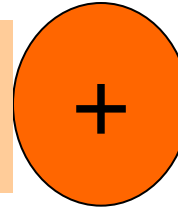
Принцип дифференциации основан на отсутствии антител к gE-антигену у вакцинированных свиней и их наличии у инфицированных животных.



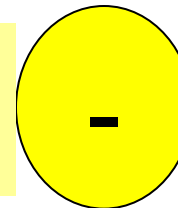
Маркированная по gE вакцина против БА



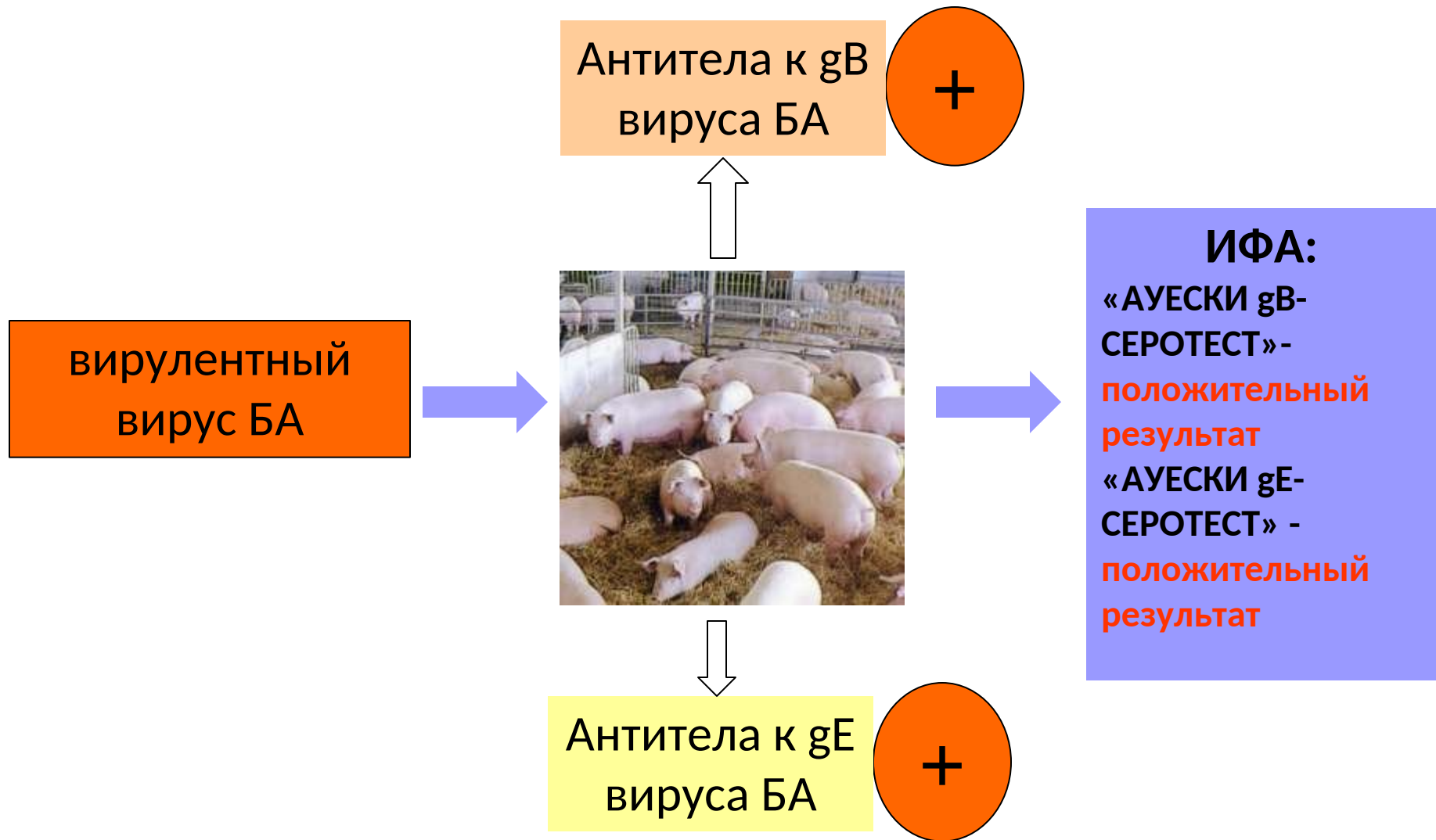
Антитела к gV вируса БА



Антитела к gE вируса БА



ИФА:
«АУЕСКИ gV-СЕРОТЕСТ» - **положительный результат**
«АУЕСКИ gE-СЕРОТЕСТ» - **отрицательный результат**



Вакцина «ВЕРРЕС-БАгЕ-», схема применения:

Доза после растворения 1 мл

Ремонтный молодняк вакцинируют двукратно, первый раз в 10-12-недельном возрасте, повторно через 3-4 недели. Свиноматок ревакцинируют за 5-6 недель до опороса, хряков – каждые 6 месяцев.

Поросят, полученных от вакцинированных свиноматок, вакцинируют однократно с 10-12-недельного возраста.

В неблагополучных хозяйствах, по программе ликвидации болезни Ауески, хряков и маточное поголовье вакцинируют каждые 4 месяца, но не позднее, чем за 4 недели до опороса.



Проф. Сергеев В.А.
(1927-2020)

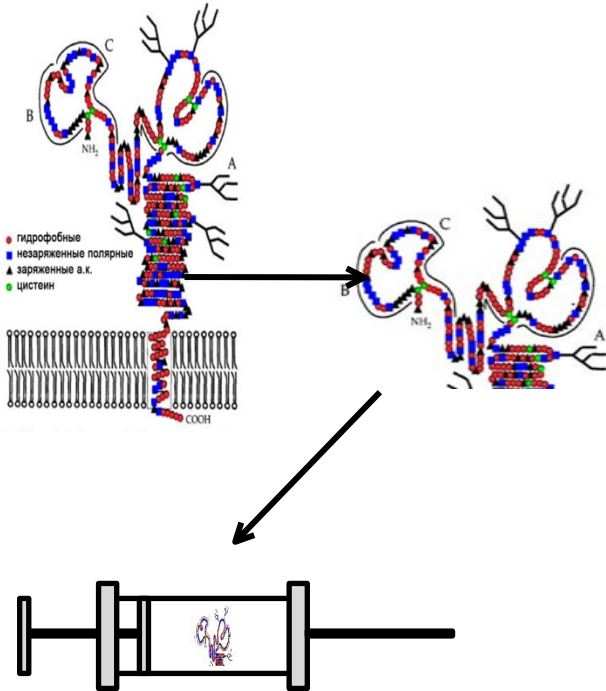


Вакцина «КС» против классической чумы свиней живая культуральная сухая

Содержит живой аттенуированный штамм «КС» вируса КЧС.

В 2020 и 2021 годах Вакцина «КС» была единственной вакциной, поставляемой государственной ветеринарной службой для специфической профилактики КЧС на всей территории РФ.

Разработка рекомбинантной маркированной вакцины на основе белка E2 вируса КЧС



- Источник E2 – штамм 8Z генотипа 1.1, родственный вирулентному референтному штамму *Ши-Мынь* вируса КЧС;

Рекомбинантный E2 экспрессируется в бакуловирусной системе;

- Гидрофобный трансмембранный домен белка E2 удален;
- Секреторная сигнальная последовательность мелиттина - пептида из пчелиного яда, была синтезирована из олигонуклеотидов и вставлена в рекомбинантный вектор для того, чтобы E2 секретировался в культуральную среду.

Разработка рекомбинантной маркированной вакцины на основе белка E2 вируса КЧС

Исследовательские работы ведутся с 2016 года



Проведено 9 опытов с экспериментальным заражением 270 голов свиней вирулентным штаммом вируса КЧС

Оптимизированы условия получения рекомбинантного белка E2 вируса КЧС в бакуловиральной системе экспрессии генов

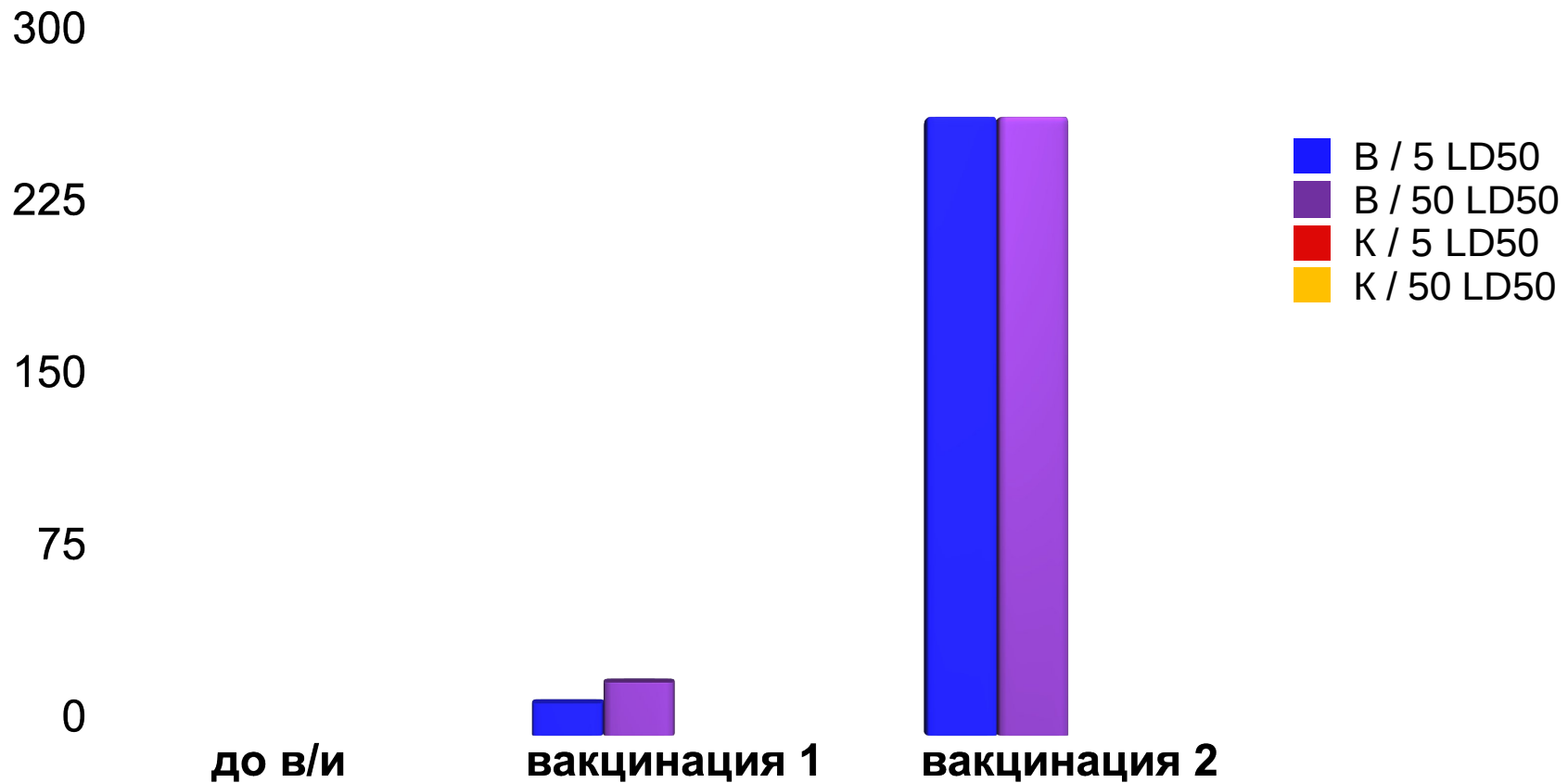
Отработаны оптимальная концентрация белка E2 в прививной дозе и схемы вакцинации поросят

Подобран новый адъювант, обеспечивающий полную безопасность и высокую эффективность вакцины

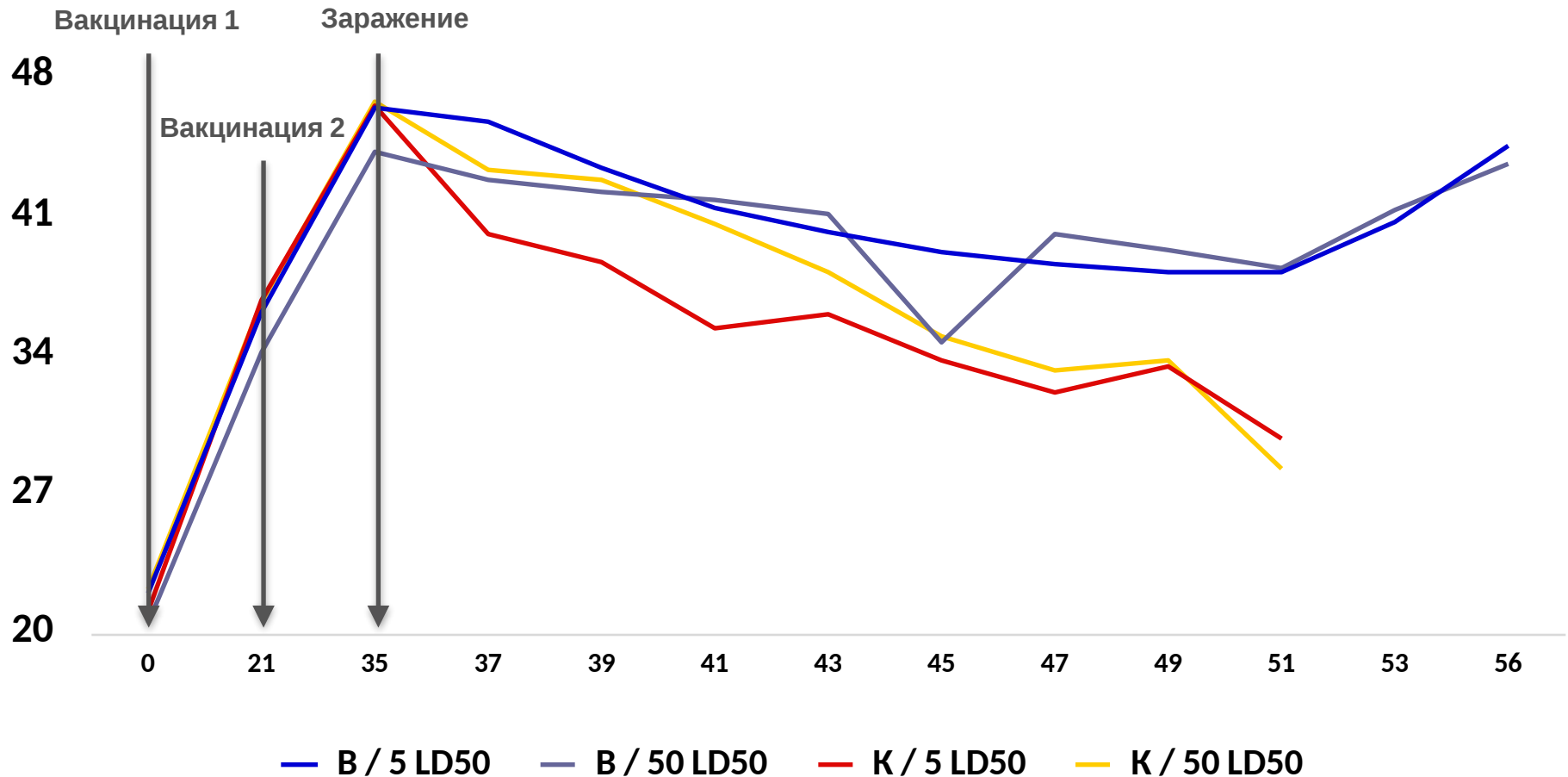
Выживаемость поросят после заражения (срок наблюдения 21 сутки)

Группа	Статус	Доза заражения	Выживаемость
N ^o 1	вакцинированные	5 LD ₅₀	100%
N ^o 2	вакцинированные	50 LD ₅₀	100%
N ^o 3	контроль	5 LD ₅₀	0%
N ^o 4	контроль	50 LD ₅₀	0%

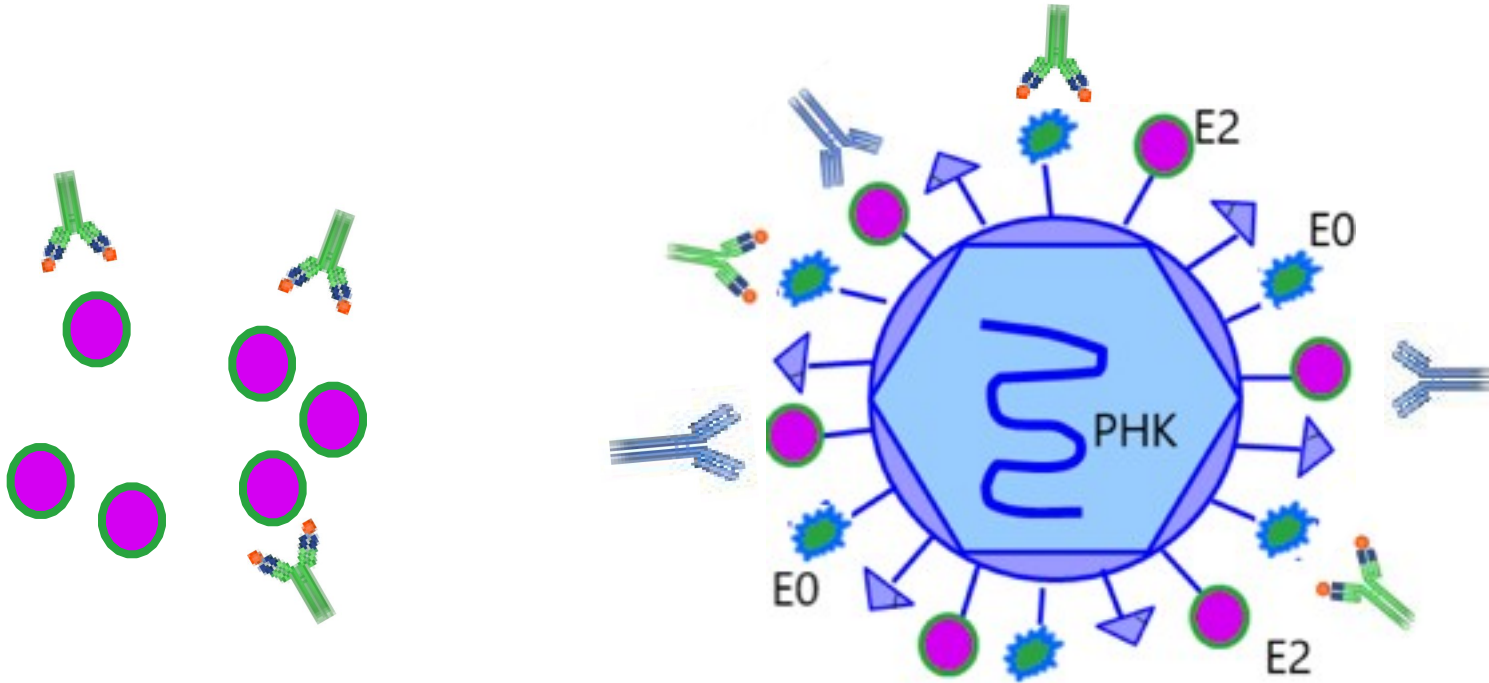
Уровень вируснейтрализующих антител (РН)



Изменение живого веса поросят, кг (среднее значение по группе)



Стратегия DIVA



Вакцинированные **E2+/E0-**



Инфицированные **E2+/E0+**

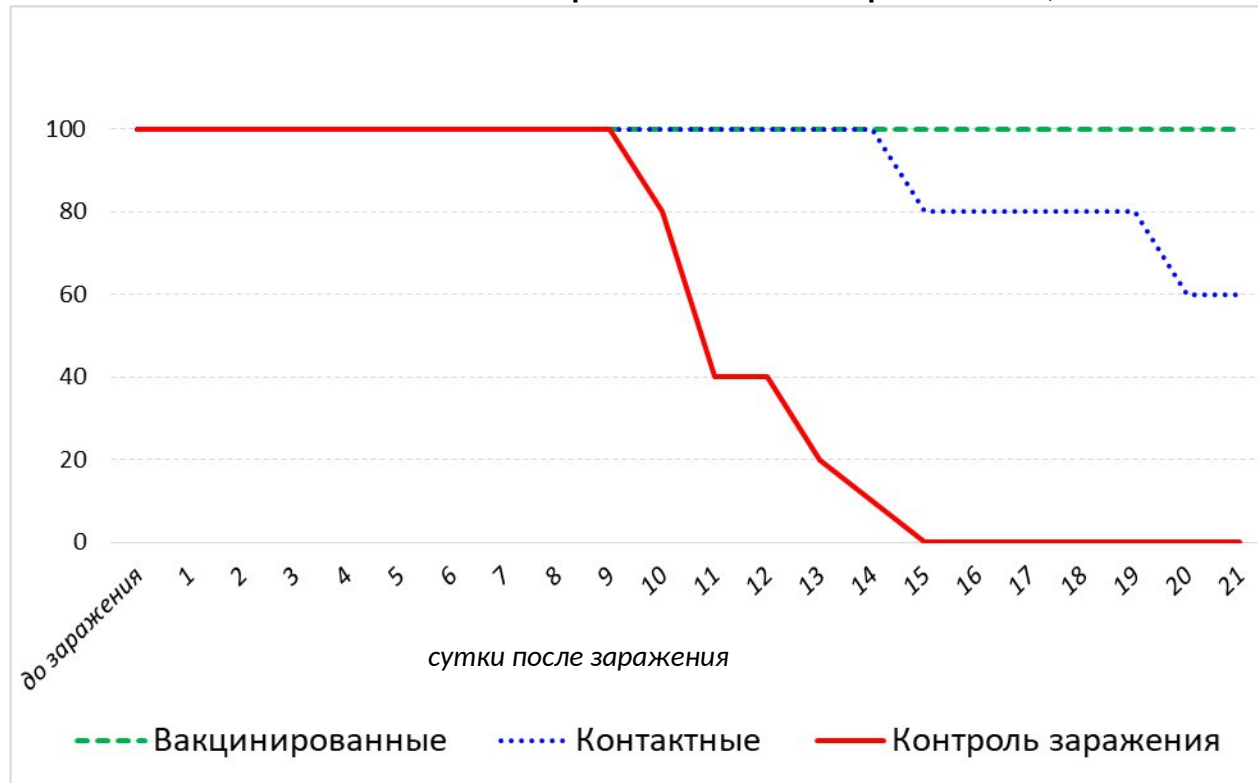


Принцип дифференциации вакцинированных и инфицированных животных: обнаружение антител к E0 и E2

Оценка безвредности, антигенной и иммуногенной активности субъединичной —
 маркированной вакцины против КЧС, изготовленной из рекомбинантного белка E2
 вируса КЧС с добавлением масляного адъюванта нового поколения.

ФГБУ «ВНИИЗЖ» (г. Владимир, мкр. Юрьевец) в соответствии с договором № 1485 от 30.07.2021 г.

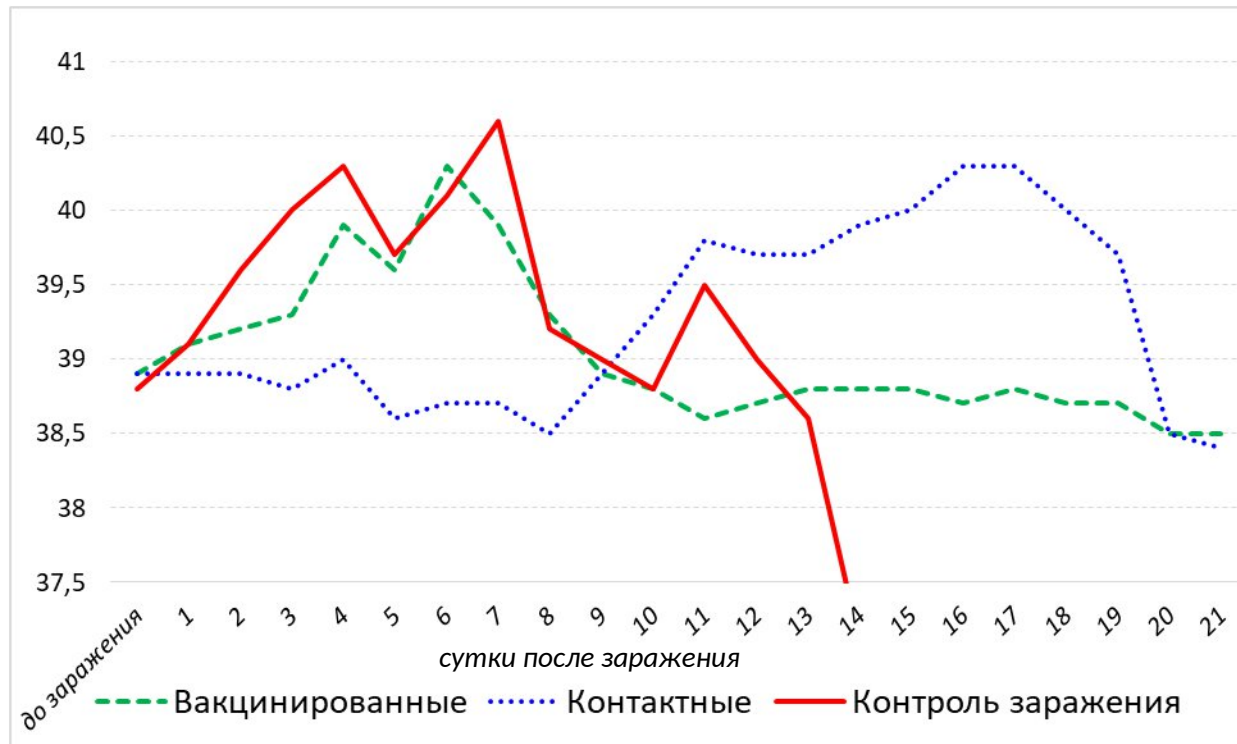
Выживаемость поросят после заражения, %



Оценка безвредности, антигенной и иммуногенной активности субъединичной маркированной вакцины против КЧС, изготовленной из рекомбинантного белка Е2 вируса КЧС с добавлением масляного адъюванта нового поколения.

ФГБУ «ВНИИЗЖ» (г. Владимир, мкр. Юрьеvec) в соответствии с договором № 1485 от 30.07.2021 г.

Результаты термометрии поросят после заражения (среднее значение по группе)



Итоги экспериментальных исследований и доклинических испытаний рекомбинантной вакцины против КЧС на основе белка E2

- Вакцина на основе рекомбинантного гликопротеина E2 обладает выраженной антигенной и иммуногенной активностью: препарат обеспечивал 100% защиту после заражения вирусом КЧС вирулентного штамма ShiMen;
- Использование рекомбинантной вакцины на основе белка E2 с полимерным адъювантом полностью безвредно, не вызывает снижения веса и развития лихорадки после контрольного заражения;
- Двукратное введение рекомбинантной вакцины на основе белка E2 (в 50 и 70 дней) обеспечивает выработку вируснейтрализующих антител;
- Применение рекомбинантной вакцины на основе белка E2 полностью подходит для интеграции со стратегией DIVA (E2+ / E0-).

«ПРОГРАММА ЭРАДИКАЦИИ КЧС В РФ»

Цель: осуществление поэтапного плана мероприятий, направленных на предотвращение распространения КЧС для признания региона/ хозяйства свободным от КЧС

Стратегия: замена живой вакцины «КС» на субъединичную рекомбинантную вакцину на основе белка E2 (DIVA-стратегия) с последующим полным отказом от вакцинации





АНО «НИИ ДПБ»

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ДИАГНОСТИКИ
И ПРОФИЛАКТИКИ БОЛЕЗНЕЙ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

Современная научно –
исследовательская база
и высококвалифицированный
кадровый потенциал

Разработка:

- методов диагностики
- средств профилактики
болезней животных и человека
- рекомендаций по
профилактическим и лечебным
мероприятиям для
животноводческих хозяйств

Консалтинг

Большой опыт участия
в государственных
и международных проектах

Мониторинг и анализ
эпизоотической ситуации

WWW.DPRI.RU E-MAIL: INFO@DPRI.RU

ВЕТБИОХИМ

**Благодарю за
внимание!**

