

Після дегельмінтизації провели механічне очищення та дезінвазію кліток, приміщення та предметів догляду 3 %-ним NaOH з розрахунку 1 л/м².

Висновки. 1. Бровадазол не проявив бажаного результату щодо знищення збудників пасалурозу. Його екстенсивність на 10-ту добу після лікування становила 70 %, хоча й при незначних показниках залишкової інтенсивності інвазії (1–2 яйця *P. ambiquus* у полі зору мікроскопа). 2. Бровермектин-гранулят мав 100 %-ний гельмінтоелімінаційний ефект, а значить може бути рекомендований для лікуванні кролів за пасалурозної інвазії.

Список використаних джерел

1. Дуда Ю. В. Неспецифічна резистентність організму кролів за впливу збудника пасалурозу / Науковий вісник ветеринарної медицини, 2019, № 2. С. 53–59. Doi: <https://doi.org/10.33245/2310-4902-2019-152-2-53-59>

2. Pathomorphological changes in the large intestine of rabbits parasitised by *Passalurus ambiguus* (Nematoda, Oxyuridae) / S. M. Mykhailiutenko et al. Regulatory Mechanisms in Biosystems. 2019. Vol. 10. № 1. P. 69–74. Doi: <https://doi.org/10.15421/021911>

3. Prevalence, Morphological and Molecular Phylogenetic Analyses of the Rabbit Pinworm, *Passalurus ambiguus* Rudolphi 1819, in the Domestic Rabbits *Oryctolagus cuniculus* / R. Abdel-Gaber et al. Acta Parasitologica. 2019. Vol. 64(2). P. 316–330. Doi: <https://doi.org/10.2478/s11686-019-00047-7>

4. Хорольський А. А. Порівняльна ефективність методів захиттевої лабораторної діагностики пасалурозу кролів. Вісник ПДАА. 2021. № 3. С. 224–229. doi: [10.31210/visnyk2021.03.27](https://doi.org/10.31210/visnyk2021.03.27)

СТРАТЕГІЯ DIVA У ВЕТЕРИНАРНІЙ ВАКЦИНОЛОГІЇ

Ігор ПАНІКАР, д-р вет. наук, професор

Одеський державний аграрний університет, м. Одеса

Галина ГАРАГУЛЯ, канд. вет. наук, доцент

Державний біотехнологічний університет, м. Харків, Україна

Термін DIVA був введений у 1999 році J. T. van Oirschot з Центрального ветеринарного інституту в Нідерландах. Зараз він зазвичай використовується як аббревіатура для позначення поняття «відрізнити інфікованих тварин від вакцинованих». Термін спочатку застосовувався по відношенню до маркерних вакцин, які базуються на делеційних мутантах мікробів дикого типу, у поєднанні з диференційним діагностичним тестом. Пізніше стратегію DIVA було розширено за рахунок включення субдинічних та цільовіріонних вакцини та інактивованих вакцин. DIVA-вакцини часто називають маркерними [4].

Стратегія DIVA (*Differentiating Infected from Vaccinated Animals*) означає можливість відрізнити інфікованих тварин від вакцинованих. Це забезпечується відмінностями в імунитеті, який формується в результаті вакцинації та природного перехворювання. Для використання цієї стратегії необхідні вакцини з делеціями геному – мутаціями, при яких вилучається (або втрачається) частина геному. Отже, у вакцинному збуднику відсутня конкретна молекула (маркерний антиген), а у польовому штамі збудника цей антиген є. Імунна відповідь на дикий тип збудника міститиме антитіла на всі його антигени, включаючи маркерний, в той час як у вакцинованих тварин антитіл проти маркерного антигену не буде.

Підхід DIVA був успішно застосований для ліквідації псевдосказу (хвороби Ауескі) та пташиного грипу, і був запропонований для використання в кампаніях з ліквідації ящуру, класичної чуми та респіраторного і репродуктивного синдрому свиней, вірусної діареї та інфекційного ринотрахеїту великої рогатої худоби, блутангу. Є повідомлення про спроби розробки маркерних вакцин-кандидатів для боротьби з чумою дрібних жуйних, ларинготрахеїту та хвороби Марека птиці, актинобацильозу, лістеріозу та сальмонельозу.

Імунну відповідь на вакцини DIVA можна виявити за допомогою серологічних досліджень з використанням спеціальних діагностичних тестів, розроблених для конкретної вакцини. Найчастіше використовують твердофазний імуоферментний аналіз (ELISA) або непрямий імуофлюоресцентний аналіз.

Проблема диференціації вакцинованих та інфікованих тварин виникає доволі часто, бо значна кількість найнебезпечніших інфекцій профілакується шляхом вакцинації. Вакцини DIVA мають цілий ряд переваг. Наприклад, спеціальні обмеження, які необхідні для заражених тварин, можна послабити для щеплених. Екстрена вакцинація з використанням вакцин DIVA може бути одним із інструментів боротьби зі спалахами захворювань на крупних тваринницьких підприємствах. Вакцинація DIVA може обмежити кількість вибракуваних тварин у процесі викорінення хвороби, тим самим підвищивши сприйняття громадськістю заходів боротьби з хворобою та обмеживши економічні збитки. На відміну від звичайної вакцинації, вакцинацію DIVA слід завжди використовувати як захисну вакцинацію, тобто вакцинованих тварин зберігають до кінця нормального виробничого циклу, а їхнє м'ясо зрештою надходить на ринок [6].

Докладно про використання стратегії DIVA в Канаді йдеться в статті Pasick J. Якщо врахувати швидкість, з якою інфекційні хвороби можуть поширюватися, особливо в районах з щільним поголів'ям худоби, зусилля з ліквідації, які покладаються виключно на заходи карантину, можуть стати величезною проблемою. Ці міркування у поєднанні зі зростаючими економічними та етичними чинниками, призвели до відновлення інтересу до використання вакцинації як інструменту боротьби зі спалахами хвороб тварин за кордоном. Ефективні вакцини зменшують або запобігають клінічним ознакам, не обов'язково запобігаючи розмноженню вірусу. Вони також можуть зменшити рівень і тривалість виділення вірусу після інфікування. Ефективність вакцини в популяції залежить від її здатності зменшувати передачу вірусу. Звичайна вакцинація також може ускладнити заходи серологічного нагляду, які слідують за ерадикацією, якщо реакція антитіл, викликана вакцинацією, не відрізняється від відповіді, що виникає після інфікування. Ці недоліки можна подолати за допомогою вакцин DIVA та їх супутніх діагностичних тестів. Стратегія використання DIVA-вакцин робить можливою масову вакцинацію сприйнятливої популяції тварин без шкоди для серологічної ідентифікації реконвалесцентів. Однак, треба відзначити і недоліки таких вакцин. Інактивовані та субодиночні вакцини DIVA іноді не такі ефективні, як звичайні вакцини. Крім того, додаткових витрат вимагає необхідність розробки спеціальних тестів DIVA. Іноді ці тести не такі чутливі, як звичайні тести [4].

Важливі аспекти використання DIVA-вакцини відображені у статті одного з перших творців стратегії van Oirschot. У його огляді розглядається вплив маркерних вакцин на передачу герпесвірусів і пестивірусів у свиней і великої рогатої худоби. Було продемонстровано, що DIVA-вакцини проти псевдосказу та бичачого герпесу 1 знижують передачу вірусу дикого типу в популяціях свиней і великої рогатої худоби як у лабораторії, так і в польових умовах. Субодиночна DIVA-вакцина на основі імунодомінантного білка E2 вірусу класичної чуми свиней, може зменшити передачу вірусу дикого типу серед свиней, а також передачу від матері до плоду. Подібна DIVA-

вакцина проти вірусної діареї великої рогатої худоби захищала овець від трансплацентарної передачі антигенно гомологічного вірусу дикого типу. Вакцини DIVA разом із супутніми діагностичними тестами можуть відігравати важливу роль у контролі інфекцій, що зрештою призводить до викорінення вірусів (ерадикації захворювання) [6].

Вакцини DIVA вперше були використані для ліквідації псевдосказу (хвороби Ауескі) у свиней. Більшість із них базуються на рекомбінантних делеційних мутантах, у яких відсутні гени глікопротеїну gE оболонки та тимідинкінази. Пропонуються нові вакцини-кандидати проти хвороби Ауескі із рекомбінантних вірусів з видаленими генами (gE/gI та TK/gE/gI). В ході порівняння вірусів виявилось, що вірус із делецією гену gE/gI був безпечнішим у мишей. Додаткове використання на свинях показало збільшення кількості CD4⁺ та CD8⁺ Т-клітин та інтенсивнішу гуморальну імунну відповідь. Після зараження вакцинованих свиней польовим штамом вірусу не виявили клінічних ознак і виділення вірусу. Отримані дані свідчать про те, що рекомбінантний вірус з видаленим геном TK/gE/gI може бути більш ефективним кандидатом на нову сучасну вакцину для профілактики хвороби Ауескі [8].

Супровідні тести до маркерних вакцин проти хвороби Ауескі оцінюють свиней як серопозитивні на gE антитіла. Наразі повідомляють про створення нових методів диференціації вакцинованих та інфікованих свиней, а саме систему виявлення, що поєднує багатоферментну ізотермічну швидку ампліфікацію (названу MIRA-Cas12a), яка характеризується високою чутливістю та специфічністю, низькою вартістю, меншою кількістю обладнання та зручною візуалізацією. Тест націлений на вірусні гени gB, gE і TK. Аналіз MIRA-Cas12a здатний відрізнити інфікованих, неінфікованих і вакцинованих свиней. Облік реакції проводиться за 40 хвилин, причому неозброєним оком і має чутливість, яку автори порівнюють із чутливістю звичайної кількісної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Обігрівач на 37°C і джерело синього світла – усе обладнання, необхідне для виявлення вірусу хвороби Ауескі. Автори вважають, що використання MIRA-Cas12a полегшить нагляд за хворобою та мінімізує фінансові втрати для свинарства [8].

Вчені Китаю, щоб розробити безпечну бівалентну вакцину проти КЧС та хвороби Ауескі, створили рекомбінантний вірус rPRVTJ-delgE/gI/TK-E2, що експресує білок E2 вірусу класичної чуми свиней. Результати показали, що імунізовані свині не виявляли клінічних ознак або виділення вірусу після імунізації, виробляли нейтралізуючі антитіла проти обох вірусів і були повністю захищені від летального зараження обома штамми вірусів. Ці дослідження свідчать про те, що вірус rPRVTJ-delgE/gI/TK-E2 є багатообіцяючим бівалентним кандидатом на вакцину DIVA проти КЧС та хвороби Ауескі.

Для полегшення контролю та викорінення КЧС у Китаї була розроблена інша маркерна вакцина, що доставляється аденовірусом, векторизована репліконом альфавірусу. Відповідно, постала необхідність у супровідному дискримінаційному тесті, який дозволяє відрізнити інфікованих від вакцинованих тварин. Розроблений вченими оптимізований iELISA зміг виявити специфічні антитіла до КЧС у зразках сироватки інфікованих свиней уже через 6 днів після інфікування та відрізнити КЧС-інфікованих свиней від свиней, вакцинованих маркерною вакциною.

З'явилось повідомлення про нову вакцину проти класичної чуми свиней, яку назвали C-DIVA, що сумісна з комерційним E2 ELISA, модифікованим, щоб зробити її придатною для тесту DIVA. Результати демонструють, що одна вакцинація 70 інфекційними вірусними частинками C-DIVA захищає свиней від високовірулентного штаму [3].

Перше покоління субодиночних маркерних вакцин E2 проти КЧС демонструє обмеження щодо ефективності, застосування та виробництва. Щоб подолати ці

обмеження, розроблені нові покоління маркерних вакцин. Було випробувано широкий спектр підходів, включаючи рекомбінантні вакцини, рекомбінантні інактивовані вакцини або субодиничні вакцини, векторні вакцини та вакцини ДНК/РНК. Протягом останніх років, особливо ослаблені делеційні вакцини або химерні конструкції показали потенціал. В даний час особливо інтенсивно тестуються дві нові конструкції: доставлений аденовірусом векторний маркер маркерної вакцини з репліконом вірусу лісу Семлікі "rAdV-SFV-E2" і пестивірусна химера "CP7_E2alf". Останній нещодавно отримав ліцензію Європейського агентства з лікарських засобів [3, 6].

На сьогодні комерційно розроблено два типи вакцин DIVA проти КЧС, включаючи субодиничні вакцини на основі глікопротеїну E2 оболонки вірусу КЧС та химерні пестивірусні вакцини на основі інфекційних кДНК-клонів CSFV або вірусу бичачої вірусної діареї (BVDV). Хоча щеплення цими вакцинами успішно створює міцний імунітет проти CSFV, жодна з них не може ідеально задовольнити всі вимоги щодо безпеки, ефективності, потенціалу DIVA та продажу. Через обмеження доступного вибору дослідники все ще прагнуть до розробки більш досконалих вакцин DIVA проти КЧС [3].

У польових умовах усі маркерні вакцини повинні супроводжуватися потужною тест-системою. Так, вчені розробили аналіз, здатний відрізнити свиней, інфікованих вірусом КЧС, від свиней, вакцинованих модифікованою живою маркерною вакциною проти (Suvaxyn® CSF Marker). Тест-набір CSFV Erns IgG AlphaLISA® виявляє специфічні антитіла проти глікопротеїну оболонки вірусів КЧС дикого типу. Навпаки, глікопротеїн Erns відсутній у маркерній вакцині проти КЧС. Що важливо для простоти використання в польових умовах і в лабораторії, аналіз може перевіряти як сироватку, так і зразки ротової рідини. Комбіноване використання маркерної вакцини для захисту від клінічних захворювань і аналізу сироватки або ротової рідини значно покращить спроможність свинарської галузі швидко та рішуче боротися з класичною чумою свиней [3].

Про першу зворотну генетичну систему для профілактики репродуктивного і респіраторного синдрому свиней (PPCC) було повідомлено в 1998 році. З того часу було сконструйовано кілька інфекційних клонів кДНК для PPCC. У огляді Chaudhari із співавторами описано підходи до створення інфекційної кДНК для вірусу PPCC і десять основних застосувань цих інфекційних клонів для вивчення біології вірусу та взаємодії вірус-господар, а також для розробки нового покоління вакцин з покращеними рівнями безпеки та ефективності [1].

Вакцини DIVA є корисним інструментом для ліквідації пташиного грипу, особливо високопатогенного пташиного грипу. Було запропоновано декілька різних стратегій DIVA для інактивованої цільовірусної вакцини проти пташиного грипу, що включає нейрамінідазу (NA), неструктурний білок 1 (NS1), ектодомен матричного білка 2 (M2e) або ген HA2. Вірус пташиного грипу (AIV) H7N9 є новим зоонозним патогеном, і необхідно розробити вакцину, що диференціює інфікованих від вакцинованих тварин. Вибраний специфічний епітоп у білку HA2 H7N9 AIV штаму A/Chicken/Huadong/JD/17 (JD/17) було замінено на епітоп із підтипу H3N2 штаму AIV за допомогою зворотної генетики. Було оцінено захист і серологічні характеристики DIVA рекомбінантного штаму H7N9 AIV. Результати показали, що специфічний епітоп на білку HA2 H7N9 AIV, названий пептидом H7-12, був успішно перевірений, забезпечував 100% захист від зараження високопатогенним або низькопатогенним штамом H7N9 AIV [5].

Для боротьби з чумою дрібних жуйних (PPRV) розробили рекомбінантний вірус хвороби Ньюкасла (rNDV), який експресує поверхневий білок гемаглютинін (H) PPRV штаму Kurdistan/11 (rNDV_HKur). Дві послідовні підшкірні вакцинації кіз rNDV_HKur запобігли клінічним ознакам і гематогенній дисемінації після інтраназального

зараження вірулентним вірусом штаму Kurdistan/11. Виділення вірусу різними шляхами було зменшено так само, як і після вакцинації живим ослабленим штамом PPRV Nigeria 75/1. Дослідженням підтверджена концепція, що векторизована вакцина NDV може захистити від PPR. Крім того, вона забезпечує застосування методики DIVA і високу термостійкість [2].

Повідомлення про нову стратегію DIVA, засновану на гібридних білково-пептидних мікроматрицях, які теоретично можуть працювати з будь-якою вакциною проти чуми дрібних жуйних, опублікувала група вчених із Китаю. В геномі вірусу чуми дрібних жуйних виявили 4 короткі пептиди, що містять епітоп, що індукує чітку серодинаміку IgG: ці специфічні антитіла існують лише протягом 10–60 днів після вакцинації, тоді як антитіла проти польового штаму вірусу залишаються на високих рівнях кілька сотень діб. Ці дані дозволили розробити діагностичний мікрочип DIVA, який, на відміну від конкурентного твердофазного імуноферментного аналізу і тестів нейтралізації вірусу, дозволяє постійно контролювати серологічні відмінності між тваринами вакцинованими та інфікованими диким збудником. Ці діагностичні мікроматриці DIVA можуть полегшити програми ліквідації чуми дрібних жуйних [9].

Найбільш ефективним заходом боротьби з блутангом є вакцинація. Традиційні живі аттенуйовані та інактивовані вакцини доступні, але несумісні з DIVA. Прототип вакцини Disabled Infectious Single Animal (DISA)/DIVA на основі нокауту білка NS3/NS3a живого ослабленого вірусу відповідає всім критеріям сучасних ветеринарних вакцин для овець. Нещодавно ця вакцина-кандидат продемонструвала ефективність для великої рогатої худоби. Захист було продемонстровано для п'яти серотипів вірусу. Крім того, блокується передача вакцинного вірусу кровосисними комахами. Платформа вакцин DISA/DIVA є гнучкою у використанні та дає можливість створювати моновалентні та полівалентні вакцини для боротьби з конкретними польовими ситуаціями щодо блутангу [7].

Висновки. Диференціація вакцинованих і інфікованих тварин (стратегія DIVA) ґрунтується на відсутності у маркерній вакцині одного або кількох білків, які присутні в мікроорганізмі дикого типу. Маркерні аналізи виявляють антитіла проти тих білків, які відсутні у вакцині. Тому серед щепленої популяції можна виявити тварин, інфікованих природним шляхом і диференціювати їх від вакцинованих.

Імунну відповідь на вакцини DIVA можна виявити за допомогою серологічних досліджень з використанням спеціальних діагностичних тестів, розроблених для кожної конкретної вакцини. Найчастіше методами тестування є твердофазний імуноферментний аналіз (ELISA) або непрямий імунофлюоресцентний аналіз.

Список використаних джерел

1. Chaudhari J, Vu HLX. (2020) Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Reverse Genetics and the Major Applications. *Viruses*. 2020 Oct 31;12(11):1245. <https://doi.org/10.3390/v12111245>.
2. Murr M, Hoffmann B, Grund C, Römer-Oberdörfer A, Mettenleiter TC. (2020) A Novel Recombinant Newcastle Disease Virus Vectored DIVA Vaccine against Peste des Petits Ruminants in Goats. *Vaccines (Basel)*. 2020 Apr 28;8(2):205. <https://doi.org/10.3390/vaccines8020205>.
3. Panyasing Y, Gimenez-Lirola L, Thanawongnuwech R, Prakobsuk P, Kawilaphan Y, Kittawornrat A, Cheng TY, Zimmerman J. (2023) Performance of a Differentiation of Infected from Vaccinated Animals (DIVA) Classical Swine Fever Virus (CSFV) Serum and Oral Fluid Erns Antibody AlphaLISA Assay. *Animals (Basel)*. 2023 Dec 9;13(24):3802. <https://doi.org/10.3390/ani13243802>.

4. Pasick J. (2004) Application of DIVA vaccines and their companion diagnostic tests to foreign animal disease eradication. *Anim Health Res Rev.* 2004 Dec; 5(2):257-62. <https://doi.org/10.1079/ahr200479>.
5. Sun Z, Wang Q, Li G, Li J, Chen S, Qin T, Ma H, Peng D, Liu X. (2021) Development of an Inactivated H7N9 Subtype Avian Influenza Serological DIVA Vaccine Using the Chimeric HA Epitope Approach. *Microbiol Spectr.* 2021 Oct 31;9(2):e0068721. <https://doi.org/10.1128/Spectrum.00687-21>.
6. van Oirschot J. T. (1999) Diva vaccines that reduce virus transmission. *J Biotechnol.* 1999 Aug 20;73(2-3):195-205. [https://doi.org/10.1016/s0168-1656\(99\)00121-2](https://doi.org/10.1016/s0168-1656(99)00121-2).
7. van Rijn PA, Maris-Veldhuis MA, Spedicato M, Savini G, van Gennip RGP. (2021) Pentavalent Disabled Infectious Single Animal (DISA)/DIVA Vaccine Provides Protection in Sheep and Cattle against Different Serotypes of Bluetongue Virus. *Vaccines (Basel).* 2021 Oct 9;9(10):1150. <https://doi.org/10.3390/vaccines9101150>.
8. Wang H, Li H, Tang B, Ye C, Han M, Teng L, Yue M, Li Y. (2023) Fast and sensitive differential diagnosis of pseudorabies virus-infected versus pseudorabies virus-vaccinated swine using CRISPR-Cas12a. *Microbiol Spectr.* 2024 Jan 11;12(1):e0261723. <https://doi.org/10.1128/spectrum.02617-23>. Epub 2023 Dec 11.
9. Xue Q, Xu H, Liu H, Pan J, Yang J, Sun M, Chen Y, Xu W, Cai X, Ma H. (2020) Epitope-Containing Short Peptides Capture Distinct IgG Serodynamics That Enable Differentiating Infected from Vaccinated Animals for Live-Attenuated Vaccines. *J Virol.* 2020 Feb 28;94(6):e01573-19. <https://doi.org/10.1128/JVI.01573-19>.

ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ПЕРОРАЛЬНОЇ ІМУНІЗАЦІЇ ДИКИХ М'ЯСОЇДНИХ ТВАРИН ПРОТИ СКАЗУ (2021 та 2023 рр.)

Олександр ПЩАНСЬКИЙ, канд. вет. наук

Олена ЛОЖКІНА, канд. вет. наук

Володимир ПАВЛУНЬКО, здобувач вищої освіти III рівня

Олексій РУДОЙ, канд. вет. наук

Жанна ДРОЖЖЕ, канд. вет. наук

Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, м. Київ, Україна

Актуальність. Сказ – особливо небезпечна вірусна інфекція, основним джерелом якої в Європі, у тому числі й в Україні, є дикі м'ясоїдні тварини, зокрема червона лисиця (*Vulpes vulpes*). Відповідно оцінки ВООЗ, сказ входить до п'ятірки найбільш небезпечних хвороб, спільних для людей і тварин [1]. До численних факторів, серед яких сприйнятливість до збудника широкого кола тварин; формування ланцюгів циркуляції вірусу із втягненням домашніх та сільськогосподарських тварин; активні бойові дії на час військового стану на території України; економічні збитки від профілактики хвороби і ліквідації спалахів хвороби; надзвичайна небезпека для людини і відсутність засобів лікування визначають соціальне і економічне значення сказу.

Постійне неблагополуччя території України щодо сказу тварин вимагає впровадження ефективних протиепізоотичних заходів, серед яких основне місце відводиться пероральній імунізації диких м'ясоїдних тварин проти сказу, ефективність якої доведена як в експериментальних, так і в польових умовах [4–8].

З метою обмеження поширення та ліквідації вірусу сказу серед диких тварин на території України у 2021 та 2023 роках проведено оральну вакцинацію диких м'ясоїдів в кількох областях України. Оральну вакцинацію диких тварин проводили вакциною

