(19) Евразийское патентное ведомство

(11) 035624 (13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.07.16

(21) Номер заявки
201300915

(22) Дата подачи заявки
2012.02.14

(51) Int. Cl. ***A61K 39/12*** (2006.01)
C12N 7/00 (2006.01)

(54) ВИРУЛЕНТНЫЙ И ОСЛАБЛЕННЫЙ ШТАММЫ ВИРУСА РЕПРОДУКТИВНО-РЕСПИРАТОРНОГО СИНДРОМА СВИНЕЙ (PRRSV) ЕВРОПЕЙСКОГО ТИПА

(31) **61/444,074**
(32) **2011.02.17**
(33) **US**
(43) **2014.02.28**
(86) **PCT/EP2012/052475**
(87) **WO 2012/110489 2012.08.23**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
БЁРИНГЕР ИНГЕЛЬХАЙМ ВЕТМЕДИКА ГМБХ (DE)

(72) Изобретатель:
Бургард Ким (DE), Кролл Джереми, Лейтон Сэра М. (US), Олингер Фолькер, Орвейон Франсуа-Ксавьер, Пеш Штефан (DE), Пёнтковский Майкл Деннис, Руф Майкл Б., Атли Филип, Вон Эрик Мартин (US)

(74) Представитель:
Веселицкая И.А., Кузенкова Н.В., Веселицкий М.Б., Каксис Р.А., Белоусов Ю.В., Куликов А.В., Кузнецова Е.В. (RU)

(56) PESCH S. ET AL.: "New insights into the genetic diversity of European porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV)", VETERINARY MICROBIOLOGY, ELSEVIER BV, NL, vol. 107, no. 1-2, 25 April 2005 (2005-04-25), pages 31-48, XP004807945, ISSN: 0378-1135, DOI: 10.1016/J.VETMIC. 2005.01.028 abstract

LAILA DARWICH ET AL.: "Genetic and immunobiological diversities of porcine reproductive and respiratory syndrome genotype I strains", VETERINARY MICROBIOLOGY, ELSEVIER BV, NL, vol. 150, no. 1, 10 January 2011 (2011-01-10), pages 49-62, XP028194704, ISSN: 0378-1135, DOI: 10.1016/J.VETMIC. 2011.01.008 [retrieved on 2011-01-15] abstract figures 1-4,6

ROPP S. L. ET AL.: "CHARACTERIZATION OF EMERGING EUROPEAN-LIKE PORCINE REPRODUCTIVE AND RESPIRATORY SYNDROME VIRUS ISOLATES IN THE UNITED STATES", JOURNAL OF VIROLOGY, THE AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, US, vol. 78, no. 7, 1 April 2004 (2004-04-01), pages 3684-3703, XP009029649, ISSN: 0022-538X, DOI: 10.1128/JVI.78.7.3684-3703.2004 table 1 figures 4,5

WO-A1-0159077

WO-A2-2007064742

DATABASE UniProt [Online] 3 November 2009 (2009-11-03), "SubName: Full=M protein; SubName: Full=Membrane protein;", XP002680359, retrieved from EBI accession no. UNIPR0T:C9E449 Database accession no. C9E449 sequence

DATABASE UniProt [Online] 15 December 2009 (2009-12-15), "SubName: Full=Unglycosylated membrane protein;", XP002680360, retrieved from EBI accession no. UNIPROT:D0VEE4 Database accession no. D0VEE4 sequence

DATABASE UniProt [Online] 5 July 2004 (2004-07-05), "SubName: Full=Membrane protein M;", XP002680361, retrieved from EBI accession no. UNIPROT:Q6TLB4 Database accession no. Q6TLB4 sequence

(57) Изобретение относится к вирулентному и ослабленному штаммам вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней (PRRSV) европейского типа, к соответствующему способу получения заявленного ослабленного штамма PRRSV из вирулентного штамма, к вакцинам, содержащим ослабленный штамм PRRSV, а также к способу получения и применению заявленной вакцины.

035624 B1

035624 B1

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к вирулентному, а также живому ослабленному штамму вируса европейского репродуктивно-респираторного синдрома свиней (PRRSV), способам получения таких штаммов, вакцинам на их основе и способам получения указанных вакцин и их применению для лечения свиней.

Предпосылки создания изобретения

Репродуктивно-респираторный синдром свиней (PRRS) рассматривается многими специалистами как наиболее важное заболевание, которое в настоящее время наносит вред свиноводству во всем мире. Синдром был описан впервые в 1987 г. в Соединенных Штатах как "загадочная болезнь свиней" и он быстро распространился по всему миру. Этот синдром вызывает значительные репродуктивные потери, он ассоциирован с повышенным уровнем смертности от вторичных инфекций и связан со снижением конверсии корма и среднего суточного прироста массы. К сожалению, оказалось, что осуществление контроля вируса, вызывающего PRRS, является затруднительным.

Вирус PRRS (PRRSV) представляет собой покрытый оболочкой одноцепочечный РНК-овый вирус, который согласно классификации относится к семейству Arteriviridae (Cavanaugh, 1997). Он вызывает широко распространенное заболевание свиней, которое было впервые описано в США в 1987 г. как "загадочная болезнь свиней" (Hill, 1990). Болезнь проявляется в форме респираторного заболевания во всех возрастных группах свиней, приводя к гибели некоторых более молодых свиней и к серьезным проблемам, связанным с репродуктивной способностью у самок случного возраста.

Передача PRRSV может происходить и часто происходит путем непосредственного контакта между инфицированными и восприимчивыми свиньями. Перенос вируса может происходить также по воздуху на очень короткие расстояния или вместе со спермой. После заражения вирус может сохраняться в крови взрослых животных в течение примерно двух недель, а в организме зараженных молодых свиней в течение одного-двух месяцев или более. Зараженные хряки могут передавать вирус со спермой в течение более чем 100 дней. Такой длительный период виремии значительно повышает возможность трансмиссии заболевания. Кроме того, вирус PRRS может проникать через плаценту в течение последней трети периода беременности, заражая поросят в матке и приводя к рождению мертвых или ослабленных поросят.

Вирус PRRS может заражать стада всех типов и размеров, включая стада, характеризующиеся высоким или обычным статусом здоровья, а также содержащиеся в закрытых помещениях или на открытом воздухе. В зараженных стадах могут иметь место значительные потери репродуктивности, а также повышенные уровни постотъемной пневмонии, сопровождающейся слабым ростом. Репродуктивная фаза, как правило, продолжается в течение двух-трех месяцев; однако проблемы в постотъемный период часто приобретают эндемичный характер. Репродуктивное заболевание характеризуется вспышкой выкидышей, поражающей как свиноматок, так и подсвинок на последнем триместре беременности. Имеют место преждевременные опоросы в период примерно с 109 по 112 день беременности. Возрастает количество мертворожденных плодов и случаев рождения ослабленных поросят, что приводит к значительному увеличению смертности в предотъемный период.

Традиционно респираторная фаза наблюдалась в питомниках, прежде всего в питомниках с непрерывно-потоковой системой производства. Однако респираторные проблемы, вызываемые вирусом PRRS, могут проявляться также у свиней на завершающем периоде откорма в форме компонента респираторного симптомо-комплекса свиней (PRDC). Может иметь место снижение скорости роста, увеличение процента нетоварных свиней и повышение постотъемной смертности. Результаты диагностических исследований свидетельствуют о высоких уровнях пневмонии, ассоциированной с вирусом PRRS, а также с широким разнообразием других микроорганизмов, которые обычно выступают в роли вторичных возбудителей инфекции. Бактериальные изоляты могут включать среди прочего Streptococcus suis, Haemophilus suis, Actinobacillus pleuropneumoniae, Actinobacillus suis, Mycoplasma hyopneumoniae и Pasteurella multocida. Обычно встречающимися в этом случае вирусными агентами являются вирус свиного гриппа и респираторный коронавирус свиней. Пораженные свиньи редко дают ответ на применяемые в высоких дозах лекарственные средства, и заболевание не удается контролировать с помощью систем одновременного заполнения помещения животными и одновременного их удаления.

Вирус PRRSV существует в виде двух генотипов, обозначенных как "US-тип"- и "EU-тип", характеризующихся примерно 50%-ной гомологией последовательностей (Dea S. и др., Arch Virol 145, 2000, сс. 659-688). Эти два генотипа можно различать также по их иммунологическим свойствам. Наибольший объем информации при секвенировании различных изолятов получают на основе структурных белков, а именно, оболочечного белка GP5, на долю которого приходится лишь примерно 4% вирусного генома, в то время как о неструктурных белках (nsp) имеется очень мало сведений. Выделение PRRSV и получение вакцин описано в многочисленных публикациях (WO 92/21375, WO 93/06211, WO93/03760, WO 93/07898, WO 96/36356, EP 0676467, EP 0732340, EP 0835930).

Вакцинация представляет собой имеющий решающее значение метод снижения связанной с PRRS нагрузки, поскольку у свиней, которые выздоровели после PRRS-инфекции, должен развиться иммунный ответ, который в обычных условиях должен защищать их от повторного заражения тем же штаммом ви-

руса. Однако вирус PRRS обладает способностью изменяться (посредством мутации или рекомбинации); и, следовательно, могут возникать новые вирусные штаммы. В таких случаях может не иметь место перекрестная защита от различных штаммов и на фермах, которые были инфицированы ранее, могут происходить новые вспышки заболевания. Таким образом, все еще существует необходимость в разработке дополнительных вакцин.

Краткое изложение сущности изобретения

Настоящее изобретение относится к вирулентному вирусу репродуктивно-респираторного синдрома свиней (PRRSV) европейского типа, который представляет собой штамм ECACC 11012501.

Кроме того, еще одним из объектов изобретения является живой ослабленный вирус репродуктивно-респираторного синдрома свиней (PRRSV) европейского типа, который представляет собой штамм ECACC 11012502, полученный из родительского штамма ECACC 11012501.

В предпочтительном варианте PRRSV ослаблен путем осуществления по меньшей мере 36 пассажей указанного родительского штамма в клеточной культуре и который при введении свинье, восприимчивой к PRRSV, не вызывает клинических признаков репродуктивно-респираторного синдрома свиней (PRRS), но индуцирует иммунный ответ, приводящий к иммунизации указанной свиньи против патогенных форм PRRSV.

Изобретение также относится к способу получения живого ослабленного PRRSV в результате адаптации PRRSV штамма ECACC 11012501 европейского типа путем непрерывных пассажей на клетках линии MA 104, к клеткам млекопитающих, которые не относятся к линии MA 104.

Наконец изобретение относится к вакцине, предназначенной для защиты свиней от инфекции PRRSV, которая содержит живой ослабленный штамм ECACC 11012502 и фармацевтически приемлемый носитель.

Она может дополнительно содержать один или несколько не представляющих собой PRRSV ослабленных или инактивированных патогенов или их антигенный материал.

Причем указанные не представляющие собой PRRSV патогены выбреются из вируса псевдобешенства, вируса свиного гриппа, парвовируса свиней, трансмиссивного вируса гастроэнтерита, Escherichia coli, Erysipelo rhusiopathiae, Bordetella bronchiseptica, Salmonella cholerasuis, Haemophilus parasuis, Pasteurella multocida, Streptococcus suis, Mycoplasma hyopneumoniae и Actinobacillus pleuropneumoniae.

Предпочтительно вакцина дополнительно может содержать один или несколько штаммов европейского PRRSV, выбранных из штамма вируса Лелистад (CDI-NL-2.91) или штаммов ECACC 04102703, ECACC 04102702, ECACC 04102704, CNCM I-1140, CNCM I-1387, CNCM I-1388, CNCM I-1102, CNCM I-1387, или ECACC V93070108, pT7P129A; ATCC VR-2332, ATCC VR-2368; ATCC VR-2495; ATCC VR 2385, ATCC VR 2386, ATCC VR 2429, ATCC VR 2474 и ATCC VR 2402.

Кроме того, в предпочтительном варианте осуществления изобретения она содержит носитель, который пригоден для внутрикожного или внутримышечного введения. При этом такая вакцина может находиться в высушенной вымораживанием форме.

Предпочтительно такая вакцина может содержать по меньшей мере примерно 10^7 вирусных частиц.

Еще одним из вариантов данного изобретения является способ получения вакцины для защиты свиней от инфекции PRRSV, включающий смешивание живого ослабленного PRRSV с фармацевтически приемлемым носителем.

В предпочтительном варианте к живому ослабленному PRRSV дополнительно добавляют адъювант.

Еще одним объектом изобретения является применение предложенной вакцины для иммунизации свиней от репродуктивно-респираторного синдрома свиней (PRRS). Причем это применение не приводит к повреждению легких у указанных свиней после вакцинации.

Изобретение также относится и к вирусу PRRS, имеющему нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 95% гомологична последовательности PRRSV, представленной в SEQ ID NO: 1, или последовательности PRRSV, представленной в SEQ ID NO: 10. В предпочтительном варианте вирус PRRS имеет нуклеотидную последовательность, которая представлена либо в SEQ ID NO: 1, либо в SEQ ID NO: 10.

Кроме того, в заявке описана вакцина для защиты свиней от вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней (PRRSV), содержащая PRRS вирус и фармацевтически приемлемый носитель, где указанный PRRS вирус имеет нуклеотидную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 1, или ослабленный PRRS вирус, который имеет нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 95% гомологична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 1.

В предпочтительном варианте эта вакцина дополнительно включает один или более не представляющих собой PRRSV ослабленных или инактивированных патогенов или их антигенный материал.

Причем не представляющие собой PRRSV патогены выбираются из вируса псевдобешенства, вируса свиного гриппа, парвовируса свиней, трансмиссивного вируса гастроэнтерита, Escherichia coli, Erysipelo rhusiopathiae, Bordetella bronchiseptica, Salmonella cholerasuis, Haemophilus parasuis, Pasteurella multocida, Streptococcus suis, Mycoplasma hyopneumoniae и Actinobacillus pleuropneumoniae.

Краткое описание нескольких аспектов чертежей

На чертежах показано:

на фиг. 1А - балльная оценка кашля, установленная по результатам клинических обследований, при использовании модели респираторного контрольного заражения с применением европейского штамма для контрольного заражения;

на фиг. 1Б - общий клинический балл, установленный по результатам клинических обследований, при использовании модели респираторного контрольного заражения с применением европейского штамма для контрольного заражения;

на фиг. 2 - результаты измерений ректальной температуры при использовании модели респираторного контрольного заражения с применением европейского штамма для контрольного заражения;

на фиг. 3 - результаты измерений среднего суточного прироста массы при использовании модели респираторного контрольного заражения с применением европейского штамма для контрольного заражения;

на фиг. 4 - уровень PRRS-виремии по данным анализа методом количественной ПЦР при использовании модели респираторного контрольного заражения с применением европейского штамма для контрольного заражения;

на фиг. 5 - результаты серологического анализа на PRRS методом ELISA при использовании модели респираторного контрольного заражения с применением европейского штамма для контрольного заражения;

на фиг. 6 - результаты макроскопического исследования повреждений легких при использовании модели респираторного контрольного заражения с применением европейского штамма для контрольного заражения;

на фиг. 7А-7В - результаты гистопатологических анализов. На фиг. 7А представлены результаты оценки средних макроскопических повреждений; на фиг. 7Б представлены результаты гистопатологического исследования контрольного животного; на фиг. 7В представлены результаты гистопатологического исследования животного, зараженного PRRS.

на фиг. 8 - результаты ОТ-ПЦР в реальном времени, демонстрирующие % виремии у животных, вакцинированных EU PRRS 94881.

на фиг. 9 - параллельный процесс крупномасштабного получения EU PRRS 94881.

Подробное описание изобретения

Понятие "лечение или снижение серьезности или встречаемости" относится к снижению серьезности клинических признаков, симптомов и/или патологических признаков, которые, как правило, ассоциированы с инфекцией, вплоть до их прекращения и включая предупреждение возникновения любых таких признаков или симптомов. Понятие "патологические признаки" относится к проявлению инфекции, которое обнаруживают путем микроскопического обследования или при аутопсии (например, повреждения легких).

Антиген PRRSV можно вводить в одном терапевтическом количестве поросенку возрастом примерно три недели или менее, а свинье возрастом от примерно 3 недель до 4 недель можно вводить антиген в других терапевтических количествах. Аналогично этому его можно вводить в совершенно других терапевтических количествах свинье возрастом от примерно четырех недель до шестнадцати недель (или в любом возрасте, находящемся в указанном диапазоне, например, в возрасте от пяти недель до шести недель, в возрасте от девяти недель до пятнадцати недель, в возрасте от семи недель до десяти недель и т.д.), или свинье старше шестнадцати недель, такой, как взрослая свиноматка.

Ослабленный атипичный штамм PRRSV и соответствующие улучшенные модифицированные живые вакцины обеспечивают эффективный иммунитет к указанному новому открытому типичному штамму PRRSV. Понятие "эффективный иммунитет" относится к способности вакцины предупреждать инфекции, вызываемые PRRSV у свиней, включая инфекции, вызываемые атипичным PRRSV, которые приводят к выраженным клиническим признакам заболевания. Следует понимать, что иммунизированная свинья может иметь, но может и не иметь PRRSV-позитивный серологический статус, но при этом у свиньи не проявляются никакие выраженные клинические симптомы.

Предпочтительные формы вакцины включают живой вирус PRRS европейского типа, у которого ослаблена вирулентность. В опытах на животных-хозяевах с использованием контрольного заражения было продемонстрировано, что полученный таким путем ослабленный вирус является авирулентным и обеспечивает эффективный иммунитет. Указанный конкретный штамм EU PRRS не обладает такой вирулентностью, как другие, и, следовательно, является предпочтительным в качестве кандидата для получения вакцины. Родительский штамм PRRSV 94881 не вызывает ни серьезного атипического заболевания PRRS у беременных самок, ни серьезных повреждений легких у молодых свиней. Этот штамм первоначально был выделен в области Северный Рейн-Вестфалия, Германия, из организма поросенка 3-недельного возраста с серьезным респираторным нарушением. Затем штамм последовательно ослабляли посредством осуществления непрерывных пассажей на клетках линии MA 104. Ослабленный штамм был депонирован фирмой Bioscreen GmbH, Mendelstrasse 11, 48149, Мюнстер, Германия в Европейской коллекции клеточный культур (ECACC), Портон Даун, Солсбери, графство Уилтшир, SP4 0JG, Великобри-

тания, 25 января 2011 г. и ему был присвоен регистрационный номер 11012502. Указанный ослабленный вирус представляет собой предпочтительный исходный вакцинный вирус (MSV), который был подвергнут последовательным пассажам и превращен в эффективную вакцину на основе PRRSV. Вирулентный родительский штамм, обозначенный как 94881, также был депонирован в соответствии с Будапештским договором фирмой Bioscreen GmbH, Mendelstrasse 11, 48149, Мюнстер, Германия, в Европейской коллекции клеточный культур (ECACC), Портон Даун, Солсбери, графство Уилтшир, SP4 0JG, Великобритания, 25 января 2011 г. и ему был присвоен регистрационный номер 11012501.

Модифицированную живую вирусную вакцину тестировали, вводя ее путем внутримышечной инъекции в дозе 1 мл молодым свиньям и в дозе 2 мл свиноматкам, и была продемонстрирована ее эффективность в отношении создания защитного иммунитета.

Пассажи вируса с целью его ослабления осуществляли согласно классическим вирусологическим методам. Конкретно, родительский изолят PRRS 94881 ослабляли in vitro посредством осуществления непрерывных пассажей на клетках линии MA 104, осуществляя максимум 108 пассажей после первоначального выделения. В целом, материал пересевали примерно 1-2 раза в неделю, осуществляя в общей сложности 108 пассажей в Т-колбах (25 $см^2$) или Т-колбах (75 $см^2$). Конфлюэнтные культуры клеток линии MA 104 в примерно 12-30 мл минимальной поддерживающей среды (MEM), дополненной 6% фетальной бычьей сыворотки (FBS) инокулировали 100-300 мкл вируса. Культуры инкубировали в течение 3-7 дней во влажной камере при 37°C в атмосфере, содержащей 4-6% CO_2. После того, как цитопатическое действие (ЦПД) культур достигало >25%, осуществляли сбор из колб путем экстракции супернатанта. Часть супернатанта переносили в новую колбу, а 2 мл собранного продукта помещали в виде аликвот на хранение при температуре от -60 до -80°C.

Специалист в данной области может с помощью стандартных методов определять нуклеотидную последовательность, которую имеет ослабленный вирус, депонированный в ECACC под регистрационным номером 11012502.

Последовательность, представленная в SEQ ID NO: 1, является полноразмерной последовательностью ослабленного MSV PRRS 94881 и полная длина последовательности составляет 14843 пар оснований. Ниже приведены данные об ОРС с 1 по 7 для указанной последовательности:

Номер ОРС	CDS в SEQ ID NO: 1	Кодируемый белок
ОРС1a	с 178 по 7227	SEQ ID NO: 2
ОРС1b	с 7209 по 11600	SEQ ID NO: 3
ОРС 2	с 11611 по 12360	SEQ ID NO: 4
ОРС3	с 12219 по 13016	SEQ ID NO: 5
ОРС4	с 12761 по 13312	SEQ ID NO: 6
ОРС5	с 13309 по 13914	SEQ ID NO: 7
ОРС6	с 13902 по 14423	SEQ ID NO: 8
ОРС7	с 14413 по 14799	SEQ ID NO: 9

Последовательность, представленная в SEQ ID NO: 10, является полноразмерной последовательностью родительского штамма PRRSV 94881, полученного после пассажа 5, и полная длина последовательности составляет 14843 пар оснований. Ниже приведены данные об ОРС с 1 по 7 для указанной последовательности:

Номер ОРС	CDS в SEQ ID NO: 10	Кодируемый белок
ОРС1a	с 178 по 7227	SEQ ID NO: 11
ОРС1b	с 7209 по 11600	SEQ ID NO: 12
ОРС2	с 11611 по 12360	SEQ ID NO: 13
ОРС3	с 12219 по 13016	SEQ ID NO: 14
ОРС4	с 12761 по 13312	SEQ ID NO: 15
ОРС5	с 13309 по 13914	SEQ ID NO: 16
ОРС6	с 13902 по 14423	SEQ ID NO: 17
ОРС7	с 14413 по 14799	SEQ ID NO: 18

После выделения указанного нового ослабленного штамма европейского вируса PRRS можно получать улучшенные вакцины против PRRS, содержащие самый современный штамм вируса PRRS, который соответствует вирулентным штаммам PRRS, обнаруженным в настоящее время в полевых условиях. В частности, новый ослабленный европейский вирус PRRS можно применять для получения модифицированных живых вакцин (MLV). Модифицированная живая вакцина характеризуется тем, что она содержит живой вирус, который может размножаться в организме свиней, но который не вызывает клинического заболевания PRRS. Кроме того, после введения он индуцирует иммунологический ответ у свиней, кото-

рый, как правило, обеспечивает значительный уровень защиты от повторной инфекции, вызываемой патогенным вирусом PRRS. Вирус, обладающий такими характеристиками, обычно называют ослабленным вирусом. В заявке представлено подробное описание последовательностей ОРС как родительского, так и ослабленного штаммов PRRSV 94881. Таким образом, предполагается, что специалист в данной области может применять последовательности одной или нескольких ОРС, представленных в настоящем описании, в субъединичной вакцине.

Как указано выше, в целом, ослабленный вирус можно создавать из патогенных изолятов вируса посредством осуществления повторных пассажей с использованием пригодных клеток-хозяев, которые являются пермиссивными (т.е. восприимчивыми к вирусу клетками, способными обеспечивать его репродукцию) для вируса, до тех пор, пока вирус не приобретет требуемые свойства (WO 92/21375, WO 93/06211, WO93/03760, WO 93/07898, WO 96/36356, EP 0676467, EP 0732340, EP 0835930). Его также можно создавать путем генетической инженерии с использованием инфекционного клона, как правило, полноразмерного транскрипта комплементарной ДНК вирусного генома (WO 98/18933, EP 1018557, WO 03/062407, Nielsen и др., J Virol, 77, 2003, сс. 3702-3711). MLV содержит ослабленный вирус PRRS европейского генотипа 94481, который получен путем ослабления родительского вируса, депонированного в ECACC под регистрационным номером 11012501. MLV может содержать ослабленный вирус, пре который депонирован в ECACC под регистрационным номером 11012502.

Для специалиста не составит труда получить и выделить потомство или поколения вируса PPRS, депонированного 25 января 2011 г. в Европейской коллекции клеточных культур (ECACC), Портон Даун, Солсбери, графство Уилтшир, SP4 0JG, Великобритания, под регистрационными номерами ECACC 11012502 (ослабленный штамм для MLV) и 11012501 (родительский штамм). Таким образом, можно вывести штаммы вируса PRRS из депонированных штаммов посредством размножения или мультипликации в идентичной или дивергентной форме, прежде всего из потомков, которые обладают необходимыми характеристиками депонированных штаммов. При продолжении размножения штаммы могут приобретать мутации, большинство из которых не должно существенно изменять свойства указанных штаммов.

Штаммы можно подвергать также дополнительной модификации с целью придания им дополнительных желательных свойств. Это можно осуществлять с помощью классических методов размножения и отбора, таких как непрерывное размножение в пригодных клетках-хозяевах до получения ослабленного фенотипа. Штаммы можно генетически модифицировать путем осуществления направленной мутации нуклеотидной последовательности из генома этих штаммов с помощью пригодных методов генетической инженерии. Геном PRRSV был полностью или частично секвенирован (Conzelmann и др., 1993; Meulenberg и др., 1993a, Murtaugh и др., 1995), он кодирует помимо РНК-зависимой РНК-полимеразы (ОРС1a и ОРС1b), шесть структурных белков, которые представляют собой четыре оболочечных гликопротеина, обозначенные как GP2 (ОРС2), GP3 (ОРС3), GP4 (ОРС4) и GP5 (ОРС5), негликозилированный мембранный белок M (ОРС6) и нуклеокапсидный белок N (ОРС7) (Meulenberg и др., 1995, 1996; van Nieuwstadt и др., 1996). Путем иммунологической характеризации и нуклеотидного секвенирования европейских штаммов и US-штаммов PRRSV были выявлены небольшие антигенные различия в штаммах PRRSV, локализованные в структурных вирусных белках (Nelson и др., 1993; Wensvoort и др., 1992; Murtaugh и др., 1995). Сравнение MSV PRRS 94881 со штаммом европейского референс-вируса, а именно, вирусом Лелистад (LV), выявило гомологии нуклеотидных последовательностей на уровне от 85,40 до 95,09 процентов у 8 различных вирусных генов и идентичности аминокислот на уровне от 86,39 до 97,27 процентов между обоими вирусными штаммами. При сравнении с LV можно идентифицировать две делеции в ОРС1a MSV 94881. Например, ОРС1a MSV 94881 обладает 85,40%-ной гомологией нуклеотидов с вирусом Лелистад, что обусловливает идентичность аминокислот на уровне 86,39%; ОРС1b MSV 94881 обладает 92,12%-ной гомологией нуклеотидной последовательности с вирусом Лелистад, что обусловливает идентичность аминокислот на уровне 97,27%; ОРС2 MSV 94881 обладает 91,07%-ной гомологией нуклеотидной последовательности с вирусом Лелистад, что обусловливает идентичность аминокислот на уровне 90,76%; ОРС3 MSV 94881 обладает 90,98%-ной гомологией нуклеотидной последовательности с вирусом Лелистад, что обусловливает идентичность аминокислот на уровне 89,43%; ОРС4 MSV 94881 обладает 90,58%-ной гомологией нуклеотидной последовательности с вирусом Лелистад, что обусловливает идентичность аминокислот на уровне 87,43%; ОРС5 MSV 94881 обладает 90,43%-ной гомологией нуклеотидной последовательности с вирусом Лелистад, что обусловливает идентичность аминокислот на уровне 88,56%; ОРС6 MSV 94881 обладает 95,02%-ной гомологией нуклеотидной последовательности с вирусом Лелистад, что обусловливает идентичность аминокислот на уровне 97,11%; ОРС7 MSV 94881 обладает 95,09%-ной гомологией нуклеотидной последовательности с вирусом Лелистад, что обусловливает идентичность аминокислот на уровне 92,97%.

Фактически вирус PRRS 94881 может быть создан в виде химерного вируса с каркасом вируса PRRS, имеющего регистрационный номер ECACC 11012502, или фактически родительский штамм, депонированный под регистрационным номером ECACC 11012501, модифицируют путем замены эндогенной последовательности одной или нескольких из ОРС 1a, ОРС 1b, ОРС 2, ОРС 3, ОРС 4, ОРС 5, ОРС 6 или ОРС 7 на соответствующую ОРС из другого штамма вируса PRRS. Например, другой штамм вируса PRRS может представлять собой другой европейский штамм, такой как штамм вируса Лелистад (агент

Лелистад (CDI-NL-2.91)), или другие штаммы, такие как штаммы, депонированные под регистрационными номерами ECACC 04102703, ECACC 04102702, ECACC 04102704, регистрационным номером CNCM I-1140, регистрационным номером CNCM I-1387, регистрационным номером CNCM I-1388, ATCC VR 2332, VR 2385, VR 2386, VR 2429, VR 2474 и VR 2402; CNCM I-1102, CNCM I-1140, CNCM I-1387, CNCM I-1388 или ECACC V93070108, или в действительности он может представлять собой US-штамм, такой как североамериканский вирус PRRS, pT7P129A; депозит ATCC VR-2332, депозит ATCC VR-2368; ATCC VR-2495; ATCC VR 2385, ATCC VR 2386, ATCC VR 2429, ATCC VR 2474 и ATCC VR 2402.

Методы рекомбинации, применяемые для получения модифицированных последовательностей, хорошо известны специалистам в данной области, и, как правило, в них применяют конструирование полноразмерных копий комплементарной ДНК (инфекционные клоны) вирусного генома, которые затем можно модифицировать с помощью методов рекомбинации и манипулирования ДНК (типа сайт-направленного мутагенеза и т.д.). Таким путем можно, например, модифицировать антигенные сайты или ферментативные свойства вирусных белков. В литературе описаны инфекционные клоны штаммов вируса PRRS европейского и североамериканского генотипа.

Штаммы вируса PRRS, которые пригодны для вакцин, можно выращивать и собирать методами, известными в данной области, например, путем размножения в пригодных клетках-хозяевах, таких как обезьянья клеточная линия MA-104, клетки линии Vero или свиные альвеолярные макрофаги. PRRSV предпочтительно выращивают в альвеолярных легочных макрофагах (Wensvoort и др., 1991). Несколько клеточных линий, таких как CL2621 и другие клеточные линии, клонированные из линии клеток почки обезьяны MA-104 (Benfield и др., 1992; Collins и др., 1992; Kim и др., 1993), также восприимчивы к вирусу.

Таким образом, вакцины могут содержать любой из штаммов PRRSV с регистрационным номером ECACC 11012501, 11012501 регистрационными номерами ECACC 04102703, ECACC 04102702, ECACC 04102704, регистрационным номером CNCM I-1140, регистрационным номером CNCM I-1387 и регистрационным номером CNCM I-1388, а также любые комбинации указанных штаммов или их потомков. Вирус PRRS 94881 выращивают с помощью способа, в котором производят параллельное высевание вируса и клеток-хозяев в один и тот же день в биореактор, что продемонстрировано на фиг. 9. Дополнительные отличительные признаки способа получения вируса PRRS 94881 могут быть такими же, что и описанные в одновременно зарегистрированной предварительной заявке на патент США, озаглавленной "Способ получения PRRSV в коммерческом масштабе", которая зарегистрирована одновременно с настоящей заявкой под номером 61/444071. Хотя представлен один способ выращивания PRRSV 94881, следует понимать, что вирус можно размножать с помощью любого общепринятого метода, известного специалистам в данной области.

Предпочтительно вакцины представляют собой модифицированные живые вакцины, содержащие один или несколько указанных живых штаммов в пригодном носителе, но можно применять также инактивированный вирус для получения убитой вакцины (KV). Как правило, MLV включают в препаративную форму таким образом, чтобы обеспечивать введение от 10^1 до 10^7 вирусных частиц на дозу, предпочтительно от 10^3 до 10^5 частиц на дозу, более предпочтительно от 10^4 до 10^5 частиц на дозу (4,0-5,0 $\log_{10}$ $TCID_{50}$) KV можно включать в препаративную форму, исходя из титра до активации, составляющего от 10^3 до 10^{10} вирусных частиц на дозу. Вакцина может содержать фармацевтически приемлемый носитель, например, физиологический солевой раствор.

Инфицирование свиней PRRSV может осуществляться ороназальным путем. В легких вирус поглощается легочными альвеолярными макрофагами и в этих клетках репликация PRRSV завершается в течение 9 ч. В течение 12 ч PRRSV перемещается из легких в легочные лимфатические узлы и в течение 3 дней в периферические лимфатические узлы, костный мозг и селезенку. В этих областях лишь небольшое количество клеток дают положительную в отношении вирусного антигена окраску. Вирус присутствует в крови по меньшей мере в течение 21 дня и часто намного дольше. Через 7 дней в крови обнаруживают антитела к PRRSV. Одновременное присутствие вируса и антитела в организме инфицированных PRRS свиней свидетельствует о том, что вирусная инфекция может сохраняться в течение продолжительного периода времени, хотя и на низком уровне, несмотря на присутствие антитела. На протяжении по меньшей мере 7 недель популяция альвеолярных клеток в легких отличается от популяции в здоровых свободных от патогенов (SPF) легких.

Вакцина может находиться в форме высушенного вымораживанием препарата живого вируса, предназначенного для восстановления с помощью растворителя для получения раствора для инъекции. Растворитель может представлять собой, например, воду, физиологический раствор или буфер, или вспомогательный (адъювантный) растворитель. Растворитель может содержать адъюванты. Восстановленную вакцину можно затем инъецировать свинье, например, путем внутримышечной или внутрикожной инъекции в шею. Для внутримышечной инъекции можно использовать объем 2 мл, для внутрикожной инъекции, как правило, объем составляет 0,2 мл. Таким образом, продукт, представляющий собой вакцину, может содержать в отдельных контейнерах высушенную вымораживанием композицию вируса и растворитель для восстановления, и необязательно дополнительно листовку или этикетку с инструк-

циями по применению.

Вакцина может содержать не только один или несколько из вышеуказанных штаммов, но может включать другие компоненты, обладающие активностью в отношении PRRS или других вирусных или бактериальных заболеваний свиней, таких как свиной цирковирус или классический вирус лихорадки свиней. Таким образом, вакцина она может содержать по меньшей мере один дополнительный антиген, обладающий активностью в отношении заболевания свиней, отличного от PRRS. Например, такие дополнительные антигены могут включать Mycoplasma hyopneumoniae, PCV2, SIV, H. parasuis, E. rhusiopathiae, S. suis, A. suis, Leptospira sp. Parvovirus и т.п. Кроме того, вакцина может содержать определенные фармацевтически приемлемые или приемлемые для ветеринарии адъюванты. Вакцины против вируса PRRS могут содержать PRRSV 94881, а также адъюванты, повышающие эффективность вакцины, в результате чего при введении комбинации адъюванта и вакцины наблюдается лучший клинический ответ/исход по сравнению с введением только одной вакцины. Например, композиции вакцины могут содержать вакцину на основе вируса PRRSV 94881 и адъювант, выбранный из группы, состоящей из MCP-1, α-токоферол (например, α-токоферола ацетат, примером которого служит вариант, поступающий в продажу под товарным знаком Diluvac Forte®), фракции Haemophilus sonmus, карбопол и их комбинации. Вирусная вакцина может представлять собой рекомбинантную субъединичную вакцину или живую ослабленную вирусную вакцину. Примером существующей в настоящее время живой вакцины является MLV PRRS Ingelvac®, и на основе PRRS 94881 можно приготавливать препаративную форму методом, сходным с методом получения MLV PRRS Ingelvac®.

Иммуногенные композиции могут содержать помимо указанных выше и другие ингредиенты, если другие ингредиенты не взаимодействуют с адъювантами или лежащей в основе композиции вирусной вакциной. К таким другим ингредиентам относятся, например, связующие вещества, красители, десиканты, антисептики, смачивающие вещества, стабилизаторы, эксципиенты, адгезивы, пластификаторы, вещества для повышения клейкости, разрыхлители, материалы для пластырей, мазевые основы, вещества для удаления кератина, основные субстанции, вещества, усиливающие абсорбцию, жирные кислоты, эфиры жирных кислот, высшие спирты, поверхностно-активные вещества, вода и забуферивающие вещества. К предпочтительным другим ингредиентам относятся забуферивающие вещества, мазевые основы, жирные кислоты, антисептики, основные субстанции и поверхностно-активные вещества.

Содержание или количество адъювантов можно варьировать и его можно определять, принимая во внимание, например, свойства применяемой вакцины на основе PRRSV и форму лекарственного средства. Компонент, представляющий собой адъювант, может содержать, например, от 1 до 100 мас.%. Композиции на основе PRRSV 94881 получают путем смешения компонента, представляющего собой адъювант, и компонента, представляющего собой вирусную вакцину, либо индивидуально, либо в сочетании с различными другими ингредиентами. Композиции могут представлять собой такие композиции, в которых вирусная вакцина и адъювант присутствуют в составе одной препаративной формы, или в альтернативном варианте адъювант и вакцина присутствуют в составе отдельных препаративных форм, которые можно вводить одновременно или последовательно.

Так, при введении в организм животных компонент, представляющий собой адъювант можно вводить отдельно от вирусной вакцины. В альтернативном варианте адъювант можно вводить совместно с вирусной вакциной в форме единой композиции вакцины. Вирусная вакцина может представлять собой любую вирусную вакцину. Предлагается применять вакцину на основе вируса PRRS, содержащую PRRSV 94881. Кроме того, такую вакцину можно объединять с другими вакцинами, такими как MLV PRRS Ingelvac® и/или Porcilis®. Это является лишь одним из примеров комбинированной вакцины на основе вируса PRRS, можно легко приготавливать и другие подобные комбинации вакцин.

Иммуногенные композиции являются наиболее предпочтительными с точки зрения индукции гуморального иммунного ответа на вирус PRRS. Введение вакцин предпочтительно должно приводить к снижению серьезности одного или нескольких клинических симптомов, таких как повреждения легких, анорексия, обесцвечивание кожи, заторможенность, респираторные признаки, появление мумифицированных поросят, кашель, диарея и их комбинации, которые ассоциированы с заражением PRRSV.

Так, композиции предпочтительно улучшают клинический исход для заболевшего животного по сравнению с исходом после введения только одной вирусной вакцины против PRRS. Улучшенный клинический исход заключается в снижении процента повреждений легких по меньшей мере на 50% по сравнению с животными, которым не вводили иммуногенную композицию в комбинации с указанным адъювантом. Улучшение клинического исхода заключается также в снижении уровня виремии у животных по меньшей мере на 45% по сравнению с животными, которым не вводили иммуногенную композицию в комбинации с указанным адъювантом.

Таким образом, улучшенная вирусная вакцина против PRRS предполагает смешение вирусной вакцины с адъювантом, выбранным из группы, состоящей из MCP-1, фракций Haemophilus sonmus, карбопола и их комбинаций. Кроме того, композиция вакцины может содержать фармацевтически приемлемый носитель.

Композиции вакцины можно включать в препаративные формы любым методом, известным в об-

ласти приготовления препаративных форм, например, включать в состав жидких препаратов, суспензий, мазей, порошков, лосьонов, эмульсий типа вода-в масле, эмульсий типа масло-в воде, эмульсий, кремов, каталазм, пластырей и гелей, и предпочтительно их применяют в качестве лекарственных средств. Композиция вакцины при ее введении в кожу может приводить к значительной индукции производства антител. Таким образом композиция вакцины может быть приготовлена в виде препарата для чрезкожного введения.

Кроме того, как описано выше, вирус и адъювант можно вводить в организм совместно в форме единой композиции вакцины или можно вводить адъювантный препарат отдельно и другим путем по отношению к антигенному вирусному компоненту вакцины против PRRS, при этом адъювант действует таким образом, что количество антитела, продуцируемого в организме в ответ на вирусную вакцину против PRRS, может существенно возрастать по сравнению с введением только одной вирусной вакцины против PRRS.

Когда в организм вводят адъювант и вирусную вакцину против PRRS, то это приводит к улучшению клинического исхода у животного. Обычный специалист в данной области может легко определять эффективное количество адъюванта и иммунологически эффективное количество вирусной вакцины против PRRS, принимая во внимание, например, тип и свойства антигенной субстанции, вид организмов, возраст, вес тела, серьезность заболеваний, тип заболеваний, время введения и метод введения, а также используя в качестве показателя количество антитела, вырабатываемого в организме против антигенной субстанции.

Вирусную вакцину против PRRS, адъювант или их комбинации можно вводить в организмы любым пригодным методом, выбранным в зависимости, например, от состояния животных и характеристик заболевания. Примеры таких методов включают внутрибрюшинное введение, дермальное введение, например, путем подкожной инъекции, внутримышечной инъекции, внутрикожной инъекции и с помощью пластыря, назальное введение, оральное введение, введение через слизистую оболочку (например, ректальное введение, вагинальное введение и введение через роговицу). Среди них предпочтительным является внутримышечное введение.

Примером терапевтической дозы MLV PRRSV является доза объемом примерно два миллилитра (2 мл). Специалисту в данной области должно быть очевидно, что уровень дозы можно варьировать в зависимости от породы, размера и других физических факторов индивидуального животного, а также от конкретной препаративной формы MLV PRRSV и пути введения. Предпочтительно MLV PRRSV вводят в виде однократной дозы; однако можно применять дополнительные дозы. И в этом случае также специалисту в данной области должно быть очевидно, что доза и количество доз зависят от возраста и физического состояния конкретной свиньи, а также от других факторов, которые обычно учитывают в промышленности, и от конкретных условий, в которых осуществляют введение MLV PRRSV.

Вакцина может представлять собой мультивалентную вакцину, которая содержит два или большее количество вирусов PRRS, где по меньшей мере один из вирусов PRRS представляет собой ослабленный вирус 94881, депонированный под регистрационным номером ECACC 11012502. Другие вирусы PRRS могут представлять собой один или несколько вирусов, выбранных из группы, состоящей из вирусного штамма PRRSV, представляющего собой вирус Лелистад (агент Лелистад (CDI-NL-2.91)), или других штаммов, таких как штаммы, депонированные под регистрационными номерами ECACC 04102703, ECACC 04102702, ECACC 04102704, регистрационным номером CNCM I-1140, регистрационным номером CNCM I-1387, регистрационным номером CNCM I-1388, ATCC VR 2332, VR 2385, VR 2386, VR 2429, VR 2474 и VR 2402; CNCM I-1102, CNCM I-1140, CNCM I-1387, CNCM I-1388 или ECACC V93070108, или может представлять собой US-штамм, такой как североамериканский вирус PRRS, pT7P129A; депозит ATCC VR-2332, депозит ATCC VR-2368; ATCC VR-2495; ATCC VR 2385, ATCC VR 2386, ATCC VR 2429, ATCC VR 2474 и ATCC VR 2402.

Вакцины на основе вирусов PRRS можно применять для вакцинирования, как поросят, так и свиноматок. Конкретную схему введения доз выбирают в зависимости от возраста свиньи и антигена, выбранного для введения. Это позволяет вводить свиньям любого возраста наиболее эффективную дозу. MLV PRRSV 94881 вводят в терапевтическом количестве свинье или поросенку возрастом примерно две недели ± 5 дней. Выбранное количество должно варьироваться в зависимости от возраста свиньи. MLV вводят в другом терапевтическом количестве свинье или поросенку, возраст которого превышает примерно 3 недели, и это количество также должно изменяться, когда свинья, которой осуществляют указанное введение, взрослеет или становится старше. Таким образом, свиньям возрастом примерно четыре недели, шесть недель, восемь недель, десять недель, двенадцать недель, четырнадцать недель, шестнадцать недель, подсвинке или свиноматке, всем нужно вводить вакцину в различных количествах. Предназначенную для применения терапевтическую дозу следует оптимизировать в полевых условиях и, как правило, ее определяют в клинических опытах, в которых определяют минимальную иммунизирующую дозу, обеспечивающую защиту восприимчивой свиньи от контрольного заражения вирулентным гетерологичным PRRSV. Предпочтительно, MLV PRRSV вводят внутримышечно; однако можно использовать и другие методы введения, такие как внутрикожное, интраназальное, интраретинальное, оральное, подкожное введение и т.п., которые широко известны и применяются в данной области.

Специалисту в данной области должно быть очевидно, что методы вакцинации могут предусматривать определение соответствующего графика введения и доз для осуществления вакцинации свиньи от PRRSV. Такие методы, как правило, включают стадии определения по меньшей мере одной переменной, выбранной из группы, включающей возраст, состояние здоровья, уровень врожденного иммунитета и уровень активного иммунитета свиньи, и регулирования стандартного уровня доз с учетом этих переменных. Как правило, уровень врожденного иммунитета и уровень активного иммунитета следует определять путем сопоставления со стандартом, представляющим собой средние уровни для популяции свиней сходного возраста и состояния здоровья. Все переменные рассматривают до определения оптимального уровня доз и графика введения.

Полная нуклеотидная последовательность ослабленного вируса 94881, депонированного под регистрационным номером ECACC 11012502, имеет последовательность SEQ ID NO: 1, которая кодирует представленные в SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8 и SEQ ID NO: 9 белковые последовательности ORC1a, ORC1b, ORC2, ORC3, ORC4, ORC5, ORC6, ORC7 соответственно. Полная нуклеотидная последовательность вирулентного родительского вируса 94881, депонированного под регистрационным номером ECACC 11012501, имеет последовательность SEQ ID NO: 10, которая кодирует представленные в SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 и SEQ ID NO: 18 белковые последовательности ORC1a, ORC1b, ORC2, ORC3, ORC4, ORC5, ORC6, ORC7 соответственно.

Вакцину на основе PRRSV 94881 можно вводить любым общепринятым путем, в некоторых предпочтительных способах введение осуществляют внутримышечно. Предпочтительно, когда вводимая вакцина против PRRSV оказывает свое благоприятное действие в отношении лечения или уменьшения серьезности или встречаемости инфекции PRRSV после введения однократной дозы, как это имеет место в случае Ingelvac®, однако, если выбирают другие антигены или комбинации, или мультивалентные вакцины, то следует иметь в виду, что их можно вводить общепринятым для их применения образом, что может включать введение одной или нескольких бустерных доз после введения первой дозы. Специалисты в данной области могут определять соответствующие уровни доз с учетом выбранной вакцины против PRRSV и возрастного диапазона животного, которому требуется вводить антиген.

В конкретных представленных ниже примерах осуществляли контрольное заражение свиней и свиноматок новым выведенным штаммом европейского PRRSV, который обладает способностью воспроизводимым образом вызывать респираторное заболевание у поросят. Выводимые до настоящего времени европейские штаммы PRRSV не позволяли воспроизводить респираторное заболевание при его моделировании на поросятах и поэтому исторически модели, основанные на контрольном заражении респираторным путем, базировались на использовании не-европейских штаммов для заражения. В Европе вследствие высокого генетического разнообразия существует необходимость в создании новой вакцины на основе европейского штамма. В дополнительных примерах осуществляли контрольное заражение животных штаммом, который вызывал потерю репродуктивной способности на моделях с использованием контрольного заражения подсвинок/свиноматок. Было установлено, что эффективность MLV-вакцин на основе ослабленного вируса 94881, депонированного под регистрационным номером ECACC 11012502, или любого вируса, полученного из этого штамма или из родительского штамма, депонированного под регистрационным номером ECACC 11012501, можно демонстрировать на разнообразных моделях с использованием контрольного заражения, поскольку указанный штамм также обладает эффективностью на других моделях индуцированного вирусом PRRS респираторного заболевания или потери репродуктивной способности.

Примеры

Пример 1. Описание модели контрольного заражения PRRSV респираторным путем.

Как указано выше, исторически было установлено, что штаммы, выведенные из EU-PRRSV, не позволяют воспроизводить респираторное заболевание на модели, созданной на поросятах. В Европе вследствие высокого генетического разнообразия существует необходимость в создании новой вакцины на основе европейского штамма, и для проведения исследований необходима надежная воспроизводимая модель контрольного заражения респираторным путем, созданная с использованием вирулентного штамма, выведенного из Европейского PRRSV. В приведенном ниже примере представлены полученные при создании изобретения данные о том, что контрольное заражение свиней европейским применяемым для контрольного заражения штаммом, полученным в результате небольшого количества пассажей (после 4-го пассажа), позволяет надежно вызывать респираторные симптомы.

В этом опыте использовали 3 группы по 12 животных, имевших возраст 3 недели на момент их распределения по группам и возраст примерно 10 недель на момент контрольного заражения:

группа 1 - контрольная группа (на чертежах обозначена как "контроль");

группа 2 - группа животных, которых подвергали контрольному заражению (SD 35) (на чертежах обозначена как "контр. зараж.");

группа 3 - группа животных, которых вакцинировали PRRSV Porcilis® (SD 0) и затем подвергали контрольному заражению (SD 35) (на чертежах обозначена как "Porcilis").

Опыт проводили в течение 56-дневного периода; через 10 дней после контрольного заражения проводили аутопсию 6 животных из каждой группы; аутопсию всех остальных животных осуществляли через 21 день после контрольного заражения. Ежедневно оценивали следующие параметры: ректальную температуру, респираторные и другие клинические признаки. Другие исследуемые параметры включали: вес тела, смертность, виремию, сероконверсию, данные патологического и гистологического обследования легких.

В день -7 свиней распределяли по группам. В день опыта 0, группу 3 вакцинировали PRRSV Porcilis®. В день опыта 35 группу 2 и группу 3 подвергали контрольному заражению европейским штаммом, применяемым для контрольного заражения. В день 45 по 6 животных из каждой группы подвергали аутопсии. Аутопсию остальных животных осуществляли в день 56.

На фиг. 1А представлены результаты оценки кашля в виде среднего балла на животное для каждой недели. Видно, что после контрольного заражения имело место усиление кашля как в группе, подвергнутой контрольному заражению (группа 2), так и в группе, обработанной Porcilis (группа 3). На фиг. 1Б представлен общий клинический балл, который учитывает одышку, кашель, выделения из носа и глаз, а также поведение. Эти данные свидетельствуют о том, что в целом после контрольного заражения имело место повышение общего клинического балла в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, и в группе, обработанной Porcilis. Мониторинг ректальной температуры животных осуществляли до и после контрольного заражения, при этом было установлено, что после контрольного заражения имело место повышение ректальной температуры в группе, подвергнутой контрольному заражению, и в группе, обработанной Porcilis (SD (день опыта) > 35, при сравнении групп 1 и 2 $p \leq 0{,}001$; при сравнении групп 1 и 3 $p \leq 0{,}001$) (фиг. 2).

Измерения среднего суточного прироста массы (фиг. 3) позволили установить, что после контрольного заражения до осуществления первой аутопсии и до осуществления второй аутопсии величина ADWG была статистически значимо меньше в группе, подвергнутой контрольному заражению (SD35-44 $p \leq 0{,}001$ и SD35-56 $p \leq 0{,}01$), и в группе, вакцинированной Porcilis (SD35-44 $p \leq 0{,}05$ и SD35-56 $p \leq 0{,}05$).

Мониторинг виремии осуществляли с помощью ПЦР (фиг. 4) и ELISA (фиг. 5). Результаты ПЦР показали, что в группе 1 (контрольная группа) все животные сохраняли негативный статус. В группе 2 все животные после контрольного заражения имели PRRSV-позитивный статус; в группе 3 все животные после вакцинации имели PRRSV-позитивный статус. Результаты, полученные с помощью ELISA, позволили установить, что в группе 1 все животные сохраняли негативный статус; в группе 2 все животные после контрольного заражения имели позитивный статус в отношении антител (Ат) к PRRSV; в группе 3 все животные после вакцинации имели позитивный статус в отношении Ат к PRRSV.

Проводили также макроскопическое обследование легких (фиг. 6), при этом в легких оценивали испещренные желтовато-коричневыми крапинками области и области консолидации. Оказалось возможным выявить статистически значимые макроскопические изменения в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, и в группе, обработанной Porcilis (при сравнении групп 1 и 2 $p \leq 0{,}001$; при сравнении групп 1 и 3 $p \leq 0{,}05$), по сравнению с контрольной группой. Результаты гистопатологического обследования также продемонстрировали эффективность вакцинации (фиг. 7А-7В). Средний бал повреждений легких был статистически значимо выше в группе, подвергнутой контрольному заражению, и в группе, обработанной Porcilis, по сравнению с контрольной группой (при сравнении групп 1 и 2 $p \leq 0{,}001$; при сравнении групп 1 и 3 $p \leq 0{,}001$). Микроскопические повреждения были более сильными через 10 дней после заражения.

В целом, после контрольного заражения в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, и в группе, обработанной Porcilis, имело место увеличение баллов кашля, общих клинических баллов и повышение ректальной температуры. Вес тела в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, и в группе, обработанной Porcilis, был статистически значимо ($p<0{,}05$) меньше, чем в группе отрицательного контроля. Все животные в группе, обработанной Porcilis, после вакцинации имели позитивный статус в отношении вируса PRRS и антител к вирусу PRRS. Все животные в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, после вакцинации имели позитивный статус в отношении вируса PRRS и антител к вирусу PRRS. Макроскопический и гистологический анализ легких позволил выявить серьезные макроскопические и микроскопические повреждения легких в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, и в группе, обработанной Porcilis, по сравнению с группой отрицательного контроля.

Таким образом, результаты данного исследования подтвердили, что рассматриваемый применяемый для контрольного заражения европейский штамм позволяет статистически значимо ($p<0{,}05$ при сравнении с группой отрицательного контроля) индуцировать заболевание, характеризующееся следующими признаками: повышенная температура, кашель, сниженный вес и серьезные макроскопические и микроскопические повреждения.

Кроме того, было успешно продемонстрировано, что применяемый для контрольного заражения европейский штамм вызывал соответствующее и воспроизводимое респираторное заболевание со специфическими для PRRSV признаками на модели, основанной на контрольном заражении свиней, и, следо-

вательно, его можно применять в качестве вируса для контрольного заражения в последующих исследованиях эффективности. В рамках проведенного исследования было установлено, что вакцина Porcilis против PRRS не обладала эффективностью в отношении европейского штамма, применяемого для контрольного заражения.

Пример 2. Определение минимальной иммунизирующей дозы ослабленного вируса PRRS 94881 на восприимчивых поросятах 2-недельного возраста после контрольного заражения гетерологичным изолятом европейского вируса PRRS.

Опыт по вакцинации-контрольному заражению осуществляли для определения минимальной иммунизирующей дозы (MID) вакцины против репродуктивно-респираторного синдрома свиней на основе изолята 94881, выведенного из европейского вируса, а именно, модифицированного живого вируса (MLV PRRS 94881), при трех различных уровнях титров, которую вводили восприимчивым к репродуктивно-респираторному синдрому свиней (PRRS) поросятам примерно 14-дневного возраста для обеспечения соответствующего уменьшения повреждений легких после контрольного заражения гетерологичным изолятом европейского вируса PRRS. В каждую предназначенную для вакцинации группу (группы 1-3), а также в контрольную группу, предназначенную для контрольного заражения (группа 4), включали по пятнадцать поросят. Десять поросят включали в группу отрицательного контроля (группа 5).

В группах, подвергнутых вакцинации, и в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, осуществляли мониторинг ряда параметров, включая: уровень виремии после контрольного заражения, клинические оценки после вакцинации, серологию PRRS, уровень виремии после вакцинации, клинические обследования после контрольного заражения, средний суточный прирост массы (ADWG), ректальную температуру и выявление вируса PRRS в легких. В опыт была включена также группа отрицательного контроля (группа 5), которую не подвергали контрольному заражению, для целей валидации опыта путем демонстрации того, что в процессе опыта не нарушалась биологическая безопасность.

Контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению, и группа отрицательного контроля сохраняли PRRS-негативный статус вплоть до дня, в который осуществляли контрольное заражение (день D28), а группа отрицательного контроля оставалась PRRS-негативной и в течение всего оставшегося периода опыта (до дня D38), что служило валидацией опыта.

Контрольное заражение осуществляли на 4-й неделе после вакцинации. В это время только у 2 животных в группе, обработанной вакциной с низким титром, и у 3 животных в группе, обработанной вакциной с высоким титром, сыворотка была PRRS-позитивной по данным ПЦР.

В контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, были выявлены значительные повреждения легких, типичные для PRRS после контрольного заражения. После контрольного заражения в группах, обработанных вакциной с низким, средним и высоким титром медианные величины общих баллов повреждений легких составляли 0,3, 0,5 и 0,40% соответственно, в то время как в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, медианная величина общего балла повреждений легких составляла 33,40%. Медианные величины общих баллов повреждений легких для трех обработанных вакциной с различными титрами групп, были статистически значимо меньшее, чем для контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению ($p<0,0001$). Не было выявлено статистически значимых различий между общими баллами повреждений в группах, обработанных вакциной с различными титрами ($p\geq0,1484$). Для группы отрицательного контроля медианная величина общего балла повреждений легких составляла 0,00%.

В дни опыта 31, 5 и 38 в период после контрольного заражения в трех группах, обработанных вакциной с различными титрами, был выявлен статистически значимо меньший уровень виремии по сравнению с контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению ($p\leq0,0093$). После контрольного заражения не было обнаружено статистически значимых различий между уровнями виремии в группах, обработанных вакциной с различными титрами, за исключением дня D35, когда в группе, обработанной вакциной с высоким титром, имел место статистически значимо более низкий уровень виремии, чем в группе, обработанной вакциной со средним титром ($p=0,0442$). Поросята в группе отрицательного контроля в дни D31, D35 и D38 имели негативный статус в отношении виремии.

Такие клинические параметры, как серьезность ($p\leq0,0082$) и частота встречаемости кашля ($p\leq0,0268$), были менее выраженными в трех группах, обработанных вакциной с различными титрами, по сравнению с контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению, в течение периода после контрольного заражения, т.е. со дня 29 по день 38. Гипертермия в течение периода после контрольного заражения была более значительной в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, чем в трех группах, обработанных вакциной с различными титрами. Величина ADWG была статистически значимо выше в трех группах, обработанных вакциной с различными титрами, по сравнению с контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению ($p\leq0,0027$).

Величина MID MLV PRRS 94881 по данным настоящего исследования соответствовала низкому титру вакцины, уровень которого составлял $1\times10^{2,77}$ $TCID_{50}$/мл, что было установлено на основе соответствующего уменьшения макроскопических повреждений легких, выявленного при использовании всех трех уровней титров, по сравнению с повреждениями у животных в контрольной группе, подвергнутой

контрольному заражению, после осуществления контрольного заражения вирулентным гетерологичным штаммом, выведенным из европейского вируса PRRS. При анализе вторичных параметров было установлено, что все три уровня титра вакцины были эффективными, при этом не было обнаружено выраженных различий между группами, обработанными различными титрами.

Общий план опыта: опыт проводили согласно плану слепого рандомизированного исследования на 70 восприимчивых к PRRS поросятах-отъемышах возрастом 14-16 дней на день начала опыта (день 0, D0). Описание групп обработки приведено ниже в табл. 2.1:

Таблица 2.1 Группы обработки

Группа	Количество животных в день D0	Обработка в день D0
1	15	IVP № 1 (средний титр MLV PRRS 94881 1 × $10^{2,77}$)
2	15	IVP № 2 (средний титр MLV PRRS 94881 1 × $10^{4,42}$)
3	15	IVP № 3 (средний титр MLV PRRS 94881 1 × $10^{5,84}$)
4	15	CP (продукт-плацебо, который не содержал MLV PRRS 94881)
5	10	CP (продукт-плацебо, который не содержал MLV PRRS 94881)

Критериям включения в опыт удовлетворяли восемьдесят три поросенка, из которых специалист в области биостатистики в день D-3 произвольно распределял первые (по номерам) 70 животных по пяти группам. Поросят распределяли по 15 особей на группу в группы 1-4, десять поросят включали в группу 5. Все 83 поросенка имели PRRS-серонегативный статус.

Поросят обследовали в период со дня D-1 по день D26 для получения клинических оценок после вакцинации и данные обследований регистрировали в регистрационной форме для клинических оценок.

Серология: в дни D0, D7, D14, D21, D28 собирали образцы венозной цельной крови поросят. Регистрировали собранные образцы. Образцы крови центрифугировали и из каждой пробирки собирали сыворотку, разделяли и переносили в соответствующим образом маркированные пробирки. Один набор образцов сыворотки хранили при 2-8°C, другой набор образцов сыворотки хранили при -70±10°C. Набор образцов сыворотки, которые собирали в дни 0, 7, 14, 21, 28 и 38 и хранили при 2-8°C, анализировали в отношении антител к вирусу PRRS. Результаты классифицировали как "негативные" (соотношение S/P < 0,4 по данным ELISA) или "позитивные" (соотношение S/P ≥ 0,4 по данным ELISA).

PRRS-виремия: набор образцов сыворотки, которые собирали в дни 0, 7, 14, 21, 28, 31, 35 и 38 и выдерживали при -70±10°C, анализировали в отношении РНК PRRSV с помощью qПЦР (Дополнение 1, Приложение 7). Результаты классифицировали как "n.d." (не обнаружено), "позитивные" (EU PRRSV обнаружен, но не поддается количественной оценке, GE/мл (геномный эквивалент) = < 3,3 log) или указывали измеренную величину (log GE/мл). Для статистических целей результату "не обнаружено" приписывали величину 0 log GE/мл, а результату "позитивный" приписывали величину 3,0 log GE/мл.

Средний суточный прирост массы (ADWG): каждую свинью взвешивали на калиброванных градуированных весах и регистрировали вес индивидуального животного. Определяли среднесуточный прирост в период со дня D0 по день D28 и со дня D28 по день D38.

Клинические обследования после контрольного заражения: исследователь или уполномоченные лица проводили обследование поросят в отношении клинических признаков заболевания в период с D27 по D38 и результаты регистрировали в регистрационной форме для клинических оценок. Обследования заключались в оценке дыхания, поведения и кашля на основе балльной системы клинического обследования, представленной ниже в табл. 2.2.

Таблица 2.2 Балльная система клинического обследования

Балльная оценка дыхания	Балльная оценка поведения	Балльная оценка кашля
0 = нормальное дыхание 1 = затрудненное/учащенное дыхание 2 = одышка 3 = смерть	0 = нормальное 1 = заторможенность от слабой до средней степени 2 = серьезная заторможенность или лежачее положение 3 = смерть	0 = кашель отсутствует 1 = мягкий или интермиттирующий кашель 2 = грубый или серьезный, рецидивирующий кашель 3 = смерть

Общий суточный балл клинического обследования для каждого поросенка определяли путем суммирования его ежедневных балльных оценок дыхания, поведения и кашля.

Ректальные температуры измеряли в период с D27 по D38.

Общий балл повреждений легких: всех поросят, которые погибли до дня D38, и остальных поросят, которых умерщвляли в день D38, подвергали аутопсии. Каждый набор легких обследовали для выявле-

ния любой макроскопической патологии легких и для каждой доли легких определяли % патологии. Если выявляли патологию других органов, то ее также описывали и регистрировали.

Анализ легких с помощью qПЦР для выявления PRRSV: из каждого набора легких сохраняли по два образца левой и правой передних долей, левой и правой сердечных долей, левой и правой диафрагмальных долей и промежуточной доли. Для одного набора образцов легкого объединяли все три образца, взятые с левой стороны, и помещали в один контейнер; в то время как все три образца, взятые с правой стороны, и образец, взятый из промежуточной доли, объединяли и помещали в другой контейнер. Каждый контейнер заполняли 10%-ным раствором формалина, взятым в достаточном количестве. Для другого набора образцов легких, все три образца, взятых с левой стороны легких, объединяли и помещали в один Whirlpak® (стерильный пакет); в то время как все три образца, взятые с правой стороны, и образец промежуточной доли легких объединяли и помещали в другой Whirlpak®.

Замороженные образцы ткани легких хранили при -70±10°C до проведения дальнейшего анализа. Для каждого поросенка все образцы, взятые с левой стороны легких, гомогенизировали и анализировали в виде одного объединенного образца; и все образцы ткани, взятые с правой стороны легких, и образец промежуточной доли легких гомогенизировали и анализировали в виде одного объединенного образца. Результаты для образцов, взятых с левой и правой сторон легких, выражали в следующем виде: n.d. (не обнаружено), "позитивный" (EU PRRSV обнаружен, но не поддается количественной оценке, GE/мл (геномный эквивалент) = < 3,3 log) или указывали измеренную величину (log GE/мл). Для целей анализа для каждого поросенка записывали полученные с помощью qПЦР средние значения для образцов, взятых с левой и правой сторон легких. Для статистических целей результату "не обнаружено" приписывали величину 0 log GE/мл, а результату "позитивный" приписывали величину 3,0 log GE/мл.

Результаты

Общая балльная оценка повреждения легких после контрольного заражения: взятая в совокупности группа данных, включающих минимальные, максимальные, медианные величины, 95%-ный доверительный интервал, Q-диапазон и средние значения общих баллов повреждений легких, свидетельствует о том, что медианные величины общих баллов повреждений легких в группах, обработанных вакциной с низким, средним и высоким титром, составляли 0,13, 0,55 и 0,40% соответственно; в то время как медианная величина общих баллов повреждений легких в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, составляла 33,40%. Медианные величины общих баллов повреждений легких в трех группах, обработанных вакциной с различными титрами, были статистически значимо меньше, чем для контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению($p<0,0001$). Не было выявлено статистически значимых различий между общими баллами повреждений легких в группах, обработанных вакциной с различными титрами ($p\geq0,1484$). Медианная величина общих баллов повреждений легких в группе отрицательного контроля составляла 0,00%.

У одного из животных (в группе, обработанной вакциной с высоким титром) путем гистологического анализа была выявлена слабая гнойная интерстициальная пневмония, сопровождавшаяся обширным фибринозно-гнойным плевритом. Дыхательные пути и альвеолы не имели существенных отличий за исключением рассеянных нейтрофилов. Ткань легких по данным ИГХ-анализа имела негативный статус в отношении антигенов M. hyo, PCV2, PRRSV и SIV. Повреждения легких соответствовали наличию серозита, который, как правило, ассоциирован с присутствием бактериальных агентов (Дополнение 12; приложение 2009030254). Из ткани легкого были выделены несколько чистых бактериальных культур, которые были идентифицированы как Bordetella bronchiseptica и коагулаза-отрицательный Staphylococcus. Хотя из ткани легких были выделены два типа бактерий, данного поросенка не исключали из группы 3 при осуществлении анализа общих баллов повреждений легких.

У двух из 10 поросят из группы отрицательного контроля были выявлены очень небольшие повреждения легких (№ 1767, 0,55%; № 1789, 0,61%). Указанные повреждения рассматривались как незначительные и не свидетельствующие о наличии PRRS.

PRRS-виремия после контрольного заражения: индивидуальные результаты анализа на виремию PRRS после контрольного заражения (дни D31-D38) сводили в таблицу, и было установлено, что после контрольного заражения виремия имелась у всех поросят в трех обработанных вакциной с различными титрами группах и в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению. Во все три момента времени после контрольного заражения уровень виремии в трех группах, обработанных вакциной с различными титрами, был статистически значимо меньше, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению ($p\leq0,0093$). Не было обнаружено различий в уровнях виремии между группами, обработанными вакциной с различными титрами, после контрольного заражения за исключением дня D35, когда в группе, обработанной вакциной с высоким титром, был выявлен меньший средний уровень виремии, чем в группе, обработанной вакциной со средним титром ($p=0,0442$). Поросята в группе отрицательного контроля сохраняли негативный статус в отношении виремии в дни D31, D35 и D38. Площадь под кривой (AUC) характеризует как величину, так и продолжительность вирусной нагрузки и является хорошим параметром для оценки виремии при проведении опыта. Статистически значимые различия были выявлены также между величинами AUC для трех групп, обработанных вакциной с различ-

ными титрами, и контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, как в период с D28 по D38 ($p \leq 0,0162$), так и в период с D31 по D38 ($p < 0,0001$). Не было выявлено различий между величинами AUC ($p \geq 0,3669$) для групп, обработанных вакциной с различными титрами, в течение обоих интервалов времени.

Были обобщены также данные о частоте встречаемости поросят с позитивными результатами анализа на виремию, в группах в период со дня D31 по день D28, эти данные представлены в табл. 2.3. Поскольку для всех поросят в группах, обработанных вакциной, и контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, были получены позитивные результаты анализа на виремию после контрольного заражения, то частота встречаемости поросят с позитивными результатами анализа на виремию в каждой группе в каждый момент времени была равна 100%. Поэтому не проводили анализ частоты встречаемости виремии после контрольного заражения.

Таблица 2.3 Обобщение данных о частоте встречаемости поросят с позитивными результатами анализа на виремию в группах в период со дня D31 по день D38

День опыта	Группа*	Количество позитивных животных	% позитивных животных	95%-ный CI		Общее количество животных
31	1	14	100	76,8	100,0	14
	2	15	100	78,2	100,0	15
	3	15	100	78,2	100,0	15
	4	14	100	76,8	100,0	14
	5	0	0	0,0	30,8	10
35	1	14	100	76,8	100,0	14
	2	15	100	78,2	100,0	15
	3	15	100	78,2	100,0	15
	4	14	100	76,8	100,0	14
	5	0	0	0,0	30,8	10
38	1	14	100	76,8	100,0	14
	2	15	100	78,2	100,0	15
	3	15	100	78.2	100,0	15
	4	14	100	76,8	100,0	14
	5	0	0	0,0	30,8	10

* Группа 1 - низкий титр MLV PRRS 94881; группа 2 - средний титр MLV PRRS 94881; группа 3 - высокий титр MLV PRRS; группа 4 - контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 5 - группа отрицательного контроля

Результаты анализа легких с помощью qПЦР: индивидуальные результаты выделения вируса из легких после контрольного заражения обобщали для получения частоты встречаемости позитивных результатов qПЦР-анализа образцов легких с целью оценки различий между группами (p-значения). Ткани легких, взятые у поросят из всех трех групп, обработанных вакциной с различными титрами, и из контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, по данным qПЦР имели PRRSV-позитивный статус после контрольного заражения. Не было выявлено статистически значимых различий между группами, обработанными вакциной с различными титрами, и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению ($p=1,0000$). Поскольку все поросята, обработанные вакциной с различными титрами, имели по данным qПЦР PRRSV-позитивный статус, то не проводили статистических сравнительных анализов между группами, обработанными вакциной с различными титрами.

Хотя не было обнаружено различий между частотой встречаемости имевших позитивный по данным qПЦР статус тканей легких в группах, обработанных вакциной с различными титрами, и в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, были выявлены выраженные различия вирусной нагрузки в тканях легких. Действительно, для групп, обработанных вакциной с низким, средним и высоким титром, медианные величины вирусной нагрузки по данным qПЦР составляли 6,88, 6,80 и 6,81 $\log_{10}$ GE/мл соответственно, в то время как для контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, медианная величина вирусной нагрузки по данным qПЦР составляла 8,13 $\log_{10}$ GE/мл. Различие между группами, обработанными вакциной с различными титрами, и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению, было статистически значимым ($p \leq 0,0001$). В противоположность этому, не было выявлено различий между медианными величинами вирусной нагрузки в легких по данным qПЦР в группах, обработанных вакциной с различными титрами ($p \geq 0,7379$).

Балльная оценка результатов клинического обследования после контрольного заражения: после контрольного заражения не было выявлено серьезных аномалий в дыхании и поведении, о чем свидетельствовали медианные величины максимальных клинических баллов, равные 0 (балл, равный 0, соответствует нормальному дыханию или нормальному поведению) для всех пяти групп. Кроме того, не было обнаружено статистически значимых различий в аномалиях дыхания или поведения между группами, обработанными вакциной с различными титрами, и контрольной группой, подвергнутой контрольному

заражению ($p \geq 0,0996$).

Кашель был зафиксирован во всех трех группах, обработанных вакциной с различными титрами, и в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, но он был более серьезным в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению. Для каждой группы из трех групп, обработанных вакциной с различными титрами, максимальный балл кашля был равен 1, что соответствовало мягкому или интермиттирующему кашлю, а медианная величина максимального балла кашля была равна 0. В отличие от этого, для контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, максимальный балл кашля был равен 2, что соответствовало грубому рецидивирующему кашлю, а медианная величина максимального балла кашля была равна 1. Во всех трех группах, обработанных вакциной с различными титрами, кашель был статистически значимо менее серьезным, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению ($p \leq 0,0082$). В группе отрицательного контроля кашель не был зафиксирован.

Для всех трех групп, обработанных вакциной с различными титрами, максимальные баллы были равны 1, а медианные величины максимальных баллов были равны нулю. В отличие от этого, для контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, максимальный общий балл был равен 4, а медианная величина максимального балла была равен 1. Для всех трех групп, обработанных вакциной с различными титрами, максимальные общие клинические баллы были статистически значимо более низкими, чем для группы контрольного заражения ($p \leq 0,0047$). И в этом случае также для группы отрицательного контроля максимальный общий клинический балл был равен нулю и медианная величина максимального общего клинического балла была равна нулю.

Во всех группах частота встречаемости аномального дыхания или поведения, выявленного в течение по меньшей мере одного дня в период со дня D29 по день D38, была низкой. Так, в группах, обработанных вакциной с низким и средним титром, не было зафиксировано аномального дыхания в период со дня D29 по день D38. В группе, обработанной вакциной с высоким титром, был выявлен один из 15 (7%) поросят, а в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, было выявлено 3 из 14 (21%) поросят с аномальным дыханием. Аномальное поведение не было зафиксировано ни в одной из групп, обработанных вакциной с различными титрами; в то время как в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, 2 из 14 (14%) поросят характеризовались аномальным поведением по меньшей мере в один из дней после контрольного заражения. Не было обнаружено статистически значимых различий между группами, обработанными вакциной с различными титрами, и группой контрольного заражения в частоте встречаемости аномального дыхания или поведения, выявленного по меньшей мере в один из дней после контрольного заражения ($p \geq 0,0996$). В группе отрицательного контроля не было зафиксировано аномального дыхания или поведения.

Частота встречаемости кашля была намного больше в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, чем в трех группах, обработанных вакциной с различными титрами. Так, частота встречаемости кашля, выявленного по меньшей мере в один из дней после контрольного заражения, составляла 14, 13 и 27% в группах, обработанных вакциной с низким, средним и высоким титром соответственно. В противоположность этому, в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, частота встречаемости кашля, выявленного по меньшей мере в один из дней после контрольного заражения, составляла 71%. Частота встречаемости кашля в трех группах, обработанных вакциной с различными титрами, была статистически значимо ниже, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению ($p \leq 0,0268$).

Частота встречаемости любого клинического признака, характеризующегося общим клиническим баллом > 0, после контрольного заражения в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, была выше, чем в трех группах, обработанных вакциной с различными титрами. Аналогично частоте встречаемости кашля частота встречаемости любого клинического признака, выявленного по меньшей мере в один из дней после контрольного заражения, составляла 14, 13 и 33% в группах, обработанных вакциной с низким, средним и высоким титром соответственно; в то время как в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, у 79% поросят был выявлен по меньшей мере один клинический признак после заражения. Частота встречаемости любого клинического признака после контрольного заражения в трех группах, обработанных вакциной, была статистически значимо меньше, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, ($p \leq 0,0253$). В группе отрицательного контроля в течение того же периода времени клинические признаки не были выявлены.

Средние баллы аномального дыхания или поведения в период со дня D29 по день D38 были низкими для всех групп. Так, средние баллы дыхания для групп, обработанных вакциной с низким и средним титром, были равны 0,00 (нормальное дыхание), для группы, обработанной вакциной с высоким титром, средний балл дыхания был равен 0,01, а для контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, средний балл дыхания был равен 0,03. Для всех трех групп, обработанных вакциной с различными титрами, средний балл поведения был равен 0,00; в то время как для контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, средний балл поведения был равен 0,01. Не было выявлено статистически значимых различий в средних баллах дыхания и поведения между группами, обработанных вакциной с различными титрами, и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению ($p \geq 0,0996$). Сред-

ние баллы дыхания и поведения для группы отрицательного контроля были равны 0,00.

Для контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, средний балл кашля был больше, чем для трех групп, обработанных вакциной с различными титрами. Так, средние баллы кашля составляли 0,01, 0,01 и 0,04 для групп, обработанных вакциной с низким, средним и высоким титром соответственно. В отличие от этого средний балл кашля для контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, был равен 0,28. Средние баллы кашля для трех групп, обработанных вакциной с различными титрами, были статистически значимо ниже, чем для контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению ($p \leq 0,0077$).

Средний общий балл для контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, был выше, чем для трех групп, обработанных вакциной с различными титрами. Аналогично средним баллам кашля средние общие баллы после контрольного заражения составляли 0,01, 0,01 и 0.04 для групп, обработанных вакциной с низким, средним и высоким титром соответственно, в то время как средний общий балл для контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, был равен 0,32. Средние общие баллы для трех групп, обработанных вакциной с различными титрами, были статистически значимо меньше, чем для контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению ($p \leq 0,0025$).

Ректальные температуры после контрольного заражения: Максимальные для групп средние ректальные температуры в группах, обработанных вакциной с низким, средним и высоким титром, в период со дня D29 по день D38 составляли 40,20°C (D33), 40,33°C (D35) и 40,20°C (D37) соответственно. Максимальные для групп величины средней ректальной температуры в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, и в группе отрицательного контроля в период со дня D29 по D38 составляли 40,51°C (D33) и 39,95°C (D33) соответственно.

Ректальные температуры в группе, обработанной вакциной с низким титром, были статистически значимо ниже, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, в дни D29 (39,47 по сравнению с 39,90°C), D31 (39,85 по сравнению с 40,20°C), D35 (39,80 по сравнению с 40,22°C) и D38 (39,86 по сравнению с 40,32°C) ($p \leq 0,0317$), при этом ректальная температура в день D30 в группе, обработанной вакциной с низким титром, была статистически значимо выше, чем в группе контрольного заражения (40,08 по сравнению с 39,58°C; $p=0,0003$). Не было выявлено статистически значимых различий между группой, обработанной вакциной с низким титром, и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению, в период со дня D32 по день D34 и в период со дня D36 по день D37 ($p \geq 0,0545$).

Ректальная температура в группе, обработанной вакциной со средним титром, была статистически значимо ниже, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, в дни D31 (39,62 по сравнению с 40,20°C), D33 (40,15 по сравнению с 40,51°C) и D38 (39,58 по сравнению с 40,32°C) ($p \leq 0,0227$). Не было выявлено статистически значимых различий между группой, обработанной вакциной со средним титром, и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению, в дни D29-D30, D32 и D34-D37 ($p \geq 0,0580$).

Ректальная температура в группе, обработанной вакциной с высоким титром, была статистически значимо ниже, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, в дни D33 (40,12 по сравнению с 40,51°C), D35 (39,79 по сравнению с 40,22°C) и D38 (39,55 по сравнению с 40,32°C) ($p \leq 0,0147$), в то время как в день D32 ректальная температура в группе, обработанной вакциной с высоким титром, была статистически значимо выше, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, (40,31°C по сравнению с 39,90°C; $p=0,0063$). Не было выявлено статистически значимых различий между группой, обработанной вакциной с высоким титром, и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению, в дни D29-D31, D34 и D36-37 ($p \geq 0,0708$).

Частота встречаемости гипертермии в трех группах, обработанных вакциной с различными титрами, после контрольного заражения была меньше, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению. В целом в группах, обработанных вакциной с различными титрами, частота встречаемости гипертермии была низкой и находилась примерно на одинаковом уровне.

Средний суточный прирост массы (ADWG): среднеквадратичные величины ADWG в период со дня D0 по день D28 в группах, обработанных вакциной с низким, средним и высоким титром, составляли 0,4, 0,3 и 0,4 кг/день соответственно. Среднеквадратичная величина ADWG в течение этого же периода времени в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, составляла 0,3 кг/день. В группе, обработанной вакциной с низким титром, в период со дня D0 по день D28 среднеквадратичная величина ADWG была статистически значимо больше, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению ($p=0,0292$), при этом не было выявлено других статистически значимых различий в среднеквадратичной величине ADWG между группами, обработанными вакциной с различными титрами, и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению ($p \geq 0,1262$), или между группами, обработанными вакциной с различными титрами ($p \geq 0,1293$). В течение этого же периода времени средняя величина ADWG в группе отрицательного контроля была равна 0,5 кг/день.

В течение периода времени со дня D28 по D38 среднеквадратичные величины ADWG в группах, обработанных вакциной с низким, средним и высоким титром, составляли 0,5, 0,5 и 0,4 кг/день соответственно. В течение этого же периода времени среднеквадратичная величина ADWG в контрольной груп-

пе, подвергнутой контрольному заражению, была равно 0,3 кг/день. Прирост массы в трех группах, обработанных вакциной с различными титрами, после контрольного заражения статистически значимо превышал прирост массы в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению ($p \leq 0,0027$). В течение этого же периода времени средняя величина ADWG в группе отрицательного контроля составляла 0,6 кг/день.

Клинические оценки после вакцинации: было установлено, что в группе, обработанной вакциной с низким титром, один поросенок (1735) оставался худосочным в период времени со дня D0 по день D10. Кроме того, было установлено, что один поросенок оставался худосочным в течение 16 дней, начиная со дня D6, у него наблюдался кашель в течение 2 дней и депрессия в течение 9 дней, вследствие плохого состояния здоровья он был подвергнут аутопсии в день D21 в соответствии с инструкциями о содержании подопытных животных. Для поросенка 1727 общий балл повреждений легких составлял 10,8%. Поскольку эта величина была определена до осуществления контрольного заражения, то ее не включали в анализ общих повреждений легкого после контрольного заражения. Кроме того, было зафиксировано присутствие областей красной/фиолетовой консолидации в краниовентральных областях легких, печень была бледной, а в почках в почечной лоханке присутствовали многочисленные области, имеющие красную/фиолетовую окраску. Патологом была выявлена жировая инфильтрация в центральных долях печени, которая, как правило, проявляется в тех случаях, когда имеет место отрицательный энергетический баланс и последующий липолиз. Никаких других повреждений не было выявлено в срезах печени, почки и легкого. Легочная ткань имела EU PRRS-позитивный статус по данным ПЦР. Не было выявлено роста стандартной бактериальной культуры.

В группе, обработанной вакциной со средним титром, один поросенок был исключен из опыта в день D0 до обработки вследствие плохого состояния здоровья и заменен другим поросенком. У двух поросят, начиная со дня D12, наблюдался кашель в течение одного и трех дней соответственно. Было установлено, что четыре поросенка были худосочными в день D2, день D3 или и в день D2 и день D3.

В группе, обработанной вакциной с высоким титром, у одного поросенка (1728) проявлялась хромота или хромота и опухание одной ноги в период со дня D7 по день D26. Было установлено, что, в течение 6 дней, начиная с 18-го дня после вакцинации, один поросенок был худосочным и у него проявлялся кашель в течение одного дня и в течение 4 дней он имел грубый волосяной покров. Было установлено, что другой поросенок был худосочным в день D2. У двух поросят, начиная со дня D9, имел место кашель в течение двух дней и одного дня соответственно. У одного поросенка имела место диарея в течение одного дня (D14).

В контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, у шести поросят периодически проявлялся кашель, продолжавшийся в общей сложности от одного до шести дней, у первого поросенка он начался в день D7 и у трех поросят он закончился в день D21. Было установлено, что два поросенка были худосочными в течение двух и 11 дней соответственно, при этом один их указанных поросят был худосочным, начиная со дня D1. У второго из этих двух поросят была выявлена также депрессия, и он имел грубый волосяной покров в течение 4 дней, слабость ног и он был обнаружен мертвым в день D15. При проведении аутопсии у этого поросенка не было выявлено повреждений легких (балл повреждений легких был равен 0%), не было обнаружено корма в желудке и абдоминального (брюшного) жира, был вынесен диагноз, что он умер по причине истощения. Поскольку указанный балл повреждений легких был определен до контрольного заражения, то он не был включен в анализ повреждений легких после контрольного заражения.

Результаты группового сравнительного анализа (p-значения) обобщали при оценке любого аномального клинического проявления, имевшего место по меньшей мере в один из дней в период со дня D1 по день D26. Не было выявлено статистически значимых различий ни между группами, обработанными вакциной с различными титрами, и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению ($p \geq 0,0502$); ни между группами, обработанными вакциной с различными титрами ($p \geq 0,3898$). В группе отрицательного контроля в период со дня D-1 по день D26 не было выявлено поросят с аномальными клиническими проявлениями.

Серологический анализ на PRRS: были обобщены результаты проведенного методом ELISA серологического анализа на PRRS, полученные для индивидуальных поросят. Поросята в группе отрицательного контроля сохраняли PRRS-серонегативный статус на протяжении всего опыта. Сероконверсию оказалось возможным обнаружить в трех группах, обработанных вакциной с различными титрами, на 14-й день после вакцинации, в то время как животные в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, сохраняли PRRS-серонегативный статус вплоть до периода после контрольного заражения. Через десять дней после контрольного заражения (D38) все поросята в группах, обработанных вакциной с низким и высоким титром, и поросята в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, имели PRRS-серопозитивный статус, в то время как в группе, обработанной вакциной со средним титром, PRRS-серопозитивный статус имели 14 из 15 поросят.

Позитивные результаты серологического анализа на PRRS методом ELISA (p-значения) использовали для оценки различий между группами. В трех группах, обработанных вакциной с различными тит-

рами, частоты встречаемости поросят, имевших PRRS-позитивный статус по данным ELISA, были статистически значимо выше, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, в дни D14, D21 и D28 ($p<0,0001$). Не было обнаружено статистически значимых различий ни между группами, обработанными вакциной с различными титрами, и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению, в день D38 ($p=1,0000$ или анализ не проводили), ни между группами, обработанными вакциной с различными титрами, в любой момент времени ($p=1,0000$ или анализ не проводили).

PRRS-виремия после вакцинации: получали результаты оценки уровня PRRS-виремии для индивидуального животного после вакцинации. Для целей статистического анализа результату "не обнаружено" приписывали значение О log GE/мл, а "результату "позитивный" приписывали значение 3,0 log GE/мл. В день D0 для всех групп были получены негативные результаты анализа на PRRS-виремию. Оценивали виремию в группах (qПЦР), определяя титр (log GE/мл) в период со дня D7 по день D28 после вакцинации. Средние уровни виремии у поросят во всех трех группах, обработанных вакциной с различными титрами, достигали пиковых значений в день D7, после чего уровни титров во всех трех группах медленно снижались до тех пор, пока не осуществляли контрольное заражение (SD28). В отличие от этого, контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению, и группа отрицательного контроля сохраняли негативный статус в отношении виремии в течение фазы опыта, предшествующей контрольному заражению. Результаты сравнительного группового анализа (p-значения) данных, полученных с помощью qПЦР в дни D7, D14, D21 и D28, свидетельствовали о том, что медианные величины, полученные с помощью qПЦР, во всех трех группах, обработанных вакциной с различными титрами, были статистически значимо выше, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, в период со дня D7 по день D28 ($p\leq0,0159$). Медианная величина, полученная с помощью qПЦР, в группе, обработанной вакциной со средним титром, была статистически значимо выше, чем в группе, обработанной вакциной с низким титром ($p=0,0193$), в противоположность этому, не было выявлено статистически значимых различий между медианными величинами, полученными с помощью qПЦР до осуществления контрольного заражения, в группах, обработанных вакциной ($p\geq0,0594$).

В течение четырех недель после вакцинации частота встречаемости виремии в трех группах, обработанных вакциной с различными титрами, была низкой.

На основе результатов данного опыта можно сделать следующие заключения:

отсутствие каких-либо нарушений биобезопасности в процессе опыта и подтверждение восприимчивости поросят к PRRS свидетельствует о валидации опыта и пригодности его результатов для интерпретации;

в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, были выявлены выраженные признаки клинического заболевания PRRS, что свидетельствует о валидации рассматриваемой модели контрольного заражения в качестве адекватного лабораторного средства для оценки эффективности вакцины против PRRS и, более конкретно, для определения MID MLV PRRS 94881;

при использовании всех трех уровней доз MLV PRRS 94881 были обнаружены статистически значимо меньшие повреждения легких, а также статистически значимо более низкие уровень виремии после контрольного заражения, вирусная нагрузка в тканях легких, кашель, общие баллы клинического обследования, гипертермия и ADWG;

в настоящем опыте на основе данных о соответствующем уменьшении макроскопических повреждений легких после осуществления контрольного заражения вирулентным гетерологичным вирусом, выведенным из европейского вируса PRRS, в случае применения всех трех уровней титров по сравнению с контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению, было установлено, что величина MID MLV PRRS 94881 составляла $1\times10^{2,77}$ $TCID_{50}$/мл, что соответствовало низкому титру вакцины.

Дополнительное обсуждение результатов

Клинические обследования проводили каждый день. Осуществляли с использованием праймеров, специфических в отношении PRRSV европейского типа, количественную ОТ-ПЦР для образцов крови, мазка из полости рта, пробы фекалий и мазка из полости носа, а также смывов из легких.

Данные, полученные в этих исследованиях, показали, что поросята имели нормальное состояние здоровья за исключением небольшого количества поросят, которые имели хромоту. При аутопсии после смерти не было выявлено никаких аномалий за исключением того, что у 1-2 животных были обнаружены признаки слабо увеличенных паховых лимфатических узлов. Важным является то, что в вакцинированной группе не было обнаружено повреждений легких.

На фиг. 8 представлено сравнение процента имеющих виремию животных в группе сентинел-животных и в группе, вакцинированной композицией, содержащей ослабленный штамм вируса PRRS, депонированный в ECACC под регистрационным номером 11012502. На этом чертеже продемонстрировано распространение входящего в вакцину штамма от вакцинированных животных к сентинел-животным. Как установлено с помощью количественной ОТ-ПЦР, в период пика виремии PRRS (SD21) вирусная нагрузка у зараженных сентинел-свиней (средняя вирусная нагрузка 3,347 GE/мл) была на 78,47% ниже, чем у вакцинированных животных (средняя вирусная нагрузка 4,014 GE/мл). В помещении, в котором не имеющие PRRS свиноматки были смешаны с их вакцинированным потомством, толь-

ко у 3 свиноматок из 8 результаты теста на присутствие PRRSV в крови, который осуществляли с помощью ОТ-ПЦР, оказались положительными, это подтверждает, что воздействие вакцины MLV PRRS на здоровых взрослых животных является ограниченным и неэффективным. В данном опыте выделение вакцинного вируса в основном происходило с фекалиями. Фактически, в фекалиях вирус можно было обнаружить в течение периода времени от одного до 21 дня после вакцинации. На пятый день после вакцинации почти 30% вакцинированных животных экскретировали вирус с фекалиями. Вирус PRRS не был обнаружен в выделениях из носовой полости и был выявлен только у небольшого количества животных в выделениях из ротовой полости (у 2 из 56 животных, у которых брали образцы на 5-й день после вакцинации).

Пример 3. Примеры материалов и методов, применяемых при тестировании эффективности вакцины, с использованием Porcilis® PRRS в качестве примера.

В данном опыте использовали определенное количество, например, четырнадцать, здоровых беременных свиноматок из стада, в котором подтверждено отсутствие PRRSV (на основе вирусологических и серологических анализов). Свиноматкам предстояли первые или вторые роды и у них подтверждали беременность в момент вакцинации/контрольного заражения в день 94 беременности. Свиноматок разделяли на три группы обработки. Первую группу обрабатывали поступающей в продажу дозой Porcilis™ PRRS, равной 2 мл, которая содержала по меньшей мере $10^{4,0}$ $TCID_{50}$, посредством внутримышечного введения в день 94 периода беременности. Контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению (группа 2), вводили интраназально дозу, содержащую $10^{4,72}$ $TCID_{50}$ патогенного европейского полевого изолята (пассаж 4), в объеме 2 мл. Группу 3 вакцинировали i.m. дозой 2 мл, содержащей $10^{7,6}$ $TCID_{50}$ MLV PRRS на основе ослабленного штамма вируса PRRS, депонированного в ECACC под регистрационным номером 11012502 25 января 2011 г., за семь дней до осеменения и осуществляли контрольное заражение европейским полевым изолятом (пассаж 4) ($10^{4,72}$ $TCID_{50}$ в 2 мл среды для клеточной культуры, i.n.) в день 94 беременности.

Мониторинг животных в группе 1 осуществляли вплоть до дня 5 после опороса. Мониторинг животных в группах 2 и 3 осуществляли вплоть до дня 28 после опороса.

Животные: всем свиноматкам давали адаптироваться к помещениям для содержания животных в течение 1 недели перед осуществлением вакцинации. Исследователь ежедневно проводил обследование общего состояния здоровья свиноматок и поросят. Каждое животное, которое умирало или которое умерщвляли, подвергали посмертному обследованию и последующему лабораторному анализу.

Беременность подтверждали с помощью ультразвукового обследования. Образцы сыворотки брали у свиноматок в дни опыта 0, 7, 14 и при опоросе для исследований с помощью ПЦР и ELISA. Любой материал, связанный с выкидышем, подвергали лабораторным исследованиям.

Для всех мертворожденных поросят проводили стандартное изучение макроскопической патологии. У мертворожденных поросят и у мумифицированных плодов брали образцы тканей легких из всех долей легких. Образцы, предназначенные для ПЦР-анализа, хранили при -70°C. В день рождения у каждого поросенка брали по 2 мл преколостральной крови. Получали сыворотку и аликвоты хранили при -70°C. Сыворотку использовали для проведения теста на виремию с целью оценки трансплацентарного заражения. Всех поросят в группе 1, выживших до дня 5, умерщвляли в возрасте 5 дней.

Клинические параметры и параметры репродуктивной способности: ниже приведены (в порядке приоритета) критерии, являющиеся примером критериев, которые можно исследовать: количество живорожденных поросят на помет, количество мертворожденных поросят на помет, количество мумифицированных плодов на помет и количество поросят, выживших до 5- или 28-дневного возраста соответственно. Количество поросят, имевших виремию при рождении, определяли путем анализа преколостральной сыворотки. Проводили изучение частоты встречаемости позитивных по данным ПЦР образцов крови и ткани, взятых у свиноматок и/или поросят, с целью оценки эпидемиологии и протекания инфекции.

Полевые образцы: полевые образцы, которые изучали в данном опыте, получали из различных европейских стран при осуществлении стандартной диагностики PRRSV, и они представляли собой образцы крови, сыворотки и материалы, взятые из различных органов, в основном из легких и лимфатических узлов. Образцы хранили при -20°C в течение максимум 3 дней до приготовления препаратов РНК, а оставшийся материал после этого хранили при -70°C в течение продолжительного периода времени. РНК и ОТ-ПЦР-продукты хранили при -20°C.

Культивирование клеток: клетки линии MA104 (клон CL2621) выращивали в среде MEM (фирма Dulbecco, Германия), дополненной 10% FCS и антибиотиками.

Свиные альвеолярные макрофаги (PAM) собирали с помощью метода, описанного у Wensvoort с соавторами (Wensvoort G. и др., Vet. Quat., 13, 1991, сс. 121-130), и модифицировали следующим образом: в каждую долю легкого вводили путем инфузии 50-100 мл ЗФР и затем осуществляли массаж в течение 3-5 мин. Затем жидкость удаляли из доли и пропускали через газовый фильтр. Указанную процедуру повторяли до тех пор, пока промывная жидкость не становилась прозрачной. Объединенную промывную жидкость центрифугировали при 500g в течение 15 мин при комнатной температуре. Дебрис промывали в ЗФР и аликвоты, содержащие 1×10^7 клеток в 50% RPMI 1640 (фирма Biochrom), 40% FCS и

10% DMSO, замораживали при -196°C. Для дальнейшего применения PAM культивировали в среде RPMI 1640, дополненной 10% FCS и антибиотиками.

Получение материала из органов для выделения вируса в клеточной культуре: образец ткани объемом примерно 0,5 $см^3$ переносили в пробирку, содержащую один стальной шарик для гомогенизации в 1,8 мл стерильного ЗФР.

Пробирки встряхивали в течение 10 мин до гомогенизации взятого из органа материала. Клеточный дебрис пеллетировали путем центрифугирования при комнатной температуре в течение 2 мин при 450g. Супернатант пропускали через стерильный фильтр с размерами пор 0,45 мкм и помещали на хранение при -70°C. Аликвоты объемом по 30 мкл использовали для инокуляции одного полуконфлюэнтного монослоя клеточной культуры, используя 24-луночные титрационные микропланшеты.

Выделение РНК: РНК экстрагировали из взятого из органа материала с использованием мининабора RNeasy Mini Kit, а из сыворотки, плазмы, супернатанта клеточной культуры и раствора вакцины с использованием мининабора для выделения вирусной РНК QTAamp Viral RNA Mini Kit (оба от фирмы Qiagen) согласно рекомендациям производителя, используя для каждого препарата примерно по 100 мг взятого из органа материала и 140 мкл жидкого материала соответственно. И, в завершение, РНК элюировали в 65 мкл буфера согласно рекомендациям производителя.

Очистка вируса из бляшек: конфлюэнтные монослои клеток линии Ma104, находящиеся в чашках для клеточных культур размером 10 см, высеянные за 48 ч до осуществления процедуры, инфицировали соответствующим вирусом с использованием десятикратных разведений в диапазоне от 10^{-1} до 10^{-4}. Клетки инкубировали в течение 1 ч с разведениями вируса, которые затем удаляли, и на клетки наслаивали 30 мл среды для Ma104, содержащей 5% метилцеллюлозы (фирма Sigma). Через пять-семь дней бляшки отбирали и переносили на монослои Ma104 в 24-луночные планшеты. Вирус из этих планшетов собирали при достижении примерно 50% ЦПД и подвергали последующему анализу.

Иммунофлуоресцентный анализ: клетки фиксировали при -20°C в течение 15 мин с использованием охлажденной на льду смеси ацетон:метанол (1:1) и после этого сушили на воздухе. После регидратации в ЗФР клетки инкубировали в течение 1 ч со специфическим в отношении PRRSV моноклональным антителом SDOW17 (фирма Rural Technologies Inc., США), разведенным в соотношении 1:1000 в ЗФР. После 3-кратной отмывки с помощью ЗФР клетки инкубировали с козьим антимышиным конъюгированным с ФИТЦ вторичным антителом (фирма Dianova, Гамбург, Германия) (1:150 в ЗФР) в течение еще одного часа. После конечной 3-кратной отмывки с помощью ЗФР на клетки наслаивали раствор глицерин:ЗФР (1:1) и проводили иммунофлуоресцентный микроскопический анализ.

Диагностическая ОТ-nПЦР: диагностическую гнездовую ОТ-nПЦР можно осуществлять для проверки образцов на присутствие вируса PRRSV-EU.

Диагностическую ОТ-nПЦР можно осуществлять, например, с использованием набора Titan One Tube Kit (фирма Roche Molecular Biochemicals) следующим образом: [5 мкл препарата общей РНК, 1-кратный буфер для ОТ-ПЦР, 0,4мМ дНТФ, 20 пмолей праймеров PLS и PLR, 5мМ дитиотреитол, 1мМ $MgCl_2$, 2,5-5 ед. RNAsin (фирма Promega Ltd), 1-2,5 ед. смеси ферментов, доведено до конечного объема 25 мкл с помощью обработанной DEPC дистиллированной воды]. Можно применять стандартные условия циклизации: 45°C в течение 1 ч, 94°C в течение 2 мин и 30 циклов при 94°C в течение 30 с, 58°C в течение 45 с и 68°C в течение 45 с, конечная стадия удлинения при 68°C в течение 5 мин. Гнездовую PCR осуществляли с использованием метки Qiagen Taq (фирма Qiagen AG) следующим образом: [1 мкл продукта ОТ-ПЦР, 1-кратный буфер для ПЦР, 10 мкл Q-раствора, 3,5мМ $MgCl_2$, 0,3мМ дНТФ, 20 пмолей каждого из праймеров EU-7-n-s и EU-7-n-as, 2,5 ед. Taq-полимеразы, доведено до конечного объема 50 мкл с помощью дистиллированной воды]. Условия циклизации были следующими: 7 циклов при 94°C в течение 1 мин, 58°C в течение 1 мин и 72°C в течение 1 мин, затем 30 циклов при 94°C в течение 1 мин и при 70°C в течение 1,5 мин (без стадии отжига), конечная стадия удлинения при 70°C в течение 5 мин.

Секвенирование нуклеотидных последовательностей: Проводили секвенирование нуклеотидных последовательностей продуктов гнездовой ПЦР, созданных с использованием праймеров, которые содержали метку M13, либо полученных непосредственно после ПЦР, либо ПЦР-продуктов, которые были вырезаны из агарозных гелей и очищены с использованием набора для экстракции из геля JETsorb (фирма Genomed). Секвенирование проводили с использованием автоматического секвенатора LI-COR DNA Analyzer GENE READIR 4200® (фирма LI-COR Inc., Линкольн, шт. Небраска, США). Нуклеотидные и выведенные аминокислотные последовательности можно анализировать с помощью программного обеспечения AlignIR®, версия 1.1 (фирма LI-COR Inc., Линкольн, шт. Небраска, США) и DNASIS.RTM. 2.6 (фирма Hitachi Software Genetic Systems Inc., Сан-Франциско. США).

Пример 4. Определение полноразмерной геномной последовательности PRRSV 94881.

В данном примере проиллюстрировано определение полноразмерных геномных нуклеотидных последовательностей ослабленного штамма 94881 и его родительского штамма 94881, пассаж 5. В этих последовательностях не выявлено никаких неизвестных нуклеотидных положений, что свидетельствует о наличии гомогенного вирусного продукта. Сравнение исходного вакцинного вируса 94881 с европейским штаммом референс-вируса Лелистад (LV) позволило выявить гомологию нуклеотидов, составляющую от

85,40 до 95,09 процентов, для 8 различных вирусных генов и идентичность аминокислот, составляющую от 86,39 до 97,27 процентов обоих штаммов вируса. Оказалось возможным идентифицировать две делеции в ОРС1а MSV 94881 по сравнению с LV. При сравнении исходного вакцинного вируса 94881 с его родительским штаммом (пассаж 5) между ними были выявлены 26 нуклеотидных замен, приводящих в общей сложности к 14 аминокислотным заменам.

Для определения полноразмерной геномной последовательности исходного вакцинного вируса 94881 были проведены в общей сложности 1 обратная транскрипция, 17 "внешних" ПЦР (амплификация внешних участков ампликона) и 58 "внутренних" ПЦР (амплификация внутренних участков ампликона", в результате чего получали 40 ПЦР-продуктов, которые использовали для секвенирования. В случае штамма 94881 (пассаж 5), были проведены 1 обратная транскрипция, 17 "внешних" ПЦР и 67 "внутренних" ПЦР, в результате чего получали 40 ПЦР-продуктов, которые также использовали для секвенирования.

Путем сравнительного анализа первичной структуры перекрывающихся последовательностей была получена полноразмерная последовательность, состоящая из 14843 нуклеотидов, для обоих вирусных изолятов, каждая из которых содержала полные открытые рамки считывания (ОРС) 1а - 7. Кроме того, в каждой из них оказалось возможным определить 177 нуклеотидов в 5-нетранслируемой области (5'NTR) и 43 нуклеотида в 3'-нетранслируемой области (3'NTR). По сравнению с европейским изолятом референс-вируса PRRSV Лелистад (LV) (регистрационный номер GenBank M96262) оказалось невозможным определить 44 нуклеотида в 5'NTR и 83 нуклеотида в 3'NTR, поскольку эти области использовались в качестве областей гибридизации с праймерами.

С помощью реакций секвенирования для обоих вирусных штаммов были определены четкие нуклеотидные последовательности без каких-либо "качаний" (областей нестрогого соответствия) или других свидетельств наличия смешанной последовательности. После трансляции в аминокислоты были получены четкие аминокислотные последовательности, не содержащие каких-либо сомнительных аминокислот, которые можно было применять для сравнения последовательностей MSV 94881 с LV и с родительским штаммом 94881 (пассаж 5). Осуществляли выравнивание и сравнение нуклеотидных последовательностей MSV 94881 и вируса Лелистад, в результате чего было установлено, что имеются существенные различия на нуклеотидном и аминокислотном уровнях. Осуществляли также сравнительный анализ первичной структуры последовательностей MSV 94881 и его родительского штамма (пассаж 5).

Сравнение последовательностей с LV позволило выявить для обоих вирусных штаммов гомологию нуклеотидов, составляющую от 85,40 до 95,09 процентов для 8 различных вирусных генов, и идентичность аминокислот, составляющую от 86,39 до 97,27 процентов. При сравнении с LV оказалось возможным выявить две делеции в ОРС 1а MSV 94881. Одна делеция 138 нуклеотидов локализована в положениях с 2154 по 2292 LV и приводит к утрате 46 аминокислот. Кроме того, в положениях с 2686 по 2688 имеется делеция триплета, что приводит к утрате аминокислоты фенилаланина. Расположение всех областей гомологии нуклеотидов и идентичности аминокислот LV и обоих штаммов 94881 представлено в табл. 4.1.

Таблица 4.1. Расположение сравниваемых областей нуклеотидных и аминокислотных последовательностей исходного вакцинного вируса 94881 с европейским референс-вирусом, т.е. вирусом Лелистад

ОРС	Длина вирусного гена/белка, кол-во нуклеотидов/аминокислот	Количество нуклеотидов, отличных от вируса Лелистад	Генетическая гомология с вирусом Лелистад (в процентах)	Количество аминокислот, отличных от вируса Лелистад	Идентичность аминокислот с вирусом Лелистад (в процентах)
5´NTR	177*/ ---	9	94,92	---	---
1a	7050** / 2349	1050	85,40	326	86,39
1b	4392 / 1463	346	92,12	40	97,27
2	750 / 249	67	91,07	23	90,76
3	798 / 265	72	90,98	28	89,43
4	552 / 183	52	90,58	23	87,43
5	606 / 201	58	90,43	23	88,56
6	522 / 173	26	95,02	5	97,11
7	387 / 128	19	95,09	9	92,97
3´NTR	44***/ ---	2	95,45	---	---

NTR: нетранслируемая область.

* - Сравнивали только 177 нуклеотидов в последовательностях вируса Лелистад и MSV94881. Остальные 44 нуклеотида, расположенные против хода транскрипции, не определяли.

** - Изолят MSV 94881 имеет две делеции в ОРС 1а, одну длиной 138 нуклеотидов и одну длиной 3 нуклеотида соответственно.

Для расчетов гомологии и идентичности использовали полные нуклеотидную и аминокислотную последовательности референс-вируса LV, при этом делеции рассматривали как отклонения. Длина соответствующего вирусного гена LV составляет 7191 нуклеотида, а длина соответствующего полипротеина составляет 2396 аминокислот, расчеты генетической гомологии и аминокислотной идентичности были

основаны на количестве нуклеотидов 7191 и количестве аминокислот 2396 соответственно.

***- Для вируса Лелистад и MSV 94881 сравнивали только 44 нуклеотида. Остальные 83 нуклеотида, локализованные против хода транскрипции, не были определены.

В результате сравнения полноразмерных последовательностей исходного вакцинного вируса 94881 и родительского штамма 94881 (пассаж 5) у них было выявлено в общей сложности 26 нуклеотидных замен. Нуклеотидные замены распределялись следующим образом: 15 в ОРС 1a, 4 в ОРС 1b, 2 в ОРС 2, ни одной в ОРС 3, 1 в ОРС 4, 3 в ОРС 5, 1 в ОРС 6 и ни одной в ОРС 7. Указанные нуклеотидные замены приводили в общей сложности к 14 аминокислотным заменам, которые распределялись следующим образом: 8 в полипротеине 1a, 1 в полипротеине 1b, 1 в гликопротеине 2, ни одной в гликопротеине 3, 1 в гликопротеине 4, 2 в гликопротеине 5 и 1 в матриксном белке. В обоих штаммах имелись одни и те же делеции в ОРС 1a по сравнению с вирусом Лелистад. Расположение всех нуклеотидных замен и обусловленных ими аминокислотных замен, включая положения в вирусных генах и соответствующих белках, подробно представлены в табл. 4.2.

Пример 5. Культуры депонированного вируса и MSV.

Как указано выше, родительский штамм PARENT (малое количество пассажей) 94881 депонирован в Европейской коллекции клеточных культур (ECACC) под регистрационным номером ECACC 11012501, исходный вакцинный вирус 94881 (MSV) депонирован в Европейской коллекции клеточных культур (ECACC) под регистрационным номером ECACC 11012502. В данном примере описаны условия для роста и культивирования родительского вируса и MSV.

Родительский штамм 94881: он представляет собой вирус, имеющий генотип PRRSV типа 1, т.е. он является PRRSV европейского генотипа. Хозяином для вируса является свинья. Родительский вирус, депонированный под регистрационным номером 11012501, был депонирован с титром 5,81 Log10 $TCID_{50}$/мл. Клетки-хозяева для размножения вируса представляют собой клетки линии MA 104. Эти клетки культивировали в Минимальной поддерживающей среде (MEM), дополненной 3,7 г/л бикарбоната натрия, которая содержала 6% обработанной излучением фетальной бычьей сыворотки, при 37±1°C. Клетки высевали в Т-колбы (75 $см^2$) с плотностью посева от 2×10^4 до 2×10^5 клеток/$см^2$ и культивировали в течение 3-7 дней до достижения 100%-ной конфлюэнтности перед осуществлением пересева. Для выращивания вируса вирус добавляли в Т-колбы к клеткам с величиной MOI, составляющей 0,001-0,01. Инфицированные клетки достигали уровня конфлюэнтности, составляющего примерно 80-100%, как правило, через 1-3 дня после посева клеток. После осуществления заражения инфицированные клетки культивировали при 37±1°C в течение 3-10 дней и затем собирали. Сбор осуществляли, когда цитопатическое действие (ЦПД) на монослойные клетки составляло примерно 80-100%, что имело место через 3-10 дней после заражения. Собирали супернатант инфицированных тканевых культур MA104 (использованная среда + PRRSV из культуры при ЦПД, составляющем 80-100%), который содержал размножившийся вирус. Этот супернатант можно хранить при -70°C/-80°C в течение нескольких месяцев до использования. Для вируса оценивали величину $TCID_{50}$ согласно методу расчета, разработанному Spearman и Kaerber, определяя $\log_{10}$ $TCID_{50}$/мл образца.

Исходный вакцинный вирус (MSV) 94881 для вакцины (после большого количества пассажей): Он представляет собой вирус, имеющий генотип PRRSV типа 1, т.е. он является PRRSV европейского генотипа. Хозяином для вируса является свинья. MSV, депонированный под регистрационным номером 11012502, был депонирован с титром 6,43 Log_{10} $TCID_{50}$/мл. Клетки-хозяева для размножения MSV представляют собой клетки линии MA104. Эти клетки культивировали в Минимальной поддерживающей среде (MEM), дополненной 1,4 г/л бикарбоната натрия, которая содержала 10% обработанной излучением фетальной бычьей сыворотки, при 36±2°C. Клетки высевали в Т-колбы (75-150 $см^2$) или в роллер-флаконы площадью 850 $см^2$ с плотностью посева от 1×10^4 до 1×10 клеток/$см^2$ и культивировали в течение 3-7 дней до достижения 100%-ной конфлюэнтности перед осуществлением пересева. Для выращивания вируса вирус добавляли в Т-колбы или роллер-флаконы к клеткам с величиной MOI, составляющей 0,001-0,01. Инфицированные клетки достигали конфлюэнтности примерно 80-100%, как правило, через 1-3 дня после посева клеток. После заражения инфицированные клетки культивировали при 36±2°C в течение 3-14 дней и затем собирали вирус. Сбор осуществляли, когда цитопатическое действие (ЦПД) на монослойные клетки составляло примерно 80-100%, что имело место через 3-10 дней после заражения. Собирали супернатант инфицированных тканевых культур MA104 (использованная среда + PRRSV из культуры при ЦПД, составляющем 80-100%), который содержал размножившийся вирус. Этот супернатант можно хранить при 2-8°C в течение 5-10 дней, при -70°C в течение нескольких месяцев до использования. Для MSV оценивали величину $TCID_{50}$ согласно методу расчета, разработанному Reed и Muench, определяя $\log_{10}$ $TCID_{50}$/мл образца.

Таблица 4.2. Расположение сравниваемых нуклеотидных и аминокислотных последовательностей исходного вакцинного вируса 94881 и родительского штамма 94881

ОРС	Количество отличающихся нуклеотидов	Положение в вирусном гене	Замена (нуклеотидов) в MSV по сравнению с родительским штаммом	Синонимичная /несинонимичная	Количество отличающихся аминокислот	Положение в вирусном белке	Замена (аминокислот) в MSV по сравнению с родительским штаммом
1a	15	309	C на T	синонимичная	8	---	---
		753	G на T	несинонимичная		251	E на D
		1474	G на A	несинонимичная		492	V на I
		1789	G на A	несинонимичная		597	V на I
		2094	C на T	синонимичная		---	---
		2987	T на C	несинонимичная		996	L на S
		3034	A на G	несинонимичная		1012	T на A
		3065	A на G	несинонимичная		1022	E на G
		3736	A на G	несинонимичная		1246	T на A
		3966	C на T	синонимичная		---	---
		4101	T на C	синонимичная		---	---
		5803	C на T	несинонимичная		1935	L на F
		6354	T на G	синонимичная		---	---
		6519	C на T	синонимичная		---	---
		6588	T на C	синонимичная		---	---
1b	4	591	T на C	синонимичная	1	---	---
		1833	C на T	синонимичная		---	---
		1932	C на T	синонимичная		---	---
		3682	G на A	несинонимичная		1228	V на I
2	2	13	C на T	несинонимичная	1	5	H тнаY
		195	C на T	синонимичная		---	---
3	0	---	---	---	0	---	---
4	1	529	T на C	несинонимичная	1	177	F на L
5	3	109	A на G	несинонимичная	2	37	N на D
		364	C на T	несинонимичная		122	L на F
		570	C на T	синонимичная		---	---
6	1	214	C на T	несинонимичная	1	72	L на F
7	0	---	---	---	0	---	---

Пример 6. Определение MID MLV PRRS 94881 для подсвинок.

Краткое изложение

Задачей данного исследования с использованием вакцинации/контрольного заражения была оценка минимальной иммунизирующей дозы (MID) вакцины против репродуктивно-респираторного синдрома свиней на основе выведенного из европейского вируса изолята 94881, представляющего собой модифицированный живой вирус, код 19T1.U_ (MLV PRRS 94881) для подсвинок. Подсвинкам с PRRS-серонегативным статусом примерно за 28 дней до спаривания (день 0; D0) вводили вакцину с двумя различными уровнями титров, контрольное заражение подсвинок осуществляли с использованием гетерологичного европейского изолята PRRSV примерно на 90-й день периода беременности (D118) и у подсвинок оценивали общее количество живорожденных поросят или процент живорожденных поросят и поросят-отъемышей 20-дневного возраста для определения MID. В момент контрольного заражения в день 118 (D118) контрольная группа, подвергавшаяся контрольному заражению, состояла из 8 беременных подсвинок (группа 1, плацебо), группа, обработанная вакциной с низким титром состояла из 8 беременных подсвинок (группа 2, $1\times10^{2,43}$ $TCID_{50}$/дозу), группа, обработанная вакциной с высоким титром состояла из 8 беременных подсвинок (группа $3,1\times10^{3,90}$ $TCID_{50}$/дозу), и группа отрицательного контроля состояла из 5 беременных подсвинок (группа 4, плацебо, не подвергавшаяся контрольному заражению).

Как в группе, обработанной вакциной с низким титром, так и в группе, обработанной вакциной с высоким титром, в обеих был обнаружен более высокий процент живых поросят на помет ($P\leq0,0455$) при опоросе и более высокий процент, и количество живых поросят на помет ($P\leq0,0203$) при отъеме по сравнению с контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению.

Касательно вспомогательных параметров эффективности в группе, обработанной высокой дозой, были обнаружены более высокие процент и количество живых поросят на одну подсвинку в момент опороса ($P\leq0,0211$), меньшие процент и количество слабых и мумифицированных плодов ($P\leq0,0090$), более низкий процент позитивных по данным qПЦР подсвинок и меньшая вирусная нагрузка у подсвинок после контрольного заражения в дни D125, DOF 0 и DOF+13 ($P\leq0,0155$), более низкий процент позитивных по данным qПЦР поросят на одну подсвинку и меньшая вирусная нагрузка у поросят в день DOF 0 ($P\leq0,0030$), более низкий процент поросят с клиническими признаками заболевания на подсвинку

(P<0,0001) и больший вес тела поросят в день DOF+20 и более высокая величина ADWG (P<0,0013) по сравнению с контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению.

В группе, обработанной низкой дозой, были обнаружены более высокий процент здоровых поросят на подсвинку в момент опороса (P=0,0138), более низкие процент и количество мумифицированных плодов (P≤0,0190), более низкий процент позитивных по данным qПЦР подсвинок и меньшая вирусная нагрузка у подсвинок после контрольного заражения в дни D125, D132, DOF 0 и DOF+13 (P≤0,0290), более низкий процент позитивных по данным qПЦР поросят на одну подсвинку в день DOF 0 (P=0,0381), более низкий процент поросят с клиническими признаками заболевания на одну подсвинку (P<0,0001) и больший вес тела в день DOF+20 и большая величина ADWG (P<0,0028) по сравнению с контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению.

Таким образом, можно сделать заключение о том, что задача исследования была выполнена и на основе данных, полученных в этом исследовании, установлена величина MID MLV PRRS 94881 для подсвинок, составляющая $1 \times 10^{2,43}$ $TCID_{50}$/2 мл. Кроме того, в данном исследовании было установлено, что продолжительность действия иммунитета (DOI) у подсвинок составляет примерно 4 месяца.

Задача(и)/цель исследования

Задача данного исследования с использованием вакцинации/контрольного заражения была оценка минимальной иммунизирующей дозы (MID) вакцины против репродуктивно-респираторного синдрома свиней на основе выведенного из европейского вируса изолята 94881, представляющего собой модифицированный живой вирус, код 19T1.U_ (PRRS 94881 MLV), на основе результатов ее введения при двух различных уровнях титров (группа 2, низкий титр; группа 3, высокий титр) имеющим серонегативный PRRS-статус подсвинкам, до спаривания, позволяющей обеспечивать более высокий процент живорожденных поросят и живых поросят-отъемышей к моменту достижения ими возраста 21 день после контрольного заражения подсвинок гетерологичным европейским изолятом вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней (PRRSv) примерно в день 90 периода беременности. Основным критерием, свидетельствующим о решении этой задачи, должна была явиться демонстрация того, что в одной или обеих группах, обработанных вакциной, имел место более высокий процент или количество живорожденных поросят и поросят-отъемышей к моменту достижения ими возраста 21 день (DOF +20) по сравнению с контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению (группа 1).

Другие параметры, которые анализировали при сравнении групп, обработанных вакциной, и контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, включали результаты клинической оценки подсвинок после вакцинации, результаты серологического анализа подсвинок на PRRS, виремию у подсвинок, результаты клинических обследований подсвинок, виремию у поросят, общее количество поросят на помет, количество живых поросят на помет, количество ослабленных живых поросят на помет, количество мумифицированных плодов на помет, количество задавленных/погибших поросят на помет, количество поросят с клиническими показателями и средний суточный прирост массы (ADWG). Эти параметры анализировали в качестве вспомогательных параметров, и они не служили в качестве основных параметров, позволяющих делать вывод о выполнении задачи исследования.

График проведения опыта

Таблица 6.1. График проведения опыта на подсвинках

День(дни) опыта	Даты	Основные события опыта
-2 или -1	с 20 июля 2010 г. по 21 июля 2010 г.	обследование состояния здоровья
с -1 по 21	с 21 июля 2010 г. по 12 августа 2010 г.	группы 1-4: ежедневные клинические оценки
0	22 июля 2010 г.	группы 1-4: взятие образцов крови; вакцинирование групп 1 и 4 контрольным продуктом (CP); вакцинирование группы 2 исследуемым ветеринарным продуктом (IVP) № 1 (группа обработки вакциной с низким титром); и вакцинирование группы 3 IVP № 2 (группа обработки вакциной с высоким титром)
с 8 по 21	с 30 2010 г. июля по 12 августа 2010 г.	группы 1-4: обработка подсвинок один раз в день Matrix™ для синхронизации циклов течки
7, 14, 21, 56 и 84	29 июля 2010 г., 05 августа 2010 г., 12 августа 2010 г., 16 сентября 2010 г., 14 октября 2010 г.	группы 1-4: взятие образцов крови
с 22 по 113	с 13 августа 2010 г. по 12 ноября 2010 г.	группы 1-4: клинические оценки по меньшей мере три раза в неделю

с 26 по 32	с 17 августа 2010 г. по 23 августа 2010 г.	группы 1-4: обследование для выявления повышенной температуры и оплодотворение подсвинков путем искусственного осеменения (AI)
84	14 октября 2010 г.	группы 1-4: проверка беременности путем ультразвукового обследования
с 116 дня по 20-й день после опороса	с 15 ноября 2010 г. по 05 января 2011 г.	группы 1-4: клинические обследования, регистрация выкидышей, мертворожденных, мумифицированных, живых поросят, поросят, имеющих слабое здоровье при рождении
118 (примерно 90-й день беременности)	17 ноября 2010 г.	группы 1-4: взятие образцов крови группы 1-3: контрольное заражение изолятом PRRSV 190136
125, 132, опорос/выкидыш (DOF*), DOF +7, DOF +13	24 ноября 2010 г., 01 декабря 2010 г., с 03 декабря 2010 г. по 16 декабря 2010 г., с 10 декабря 2010 г. по 23 декабря 2010 г., с 16 декабря 2010 г. по 29 декабря 2010 г.	группы 1-4: взятие образцов крови
DOF+20	с 23 декабря 2010 г. по 05 января 2011 г.	группы 1-4: взятие образцов крови у оставшихся в живых подсвинок; умерщвление оставшихся в живых подсвинок; ликвидация останков
DOF+20 или позже	с 25 декабря 2010 г. по 05 января 2011 г.	группы 1-4: умерщвление оставшихся в живых подсвинок; ликвидация останков

*DOF = день опороса

Таблица 6.2. График проведения эксперимента на поросятах

День(дни) опыта	Даты	Основные события опыта
DOF	с 03 декабря 2010 г. по 16 декабря 2010 г.	Для всех погибших поросят: взвешивание; аутопсия; взятие образцов крови/общей воды организма, если это возможно; взятие образцов из легких Для всех живых поросят: взвешивание; взятие образцов крови (преколостральной или перинатальной (в течение 12 ч после рождения))
DOF +1 DOF +20	с 04 декабря 2010 г. по 05 января 2011 г.	Для всех живых поросят: клинические обследования Для погибших поросят: взвешивание; аутопсия; взятие образцов крови/общей воды организма, если это возможно; взятие образцов из легких
DOF +7	с 10 декабря 2010 г. по 23 декабря 2010 г.	Для всех живых поросят: взятие образцов крови
DOF +13	с 16 декабря 2010 г. по 29 декабря 2010 г.	Для всех живых поросят: взятие образцов крови
DOF +20	с 23 декабря 2010 г. по 05 января 2011 г.	Для всех живых поросят: взвешивание; взятие образцов крови;
DOF+20 или позже	с 25 декабря 2010 г. по 05 января 2011 г.	Группы поросят 1-3: умерщвление оставшихся в живых поросят, ликвидация останков; Группа поросят 4: передача для другого проекта BIVI

План опыта

Таблица 6.3. План опыта

Группа	Количество подсвинок в день D0	Обработка в день D0 (примерно за 28 дней до оплодотворения)	Количество подсвинок в день D118	Контрольное заражение в день D118 с использованием 6,0 мл (2 мл/ноздрю; 2 мл IM) $1 \times 10^{6,30}$ $TCID_{50}$ PRRSV 190136
1 (контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению)	28	2,0 мл IM контрольного продукта (продукт-плацебо, не содержащий MLV PRRS 94881)	16	да
2 (группа обработки вакциной с низким титром)	28	2,0 мл IM IVP № 1 ($1 \times 10^{2,43}$ $TCID_{50}$ MLV PRRS 94881)	16	Да
3 (группа обработки вакциной с высоким титром)	28	2,0 мл IM IVP № 2 ($1 \times 10^{3,90}$ $TCID_{50}$ MLV PRRS 94881)	16	да
4 (группа отрицательного контроля)	10	2,0 мл IM контрольного продукта	5	нет

Критерии для проведения слепого исследования Исследователь и уполномоченные лица не имели информации о распределенных по группам 1-4 подсвинках. Для гарантии того, что исследование является слепым, Исследователь и уполномоченные лица не участвовали в сборе данных о введении IVP и CP соответствующим подсвинкам в день D0. Лабораторный персонал при выполнении поставленных перед ним задач не имел информации о том, каким продуктом производится обработка каждой подсвинки.

Материалы

Исследуемые ветеринарные продукты (IVP) и контрольный продукт (CP)

Таблица 6.4. Исследуемые ветеринарные продукты (IVP)

Непатентованное название:	Модифицированный живой вирус репродуктивно-респираторного синдрома свиней
Изолят:	Изолят 94881
Препарат:	Протокол для партии препарата (MBP) MLV-вакцины PRRS 94881, лот 390-005 (лиофилизат) от фирмы-производителя представлен в Приложении 1. MBP для стерильного разбавителя, дополненного карбополом, лот 808-002 (разбавитель) представлен в разделе 15.1, Приложение 1. В день D0 непосредственно перед осуществлением вакцинации, на фирме BIVI-Ames (Boehringer Ingelheim Vetmedica, Эймс) MLV-вакцину PRRS 94881, лот 390-005, восстанавливали/разводили с помощью стерильного разбавителя, дополненного карбополом, лот 808-002, приготавливая два IVP. IVP № 1 приготавливали таким образом, чтобы обеспечить заданный уровень титра примерно $1 \times 10^{3,0}$ $TCID_{50}$/2 мл, а IVP № 2 приготавливали таким образом, чтобы обеспечить заданный уровень титра примерно $1 \times 10^{4,5}$ $TCID_{50}$/2 мл. Для вакцинации и тестирования использовали одинаковые объемы каждого из IVP.
Лоты/серийные номера IVP:	IVP № 1: N270-142 IVP № 2: N270-143
Производитель:	Фирма Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc. 2621 North Belt Highway Сент-Джозеф, шт. Миссури, 64506
Срок годности:	Для каждого IVP был установлен (только для целей исследования) срок годности до 22 июля 2010 г.
Требования к условиям хранения:	Регидратированный/разведенный IVP хранили при 2-8°C или на льду
Тестирование:	MLV PRRS 94881, серийный номер 390-005 и стерильный разбавитель, дополненный карбополом, лот 808-002, тестировали в подразделении клинического контроля фирмы Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc. (BIVI-QC). Начало и завершение процедуры вакцинации осуществляли в контакте с BIVI-Ames. В BIVI-Ames осуществляли тестирование аликвот каждого IVP до и после вакцинации в отношении титра вируса согласно процедуре титрования для PRRSV (раздел 15.1).
Результаты тестирования:	Результаты тестирования MLV PRRS 94881, серийный номер 390-005 и стерильного разбавителя, дополненного карбополом, лот 808-002, оказались удовлетворительными: средний титр вируса IVP № 1 составлял $1 \times 10^{2,43}$ $TCID_{50}$/2 мл, средний титр вируса IVP № 2 составлял $1 \times 10^{3,0}$ $TCID_{50}$/2 мл.
Передача IVP:	Два флакона, содержавших по 35 мл каждого из IVP, передавали в место проведения исследования в день D0 перед осуществлением вакцинации.
Хранение IVP:	Предназначенный для хранения образец каждого из IVP в настоящее время хранится при -70 ± 10°C в BIVI-Ames до подписания конечного отчета.

Таблица 6.6 Контрольный продукт (CP)

Непатентованное название:	Плацебо
Препарат:	Произведенный производственным подразделением BIVI (BIVI-Production) лиофилизированный продукт, представляющий собой плацебо, содержащий инертный продукт, который присутствует в вакцине, не содержащей MLV PRRS 94881 (лот N240-191-062409). В день D0 на фирме BIVI-Ames восстанавливали продукт из лота N240-191-062409 с помощью стерильного разбавителя, дополненного карбополом, лот 808-002 с получением CP, лот № 270-141.
Производитель:	Фирма Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc. 2621 North Belt Highway Сент-Джозеф, шт. Миссури, 64506, США
Номер лота:	N270-141
Срок годности:	Для CP был установлен (только для целей исследования) срок годности до 22 июля 2010 г.
Условия хранения:	Лиофилизированная вакцина: при 2-8°C Регидратированный CP: при 2-8°C или на льду
Тестирование:	CP тестировали на фирме BIVI-QC в отношении соблюдения стерильности, удовлетворяющей требованиям EP (Европейская фармакопея) согласно специальному протоколу № 96
Результаты тестирования:	Было установлено, что CP являлся стерильным
Передача CP:	Два флакона, содержащие каждый по 50 мл CP, передавали в место проведения исследования в день D0 перед осуществлением вакцинации.
Хранение CP:	CP приготавливали только для целей данного исследования и не сохраняли.

Материал, применявшийся для контрольного заражения

Таблица 6.7. Материал, применявшийся для контрольного заражения

Название/номер изолята	Вирус репродуктивно-респираторного синдрома свиней
Место и дата выделения, включая клинические симптомы	Изолят 190136, пассаж 2. Изолят № 190136 был получен из ткани легкого новорожденного поросенка на ферме, где были выявлены типичные касающиеся репродуктивной способности признаки PRRS (выкидыши у подсвинок и слабость новорожденных поросят) во время вспышки заболевания, имевшей место в Нижней Саксонии, Германия, в апреле 2004 г. Штатные ветеринарные врачи передали образцы в лабораторию bioScreen (образец был получен 21 апреля 2004 г.). Изолят № 190136 может размножаться непосредственно на клетках линии AK-MA104.
Препарат:	В день D118 вирус для контрольного заражения подвергали оттаиванию и разводили с помощью среды MEM (минимальная поддерживающая среда) до достижения заданного титра, составлявшего примерно 1×10^6 $TCID_{50}$/3 мл. Приготавливали достаточный объем материала для контрольного заражения. Из материала для контрольного заражения брали две аликвоты.
Номер лота:	N289-034
Производитель:	Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc. - США
Условия хранения	Нерасфасованный материал для контрольного заражения хранили при -70 ± 10°C. После приготовления разведенный материал для контрольного заражения хранили на льду до его введения.
Тестирование:	Начало и завершение процедуры вакцинации осуществляли в контакте с BIVI-Ames. Персонал лаборатории BIVI-Ames тестировал аликвоты до и после контрольного заражения в отношении титра вируса согласно процедуре титрования PRRSV.
Результаты тестирования:	Средний титр материала для контрольного заражения составлял $1 \times 10^{6,30}$ $TCID_{50}$ на дозу объемом 6 мл.
Передача материала для контрольного заражения:	Три флакона, содержащие каждый по 101 мл материала для контрольного заражения, передавали в место проведения исследования в день D118 непосредственно перед осуществлением введения.
Путь введения	По 2,0 мл/ноздрю и по 2,0 мл IM в левую сторону шеи (введение осуществляли всем подсвинкам в группах 1, 2 и 3 в день D118).
Хранение материала для контрольного заражения:	Материал для контрольного заражения приготавливали только для проведения настоящего исследования и не сохраняли.

Дополнительные обработки

Каждая подсвинка получала вместе с кормом Matrix™ (6,8 мл; альтерногест; фирма Intervet/Schering Plough Animal Health) в период со дня D8 по день D21 для синхронизации циклов течки.

При родах вводили окситоцин (фирма VetTek) для облегчения опороса подсвинок, но не для инициации опороса. При опоросе всем живым поросятам вводили путем инъекции в правое бедро по 1,0 мл железа (фирма Phoenix или фирма Durvet), IM, для предупреждения обусловленной дефицитом железа анемии после рождения. Кроме того, всем живым поросятам вводили гентамицин (фирма SparHawk Laboratories, Inc.) в качестве средства для предупреждения поноса после рождения. Все обработки записывали в регистрационной форме для биологической и фармацевтической обработки.

Обработки

Подтверждение вводимых доз.

Каждый IVP вводили в виде дозы объемом 2,0 мл отобранным для этой цели подсвинкам для оценки MID MLV PRRS 94881. CP вводили в виде дозы объемом 2,0 мл подсвинкам из групп 1 и 4.

Схема введения доз.

В день D0 специалист, не участвующий в сборе экспериментальных данных, вводил каждой подсвинке из соответствующей группы IVP или CP в правую область шеи IM с использованием стерильного 3,0 мл шприца с разъемом типа Луер-Лок и стерильной иглы 18g × 1 дюйм (2,54 см). Схема введения доз представлена ниже в табл. 6.8.

Таблица 6.8 Схема введения доз

Группа	Количество	Обработка	Доза/путь введения	День опыта
1	28	CP	2,0 мл IM	D0
2	28	IVP № 1 (доза с низким титром)	2,0 мл IM	D0
3	28	IVP № 2 (доза с высоким титром)	2,0 мл IM	D0
4	10	CP	2,0 мл IM	D0

Методы и меры предосторожности для персонала, принимавшего участие в исследовании

Персонал, осуществлявший введение IVP, CP и материала для контрольного заражения, строго придерживался мер предосторожности и был одет в защитные комбинезоны, как предписано для конкретного места проведения исследования.

Информация о животных

Подробные сведения о подопытных животных.

Таблица 6.9. Информация о животных

Источник:	Фермы Wilson Prairie View N5627 Highway DD Берлингтон, WI 53105	
Количество подсвинок:	94	
Дата поступления:	Подсвинки поступили в исследовательский центр фирмы Veterinary Resources, Inc. двумя партиями, а именно, 15 июля 2010 г. (D-7) и 20 июля 2011 г. (D-2).	
Идентификация:	У каждого животного имелась ушная бирка с указанием индивидуального номера	
Вид:	Свиньи	
Порода:	Товарная порода	
Пол:	Самки	
Возрастной диапазон:	Возраст примерно 8 месяцев в день D0	
Собственник подопытных животных:	Фирма Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc.	
Физиологический статус:	Все подсвинки имели в день D0 PRRS-серонегативный статус по данным ELISA. Исследователь производил в день D-2 или день D-1 обследование подсвинок при их отборе для участия в исследовании и подтверждал, что они имели хорошее состояние здоровья и упитанность.	
Результаты оценки состояния беременности:	Подсвинок проверяли на наличие беременности в день D84.	
Распределение подсвинок на группы в день D0	Группа 1 (n=28): 1, 3, 5, 6, 8, 11, 15, 18, 19, 34, 35, 39, 40, 52, 54, 68, 79, 82, 88, 90, 95, 96, 98, 101, 102, 107, 109 и 110	Группа 2 (n=28): 12, 26, 31, 32, 41, 47, 49, 56, 58, 59, 60, 64, 67, 69, 70, 72, 73, 75, 76, 77, 78, 85, 89, 93, 94, 100, 103 и 104
	Группа 3 (n=28): 2, 7, 14, 22, 23, 25, 27, 28, 30, 33, 36, 42, 46, 48, 51, 53, 57, 61, 62, 65, 66, 80, 84, 86, 91, 92, 105 и 106	Группа 4 (n=10): 4, 10, 13, 16, 17, 20, 21, 24, 29 и 108
Номера подсвинок, оставшихся в группах в день опыта D118	Группа 1 (n=16): 1, 6, 11, 18, 19, 40, 54, 68, 79, 82, 88, 95, 96, 98, 102 и 107	Группа 2 (n=16): 12, 26, 31, 32, 41, 47, 49, 58, 64, 67, 72, 85, 89, 93, 100 и 104
	Группа 3 (n=16): 7, 14, 23, 27, 33, 36, 46, 48, 57, 61, 62, 65, 66, 84, 92 и 106	Группа 4 (n=5): 4, 13, 16, 17 и 108

Критерии включения/исключения

Все подсвинки, участвовавшие в настоящем исследовании имели негативный по данным ELISA PRRS-статус, обследование показало, что они были неосемененными и здоровыми на момент проведения вакцинации.

Исключение подсвинок после включения в опыт

У пяти (5) подсвинок в группе 1 (№№ 5, 15, 34, 35 и 52), двух (2) подсвинок в группе 2 (№ 77 и № 94), трех (3) подсвинок в группе 3 (№№ 2, 25 и 30) и у одной (1) подсвинки в группе 4 (№ 20) не наступила течка и они не были впоследствии осеменены. Эти подсвинки были исключены из опыта в день D47.

Две (2) подсвинки в группе 1 (№ 109 и № 110), девять (9) подсвинок в группе 2 (№№ 56, 59, 60, 69, 73, 75, 76, 78 и 103), четыре (4) подсвинки в группе 3 (№№ 22, 28, 51 и 53) и одна (1) подсвинка в группе 4 (№ 21) были исключены из опыта в день D89 вследствие наличия хромоты, отсутствия беременности или позднего осеменения.

Согласно протоколу исследования в том случае, если в группах 1-3 перед осуществлением контрольного заражения оставалось >16 беременных подсвинок на группу, то лишних подсвинок требовалось случайным образом исключить из опыта; в результате чего в группах 1-3 оставалось по 16 беременных подсвинок на группу. Пять (5) подсвинок из группы 1 (№№ 3, 8, 39, 90 и 101), одна (1) подсвинка из группы 2 (№ 70) и пять (5) подсвинок из группы 3 (№№ 42, 80, 86, 91 и 105) были удалены в день D104 случайным образом специалистом-статистиком или путем отбора лицом, не участвующим в исследовании, в результате чего количество подсвинок в каждой из групп 1 -3 стало равным 16.

Вследствие пространственных ограничений Исследователь потребовал уменьшить размер группы 4 с восьми (8) до пяти (5) животных. Специалист-статистик случайным образом отобрал трех (3) подсвинок (№№ 10, 24 и 29) для исключения из опыта, и их исключили в день D109.

Уход за животными и их содержание

Содержание животных

Подсвинки, обработанные IVP с низким титром, содержались в помещениях 1 и 2, а подсвинки, обработанные IVP с высоким титром, содержались в помещениях 3 и 4 в здании СВ фирмы VRI-Кембридж в период со дня D-1 до завершения исследования. Подсвинки, включенные в контрольную группу, подвергнутую контрольному заражению, и группу отрицательного контроля, содержались в одном помещении VRI-Risdal в период со дня D-1 до дня D85. В день D85 подсвинок, оставшихся в контрольной груп-

пе, подвергнутой контрольному заражению, и в группе отрицательного контроля, перевозили в VRI-Кембридж. Шестнадцать (16) подсвинок из контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, содержали в здании CB, помещения 5-8, а восемь (8) подсвинок из группы отрицательного контроля содержали в здании CA, помещение 12, в течение оставшегося периода исследования. Начиная со дня D85, каждое помещение было оборудовано одинаковым образом, в каждом из них находилось два ряда станков для супоросных маток по четыре станка в ряду. В каждом станке содержали одну подсвинку и ее потомство. Каждый станок имел размеры примерно 5 футов × 7 футов, он был приподнят над полом, имел боковые панели из металлических прутьев и на полу настил из пластиковой сетки. Между соседними станками не имелось возможности для контакта типа нос-к носу. Пол в каждом станке мыли по меньшей мере один раз в день для удаления экскрементов и отбросов. Каждое помещение имело отдельный подогрев и вентиляцию, что предупреждало перекрестное загрязнение воздуха между помещениями. Каждое помещение чистили и дезинфицировали перед его использованием для настоящего исследования. Персонал, обслуживающий животных мылся под душем и переодевался в чистую одежду перед входом в каждое помещение.

При проведении настоящего исследования было необходимо изолировать группу обработки, поскольку в научном сообществе хорошо известно, что PRRSV легко распространяется от свиньи к свинье посредством различных механизмов, включая перенос в аэрозольной форме. Это относится и к авирулентным живым вакцинам против PRRS, поскольку указанные биологические продукты включают ослабленные вирусные частицы, которые имитируют характеристики вирулентного вируса PRRS дикого типа, не обладая способностью вызывать заболевание. Применяли соответствующие методы для гарантии поддержания биобезопасности и для того, чтобы вакцинированные животные не могли случайным образом заразиться PRRSV от невакцинированных животных из группы отрицательного контроля.

В каждом помещении в исследовательском центре имелись вентиляторы и нагреватели для того, чтобы обеспечивать необходимую циркуляцию воздуха и подогрев. Каждое помещение имело отдельную, но идентичную систему вентиляции, так что не происходило обмена воздухом между помещениями. Твердый корм хранили в мешках в условиях, обеспечивающих отсутствие паразитов. Животные имели свободный доступ к воде, которая поступала из скважины, расположенной на территории фирмы. Подсвинок кормили поступающим в продажу не содержащим лекарственных препаратов кормом, предназначенным для периода беременности и лактации (фирма Heart of Iowa Cooperative, Роланд, шт. Айова), соответствующим их размеру, возрасту и состоянию.

По мнению Исследователя перед началом исследования подсвинки имели хорошее состояние здоровья и упитанность. В период исследования у двух подсвинок была обнаружена слабо выраженная хромота, а у одной подсвинки было выявлено опухание в левой области шеи. По мнению Исследователя все эти проявления представляли собой неспецифические состояния, которые обычно встречаются в группах подсвинок при стойловом содержании. По решению Исследователя при проведении настоящего исследования ни для одного из животных не требовалось проводить сопутствующие обработки.

Всех подсвинок из групп 1-3 и рожденных ими поросят после умерщвления ликвидировали посредством промышленной кремации. Подсвинок из группы 4 после умерщвления утилизировали, передавая их для переработки непищевого животного сырья. Поросят из группы 4 не умерщвляли и не утилизировали, но передавали для участия в другом проекте BIVI. Никакие пищевые продукты от животных, участвовавших в настоящем исследовании, не попадали в цепь питания человека.

Оценка эффективности

Для оценки MID MLV PRRS 94881 осуществляли в день D118 контрольное заражение животных в группе, обработанной вакциной с низким титром (группа 2), и в группе, обработанной вакциной с высоким титром (группа 3), проводили оценку репродуктивной способности и количества поросят-отъемышей после контрольного заражения. Основным критерием выполнения поставленной задачи должно было явиться то, что в одной или обеих группах, обработанных вакциной, имел место статистически значимо более высокий процент или количество живорожденных поросят и поросят-отъемышей к 20-дневному возрасту (DOF +20) по сравнению с контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению (группа 1).

Другие параметры, которые анализировали для подтверждения эффективности при сравнении обработанных вакциной групп и контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, включали результаты клинической оценки подсвинок после вакцинации, результаты серологического анализа подсвинок на PRRS, виремию у подсвинок, результаты клинических обследований подсвинок после контрольного заражения, виремию у поросят на момент опороса, общее количество поросят на помет, количество живых поросят на помет, количество ослабленных живых поросят на помет, количество мумифицированных плодов на помет, количество мертворожденных поросят на помет, количество задавленных/погибших поросят на помет, результаты клинических обследований поросят и ADWG у поросят.

Критерии валидности теста

Группу отрицательного контроля (группа 4) не включали ни в один из анализов. Группу отрицательного контроля включали в исследование для демонстрации того, что исходные подсвинки имели PRRS-негативный статус в тот момент времени, когда осуществляли контрольное заражение животных в

других трех группах. Кроме того, животные в группе отрицательного контроля должны были сохранять PRRS-негативный статус вплоть до завершения исследования для исключения возможности внесения полевого PRRSV или случайного перекрестного заражения от животных из контрольных групп, подвергнутых контрольному заражению.

Требовалось, чтобы образцы сыворотки, взятые до поставки животных и в день D0, были негативными в отношении антител к вирусу PRRS. Для того, чтобы исследование было признано валидным, образцы сыворотки, собранные у животных из групп 1 и 4 в течение периода вплоть до дня контрольного заражения и у животных из группы 4 в течение периода вплоть до завершения исследования должны были не содержать антител к вирусу PRRS.

Основные выходные параметры

Основными переменными при статистической оценке эффективности были количество живых поросят на подсвинку при рождении (среднее количество или процент) и количество живых поросят на помет в день DOF +20 (среднее количество или процент).

9.2.1. Процент живых поросят при рождении на подсвинку.

В процессе исследования для каждой подсвинки регистрировали результаты опороса. За день опороса (DOF) для каждой подсвинки принимали день, в который рождался первый поросенок. В момент опороса каждого поросенка относили к одной из пяти категорий, перечисленных ниже в таблице 6.10. Живым при рождении поросенком считали любого поросенка, которого при обследовании признавали как здорового живого поросенка, ослабленного живого поросенка или задавленного/убитого поросенка (смерть в результате задавливания подтверждали путем аутопсии как описано ниже). Обследования проводил Исследователь или уполномоченное лицо, и результаты регистрировались в регистрационной форме для процесса опороса/получения помета.

Таблица 6.10. Категории результатов опороса

Название	Определение
мумия	Мумифицированный плод, не полностью резвившийся и имеющий серьезные признаки автолиза, или полностью развывшийся плод, имеющий блестящую зеленую окраску типа оружейного металла с отсутствием или очень слабым волосяным покровом
мертворожденный поросенок	Полностью резвившийся мертвый поросенок с волосяным покровом
ослабленный живой поросенок	Поросенок с плохим здоровьем, который не в состоянии питаться или ходить
здоровый живой поросенок	Здоровый способный питаться поросенок, который может ходить
задавленный/убитый	Полностью развывшийся поросенок, который, по-видимому, умер сразу после опороса вследствие того, что был задавлен подсвинкой

Количество живых поросят на помет в день DOF +20

Поросят обследовали в отношении клинических признаков заболевания с использованием системы, представленной ниже в табл. 6.11, начиная со дня DOF+1 по день DOF+20. Обследования проводились Исследователем или уполномоченным лицом, и результаты регистрировали в регистрационной форме для клинических обследований.

Таблица 6.11. Система балльной оценки результатов клинических обследований

Дыхание	Поведение	Кашель
0 – нормальное дыхание 1 - затрудненное дыхание/учащенное дыхание 2 – одышка 3 – смерть	0 – нормальное 1 – заторможенность от слабой до умеренной 2 – серьезная заторможенность или лежащее положение 3 – смерть	0 – отсутствует 1 – мягкий или интермиттирующий кашель 2 – грубый или серьезный, рецидивирующий кашель 3 – смерть

Специалист-статистик рассчитывал суточный общий балл клинического обследования в виде суммы баллов дыхания, поведения и кашля с использованием программы SAS. Любой поросенок, получивший в день DOF+20 клинический балл от нуля до восьми, считался живым ко дню DOF+20.

Вспомогательные параметры

Другие параметры, которые анализировали при сравнении групп, обработанных вакциной, и контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, включали результаты клинической оценки подсвинок после вакцинации, результаты серологического анализа подсвинок на PRRS, виремию у подсвинков, результаты клинических обследований подсвинок, виремию у поросят, общее количество поросят на помет, количество живых поросят на помет, количество ослабленных живых поросят на помет, количество мумий на помет, количество мертворожденных поросят на помет, количество задавленных/убитых поросят на помет, результат клинических обследований поросят и средний суточный прирост массы (ADWG) у поросят.

Ежедневные оценки подсвинок

Для получения ежедневных оценок после вакцинации Исследователь или уполномоченное лицо

проводили обследование всех подсвинок один раз в день в период со дня D-1 по день D21 и в период со дня D22 по день 115 по меньшей мере три раза в неделю. Результаты регистрировали в регистрационной форме для ежедневных оценок.

Серологический анализ подсвинок на PRRS

Образцы венозной цельной крови собирали у подсвинок перед их поставкой и в дни D0, D7, D14, D21, D56, D84, D118, D125, D132, DOF 0, DOF+7, DOF+13 и DOF+20. Сбор образцов крови у подсвинок в день опороса/выкидышей (DOF 0) осуществляли сразу после завершения опороса/выкидышей или в период до 8 ч после опороса/выкидыша.

В целом, процедура состояла в следующем: у каждой подсвинки брали примерно по 10 мл крови в пробирку(и) для разделения крови (SST) соответствующего размера. Собранные образцы регистрировали в регистрационной форме для собранных образцов. Находящейся в SST крови давали свернуться при комнатной температуре. Образцы крови, собранные в рабочие дни недели, передавали в BIVI-Ames в день сбора. Образцы крови, собранные в выходные дни, обрабатывал персонал VRI в день сбора. Образцы сыворотки хранили в VRI при 2-8°C. Образцы крови, находящиеся либо в BIVI-Ames, либо в VRI, центрифугировали и сыворотку собирали, разделяли и переносили в соответствующие пробирки. На каждую пробирку наносили метку с указанием идентификационного (ID) номера подсвинки, номера исследования, даты сбора, дня исследования и типа образца. Образцы сыворотки, полученные в VRI, передавали в BIVI-Ames при первом удобном случае. К каждому поставляемому продукту прилагалась заполненная регистрационная форма для поставляемых образцов. В BIVI-Ames один набор образцов сыворотки помещали на хранение при 2-8°C, а другой набор образцов сыворотки помещали на хранение при -70 ± 10 °C.

Набор образцов сыворотки, хранившийся при 2-8°C, анализировали в BIVI-Ames на наличие антител к PRRSV. Результаты классифицировали как "негативные" (по данным ELISA отношение $S/P < 0,4$) или "позитивные" (по данным ELISA отношение $S/P \geq 0,4$).

Клинические обследования подсвинок после контрольного заражения

Обследование подсвинок в отношении клинических признаков заболевания проводили в период со дня D116 до дня DOF+20. Обследования выполнялись Исследователем или уполномоченными лицами. Подсвинок обследовали каждый день в отношении дыхания, поведения и кашля с использованием балльной системы оценки результатов клинических обследований, представленной выше в табл. 6.11.

PRRS-виремия у поросят

Образцы венозной крови собирали у поросят в дни DOF 0, DOF+7, DOF+13 и DOF+20, или в том случае, когда обнаруживали, что поросенок мертв. Предпочтительно брали образцы преколостральной крови у новорожденных поросят, но это не являлось обязательным. Если не имелось возможности взять образец преколостральной крови, то допускалось взятие образцов перинатальной крови в период до 12 ч после опороса. Образцы, которые не были собраны до первого сосания, помечали как "перинатальные" и хранили отдельно от преколостральных образцов.

В целом процедура заключалась в следующем: у каждого живого поросенка брали примерно по 2,0-2,5 мл крови в пробирку(и) для разделения сыворотки (SST) соответствующего размера. В день DOF +20 непосредственно перед умерщвлением у каждого поросенка брали как минимум по 5,0 мл крови. Образцы крови брали из каждой мумии или мертворожденного поросенка или, если не имелось возможности взять кровь из мертвого плода, то собирали торакальную или абдоминальную жидкость. Собранные образцы регистрировали в регистрационной форме для сбора образцов.

Средний суточный прирост массы поросят

Поросят взвешивали индивидуально в дни DOF 0 и DOF+20 или в тот день, когда поросенок был обнаружен мертвым Исследователем или уполномоченными лицами. Индивидуальные величины веса тела в день DOF 0 регистрировали в регистрационной форме для процесса опороса/получения помета, а величины веса тела, измеренные после дня DOF 0, регистрировали в регистрационной форме для веса тела.

Количественная оценка вируса PRRS в ткани легкого

Исследователь производил аутопсию всех поросят, родившихся мертвыми или умерших до дня DOF+20. Результаты аутопсии и диагноз регистрировали в форме для отчета о посмертном вскрытии. У каждого подвергнутого аутопсии поросенка брали по два образца из легких. Один образец помещали отдельный контейнер Whirlpak®, а другой образец помещали в соответствующий контейнер, заполненный достаточным объемом 10%-ного формалина. Собранные образцы регистрировали в форме для отчета об аутопсии.

Контейнеры Whirlpaks® и содержащие формалин контейнеры снабжали соответствующей меткой с указанием номера животного, номера исследования, дня исследования, типа образца и информации о том, с какой стороны взят образец: с левой стороны, с правой стороны или с обеих сторон. Образцы в контейнерах Whirlpaks® помещали на хранение при -70 ± 10°C, а образцы в 10%-ном формалине хранили при комнатной температуре до передачи их в BIVI-Ames. К каждой доставляемой партией образцов прилагалась заполненная регистрационная форма о доставке образцов. В BIVI-Ames образцы, находив-

шиеся в контейнерах Whirlpaks®, хранили при -70 ± 10°C до переправки из BIVI-Ames в Германию, а зафиксированные формалином образцы хранили в BIVI-Ames при комнатной температуре.

После завершения исследования замороженные образцы, находившиеся в контейнерах Whirlpaks®, переправляли к месту назначения и анализировали как описано выше.

Зафиксированные формалином образцы ткани передавали в ISU VDL в течение одной недели после сбора для заливки в парафиновые блоки. Образцы ткани в парафиновых блоках возвращали в BIVI, и в настоящее время они хранятся в BIVI-Ames при комнатной температуре для возможных будущих анализов. Решение о том, сохранять ли эти образцы или уничтожить их, должно быть принято Спонсором и Наблюдателем исследования после завершения отчета об исследовании.

Нежелательные явления

При проведении настоящего исследования не было зарегистрировано никаких нежелательных явлений, обусловленных IVP. Более подробная информация о нежелательных явлениях представлена в разделе 12.6, озаглавленном "Оценка подсвинок после вакцинации".

Статистические методы

Экспериментальная единица

В процессе настоящего исследования группы обработки содержали в отдельных помещениях для того, чтобы избежать переноса живой вакцины на основе PRRSV животным в не подвергавшихся вакцинации группах. Таким образом, помещение представляло собой экспериментальную единицу. Однако, для целей рассматриваемого анализа, возможную нестрогость вследствие смешения (объединения) эффектов, обусловленных "помещением" и "обработкой" не учитывали, и подсвинку и соответствующий ее помет анализировали как экспериментальную единицу.

Рандомизация

Девяносто четыре (94) подсвинки с серонегативным статусом PRRS, взятые из группы, включающей 107 пригодных для исследования подсвинок, произвольно распределяли по 4 группам до дня D0. Каждая из групп 1-3 состояла из 28 подсвинок. Группа 4 состояла из 10 подсвинок. В группе 1, животные с номерами 45 и 55 были исключены менеджером фермы до поставки по причинам, связанным со здоровьем, и заменены на две другие подсвинки с номерами 15 и 18 соответственно. В группе 3, подсвинка № 44 была исключена менеджером фермы до поставки по причинам, связанным со здоровьем, и заменена на другую подсвинку № 25.

Вследствие пространственных ограничений в период осуществления контрольного заражения количество животных в группах 1 -3 было ограничено до 16 подсвинок на группу, а количество животных в группе 5 было ограничено до 5-8 подсвинок. В день D85 в группах 1-3 были произвольным образом отобраны по 16 подсвинок для продолжения исследования. Поскольку группа 4 состояла из 8 подсвинок в день D85, то эту группу не подвергали дополнительному рандомизированному сокращению. Впоследствии Исследователь потребовал, чтобы количество животных в группе 4 было уменьшено с 8 подсвинок до 5 подсвинок. В день D109 было отобрано произвольным образом 5 подсвинок в группе 4 для продолжения участия в исследовании.

Все процедуры рандомизации осуществлялись специалистом в области биостатистики.

Анализ

Статистический анализ и обобщение данных проводил д-р сельскохозяйственных наук Martin Vanselow, Biometrie & Statistik, Zum Siemenshop 21, 30539, Ганновер, Германия, +49(0) 511 606 777 650, m.vanselowαt-online.de.

Основной целью статистического анализа было сравнение двух обработанных вакциной MLV PRRS 94881 групп (группы 2 и 3) с невакцинированной контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению (группа 1). Все данные были переданы в SAS для обработки и оценки. Данные получали от Спонсора исследования в форме проверенных SAS наборов данных. Случаи, которые были исключены из исследования, учитывали при анализе соответствующих параметров вплоть до даты исключения. Все данные обобщали с помощью описательных категорий (n, минимум, максимум, среднее, медиана, стандартное отклонение, межквартильный диапазон или распределения частот встречаемости, доверительный интервал) на основе типа переменной. Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения SAS, выпуск 8.2 (SAS, 2001, Кэри, шт. Северная Каролина, США: SAS Institute Inc.).

Переменные для статистической оценки результатов исследования.

Основные переменные:

относительные количества живых поросят при опоросе/выкидыше (DOF+0);

относительные количества живых поросят в возрасте 20 дней (DOF+20).

Вспомогательные переменные:

клинические оценки подсвинок после вакцинации;

данные серологического анализа подсвинок на PRRS;

виремия у подсвинок;

Данные клинических обследований подсвинок:

виремия у поросят;

репродуктивная способность.

Данные клинических обследований поросят:

средний суточный прирост массы поросят (ADWG).

Гипотеза, подлежащая проверке и сделанные допущения.

Группа отрицательного контроля, не подвергавшаяся контрольному заражению (группа 4), была исключена из статистического анализа. Группы, обработанные вакциной с низким титром и вакциной с высоким титром (группы 2 и 3 соответственно) сравнивали с контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению (группа 1). Все сравнительные групповые анализы проводили на основе двусторонних критериев различий. При использовании всех критериев различия считали статистически значимыми только в том случае, если $P \leq 0,05$. Считали, что вакцина обладает эффективностью, если процент или количество живорожденных поросят и процент или количество поросят-отъемышей ко дню DOF+20 в одной или обеих группах, обработанных вакциной, были статистически значимо больше чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению.

Подробное описание обработки и оценки данных

Клинические оценки подсвинок после вакцинации.

Создавали таблицы частот встречаемости животных, у которых был получен по меньшей мере один "позитивный" экспериментальный результат в период между днями исследования 1 и 21 и между днями исследования 1 и 113. Различия между контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению, и группами, обработанными вакциной, анализировали с использованием точного критерия Фишера.

Клинические обследования подсвинок после контрольного заражения.

Создавали таблицы частот встречаемости животных, для которых был получен по меньшей мере один "позитивный" экспериментальный результат в период между днями исследования 116 и DOF+20. Различия между контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению, и группами, обработанными вакциной, анализировали с использованием точного критерия Фишера.

Серологический анализ подсвинок.

Создавали таблицы частот встречаемости "позитивных" результатов, полученных методом ELISA в дни исследования 7, 14, 21, 56, 84, 118, 125, 132 (до опороса) и DOF+0, DOF+7, DOF+13 и DOF+20. Различия между контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению, и группами, обработанными вакциной, анализировали с использованием точного критерия Фишера.

Виремия у подсвинок.

Результаты измерений уровня виремии оценивали по отдельности в каждый день исследования (в дни исследования 7, 14, 21, 56, 84, 118, 125, 132, предшествующие опоросу, и в дни DOF+0, DOF+7, DOF+13 и DOF+20). Для качественной оценки данных, полученных с помощью qПЦР, результаты анализа, обозначенные как "не обнаружено" ("n.d.") и "негативные", классифицировали как "негативные", а результаты анализа, обозначенные как "позитивные", и измеренное значение классифицировали как "позитивные". Для количественной оценки результат "не обнаружено" ("n.d.") и "негативный" заменяли на величину $\log_{10}$ GE/мл, равную 0,0, а результат "позитивный" заменяли на величину 3,0. Данные, полученные с помощью количественной ПЦР (PRRS-вирусная нагрузка [$\log_{10}$ GE/мл]), использовали для сравнения контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению (группа 1), с группами обработки 2 и 3 с использованием критерия Уилкоксона-Манна-Уитни. Создавали таблицы частот "положительных" результатов qПЦР. Различия между контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению, и группами, обработанными вакциной, анализировали с использованием точного критерия Фишера.

Репродуктивная способность.

Определяли абсолютные частоты встречаемости общего количества, живых, здоровых, ослабленных, мертворожденных, умерших и живых поросят ко дню DOF+20 на одну подсвинку и использовали в качестве единичных величин при сравнениях групп. Относительные частоты встречаемости живых, здоровых, ослабленных, мертворожденных и умерших поросят на одну подсвинку рассчитывали относительно общего количества поросят при опоросе и использовали в качестве единичных величин при сравнении групп. Процент живых поросят на помет в день DOF+20 рассчитывали относительно количества живых поросят при опоросе за вычетом количества умерших и задавленных поросят. Различия между контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению, и группами, обработанными вакциной, анализировали с использованием критерия Уилкоксона-Манна-Уитни.

Виремия у поросят.

Результаты измерений уровня виремии оценивали по отдельности в каждый день исследования (DOF+0, DOF+7, DOF+13 и DOF+20). Для качественной оценки данных, полученных с помощью qПЦР, результаты анализа, обозначенные как "не обнаружено" ("n.d.") и "негативные", классифицировали как "негативные", а результаты анализа, обозначенные как "позитивные", и измеренное значение классифицировали как "позитивные". Рассчитывали процент "позитивных" поросят на помет и использовали в качестве единичных величин при сравнении групп, которое осуществляли на основе критерия Уилкоксона-Манна-Уитни. Для количественной оценки результат "не обнаружено" ("n.d.") и "негативный" заменяли на величину $\log_{10}$ GE/мл, равную 0,0, а результат "позитивный" заменяли на величину 3,0. Рассчи-

тывали медианные величины для результатов qFUJP и использовали их в качестве единичных величин при сравнении групп, которое осуществляли на основе критерия Уилкоксона-Манна-Уитни. Для суммарной статистики использовали индивидуальные результаты qПЦР. Вирусную нагрузку в образцах, взятых из легких, оценивали только в понятиях описательной статистики.

Вес тела и средний суточный прирост массы поросят.

Рассчитывали индивидуальные величины среднего суточного прироста массы (ADWG) в периоды времени между днями DOF+0 и DOF+20. Различия между группами обработки анализировали с помощью дисперсионного анализа (ANOVA) и последующего использования t-критериев. С помощью ANOVA получали среднеквадратичные значения для групп и величины разницы между среднеквадратичными значениями с 95%-ными доверительными интервалами. Анализ ADWG для дня DOF+20 повторяли, используя вес, измеренный в день DOF+0, в качестве ковариаты. Данные о весе поросят от одной подсвинки суммировали с использованием понятий описательной статистики.

Клинические обследования поросят.

Рассчитывали процент поросят, для которых был получен по меньшей мере один "позитивный" экспериментальный результат в период между днями исследования DOF+1 и DOF+20, на один помет и использовали их в качестве единичных величин при сравнении групп, которое осуществляли на основе критерия Уилкоксона-Манна-Уитни. Данные анализировали в предположении полностью случайной структуры плана эксперимента.

Результаты

Репродуктивная способность подсвинок.

Средние величины процента живых поросят на помет при опоросе (здоровые + ослабленные + задавленные/погибшие) составляли 54,4, 75,1, 72,3 и 93,0% для контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, групп, обработанных вакциной с низким титром, с высоким титром, и группы отрицательного контроля соответственно. В группах, обработанных вакциной с низким титром и с высоким титром, процент живых поросят на помет при опоросе был статистически значимо выше, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению ($P \leq 0,0455$). Средние количества живых поросят на помет при опоросе составляли 6,5, 8,3, 8,6 и 10,8 в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, группах, обработанных вакциной с низким титром и высоким титром, и группе отрицательного контроля соответственно. Между группами не было выявлено статистически значимых различий в количестве живых поросят на помет при опоросе ($P \geq 0,1039$).

Средние величины процента здоровых живых поросят на помет составляли 41,4, 65,8, 67,9 и 93,0% в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, группах, обработанных вакциной с низким титром, с высоким титром, и группе отрицательного контроля соответственно. В группах, обработанных вакциной с низким титром и высоким титром, процент здоровых живых поросят на помет при опоросе был статистически значимо выше, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению ($P \leq 0,0138$). Средние количества здоровых живых поросят на помет при опоросе составляли 4,9, 7,2, 8,1 и 10,8 в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, группах, обработанных вакциной с низким титром, с высоким титром, и группе отрицательного контроля соответственно. Количество здоровых живых поросят на помет при опоросе в группе, обработанной вакциной с высоким титром, было статистически значимо ($P=0,0211$) более высоким, в то время как между группой, обработанной вакциной с низким титром, и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению, различий не было выявлено ($P=0,0640$).

Средние величины процента ослабленных живых поросят на помет составляли 7,4, 7,1, 0,4 и 0,0% в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, группах, обработанных вакциной с низким титром, с высоким титром, и группе отрицательного контроля соответственно. Средние количества ослабленных живых поросят на помет при опоросе составляли 0,9, 0,8, 0,1 и 0,0 в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, группах, обработанных вакциной с низким титром, с высоким титром, и группе отрицательного контроля соответственно. В группе, обработанной вакциной с высоким титром, процент и количество ослабленных живых поросят на помет при опоросе были статистически значимо ниже, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению ($P \leq 0,0090$). В отличие от этого, не было выявлено различий в проценте и количестве ослабленных живых поросят на помет при опоросе между группой, обработанной вакциной с низким титром, и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению ($P \geq 0,8569$).

Средние величины процента мумифицированных поросят на помет при опоросе в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, группах, обработанных вакциной с низким титром, с высоким титром, и группе отрицательного контроля составляли 28,1, 14,1, 8,7 и 0,0% соответственно. Средние количества мумифицированных поросят на помет при опоросе составляли 3,1, 1,6, 0,9 и 0,0 в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, группах, обработанных вакциной с низким титром, с высоким титром, и группе отрицательного контроля соответственно. В обеих группах, обработанных вакциной, как с низким титром, так и с высоким титром, проценты и количества мумифицированных поросят на помет при опоросе были статистически значимо ниже, чем в контрольной группе,

подвергнутой контрольному заражению (P≤0,0190).

Не было выявлено статистически значимых различий в проценте или количестве мертворожденных или погибших/задавленных поросят на помет между обеими группами, обработанными вакцинами, и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению (P≥0,1681).

Обобщение результатов оценки репродуктивной способности в группах (% поросят на помет и количество поросят на помет) в день DOF представлено ниже в табл. 6.12 и 6.13.

Таблица 6.12. Обобщение результатов оценки репродуктивной способности в группах (% поросят на помет) на день DOF

Поросята	Группа*	N	Мин.	Макс.	Медианная величина	Среднее	95% CI		SD	P
живые	1	16	0	92	57,3	54,4	41,1	67,7	24,91	
	2	16	33	100	81,9	75,1	64,5	85,7	19,88	0,0184
	3	16	17	100	75,6	72,3	59,5	85,1	24,01	0,0455
	4	5	83	100	91,7	93,0	84,2	101,8	7,11	
здоровые	1	16	0	92	48,1	41,4	27,5	55,3	26,13	
	2	16	8	92	71,4	65,8	52,2	79,5	25,57	0,0138
	3	16	17	100	71,8	67,9	54,4	81,3	25,25	0,0082
	4	5	83	100	91,7	93,0	84,2	101,8	7,11	
ослабленные	1	16	0	25	3,6	7,4	2,6	12,2	9,04	
	2	16	0	25	0,0	7,1	2,1	12,2	9,43	0,9441
	3	16	0	7	0,0	0,4	-0,5	1,3	1,67	0,0024
	4	5	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
мертворож-денные	1	16	0	50	9,5	17,5	8,5	26,4	16,83	
	2	16	0	42	3.8	10,7	3,3	18,2	13,94	0,1965
	3	16	0	83	10,6	19,0	7,0	31.0	22,54	0,9033
	4	5	0	17	8,3	7,0	-1,8	15,8	7,11	
мумифициро ванные	1	16	0	63	25,8	28,1	18,8	37,4	17,50	
	2	16	0	55	9,1	14.1	6,0	22,3	15,25	0,0190
	3	16	0	50	3,3	8,7	1,2	16,3	14,14	0,0006
	4	5	0	0	0.0	0,0	0,0	0,0	0,00	
погибшие/ задавленные	1	16	0	27	0,0	5,6	1,1	10,2	8,55	
	2	16	0	18	0.0	2,1	-0,6	4,8	5,07	0,2276
	3	16	0	25	0,0	4,0	0,1	7,8	7,25	0,6108
	4	5	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
живые в день	1	15	0	100	33,3	43,6	23,0	64,3	37,28	
DOF+20	2	16	13	100	84,5	73,8	58,5	89,2	28,80	0,0203
	3	16	44	100	86,6	83,8	75,1	92,5	16,37	0,0022
	4	5	100	100	100,0	100,0	100,0	100,0	0,00	

*группа 1 - контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 2 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 с низким титром; группа 3 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 с высоким титром; группа 4 - группа отрицательного контроля.

Таблица 6.13. Обобщение результатов оценки репродуктивной способности в группах (количество поросят на помет) на день DOF

Поросята	Группа*	N	Мин	Макс.	Медианная величина	Среднее	95% CI		SD	P
Всего	1	16	6	15	12,0	11,6	10,4	12,9	2,31	
	2	16	9	13	11,0	11,1	10,4	11,7	1,24	0,1857
	3	16	7	15	12,0	11,6	10,3	12,9	2,42	0,9623
	4	5	10	14	12,0	11,6	9,5	13,7	1,67	
живые	1	16	0	11	6,0	6,5	4.7	8,3	3,35	
	2	16	4	12	8,0	8,3	7,0	9,5	2,27	0,1543
	3	16	2	13	9,0	8,6	6,6	10,6	3,77	0,1039
	4	5	9	14	10,0	10,8	8,4	13,2	1,92	
здоровые	1	16	0	11	5,5	4,9	3,1	6,7	3,36	
	2	16	1	12	7,0	7,2	5,7	8,7	2,83	0,0640
	3	16	2	13	8,5	8,1	6,1	10,1	3,76	0,0211
	4	5	9	14	10,0	10,8	8,4	13,2	1,92	
ослабленные	1	16	0	3	0,5	0,9	0,3	1,5	1,09	
	2	16	0	3	0,0	0,8	0,2	1,4	1,11	0,8569
	3	16	0	1	0,0	0,1	-0,1	0,2	0,25	0,0090

	4	5	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
мертворожденные	1	16	0	6	1,0	2,0	0,9	3,1	2,03	
	2	16	0	5	0,5	1,3	0,4	2,1	1,65	0,1681
	3	16	0	10	1,0	2,1	0.8	3,5	2,58	0,9478
	4	5	0	2	1,0	0,8	-0,2	1,8	0,84	
мумифицированные	1	16	0	7	3,0	3,1	2,1	4,1	1,89	
	2	16	0	6	1,0	1,6	0,7	2,5	1,67	0,0125
	3	16	0	4	0,5	0,9	0,2	1,5	1,20	0,0003
	4	5	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
погибшие/ задавленные	1	16	0	3	0,0	0,7	0,1	1,2	1,01	
	2	16	0	2	0,0	0,3	-0,1	0,6	0,58	0,2200
	3	16	0	2	0,0	0,4	0,0	0,8	0,73	0,6115
	4	5	0	0	0,0	0,0	0.0	0,0	0,00	
живые на день	1	16	0	10	2,0	2,9	1,2	4,7	3,21	
DOF+20	2	16	1	10	6,5	6,2	4,5	7,9	3,19	0,0063
	3	16	2	12	7,5	6.9	5,0	8,9	3,71	0,0026
	4	5	9	14	10,0	10,8	8,4	13,2	1,92	

*группа 1 - контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 2 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 с низким титром; группа 3 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 с высоким титром; группа 4 - группа отрицательного контроля.

Живые поросята в день DOF+20.

Представленные в данном разделе данные иллюстрируют количество живых поросят на момент отъема (в возрасте 20 дней). Обобщение процентов и количества живых поросят на помет в группах в день DOF+20 представлено выше в табл. 6.12 и 6.13.

Средние величины процента живых поросят на помет в момент отъема (DOF+20) составляли 43,6, 73,8, 83,8 и 100,0% в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, группах, обработанных вакциной с низким титром, с высоким титром, и группе отрицательного контроля соответственно. Средние количества живых поросят на помет на момент отъема составляли 2,9, 6,2, 6,9 и 10,8 в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, группах, обработанных вакциной с низким титром, с высоким титром, и группе отрицательного контроля соответственно. В обеих группах, обработанных вакциной, как с низким титром, так и с высоким титром, проценты и количества живых поросят на помет на момент отъема (DOF+20) были статистически значимо выше, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению ($P \leq 0,0203$).

Результаты анализа методом qПЦР виремии у подсвинок.

Все подсвинки по данным qПЦР имели РНК PRRSV-негативный статус в день D0. Все подсвинки в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, и группе отрицательного контроля сохраняли по данным qПЦР РНК PRRSV-негативный статус вплоть до дня контрольного заражения (D118) включительно. Группа отрицательного контроля сохраняла негативный статус по данным qПЦР на протяжении всего оставшегося периода исследования за исключением подсвинки № 108, для которой были получены "позитивные" результаты в день DOF+7. Во все другие моменты времени для подсвинки № 108 были получены "негативные" в отношении присутствия РНК PRRSV результаты qПЦР.

После вакцинации у 50 и 36% подсвинок в группах, обработанных вакциной с низким титром и с высоким титром соответственно, в день D7 были получены "позитивные" в отношении присутствия РНК PRRSV результаты qПЦР ($P \leq 0,0007$). В период со дня D14 по день D56 только для 4% подсвинок из группы, обработанной вакциной с низким титром, результаты qПЦР оставались позитивными, в то время как в группе, обработанной вакциной с высоким титром, в течение указанного периода обследования у вплоть до 4% подсвинок периодически получали "позитивные" результаты qПЦР. В период со дня D14 по день D56 не было выявлено различий в проценте подсвинок с "позитивными" в отношении присутствия РНК PRRSV результатами qПЦР между группами, обработанными вакциной и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению ($P=1,0000$ или тестирование не осуществляли). У всех вакцинированных подсвинок результаты qПЦР в день D84 и день D118 (день контрольного заражения) были "негативными" в отношении присутствия РНК PRRSV.

После контрольного заражения в дни 125, DOF 0 и DOF+13 процент подсвинок с "позитивными" в отношении присутствия РНК PRRSV результатами qПЦР в группах, обработанных вакциной с низким титром и с высоким титром, был статистически значимо ниже, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению ($P \leq 0,0155$). В день D132 процент подсвинок с "позитивными" в отношении присутствия РНК PRRSV результатами qПЦР в группе, обработанной вакциной с низким титром, был статистически значимо ниже ($P=0,0290$); в то время как между группой, обработанной вакциной с высоким титром, и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению, не было выявлено статистически значимого различия ($P=0,1556$). В день DOF+7 и день DOF+20 не было обнаружено статистически значимых различий в проценте подсвинок с "позитивными" в отношении присутствия РНК PRRSV

результатами qПЦР между группами, обработанными вакциной, и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению (P≥0,1719).

Обобщение результатов определения процента подсвинок с "позитивными" в отношении присутствия РНК PRRSV результатами qПЦР в группах в период со дня D7 по день DOF +20 представлено ниже в табл. 6.14 и 6.15.

Таблица 6.14 Обобщение результатов определения процента подсвинок с "позитивными" в отношении присутствия РНК PRRSV результатами qПЦР в группах в период со дня D7 по день D132

День исследования	Группа*	N	%	95% CI		Всего	P
7	1	0	0	0,0	12,3	28	
	2	14	50	30,6	69,4	28	<0,0001
	3	10	36	18,6	55,9	28	0,0007
	4	0	0	0,0	30,8	10	
14	1	0	0	0,0	12,3	28	
	2	1	4	0,1	18,3	28	1,0000
	3	0	0	0,0	12,3	28	n.a.
	4	0	0	0,0	30,8	10	
21	1	0	0	0,0	12,3	28	
	2	1	4	0,1	18,3	28	1,0000
	3	1	4	0,1	18,3	28	1,0000
	4	0	0	0,0	30,8	10	
56	1	0	0	0,0	14,8	23	
	2	1	4	0,1	19,6	26	1,0000
	3	1	4	0,1	20,4	25	1,0000
	4	0	0	0,0	33,6	9	
84	1	0	0	0,0	14,8	23	
	2	0	0	0,0	13,2	26	n.a.
	3	0	0	0,0	13,7	25	n.a.
	4	0	0	0,0	33,6	9	
118 (день	1	0	0	0,0	20,6	16	
контрольного	2	0	0	0,0	20,6	16	n.a.
заражения)	3	0	0	0,0	20,6	16	n.a.
	4	0	0	0,0	52,2	5	
125	1	16	100	79,4	100,0	16	
	2	5	31	11,0	58,7	16	0,0001
	3	4	25	7,3	52,4	16	<0,0001
	4	0	0	0,0	52,2	5	
132	1	10	63	35,4	84,8	16	
	2	3	19	4,0	45,6	16	0,0290
	3	5	31	11,0	58,7	16	0,1556
	4	0	0	0,0	52,2	5	

*группа 1 - контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 2 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 с низким титром; группа 3 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 с высоким титром; группа 4 - группа отрицательного контроля; n.a. - не применимо, анализ не проводили.

Таблица 6.15. Обобщение результатов определения процента подсвинок с "позитивными" в отношении присутствия РНК PRRSV результатами qПЦР в группах в период со дня DOF 0 по день DOF+20

День исследования	Группа*	N	%	95% CI		Всего	P
DOF+0	1	15	94	69,8	99,8	16	
	2	4	25	7,3	52,4	16	0,0002
	3	1	6	0,2	30,2	16	<0,0001
	4	0	0	0,0	52,2	5	
DOF+7	1	5	31	11,0	58,7	16	
	2	2	13	1,6	38,3	16	0,3944
	3	1	6	0,2	30,2	16	0,1719
	4	1	20	0,5	71,6	5	
DOF+13	1	7	47	21,3	73,4	15	
	2	0	0	0,0	20,6	16	0,0024
	3	1	6	0,2	30,2	16	0,0155
	4	0	0	0,0	52,2	5	
DOF+20	1	3	19	4,0	45,6	16	
	2	3	19	4,0	45,6	16	1,0000
	3	0	0	0,0	20,6	16	0,2258
	4	0	0	0,0	52,2	5	

*группа 1 - контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 2 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 с низким титром; группа 3 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 с высоким титром; группа 4 - группа отрицательного контроля.

В обеих вакцинированных группах в день D7 медианная величина вирусной нагрузки была статистически значимо выше, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению (P≤0,0007). В период со дня D14 по день D56 не было обнаружено различий в вирусной нагрузке в вакцинированных группах и контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению (P=1,0000). В день D84 и день D118 (день контрольного заражения) вирусная нагрузка у всех вакцинированных подсвинок была равна нулю.

После контрольного заражения в дни D125, DOF 0 и DOF+13 медианные величины вирусной нагрузки в группах, обработанных вакциной с низким титром и с высоким титром, была статистически значимо меньше, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению (P≤0,0155). В день D132 медианная величина вирусной нагрузки в группе, обработанной вакциной с низким титром, была статистически значимо более низкой (P=0,0230); в то время как между группой, обработанной вакциной с высоким титром, и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению, не было выявлено статистически значимого различия (0,94 и 1,97 $\log_{10}$ GE/мл соответственно; P=0,1144). В день DOF+7 и DOF+20 не было обнаружено статистически значимых различий между обработанными вакциной группами и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению (P≥0,1719).

Обобщение средних величин вирусной нагрузки в группах подсвинок (в GE/мл), полученных с помощью qПЦР, в период со дня D7 по день DOF +20 представлено ниже в табл. 6.16 и 6.17.

Таблица 6.16. Обобщение полученных с помощью qПЦР результатов ($\log_{10}$ GE/мл) для групп подсвинок в период со дня D7 по день D132

День исследования	Группа*	N	Мин.	Макс.	Медианная величина	95% CI		Q-диапазон	Среднее значение	P
7	1	28	0,00	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
	2	28	0,00	3,00	1,500	0,000	3,000	3,000	1,500	<0,0001
	3	28	0,00	3,00	0,000	0,000	3,000	3,000	1,071	0,0007
	4	10	0,00	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
14	1	28	0,00	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
	2	28	0,00	3,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,107	1,0000
	3	28	0,00	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,0000
	4	10	0,00	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
21	1	28	0,00	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
	2	28	0,00	3,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,107	1,0000
	3	28	0,00	3,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,107	1,0000
	4	10	0,00	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
56	1	23	0,00	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
	2	26	0,00	3,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,115	1,0000
	3	25	0,00	3,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,120	1,0000
	4	9	0,00	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
84	1	23	0,00	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
	2	26	0,00	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,0000
	3	25	0,00	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,0000
	4	9	0,00	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
118 (день контрольного заражения)	1	16	0,00	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
	2	16	0,00	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,0000
	3	16	0,00	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,0000
	4	5	0,00	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
125	1	16	3,00	5,38	4,495	4,130	4,880	0,765	4,419	
	2	16	0,00	6,46	0,000	0,000	3,000	3,000	1,293	0,0001
	3	16	0,00	3,00	0,000	0,000	3,000	1,500	0,750	0,0001
	4	5	0,00	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
132	1	16	0,00	4,47	3,000	0,000	3,000	3,000	1,967	
	2	16	0,00	3,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,563	0,0230
	3	16	0,00	3,00	0,000	0,000	3,000	3,000	0,938	0,1144
	4	5	0,00	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	

*группа 1 - контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 2 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 с низким титром; группа 3 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 с высоким титром; группа 4 - группа отрицательного контроля.

Таблица 6.17. Обобщение полученных с помощью qПЦР результатов (log_{10} GE/мл) для групп подсвинок в период со дня DOF 0 по день DOF+20

День исследования	Группа*	N	Мин	Макс.	Медианная величина	95% CI		Q-диапазон	Среднее значение	P
DOF+0	1	16	0,00	3,00	3,000	3,000	3,000	0,000	2,813	
	2	16	0,00	3,00	0,000	0,000	3,000	1,500	0,750	0,0002
	3	16	0,00	3,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,188	<0,0001
	4	5	0,00	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
DOF+7	1	16	0,00	3,00	0,000	0,000	3,000	3,000	0,938	
	2	16	0,00	5,55	0,000	0,000	0,000	0,000	0,534	0,3944
	3	16	0,00	3,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,188	0,1719
	4	5	0,00	3,00	0,000	0,000	3,000	0,000	0,600	
DOF+13	1	15	0,00	3,00	0,000	0,000	3,000	3,000	1,400	
	2	16	0,00	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,0024
	3	16	0,00	3,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,188	0,0155
	4	5	0,00	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
DOF+20	1	16	0,00	3,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0.563	
	2	16	0,00	6,45	0,000	0,000	0,000	0,000	0,903	0,7924
	3	16	0,00	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,2258
	4	5	0,00	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	

*группа 1 - контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 2 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 с низким титром; группа 3 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 с высоким титром; группа 4 - группа отрицательного контроля.

Балльная оценка результатов клинических обследований подсвинок после контрольного заражения.

В период со дня D116 по день DOF+20 в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, группах, обработанных вакциной с низким титром, с высоким титром, и в группе отрицательного контроля у 25%, 25%, 38% и 60% подсвинок соответственно были выявлены клинические признаки заболевания по меньшей мере в один из дней с D116 по DOF+20. Не было выявлено статистически значимых различий в частоте встречаемости подсвинок с позитивным статусом клинического заболевания между группами, обработанными вакциной, и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению, в период со дня D116 по день DOF+20 (P≥0,7043).

Обобщение данных о проценте подсвинок в группах, для которых был получен "позитивный" признак заболевания при клиническом обследовании (балл клинического обследования > 0), по меньшей мере в один из дней с D116 по DOF +20, представлено ниже в табл. 6.18.

Таблица 6.18. Обобщение данных о проценте подсвинок в группах, для которых был получен "позитивный" признак заболевания при клиническом обследовании (балл клинического обследования > 0) по меньшей мере в один из дней с D116 по DOF +20, представлено ниже в табл. 6.18

Дни исследования	Группа*	N	%	95% CI		Всего	P
116 – DOF+20	1	4	25	7,3	52,4	16	
	2	4	25	7,3	52,4	16	1,0000
	3	6	38	15,2	64,6	16	0,7043
	4	3	60	14,7	94,7	5	

*группа 1 - контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 2 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 с низким титром; группа 3 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 с высоким титром; группа 4 - группа отрицательного контроля

Серологический анализ подсвинок на PRRS методом ELISA.

Все подсвинки имели PRRS-серонегативный статус в дни D0 и D7. В контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, и в группе отрицательного контроля все подсвинки сохраняли PRRS-серонегативный статус вплоть до и, включая день контрольного заражения (D118); при этом животные в группе отрицательного контроля сохраняли PRRS-серонегативный статус в течение всего оставшегося периода исследования (DOF+20).

В день D14, 18 и 21% подсвинок в группах, обработанных вакциной с низким и высоким титром соответственно, имели PRRS-серопозитивный статус. В группе, обработанной вакциной с высоким титром, в день D14 процент подсвинок с PRRS-серопозитивным статусом был статистически значимо более высоким (P=0,0232), в то время как между группой, обработанной вакциной с низким титром, и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению, не было выявлено статистически значимого различия (p=0,0515). Указанные проценты достигали для каждой группы пиковых значений, которые составляли в день D56 65 и 60% для групп, обработанных вакциной с низким и высоким титром соответственно (P<0,0001). В день контрольного заражения (D118), 56 и 50% подсвинок в группах, обработанных вакциной с низким и высоким титром, имели PRRS-серопозитивный статус (P≤0,0024). В день D125, 6, 88 и 100% подсвинок в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, и в группах, обработанных вакциной с низким и с высоким титром, имели PRRS-серопозитивный статус; и при этом раз-

личие между вакцинированными группами и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению, было статистически значимым (P<0,0001).

После дня D125 все оставшиеся подсвинки в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, и в группах, обработанных вакциной с низким и с высоким титром, сохраняли PRRS-серопозитивный статус на протяжении всего оставшегося периода исследования (тестирование не проводили).

Обобщение результатов серологического анализа на PRRS в группах, проведенного методом ELISA в период со дня D14 по день DOF+20, представлено ниже в табл. 6.19 и 6.20.

Таблица 6.19. Обобщение результатов серологического анализа на PRRS в группах подсвинок, проведенного методом ELISA в период со дня D14 по день DOF+20

День исследования	Группа*	N	%	95% CI		Всего	P
7	1	0	0	0,0	12,3	28	
	2	0	0	0,0	12,3	28	n.a.
	3	0	0	0,0	12,3	28	n.a.
	4	0	0	0,0	30,8	10	
14	1	0	0	0,0	12,3	28	
	2	5	18	6,1	36,9	28	0,0515
	3	6	21	8,3	41,0	28	0,0232
	4	0	0	0,0	30,8	10	
21	1	0	0	0,0	12,3	28	
	2	13	46	27,5	66,1	28	<0,0001
	3	11	39	21,5	59,4	28	0,0003
	4	0	0	0,0	30,8	10	
56	1	0	0	0,0	14,8	23	
	2	17	65	44,3	82,8	26	<0,0001
	3	15	60	38,7	78,9	25	<0,0001
	4	0	0	0,0	33,6	9	
84	1	0	0	0,0	14,8	23	
	2	15	58	36,9	76,6	26	<0,0001
	3	14	56	34,9	75,6	25	<0,0001
	4	0	0	0,0	33,6	9	
118	1	0	0	0,0	20,6	16	
	2	9	56	29,9	80,2	16	0,0008
	3	8	50	24,7	75,3	16	0,0024
	4	0	0	0,0	52,2	5	
125	1	1	6	0,2	30,2	16	
	2	14	88	61,7	98,4	16	<0,0001
	3	16	100	79,4	10,.0	16	<0,0001
	4	0	0	0,0	52,2	5	
132	1	16	100	79,4	100,0	16	
	2	16	100	79,4	100,0	16	n.a.
	3	16	100	79,4	100,0	16	n.a.
	4	0	0	0,0	52,2	5	

*группа 1 - контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 2 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 с низким титром; группа 3 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 с высоким титром; группа 4 - группа отрицательного контроля; n.a. - не применимо, тест не проводили.

Таблица 6.20. Обобщение результатов серологического анализа на PRRS в группах подсвинок, проведенного методом ELISA в период со дня DOF 0 по день DOF+20

День исследования	Группа*	N	%	95% CI		Всего	P
DOF+0	1	16	100	79,4	100,0	16	
	2	16	100	79,4	100,0	16	n.a.
	3	16	100	79,4	100,0	16	n.a.
	4	0	0	0,0	52,2	5	
DOF+7	1	15	100	78,2	100,0	15	
	2	16	100	79,4	100,0	16	n.a.
	3	16	100	79,4	100,0	16	n.a.
	4	0	0	0,0	52,2	5	
DOF+13	1	16	100	79,4	100,0	16	
	2	16	100	79,4	100,0	16	n.a.
	3	16	100	79,4	100,0	16	n.a.
	4	0	0	0,0	52,2	5	
DOF+20	1	16	100	79,4	100,0	16	
	2	16	100	79,4	100,0	16	n.a.
	3	15	100	78,2	100,0	15	n.a.
	4	0	0	0,0	52,2	5	

*группа 1 - контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 2 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 с низким титром; группа 3 - группа, обработанная вакциной MLV

PRRS 94881 с высоким титром; группа 4 - группа отрицательного контроля; **для образца, полученного от подсвинки № 106, тест не проводили; n.a. - не применимо, тест не проводили.

Оценки подсвинок после вакцинации.

В период со дня D1 по день 21 ни в одной из групп не было обнаружено никаких аномальных проявлений и тест не проводили. В период со дня D1 по день D113 у 4, 4, 0 и 10% подсвинок в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, группах, обработанных вакциной с низким титром, с высоким титром и в группе отрицательного контроля были выявлены аномальные проявления по меньшей мере в один из дней с D1 по D113. В период со дня D1 по день D113 не было выявлено статистически значимых различий касательно аномальных проявлений между вакцинированными группами и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению (P=1,0000).

Конкретно, у животного № 109 (контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению) была выявлена в день D85 хромота на правую заднюю ногу, у животного № 12 (группа, обработанная вакциной с низким титром) было выявлено опухание левой области шеи в период со дня D78 по день D89, и у животного № 21 (группа отрицательного контроля) была выявлена хромота в период со дня D81 по день D83.

Обобщение данных о проценте подсвинок, у которых были выявлены аномальные проявления по меньшей мере в один день в период со дня D1 по день D21 и со дня D1 по день D113, представлены ниже в табл. 6.21.

Таблица 6.21. Обобщение данных об аномальных проявлениях в группах, выявленных по меньшей мере в один день в период со дня D1 по день D21 и со дня D1 по день D113

Дни исследования	Группа*	Количество %		95% CI		Всего	P
1 – 21	1 – 4	не получено «позитивных» результатов					
1 – 113	1	1	4	0,1	18,3	28	
	2	1	4	0,1	18,3	28	1,0000
	3	0	0	0,0	12,3	28	1,0000
	4	1	10	0,3	44,5	10	

*группа 1 - контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 2 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 с низким титром; группа 3 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 с высоким титром; группа 4 - группа отрицательного контроля.

Балльная оценка результатов клинического обследования поросят.

Средние величины процента поросят на помет, "позитивных" в отношении клинических признаков заболевания (балл клинического обследования > 0), выявленных по меньшей мере в один день в период со дня DOF+1 по день DOF+20, составляли 91,6, 32,5, 33,4 и 3,2% в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, группах, обработанных вакциной с низким титром, с высоким титром, и в группе отрицательного контроля соответственно. В группах, обработанных вакциной с низким титром и с высоким титром, процент поросят на помет, "позитивных" в отношении клинических признаков заболевания, выявленных по меньшей мере в один день в период со дня DOF+1 по день DOF+20, был статистически значимо ниже, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению ($p \leq 0,0001$).

Обобщение данных о проценте поросят на помет, "позитивных" в отношении клинических признаков заболевания (балл клинического обследования > 0), выявленных в группах по меньшей мере в один день в период со дня DOF+1 по день DOF+20, представлены ниже в табл. 6.22.

Таблица 6.22. Обобщение данных о проценте поросят на помет, "позитивных" в отношении клинических признаков заболевания (балл клинического обследования > 0), выявленных в группах по меньшей мере в один день в период со дня DOF+1 по день DOF+20

Дни исследования	Группа*	N	Мин.	Макс.	Медианная величина	Среднее значение	95% CI		SD	P
с DOF+1	1	15	56	100	100,0	91,6	82,9	100,4	15,78	
по	2	16	0	100	25,0	32,5	15,6	49,4	31,64	<0,0001
DOF+20	3	16	0	100	25,0	33,4	19,0	47,9	27,16	<0,0001
	4	5	0	9	0,0	3,2	-2,3	8,8	4,50	

*группа 1 - контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 2 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 с низким титром; группа 3 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 с высоким титром; группа 4 - группа отрицательного контроля.

Результаты анализа с помощью qПЦР сыворотки/общей воды организма поросят.

В день DOF 0 средние величины процента поросят на помет, позитивных по данным qПЦР в отношении присутствия РНК PRRSV, составляли 86,3, 58,1, 55,0 и 0% в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, группах обработанных вакциной с низким титром, с высоким титром, и группе отрицательного контроля соответственно. В день DOF 0 в группах, обработанных вакциной с высоким титром и с низким титром, величины процента поросят на помет, позитивных по данным qПЦР в отно-

шении присутствия РНК PRRSV, были статистически значимо ниже, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению (P≤0,0381). В день DOF+7 в группах, обработанных вакциной с низким титром и с высоким титром, величины процента поросят на помет, позитивных по данным qПЦР в отношении присутствия РНК PRRSV, также были статистически значимо ниже, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению (P≤0,0293). В день DOF+13 процент позитивных по данным qПЦР поросят на помет был статистически значимо ниже только в группе, обработанной вакциной с низким титром (P=0,0216); в то время как между группой, обработанной вакциной с высоким титром, и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению, не было выявлено статистически значимого различия в проценте позитивных по данным qПЦР поросят на помет (P=0,0860). В день DOF+20 не было выявлено статистически значимых различий между группами (P≥0,0614).

Обобщение данных о проценте поросят на подсвинку в группах, для которых получены "позитивные" результаты анализа на PRRSV методом qПЦР сыворотки/общей воды организма, представлены ниже в табл. 6.23.

Таблица 6.23. Обобщение данных о проценте поросят на подсвинку в группах, для которых получены "позитивные" результаты анализа на PRRSV методом qПЦР сыворотки/общей воды организма

День исследования	Группа*	N	Мин	Макс.	Медианная величина	Среднее значение	95% CI		SD	P
DOF+0	1	16	50	100	96,4	86,3	76,8	95,8	17,87	
	2	16	0	100	68,3	58,1	37,3	78,9	39,07	0,0381
	3	16	0	100	60,0	55,0	37,0	73,0	33,77	0,0018
	4	5	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
DOF+7	1	12	100	100	100,0	100,0	100,0	100,0	0,00	
	2	16	10	100	100,0	76,6	57,1	96,0	36,51	0,0293
	3	16	0	100	100,0	78,6	60,6	96,6	33,83	0,0175
	4	5	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
DOF+13	1	11	100	100	100,0	100,0	100,0	100,0	0,00	
	2	16	0	100	100,0	75,4	55,0	95,8	38,31	0,0216
	3	16	0	100	100,0	84,0	68,2	99,9	29,75	0,0860
	4	5	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	
DOF+20	1	11	0	100	100,0	90,9	70,7	111,2	30,15	
	2	16	0	100	93,8	75,3	55,6	95,0	36,97	0,0614
	3	16	0	100	100,0	81,6	65,0	98,1	31,06	0,1832
	4	5	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	

*группа 1 - контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 2 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 с низким титром; группа 3 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 с высоким титром; группа 4 - группа отрицательного контроля.

В день DOF 0 в группе, обработанной вакциной с высоким титром, медианные величины результатов, полученных с помощью qПЦР, были статистически значимо ниже, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению (P=0,0030); в то время как между группой, обработанной вакциной с низким титром, и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению, не было выявлено статистически значимого различия (P=0,0620). В дни DOF+7, DOF+13 и DOF+20 в обеих группах, обработанных вакциной, медианные величины результатов, полученных с помощью qПЦР, были статистически значимо ниже, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению (p≤0,0122).

Обобщение результатов измерений методом qПЦР величин GE/мл в сыворотке/общей воде организма поросят в пересчете на подсвинку для различных групп представлено ниже в табл. 6.24.

Таблица 6.24. Обобщение результатов анализа методом qПЦР (log_{10} GE/мл) сыворотки/общей воды организма поросят в пересчете на подсвинку (P-значения для различий между группами получены на основе медианных значений результатов qПЦР)

День исследования	Группа*	N	Мин.	Макс.	Медианная величина	95% CI		Q-диапазон	Среднее значение	P
DOF+0	**1**	180	0,00	8,69	6,400	6,080	6,790	3,195	5,556	
	2	176	0,00	8,47	3,000	3,000	4,420	6,945	3,560	0,0620
	3	183	0,00	8,76	3,000	0,000	3,000	6,580	3,049	0,0030
	4	58	0,00	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
DOF+7	**1**	58	4,47	8,76	6,950	6,610	7,370	1,300	6,914	
	2	103	0,00	8,12	3,000	3,000	4,930	5,640	3,337	<0,0001
	3	115	0,00	6,91	4,280	3,000	4,630	2,120	3,642	<0,0001
	4	54	0,00	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
DOF+13	**1**	52	4,19	8,62	6,835	6,430	6,970	0,995	6,549	
	2	100	0,00	8,22	3,000	3,000	3,000	4,530	2,678	<0,0001
	3	113	0,00	6,54	3,000	3,000	3,000	1,580	3,413	<0,0001
	4	54	0,00	0,00	0,000	0.000	0,000	0,000	0,000	
DOF+20	**1**	46	0,00	6,94	5,595	5,270	6,520	1,770	5,554	
	2	98	0,00	6,59	3,000	3,000	3,000	4,000	2,502	0,0122
	3	111	0,00	6,28	3,000	3,000	3,000	1,160	3,218	0,0005
	4	54	0,00	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	

*группа 1 - контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 2 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 с низким титром; группа 3 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 с высоким титром; группа 4 - группа отрицательного контроля.

Величины ADWG у поросят.

В день DOF 0 не было выявлено статистически значимых различий между группами в среднеквадратичных величинах веса тела (P≥0,2972). В день DOF+20 в обеих вакцинированных группах среднеквадратичные величины веса тела были статистически значимо выше, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению (P<0,0028), независимо от того, учитывали ли при анализе вес тела животных в день DOF 0, в качестве ковариаты, или нет.

Средние величины ADWG в период со дня DOF 0 по день DOF+20 составляли 0,1 кг/день, 0,2 кг/день, 0,2 кг/день и 0,2 кг/день для контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, групп, обработанных вакциной с низким титром, с высоким титром, и группы отрицательного контроля соответственно. В обеих вакцинированных группах величина ADWG была статистически значимо выше, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению (P<0,0028), независимо оттого, учитывали ли при анализе вес тела животных в день DOF 0, в качестве ковариаты, или нет.

Обобщение данных о весах тела поросят в группах в дни DOF 0 и DOF+20 и величинах ADWG (кг/день) в период со дня DOF 0 по день DOF+20 представлено ниже в табл. 6.25 и 6.26.

Таблица 6.25. Обобщение данных о весах тела поросят в группах в дни DOF 0 и DOF+20 и величинах ADWG (кг/день) в период со дня DOF 0 по день DOF+20

День(дни) исследования	Группа*	N	Мин.	Макс.	Медианная величина	Среднее значение	95% CI		SD
вес тела в день DOF+0	1	47	0,9	2,0	1,40	1,34	1,274	1,411	0,234
	2	99	0,9	2,1	1,40	1,43	1,388	1,479	0,227
	3	111	0,9	2,0	1,40	1,40	1,360	1,448	0,234
	4	54	0,9	1,9	1,40	1,39	1,335	1,454	0,218
вес тела в день DOF+20	1	47	1,5	6,1	3,70	3,80	3,462	4,146	1,164
	2	99	2,4	8,3	5,50	5,42	5,168	5,673	1,266
	3	111	2,1	8,2	5,30	5,19	5,000	5,388	1,032
	4	54	2,4	6,9	5,20	5,26	5,008	5,511	0,922
ADWG (в период со дня DOF+0 по день DOF+20)	1	47	0,015	0,235	0,1150	0,1231	0,10649	0,13968	0,05653
	2	99	0,065	0,340	0,2000	0,1993	0,18770	0,21099	0,05837
	3	111	0,055	0,330	0,1950	0,1895	0,18078	0.19823	0,04638
	4	54	0,060	0,260	0,1925	0,1932	0,18305	0,20343	0,03733

*группа 1 - контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 2 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 с низким титром; группа 3 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 с высоким титром; группа 4 - группа отрицательного контроля.

Таблица 6.26. Обобщение данных о среднеквадратичных величинах веса тела и ADWG (кг/день) в группах - результаты анализа (P-значения) различий между группами

День(дни) исследования	Группа*	Среднеквадрат. величина	95%-ный доверительный интервал		P
вес тела в день DOF+0	1	1,32	1,169	1,477	
	2	1,42	1,318	1,522	
	3	1,41	1,317	1,497	
	различие 1-2	-0,10	-0,281	0,088	0,2972
	различие 1-3	-0,08	-0,262	0,094	0,3467
вес тела в день DOF+20	1	3,82	3,072	4,567	
	2	5,32	4,827	5,819	
	3	5,35	4,910	5,785	
	различие 1-2	-1,50	-2,401	-0,606	0,0016
	различие 1-3	-1,53	-2.394	-0,662	0,0010
вес тела в день DOF+20**	1	4,01	3,341	4,685	
	2	5,28	4,843	5,727	
	3	5,34	4.950	5,728	
	различие 1-2	-1,27	-2,078	-0,466	0,0028
	различие 1-3	-1,33	-2.103	-0,550	0,0013
ADWG (в период со дня DOF+0 по день DOF+20)	1	0,125	0,0903	0,1594	
	2	0,195	0,1722	0,2181	
	3	0,197	0,1768	0,2172	
	различие 1-2	-0,070	-0,1118	-0,0289	0,0014
	различие 1-3	-0,072	-0,1122	-0,0322	0,0008
ADWG (в период со дня DOF+0 по день DOF+20**)	1	0,130	0,0969	0,1640	
	2	0,194	0,1720	0,2161	
	3	0,197	0,1773	0,2162	
	различие 1-2	-0,064	-0,1039	-0,0233	0,0028
	различие 1-3	-0,066	-0,1052	-0,0275	0,0013

*группа 1 - контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 2 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 с низким титром; группа 3 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 с высоким титром; группа 4 - группа отрицательного контроля.

** вес в день DOF+0 использовали в качестве ковариаты.

Результаты аутопсии поросят и диагнозы.

Правильность классификации всех плодов как мертворожденных, мумифицированных или задавленных при опоросе, была подтверждена при осуществлении аутопсии за исключением 8 плодов. Два плода в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, были зарегистрированы как мертворожденные (40-S1, 66-S1), однако при проведении аутопсии были выявлены заполненные воздухом легкие, свидетельствующие о том, что животные были живыми в момент рождения. Два плода в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, были зарегистрированы как задавленные (1-C1, 79-C2), однако при проведении аутопсии у обоих плодов были обнаружены не заполненные воздухом легкие, свидетельствующие о том, что они не дышали. Один плод, родившийся в группе, обработанной вакциной с низким титром, был зарегистрирован как мертворожденный (85-S2), однако при проведении аутопсии были выявлены заполненные воздухом легкие, свидетельствующие о том, что поросенок был жив в момент рождения. Три поросенка, родившиеся в группе, обработанной вакциной с высоким титром, были зарегистрированы как задавленные (36-C1, 36-C2, 65-C1), однако при проведении аутопсии у них были обнаружены не заполненные воздухом легкие, свидетельствующие о том, что они не дышали. Вследствие небольшого количества плодов, неправильно зарегистрированных в момент опороса, в анализ продуктивности подсвинок изменения не вносили.

Один поросенок, родившийся в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, а именно 102-428, умер после взятия образца крови, что было подтверждено при проведении аутопсии.

Результаты анализа легких у поросят с помощью qПЦР.

У подвергнутых аутопсии плодов и мертвых поросят средние величины вирусной нагрузки в легких по данным qПЦР составляли 4,68, 4,09, 3,55 и 0,0 $\log_{10}$ GE/мл для контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, групп, обработанных вакциной с низким титром, с высоким титром и группы отрицательного контроля соответственно. Статистических анализов этих данных не проводили.

Обобщение результатов определения методом qПЦР PRRSV-вирусной нагрузки в легких ($\log_{10}$ GE/мл) в различных группах представлено ниже в табл. 6.27.

Таблица 6.27. Обобщение результатов определения методом qПЦР PRRSV-вирусной нагрузки в легких ($\log_{10}$ GE/мл) у поросят в различных группах

Группа	N	Мин.	Макс.	Медианная величина	95% CI		Q-диапазон	Среднее значение
1	141	0,00	7,95	5,140	4,810	5,390	2,990	4,676
2	79	0,00	7,45	4,780	3,000	5,260	2,620	4,092
3	75	0,00	6,84	4,220	3,000	5,100	5,620	3,547
4	4	0,00	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

*группа 1 - контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 2 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 с низким титром; группа 3 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 с высоким титром; группа 4 - группа отрицательного контроля.

Обсуждение/выводы

Для достижения цели исследования в план исследования были включены в день D0 четыре группы восприимчивых к PRRS подсвинок: контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению, которой вводили контрольный продукт (группа 1); группа, которую обрабатывали вакциной с низким титром, а именно $1 \times 10^{2,43}$ $TCID_{50}$ MLV PRRS 94881 (IVP № 1, группа 2); группа, которую обрабатывали вакциной с высоким титром, а именно $1 \times 10^{3,90}$ $TCID_{50}$ MLV PRRS 94881 (IVP № 2, группа 3); и группа отрицательного контроля (группа 4), которой также вводили контрольный продукт. Каждую обработку проводили с использованием дозы 2,0 мл, которую вводили IM примерно за 28 дней до осеменения (день D0).

Для определения минимальной иммунизирующей дозы MLV PRRS 94881 две группы, обработанные вакциной с различными титрами, и контрольную группу, предназначенную для контрольного заражения, подвергали контрольному заражению в день D118 (примерно на 90-й день периода беременности) гетерологичным европейским изолятом PRRSV (изолят 190136) и оценивали после осуществления контрольного заражения процент и количество живых поросят на помет в момент рождения (день опороса, DOF) и процент и количество живых поросят на помет, достигших возраста 21 дня (DOF +21). Валидация исследования (группа отрицательного контроля 4) Для того чтобы иметь возможность удостовериться в том, что исходные подсвинки не были заражены PRRSV и что в процессе исследования не имели место контакт с попавшим извне PRRSV или перекрестное заражение между группами обработки и контрольными группами, в план исследования была включена группа отрицательного контроля (группа 4). Подсвинки, входящие в группу отрицательного контроля, на протяжении всего исследования имели негативный статус в отношении антител к вирусу PRRS. Кроме того, подсвинки из этой группы и их потомство имели также негативный статус в отношении виремии PRRSV (по данным qПЦР) во все моменты времени, в которые проводили анализ, за исключением животного № 108 в день DOF+7. Для под-

свинки № 108 результат анализа оказался "позитивным" в день DOF+7, хотя во все другие моменты времени результаты qПЦР были "негативными" и результаты анализа рожденных ее поросят на присутствие РНК PRRSV также были "негативными". Было принято решение рассматривать этот результат как ошибку, обусловленную загрязнением образца, а не заражением PRRSV. Данные результаты свидетельствуют о том, что группа отрицательного контроля оставалась незараженной PRRS в течение периода исследовании, и тем самым валидируют результаты настоящего исследования.

Валидация воспроизводимой модели контрольного заражения PRRSV (контрольная группа 1, подвергнутая контрольному заражению).

Модель контрольного заражения, основанная на использовании вирулентного штамма, выведенного из европейского PRRSV, который позволяет индуцировать адекватное и воспроизводимое клиническое заболевание PRRS, необходима для адекватной оценки эффективности вакцины против PRRS в лабораторных условиях. После инокуляции изолята 190136 европейского вируса PRRS ($1\times10^{6,30}$ $TCID_{50}$/6 мл) в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, было только 54,4% живых поросят на помет при рождении (в группе отрицательного контроля их было 93,0%), 17,5% и 28,1% на помет мертворожденных и мумифицированных поросят соответственно (в группе отрицательного контроля их было 7,0% и 0,0% соответственно), у 91,6% поросят на помет были выявлены клинические признаки заболевания по меньшей мере в один из дней в период со дня DOF+1 по DOF+20 (в группе отрицательного контроля они были выявлены у 3,2% поросят на помет), в возрасте 20 дней среднее количество живых поросят на помет составляло 2,9 (в группе отрицательного контроля среднее количество составляло 10,8) и у 86,3% поросят на помет при рождении была выявлена виремия (0% в группе отрицательного контроля). Эти результаты свидетельствуют о том, что у подсвинок из невакцинированной контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, и у их потомства индуцировалось серьезное клиническое заболевание со специфическими для PRRS признаками, что валидирует указанную модель контрольного заражения в качестве адекватного инструмента для клинического лабораторного исследования эффективности вакцины против PRRS и, более конкретно, для определения MID MLV PRRS 94881 для подсвинок.

Определение минимальной иммунизирующей дозы MLV PRRS 94881 для подсвинок (обработка дозами вакцины с низким и с высоким титром; группы 2-3)

Определение MID MLV PRRS 94881 для подсвинок базировалось на том, что в вакцинированной группе, которую обрабатывали вакциной с наименьшим титром, был получен более высокий процент или количество живых поросят на помет при рождении и более высокий процент или количество живых поросят на помет, достигших возраста 20 дней после контрольного заражения, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению.

В качестве одного из двух основных критериев для определения MID MLV PRRS 94881 был выбран процент (или количество) живых поросят на помет при опоросе. Выбор указанного первого основного критерия был основан на том факте, что заражение PRRSV беременных подсвинок и свиноматок, как правило, приводит к появлению мертворожденных и мумифицированных поросят, что обусловливает низкое количество живых поросят при опоросе. Количество живых поросят на опорос при рождении определяли путем суммирования количества здоровых живых, ослабленных живых и задавленных/убитых поросят на момент опороса. Поросят, зарегистрированных как задавленные или убитые, включали в категорию "живые", поскольку результаты аутопсии подтверждали, что эти поросята были живыми в момент рождения и умерли вскоре после этого в результате травмы. Как в группе, обработанной вакциной с низким титром, так и в группе, обработанной вакциной с высоким титром, был выявлен статистически значимо более высокий процент живых поросят на помет при опоросе по сравнению с контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению ($P\leq0,0455$), следовательно, эффективность вакцины удовлетворяла этому критерию. Хотя не было выявлено статистически значимого различия в среднем количестве живых поросят на помет при опоросе между группами, обработанными вакциной с низким и с высоким титром ($P\geq0,1857$), как в группе, обработанной вакциной с низким титром, так и в группе, обработанной вакциной с высоким титром, было выявлено существенно большее среднее количество живых поросят на помет при опоросе (средние количества составляли 8,3 и 8,6 поросят на помет соответственно), чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, (среднее количество составляло 6,5 поросят на помет), это является дополнительным доказательством и подтверждением того, что у указанных животных после контрольного заражения было выявлено благоприятное лечебное действие вакцины.

В качестве второго критерия для определения MID MLV PRRS 94881 был выбран процент (или количество) живых поросят на помет, достигших возраста 20 дней, поскольку иммунитет к PRRS у подсвинок должен влиять на заражение поросят в утробе и передачу вируса от подсвинки к живым поросятам. Поросята, инфицированные вирусом PRRS в утробе, и родившиеся живыми, или инфицированные вирулентным вирусом PRRS после опороса в результате его переноса от подсвинки, как правило, умирают в доотъемный период в результате осложнения, связанного с PRRS. В настоящем исследовании было установлено, что в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, группах, обработанных вакциной с низким титром, с высоким титром, и в группе отрицательного контроля достигли 20-дневного

возраста 43,6, 73,8, 83,8 и 100% живых поросят на помет соответственно (P≤0,0203). Средние количества поросят на помет в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, группах, обработанных вакциной с низким титром, с высоким титром, и в группе отрицательного контроля, достигших 20-дневного возраста, составляли 2,9, 6,2, 6,9 и 10,8 соответственно (P≤0,0063). В обеих вакцинированных группах процент и количество живых поросят на момент отъема были статистически значимо (P≤0,0203) более высокими, таким образом, указанный критерий решения поставленной в исследовании задачи был выполнен.

Дальнейший анализ данных, полученных при опоросе, дал дополнительную информацию, подтверждающую эффективность вакцины после контрольного заражения PRRSV, прежде всего в группе, обработанной вакциной с высоким титром. В группе, обработанной вакциной с высоким титром, были выявлены статистически значимо более высокий процент и большее среднее количество здоровых поросят при рождении (P≤0,0211); и при этом были выявлены статистически значимо более низкий процент и среднее количество ослабленных поросят и мумифицированных плодов (P≤0,0090) по сравнению с контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению. Эти данные подтверждают то, что высокая доза вакцины индуцирует защитный иммунитет против вирулентного и гетерологичного штамма PRRSV, который использовали для контрольного заражения. В группе, обработанной вакциной с низким титром, также была выявлена эффективность вакцины при опоросе, о чем свидетельствовал более высокий процент здоровых живых поросят на помет (P=0,0138) и статистически значимо более низкий процент и среднее количество мумифицированных плодов (P≤0,0190). В отличие от этого, между группами не было выявлено различий в проценте или количестве мертворожденных плодов или задавленных/убитых поросят при опоросе (P≥0,1681).

Через семь дней после контрольного заражения (день D125) в группах, обработанных вакциной с низким титром и с высоким титром, были выявлены статистически значимо более низкие проценты подсвинок с позитивными по данным qПЦР результатами анализа на присутствие РНК PRRSV, а также статистически значимо более низкая вирусная нагрузка в обеих группах по сравнению с контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению (P≤0,0001). Эти данные служат дополнительным подтверждением того, что оба уровня доз вакцины индуцировали адекватный иммунитет у подсвинок, обусловливающий статистически значимо более низкий уровень вирусной репликации после контрольного заражения. Аналогично этому в группах, обработанных вакциной с низким и с высоким титром, был выявлены более низкие проценты подсвинок с позитивными результатами qПЦР в дни DOF 0 и DOF+13, а также более низкая вирусная нагрузка в обеих группах в указанные дни исследования (P≤0,0155). В группе, обработанной вакциной с низким титром, в день D132 имел место статистически значимо более низкий процент подсвинок с позитивными результатами qПЦР и более низкая вирусная нагрузка (P≤0,0290); при этом не было выявлено статистически значимых различий в отношении этого же набора параметров между группой, обработанной вакциной с высоким титром, и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению (P≥0,1144). В дни DOF+7 и DOF+20 между вакцинированными группами и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению, не было выявлено статистически значимых различий в проценте подсвинок с позитивными результатами qПЦР или в величине вирусной нагрузки (P≥0,1719).

Как правило, PRRSV не индуцирует клинических симптомов заболевания у подсвинок и свиноматок, отличных от выкидышей. В настоящем исследовании было установлено, что у 25%, 25%, 38% и 60% подсвинок в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, в группах, обработанных вакциной с низким титром, с высоким титром, и в группе отрицательного контроля соответственно, были выявлены клинические симптомы заболевания (т.е. для которых балл клинического обследования был > 0) по меньшей мере в один из дней после контрольного заражения. Не было выявлено статистически значимых различий между вакцинированными группами и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению, в проценте подсвинок, у которых имелись клинические симптомы заболевания по меньшей мере в один из дней в период со дня D116 по день DOF +20 (P≥0,7043). У подсвинок, у которых в определенной форме проявлялись клинические признаки заболевания, они имели место в околородовой период, а не сразу после контрольного заражения. Высокий процент подсвинок в группе отрицательного контроля (60%), у которых проявлялись клинические признаки заболевания, и тот факт, что клинические признаки заболевания во всех группах отмечались в основном в околоопоросный период, подтверждает, что клинические признаки заболевания были обусловлены не заболеванием PRRS, а скорее физиологическими изменениями, ассоциированными с родами.

В день D0 все подсвинки по данным ELISA имели PRRS-серонегативный статус, что подтверждает соблюдение критериев включения подопытных животных в исследование. Аналогично этому, все подсвинки по данным ELISA имели серонегативный статус в день D7. У вакцинированных подсвинок первые PRRS-серопозитивные результаты по данным ELISA были получены в день D14, а наиболее высокие уровни сероконверсии, составлявшие 65 и 60%, были выявлены в группах, обработанных вакциной в низкой и высокой дозе соответственно, в день D56 (P<0,0001). В отличие от этого, животные в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, сохраняли PRRS-серонегативный статус по данным

ELISA в течение периода вплоть до 7 дней после контрольного заражения (день D125). Со дня D132 и до завершения исследования подсвинки во всех группах, обработанных вакциной с низким титром, с высоким титром, и в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, имели PRRS-серопозитивный статус по данным ELISA. Процент позитивных в отношении виремии подсвинок в обеих вакцинированных группах достигал пика после вакцинации в день D7, составлявшего 50% и 36% в группах, обработанных вакциной с низким титром и с высоким титром соответственно ($P \leq 0,0007$). Уровень виремии быстро снижался до 4% (1 животное из 28, № 64) и 0% (0 животных из 28) в группах, обработанных вакциной с низким титром и с высоким титром соответственно, в день D14 ($P=1,0000$ или тест не проводили). В день D21 виремия оставалась на уровне 4% в группах, обработанных вакциной с низким титром (1 животное из 28, № 56) и с высоким титром (1 животное из 28, № 91). В день D56 одно животное из 26 (4%, № 89) в группе подсвинок, обработанных вакциной с низким титром, и одно животное из 25 (4%, № 66) в группе подсвинок, обработанных вакциной с высоким титром, имели позитивный в отношении виремии статус. Все подсвинки имели негативный в отношении виремии статус в дни D84 и D118.

Не было выявлено статистически значимых различий между обеими группами, обработанными вакциной с различными титрами, и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению, в проценте подсвинок на группу, у которых была выявлена аномалия при клиническом обследовании по меньшей мере в один из дней после вакцинации в период со дня D1 по день D113 ($P=1,0000$). Конкретно, только у трех подсвинок имелись какие-либо аномалии, полученные при клиническом обследовании в указанный период времени. У двух подсвинок была выявлена хромота (у одной подсвинки в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, и у одной подсвинки в группе отрицательного контроля) и у одной подсвинки в группе, обработанной вакциной с низким титром, было выявлено опухание левой области шеи. Поскольку вакцину вводили в правую область шеи, то не было зафиксировано нежелательных явлений, ассоциированных с указанной вакциной.

Результаты оценки PRRS-виремии у поросят в день DOF позволили лучше оценить уровень защиты в организме подсвинок, препятствующей заражению поросят через плаценту. В день DOF средний процент поросят на подсвинку, имеющих позитивный по данным qПЦР статус, составлял 58,1 и 55,0% в группах, обработанных вакциной с низким титром и с высоким титром соответственно. В отличие от этого, в группе контрольного заражения средний процент поросят на подсвинку, для которых были получены позитивные результаты анализа методом qПЦР сыворотки/общей воды организма, составлял 86,3%, что было статистически значимо выше, чем в обеих вакцинированных группах ($P \leq 0,0381$). При исследовании вирусной нагрузки у поросят в день DOF 0 было установлено, что у поросят, родившихся у подсвинок из группы, обработанной вакциной с высоким титром, вирусная нагрузка была статистически значимо ниже, чем у поросят, рожденных подсвинками из контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению ($P=0,0030$); при этом не было выявлено различия в вирусной нагрузке между поросятами, рожденными подсвинками из группы, обработанной вакциной с низким титром, рожденными подсвинками из контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению ($P=0,0620$). Статистически значимые снижения ($P \leq 0,05$) процента поросят на подсвинку, имеющих позитивный в отношении виремии статус, свидетельствует о снижении вертикальной передачи вирулентного PRRSV от вакцинированной подсвинки ее потомству при использовании для иммунизации любой из рассмотренных доз MLV EU PRRS 94881. Кроме того, в группе, обработанной вакциной с высоким титром, медианная величина вирусной нагрузки в сыворотке/общей воде организма на подсвинку по данным qПЦР составляла 3,00 $\log_{10}$ GE/мл в день DOF; в то время как в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, медианная величина вирусной нагрузки на подсвинку по данным qПЦР составляла 6,40 $\log_{10}$ GE/мл ($P=0,0030$). В день DOF не было выявлено статистически значимого различия в вирусной нагрузке на подсвинку между группой, обработанной вакциной с низким титром, и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению ($P=0,0620$). Эти данные служат дополнительным подтверждением эффективности высокой дозы MLV PRRS 94881 при ее введении подсвинкам и свиноматкам.

В группах, обработанных вакциной с низким титром и с высоким титром, средние количества поросят на помет, у которых были выявлены клинические признаки заболевания (балл клинического обследования > 0) по меньшей мере в один из дней в период со дня DOF+1 по день DOF +20, составляли 32,5% и 33,4% соответственно. Эти результаты были существенно ниже, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, в которой указанные признаки были выявлены в среднем у 91,6% поросят на помет ($P \leq 0,0001$), что служит дополнительным подтверждением эффективности обоих уровней доз вакцины.

В день DOF 0 между группами не было выявлено статистически значимых различий в среднем весе тела ($P \geq 0,2972$); при этом в обеих вакцинированных группах средние веса тела в день DOF+20 и величины ADWG в период со дня DOF 0 по день DOF+20 были статистически значимо выше ($P \leq 0,0028$). И в этом случае также полученные результаты подтверждают эффективность обеих доз MLV PRRS 94881.

Результаты аутопсии подтвердили правильность классификации почти всех плодов на момент опороса. Вследствие очень небольшого количества плодов, которые были зарегистрированы как раздавлен-

ные, в то время как они в действительности были мертворожденными, и как мертворожденные, в то время как в действительности они были раздавлены при опоросе, по сравнению с общим количеством плодов, правильно классифицированных в момент опороса, не вносили изменений в данные о продуктивности подсвинок до осуществления их анализа. Один поросенок, родившийся в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, умер после взятия образцов крови. Поскольку эта ситуация касалась только одного поросенка по сравнению с большим общим количеством поросят в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, то указанного поросенка не исключали из анализа.

Образцы из легких были взяты из 141, 79, 75 и 4 мертвых плодов/поросят из контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, групп, обработанных вакциной с низким титром, с высоким титром, и группы отрицательного контроля соответственно. По данным qПЦР средние величины вирусной нагрузки в легких составляли 4,68, 4,10, 3,55 и 0,00 $\log_{10}$ GE/мл в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, группах, обработанных вакциной с низким титром, с высоким титром, в группе отрицательного контроля соответственно. Анализа этих данных не проводили, поскольку поросят, доживших до 20-дневного возраста, не подвергали аутопсии, однако эти результаты свидетельствуют о том, что, когда осуществляли контрольное заражение вирулентным PRRSV, то у поросят, рожденных подсвинками, вакцинированными с помощью MLV PRRS 94881, имела место меньшая вирусная нагрузка в легких.

В заключение, следует отметить, что в настоящем исследовании выявлены статистически значимо более высокие проценты живых поросят на помет при опоросе ($P \leq 0,0455$) и более высокие проценты и количества поросят на помет при отъеме ($P \leq 0,0203$) в обеих вакцинированных группах по сравнению с контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению. Таким образом, цель исследования была достигнута и результаты настоящего исследования позволили определить величину MID MLV PRRS 94881 для подсвинок, составляющую $1 \times 10^{2,43}$ $TCID_{50}$/2 мл. Эти результаты были получены через 118 дней после вакцинации, которая, кроме того, обеспечивала продолжительность действия иммунитета (DOI) у подсвинок, составлявшую примерно 4 месяца. На основе анализа вспомогательных данных было установлено, что при использовании высокой дозы MLV PRRS 94881 ($1 \times 10^{3,90}$ $TCID_{50}$/2 мл) были выявлены более высоким процент и количество здоровых поросят на подсвинку при опоросе ($P \leq 0,0211$), более низкий процент и количество ослабленных поросят и мумифицированных плодов ($P \leq 0,0090$), более низкий процент подсвинок с позитивным по данным qПЦР статусом и более низкая вирусная нагрузка у подсвинок после контрольного заражения в дни D125, DOF 0 и DOF+13 ($P \leq 0,0155$), более низкий процент поросят на подсвинку с позитивным по данным qПЦР статусом и более низкая вирусная нагрузка у поросят в день DOF 0 ($P \leq 0,0030$), меньший процент поросят на подсвинку, имеющих клинические признаки заболевания ($P < 0,0001$), и более высокий вес тела поросят в день DOF+20 и большая величина ADWG ($P < 0,0013$).

В группе, обработанной вакциной в низкой дозе, были выявлены более высокий процент здоровых поросят на подсвинку при опоросе ($P = 0,0138$), более низкий процент и количество мумифицированных плодов ($P \leq 0,0190$), более низкий процент подсвинок с позитивным по данным qПЦР статусом и более низкая вирусная нагрузка у подсвинок после контрольного заражения в дни D125, D132, DOF 0 и DOF+13 ($P \leq 0,0290$), более низкий процент поросят на подсвинку, имеющих позитивный по данным qПЦР статус в день DOF 0 ($P = 0,0381$), более низкий процент поросят на подсвинку, имеющих клинические признаки заболевания ($P < 0,0001$), и больший вес тела поросят в день DOF+20 и большая величина ADWG ($P < 0,0028$).

Пример 7. Оценка начала развития вызываемого MLV PRRS 94881 иммунитета у восприимчивых поросят, которую проводили после контрольного заражения гетерологичным европейским изолятом вируса PRRS через две недели после вакцинации.

Задача настоящего исследования на основе вакцинации-контрольного заражения заключалась в оценке того, имеет ли место начало развития иммунитета (OOI) через две недели после введения вакцины-кандидата на основе изолята 94881, выведенного из европейского вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней, а именно, модифицированного живого вируса (MLV PRRS 94881), восприимчивым поросятам возрастом 14 ± 3 дней. Основной критерий эффективности, выполнение которого должно свидетельствовать о том, что имеет место OOI через 2 недели после вакцинации, заключался в демонстрации того, что имело место статистически значимое различие ($p \leq 0,05$) между повреждениями легких после контрольного заражения в вакцинированной группе (группа 1) и невакцинированной контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению (группа 2). Вспомогательные параметры включали клинические оценки после вакцинации, результаты клинических обследований после контрольного заражения, ректальные температуры, средний суточный прирост массы, оценки антител к вирусу PRRS и уровень виремии в образцах сыворотки и количественные оценки вируса PRRS в образцах, взятых из легких при проведении аутопсии.

Поросят случайным образом включали либо в группу 1 (которую обрабатывали вакциной на основе MLV PRRS 94881, содержащей $1 \times 10^{3,82}$ $TCID_{50}$/мл, и подвергали контрольному заражению; n=20), группу 2 (которую обрабатывали плацебо-вакциной и подвергали контрольному заражения; n=20) или группу 3

(которую обрабатывали плацебо-вакциной и не подвергали контрольному заражению; n=10). Поросят содержали в пластиковых боксах с приподнятыми полами (n=5 животных/бокс). Каждую группу обработки содержали в отдельном помещении для того, чтобы избежать переноса PRRSV механическими путями, включая перенос в аэрозольной форме.

Все животные, включенные в настоящее исследование, участвовали в нем до его завершения. В процессе настоящего исследования не было выявлено никаких нежелательных явлений. В день D24 средние баллы повреждений легких составляли 27,4 и 54,8% в группе вакцинированных MLV PRRS 94881 свиней и в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, соответственно. Средний балл повреждений легких в группе вакцинированных MLV PRRS 94881 свиней был статистически значимо меньше, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению (p=0,0002), поэтому полученные результаты удовлетворяли основному критерию эффективности, т.е. было установлено, что OOI имело место через 2 недели после однократной вакцинации. Было установлено, что в дни D14, D17 и D21 в группе вакцинированных MLV PRRS 94881 свиней статистически значимо большая пропорция животных имела позитивные титры антител к вирусу PRRS по сравнению с пропорцией животных в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению (p≤0,0012). Средняя величина AUC, характеризующая виремию, в период со дня D17 по день D24 после контрольного заражения была статистически значимо меньше в группе вакцинированных MLV PRRS 94881 свиней по сравнению с контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению (50,72 и 54,61 $\log_{10}$ GE/мл соответственно; p=0,0039). У вакцинированных MLV PRRS 94881 свиней не было выявлено признаков заторможенности (0%) после осуществления контрольного заражения, в то время как в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, она была выявлена у 45% свиней (p=0,0012). На протяжении фазы исследования после контрольного заражения (дни с SD14 по SD24) приросты массы у вакцинированных MLV PRRS 94881 свиней были больше, чем у животных в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению (0,3 и 0,1 кг соответственно; p=0,0003).

Статистически значимо меньшие повреждения легких, клинические признаки, уровень репликации вируса в крови и легких после контрольного заражения, а также более высокие показатели роста у вакцинированных животных свидетельствуют об эффективности вакцины против вирулентного PRRSV в том случае, когда контрольное заражение осуществляли через 2 недели после вакцинации. Таким образом, эти данные подтверждают, что начало развития иммунитета имело место не позже чем через 2 недели после вакцинации с использованием MLV PRRS 94881.

Задачи/цели исследования

Задача настоящего исследования на основе вакцинации-контрольного заражения заключалась в оценке того, имеет ли место начало развития иммунитета (OOI) через две недели после введения вакцины-кандидата на основе изолята 94881, выведенного из европейского вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней, а именно, модифицированного живого вируса (MLV PRRS 94881), восприимчивым поросятам возрастом 14 ± 3 дней. Основной критерий эффективности, выполнение которого должно свидетельствовать о том, что имеет место OOI через 2 недели после вакцинации, заключался в демонстрации того, что имело место статистически значимое различие (p≤0,05) между повреждениями легких после контрольного заражения в вакцинированной группе (группа 1) и невакцинированной контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению (группа 2).

Вторичные параметры эффективности, которые анализировали при сравнении вакцинированной группы и контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, включали клинические оценки после вакцинации, результаты серологического анализа на PRRS, оценку уровня PRRS-виремии после контрольного заражения, результаты клинических обследований после контрольного заражения, средний суточный прирост массы (ADWG), ректальные температуры и количественную оценку PRRSV в легких.

Группа отрицательного контроля (группа 3), которую не подвергали ни вакцинации, ни контрольному заражению, была включена в исследование для демонстрации того, что исходное стадо не было заражено PRRSV на протяжении периода испытания и что в течение настоящего опыта биобезопасность не нарушалась.

График событий

Таблица 7.1. График событий

День исследования	Даты	Основные события исследования
-8	14 декабря 2009 г.	Отбор животных на основе PRRS-негативного статуса по данным ELISA
-1	21 декабря 2009 г.	Прибытие в VRI; обследование состояния здоровья
с -1 по 12	с 21 декабря 2009 по 03 января 2010 г.	Клинические оценки
0	22 декабря 2009 г.	Измерение веса тела; вакцинирование группы 1 с использованием IVP, вакцинирование групп 2 и 3 с использованием CP
7	29 декабря 2009 г.	Взятие образцов крови
с 13 по 24	с 04 января 2010 г. по 15 января	Клинические обследования и измерение ректальной температуры

	2010 г.	
14	05 января 2010 г.	Измерение веса тела и взятие образцов крови; контрольное заражение групп 1 и 2 гетерологичным изолятом европейского вируса PRRS
с 17 по 21	с 08 января 2010 г. по 12 января 2010 г.	Взятие образцов крови
24	15 января 2010 г.	Умерщвление и осуществление аутопсии свиней после сбора данных и образцов; Балльная оценка патологии легких; взятие образцов ткани легких

План исследования

Таблица 7.2. План исследования

Группа	Количество поросят в день D0	Обработка в день D0 (возраст 14 ± 3 дней)	Контрольное заражение в день D14 дозой 1 мл/ноздрю и введение 1 мл IM PRRSV 205817	Умерщвление и аутопсия в день D24
1	20	1,0 мл IM IVP ($1 \times 10^{3,82}$ $TCID_{50}$/мл)	Да	Да
2	20	1,0 мл IM контрольного продукта (CP; продукт-плацебо, не содержащий MLV PRRS 94881)	Да	Да
3	10	1,0 мл IM CP	Нет	Да

Критерии для проведения слепого исследования

Исследователь и уполномоченные лица не имели информации о распределенных по группам обработки животных в течение прижизненной фазы исследований. Для гарантии того, что исследование является слепым, рандомизацию и осуществление предписанных обработок с использованием IVP и CP в день D0 осуществлял специалист, который не принимал участие в проведении оценок свиней (т.е. при осуществлении клинических оценок, клинических обследований или проведении аутопсии). Персонал лаборатории BIVI при выполнении поставленных перед ним задач не имел информации о том, каким продуктом производилась обработка каждой свиньи.

Материалы

Исследуемый ветеринарный продукт (IVP) и контрольный продукт (CP)

Таблица 7.3. IVP

Непатентованное название продукта:	Модифицированный живой вирус репродуктивно-респираторного синдрома свиней
штамм:	94881
Получение и препаративная форма:	Производственное подразделение BIVI производило MLV PRRS 94881, лот 390-005 (приложение 4) в соответствии с планом производства, код 19S1.U_ и досье EU, часть 2b. В день 0 на фирме BIVI-Ames осуществляли восстановление/разведение вакцины MLV PRRS 94881, лот 390-005 (приложение 4) с использованием забуференного фосфатом физиологического раствора (ЗФР; лот 809-003, приложение 5) для приготовления IVP, лот № 257-086. Расшифрованные составы препарата IVP представлены в приложении 7 (исходные составы могут быть получены по требованию).
Производитель:	Фирма Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc., 2621 North Belt Highway, Сент-Джозеф, шт. Миссури, 64506, США
Лот №:	N257-086
Срок годности:	Срок годности до 22 декабря 2009 г. для IVP был установлен только для целей настоящего исследования
Условия хранения:	Лиофилизированная вакцина: при 2-8°C Регидратированная/разведенная IVP: при 2-8°C или на льду
Тестирование:	Партию 390-005 тестировали в BIVI-QC согласно проекту плана производства и досье EU, часть 2F. Начало и завершение процедуры вакцинации осуществляли в контакте с персоналом BIVI-Ames. Персонал лаборатории BIVI-Ames осуществлял тестирование аликвот IVP до и после вакцинации для определения вирусного титра в соответствии с процедурой титрования PRRSV (приложение 1, дополнение 6).
Результаты тестирования:	Продукт с серийным номером 390-005: получены удовлетворительные результаты (приложение 4). IVP, лот N257-086: средний титр $1 \times 10^{3,82}$ $TCID_{50}$/мл (приложение 7).
Сохранение IVP:	Препарат IVP приготавливали для целей настоящего исследования и не сохраняли.

Таблица 7.4. CP

Непатентованное название продукта:	Плацебо
Препаративная форма:	Производственное подразделение BIVI производило лиофилизированный продукт, представляющий собой плацебо, который содержал инертный материал, включенный в состав серийной вакцины, не содержащей MLV PRRS 94881 (лот N240-191-062409, приложение 6). В день D0 на фирме BIVI-Ames осуществляли восстановление/разведение продукта, лот N240-191-062409, с использованием забуференного фосфатом физиологического раствора (ЗФР; лот 809-003, приложение 5) для приготовления CP, лот № 257-085. Расшифрованные составы препарата IVP представлены в приложении 7 (исходные составы могут быть получены по требованию).
Производитель:	Фирма Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc., 621 North Belt Highway Сент-Джозеф, шт. Миссури, 64506, США
Номер лота:	N257-085
Срок годности:	Срок годности до 22 декабря 2009 г. был установлен для CP только для целей исследования.
Условия хранения:	Лиофилизированная вакцина: при 2-8°C регидратированный CP: при 2-8°C или на льду
Тестирование:	CP тестировали в BIVI-QC в отношении соответствия стерильности требованиям ЕФ согласно специальному плану 96 (приложение 1, дополнение 5).
Результаты тестирования:	Установлено, что CP был стерильным (приложение 7).
Сохранение CP:	CP приготавливали только для целей настоящего исследования и не сохраняли.

Материал, применяемый для контрольного заражения

Таблица 7.5. Материал, применяемый для контрольного заражения

Название/номер изолята	Изолят 205817 вируса PRRS
Место и дата выделения, включая клинические симптомы	Изолят 205817 европейского вируса PRRS был выведен из изолята 190136, первоначально полученного из ткани легкого новорожденного поросенка на ферме, где были выявлены типичные касающиеся репродуктивной способности признаки PRRS (выкидыши у свиноматок и слабость новорожденных поросят) во время вспышки заболевания, имевшей место в Нижней Саксонии, Германия, в апреле 2004 г. Штатные ветеринарные врачи передали образцы в лабораторию bioScreen (образец был получен 21 апреля 2004 г.) для диагностического тестирования. Изолят № 190136 размножали непосредственно на клетках линии AK-MA104 и получали чистую маточную культуру штамма для контрольного заражения с целью применения для будущих клинических исследований в BIVI. Чистую культуру изолята 190136 использовали для инокуляции свиней с целью оценки ее способности воспроизводить респираторное заболевание со специфическими для PRRS признаками в условиях контролируемого лабораторного эксперимента. У подвергнутых контрольному заражению животных проявлялся респираторный дистресс-синдром, и при гистопатологическом исследовании было выявлено наличие интерстициальной пневмонии. Вирус PRRS был успешно повторно выделен из областей повреждения легкого и изолят получил обозначение 205817. Изолят 205817 размножали непосредственно на клетках линии MA104 и получали чистую маточную культуру штамма для контрольного заражения с целью применения для будущих клинических исследований в BIVI.
Препаративная форма:	Вирус для контрольного заражения подвергали оттаиванию и разводили средой MEM (минимальная поддерживающая среда) до получения заданного титра, составляющего примерно 1 ×x 10^6 $TCID_{50}$/3 мл в день D14. Приготавливали материал для контрольного заражения в достаточном объеме. Из материала для контрольного заражения отбирали две аликвоты.
Номер лота:	N257-093
Производитель:	Фирма Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc. – США
Условия хранения	Нерасфасованный материал для контрольного заражения хранили при -70 ± 10°C. После приготовления разведенный материал для контрольного заражения хранили на льду до его введения животным.
Тестирование:	Начало и завершение процедуры контрольного заражения осуществляли в контакте с персоналом BIVI-Ames. Персонал лаборатории BIVI-Ames осуществлял тестирование аликвот до и после контрольного заражения для определения титра вируса согласно процедуре титрования PRRSV
Результаты тестирования:	Средняя величина титра в материале для контрольного заражения составляла $1 \times 10^{4,71}$ $TCID_{50}$ на дозу 3 мл
Путь введения	1,0 мл/ноздрю и 1,0 мл IM в левую область шеи (введение осуществляли всем свиньям в группах 1 и 2 в день D14).
Сохранение материала для контрольного заражения:	Материал для контрольного заражения приготавливали только для целей настоящего исследования и его не сохраняли.

Обработки

Подтверждение дозирования.

IVP вводили в дозе объемом 1,0 мл отобранным для этой цели свиньям для оценки OOI MLV PRRS 94881 через 2 недели после вакцинации. CP вводили в дозе 1,0 мл животным в группах 2 и 3 в качестве вакцины-плацебо.

Схема введения доз.

Специалист, не участвовавший в сборе результатов исследования, вводил IVP или CP отобранной для этого свинье в правую область шеи IM в день D0 с использованием стерильного 3,0 мл шприца с разъемом типа Луер-Лок и стерильной иглы 20g × 1 дюйм (2,54 см) или 18g × 3/4 дюйма (1,91 см). Схема введения доз представлена ниже в табл. 7.6.

Таблица 7.6. Схема введения доз

Группа	Количество животных	Обработка	Доза/путь введения	День исследования
1	20	IVP	1,0 мл, IM	D0
2	20	CP	1,0 мл, IM	D0
3	10	CP	1,0 мл, IM	D0

Информация о животных

Подробное описание животных, участвовавших в исследовании

Таблица 7.7 Информация о животных

Источник:	Ферма Wilson Prairie View N5627 Highway DD Берлингтон, шт. Висконсин, 53105 США		
Количество поросят:	50		
Дата прибытия:	Свиньи прибыли в производственное помещение фирмы Veterinary Resources, Inc. (VRI), Кембридж, 21 декабря 2009 г. (день D-1).		
Обработка в момент прибытия:	После прибытия 50 свиньям, отобранным для исследования, вводили IM в правое бедро EXCEDE® в указанной на этикетке дозе.		
Идентификация:	У каждого животного на ухе имелась бирка с указанием индивидуального номера		
Вид	Свинья		
Порода:	Товарная порода		
Пол:	Смесь животных (самки и кастрированные самцы)		
Возрастной диапазон:	Возраст от 11 до 17 дней в день D0		
Диапазон веса тела:	От 3,2 до 5,5 кг в день D0		
Владелец подопытных животных:	Фирма Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc.		
Физиологическое состояние:	В день D-1 Исследователь проводил обследование свиней, отобранных для участия в исследовании, было установлено, что они имели хорошее состояние здоровья и упитанность. Результаты обследования были зарегистрированы в регистрационной форме для результатов обследования состояния здоровья животных.		
Распределение свиней по группам	Группа 1 (n=20): 55, 56, 60, 72, 75, 76, 77, 83, 87, 91, 99, 102, 116, 117, 124, 141, 142, 144, 156 и 162	Группа 2 (n=20): 57, 61, 62, 68, 78, 81, 86, 89, 97, 110, 129, 132, 135, 150, 152, 154, 160, 165, 167 и 168	Группа 3 (n=10): 51, 69, 80, 85, 104, 105, 128, 131, 133 и 155

Критерии включения/исключения

Все поросята, участвующие в настоящем исследовании, имели негативный PRRS-статус по данным ELISA, и обследование показало, что они были здоровы в момент вакцинации.

Критерии исключения после включения в исследование.

В период проведения исследования ни одна свинья не была исключена из опыта.

Уход за животными и их содержание

Содержание животных

В течение всего периода исследования поросят содержали на фирме Veterinary Resources, Inc. (VRI), Кембридж, шт. Айова. Группы 1, 2 и 3 содержались в одинаковых, но отдельных помещениях для обеспечения биобезопасности. Поросят содержали в каждом помещении в боксах, рассчитанных на несколько животных (по 5 поросят/бокс). Группу 1 содержали в 4 боксах в помещении 5, группу 2 содержали в 4 боксах в помещении 6, а группу 3 содержали в 2 боксах в помещении 4. Боксы представляли собой пластиковые поддоны, приподнятые на стойках, с пластиковым щелевым полом. В каждом боксе имелись кормушка с 6 отверстиями и ниппельная поилка. Все изолированные помещения имели одинаковую конструкцию, и они все удовлетворяли требованиям уровня 2 опасности для живых организмов (BL2), имели систему очистки воздуха с помощью HEPA-фильтров, механическую вентиляцию и регулируемую термостатом систему контроля температуры.

При проведении настоящего исследования было необходимо изолировать группу обработки, по-

скольку в научном сообществе хорошо известно, что PRRSV легко распространяется от свиньи к свинье посредством различных механизмов, включая перенос в аэрозольной форме. Это относится и к авирулентным живым вакцинам против PRRS, поскольку указанные биологические продукты включают ослабленные вирусные частицы, которые имитируют характеристики вирулентного вируса PRRS дикого типа, не обладая способностью вызывать заболевание. Применяли соответствующие методы для гарантии поддержания биобезопасности и для того, чтобы вакцинированные животные не могли случайным образом заразиться PRRSV от невакцинированных животных из группы отрицательного контроля. Персоналом исследовательского центра были приняты соответствующие меры для обеспечения требуемой чистоты и уровня дезинфекции каждого помещения перед его использованием в настоящем исследовании.

В каждом помещении в здании имелись вентиляторы и нагреватели для того, чтобы обеспечивать необходимую циркуляцию воздуха и подогрев. Каждое помещение имело отдельную, но идентичную систему вентиляции, так что не происходило обмена воздухом между помещениями.

Твердый корм хранили в мешках в условиях, обеспечивающих отсутствие паразитов. Животные имели свободный доступ к воде. Поросята имели свободный доступ к поступающему в продажу корму (Lean Metrics Infant, фирма Purina Mills, Сент-Луис, шт. Миссури), дополненному лекарственными средствами тиамулином (35 г/тонну) и хлортетрациклином (400 г/тонну), соответствующему их размеру, возрасту и состоянию, согласно принятой в регионе животноводческой практике.

По мнению Исследователя перед началом опыта подсвинки имели хорошее состояние здоровья и упитанность.

В процессе исследования у некоторых животных были выявлены небольшое ухудшение состояния тела, появление грубого волосяного покрова, опухшие суставы и хромота различной степени. По мнению Исследователя все эти явления представляли собой неспецифические состояния (состояния неясной этиологии), которые обычно встречаются в группах свиней при их стойловом содержании. У некоторых свиней после контрольного заражения были выявлены кашель, чихание, учащенное дыхание, одышка и заторможенность от слабой до средней степени, и их рассматривали как типичные клинические признаки, ассоциированные с пневмонией, хотя и неясной этиологии. По решению Исследователя при проведении настоящего опыта ни для одного из животных не требовалось проводить сопутствующие обработки.

Всех свиней, отобранных для настоящего исследования, после умерщвления и осуществления аутопсии ликвидировали посредством промышленной кремации в день D24. Никаких пищевых продуктов от животных, участвовавших в настоящем исследовании, не поступало в цепь питания человека.

Оценка эффективности

Для оценки того, имеет ли место OOI, вызываемое MLV PRRS 94881, через 2 недели после вакцинации, животных в группах 1 и 2 подвергали в день D14 контрольному заражению и оценивали повреждения легких после контрольного заражения. Считалось, что имело место OOI через 2 недели после вакцинации, если в группе 1 (обработанной минимальной иммунизирующей дозой MLV PRRS 94881) после контрольного заражения был выявлен статистически значимо ($p \leq 0,05$) более низкий уровень патологии легких по сравнению с контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению (группа 2).

Вспомогательные параметры эффективности, которые анализировали при сравнении вакцинированной группы и контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, включали клинические оценки после вакцинации, результаты клинических обследований после контрольного заражения, ректальные температуры, вес тела и средний суточный прирост массы (ADWG), оценки уровней антител к вирусу PRRS и виремии в образцах сыворотки и количественную оценку вируса PRRS в образцах, взятых из легких при проведении аутопсии.

Группа отрицательного контроля (группа 3), которую не подвергали контрольному заражению, была включена в исследование для демонстрации того, что исходное стадо не было заражено вирусом PRRS и что на протяжении исследования поддерживалась биобезопасность.

Критерии валидности исследования

Необходимо, чтобы все образцы сыворотки, взятые до поставки животных и в день D0, имели негативный статус в отношении антител к вирусу PRRS.

Для того чтобы исследование считалось валидным, необходимо, чтобы образцы сыворотки, взятые у животных из групп 2 и 3 в период вплоть до дня контрольного заражения и у животных из группы 3 в период вплоть до завершения исследования, не содержали антител к вирусу PRRS.

Основной выходной параметр.

Основной переменной для статистической оценки эффективности являлись общие баллы повреждений легких, полученные в день D24 исследования.

Общие баллы повреждений легких.

В день 24 после осуществления сбора и регистрации данных и образцов всех участвовавших в исследовании свиней умерщвляли в соответствии с VRI SOP PRC 1027 (приложение 1, дополнение 8). Аутопсию каждой свиньи проводили согласно VRI SOP PRC 1028. Уполномоченное лицо проводило вскрытие грудной полости и изъятие сердца и легких. Исследователь проводил обследование каждого набора легких, описывал любую выявленную макроскопическую патологию и определял % патологии

для каждой доли легких. Результаты обследований и полученные данные регистрировали в регистрационной форме отчета об аутопсии. Для каждой свиньи определяли общий балл повреждений легких с использованием ЕФ-формулы.

Вспомогательные параметры.

Другие параметры, которые анализировали при сравнении группы 1 и группы 2, включали клинические оценки после вакцинации, результаты серологического анализа на PRRS, оценку уровня виремии после вакцинации, результаты клинических обследований после контрольного заражения, величины ADWG, ректальные температуры и количественную оценку вируса в легких после контрольного заражения. Эти параметры анализировали в качестве вспомогательных параметров и их не рассматривали в качестве основных параметров, позволяющих судить о достижении цели исследования.

Клинические оценки.

Исследователь или уполномоченное лицо обследовали всех свиней в дни, указанные в табл. 7,1, для получения клинических оценок после вакцинации. Результаты обследования регистрировались в регистрационной форме для клинических обследований.

Серологический анализ на PRRS.

Осуществляли сбор образцов венозной цельной крови в дни, указанные в табл. 3. В целом, процедура заключалась в следующем: у каждого поросенка брали примерно по 2-5 мл крови в пробирку соответствующего размера для разделения сыворотки (SST). Собранные образцы регистрировали в регистрационной форме для сбора образцов. Находящейся в SST крови давали свернуться при комнатной температуре. Образцы крови передавали в BIVI-Ames в день сбора и заполняли регистрационную форму для поставки образцов. Образцы крови центрифугировали в BIVI-Ames, сыворотку собирали, разделяли и переносили в соответствующие пробирки. Каждую пробирку снабжали меткой с указанием ID-номера поросенка, номера исследования, даты сбора, для исследования и типа образца. В BIVI-Ames один набор образцов сыворотки хранили при 2-8°C, а другой набор образцов сыворотки помещали на хранение при -70 ± 10°C.

Образцы сыворотки, собранные в дни 0, 7, 14, 17, 21 и 24, которые хранили при 2-8°C, анализировали в BIVI-Ames на антитела к вирусу PRRS. Результаты классифицировали как "негативные" (по данным ELISA отношение $S/P < 0,4$) или "позитивные" (по данным ELISA отношение $S/P \geq 0,4$).

PRRS-виремия

Другой набор о.бразцов сыворотки, собранных в дни 0, 7, 14, 17, 21 и 24, хранили при -70 ± 10°C в BIVI-Ames до завершения прижизненной фазы исследования.

Заполненную регистрационную форму для поставки образцов прилагали к передаваемым образцам. На фирме bioScreen проводили анализ образцов сыворотки методом qПЦР на присутствие РНК PRRSV. Результаты выражали в виде количества геномных эквивалентов/мл (log GE/мл).

Клинические обследования после контрольного заражения

Поросят обследовали в отношении клинических признаков заболевания в дни, указанные в табл. 7.1. Обследование проводил Исследователь или уполномоченное лицо, результаты регистрировали в регистрационной форме для клинических обследований. Поросят обследовали каждый день в отношении дыхания, поведения и кашля с использованием балльной системы клинических оценок, представленной ниже в табл. 7.8.

Таблица 7.8. Балльная система оценки результатов клинических обследований

Дыхание	Поведение	Кашель
0 – нормальное дыхание 1 - затрудненное дыхание/учащенное дыхание 2 – одышка 3 – смерть	0 – нормальное 1 – заторможенность от слабой до умеренной 2 - серьезная заторможенность или лежачее положение 3 – смерть	0 – отсутствует 1 – мягкий или интермиттирующий кашель 2 – грубый или серьезный, рецидивирующий кашель 3 – смерть

Средний суточный прирост массы (ADWG).

Измерения веса тела каждого животного проводили в дни, указанные в табл. 3. Исследователь или уполномоченное лицо взвешивали каждую свинью на калиброванных весах. Результаты измерений в кг регистрировали в регистрационной форме для веса тела. Определяли средний суточный прирост массы в периоды со дня D0 по день D14 и со дня D14 по день D24.

Ректальные температуры.

Измерение ректальных температур проводил Исследователь или уполномоченное лицо в дни, указанные в табл. 6.1. Ректальные температуры регистрировали в °C в регистрационной форме для клинических обследований.

Количественная оценка вируса PRRS в ткани легких.

Из каждого набора легких сохраняли по два образца из левой и правой передних долей, левой и правой сердечных долей, левой и правой диафрагмальных долей и промежуточной доли. Каждый образец, взятый из легкого, имел размер примерно 1 дюйм (2,54 см) × 1 дюйм (2,54 см). Для одного набора образцов легкого объединяли все три образца, взятые с левой стороны, и помещали в один контейнер; в то время как все три образца, взятые с правой стороны, и образец, взятый из промежуточной доли, объе-

диняли и помещали в другой контейнер. Каждый контейнер заполняли 10%-ным раствором формалина, взятым в достаточном количестве. Для другого набора образцов легких, все три образца, взятых с левой стороны легких, объединяли и помещали в один Whirlpak®; в то время как все три образца, взятые с правой стороны, и образец промежуточной доли легких объединяли и помещали в другой Whirlpak®. Все контейнеры и пакеты Whirlpak® снабжали соответствующей меткой, на которой были указаны номер животного, номер исследования, дата взятия образца, день исследования, тип образца и то, с какой стороны, с левой или с правой, был взят образец. Образцы легких, которые находились в пакетах Whirlpaks®, хранили на сухом льду до транспортировки в BIVI-Ames, в то время как образцы, находящиеся в формалине, хранили при комнатной температуре. Собранные образцы регистрировали в регистрационной форме для отчета об аутопсии. Образцы ткани легкого, зафиксированные в формалине, и образцы ткани легкого, находящиеся в пакетах Whirlpak®, передавали в BIVI-Ames. К каждой поставляемой партии прилагали заполненную регистрационную форму для поставки образцов.

Заполненная регистрационная форма для поставки образцов прилагалась к каждой поставляемой партии. На фирме bioScreen образцы, взятые из легкого, анализировали на присутствие РНК PRRSV методом qПЦР (приложение 1, дополнение 7). Ткани, взятые из левого легкого, гомогенизировали и анализировали. Ткани, взятые из правого легкого и промежуточной доли легкого, гомогенизировали и анализировали. Результаты регистрировали в виде количества геномных эквивалентов (log GE/мл) для образцов, взятых из левого и правого легкого.

Нежелательные явления.

При проведении настоящего исследования не было выявлено никаких нежелательных явлений.

Статистические методы

Экспериментальная единица.

В процессе настоящего исследования группы обработки содержали в отдельных помещениях для того, чтобы избежать переноса PRRSV животным в не подвергавшимся вакцинации группах. Таким образом, помещение представляло собой экспериментальную единицу. Однако для целей рассматриваемого анализа, возможную нестрогость вследствие смешения (объединения) эффектов, обусловленных "помещением" и "обработкой" не учитывали, и поросенка рассматривали как экспериментальную единицу.

Рандомизация.

Пятьдесят (50) поросят распределяли по блокам на основе их веса (n=5 поросят/блок). Каждой свинье присваивали случайный номер с использованием функции генерирования случайных номеров программы Excel. В каждом блоке с определенным весом свиней ранжировали в порядке возрастания численных величин приписанных им случайных номеров. Затем свиней распределяли по группам обработки в соответствии с указанным порядком расположения номеров: 2 животных с наименьшими случайным образом выбранными номерами включали в группу 1, 2 животных со следующими номерами включали в группу 2, а животное с наибольшим номером включали в группу 3. Каждая из групп 1 и 2 состояла из 20 свиней, а группа 3 состояла из 10 свиней.

Анализ.

Статистический анализ и обобщение данных проводил д-р сельскохозяйственных наук Martin Vanselow, Biometrie & Statistik, Zum Siemenshop 21, 30539, Ганновер, Германия, +49(0) 511 606 777 650, m.vanselowαt-online.de.

Данные анализировали в предположении полностью случайной структуры плана эксперимента. Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения SAS, выпуск 8.2 (SAS, 2001, Кэри, шт. Северная Каролина, США: SAS Institute Inc.). Все анализы различий проводили на основе двусторонних критериев при $\alpha = 5\%$.

Общие баллы повреждений легких.

Общий балл повреждений легких в день осуществления аутопсии (D24) оценивали в виде процента пораженной части легкого, который рассчитывали согласно весовой формуле, рекомендованной в проекте монографии о вакцине (инактивированной) против энзоотической пневмонии свиней. В этой формуле учитывается относительный весовой коэффициент для каждой из семи долей легкого. Установленный в результате обследования процент площади доли легких, имеющей типичные повреждения, умножали на соответствующий коэффициент для доли легкого, получая общий взвешенный балл повреждений легкого. Коэффициенты для соответствующих долей легкого представлены в табл. 7.9.

Таблица 7.9. Коэффициенты для расчета баллов повреждений легких

Доля легких	Коэффициент
Левая передняя	0,05
Левая сердечная	0,06
Левая диафрагмальная	0,29
Правая передняя	0,11
Сердечная	0,10
Правая диафрагмальная	0,34
Правая добавочная/промежуточная	0,05

Сравнение групп обработки для выявления различий осуществляли с использованием критерия Уилкоксона-Манна-Уитни.

Клинические оценки после вакцинации.

Создавали таблицы частот встречаемости животных, для которых был получен по меньшей мере один "позитивный" результат в период между днем D1 и днем D12. Различия между группами обработки анализировали на основе точного критерия Фишера.

Серологический анализ на PRRS.

Создавали таблицы частот встречаемости позитивных результатов ELISA. Различия между группами обработки анализировали на основе точного критерия Фишера.

PRRS-виремия.

Данные о виремии оценивали по отдельности в каждый день исследования. Кроме того, анализировали для каждого индивидуального случая площади под кривыми вирусной нагрузки за период со дня D14 по день D24 (AUC D14-D24) и за период со дня D17 по день D24 (AUC D17-D24).

Для сравнений групп обработки, которые проводили на основе критерия Уилкоксона-Манна-Уитни, использовали данные, полученные с помощью количественной ПЦР (PRRS-вирусная нагрузка [$\log_{10}$ GE/мл]). Перед осуществлением расчета аналитический результат "не обнаружено" заменяли величиной $\log_{10}$ GE/мл, равной 0,0, а результат "позитивный" заменяли величиной 3,0. Различия между группами обработки анализировали с использованием критерия Уилкоксона-Манна-Уитни.

Клинические обследования после контрольного заражения.

Создавали таблицы частот встречаемости животных, для которых в период со дня D15 по день D24 был получен по меньшей мере один "позитивный" результат. Различия между группами обработки анализировали на основе точного критерия Фишера.

Для статистической оценки использовали максимальные величины баллов и средние величины баллов оценки дыхания, поведения, кашля и всех трех параметров вместе (суммарные) в пересчете на одно животное, полученные в период со дня D15 по день D24. Различия между группами обработки анализировали с использованием критерия Уилкоксона-Манна-Уитни.

Вес тела и средний суточный прирост массы.

Средние суточные приросты массы для индивидуального животного рассчитывали для периодов времени со дня D0 по день D14 и со дня D14 по день D24. Для каждого дня исследования и для каждого периода времени рассчитывали характеристики описательной статистики. Различия между группами анализировали с использованием дисперсионного анализа и последующего применения t-критериев. С помощью дисперсионного анализа рассчитывали среднеквадратичные значения для групп и различия между среднеквадратичными значениями с 95%-ными доверительными интервалами.

Ректальные температуры.

Различия в исходных величинах температуры между группами обработки анализировали с использованием дисперсионного анализа и последующего применения t-критериев. С помощью дисперсионного анализа рассчитывали среднеквадратичные значения для групп и различия между среднеквадратичными значениями с 95%-ными доверительными интервалами.

Количественная оценка вируса PRRS в тканях легких.

Результаты, полученные с помощью количественной ПЦР (PRRS-вирусная нагрузка [$\log_{10}$ GE/мл]) для образцов ткани легкого, собранных в день D24, использовали для сравнений групп обработки с использованием критерия Уилкоксона-Манна-Уитни. Для оценки использовали средние значения ($\log_{10}$ GE/мл) результатов, полученных с помощью qПЦР, для левого и правого легкого. Перед осуществлением расчета аналитический результат "не обнаружено" заменяли величиной $\log_{10}$ GE/мл, равной 0,0, а результат "позитивный" заменяли величиной 3,0.

Создавали таблицы частот встречаемости позитивных результатов qПЦР. Различия между группами обработки анализировали на основе точного критерия Фишера.

Результаты

Общие баллы повреждений легких.

Обобщение общих баллов повреждений легких в группах и ассоциированное p-значение представлены ниже в табл. 7.10.

Таблица 7.10. Общие баллы повреждений легких (%)

Группа[1]	N	Мин.	Макс.	Медианная величина	95% CI		Q-диапазон	Среднее значение	p-значение
1	20	0,06	59,30	27,550	12,270	40,600	29,515	27,368	0,0002
2	20	13,86	91,60	55,200	47,300	66,500	21,850	54,841	
3	10	0,00	0,06	0,000	0,000	0,000	0,000	0,006	NI

[1]группа 1 -группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 в дозе MID, подвергнутая контрольному заражению; группа 2 - контрольная группа, обработанная плацебо, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 - контрольная группа, обработанная плацебо, не подвергнутая контрольному заражению. NI - не включали в статистический анализ.

Средние величины общих баллов повреждений легких у поросят в день D24 составляли 27,368% и 54,841% в группе, вакцинированной MLV PRRS 94881, и в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, соответственно.

Балл повреждений у обработанных вакциной против PRRS свиней был статистически значимо ниже, чем средний балл повреждений у животных из контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению (p=0,0002).

PRRS-виремия.

Обобщение результатов измерений с помощью qПЦР уровней РНК PRRSV в сыворотке представлены ниже в табл. 7.11.

Таблица 7.11. Уровни РНК PRRSV, обнаруженные в сыворотке с помощью qПЦР (log_{10} GE/мл) в указанные дни

День	Группа [1]	N	Мин.	Макс.	Медианная величина	95% CI		Q-диапазон	Среднее значение	p-значение
7	1	20	0,00	5,34	3,00	3,00	3,79	0,82	3,17	<0,0001
	2	20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	3	10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI
14	1	20	0,00	4,29	3,32	3,00	3,77	0,84	3,30	<0,0001
	2	20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	3	10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI
17	1	20	5,54	8,07	6,72	6,47	7,08	0,80	6,78	<0,0001
	2	20	6,44	9,02	8,18	7,47	8,47	1,09	8,00	
	3	10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI
21	1	20	6,18	8,73	7,38	7,13	8,08	0,98	7,51	0,0565
	2	20	7,22	8,86	7,87	7,62	8,11	0,57	7,88	
	3	10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI
24	1	20	5,82	8,54	7,15	6,73	7,84	1,16	7,26	0,6251
	2	20	6,53	8,29	7,27	6,97	7,60	0,67	7,34	
	3	10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI
AUC 14-24	1	20	56,95	78,02	65,10	60,39	70,05	9,76	65,84	0,4945
	2	20	58,74	74,30	67,02	64,38	68,24	4,83	66,61	
	3	10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI
AUC 17-24	1	20	42,98	59,51	49,52	47,46	54,30	7,14	50,72	0,0039
	2	20	49,08	60,99	54,35	52,93	55,38	3,63	54,61	
	3	10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI

[1]группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 в дозе MID, подвергнутая контрольному заражению; группа 2 - контрольная группа, обработанная плацебо, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 -контрольная группа, обработанная плацебо, не подвергнутая контрольному заражению. NI - не включали в статистический анализ. AUC - площадь под кривой; GE/мл в день.

В день D0 РНК PRRSV не была выявлена в сыворотке ни у одного поросенка. Средние значения у вакцинированных с помощью MLV PRRS 94881 свиней составляли 3,17 и 3,30 log_{10} GE/мл в день D7 и день D14 соответственно. Указанные величины были статистически значимо выше, чем у животных в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, в оба указанных дня (p<0,0001), поскольку в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, не было выявлено присутствия РНК PRRSV вплоть до дня D17. В этот день средние величины составляли 6,78 и 8,00 log_{10} GE/мл у поросят, вакцинированных MLV PRRS 94881, и у животных в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, соответственно. В день D17 указанная величина у животных в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, была статистически значимо выше, чем у поросят, вакцинированных MLV PRRS 94881 (p<0,0001). Средние величины у поросят, вакцинированных MLV PRRS 94881, в день D21 и день D24 составляли 7,51 и 7,26 log_{10} GE/мл соответственно, по сравнению с величинами 7,88 и 7,34 log_{10} GE/мл у животных в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, измеренными в эти же дни. Ни в день D21, ни в день 24 не было выявлено статистически значимых различий между вакцинированными MLV PRRS 94881 свиньями (p≥0,0565). В течение периода исследования ни у одной свиньи в группе отрицательного контроля не было выявлено присутствия РНК PRRSV в сыворотке.

Не было выявлено различий между величинами AUC 14-24 для вакцинированных MLV PRRS 94881 свиней и для свиней в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению (65,84 и 66,61 соответственно; p=0,4945). Величина AUC в период со дня D17 по день D24 для свиней, вакцинированных MLV PRRS 94881, была статистически значимо меньше, чем для свиней в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению (50,72 и 54,61 соответственно; p=0,0039).

Количественная оценка вируса PRRS в тканях легкого.

Результаты оценки PRRSV с помощью qПЦР в индивидуальных образцах тканей легкого, собранных при осуществлении аутопсии в день D24, представлены в дополнении 1, табл. 30. Обобщение данных об уровнях РНК PRRSV, выявленных в тканях легкого с помощью qПЦР, представлено ниже в табл. 7.12, а обобщение данных о частоте встречаемости животных, для которых были получены "позитивные" результаты анализа методом qПЦР образцов, взятых при осуществлении аутопсии, представлено ниже в табл. 7.13.

Таблица 7.12. Результаты выделения вируса в легких методом qПЦР (средние значения log_{10} GE/мл) при осуществлении аутопсии (D24)

Группа[1]	N	Мин.	Макс.	Медиана	95% CI		Q-диапазон	Среднее значение	p-значение
1	20	6,63	8,26	7,46	7,07	7,86	0,84	7,47	0,0101
2	20	6,55	8,67	7,99	7,69	8,14	0,54	7,88	
3	10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI

[1]группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 в дозе MID, подвергнутая контрольному заражению; группа 2 - контрольная группа, обработанная плацебо, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 -контрольная группа, обработанная плацебо, не подвергнутая контрольному заражению. NA - не применимо вследствие отсутствия вариабельности. NI - не включали в статистический анализ.

Таблица 7.13. Частота встречаемости животных, для которых получены позитивные результаты в отношении присутствия РНК PRRSV при анализе методом qПЦР образцов ткани легкого, взятых при осуществлении аутопсии (в день D24)

День	Группа	N	%	95 % CI		Всего	P
24	1	20	100	83,2	100,0	20	NA
	2	20	100	83,2	100,0	20	
	3	0	0	0,0	30,8	10	NI

[1]группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 в дозе MID, подвергнутая контрольному заражению; группа 2 - контрольная группа, обработанная плацебо, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 -контрольная группа, обработанная плацебо, не подвергнутая контрольному заражению. NA - не применимо вследствие отсутствия вариабельности. NI - не включали в статистический анализ.

РНК PRRSV была выявлена в тканях легкого у всех поросят как в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе, так и в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению. Между этими группами не было выявлено различий. РНК PRRSV не была выявлена в тканях легкого ни у одного поросенка из группы отрицательного контроля.

Клинические обследования после контрольного заражения

Частота встречаемости поросят, для которых в период после осуществления контрольного заражения (D15-D24) при клиническом обследовании была получена по меньшей мере одна позитивная оценка, представлена ниже в табл. 7.14.

Таблица 7.14. Частота встречаемости поросят, для которых после осуществления контрольного заражения (D15-D24) был получен позитивный балл клинического обследования

Параметр	Группа[1]	Количество животных с позитивной оценкой	% животных с позитивной оценкой	95% CI		Всего	p-значение
Дыхание	1	2	10	1,2	31,7	20	0,2351
	2	6	30	11,9	54,3	20	
	3	0	0	0,0	30,8	10	NI
Поведение	1	0	0	0,0	16,8	20	0,0012
	2	9	45	23,1	68,5	20	
	3	0	0	0,0	30,8	10	NI
Кашель	1	6	30	11,9	54,3	20	0,2003
	2	11	55	31,5	76,9	20	
	3	0	0	0,0	30,8	10	NI
Суммарный показатель	1	6	30	11,9	54,3	20	0,0562
	2	13	65	40,8	84,6	20	
	3	0	0	0,0	30,8	10	NI

[1]группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 в дозе MID, подвергнутая контрольному заражению; группа 2 - контрольная группа, обработанная плацебо, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 -контрольная группа, обработанная плацебо, не подвергнутая контрольному заражению. NI - не включали в статистический анализ.

Аномальное дыхание было выявлено у животных как в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе

(10%), так и в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению (30%), однако различие между этими результатами не было статистически значимым (p=0,2351).

Аномальное поведение было выявлено только у животных из контрольной группы, подвергнутой контрольному заражения (45%), но не у животных из вакцинированной MLV PRRS 94881 группы (0%). Количество случаев аномального поведения в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе было статистически значимо меньше, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению (p=0,0012).

Кашель был выявлен у животных как в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе (30%), так и в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению (55%). Различие между этими результатами не было статистически значимым (p=0,2003).

Проценты поросят с общими клиническими баллами > 0 составляли 30 и 65% в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе и в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, соответственно. Различие между этими результатами не было статистически значимым (p=0,0562).

В группе отрицательного контроля в течение всего периода времени после осуществления контрольного заражения не было выявлено клинических признаков.

Обобщение максимальных баллов клинического обследования в группах в течение периода времени после контрольного заражения (со дня D15 по день D24) представлено ниже в табл. 7.15.

Таблица 7.15. Максимальные клинические баллы после контрольного заражения в период со дня D15 по день D24

Параметр	Группа[1]	N	Мин	Макс.	Медианная величина	95% CI		Q-диапазон	Среднее значение	p-значение
Дыхание	1	20	0	1	0	0	0	0	0,1	0,1872
	2	20	0	2	0	0	1	1	0,4	
	3	10	0	0	0	0	0	0	0,0	NI
Поведение	1	20	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0012
	2	20	0	1	0	0	1	1	0.5	
	3	10	0	0	0	0	0	0	0,0	NI
Кашель	1	20	0	1	0	0	1	1	0,3	0,1129
	2	20	0	2	1	0	1	1	0,7	
	3	10	0	0	0	0	0	0	0,0	NI
Всего	1	20	0	1	0	0	1	1	0,3	0,0072
	2	20	0	4	1	0	2	2	1,2	
	3	10	0	0	0	0	0	0	0,0	NI

[1]группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 в дозе MID, подвергнутая контрольному заражению; группа 2 - контрольная группа, обработанная плацебо, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 -контрольная группа, обработанная плацебо, не подвергнутая контрольному заражению. NI - не включали в статистический анализ.

После осуществления контрольного заражения аномальное дыхание было выявлено как в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе, так и в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, при этом максимальные баллы в этих группах составляли 1 (затрудненное дыхание/учащенное дыхание) и 2 (одышка) соответственно. Между этими баллами, характеризующими аномальное дыхание, не имелось статистически значимого различия (p=0,1872). Медианная величина максимального балла дыхания была равна 0 для обеих групп.

В период после осуществления контрольного заражения в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе не было выявлено случаев аномального поведения (максимальный балл = 0). В отличие от этого, для контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, максимальный балл поведения был равен 1 (заторможенность от слабой до умеренной; p=0,0012), хотя медианный балл для этой группы был равен 0. Максимальный балл для вакцинированной MLV PRRS 94881 группы был статистически значимо ниже, чем балл для контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению (p=0,0012). Медианные величины максимальных баллов поведения для обеих групп были равны 0.

Кашель был выявлен после осуществления контрольного заражения как в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе, так и в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению. Максимальные баллы были равны 1 (мягкий или интермиттирующий кашель) и 2 (грубый или серьезный, рецидивирующий кашель), а медианные баллы были равны 0 и 1 для вакцинированной MLV PRRS 94881 группы и контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, соответственно. Между этими группами не имелось статистически значимых различий (p=0,1129). Медианные величины максимальных баллов кашля были равны 0 и 1 для вакцинированной MLV PRRS 94881 группы и контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, соответственно.

Максимальные общие баллы были равны 1 и 4, а медианные величины общих баллов были равны 0 и 1 для вакцинированной MLV PRRS 94881 группы и контрольной группы, подвергнутой контрольному

заражению, соответственно. Максимальный балл для вакцинированной MLV PRRS 94881 группы был статистически значимо ниже, чем балл для контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению (p=0,0072). Медианные величины общих баллов были равны 0 и 1 для вакцинированной MLV PRRS 94881 группы и контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, соответственно.

В группе отрицательного контроля, которую не подвергали контрольному заражению, не было выявлено клинических признаков в период со дня D15 по день D24. Для этой группы максимальный балл для каждого из рассматриваемых параметров был равен 0.

Обобщение средних баллов клинического обследования для групп животных в период после контрольного заражения (со дня D15 по день D24) представлено ниже в табл. 7.16.

Таблица 7.16. Средние баллы клинического обследования после осуществления контрольного заражения в период со дня D15 по день D24

Параметр	Группа [1]	N	Мин.	Макс.	Медиана	95% CI		Q-диапазон	Среднее значение	p-значение
Дыхание	1	20	0,0	0,2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,1394
	2	20	0,0	0,6	0,00	0,00	0,10	0,10	0,07	
	3	10	0,0	0,0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI
Поведение	1	20	0,0	0,0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,0012
	2	20	0,0	0,8	0,00	0,00	0,10	0,10	0,12	
	3	10	0,0	0,0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI
Кашель	1	20	0,0	0,4	0,00	0,00	0,10	0,10	0,07	0,0835
	2	20	0,0	0,7	0,10	0,00	0,30	0,35	0,17	
	3	10	0,0	0,0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI
Суммарный показатель	1	20	0,0	0,4	0,00	0,00	0,10	0,15	0,08	0,0103
	2	20	0,0	1,4	0,25	0,00	0,40	0,50	0,35	
	3	10	0,0	0,0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI

[1]группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 в дозе MID, подвергнутая контрольному заражению; группа 2 - контрольная группа, обработанная плацебо, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 -контрольная группа, обработанная плацебо, не подвергнутая контрольному заражению. NI - не включали в статистический анализ.

Общие картины средних баллов клинических обследований и максимальных клинических баллов были сходными, при этом статистически значимые различия между вакцинированной MLV PRRS 94881 группой и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению, были выявлены только в среднем балле поведения (p=0,0012) и среднем общем балле (p=0,0103).

Средние баллы дыхания были равны 0,02 и 0,07 для вакцинированной MLV PRRS 94881 группы и контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, соответственно. Средние баллы поведения были равны 0,00 и 0,12 для вакцинированной MLV PRRS 94881 группы и группы контрольного заражения соответственно. Средние баллы кашля были равны 0,07 и 0,17 вакцинированной MLV PRRS 94881 группы и контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, соответственно. Средние общие баллы были равны 0,08 и 0,35 для вакцинированной MLV PRRS 94881 группы и контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, соответственно.

В группе отрицательного контроля, которую не подвергали контрольному заражению, не было выявлено клинических признаков в период исследования со дня D15 по день D24. Для этой группы максимальный балл для каждого из рассматриваемых параметров был равен 0.

Вес тела и средний суточный прирост массы.

Обобщение данных о весе тела животных, полученных в дни D0, D14 и D24, и величинах ADWG в течение периодов со дня D0 по день D14 и со дня D14 по день D24 представлены ниже в табл. 7.17.

Таблица 7.17. Вес тела и средний суточный прирост массы (кг и кг/день)

День(дни)	Группа [1]	N	Мин.	Макс.	Медианная величина	Среднее значение	SD
0	1	20	3,3	5,5	3,95	4,14	0,589
	2	20	3,2	5,2	4,05	4,17	0,603
	3	10	3,4	5,1	4,00	4,07	0,556
14	1	20	5,6	9,4	7,60	7,64	1,029
	2	20	6,0	8,9	7,30	7,39	0,909
	3	10	5,5	9,3	6,95	7,22	1,187
24	1	20	7,0	13,9	10,40	10,26	1,693
	2	20	6,4	10,9	8,80	8,87	1,328
	3	10	6,8	12,9	10,90	10,64	1,807
ADWG 0 – 14	1	20	0,164	0,343	0,2571	0,2500	0,05254
	2	20	0,179	0,307	0,2357	0,2304	0,03939
	3	10	0,150	0,307	0,2071	0,2250	0,04906
ADWG	1	20	0,090	0,460	0,2600	0,2620	0,08907
14 – 24	2	20	-0,060	0,290	0,1600	0,1475	0,09060
	3	10	0,130	0,440	0,3700	0,3420	0,10130

[1]группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 в дозе MID, подвергнутая контрольному заражению; группа 2 - контрольная группа, обработанная плацебо, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 -контрольная группа, обработанная плацебо, не подвергнутая контрольному заражению.

Средний вес тела животных в день D0 составлял 4,1 и 4,2 кг в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе и контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, соответственно. В день D14 средний вес тела животных составлял 7,6 и 7,4 кг в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе и контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, соответственно. В день D24 средний вес тела животных составлял 10,3 и 8,9 кг в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе и контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, соответственно. Средние суточные приросты массы (ADWG) в период после вакцинации (со дня D0 по день D14) составляли 0,25 и 0,23 кг/день в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе и контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, соответственно. Величины ADWG в период после контрольного заражения (со дня D14 по день D24) составляли 0,26 и 0,15 кг/день в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе и контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, соответственно. Величины ADWG в группе отрицательного контроля составляли 0,23 и 0,34 кг/день в течение периодов со дня D0 по день D14 и со дня D14 по день D24 соответственно.

В группе отрицательного контроля средний вес тела поросят составлял 4,1, 7,2 и 10,6 кг в дни D0, D14 и D28 соответственно.

Обобщение данных о среднеквадратичных величинах и результатов статистического анализа веса тела животных и ADWG для вакцинированной MLV PRRS 94881 группы и контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, представлено ниже в табл. 7.18.

Таблица 7.18. Среднеквадратичные величины веса тела и средних суточных приростов массы (кг)

День(дни)	Группа[1]	Среднеквадратичная величина	95%-ный доверительный интервал		p-значение
0	1	4,14	3,865	4,405	0,8743
	2	4,17	3,895	4,435	
	Разница между группами 1 и 2	-0,03	-0,411	0,351	
14	1	7,64	7,196	8,074	0,4297
	2	7,39	6,951	7,829	
	Разница между группами 1 и 2	0,25	-0,376	0,866	
24	1	10,26	9,566	10,944	0,0063
	2	8,87	8,176	9,554	
	Разница между группами 1 и 2	1,39	0,416	2,364	
ADWG 0 – 14	1	0,2500	0,22898	0,27102	0,1889
	2	0,2304	0,20934	0,25138	
	Разница между группами 1 и 2	0,0196	-0,01008	0,04937	
ADWG 14 – 24	1	0,2620	0,22133	0,30267	0,0003
	2	0,1475	0,10683	0,18817	
	Разница между группами 1 и 2	0,1145	0,05699	0,17201	

[1]группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 в дозе MID, подвергнутая контрольному заражению; группа 2 - контрольная группа, обработанная плацебо, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 -контрольная группа, обработанная плацебо, не подвергнутая контрольному заражению.

В день 0 среднеквадратичные величины веса тела поросят составляли 4,14 и 4,17 кг в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе и контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, соответственно. Разница составляла -0,03 кг, это различие не было статистически значимым (p=0,8743). В день D14 среднеквадратичные величины веса тела составляли 7,64 и 7,39 кг в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе и контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, соответственно. Разница составляла 0,25 кг, это различие не было статистически значимым (p=0,4297). В день D24 среднеквадратичные величины веса тела составляли 10,26 и 8,87 в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе и контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, соответственно. В этот день разница составляла 1,39 кг и вес в вакцинированной группе был статистически значимо больше, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению (p=0,0063).

Среднеквадратичные величины ADWG в период после вакцинации (D0-D14) составляли 0,25 и 0,23 кг/день в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе и контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, соответственно. Различие между этими величинами не было статистически значимым (p=0,1889). Среднеквадратичные величины ADWG в период после контрольного заражения (D14-D24) составляли 0,26 и 0,15 в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе и контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, соответственно. Величина ADWG в вакцинированной MLV PRRS 94881

группе была статистически значимо больше, чем величина ADWG в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению (p=0,0003).

Ректальные температуры.

Обобщение данных о ректальных температурах представлено ниже в табл. 7.19 и 7.20. Обобщение среднеквадратичных величин и результатов статистического анализа ректальных температур для вакцинированной MLV PRRS 94881 группы и контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, представлено ниже в табл. 7.21 и 7.22.

Таблица 7.19. Ректальная температура (°C) в период со дня 13 по день 22

День	Группа[1]	N	Мин.	Макс.	Медианная величина	Среднее значение	SD
13	1	20	39,3	40,3	39,80	39,77	0,247
	2	20	38.9	40,0	39,35	39,39	0,292
	3	10	39,0	39,7	39,15	39,26	0,267
14	1	20	39,4	40,2	39,75	39,76	0,226
	2	20	39,0	39,8	39,40	39,37	0,220
	3	10	39,1	40,3	39,40	39,51	0,375
15	1	20	39,3	40,4	39,65	39,69	0,258
	2	20	39,4	41,1	39,70	39,90	0,538
	3	10	39,1	40,3	39,40	39,52	0,371
16	1	20	39,9	41,3	40,80	40,68	0,417
	2	20	39,3	40,3	39,75	39,77	0,279
	3	10	39,1	39,9	39,45	39,46	0,263
17	1	20	39,2	40,6	39,80	39,89	0,363
	2	20	39,4	40,6	39,85	39,90	0,285
	3	10	39,2	40,0	39,50	39,53	0,226
18	1	20	39,3	41,0	39,95	39,99	0,492
	2	20	39,5	41,2	40,20	40,29	0,472
	3	10	38,9	39,7	39,30	39,30	0,211
19	1	20	39,7	41,6	40,35	40,40	0,464
	2	20	39,5	41,1	40,65	40,55	0,451
	3	10	39,0	39,6	39,20	39,22	0,199
20	1	20	39,7	41,5	40,50	40,52	0,449
	2	20	39,5	41,5	40,65	40,61	0,531
	3	10	39,1	40,1	39,40	39,49	0,281
21	1	20	39,6	41,1	40,30	40,22	0,413
	2	20	39,4	41,0	40,10	40,12	0,371
	3	10	39,2	40,2	39,45	39,59	0,351
22	1	20	39,8	41,0	40,20	40,34	0,391
	2	20	39,6	41,2	40,30	40,41	0,437
	3	10	39,0	40,0	39,40	39,45	0,276

[1]группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 в дозе MID, подвергнутая контрольному заражению; группа 2 - контрольная группа, обработанная плацебо, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 -контрольная группа, обработанная плацебо, не подвергнутая контрольному заражению.

Таблица 7.20. Ректальная температура (°C) в период со дня 23 по день 24

День	Группа[1]	N	Мин.	Макс.	Медианная величина	Среднее значение	SD
23	1	20	39,6	41,2	40,25	40,36	0,454
	2	20	39,5	41,6	40,60	40,60	0,482
	3	10	39,3	40,1	39,70	39,68	0,290
24	1	20	39,8	41,3	40,30	40,39	0,421
	2	20	39,7	41,6	40,30	40,50	0,531
	3	10	39,1	40,2	39,60	39,66	0,389

[1]группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 в дозе MID, подвергнутая контрольному заражению; группа 2 - контрольная группа, обработанная плацебо, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 - контрольная группа, обработанная плацебо, не подвергнутая контрольному заражению.

Таблица 7.21. Среднеквадратичные величины ректальной температуры (°C) в период со дня 13 по день 20

День	Группа[1]	Средне-квадратичная величина	95%-ный доверительный интервал		p-значение
13	1	39,77	39,648	39,892	<0,0001
	2	39,39	39,268	39,512	
	Разница между группами 1 и 2	0,38	0,207	0,553	
14	1	39,76	39,654	39,856	<0,0001
	2	39,37	39,269	39,471	
	Разница между группами 1 и 2	0,39	0,242	0,528	
15	1	39,69	39,494	39,876	0,1241
	2	39,90	39,704	40,086	
	Разница между группами 1 и 2	-0,21	-0,480	0,060	
16	1	40,68	40,514	40,836	<0,0001
	2	39,77	39,609	39,931	
	Разница между группами 1 и 2	0,91	0,678	1,132	
17	1	39,89	39,737	40,033	0,8852
	2	39,90	39,752	40,048	
	Разница между группами 1 и 2	-0,02	-0,224	0,194	
18	1	39,99	39,767	40,203	0,0528
	2	40,29	40,072	40,508	
	Разница между группами 1 и 2	-0,31	-0,614	0,004	
19	1	40,40	40,188	40,602	0,3065
	2	40,55	40,338	40,752	
	Разница между группами 1 и 2	-0,15	-0,443	0,143	
20	1	40,52	40,293	40,737	0,5659
	2	40,61	40,383	40,827	
	Разница между группами 1 и 2	-0,09	-0,405	0,225	

[1]группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 в дозе MID, подвергнутая контрольному заражению; группа 2 - контрольная группа, обработанная плацебо, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 -контрольная группа, обработанная плацебо, не подвергнутая контрольному заражению.

Таблица 7.22. Среднеквадратичные величины ректальной температуры (°C) в период со дня 21 по день 24

День	Группа[1]	Средне-квадратичная величина	95%-ный доверительный интервал		p-значение
21	1	40,22	40,037	40,393	0,4489
	2	40,12	39,942	40,298	
	Разница между группами 1 и 2	0,10	-0,156	0,346	
22	1	40,34	40,152	40,528	0,6231
	2	40,41	40,217	40,593	
	Разница между группами 1 и 2	-0,07	-0,331	0,201	
23	1	40,36	40,143	40,567	0,1062
	2	40,60	40,388	40,812	
	Разница между группами 1 и 2	-0,25	-0,545	0,055	
24	1	40,39	40,168	40,602	0,4526
	2	40,50	40,283	40,717	
	Разница между группами 1 и 2	-0,12	-0,422	0,192	

[1]группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 в дозе MID, подвергнутая контрольному заражению; группа 2 - контрольная группа, обработанная плацебо, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 - контрольная группа, обработанная плацебо, не подвергнутая контрольному зара-

жению.

Средние величины и среднеквадратичные величины ректальной температуры у поросят, вакцинированных MLV PRRS 94881, были равны 39,77°C в день, предшествующий дню контрольного заражения, и находились в пределах от 39,69°C (D15) до 40,68°C (D16) после контрольного заражения. Средние величины и среднеквадратичные величины ректальной температуры у животных в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, были равны 39,39°C в день, предшествующий дню контрольного заражения, и находились в пределах от 39,77°C (D16) до 40,61°C (D20) после контрольного заражения. Среднеквадратичные величины ректальной температуры у животных в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, были статистически значимо ниже, чем у поросят, вакцинированных MLV PRRS 94881, в период до контрольного заражения (дни D13 и D14) и в день D16 после контрольного заражения ($p<0,0001$). В настоящем исследовании не было выявлено других статистически значимых различий в ректальной температуре у свиней, вакцинированных MLV PRRS 94881, и у животных из контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению ($p\geq0,0528$). У животных в группе отрицательного контроля на протяжении исследования средние величины и среднеквадратичные величины ректальной температуры оставались на уровне ≤39,68°C.

Клиническая оценка после вакцинации

Обобщение данных о проценте поросят, для которых был получен по меньшей мере один "позитивный" результат при оценке в период со дня D1 по день D12, представлено ниже в табл. 7.23.

Таблица 7.23. Процент поросят, для которых был получен по меньшей мере один "позитивный" результат при клинической оценке в период со дня D1 по день D12

Группа[1]	Количество животных с позитивной оценкой	% животных с позитивной оценкой	95% CI		Всего	p-значение
1	0	0	0,0	16,8	20	1,0000
2	1	5	0,1	24,9	20	
3	0	0	0,0	30,8	10	NI

[1]группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 в дозе MID, подвергнутая контрольному заражению; группа 2 - контрольная группа, обработанная плацебо, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 -контрольная группа, обработанная плацебо, не подвергнутая контрольному заражению; NI - не включали в статистический анализ.

Ни у одного поросенка в группе животных, вакцинированных MLV PRRS 94881, и в группе отрицательного контроля не было выявлено никаких клинических признаков период вакцинации со дня D-1 по день D12. У поросенка 110 в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, было обнаружено воспаление за правой передней ногой, начавшееся в день D9. Между группой поросят, вакцинированных MLV PRRS 94881, и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению, не было выявлено статистически значимых различий касательно указанного параметра (p=1,0000).

Серологический анализ на PRRS

Обобщение данных о частоте встречаемости поросят с позитивными титрами антител к вирусу PRRS представлено ниже в табл. 7.24.

Таблица 7.24. Частота встречаемости поросят с позитивными титрами антител к вирусу PRRS в указанные дни

День	Группа[1]	Количество поросят с позитивными титрами	% поросят с позитивными титрами	95% CI		Всего	p-значение
7	1	0	0	0,0	16,8	20	NA
	2	0	0	0,0	16,8	20	
	3	0	0	0,0	30,8	10	NI
14	1	17	85	62,1	96,8	20	<0,0001
	2	0	0	0,0	16,8	20	
	3	0	0	0,0	30,8	10	NI
17	1	19	95	75,1	99,9	20	<0,0001
	2	0	0	0,0	16,8	20	
	3	0	0	0,0	30,8	10	NI
21	1	20	100	83,2	100,0	20	0,0012
	2	11	55	31,5	76,9	20	
	3	0	0	0,0	30,8	10	NI
24	1	20	100	83,2	100,0	20	1,0000
	2	19	95	75,1	99,9	20	
	3	0	0	0,0	30,8	10	NI

[1]группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881 в дозе MID, подвергнутая контрольному заражению; группа 2 - контрольная группа, обработанная плацебо, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 -контрольная группа, обработанная плацебо, не подвергнутая контрольному заражению. NA - не применимо вследствие отсутствия вариабельности. NI - не включали в статистический

анализ.

Все поросята во всех группах обработки имели негативный статус в отношении антител к вирусу PRRS в дни D0 и D7. В день D14 у 85% свиней, вакцинированных MLV PRRS 94881, были выявлены позитивные титры антител к вирусу PRRS. Это количество возросло до 95% в день D17, и оно составляло 100% в оба дня D21 и D24. Ни у одной свиньи в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, не были выявлены позитивные титры антител к вирусу PRRS вплоть до дня D21 (через 7 дней после осуществления контрольного заражения), когда у 55% свиней были обнаружены позитивные титры. Это количество возросло до 95% в день D24. В дни D14, D17 и D21 в группе свиней, вакцинированных MLV PRRS 94881, пропорция свиней с позитивными титрами антител к вирусу PRRS была статистически значимо больше, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению ($p \leq 0{,}0012$). Ни у одной свиньи в группе отрицательного контроля на протяжении всего исследования не были выявлены титры антител к вирусу PRRS.

Обсуждение/выводы

Для достижения цели исследования в план исследования в день D0 были включены три группы: группа, обработанная вакциной с $1 \times 10^{3,82}$ $TCID_{50}$ MLV PRRS 94881 (группа 1); контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению, которой вводили контрольный продукт (группа 2) и группа отрицательного контроля (группа 3), которой также вводили контрольный продукт.

Двадцати (20) здоровым восприимчивым к PRRS и имеющим серонегативный статус поросятам возрастом примерно 14 дней вводили IM 1 мл MLV PRRS 94881. Тридцати (20 поросятам в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, и 10 поросятам в группе отрицательного контроля) восприимчивым к PRRS и имеющим серонегативный статус поросятам возрастом примерно 14 дней вводили IM 1 мл контрольного продукта.

Для определения того, имеет ли место начало развития иммунитета через 2 недели после введения MLV PRRS 94881, животных в вакцинированной группе и в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, через 14 дней после осуществления вакцинации подвергали контрольному заражению гетерологичным изолятом европейского PRRSV (изолят 205817) и оценивали соответствующее снижение повреждения легких после контрольного заражения.

Валидация исследования (группа отрицательного контроля 3).

Для того чтобы иметь возможность удостовериться в том, что исходные подсвинки не были заражены PRRSV и что в процессе исследования не имел место контакт с попавшим извне PRRSV или перекрестное заражение между группами обработки и контрольными группами, в план исследования была включена группа отрицательного контроля (группа 3). Поросята, входящие в группу отрицательного контроля, на протяжении всего исследования имели негативный PRRSV-статус (по результатам оценки уровня виремии с помощью qПЦР), а также в отношении антител к вирусу PRRS, что являлось валидацией настоящего исследования.

Валидация модели контрольного заражения (контрольная группа 2, подвергнутая контрольному заражению).

Модель контрольного заражения, позволяющая индуцировать требуемое клиническое заболевание PRRS, необходима для адекватной оценки начала развития иммунитета в лабораторных условиях. После заражения изолятом 205817 европейского вируса PRRS согласно ранее описанному методу у животных в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, была выявлена ректальная температура $\geq$ 40,50°C в дни D19, D20 D23 и D24 (в те же самые дни в группе отрицательного контроля температура была $\leq$ 39,68°C), средняя величина ADWG в период со дня D14 по день D24 составляла 0,15 кг/день по сравнению со средней величиной ADWG, составлявшей 0,34 кг/день в группе отрицательного контроля, аномальное поведение, кашель и медианная величина балла повреждений легких, составлявшая 55,2% (в группе отрицательного контроля она составляла 0,00%). Эти результаты свидетельствуют о том, что у животных в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, индуцировалось серьезное заболевание со специфическими для PRRS клиническими признаками даже несмотря на то, что титр вируса при осуществлении контрольного заражения был немного ниже заданной дозы, это является валидацией рассматриваемой модели контрольного заражения в качестве адекватного клинического лабораторного инструмента для оценки эффективности вакцины против PRRS и более конкретно для оценки OOI при использовании MLV PRRS 94881.

Определение начала развития иммунитета через две недели после введения MLV PRRS 94881 (группа 1).

Доказательство того, что начало развития иммунитета имеет место через две недели после вакцинации с использованием MLV PRRS 94881, было основано на данных том, что после осуществления контрольного заражения у животных в вакцинированной группе выло выявлено статистически значимо ($p \leq 0{,}05$) меньшие повреждения легких по сравнению с контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению.

Повреждения легких были выбраны в качестве основного параметра для определения OOI через 2 недели, поскольку этот параметр обеспечивает с клинической точки зрения наиболее адекватное и убе-

дительное доказательство эффективности при оценке новой вакцины с использованием модели контрольного заражения PRRS свиней респираторным путем. Развитие повреждений легких является одним из характерных признаков респираторного заболевания PRRS у свиней. Повреждения легких часто сопровождаются проявляющимися позднее вторичными признаками заболевания, вызываемого PRRSV, такими как клинические признаки, гипертермия, снижение ADWG и т.д.

У животных в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе после контрольного заражения была выявлена статистически значимо меньшая макроскопическая патология в легких, о чем свидетельствовала медианная величина общего балла повреждений легких, составлявшая 27,6%, по сравнению с контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению, в которой медианная величина общего балла повреждений легких, составляла 55,2% (p=0,0002). Таким образом, с использованием основного параметра, свидетельствующего о статистически значимо меньших повреждениях легких после контрольного заражения, было установлено, что имеет место OOI через 2 недели после введения MLV PRRS 94881 в дозе $1\times10^{3,82}$ $TCID_{50}$ Этот результат был достигнут при использовании вакцины в дозе, немного более низкой, чем минимальная иммунизирующая доза, составляющая $1\times10^{4,5}$ $TCID_{50}$/дозу.

Уровень виремии после контрольного заражения был выбран в качестве наиболее важного вторичного параметра, поскольку он характеризует уровень репликации и персистентность вируса после его попадания в организм животного-хозяина. Статистически значимое ($p\leq0,05$) снижение уровня виремии должно свидетельствовать о том, что вакцина против PRRS индуцирует адекватный иммунитет для ограничения патогенеза PRRSV в организме хозяина. Через 3 дня после контрольного заражения (день D17) в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе было выявлено статистически значимое снижение медианного уровня виремии (по данным qПЦР) по сравнению с контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению (6,72 GE/мл по сравнению с 8,18 GE/мл; $p\leq0,0001$). С целью дополнительной оценки уровня виремии после контрольного заражения рассчитывали величину вирусной нагрузки в течение определенного периода времени после контрольного заражения, который обозначают как "площадь под кривой" или AUC. Для группы животных, вакцинированных MLV PRRS 94881, медианная величина AUC за период со дня D17 по день D24 составляла 49,52 GE/мл/день; в то время как для контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, медианная величина AUC составляла 54,35 GE/мл/день. Медианная величина AUC за период со дня D17 по день D24 для вакцинированной группы была статистически значимо меньше, чем для контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению (p=0,0039). Вне зависимости от того, оценивали уровень виремии через 3 дня после контрольного заражения или в течение определенного периода времени после контрольного заражения, вакцина MLV PRRS 94881, введенная за две недели до контрольного заражения вирулентным гетерологичным европейским штаммом вируса PRRS статистически значимо ($p\leq0,05$) снижала уровень виремии после осуществления контрольного заражения.

С точки зрения иммунитета, вызываемого вакциной против PRRS, наряду со снижением уровня виремии после контрольного заражения вирусом PRRS большую важность может представлять собой также статистически значимое ($p\leq0,05$) уменьшение вирусной нагрузки в ткани легкого. Уменьшение вирусной нагрузки в ткани легкого может быть ассоциировано с уменьшением стабильности, репликации и персистентности вируса в организме хозяина и оно может в свою очередь приводить к снижению передачи PRRSV другим свиньям. В настоящем исследовании было установлено, что по результатам qПЦР медианная величина вирусной нагрузки в тканях легкого у животных в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе через 10 дней после контрольного заражения (D24) составляла 7,46 $\log_{10}$ GE/мл, в то время как в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, указанная медианная величина по данным qПЦР составляла 7,88 $\log_{10}$ GE/мл. Различие между вакцинированной группой и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению, было статистически значимым (p=0,0101), что служит дополнительным подтверждением того, что OOI имеет место через 2 недели.

Выраженное снижение серьезности и частоты клинических признаков у поросят после контрольного заражения также подтверждает эффективность вакцины против PRRS и свидетельствует о том, что OOI имело место через 2 недели после вакцинации с использованием MLV PRRS 94881. Ни в одной из групп после контрольного заражения не было выявлено достаточно серьезного и встречающегося с достаточной частотой аномального дыхания, при этом не было выявлено статистически значимых различий между группами в отношении указанных параметров ($p\geq0,1394$). В отличие от этого, серьезность и частота встречаемости кашля были примерно одинаковыми в группах, при этом не было выявлено различий между группами в отношении указанных параметров ($p\geq0,0835$). Были выявлены различия между группами в серьезности и частоте встречаемости аномального поведения (заторможенность) после контрольного заражения. Аномальное поведение было выявлено по меньшей мере в один из дней после контрольного заражения у 0 из 20 (0%) и 9 из 20 (45%) поросят в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе и контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, соответственно (p=0,0012). Аналогично этому, для вакцинированной MLV PRRS 94881 группы были получены более низкие максимальные аномальные клинические баллы и средние аномальные клинические баллы после контрольного заражения по сравнению с контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению (p=0,0012). При анализе

максимальных баллов и средних баллов в период со дня D15 по D24 были выявлены статистически значимые различия между группами в общих клинических баллах (сумма баллов дыхания, поведения и кашля). Вследствие того, что на общие баллы влияют баллы аномального поведения, то для вакцинированной MLV PRRS 94881 группы был получен статистически значимо более низкий максимальный общий балл и более низкий средний общий балл по сравнению с группой контрольного заражения ($p \leq 0,0103$). Выявленные различия между группами в серьезности и частоте встречаемости аномального поведения служат дополнительным подтверждением того, что OOI имеет место через 2 недели после вакцинации.

Перед осуществлением контрольного заражения в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе имели место немного более высокие средние ректальные температуры по сравнению с контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению, в день D13 (39,77°C по сравнению с 39,39°C соответственно; $p<0,0001$) и в день D14 (39,76°C по сравнению с 39,37°C соответственно; $p<0,0001$). Хотя перед осуществлением контрольного заражения между группами были выявлены статистически значимые различия ($p \leq 0,05$), указанные различия не были важны с биологической точки зрения. После контрольного заражения статистически значимое различие ($p \leq 0,05$) между группами в средних ректальных температурах было выявлено только в один день, а именно, в день D16 (через 2 дня после осуществления контрольного заражения). В день D16 средние ректальные температуры в вакцинированной группе и контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, составляли 40,68°C и 39,77°C соответственно, при этом различие между группами было статистически значимым ($p<0,0001$). Средняя ректальная температура через 4-5 дней после осуществления контрольного заражения повысилась до уровня, превышающего 40°C, и оставалась на уровне выше 40°C в обеих группах до конца исследования.

Наличие в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, выраженного аномального поведения, виремии, патологии легких и вирусной нагрузки в тканях легких вследствие PRRS обусловило наличие статистически значимых ($p \leq 0,05$) различий между группами в величинах ADWG после контрольного заражения. В настоящем исследовании для вакцинированной группы и контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, были получены средние величины ADWG в период со дня D14 по день D24, составлявшие 0,3 кг/день и 0,1 кг/день соответственно, при этом различия между группами были статистически значимыми ($p=0,0003$). Наличие статистически значимого ($p \leq 0,05$) различия между группами в величинах ADWG после контрольного заражения служит дополнительным подтверждением того, что OOI имеет место через 2 недели после вакцинации.

Проанализированные в настоящем исследовании параметры, полученные после вакцинации.

У поросят после вакцинации в день D0 при проведении клинических оценок не было получено никаких аномальных признаков, связанных с вакцинацией с использованием MLV PRRS 94881, или с контрольным продуктом. У одного поросенка из контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, было выявлено воспаление за правой передней ногой, начавшееся в день D9, которое, по-видимому, не было ассоциировано с введением контрольного продукта.

Все поросята в день D0 имели PRRS-негативный статус по данным серологического анализа методом ELISA, это подтверждает то, что все поросята удовлетворяли критерию включения, заключающемуся в том, что они должны иметь PRRS-негативный статус при включении в исследование. У большинства поросят, обработанных MLV PRRS 94881, ко дню D14 произошла PRRS-сероконверсия и все поросята, обработанные вакциной против PRRSV, имели серопозитивный статус через 7 дней после контрольного заражения (D21). В отличие от этого, контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению, сохраняла серонегативный статус в течение 7 дней после контрольного заражения, после чего в этой группе начала происходить сероконверсия. Группа отрицательного контроля сохраняла серонегативный статус в отношении вируса PRRS на протяжении всего периода исследования.

В дни 7 и 14 после вакцинации по данным qПЦР средние величины вирусной нагрузки в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе составляли 3,17 и 3,30 $\log_{10}$ GE/мл соответственно. Эти результаты свидетельствуют о том, что доза MLV PRRS 94881 с титром $1 \times 10^{3,82}$ $TCID_{50}$ в течение 2 недельного периода времени после вакцинации обеспечивала достаточный уровень репликации MLV, который, как правило, требуется для выработки защитного иммунитета уже через две недели после вакцинации. В отличие от этой группы, в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, и группе отрицательного контроля в период со дня D0 по день D14 PRRSV-виремия не была выявлена.

Выводы

Статистически значимо ($p \leq 0,05$) меньшие повреждения легких, клинические признаки, уровень репликации вируса в крови и легких после контрольного заражения, а также более высокие показатели роста, являются доказательством того, что имело место OOI через 2 недели после вакцинации поросят возрастом примерно 14 дней однократной дозой MLV PRRS 94881 с титром $1 \times 10^{3,82}$ $TCID_{50}$/мл.

Пример 8. Оценка продолжительности действия вызываемого MLV PRRS 94881 иммунитета у восприимчивых свиней двухнедельного возраста после контрольного заражения гетерологичным изолятом европейского вируса PRRS через 26 недель после вакцинации.

Цель данного исследования с использованием вакцинации-контрольного заражения заключалась в

оценке продолжительности действия иммунитета (DOI) через 26 недель после введения вакцины-кандидата на основе модифицированного живого вируса, представляющего собой изолят 94881, выведенный из европейского вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней (MLV PRRS 94881), серонегативным в отношении вируса PRRS свиньям возрастом 14±3 дней. Основным критерием эффективности, свидетельствующим о том, что имела место DOI, составлявшая 26 недель после вакцинации, являлись статистически значимо ($p \leq 0,05$) меньшие баллы повреждений легких (макроскопические или выявленные путем гистологического анализа) после контрольного заражения у животных в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе (группа 1) по сравнению с контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению (группа 2).

В день 0 (D0) 22 свиньям, включенным в группу, предназначенную для обработки вакциной, вводили IM по 1,0 мл MLV PRRS 94881 ($1 \times 10^{4,27}$ $TCID_{50}$) IM (группа 1), 22 свиньям, включенным в контрольную группу, подвергнутую контрольному заражению, вводили IM по 1,0 мл контрольного продукта (продукт-плацебо, не содержащий MLV PRRS 94881, группа 2) и 12 свиньям, включенным в группу отрицательного контроля, вводили также по 1,0 мл контрольного продукта IM (группа 3). Животных в группах 1 и 2 подвергали контрольному заражению в день D179 (день после контрольного заражения {DPC} 0) вирулентным штаммом европейского PRRSV и осуществляли мониторинг свиней в течение 10 дней после контрольного заражения, оценивая клинические признаки, средний суточный прирост массы и виремию. В день D189 (DPC 10) свиней подвергали аутопсии и оценивали макроскопические и выявляемые гистологическим путем повреждения легких и вирусную нагрузку в легких.

Медианные величины баллов макроскопических повреждений легких в день D189 (DPC 10) составляли 0,1% и 13,8% у свиней в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе и в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, соответственно ($p<0,0001$). Медианные величины баллов повреждений легких, выявляемых гистологическим путем, в день DPC 10 составляли 6,0 и 19,5 у свиней в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе и в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, соответственно ($p<0,0001$). У вакцинированных MLV PRRS 94881 свиней вирусная нагрузка в сыворотке в дни 3, 7 и 10 после контрольного заражения была статистически значимо меньше, чем у животных в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, ($p \leq 0,0001$). Используемые для анализа виремии после контрольного заражения величины площади под кривой (AUC) в течение периодов времени со дня DPC 0 по день DPC 10 и со дня DPC 3 по день DPC 10 для вакцинированных MLV PRRS 94881 свиней (15,54 и 8,88 $\log_{10}$ GE/мл в день, соответственно) также были статистически значимо меньше, чем для животных в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению (44,77 и 36,43 $\log_{10}$ GE/мл в день соответственно, $p<0,0001$). Медианные величины вирусной нагрузки в тканях легких, собранных при осуществлении аутопсии, по данным qПЦР составляли 3,69 и 6,25 $\log_{10}$ GE/мл для вакцинированных MLV PRRS 94881 свиней и животных в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, соответственно ($p<0,0001$). Не было выявлено статистически значимых различий в клинических признаках после контрольного заражения ($p \geq 0,4878$).

Выявленные статистически значимо ($p \leq 0,05$) меньшие макроскопические и выявляемые гистологическим путем повреждения легких, меньшая вирусная нагрузка в тканях легких, собранных при осуществлении аутопсии, и меньший уровень виремии после контрольного заражения у вакцинированных MLV PRRS 94881 свиней по сравнению с животными в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, подтверждают эффективность вакцины против вирулентного PRRSV в случае контрольного заражения через 26 недель после вакцинации. Результаты данного исследования свидетельствуют о том, что иммунитет сохранялся в течение 26 недель после вакцинации у свиней, вакцинированных MLV PRRS 94881 в возрасте 2 недель. Указанные результаты были получены при использовании вакцины в дозе $1 \times 10^{4,27}$ $TCID_{50}$/мл, которая была немного ниже минимальной иммунизирующей дозы ($1 \times 10^{4,5}$ $TCID_{50}$/мл), установленной для данного исследуемого ветеринарного продукта.

Задача(и)/цель исследования

Задача настоящего исследования с использованием вакцинации-контрольного заражения заключалась в оценке продолжительности действия иммунитета (DOI), обеспечиваемого введением модифицированного живого вируса, Code 19S1.U, (MLV PRRS 94881), представляющего собой изолят 94881, выведенный из европейского вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней, имеющим PRRS-серонегативный статус свиньям возрастом 14 ± 3 дня против вирулентного гетерологичного изолята европейского вируса PRRS, заражение которым осуществляли через 26 недель после вакцинации. Основным критерием эффективности, свидетельствующим о том, что имела место DOI, составлявшая 26 недель после вакцинации, являлись статистически значимо ($p \leq 0,05$) меньшие баллы повреждений легких (макроскопические или выявленные путем гистологического анализа) после контрольного заражения у животных в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе (группа 1) по сравнению с контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению (группа 2).

Вспомогательные параметры эффективности включали уровни виремии после вакцинации и после контрольного заражения, клинические оценки после вакцинации, результаты серологического анализа на PRRS, данные клинических обследований после контрольного заражения, средний суточный прирост

массы (ADWG), ректальные температуры и количественную оценку PRRSV в легких. Уровень виремии после контрольного заражения рассматривали в качестве наиболее важного вспомогательного параметра, поскольку он является объективным и поддающимся количественной оценке параметром. Следующим по важности вспомогательным параметром, используемым в процессе определения DOI, были ректальные температуры и результаты клинических обследований. И, наконец, в качестве вспомогательных параметров в дополнение к основным параметрам при решении поставленной задачи использовали показатели роста, результаты серологического анализа и результаты обнаружения вируса в легких.

График событий

Таблица 8.1. График событий

День исследования	Даты	Основные события в процессе исследования
-7	04 февраля 2010 г.	Сбор образцов крови для скрининга в отношении PRRS-негативного статуса методом ELISA
-2	09 февраля 2010 г.	Осуществление обследования состояния здоровья
с -1 по 21	с 10 февраля 2010 г. По 04 марта 2010 г.	Ежедневные клинические обследования
0	11 февраля 2010 г.	Регистрация веса тела животных; сбор образцов крови для серологического анализа и анализа виремии; вакцинация группы 1 IVP, вакцинация групп 2 и 3 CP
7	18 февраля 2010 г.	Сбор образцов крови для серологического анализа и анализа виремии
13	24 февраля 2010 г.	Вакцинация свиней 1,0 мл вакцины CircoFlex® Вживление каждой участвующей в исследовании свинье микрочипа SC в левую область шеи
14	25 февраля 2010 г.	Сбор образцов крови для серологического анализа и анализа виремии
21	04 марта 2010 г.	Сбор образцов крови для серологического анализа и анализа виремии
с 22 по 177	с 05 марта 2010 г. по 07 августа 2010 г.	Проведение клинических обследований по меньшей мере 3 раза в неделю
28	11 марта 2010 г.	Сбор образцов крови для серологического анализа и анализа виремии
56	08 апреля 2010 г.	Сбор образцов крови для серологического анализа и анализа виремии
84	06 мая 2010 г.	Сбор образцов крови для серологического анализа и анализа виремии
112	03 июня 2010 г.	Сбор образцов крови для серологического анализа и анализа виремии
140	01 июля 2010 г.	Сбор образцов крови для серологического анализа и анализа виремии
168	29 июля 2010 г.	Сбор образцов крови для серологического анализа и анализа виремии
с D178 (DPC-1) по D189 (DPC 10)	с 08 августа 2010 по 19 августа 2010 г.	Ежедневные клинические обследования и измерение ректальных температур
D179 (DPC 0)	09 августа 2010 г.	Измерения веса тела; сбор образцов крови для серологического анализа и анализа виремии; контрольное заражение групп 1 и 2 гетерологичным изолятом европейского вируса PRRS
D182 (DPC 3)	12 августа 2010 г.	Сбор образцов крови для серологического анализа и анализа виремии
D186 (DPC 7)	16 августа 2010 г.	Сбор образцов крови для серологического анализа и анализа виремии
D188 (DPC 9)	18 августа 2010 г.	Измерения веса тела
D189 (DPC 10)	19 августа 2010 г.	Сбор образцов крови для серологического анализа и анализа виремии Умерщвление свиней и осуществление аутопсии Балльная оценка патологических повреждений легких Сбор образцов ткани легких для выделения вируса и гистопатологического анализа

План исследования

Настоящее исследование представляло собой слепое исследование с использованием вакцинации-контрольного заражения, которое проводили на 56 PRRS-серонегативных вируса поросятах-отъемышах, имевших возраст 14 ± 3 дня в день 0 (D0). Обобщение данных о настоящем исследовании представлено в табл. 8.2.

Таблица 8.2. План исследования

Группа	Количество свиней в день D0	Обработка в день D0 (возраст 14 ± 3 дня)	Контрольное заражение в день D179 (DPC 0) с использованием 1,0 мл/ноздрю и 1,0 мл IM изолята PRRSV 205817 (средний титр $1 \times 10^{6,27}$ $TCID_{50}$/3 мл)	Умерщвление и проведение аутопсии в день D189 (DPC 10)
1	22	1,0 мл IVP (MLV PRRS 94881), IM	да	да
2	22	1,0 мл контрольного продукта (CP; плацебо-продукт, не содержащий MLV PRRS 94881), IM	да	да
3	12	1,0 мл CP, IM	нет	да

Критерии для проведения слепого исследования.

Исследователь и уполномоченные лица не имели информации о животных, распределенных по группам обработки, в течение прижизненной фазы исследований. Для выдерживания условий слепого исследования представители BIVI осуществляли мониторинг рандомизации, а проведение назначенных обработок с использованием IVP и CP в день D0 осуществлял специалист, который не участвовал в обследованиях свиней (а именно, в клинических оценках, клинических обследованиях или проведении аутопсий). Персонал лаборатории BIVI при выполнении соответствующих поставленных перед ним задач не имел информации о том, каким продуктом обрабатывали каждую свинью.

Материалы

Исследуемый ветеринарный продукт (IVP) и контрольный продукт

Таблица 8.3. IVP

Непатентованное название продукта:	Модифицированный живой вирус репродуктивно-респираторного синдрома свиней
Штамм:	94881
Производство и приготовление препарата:	Вакцина MLV PRRS 94881, лот 390-005 (см. раздел 15.4) была изготовлена на фирме BIVI-St. Joseph Production в соответствии со схемой производства, код 19S1.U_ и досье EU, часть 2b. В день D0, на фирме BIVI-Ames осуществляли восстановление/разведение вакцины MLV PRRS 94881, лот 390-005, забуференным фосфатом физиологическим раствором (ЗФР; лот 809-002, см. раздел 15.5) с получением IVP, лот № N257-137 в заданной дозе, составляющей примерно $1 \times 10^{4,5}$ $TCID_{50}$/мл.
Производитель:	Фирма Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc. 2621 North Belt Highway Сент-Джозеф, шт. Миссури, 64506, США
Номер лота:	390-005, после восстановления лот № 257-137
Срок годности:	Срок годности до 11 февраля 2010 г. был установлен для IVP только для целей исследования.
Условия хранения:	Лиофилизированная вакцина: при 2-8°C Регидратированная/разведенная IVP: на льду
Тестирование:	MLV PRRS 94881, лот 390-005, и ЗФР, лот 809-002, тестировали в BIVI-QC в соответствии с проектом схемы производства (раздел 15.1) и более подробными указаниями, изложенными в досье EU, часть 2.F. Персонал лаборатории BIVI-Ames осуществлял тестирование аликвот IVP до и после вакцинации для определения титра вируса в соответствии с процедурой титрования PRRSV (раздел 15.1).
Результаты тестирования:	лот 390-005: получены удовлетворительные результаты (раздел 15.4). лот 809-002: получены удовлетворительные результаты (раздел 15.5). IVP, лот N257-137: Средняя величина титра $1 \times 10^{4,27}$ $TCID_{50}$/мл (раздел 15.7).
Сохранение IVP:	IVP восстанавливали/разводили только для того, чтобы сразу использовать в настоящем исследовании и не сохраняли после осуществления вакцинации.

Таблица 8.4. CP

Непатентованное название продукта:	Плацебо
Препарат:	Лиофилизированный продукт, представляющий собой плацебо, который содержал инертный материал, присутствующий в серийной вакцине, без MLV PRRS 94881 (лот N240-191-062409, раздел 15.6), был изготовлен на фирме BIVI-Production. В день D0, на фирме BIVI-Ames лот N240-191-062409 восстанавливали с помощью забуференного фосфатом физиологического раствора (ЗФР, лот 809-002, раздел 15.5) с получением CP, лот № N257-134
Производитель:	Фирма Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc. 2621 North Belt Highway Сент-Джозеф, шт. Миссури 64506, США
Номер лота:	лот N240-191-062409, после восстановления лот N257-134
Срок годности:	Срок годности до 11 февраля 2010 г. был установлен для CP только для целей исследования.
Условия хранения:	Лиофилизированная вакцина: при 2-8°C Регидратированный CP: при 2-8°C или на льду
Тестирование:	лот N240-191-062409 и лот N257-134 тестировали на фирме BIVI-QC в отношении EP-стерильности
Результаты тестирования:	лот N240-191-062409: результаты оценки стерильности были удовлетворительными (раздел 15.6). лот 809-002: результаты оценки стерильности были удовлетворительными; было установлено, что CP являлся стерильным (раздел 15.7).
Сохранение CP:	CP восстанавливали/разводили только для того, чтобы использовать в настоящем исследовании и не сохраняли после осуществления вакцинации.

Материал для контрольного заражения

Таблица 8.5. Материал для контрольного заражения

Название/количество изолятов	Изолят 205817 вируса PRRS
Место и дата выделения, включая клинические симптомы	Изолят 205817 европейского вируса PRRS был выведен из изолята № 190136, впервые полученного из ткани легкого новорожденного поросенка на ферме, где были выявлены типичные касающиеся репродуктивной способности признаки PRRS (выкидыши у подсвинок и ослабленные новорожденные поросята) во время вспышки заболевания, имевшей место в Нижней Саксонии, Германия, в апреле 2004 г. Штатные ветеринарные врачи передали образцы в лабораторию bioScreen (образец был получен 21 апреля 2004 г.). Изолят № 190136 размножали непосредственно на клетках линии AK-MA104 и получали чистую культуру штамма для контрольного заражения. Чистую культуру изолята 190136 использовали для инокуляции свиней с целью оценки ее способности воспроизводить респираторное заболевание со специфическими для PRRS признаками в условиях контролируемого лабораторного эксперимента. У подвергнутых контрольному заражению животных проявлялся респираторный дистресс-синдром, и при гистопатологическом исследовании было выявлено наличие интерстициальной пневмонии. Вирус PRRS был успешно повторно выделен из областей повреждения легкого и изолят получил обозначение 205817. Изолят 205817 размножали непосредственно на клетках линии MA104 и получали чистую маточную культуру штамма для контрольного заражения с целью применения для будущих клинических исследований в BIVI.
Препарат:	Вирус для контрольного заражения размножали в клетках линии AK-MA104 и в день D179 приготавливали препарат с заданным титром, составляющим примерно 1×10^{6} $TCID_{50}$ на дозу 3 мл. Приготавливали материал для контрольного заражения в необходимом количестве. Из материала для контрольного заражения отбирали две аликвоты по 5 мл для целей анализа перед транспортировкой материала для контрольного заражения в VRI.
Номер лота:	N270-179
Производитель:	Фирма Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc., США
Условия хранения	Нерасфасованный материал хранили при -70 ± 10°C. После приготовления разведенный материал для контрольного заражения хранили на льду до его введения.
Тестирование:	Персонал лаборатории BIVI-Ames осуществлял тестирование аликвот до и после осуществления контрольного заражения для определения титра вируса в соответствии с процедурой титрования PRRSV
Результаты тестирования:	Материал для контрольного заражения имел среднюю величину титра $1 \times 10^{6,27}$ $TCID_{50}$ на дозу 3 м
Путь введения:	1,0 мл/ноздрю и 1,0 мл IM в правую область шеи
Сохранение материала для контрольного заражения:	Материал для контрольного заражения подвергали оттаиванию/разведению только для целей настоящего исследования и не сохраняли после осуществления контрольного заражения.

Обработки.

Подтверждение доз.

IVP вводили в дозе 1,0 мл свиньям из соответствующей группы обработки для оценки DOI MLV PRRS 94881 через 26 недель после вакцинации. CP вводили в дозе 1,0 мл животным в группах 2 и 3 в качестве вакцины-плацебо.

Схема введения доз.

Специалист, не принимавший участия в сборе экспериментальных данных, вводил IVP или CP свинье из соответствующей группы обработки в правую область шеи IM в день D0 с использованием стерильного 3,0 мл шприца с разъемом типа Луер-Лок и стерильной иглы 20g × 1 дюйм (2,54 см). Схема введения доз представлена ниже в табл. 8.6

Таблица 8.6. Схема введения доз

Группа	Количество животных	Обработка	Доза/путь введения	День исследования
1	22	IVP	1,0 мл, IM	D0
2	22	CP	1,0 мл, IM	D0
3	12	CP	1,0 мл, IM	D0

Сопутствующие обработки.

Поскольку вскоре после начала исследования было обнаружено, что несколько свиней умерло вследствие бактериальных инфекций, то Исследователь и Наблюдатель приняли согласованное решение о проведении следующих сопутствующих обработок всех участвующих в исследовании животных (раздел 15.10):

день 20: Mu-Se® (витамин E/селен, фирма Intervet/фирма Schering Plough Animal Health, США), 0,1 мл, IM в правое бедро;

день 21: EXCEDE® (цефтиофур, фирма Pfizer Animal Health, США), 0,5 мл в левое бедро;

день 35: EXCEDE® (цефтиофур, фирма Pfizer Animal Health, США), 1,0 мл в правое бедро;

день 42: EXCEDE® (цефтиофур, фирма Pfizer Animal Health, США), 1,0 мл в левое бедро;

день 47: BAYTRIL 100® (энрофлоксацин, фирма Bayer Animal Health, США), 1,5 мл, SC в левую область шеи.

Витамин E/селен вводили для предупреждения сердечного заболевания, обусловленного дефицитом витамина E и селена (mulberry heart disease), а обработку антибиотиками осуществляли для лечения/предупреждения бактериальных инфекций.

Информация о животных

Подробное описание исследований на животных

Таблица 8.7. Информация о животных

Источник:	Фермы Prairie View, N5627 Hwy DD, Берлингтон, шт. Висконсин, 53105		
Количество свиней:	56		
День прибытия:	Свиньи прибыли на фирму Veterinary Resources, Inc. (VRI) Cambridge facility в день D-2 (09 февраля 2010 г.).		
Идентификация:	Для идентификации каждое животное в день прибытия D-2 снабжали двумя ушными бирками. Кроме того, каждому животному в день D13 вживляли SC в левую область шеи электронный микрочип.		
Вид:	Свинья		
Порода:	Промышленная порода		
Пол:	Самки или кастрированные самцы.		
Возрастной диапазон:	Возраст от 13 до 17 дней в день D0		
Диапазон веса тела:	От 2,4 до 5,4 кг в день D0		
Владелец подопытных животных:	Фирма Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc.		
Физиологическое состояние:	В день D-2 свиньи, отобранные для участия в исследовании, были обследованы Исследователем и было признано, что они имели хорошее состояние здоровья и упитанность. Результаты обследования были зарегистрированы в регистрационной форме для обследования состояния здоровья.		
Распределение свиней по	Группа 1 (n=22): 117, 118, 119, 121, 127, 128,	Группа 2 (n=22): 123, 124, 125, 130, 134, 137,	Группа 3 (n=12): 116, 120, 126, 132, 135, 145,
группам	129, 131, 133, 136, 139, 141, 142, 144, 146, 147, 153, 154, 162, 163, 164 и 179	138, 148, 149, 150, 156, 157, 158, 160, 161, 165, 167, 169, 170, 172, 177 и 178	151, 152, 155, 159, 166 и 171

Критерии включения/исключения.

Все свиньи, участвовавшие в настоящем исследовании, имели PRRS-негативный статус по данным ELISA (по данным ELISA отношение S/P <0,4) и на основании результатов обследования были признаны здоровыми на момент вакцинации (день D0).

Критерии исключения после включения в исследование.

Ни одна свинья не была исключена из исследования. Три свиньи были обнаружены мертвыми до осуществления контрольного заражения. Более подробная информация об этих трех свиньях представлена в разделе 12.8.

Уход за животными и их содержание.

На протяжении исследования свиней содержали на фирме Veterinary Resources, Inc. (VRI), Кембридж, шт. Айова. В каждом помещении свиней содержали в рассчитанных на несколько животных боксах (по 11 или 12 свиней/бокс), при этом вакцинированных (группа 1) и контрольных животных (группы 2 и 3) содержали в одинаковых, но раздельных помещениях для гарантии биобезопасности. Свиней, обработанных MLV PRRS 94881, содержали в помещении CB8 вплоть до дня D78, затем в помещении CC1 до дня D105 и после этого в помещении CC3 в течение оставшегося периода исследования. Свиней из контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, содержали в помещении CC2 на протяжении всего исследования. Свиней из группы отрицательного контроля содержали в помещении CB6 до дня D73, а затем в помещении CB7 в течение оставшегося периода исследования. Боксы были приподняты над полом помещения и имели пластиковые щелевые полы, они были оборудованы кормушками, соответствующими их возрасту, и ниппельными чашечными поилками. Каждое изолированное помещение имело одинаковую с другими конструкцию и все они соответствовали уровню 2 опасности для живых организмов (BL2), имели систему очистки воздуха с помощью HEPA-фильтров, механическую вентиляцию и регулируемую термостатом систему контроля температуры.

При проведении настоящего исследования было необходимо изолировать группу обработки, поскольку в научном сообществе хорошо известно, что PRRSV легко распространяется от свиньи к свинье посредством различных механизмов, включая перенос в аэрозольной форме. Это относится и к авирулентным живым вакцинам против PRRS, поскольку указанные биологические продукты включают ослабленные вирусные частицы, которые имитируют характеристики вирулентного вируса PRRS дикого типа, не обладая способностью вызывать заболевание. Применяли соответствующие методы для гарантии поддержания биобезопасности и для того, чтобы вакцинированные животные не могли случайным образом заразиться PRRSV от невакцинированных животных из группы отрицательного контроля.

Персоналом исследовательского центра были приняты соответствующие меры для обеспечения требуемой чистоты и уровня дезинфекции каждого помещения перед его использованием в настоящем исследовании.

В каждом помещении в здании имелись вентиляторы и нагреватели для того, чтобы обеспечивать необходимую циркуляцию воздуха и подогрев. Каждое помещение имело отдельную, но идентичную систему вентиляции, так что не происходило обмена воздухом между помещениями.

Корм хранили в мешках в условиях, обеспечивающих отсутствие паразитов. Животные имели свободный доступ к корму и воде. Начиная со дня прибытия, и до дня D5 свиньям давали корм с добавлением медицинских препаратов Lean Metrics Infant Medicated feed (фирма Purina Mills LLC, Сент-Луис, шт. Миссури), после чего их переводили на корм с добавлением медицинских препаратов Lean Metrics Senior Medicated feed (фирма Purina Mills LLC, Сент-Луис, шт. Миссури). В день D64 свиней переводили на корм Lean Metrics Complete 85 feed (фирма Purina Mills LLC, Сент-Луис, шт. Миссури), а в день D82 их переводили на корм Lean Metrics Complete CE85, T40 (фирма Purina Mills LLC, Сент-Луис, шт. Миссури), которым их кормили в течение всего оставшегося периода исследования. На протяжении исследования животные были обеспечены кормом, соответствующим размеру, возрасту и состоянию здоровья свиней согласно принятой в данном регионе животноводческой практике.

Исследователем было установлено, что свиньи имели хорошее состояние здоровья и упитанность перед началом исследования. В процессе исследования у некоторых животных были обнаружении и другие состояния, включая худосочность, кашель, опухание, появление грубого волосяного покрова, депрессию, абсцессы и плохую кондицию тела. По мнению Исследователя все эти состояния являлись типичными для свиней на стадии откорма/созревания при их групповом содержании. Указанные состояния рассматривались как кратковременные или не имеющие системный характер и их не лечили.

Оценка эффективности

Для оценки DOI, обеспечиваемого MLV PRRS 94881, через 26 недели после вакцинации свиней, вакцинированных MLV PRRS 94881, и животных из контрольной группы, предназначенной для контрольного заражения, подвергали контрольному заражению в день D179 (DPC 0) и через 10 дней оценивали повреждения легких после контрольного заражения (в день DPC 10). Считалось, что обеспечивалась DOI, составляющая 26 недель после вакцинации, если в группе, вакцинированной MLV PRRS 94881, после контрольного заражения выявлена статистически значимо ($p \leq 0,05$) меньшая патология в легких (путем макроскопического обследования или гистологического анализа), чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению.

Вспомогательные параметры эффективности, которые анализировали при сравнении вакцинированной группы и контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, включали уровень виремии после вакцинации и после контрольного заражения, данные клинических обследований после контрольного заражения, ректальные температуры после контрольного заражения, клинические оценки после вакцинации, средний суточный прирост массы (ADWG) и данные серологического анализа на PRRS.

Уровень виремии после контрольного заражения рассматривали в качестве наиболее важного вспомогательного параметра, поскольку он является объективным и поддающимся количественной оценке параметром. Следующим по важности вспомогательным параметром, используемым в процессе определения DOI, были ректальные температуры и результаты клинических оценок. И, наконец, в качестве вспомогательных параметров в дополнение к основным параметрам при решении поставленной задачи использовали показатели роста, результаты серологического анализа и результаты обнаружения вируса в легких.

Критерии валидности исследования.

Необходимо, чтобы все свиньи при отборе до поставки и в день D0, имели по данным ELISA PRRS-негативный статус. Необходимо, чтобы свиньи в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, имели негативный статус в отношении антител к вирусу PRRS (по данным ELISA отношение S/P < 0,4) вплоть до дня контрольного заражения, а животные в группе отрицательного контроля имели негативный статус в отношении антител к вирусу PRRS в течение всего исследования.

Основной выходной параметр.

Основной выходной переменной при оценке эффективности являлась патология легких (макроскопические и выявляемые при гистологическом анализе повреждения) в день D189 (DPC 10) исследования.

Баллы макроскопических повреждений легких.

В день D189 после сбора и регистрации образцов и данных всех оставшихся в живых подопытных свиней умерщвляли в соответствии с VRI SOP PRC1027 (раздел 15.1). Каждую свинью подвергали аутопсии в соответствии с VRI SOP PRC 1028 (раздел 15.1). Уполномоченное лицо осуществляло вскрытие грудной полости и удаление сердца и легких. Исследователь осуществлял обследование каждого набора легких, описывал любую выявленную макроскопическую патологию и определял процент патологического поражения каждой доли легкого. Результаты обследования и полученные данные регистрировались в регистрационной форме отчета об аутопсии.

Баллы повреждений, выявленных при гистологическом анализе.

Из каждого набора легких сохраняли по два образца из левой и правой передних долей, левой и правой сердечных долей, левой и правой диафрагмальных долей и промежуточной доли. Каждый образец ткани легкого имел размер примерно 1 дюйм (2,54 см) × 1 дюйм (2,54 см). Для одного набора образцов ткани легкого все три образца, взятые с левой стороны, объединяли и помещали в один контейнер; в то время как все три образца, взятые с правой стороны, и образец, взятый из промежуточной доли легкого, объединяли и помещали в другой контейнер. Каждый контейнер заполняли 10%-ным раствором формалина, взятым в достаточном количестве. Для другого набора образцов ткани легких все три образца, взятых из левой области легких, объединяли и помещали в один Whirlpak®; в то время как все три образца ткани легких, взятые с правой стороны, и образец, взятый из промежуточной доли легких, объединяли и помещали в другой Whirlpak®. Все контейнеры и пакеты Whirlpak® снабжали соответствующей меткой, на которой были указаны номер животного, номер исследования, дата взятия образца, день исследования, тип образца и то, с какой стороны, с левой или с правой, был взят образец. Образцы, взятые из легких, находящиеся в формалине, хранили при комнатной температуре, в то время как образцы, которые находились в пакетах Whirlpaks®, хранили на сухом льду до транспортировки в BIVI-Ames. Собранные образцы регистрировали регистрационной форме отчета об аутопсии. Образцы ткани легких, зафиксированные в формалине, и образцы ткани легкого, находящиеся в пакетах Whirlpak®, передавали в BIVI-Ames. К каждой поставляемой партии прилагали заполненную регистрационную форму для поставки образцов.

Зафиксированные в формалине образцы ткани легких хранили в BIVI-Ames при комнатной температуре до передачи из BIVI-Ames в ветеринарную диагностическую лабораторию Государственного университета штата Айова (ISU VDL). Персонал ISU VDL осуществлял обработку и анализ образцов ткани легких в соответствии с процедурами, принятыми в ISU VDL, в течение одной недели после осуществления аутопсии. Для каждой свиньи подготавливали одно предметное стекло, на котором размещали семь срезов (по одному, взятому с каждой из всех семи долей легких). Каждое предметное стекло, обработанное гематоксилином-эозином (H & E) обозначали с помощью уникального идентифицирующего кода. ISU VDL проводила компьютерную регистрацию данных, включая номер исследования, идентифицирующие коды и информацию о тканях, соответствующих конкретной свинье.

Ежедневно в те дни, когда проводили гистопатологический анализ исследуемых предметных стекол, патолог ISU VDL (K. Schwartz) сначала осуществлял анализ предметных стекол с образцами, взятыми у животных с позитивным EU PRRSV-статусом, и животных из группы отрицательного контроля. После этого патолог анализировал окрашенные H & E предметные стекла с образцами легкого, анализируя пневмоцитарную гипертрофию и гиперплазию, септальную инфильтрацию мононуклеарных клеток, некротический дебрис, внутриальвеолярное накопление воспалительных клеток и периваскулярное накопление воспалительных клеток. Результаты регистрировали в широкоформатной Excel-таблице. Система балльной оценки результатов гистопатологического анализа легких представлена ниже в табл. 8.8.

Таблица 8.8. Система балльной оценки результатов гистопатологического анализа легких

Пневмоцитарная гипертрофия и гиперплазия	Внутриальвеолярное накопление воспалительных клеток
0 – отсутствует 1 – слабая 2 – средняя 3 - серьезная	0 – отсутствует 1 – слабое 2 – среднее 3 – серьезное
Септальная инфильтрация мононуклеарных клеток	Периваскулярное накопление воспалительных клеток
0 – отсутствует 1 – слабая 2 – средняя 3 - серьезная	0 – отсутствует 1 – слабое 2 – среднее 3 - серьезное
Некротический дебрис	Описание балльной системы применительно к гистологическим параметрам (за исключением некротического дебриса):
0 – отсутствует 3 – да, присутствует	0 - отсутствует: в поле зрения отсутствуют обнаруживаемые повреждения 1 – средние повреждения: в поле зрения присутствуют позитивные клетки в малом количестве (1-5 клеток/поле) 2 – средние повреждения: в поле зрения имеется много (>5 клеток/поле) позитивных клеток в одном месте или во многих местах имеется по небольшому количеству клеток (1-5 клеток/поле) 3 – серьезные повреждения: в поле зрения во многих местах имеется много (>5 клеток/поле) позитивных клеток

После завершения анализа всех предметных стекол предметные стекла возвращали Представителю Спонсора, и они должны храниться на фирме Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc., Сент-Джозеф, шт. Миссури до завершения финального отчета.

Вспомогательные параметры.

Вспомогательные параметры включали уровни виремии после вакцинации и после контрольного заражения, результаты клинических обследований после контрольного заражения, температуры после контрольного заражения, средний суточный прирост массы (ADWG), количественную оценку PRRSV в легких, результаты клинических оценок после вакцинации и результаты серологического анализа на PRRS.

Оценка PRRS в сыворотке с помощью qПЦР.

Собирали образцы венозной цельной крови перед поставкой животных и в дни 0, 7, 14, 21, 28, 56, 84, 112, 140, 168, 179 (DPC 0), 182 (DPC 3), 186 (DPC 7) и 189 (DPC 10). В целом процедура состояла в следующем: у каждой свиньи брали примерно по 2-5 мл крови в пробирку для разделения сыворотки (SST) соответствующего размера. Собранные образцы регистрировали в регистрационной форме для сбора образцов. Находящейся в SST крови давали свернуться при комнатной температуре. Образцы крови передавали в BIVI-Ames в день сбора и заполняли регистрационную форму для поставки образцов. Образцы крови центрифугировали в BIVI-Ames, сыворотку собирали, разделяли и переносили в соответствующие пробирки. Каждую пробирку снабжали меткой с указанием ID-номера свиньи, номера исследования, даты сбора, дня исследования и типа образца. В BIVI-Ames один набор образцов сыворотки хранили при 2-8°C, а другой набор образцов сыворотки помещали на хранение при -70±10°C.

Клинические обследования после контрольного заражения.

Свиней обследовали в отношении клинических признаков заболевания в период со дня D178 (DPC 1) по день D189 (DPC 10). Обследования проводил Исследователь или уполномоченные лица, и результаты регистрировали в регистрационной форме для клинических обследований. Свиней обследовали каждый день, оценивая дыхание, поведение и кашель на основе балльной системы оценки результатов клинических обследований, описанной ниже в табл. 8.9.

Таблица 8.9 Балльная система оценки результатов клинических обследований

Дыхание	Поведение	Кашель
0 – нормальное дыхание 1 - затрудненное дыхание/учащенное дыхание 2 – одышка 3 – смерть	0 – нормальное 1 – заторможенность от слабой до средней 2 – серьезная заторможенность или лежачее положение 3 – смерть	0 – кашель отсутствует 1 – мягкий или интермиттирующий кашель 2 – грубый или серьезный, рецидивирующий кашель 3 – смерть

Ректальные температуры.

Измерение ректальных температур осуществлял Исследователь или уполномоченные лица в период со дня D178 (DPC -1) по день D189 (DPC 10). Ректальные температуры регистрировали в °C в регистрационной форме для клинических обследований.

Вес тела и средний суточный прирост массы.

Вес тела каждого животного измеряли в дни D0, D179 (DPC 0) и D188 (DPC 9). Исследователь или уполномоченные лица взвешивали каждую свинью на калиброванных весах. Результаты регистрировали в кг в регистрационной форме для веса тела. Средний суточный прирост массы определяли в период со дня D179 (DPC 0) по день D188 (DPC 9).

Оценка PRRSV в легких с помощью qПЦР.

Образцы ткани легких, находившиеся в Whirlpaks®, хранили при -70 ± 10°C в BIVI-Ames до пересылки по адресу, указанному в разделе 9.3.1. К пересылаемой партии прилагалась заполненная форма для пересылки образцов. На фирме bioScreen осуществляли анализ образцов ткани легких на присутствие РНК PRRSV методом qПЦР (раздел 15.1). Гомогенизировали и анализировали ткани, взятые из левого легкого. Гомогенизировали и анализировали ткани, взятые из правого легкого и промежуточной доли легкого. Результаты выражали в геномных эквивалентах (log_{10} GE/мл) для образцов, взятых из левого и правого легкого. Статистик рассчитывал с использованием программы SAS средние геометрические величины титра в виде GE/мл для образцов, взятых из левого и правого легкого.

Клинические оценки после вакцинации.

Исследователь или уполномоченные лица проводили обследования для получения клинических оценок после вакцинации. Обследования осуществляли ежедневно в период со дня D-1 по день D21, а затем по меньшей мере три раза в неделю в период со дня D22 по день D177. Результаты обследований регистрировали в регистрационной форме для клинических оценок.

Серологический анализ на PRRS.

Образцы сыворотки, собранные перед поставкой животных и в дни 0, 7, 14, 21, 28, 56, 84, 112, 140, 168, 179 (DPC 0), 182 (DPC 3), 186 (DPC 7) и 189 (DPC 10) и хранившиеся при 2-8°C, анализировали на фирме BIVI-Ames в отношении присутствия антител к PRRSV (раздел 15.1). Результаты классифицировали как "негативные" (по данным ELISA отношение S/P < 0,4) или "позитивные" (по данным ELISA отношение S/P ≥ 0,4).

Нежелательные явления.

При проведении настоящего исследования не было выявлено никаких нежелательных явлений, обусловленных MLV PRRS 94881.

Статистические методы

Экспериментальная единица.

В процессе настоящего исследования группы обработки содержали в отдельных помещениях для того, чтобы избежать переноса PRRSV животным в не подвергавшихся вакцинации группах. Таким образом, помещение представляло собой экспериментальную единицу. Однако для целей рассматриваемого анализа, возможную нестрогость вследствие смешения (объединения) эффектов, обусловленных "помещением" и "обработкой" не учитывали, и свинью рассматривали как единицу статистического учета.

Рандомизация.

Пятьдесят шесть (56) свиней распределяли произвольным образом на три группы. Рандомизацию осуществляли на фирме BIVI. Сразу после поставки были отбракованы животные с номерами 140 и 143 (в контрольной группе, предназначенной для контрольного заражения), а также животное № 168 (группа, предназначенная для обработки MLV PRRS 94881). Для замены животного № 140 произвольным образом было выбрано животное № 178, для замены животного № 143 произвольным образом было выбрано животное № 177, а для замены животного № 168 произвольным образом было выбрано животное № 179 из группы, включающей пять дополнительных животных, удовлетворяющих критериям включения.

Анализ.

Статистические анализы и обобщение данных проводил д-р сельскохозяйственных наук Martin Vanselow, Biometrie & Statistik, Zum Siemenshop 21, 30539, Ганновер, Германия, +49(0) 511 606 777 650, m.vanselowαt-online.de. Данные анализировали в предположении полностью случайной структуры плана эксперимента. Статистические анализы проводили с использованием программного обеспечения SAS, выпуск 8.2 (SAS, 2001, Кэри, шт. Северная Каролина, США: SAS Institute Inc.). Свинья № 179 из вакцинированной MLV PRRS 94881 группы и свиньи с номерами 124 и 161 из контрольной группы, предназначенной для контрольного заражения, умерли до осуществления контрольного заражения и были исключены из анализов после контрольного заражения. Все анализы различий проводили на основе двусторонних критериев при $\alpha = 5\%$. Статистический отчет представлен в разделе 15.9.

Балльная оценка макроскопических повреждений легких Балл макроскопических повреждений легких для каждой свиньи рассчитывали с использованием коэффициентов, представленных ниже в табл. 8.10, путем их умножения на процент (%) патологии для конкретной доли легких. Расчеты проводили с использованием программы SAS.

Таблица 7.9. Коэффициенты для расчета баллов повреждений легких

Доля легких	Коэффициент
Левая передняя	0,05
Левая сердечная	0,06
Левая диафрагмальная	0,29
Правая передняя	0,11
Сердечная	0,10
Правая диафрагмальная	0,34
Правая добавочная/промежуточная	0,05

Сравнение групп обработки для выявления различий осуществляли с использованием критерия Уилкоксона-Манна-Уитни.

Балльная оценка повреждений легких, выявленных путем гистологического анализа.

Индивидуальные баллы, полученные при гистологической оценке образцов ткани, взятых из легких, суммировали для каждой доли и каждого животного. Этот суммарный балл делили на количество долей, проанализированных для животного. Полученные результаты использовали в качестве индивидуальных величин при осуществлении сравнения между группами обработки. Различия между группами обработки анализировали с использованием критерия Уилкоксона-Манна-Уитни.

Анализ легких на PRRS методом qПЦР.

Результаты, полученные методом количественной ПЦР (PRRSV-вирусная нагрузка [$\log_{10}$ GE/мл]) для образцов, взятых из легких в день D189, использовали для сравнений между группами обработки на основе критерия Уилкоксона-Манна-Уитни. Для оценки использовали средние величины ($\log_{10}$ GE/мл) результатов анализа методом qПЦР образцов ткани левого и правого легкого. Перед осуществлением расчетов аналитический результат "не обнаружено" заменяли на величину $\log_{10}$ GE/мл, равную 0,0, а результат "позитивный" заменяли на 3,0.

Создавали таблицы частот встречаемости "позитивных" результатов qПЦР. Различия между группами обработки анализировали с использованием точного критерия Фишера.

Оценка PRRSV в сыворотке методом qПЦР.

Данные об уровнях виремии анализировали по отдельности для каждого дня исследования. Кроме того, для оценки вирусной нагрузки анализировали площади под индивидуальными кривыми ответа в периоды со дня D179 по день D189 (AUC 0-10) и со дня D182 по день D189 (AUC 3-10).

Результаты, полученные методом количественной ПЦР (PRRS-вирусная нагрузка [$\log_{10}$ GE/мл]), использовали для сравнений между группами обработки на основе критерия Уилкоксона-Манна-Уитни. Перед осуществлением расчетов аналитический результат "не обнаружено" заменяли на величину $\log_{10}$ GE/мл, равную 0,0, а результат "позитивный" заменяли на 3,0. Различия между группами обработки анализировали с использованием критерия Уилкоксона-Манна-Уитни.

Создавали таблицы частот встречаемости "позитивных" результатов qПЦР. Различия между группами обработки анализировали с использованием точного критерия Фишера.

Клинические обследования после контрольного заражения.

Создавали таблицы частот встречаемости животных, для которых был получен по меньшей мере один "позитивный" результат в период со дня D180 по D189. Общие баллы получали путем суммирования: балл дыхания + балл поведения + балл кашля. Расчеты проводили с использованием программы SAS. Различия между группами обработки анализировали с использованием точного критерия Фишера.

Для статистической оценки использовали максимальные баллы и средние баллы дыхания, поведения и кашля на одно животное, полученные в период со дня D180 по день D189, и сумму всех трех баллов (общий балл). Различия между группами обработки анализировали с использованием критерия Уилкоксона-Манна-Уитни.

Вес тела и средний суточный прирост массы тела.

Рассчитывали средний суточный прирост массы тела для каждого животного в период со дня D179 по день D188. Для каждого дня исследования и для указанного периода исследования рассчитывали показатели описательной статистики. Различия между группами обработки анализировали с использованием дисперсионного анализа и последующего применения t-критериев. С помощью дисперсионного анализа рассчитывали среднеквадратичные величины для групп и различия между среднеквадратичными значениями с 95%-ным доверительным интервалом.

Ректальные температуры.

Различия между группами обработки касательно исходных измеренных температур анализировали с использованием дисперсионного анализа и последующего применения t-критериев. С помощью дисперсионного анализа рассчитывали среднеквадратичные величины для групп и различия между среднеквадратичными значениями с 95%-ным доверительным интервалом.

Клинические оценки после вакцинации.

Создавали таблицы частот встречаемости животных, для которых был получен по меньшей мере один "позитивный" результат в период со дня D1 по день D21. Различия между группами обработки ана-

лизировали с использованием точного критерия Фишера.

Серологический анализ на PRRS.

Для каждого момента времени создавали таблицы частот встречаемости "позитивных" результатов, полученных методом ELISA. Различия между группами обработки анализировали с использованием точного критерия Фишера.

Результаты

Баллы макроскопических повреждений легких.

Медианные величины баллов макроскопических повреждений легких в день D189 (DPC 10) составляли 0,1% и 13,8% для вакцинированной MLV PRRS 94881 группы и контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, соответственно. Медианная величина балла макроскопических повреждений легких для свиней из вакцинированной MLV PRRS 94881 группы была статистически значимо меньше, чем медианная величина балла макроскопических повреждений легких для свиней из контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению ($p<0,0001$). Медианная величина балла макроскопических повреждений легких для свиней из группы отрицательного контроля была равна 0,0%.

У животного № 123 (контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению) оказалось невозможным оценить повреждения легких в день D189 вследствие наличия диффузного плеврита и спаек. После аутопсии из тканей легких этой свиньи были выделены виды Moraxella osloensis, Staphylococcus warneri, Staphyloccous hyicus и Pseudomonas.

Обобщение баллов макроскопических повреждений легких для групп животных и соответствующее им p-значение представлены ниже в табл. 8.11.

Таблица 8.11. Обобщение баллов макроскопических повреждений легких (%) для групп животных, полученных в день D189

Группа[1]	N[3]	Мин.	Макс.	Медианная величина	95% CI		Q-диапазон	Средняя величина	p-значение
1	21	0,00	12,40	0,060	0,050	0,550	0,400	1,099	<0,0001
2	19[2]	0,06	69,20	13,800	2,690	22,650	20,850	15,842	
3	12	0,00	0,59	0,000	0,000	0,110	0,085	0,093	NI

[1]Группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881; группа 2 -контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 - группа отрицательного контроля. [2]Животное № 123 не оценивали вследствии наличия диффузного плеврита и спаек, обусловленных бактериальными инфекциями. [3]Одна свинья в группе, обработанная вакциной MLV PRRS 94881, и две свиньи в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, умерли до осуществления контрольного заражения и не были включены в анализ. NI - не включали в статистический анализ.

Баллы повреждений легких, выявленных путем гистологического анализа Медианные величины баллов повреждений легких, выявленных путем гистологического анализа, составляли 6,0 и 19,5 для вакцинированной MLV PRRS 94881 группы и контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, соответственно. Медианная величина баллов повреждений легких, выявленных путем гистологического анализа, для вакцинированной MLV PRRS 94881 группы была статистически значимо меньше, чем медианная величина баллов повреждений легких, выявленных путем гистологического анализа, для контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению ($p<0,0001$). Медианная величина баллов повреждений легких, выявленных путем гистологического анализа, для группы отрицательного контроля составляла 9.0.

Обобщение медианных величин баллов повреждений легких, выявленных путем гистологического анализа, для групп животных и соответствующее им p-значение представлены ниже в табл. 8.12.

Таблица 8.12. Обобщение медианных величин баллов повреждений легких, выявленных путем гистологического анализа, для групп животных

Группа[1]	N[2]	Мин.	Макс.	Медианная величина	95% CI		Q-диапазон	Средняя величина	p-значение
1	21	2	20	6,0	3,0	8,0	5,0	6,6	<0,0001
2	20	8	47	19,5	15,0	23,0	10,0	20,2	
3	12	0	15	9,0	7,0	14,0	6,5	9,1	NI

[1]Группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881; группа 2 -контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 - группа отрицательного контроля. [2]Одна свинья в группе, обработанная вакциной MLV PRRS 94881, и две свиньи в контрольной группе, предназначенной для контрольного заражения, умерли до осуществления контрольного заражения и не были включены в анализ. NI - не включали в статистический анализ. Результаты анализа методом qПЦР легких на PRRS Медианные величины вирусной нагрузки в тканях легких, полученные методом qПЦР, составляли 3,69 и 6,25 $\log_{10}$ GE/мл для свиней в группе, вакцинированной MLV PRRS 94881, и в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, соответственно. Медианные величины результатов, полученных методом qПЦР, для свиней в группе, вакцинированной MLV PRRS 94881, были статистически значимо меньше, чем для свиней в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению ($p<0,0001$). РНК

PRRSV не была выявлена ни в одном из образцов ткани легких, взятых у свиней из группы отрицательного контроля.

Обобщение результатов анализа легких методом qПЦР для групп животных и результат сравнительного анализа (p-значение) представлено ниже в табл. 8.13.

Таблица 8.13. Обобщение результатов анализа легких методом qПЦР для групп животных (средние величины log_{10} GE/мл)

Группа[1]	N[2]	Мин.	Макс.	Медианная величина	95% CI		Q-диапазон	Средняя величина	p-значение
1	21	0,00	6,83	3,69	1,50	5,21	3,18	3,36	<0,0001
2	20	4,80	7,40	6,25	5,62	6,68	1,26	6,22	
3	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI

[1]Группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881; группа 2 -контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 - группа отрицательного контроля. [2]Одна свинья в группе, обработанная вакциной MLV PRRS 94881, и две свиньи в контрольной группе, предназначенной для контрольного заражения, умерли до осуществления контрольного заражения и не были включены в анализ. NI - не включали в статистический анализ.

РНК PRRSV была выявлена в тканях легких у 90 и 100% свиней, вакцинированных MLV PRRS 94881, и свиней из контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, соответственно. Между вакцинированной группой и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению, не было выявлено статистически значимого различия (p=0,4878).

Обобщение частот встречаемости тканей легких, взятых у свиней при осуществлении аутопсии, для которых получены "позитивные" результаты по данным анализа методом qПЦР на PRRS, в группах животных представлено ниже в табл. 8.14.

Таблица 8.14. Частоты встречаемости тканей легких, взятых у свиней при осуществлении аутопсии, для которых получены "позитивные" результаты по данным анализа методом qПЦР на PRRS, в группах животных

Группа[1]	Количество позитивных	% позитивных	95% CI		Общее количество[2]	p-значение
1	19	90	69,6	98,8	21	0,4878
2	20	100	83,2	100,0	20	
3	0	0	0,0	26,5	12	NI

[1]Группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881; группа 2 -контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 - группа отрицательного контроля. [2] Одна свинья в группе, обработанная вакциной MLV PRRS 94881, и две свиньи в контрольной группе, предназначенной для контрольного заражения, умерли до осуществления контрольного заражения и не были включены в анализ. NI - не включали в статистический анализ.

Результаты анализа сыворотки на PRRS методом qПЦР.

В день D0 РНК PRRSV не была выявлена в сыворотке ни у одной свиньи. После вакцинации у вакцинированных MLV PRRS 94881 свиней медианные величины составляли 3,00, 0, 0, 3,00, 0, 0, 0, 0 и 0 log_{10} GE/мл в дни D7, D14, D21, D28, D56, D84, D112, D140 и D168 соответственно. Полученные величины были статистически значимо больше, чем у животных из контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, в дни D7, D14, D21 и D28 ($p \leq 0,0013$), поскольку у животных в группе контрольного заражения не было выявлено РНК PRRSV вплоть до дня D182 (DPC 3).

РНК PRRSV не была выявлена в сыворотке ни у одной свиньи в день D179 (DPC 0). После контрольного заражения у вакцинированных MLV PRRS 94881 свиней медианные величины составляли 4,44, 0 0 log_{10} GE/мл в дни D182 (DPC 3), D186 (DPC 7) и D189 (DPC 10) соответственно, по сравнению с 5,88, 5,30 и 4,24 log_{10} GE/мл у свиней в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, в те же самые дни. Медианные величины, полученные для животных в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, были больше, чем в группе, обработанной MLV PRRS 94881 во все дни после контрольного заражения ($p \leq 0,0001$).

На протяжении настоящего исследования РНК PRRSV не была выявлена в сыворотке ни у одной свиньи в группе отрицательного контроля.

Медианные величины AUC для группы вакцинированных MLV PRRS 94881 свиней составляли 15,54 и 8,88 log_{10} GE/мл в день в период со дня DPC 0 по день DPC 10 и со дня DPC 3 по день DPC 10 соответственно. В отличие от этого, медианные величины AUC для контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, составляли 44,77 и 36,43 log10 GE/мл в день в период со дня DPC 0 по день DPC 10 и со дня DPC 3 по день DPC 10 соответственно.

Медианные величины AUC для группы вакцинированных MLV PRRS 94881 свиней были статистически значимо меньше, чем для контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, в течение обоих периодов времени ($p<0,0001$).

Обобщение результатов оценки PRRSV в сыворотке методом qПЦР представлены ниже в табл. 8.15

и 8.16.

Таблица 8.15. Обобщение результатов анализа сыворотки на PRRS, полученных методом qПЦР (log_{10} GE/мл), в период со дня D0 по день D168

День	Группа 1	N	Мин.	Макс.	Медианная величина	95% CI		Q-диапазон	Средняя величина	p-значение
0	1	22	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,0000
	2	22	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	3	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI
7	1	21	3,00	4,63	3,00	3,00	3,00	0,00	3,23	<0,0001
	2	22	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	3	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI
14	1	21	0,00	3,00	0,00	0,00	3,00	3,00	1,43	0,0005
	2	21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	3	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI
21	1	21	0,00	3,00	0,00	0,00	3,00	3,00	1,29	0,0013
	2	20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	3	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI
28	1	21	0,00	3,88	3,00	0,00	3,00	3,00	1,93	<0,0001
	2	20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	3	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI
56	1	21	0,00	3,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,57	0,1069
	2	20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	3	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI
84	1	21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,0000
	2	20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	3	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI
112	1	21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,0000
	2	20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	3	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI
140	1	21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,0000
	2	20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	3	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI
168	1	21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,0000
	2	20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	3	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI

[1]Группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881; группа 2 -контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 - группа отрицательного контроля. NI - не включали в статистический анализ.

Таблица 8.16. Обобщение результатов анализа сыворотки на PRRS, полученных методом qПЦР (log_{10} GE/мл), в период со дня D179 по день D189

День	Группа 1	N	Мин.	Макс.	Медианная величина	95% CI		Q-диапазон	Средняя величина	p-значение
179 (DPC 0)	1	21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,0000
	2	20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	3	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI
182 (DPC 3)	1	21	3,00	5,58	4,44	3,93	5,28	1,51	4,42	<0,0001
	2	20	5,09	6,33	5,88	5,75	6,00	0,32	5,81	
	3	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI
186 (DPC 7)	1	21	0,00	3,74	0,00	0,00	0,00	0,00	0,61	<0,0001
	2	20	3,66	6,57	5,30	4,86	5,69	1,08	5,30	
	3	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI
189 (DPC 10)	1	21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	<0,0001
	2	20	0,00	5,88	4,24	3,71	4,42	1,18	3,97	
	3	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI
AUC DPC 0-10	1	21	10,50	31,22	15,54	13,76	19,53	5,95	1,61	<0,0001
	2	20	36,86	52,16	44,77	43,23	48,03	6,24	44,84	
	3	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI
AUC DPC 3-DPC 10	1	21	6,00	23,45	8,88	7,86	11,16	3,40	10,97	<0,0001
	2	20	27,77	43,02	36,43	34,60	38,53	5,23	36,12	
	3	12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI

[1]Группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881; группа 2 -контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 - группа отрицательного контроля. NI - не включали в статистический анализ. AUC - площадь под кривой; log_{10} GE/мл в день.

После вакцинации в группе, обработанной MLV PRRS 94881, относительное количество свиней, для которых были получены "позитивные" результаты методом qПЦР в дни D7, D14, D21 и D28, было статистически значимо больше, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению ($p \leq 0{,}0013$). В день D56 не было выявлено статистически значимых различий между группами в относительном количестве свиней, для которых были получены "позитивные" результаты qПЦР ($p=0{,}1069$).

В день D182 (DPC 3) у 100% свиней в группе, обработанной MLV PRRS 94881, и в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, были получены "позитивные" результаты qПЦР (теста не проводили). В дни D186 (DPC 7) и D189 (DPC 10) в группе, обработанной MLV PRRS 94881, относительное количество свиней, для которых были получены "позитивные" результаты qПЦР, было статистически значимо меньше, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению (<0,0001).

Обобщение данных об относительных количествах животных в группах, для которых были получены "позитивные" результаты анализа методом qПЦР, представлены ниже в табл. 8.17 и 8.18.

Таблица 8.17. Обобщение данных об относительных количествах животных в группах, для которых были получены "позитивные" результаты анализа сыворотки методом qПЦР после вакцинации

День	Группа[1]	Количество позитивных животных	% позитивных животных	95% CI		Общее количество	p-значение
0	1	0	0	0,0	15,4	22	n.a.
	2	0	0	0,0	15,4	22	
	3	0	0	0,0	26,5	12	NI
7	1	21	100	83,9	100,0	21	<0,0001
	2	0	0	0,0	15,4	22	
	3	0	0	0,0	26,5	12	NI
14	1	10	48	25,7	70,2	21	0,0005
	2	0	0	0,0	16,1	21	
	3	0	0	0,0	26,5	12	NI
21	1	9	43	21,8	66,0	21	0,0013
	2	0	0	0,0	16,8	20	
	3	0	0	0,0	26,5	12	NI
28	1	13	62	38,4	81,9	21	<0,0001
	2	0	0	0,0	16,8	20	
	3	0	0	0,0	26,5	12	NI
56	1	4	19	5,4	41,9	21	0,1069
	2	0	0	0,0	16,8	20	
	3	0	0	0,0	26,5	12	NI
84	1	0	0	0,0	16,1	21	n.a.
	2	0	0	0,0	16,8	20	
	3	0	0	0,0	26,5	12	NI
112	1	0	0	0,0	16,1	21	n.a.
	2	0	0	0,0	16,8	20	
	3	0	0	0,0	26,5	12	NI
140	1	0	0	0,0	16,1	21	n.a.
	2	0	0	0,0	16,8	20	
	3	0	0	0,0	26,5	12	NI
168	1	0	0	0,0	16,1	21	n.a.
	2	0	0	0,0	16,8	20	
	3	0	0	0,0	26,5	12	NI

[1]Группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881; группа 2 -контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 - группа отрицательного контроля. NI - не включали в статистический анализ.

Таблица 8.18. Обобщение данных об относительных количествах животных в группах, для которых были получены позитивные результаты анализа сыворотки методом qПЦР после контрольного заражения

День	Группа[1]	Количество позитивных животных	% позитивных животных	95% CI		Общее количество	p-значение
179 (DPC 0)	1	0	0	0,0	16,1	21	n.a.
	2	0	0	0,0	16,8	20	
	3	0	0	0,0	26,5	12	NI
182 (DPC3)	1	21	100	83,9	100,0	21	n.a.
	2	20	100	83,2	100,0	20	
	3	0	0	0,0	26,5	12	NI
186 (DPC7)	1	4	19	5,4	41,9	21	<0,0001
	2	20	100	83,2	100,0	20	
	3	0	0	0,0	26.5	12	NI
189 (DPC 10)	1	0	0	0,0	16,1	21	<0,0001
	2	19	95	75,1	99,9	20	
	3	0	0	0,0	26,5	12	NI

[1]Группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881; группа 2 -контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 - группа отрицательного контроля. NI - не включали в статистический анализ.

Клинические обследования после контрольного заражения.

Аномальное дыхание не было выявлено ни у одной из вакцинированных MLV PRRS 94881 свиней после контрольного заражения, в отличие от контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, в которой была выявлена одна свинья (№ 149), состояние которой в день D185 (DPC 6) было оценено баллом "1". Не было выявлено статистически значимых различий между группами в проценте свиней, у которых было выявлено аномальное дыхание по меньшей мере в один из дней после контрольного заражения (p=0,4878).

Аномальное поведение и кашель не были выявлены после контрольного заражения ни у одной из вакцинированных MLV PRRS 94881 свиней или свиней в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению.

Проценты свиней с общими клиническими баллами > 0 по меньшей мере в один из дней после контрольного заражения составляли 0% и 5% для вакцинированной MLV PRRS 94881 группы и контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению соответственно. Различие между этими величинами не было статистически значимым (p=0,4878).

В группе отрицательного контроля в период со дня D179 по день D189 клинических признаков не было выявлено.

Обобщение частот встречаемости свиней в группах, для которых был получен по меньшей мере один "позитивный" балл клинического обследования после контрольного заражения, представлено ниже в табл. 8.19.

Таблица 8.19. Обобщение частот встречаемости свиней в группах, для которых был получен по меньшей мере один "позитивный" балл клинического обследования после контрольного заражения

Параметр	Группа[1]	Количество позитивных животных	% позитивных животных	95% CI		Общее количество[2]	p-значение
Дыхание	1	0	0	0,0	16,1	21	0,4878
	2	1	5	0,1	24,9	20	
	3	0	0	0,0	26,5	12	NI
Поведение	1	0	0	0,0	16,1	21	NA
	2	0	0	0,0	16,8	20	
	3	0	0	0,0	26,5	12	NI
Кашель	1	0	0	0,0	16,1	21	NA
	2	0	0	0,0	16,8	20	
	3	0	0	0,0	26,5	12	NI
Суммарный параметр	1	0	0	0,0	16,1	21	0,4878
	2	1	5	0,1	24,9	20	
	3	0	0	0,0	26,5	12	NI

[1]Группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881; группа 2 -контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 - группа отрицательного контроля. [2]Одна свинья в группе, обработанной вакциной MLV PRRS 94881, и две свиньи в контрольной группе, предназначенной для контрольного заражения, умерли до осуществления контрольного заражения и не были включены в анализ. NI - не включали в статистический анализ; NA -критерий не применим вследствие отсутствия вариабельности.

Между группами не было выявлено различий в максимальных баллах дыхания или максимальных общих баллах в период после контрольного заражения (p=0,4878).

Обобщение максимальных баллов клинических обследований для групп животных, полученных в течение периода после контрольного заражения (со дня DPC 1 по день DPC 10) представлено ниже в табл. 8.20.

Таблица 8.20 Обобщение максимальных баллов клинических обследований для групп животных, полученных после контрольного заражения

Параметр	Группа[1]	N[2]	Мин.	Макс.	Медианная величина	95% CI		Q-диапазон	Средняя величина	p-значение
Дыхание	1	21	0	0	0	0	0	0	0,0	0,4878
	2	20	0	1	0	0	0	0	0,1	
	3	12	0	0	0	0	0	0	0,0	NI
Поведение	1	21	0	0	0	0	0	0	0,0	1,0000
	2	20	0	0	0	0	0	0	0,0	
	3	12	0	0	0	0	0	0	0,0	NI
Кашель	1	21	0	0	0	0	0	0	0,0	1,0000
	2	20	0	0	0	0	0	0	0,0	
	3	12	0	0	0	0	0	0	0,0	NI
Суммарный параметр	1	21	0	0	0	0	0	0	0,0	0,4878
	2	20	0	1	0	0	0	0	0,1	
	3	12	0	0	0	0	0	0	0,0	NI

[1]Группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881; группа 2 -контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 – группа отрицательного контроля. [2]Одна свинья в группе, обработанной вакциной MLV PRRS 94881, и две свиньи в контрольной группе, предназначенной для контрольного заражения, умерли до осуществления контрольного заражения и не были включены в анализ. NI - не включали в статистический анализ.

Картина распределения средних баллов клинических обследований была сходна с картиной распределения процента свиней с "позитивными" клиническими баллами. Не было выявлено статистически значимых различий между вакцинированной MLV PRRS 94881 группой и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению (p≥0,4878).

Обобщение средних баллов клинических обследований в группах в период после контрольного заражения (со дня DPC 1 по день DPC 10) представлено ниже в табл. 8.21.

Таблица 8.21 Обобщение средних баллов клинических обследований в группах в период после контрольного заражения

Параметр	Группа 1	N[2]	Мин.	Макс.	Медианная величина	95% CI		Q-диапазон	Средняя величина	p-значение
Дыхание	1	21	0,0	0,0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,4878
	2	20	0,0	0,1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	
	3	12	0,0	0,0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI
Поведение	1	21	0,0	0,0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,0000
	2	20	0,0	0,0	0.00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	3	12	0,0	0,0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI
Кашель	1	21	0,0	0,0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,0000
	2	20	0,0	0,0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	3	12	0,0	0,0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI
Суммарный параметр	1	21	0,0	0,0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,4878
	2	20	0,0	0,1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	
	3	12	0,0	0,0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NI

[1]Группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881; группа 2 -контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 - группа отрицательного контроля. [2]Одна свинья в группе, обработанной вакциной MLV PRRS 94881, и две свиньи в контрольной группе, предназначенной для контрольного заражения, умерли до осуществления контрольного заражения и не были включены в анализ. NI - не включали в статистический анализ

Вес тела и средний суточный прирост массы тела.

Различие между группами не было статистически значимым (p=0,2389). В день D179 (DPC 0) средние величины и среднеквадратичные величины веса тела составляли 134,6 и 128,2 кг в группе, обработанной MLV PRRS 94881, и контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, соответственно. Различие не было статистически значимым (p=0,1090). В день D188 (DPC 9) средние величины и среднеквадратичные величины веса тела составляли 138,3 и 130,3 кг в группе, обработанной MLV PRRS 94881, и контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, соответственно. В день D188 вес тела в вакцинированной группе был статистически значимо больше, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению (p=0,0455).

Среднеквадратичные величины ADWG в период после контрольного заражения (со дня DPC 0 по день DPC 9) составляли 0,4 и 0,2 кг/день в группе, обработанной MLV PRRS 94881, и контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, соответственно. Различие между этими результатами не было статистически значимым (p=0,1041).

Средние величины веса тела у свиней в группе отрицательного контроля составляли 2,7, 117,2 and 120,0 кг в дни D0, D179 и D188 соответственно. Величина ADWG для группы отрицательного контроля в период со дня D179 по день D188 составляла 0,5 кг/день.

Обобщение средних величин веса тела в дни D0, D179 (DPC 0) и D188 (DPC 9) и величин ADWG для групп животных в период со дня DPC 0 по день DPC 9 представлено ниже в табл. 8.22. Обобщение среднеквадратичных величин и результатов статистического анализа веса тела и ADWG для группы, обработанной MLV PRRS 94881, и контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, представлено ниже в табл. 8.23.

Таблица 8.22. Обобщение средних величин веса тела и величин среднего суточного прироста массы для групп животных (в кг и кг/день соответственно)

День(дни)	Группа[1]	N	Мин.	Макс.	Медианная величина	Средняя величина	SD
0 Вес тела	1	22	2,8	5,4	4,00	3,96	0,730
	2	22	2,4	4,8	3,75	3,72	0,547
	3	12	2,7	4,5	3,60	3,71	0,552
D179 вес тела (DPC 0)	1	21	108,5	155,0	136,60	134,57	12,737
	2	20	103,3	152,6	130,10	128,15	12,288
	3	12	117,2	156,5	133,05	134,61	10,900
D188 Вес тела (DPC 9)	1	21	112,2	157,8	141,50	138,28	12,879
	2	20	109,4	150,9	131,90	130,27	11,896
	3	12	120,0	162,5	136,60	139,11	11,922
ADWG со дня DPC 0 по день DPC 9	1	21	-0,422	0,956	0,4111	0,4124	0,31653
	2	20	-0,589	0,844	0,2889	0,2350	0,36530
	3	12	-1,600	2,656	0,5111	0,5000	0,92391

[1]Группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881; группа 2 -контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 - группа отрицательного контроля.

Таблица 8.23. Обобщение среднеквадратичных величин и результатов статистического анализа веса тела и величин среднего суточного прироста массы для групп животных (в кг и кг/день соответственно)

День(дни)	Группа[1]	Среднеквадратичная величина	95%-ный доверительный интервал		p-значение
0 Вес тела	1	3,6	3,674	4,241	0,2389
	2	3,72	3,446	4,000	
	Разница между 1-2	0,23	-0,162	0,631	
D179 Вес тела (DPC 0)	1	134,57	129,040	140,093	0,1090
	2	128,15	122,487	133,813	
	Разница между 1-2	6,42	-1,496	14,329	
D188 Вес тела (DPC 9)	1	138,28	132,800	143,756	0,0455
	2	130,27	124,652	135,878	
	Разница между 1-2	8,01	0,170	15,856	
ADWG со дня DPC 0 по день DPC 9	1	0,4124	0,26180	0,56297	0,1041
	2	0,2350	0,08070	0,38930	
	Разница между 1-2	0,1774	-0,03822	0,39299	

[1]Группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881; группа 2 -контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 - группа отрицательного контроля.

Ректальные температуры.

Средняя ректальная температура в обработанной MLV PRRS 94881 группе составляла 39,3°C в день контрольного заражения (D179) и после контрольного заражения средние величины находились в пределах от 39,1°C (D189, DPC 10) до 39,8°C (D181, DPC 2). Средняя ректальная температура в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, составляла 39,1°C в день контрольного заражения и после контрольного заражения средние величины находились в пределах от 39,1°C (D183, DPC 4) до 39,9°C (D182, DPC 3). Средние ректальные температуры в группе отрицательного контроля оставались на уровне ≤ 39,3°C на протяжении того же самого периода времени.

Обобщение данных о ректальных температурах в группах животных представлено ниже в табл. 8.24.

Таблица 8.24. Обобщение данных о ректальных температурах (°C) в группах животных в период со дня D179 (DPC 0) по день D189 (DPC 10)

День	Группа[1]	N[2]	Мин.	Макс.	Медианная величина	Средняя величина	SD
D179 (DPC 0)	1	21	38,5	40,0	39,40	39,33	0,360
	2	20	38,6	40,0	39,00	39,07	0,380
	3	12	38,8	39,7	39,30	39,27	0,257
D180 (DPC 1)	1	21	38,7	40,4	39,40	39,46	0,370
	2	20	38,9	40,9	39,60	39,61	0,527
	3	12	38,8	39,5	39,00	39,09	0,227
D181 (DPC 2)	1	21	39,0	41,0	39,80	39,82	0,473
	2	20	38,6	40,5	39,35	39,42	0,487
	3	12	38,8	39,2	38,80	38,90	0,141
D182 (DPC 3)	1	21	38,5	40,6	39,50	39,52	0,542
	2	20	39,0	41,1	40,05	39,86	0,588
	3	12	38,7	39,4	39,00	39,05	0,254
D183 (DPC 4)	1	21	38,9	40,8	39,50	39,52	0,411
	2	20	38,4	40,3	39,00	39,08	0,508
	3	11	38,8	39,4	39,10	39,08	0,209
D184 (DPC 5)	1	21	39,0	40,3	39,70	39,72	0,360
	2	20	38,7	39,7	39,10	39,15	0,302
	3	12	38,8	39,5	39,10	39,10	0,191
D185 (DPC 6)	1	21	39,1	40,5	39,60	39,66	0,376
	2	20	38,9	40,9	39,25	39,48	0,546
	3	12	38,4	39,4	38,85	38,88	0,313
D186 (DPC 7)	1	21	38,1	40,4	39,20	39,22	0,413
	2	20	38,6	40,4	39,35	39,39	0,479
	3	12	38,5	39,6	38,90	38,98	0,328
D187 (DPC 8)	1	21	38,8	39,9	39,20	39,23	0,290
	2	20	38,8	40,8	39,45	39,58	0,573
	3	12	38,5	39,5	38,85	38,93	0,296
D188 (DPC 9)	1	21	38,8	39,9	39,10	39,17	0,288
	2	20	38,3	40,5	39,00	39,20	0,598
	3	12	38,4	39,1	38,85	38,85	0,173
D189 (DPC 10)	1	21	38,7	39,7	39,00	39,06	0,256
	2	20	39,0	40,8	39,50	39,51	0,408
	3	12	38,6	39,3	39,05	39,00	0,226

[1]Группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881; группа 2 -контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 - группа отрицательного контроля. [2]Одна свинья в группе, обработанной вакциной MLV PRRS 94881, и две свиньи в контрольной группе, предназначенной для контрольного заражения, умерли до осуществления контрольного заражения и не были включены в анализ.

Среднеквадратичные величины ректальной температуры у вакцинированных MLV PRRS 94881 свиней были статистически значимо больше, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, в дни DPC 0 ($p=0,0281$), DPC 2 ($p=0,0095$), DPC 4 ($p=0,0034$) и DPC 5 ($p<0,0001$). Среднеквадратичные величины ректальной температуры у вакцинированных MLV PRRS 94881 свиней были статистически значимо меньше, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, в дни DPC 8 ($p=0,0183$) и DPC 10 ($p=0,0001$). В остальные дни в период после контрольного заражения не было выявлено статистически значимых различий между группами ($p\geq0,0642$). Обобщение данных о среднеквадратичных величинах ректальной температуры для групп животных и результатов статистического анализа представлены ниже в табл. 8.25.

Таблица 8.25. Обобщение данных о среднеквадратичных величинах ректальной температуры (°C) для групп животных в период со дня D179 (DPC 0) по день D189 (DPC 10)

День	Группа[1]	Среднеквадратичная величина	95%-ный доверительный интервал		p-значение
D179 (DPC 0)	1	39,33	39,170	39,496	0,0281
	2	39,07	38,903	39,237	
	Разница между 1-2	0,26	0,030	0,497	
D180 (DPC 1)	1	39,46	39,257	39,657	0,3025
	2	39,61	39,400	39,810	
	Разница между 1-2	-0,15	-0,434	0,138	
D181 (DPC 2)	1	39,82	39,612	40,036	0,0095
	2	39,42	39,198	39,632	
	Разница между 1-2	0,41	0,105	0,712	
D182 (DPC 3)	1	39,52	39,274	39,773	0,0642
	2	39,86	39,604	40,116	
	Diff. 1-2	-0,34	-0,693	0,021	
D183 (DPC 4)	1	39,52	39,320	39,727	0,0034
	2	39,08	38,867	39,283	
	Разница между 1-2	0,45	0,158	0,740	
D184 (DPC 5)	1	39,72	39,572	39,866	<0,0001
	2	39,15	38,999	39,301	
	Разница между 1-2	0,57	0,359	0,779	
D185 (DPC 6)	1	39,66	39,457	39,869	0,2164
	2	39,48	39,269	39,691	
	Разница между 1-2	0,18	-0,112	0,478	
D186 (DPC 7)	1	39,22	39,027	39,421	0,2408
	2	39,39	39,188	39,592	
	Разница между 1-2	-0,17	-0,448	0,116	
D187 (DPC 8)	1	39,23	39,034	39,432	0,0183
	2	39,58	39,376	39,784	
	Разница между 1-2	-0,35	-0,631	-0,062	
D188 (DPC 9)	1	39,17	38,966	39,377	0,8454
	2	39,20	38,989	39,411	
	Разница между 1-2	-0,03	-0,323	0,266	
D189 (DPC 10)	1	39,06	38,908	39,207	0,0001
	2	39,51	39,352	39,658	
	Разница между 1-2	-0,45	-0,662	-0,234	

[1]Группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881; группа 2 -контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 - группа отрицательного контроля.

У трех из 21 (14%) вакцинированных MLV PRRS 94881 свиней и у 5 из 20 (25%) свиней в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, была выявлена ректальная температура ≥ 40,5°C по меньшей мере в один из дней после контрольного заражения. Не было выявлено различий между группами в относительном количестве свиней, у которых была обнаружена ректальная температура ≥40,5°C по меньшей мере в один из дней после контрольного заражения. (p=0,4537). Обобщение данных об относительном количестве свиней в группах, у которых была выявлена гипертермия (≥40,5°C) по меньшей мере в один из дней после контрольного заражения, представлено ниже в табл. 8.26.

Таблица 8.26. Обобщение данных об относительном количестве свиней в группах, у которых была выявлена гипертермия (≥40,5°C) по меньшей мере в один из дней после контрольного заражения

День	Группа[1]	Количество позитивных животных	% позитивных животных	95% CI		Общее количество	p-значение
со дня D180 (DPC	**1**	3	14	3,0	36,3	21	0,4537
	2	5	25	8,7	49,1	20	
1) по день D189 (DPC 10)	**3**	0	0	0,0	26,5	12	NI

[1]Группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881; группа 2 -контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 - группа отрицательного контроля. [2]Одна свинья в группе, обработанной вакциной MLV PRRS 94881, и две свиньи в контрольной группе, предназначенной для контрольного заражения, умерли до осуществления контрольного заражения и не были включены в анализ. NI -не включали в статистический анализ.

Клинические оценки после вакцинации.

Для четырех из 22 (18%) обработанных MLV PRRS 94881 свиней, 8 из 22 (36%) свиней из контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, и у 2 из 12 (17%) свиней из группы отрицательного контроля были выявлены аномалии при клинических оценках по меньшей мере в один из дней в период со дня D1 по день D21. Не было выявлено статистически значимых различий между группами в этом параметре (p=0,3102).

Обобщение данных о проценте свиней в группах, у которых была выявлена по меньшей мере одна аномалия при клинической оценке в период со дня D1 по день D21, представлено ниже в табл. 8.27.

Таблица 8.27. Обобщение данных о проценте свиней в группах, у которых была выявлена по меньшей мере одна аномалия при клинической оценке в период со дня D1 по день D21

Группа[1]	Количество позитивных животных	% позитивных животных	95% CI		Общее количество	p-значение
1	4	18	5,2	40,3	22	0,3102
2	8	36	17,2	59,3	22	
3	2	17	2,1	48,4	12	NI

[1]Группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881; группа 2 -контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 - группа отрицательного контроля. NI - не включали в статистический анализ.

В общей сложности у 7 свиней, обработанных MLV PRRS 94881, была выявлена аномалия при клинической оценке по меньшей мере в один из дней в период со дня D1 по день D177.

У свиньи 121 было выявлено вздутие живота в период со дня D61 по день D146, опухание влагалища в период со дня D147 по день D167, вздутие живота в день D168, опухание влагалища в период со дня D169 по день 172 и вздутие живота в период со дня 173 по день 177. У свиньи 141 была выявлена худосочность в период со дня D4 по день D10, депрессия в период со дня D4 по день D6 и грубый волосяной покров в день D5. У свиньи 144 был выявлен кашель в день D26. У свиньи 146 было выявлено опухание грудины в день D82. У свиньи 147 была выявлена слабость ног в период со дня D84 по день D86 и она нетвердо стояла на ногах (покачивалась) в день D84. У свиньи 154 была выявлена худосочность в период со дня D4 по день D6. У свиньи 179 была выявлена худосочность в период со дня D2 по день D5, грубый волосяной покров в день D5 и она была обнаружена мертвой в день D6. У тринадцати свиней в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, была выявлена аномалия при клинической оценке по меньшей мере в один из дней в период со дня D1 по день D177: У свиньи 124 были выявлены покачивания и тремор в день D20 и она была обнаружена мертвой в день D21. У свиньи 134 было выявлено опухание влагалища в период со дня D46 по день D68, вздутие живота в период со дня D69 по день D143, пупочная грыжа в день D144 и вздутие живота в период со дня D145 по день D177. У свиньи 137 было выявлено опухание влагалища в период со дня D108 по день D143. У свиньи 138 вздутие живота в период со дня D115 по день D143. У свиньи 148 была выявлена хромота или опухание ноги в период со дня D16 по день 20 и кашель в день D35. У свиньи 149 была выявлена худосочность в период со дня D5 по день D9 и в день D12, а также грубый волосяной покров в период со дня D12 по день D15. У свиньи 150 была выявлена худосочность в период со дня D4 по день D9 и в день D13, плохая кондиция тела в период со дня D10 по день D12, а также депрессия в день D11. У свиньи 161 была выявлена худосочность в период со дня D4 по день D9, грубый волосяной покров и признаки нарушения центральной нервной системы в день D9, и она была обнаружена мертвой в день D10. У свиньи 167 было выявлено опухание влагалища в период со дня D117 по день D143. У свиньи 170 была выявлена худосочность в период со дня D4 по день D7 и депрессия в день D7. У свиньи 172 был выявлен нарыв или опухание копытца в период со дня D120 по день D143. У свиньи 177 была выявлена депрессия в день D19 и опухание шеи в период со дня D156 по день D159. У свиньи 178 была выявлена депрессия в день D5, в период со дня D17 по день 20 и со дня D28 по день D36, хромота и/или опухание ноги в период со дня D15 по день D47, худосочность в период со дня D16 по день D18, и ригидность ног в период со дня D39 по день D47. У шести свиней в группе отрицательного контроля была выявлена аномалия при клинической оценке по меньшей мере в один из дней в период со дня D1 по день D177. У свиньи 120 был выявлен кашель в период со дня D5 по день D7 и в день D12. У свиньи 126 была выявлена худосочность в период со дня D2 по день 18, депрессия в период со дня D4 по день D5, в день D10 и в период со дня D17 по день D19, грубый волосяной покров в день D5 и затрудненное дыхание в период со дня D18 по день D22. У свиньи 132 был выявлен абсцесс в период со дня D49 по день D56. У свиньи 145 было выявлено опухание влагалища в период со дня D37 по день D43 и со дня D46 по день D74, а также нарыв во влагалище в период со дня D75 по день D83 и со дня D85 по день D87. У свиньи 151 была выявлена хромота и/или опухание ноги в период со дня D78 по день D83 и в день D85. У свиньи 155 был выявлен абсцесс в период со дня D69 по день D77.

В период до осуществления контрольного заражения произошли три смерти. Свинья 179 (группа, вакцинированная MLV PRRS 94881, день D6): При осуществлении аутопсии были выявлены минимальные повреждения (худосочность, плохая кондиция тела). Лабораторный анализ выявил слабую макрофагальную интерстициальную пневмонию. Результаты иммуногистохимического анализа на PRRS были отрицательными. В образцах, взятых из кишечника, выявлено наличие автолиза, но не было обнаружено

серьезного некроза или серьезного воспаления. Были выделены гладкие колонии Escherichia coli и Enterococcus spp. (раздел 15.9). Свинья 124 (контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению, день D21): При осуществлении аутопсии не было выявлено макроскопических повреждений. При проведении лабораторных анализов был обнаружен менингоэнцефалит от серьезного суппуративного до пиогранулематозного с суппуративным периваскулитом. Был обнаружен также выраженный застой в легких и печени. Был вынесен диагноз: менингоэнцефалит, ассоциированный с инфекцией Streptococcus suis. Свинья 161 (контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению, D10): При осуществлении аутопсии были выявлены минимальные повреждения (худосочность, плохая кондиция тела). Из тканей легких были выделены Bordetella bronchiseptica, альфа-гемолитический стрептококк и Staphylococcus auricularis.

Серологический анализ на PRRS.

Все свиньи имели по данным ELISA PRRS-негативный статус в дни D0 и D7. В день D14 у 90% вакцинированных MLV PRRS 94881 свиней были выявлены PRRS-позитивные по данным ELISA титры. Этот уровень возрос до 95% в день D21 и составлял 100%, 100%, 100%, 90%, 100% и 95% в дни D28, D56, D84, D112, D140 и D168 соответственно. Ни у одной из свиней в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, не были обнаружены титры антител к вирусу PRRS на протяжении фазы вакцинации данного исследования и в период со дня D14 по день D168, в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе статистически значимо более высокий процент свиней имел позитивные титры антител к вирусу PRRS, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению ($p<0,0001$).

На протяжении фазы контрольного заражения данного исследования проценты свиней с позитивным по данным ELISA статусом в отношении титров антител к вирусу PRRS в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе составляли 95%, 95%, 100% и 100% в дни DPC 0, DPC 3, DPC 7 и DPC10 соответственно. В отличие от этого, в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, у свиней не были выявлены титры антител к вирусу PRRS вплоть до дня DPC 7, когда титры антител были выявлены у 30% животных. Этот уровень возрос до 80% в день DPC 10. На протяжении фазы контрольного заражения данного исследования в группе вакцинированных MLV PRRS 94881 свиней был более высокий процент животных с позитивными титрами антител к вирусу PRRS ($p\leq0,0478$).

Свиньи в группе отрицательного контроля сохраняли PRRS-негативный по данным ELISA статус на протяжении всего исследования за исключением двух свиней, у которых был выявлен "позитивный" результат в день D112. Свиньи 116 и 120 по данным ELISA имели PRRS-серонегативный статус в день D112.

Обобщение данных о процентах свиней с позитивным статусом в отношении титров антител к вирусу PRRS до осуществления контрольного заражения представлены ниже в табл. 8.28. Данные для фазы контрольного заражения настоящего исследования представлены ниже в табл. 8.29.

Таблица 8.28. Обобщение данных о частотах свиней с позитивным статусом в отношении титров антител к вирусу PRRS в группах животных в указанные дни в период со дня 0 по день 168

День	Группа[1]	Количество позитивных животных	% позитивных животных	95% CI		Общее количество	p-значение
0	1	0	0	0,0	15,4	22	NA
	2	0	0	0,0	15,4	22	
	3	0	0	0,0	26,5	12	NI
7	1	0	0	0,0	16,1	21	NA
	2	0	0	0,0	15,4	22	
	3	0	0	0,0	26,5	12	NI
14	1	19	90	69,6	98,8	21	<0,0001
	2	0	0	0,0	16,1	21	
	3	0	0	0,0	26,5	12	NI
21	1	20	95	76,2	99,9	21	<0,0001
	2	0	0	0,0	16,8	20	
	3	0	0	0,0	26,5	12	NI
28	1	21	100	83,9	100,0	21	<0,0001
	2	0	0	0,0	16,8	20	
	3	0	0	0,0	26,5	12	NI
56	1	21	100	83,9	100,0	21	<0,0001
	2	0	0	0,0	16,8	20	
	3	0	0	0,0	26,5	12	NI
84	1	21	100	83,9	100,0	21	<0,0001
	2	0	0	0,0	16,8	20	
	3	0	0	0,0	26,5	12	NI
112	1	19	90	69,6	98,8	21	<0,0001
	2	0	0	0,0	16,8	20	
	3	2	17	2,1	48,4	12	NI
140	1	21	100	83,9	100,0	21	<0,0001
	2	0	0	0,0	16,8	20	
	3	0	0	0,0	26,5	12	NI
168	1	20	95	76,2	99,9	21	<0,0001
	2	0	0	0,0	16,8	20	
	3	0	0	0,0	26,5	12	NI

[1]Группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881; группа 2 -контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 - группа отрицательного контроля. NI - не включали в статистический анализ. NA - не применимо, анализ не проводили.

Таблица 8.29. Обобщение данных о частотах свиней с позитивным статусом в отношении титров антител к вирусу PRRS в группах животных в указанные дни в период со дня DPC 0 по день DPC 10

День	Группа[1]	Количество позитивных животных	% позитивных животных	95% CI		Общее количество	p-значение
D179 (DPC 0)	1	20	95	76,2	99,9	21	<0,0001
	2	0	0	0,0	16,8	20	
	3	0	0	0,0	26,5	12	NI
D182 (DPC 3)	1	20	95	76,2	99,9	21	<0,0001
	2	0	0	0,0	16,8	20	
	3	0	0	0,0	26,5	12	NI
D186 (DPC 7)	1	21	100	83,9	100,0	21	<0,0001
	2	6	30	11,9	54,3	20	
	3	0	0	0,0	26,5	12	NI
D189 (DPC 10)	1	21	100	83,9	100,0	21	0,0478
	2	16	80	56,3	94,3	20	
	3	0	0	0,0	26,5	12	NI

[1]Группа 1 - группа, обработанная вакциной MLV PRRS 94881; группа 2 -контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению; группа 3 - группа отрицательного контроля. NI - не включали в статистический анализ.

Обсуждение/выводы

Для решения задачи исследования двадцати двум (22) здоровым восприимчивым к PRRS и имеющим серонегативный статус свиньям возрастом примерно 14 дней вводили IM по 1 мл MLV PRRS 94881. Тридцати четырем (22 свиньи - контрольная группа, предназначенная для контрольного заражения, и 12 свиней - группа отрицательного контроля) восприимчивым к PRRS и имеющим серонегативный статус свиньям возрастом примерно 14 дней вводили IM по 1 мл контрольного продукта.

Валидация исследования и модель контрольного заражения.

Свиньи в группе отрицательного контроля сохраняли негативный в отношении PRRSV статус (виремия; qПЦР) на протяжении всего исследования. У двух свиней (№ 116 и № 120) в группе отрицательного контроля были получены "позитивные" по данным ELISA результаты при оценке титров в день D112, в то время как все остальные результаты анализа методом ELISA для этой группы были негативными. Принимая во внимание, что виремия не была обнаружена ни у этих свиней, ни в указанной группе в целом; а также что для всех остальных образцов сыворотки были получены негативные по данным ELISA результаты, результаты, полученные для указанных двух свиней в день D112, были признаны позитивными "ошибочно", и они, по-видимому, были обусловлены невыясненной лабораторной ошибкой. Таким образом, настоящее исследование являлось валидным. Безотносительно к вопросу о доказательстве валидности исследования следует отметить, что в группе отрицательного контроля медианный балл выявленных путем гистологического анализа повреждений легких составил 9,0 в день D189, в отличие от того, что медианный балл макроскопических повреждений был равен 0,0%. Эти данные свидетельствуют о том, что у свиней, которых содержали в течение продолжительного периода времени в нормальных принятых в животноводстве условиях содержания свиней, возникли небольшие повреждения легких, которые не имели системного характера и не были связаны с конкретными патогенами. После инокуляции с использованием изолята 205817 европейского вируса PRRS описанным выше методом было установлено, что в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, средняя величина ADWG в период со дня DPC 0 по день DPC 9 составляла 0,2 кг/день (средняя величина ADWG в группе отрицательного контроля составляла 0,5 кг/день), медианная величина балла макроскопических повреждений легких составляла 13,8% (в группе отрицательного контроля она составляла 0,0%), медианная величина балла повреждений легких, выявленных путем гистологического анализа, составляла 19,5 (в группе отрицательного контроля она составляла 9,0), а медианная величина уровня РНК PRRSV в ткани легкого составляла 6,25 $\log_{10}$ GE/мл (в группе отрицательного контроля медианная величина составляла 0,0 $\log_{10}$ GE/мл). Эти результаты свидетельствуют о том, что у животных в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, индуцировалась заболевание со специфическими для PRRS клиническими признаками, что валидирует данную модель контрольного заражения в качестве адекватного инструмента для клинических лабораторных исследований эффективности вакцины против PRRS, и более конкретно, для оценки 26-недельной продолжительности действия иммунитета, вызываемого MLV PRRS 94881.

Определение 26-недельной продолжительности действия иммунитета, вызываемого MLV PRRS 94881.

Определение того, что DOI MLV PRRS 94881 составляет 26 недель после вакцинации, было основано на том, что в вакцинированной группе имели место статистически значимо ($p \leq 0,05$) меньшие повреждения (макроскопические или выявляемые путем гистологического анализа) легких после контрольного заражения, чем в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению.

Макроскопические или выявляемые путем гистологического анализа повреждения легких были выбраны в качестве основного параметра для определения 26-недельной DOI, поскольку этот параметр обеспечивает наиболее адекватное с клинической точки зрения и убедительное доказательство эффективности при оценке новой вакцины с использованием модели контрольного заражения свиней вирусом PRRS респираторным путем. Развитие повреждения легких является одним из характерных признаков респираторного заболевания PRRS свиней и его можно рассматривать как источник всех последующих проявлений вторичных особенностей заболевания, вызываемого PRRSV, таких как клинические признаки, гипертермия, пониженная величина ADWG и т.д.

В обработанной MLV PRRS 94881 группе была выявлена статистически значимо меньшая макроскопическая патология легких после контрольного заражения, о чем свидетельствовала медианная величина балла макроскопического повреждения легких, составлявшая 0,1%, по сравнению с медианной величиной балла макроскопического повреждения легких в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, составлявшей 13,8% ($p<0,0001$). Кроме того, в группе, обработанной MLV PRRS 94881, баллы повреждений легких, выявленных путем гистологического анализа, были статистически значимо меньше, о чем свидетельствовала медианная величина балла повреждений легких, выявленных путем гистологического анализа, составлявшая 6,0 для обработанной MLV PRRS 94881 группы по сравнению с медианной величиной балла повреждений легких, выявленных путем гистологического анализа, составлявшей 19,5 для контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению ($p<0,0001$). Таким образом, на основе основного параметра, а именно, статистически значимо меньших повреждений легких после контрольного заражения, было установлено, что имеет место 26-недельная DOI для MLV PRRS 94881 при ее применении в дозе $1\times10^{4,27}$ $TCID_{50}$. Этот результат был получен при применении вакцины в дозе, немного более низкой, чем заданная минимальная иммунизирующая доза, равная $1\times10^{4,5}$ $TCID_{50}$/мл. Для одной свиньи из контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению (№ 123), оказалось невозможным провести балльную оценку макроскопических повреждений легких вследствие наличия плеврита и спаек, обусловленных бактериальной инфекцией, но была проведена балльная оценка повреждений легких, выявляемых путем гистологического анализа. Исключение указанной свиньи из анализа макроскопических повреждений легких в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, не повлияло на выходные результаты настоящего исследования.

Уровень виремии после контрольного заражения был выбран в качестве наиболее важного вспомогательного параметра, поскольку он характеризует уровень репликации и персистентности вируса в организме хозяина после заражения. Статистически значимое ($p\leq0,05$) снижение уровня виремии должно соответствовать вакцине против вируса PRRS, которая индуцирует адекватный иммунитет, ограничивающий патогенез PRRS в организме хозяина. На 3, 7 и 10 день после контрольного заражения в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе имел место статистически значимо меньший уровень виремии (по данным qПЦР) по сравнению с контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению ($p<0,0001$). Для дополнительной оценки уровня виремии после контрольного заражения осуществляли расчет величины вирусной нагрузки в течение определенного периода времени, которое характеризуется величиной "площади под кривой" или AUC. Для вакцинированной MLV PRRS 94881 группы медианная величина AUC в период со дня DPC 0 по день DPC 10 составляла 15,54 $\log_{10}$ GE/мл/день; в то время как для группы контрольного заражения медианная величина AUC составляла 44,77 $\log_{10}$ GE/мл/день ($p<0,0001$). Кроме того, для вакцинированной MLV PRRS 94881 группы медианная величина AUC в период со дня DPC 3 по день DPC 10 составляла 8,88 $\log_{10}$ GE/мл/день; в то время как для контрольной группы, подвергнутой контрольному заражению, медианная величина AUC в этот период времени составляла 36,43 $\log_{10}$ GE/мл/день ($p<0,0001$). Как при анализе уровня виремии в конкретные моменты времени, так и при анализе в течение периода времени после контрольного заражения, было установлено, что введение вакцины MLV PRRS 94881 за 26 недель до осуществления контрольного заражения вирулентным гетерологическим штаммом европейского вируса PRRS приводило к статистически значимо ($p\leq0,05$) более низким уровням виремии после контрольной инокуляции.

Аналогично снижению уровня PRRS-виремии после контрольного заражения, статистически значимо ($p\leq0,05$) более низкий уровень вирусной нагрузки в тканях легких также может иметь важное значение с точки зрения иммунитета, индуцируемого вакциной против PRRS. Более низкий уровень вирусной нагрузки в ткани легких может быть ассоциирован с более низкой стабильностью, репликацией и персистентностью вируса в организме хозяина и, как следствие, может приводить к снижению передачи PRRSV другим свиньям. В настоящем исследовании было установлено, что для вакцинированной MLV PRRS 94881 группы медианная величина вирусной нагрузки в тканях легких по данным qПЦР составляла 3,69 $\log_{10}$ GE/мл через 10 дней после контрольного заражения (DPC 10), в то время как в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, медианная величина вирусной нагрузки в тканях легких по данным qПЦР составляла 6,25 $\log_{10}$ GE/мл. Различие между вакцинированной группой и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению, было статистически значимым ($p<0,0001$), это является дополнительным подтверждением того, что длительность действия иммунитета составляет 26 недель.

Выраженное снижение серьезности и частоты встречаемости клинических признаков после кон-

трольного заражения у свиней также должно являться дополнительным свидетельством эффективности вакцины против PRRS и подтверждением того, что имеет место 26-недельная DOI MLV PRRS 94881. Только у одной свиньи были выявлены клинические признаки после контрольного заражения: для свиньи 149 (контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению) был дан респираторный балл "1" (затрудненное дыхание/учащенное дыхание) в день D185. Ни у одной свиньи в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе не было выявлено клинических признаков на протяжении фазы после контрольного заражения в настоящем исследовании и не было выявлено статистически значимых различий между вакцинированной группой и контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению ($p=0,4878$ или анализ не осуществляли). В настоящем исследовании клинические признаки после контрольного заражения были недостаточно выраженными для оценки DOI.

Гипертермия варьировалась между группами после контрольного заражения. У вакцинированных MLV PRRS 94881 свиней была выявлена статистически значимо более низкая среднеквадратичная величина ректальной температуры в два дня (дни DPC 8 и DPC 10; ($p\leq0,0183$)) и более высокая среднеквадратичная величина ректальной температуры в четыре дня (дни DPC 0, DPC 2, DPC 4 и DPC 5; $p\leq0,0281$) по сравнению со свиньями в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению. Помимо этого не было выявлено статистически значимых различий между группами после контрольного заражения ($p\geq0,0642$). Хотя между группами были выявлены статистически значимые различия после контрольного заражения, эти различия не были важными с биологической точки зрения, учитывая, что средние величины ректальной температуры оставались на уровне ≤ 39,9°C (контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению, день D182) для всех групп. Не было выявлено различия между группами в относительном количестве свиней, у которых была обнаружена гипертермия по меньшей мере в один из дней после контрольного заражения ($p=0,4537$).

Наличие значительного уровня виремии, патологии легких и вирусной нагрузки в тканях легких вследствие PRRS, в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, обусловило наличие статистически значимого различия между группами в величинах веса тела в день DPC 9. В настоящем исследовании среднеквадратичные величины веса тела в вакцинированной группе и контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, в день DPC 9 составляли 138,3 кг и 130,3 кг соответственно ($p=0,0455$). Среднеквадратичные величины ADWG в период со дня DPC 0 по день DPC 9 составляли 0,4 кг/день и 0,2 кг/день в вакцинированной группе и контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, соответственно. Это различие не было статистически значимым ($p=0,1041$).

Проанализированные в настоящем исследовании параметры в период после вакцинации.

В течение фазы вакцинации настоящего исследования три свиньи были обнаружены мертвыми. Свинья 179 (группа, вакцинированная MLV PRRS 94881) была обнаружена мертвой в день D6, у нее была выявлена инфекция, вызванная smooth Escherichia coli и Enterococcus spp. Свинья 161 (контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению) была обнаружена мертвой в день D10, у нее была выявлена инфекция, вызванная Bordetella bronchiseptica, альфа-гемолитическим стрептококком и Staphylococcus auricularis. Свинья 124 (контрольная группа, подвергнутая контрольному заражению) была обнаружена мертвой в день D21, у нее была выявлена инфекция, вызванная Streptococcus suis, которая привела менингоэнцефалиту. Для контроля и предупреждения других случаев гибели свиней подвергли массовой обработке витаминами и антибиотиками, которые вводили путем инъекции. После обработок случаев гибели животных больше не было. Поскольку случаи смерти имели место в обеих группах обработки, то можно предположить, что IVP сама по себе не была ассоциирована с инфекциями. Более вероятным является то, что свиньи прибыли в исследовательский центр, уже будучи инфицированными. Результаты, полученные для этих свиней, учитывали при анализе в тех случаях, когда это было возможно. Баллы макроскопических повреждений легких и баллы повреждений легких, выявляемых путем гистологического анализа, были исключены из анализов повреждений легких, поскольку эти свиньи умерли до осуществления контрольного заражения. Потеря одной свиньи в группе, обработанной MLV PRRS 94881, и двух свиней в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, в течение продолжительного периода времени с момента вакцинации до осуществления контрольного заражения не повлияла на конечные результаты исследования.

У свиней при осуществлении клинических оценок не было выявлено никаких аномалий, связанных с вакцинацией с использованием MLV PRRS 94881 или с контрольным продуктом, после инокуляции в день D0. Аномалии при оценке в период после вакцинации были выявлены у семи свиней в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе; в то время как в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, аномалии были выявлены у тринадцати свиней. Если исключить из рассмотрения трех свиней, которые умерли вследствие бактериальной инфекции, то указанные аномалии включали худосочность, кашель, опухание, грубый волосяной покров, депрессию, абсцессы и плохую кондицию тела, выявленные в различные моменты времени, при этом ни один из указанных признаков не наблюдался в течение длительного периода времени. По мнению авторов изобретения эти результаты не связаны с введением экспериментального продукта, но скорее представляют собой типичные явления, встречающиеся у свиней на стадии откорма/созревания в условиях группового содержания в течение продолжительного пе-

риода времени.

Все свиньи имели PRRS-серонегативный по данным ELISA статус в день D0, это подтверждает, что все свиньи удовлетворяли критерию включения, согласно которому все свиньи должны были иметь PRRS-серонегативный статус при включении в исследование. У большинства свиней (90%), обработанных MLV PRRS 94881, имела место сероконверсия, в результате чего они приобрели PRRS-позитивный статус ко дню D14, а ко дню D28 все обработанные вакциной против PRRSV свиньи имели серопозитивный статус. В отличие от этого, свиньи в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, сохраняли серонегативный статус вплоть до 7 дней после осуществления контрольного заражения, после чего в этой группе начала происходить PRRS-сероконверсия. Как указано выше, у двух свиней в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, в день D112 был выявлен PRRS-серопозитивный статус по данным ELISA, что было решено считать случайным результатом, обусловленным неизвестной лабораторной ошибкой.

В дни 7, 14, 21 и 28 после вакцинации медианные результаты, полученные методом qПЦР, в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе составляли 3,00, 0, 0 и 3,00 $\log_{10}$ GE/мл соответствсенно. Эти результаты свидетельствуют о том, что в течение 4 недель после вакцинации доза MLV PRRS 94881, составляющая $1 \times 10^{4,27}$ $TCID_{50}$, индуцировала достаточный уровень репликации MLV, который часто является достаточным для создания защитного иммунитета уже через 4 недели после вакцинации. В отличие от этого, животные в контрольной группе, подвергнутой контрольному заражению, сохраняли негативный в отношении виремии PRRSV статус вплоть до трех дней после осуществления контрольного заражения.

Выводы

Статистически значимо меньшие ($p \leq 0,05$) макроскопические и выявленные путем гистологического анализа повреждения легких, обнаруженные при осуществлении аутопсии, вирусная нагрузка в тканях легких, обнаруженная при осуществлении аутопсии, и уровень виремии после контрольного заражения в вакцинированной MLV PRRS 94881 группе по сравнению с контрольной группой, подвергнутой контрольному заражению, демонстрируют эффективность вакцины против вирулентного PRRSV в том случае, когда вакцинацию животных проводили в возрасте 2 недель и осуществляли контрольное заражение через 26 недель после вакцинации. Таким образом, результаты настоящего исследования подтверждают наличие 25-недельной продолжительности иммунитета после вакцинации с использованием MLV PRRS 94881. Эти результаты были получены при использовании дозы вакцины $1 \times 10^{4,27}$ $TCID_{50}$/мл, которая была немного ниже минимальной иммунизирующей дозы ($1 \times 10^{4,5}$ $TCID_{50}$/мл).

Ниже представлены последовательности ослабленного штамма PRRSV 94881 и родительского штамма:

SEQ ID NO: 1: полноразмерная нуклеотидная последовательность исходного вакцинного вируса PRRS 94881

```
   1 TTTGTGTACC TTGGAGGCGT GGGTACAGCC CTGCCCCACC CTTTGGTCCC TGTTCTAGCC
  61 CGACAAGTAC CCTTCTCTCT CGGGGCGAGC GCGCCGCCTG CTGCTCCCTT GCGGCGGGAA
 121 GGACCTCCCG AGTATTTCCG GAGAGCACCT GCTTTACGGG ATCTCCGCCC TTTAACCATG
 181 TCTGGGATGT TCTCCCGGTG CATGTGCACC CCGGCTGCCC GGGTATTTTG GAACGCCGGC
 241 CAAGTCTATT GCACACGGTG TCTCAGTGCA CGGTCTCTTC TCTCTCCAGA ACTTCAGGAC
 301 ACGGACCTCG GTGCAGTTGG CTTGTTTCAC AAGCCTAAAG ACAAGCTCCA TTGGAAAGTT
 361 CCCATTGGTA TCCCCCAGGT GGAATGTTCT CCATCTGGGT GTTGCTGGCT GTCAACCATT
 421 TTTCCTTTAG CGCGCATGAC CTCCGGCAAT CACAACTTCC TTCAACGACT CGTGAAGGTT
 481 GCTGATGTAT TGTACCGTGA CGGTTGCTTA ACCCCTAGAC ACCTCCGTGA ACTCCAAGTT
 541 TACGAGCGTG GTTGCAATTG GTATCCGATT ACGGGGCCTG TGCCTGGGAT GGCTGTGTAC
 601 GCGAACTCCA TGCACGTGTC CGACCAACCG TTCCCTGGTG CCACTCATGT GTTAACAAAT
 661 TCCCCTTTGC CTCAACGGGC TTGTCGGCAG CCGTTCTGTC CGTTCGAAGA GGCCCATTCT
 721 AGCATATACA GGTGGGAAAA ATTTGTAATT TTTATGGATT CCTCCTCCGA CGGTCGATCT
 781 CGCATGATGT GGACTCCGGA ATCCGATGAC TCCACGGCTT TGGAAGTTCT GCCGCCCGAG
 841 CTAGAACACC AGGTCAAGGT CCTTGTTCGG AGCTTTCCCG CCCATCACCT TGTCGACCTT
 901 GCCGATTGGG AGCTCACTGA GTCCCCTGAT AACGGTTTTT CCTTCAGCAC GTCACATCCT
 961 TGCGGCTACC TTGTTCGGGA CCCGGCTGTA TCCGAAGGCA AGTGTTGGCT TTCCTGCTTT
1021 TTGAGCCAGT CAGCCGAAGT GCTCAGTCGC GAGGCGCATC TGGCTACCGC CTATGGTTAC
1081 CAAACCAAGT GGGGTGTGCC TGGCAAGTAC ATCCAGCGCA GACTTCAAGT TCACGGTCTC
1141 CGTGCTGTGG TCGACCCTGA TGGTCCCATT CACGTTGAAG CATTGTCTTG CCCCCAGTCT
1201 TGGATCAGGC ACTTGACCCT GAATGATGAT GTCACCCCGG GATTCGTTCG CCTAATGTCT
```

```
1261 CTTCGCATTG TGCCGAACAC AGAGCCTACC ACACACCGGA TCTTTCGTTT TGGAGTGCAC
1321 AAGTGGTATG GTGCCGCCGG CAAACGGGCC CGTGGCAAGC GTGCCGCCAA AAGTGAGAAA
1381 GACTCGGCTT CCACCCTCAA GGTTGCCCGA CCGACTTCCA CCAGTGGAAT CGTCACCTAC
1441 TCCCCACCTG CGGACGGGTC TTGTGGTTGG CATGCCCTTG CCGCCATACT GAACCGGATG
1501 ATTAATAATG ACTTCACGTC CCCTCTGCCT CGGTACAACA GGCCGGAGGA CGATTGGGCT
1561 TCTGATGGTG ACCTTGCTCA GGCCATTCAA TGTTTGCAAC TACCTGCCGC CATAGCTCGG
1621 AACCGCGCCT GCCCTAACGC CAAATACCTC ATAAAACTCA ACGGAGTTCA TTGGGAGGTA
1681 GAGGTGAGGC CTGGAATGGC TCCTCGCTCC CTCTCTCGTG AGTGCGTTGT TGGCGTCTGC
1741 TCTGAAGGCT GTGTCGCGTC GCCTTACCCG GAGGACGGGT TGCCTAAACG TGCACTTGAG
1801 GCCCTGGCGT CTGCTTATAG ACTGCCTTCA GACTGTGTTT GTGATGGTAT TATTGACTTC
1861 CTTGCCAATC CACCTCCCCA GGAGTTCTGG ACTCTTGACA AAATGTTGAC TTCCCCGTCA
1921 CCGGAGCAGT CCGGCTTCTC TAGTCTGTAT AAATTGTTGT TAGAGATCTT GCCGCAGAAA
1981 TGCGGATCCA CAGAAGGGGA ATTCATCTAT ACTGTTGAGA GGATGTTGAA GGATTGTCCG
2041 AGCTCCAAAC AGGCCATGGC CCTCCTTGCA AAAATTAAGG TCCCATCCTC AAAGGCCCCA
2101 TCCGTGACTC TGAACGAGTG CTTCCCCACG GATGTTCCAG TCAACTCTGA GTTAATATCT
2161 TGGGAAGAGC CCAAAGACCC TGGCGCTGCT GTTGTCCTAT GTCCATCGGA TGCAAAAGAA
2221 TCTAAGGAAA CAGCCCCTGA AGAAGCTCAA GCGAGAAACC GTAAGGTCCT TCACCCTGTG
2281 GTCCTTACCG AGGAACTTAG CGAGCAACAG GTGCAGGTGG TTGAGGGTGA TCAGGATATG
2341 CCACTGGATT TGACTTGGCC AACCTTAACC GCTACGGCGA CCCCTGTTAG AGGGCCGGTA
2401 CCGGACAATT TGAGCTCTGG CATTGGTGCC CAGCCCGCTA CCGTTCAAGA ACTCATTCTG
2461 GCGAGGCCTG CACCCCGTCT TGTTGAGCGC TGTGGCACGG AGTCGAACGG CAGCAGTTCA
2521 TTTCTGGATT TGCCTGACGT GCAGACCTCG GACCAGCCTT TAGACCTGTC CCTGGCCGCG
2581 TGGCCTGTAA GGGCTACCGC GTCTGACCCC GGTTGGATCC ACGGTAGGCG TGAGCCTGTC
2641 TTTGTGAAGC CTCGAGGTGT TTTCTCTGAT GGCGAGTCGG CCCTTCAGTT CGGAGAGCTT
2701 TCCGAAGCCA GTTCTGTCGT CGATGACCGG ACAAAAGAAG CTCCGGTGGT TGACGCCCCC
2761 ATCGATTTGA CAACTTCGAA CGAGACGCTC TCTGGGTCTG ACCCCTTTGA ATTCGCCAAA
2821 TTCAGGCGCC CGCGTTTCTC CGCGCAAGCT TTAATCGACC GAGGTGGTCC GCTTGCCGAT
2881 GTTCATGCAA AGATAAAGAG TCGGGTATAT GAACAATGCC TTCAAGCTTG TGAACCTGGT
2941 AGTCGTGCGA CCCCAGCCAC CAAGAAGTGG CTCGACAAAA TGTGGGACAG GGTGGACATG
3001 AAAACTTGGC GCTGCACCTC GCAGTTCCAA GCTGGTCACA TTCTTGAGTC CCTCAAATTC
3061 CTCCCTGACA TGATTCAAGA CACACCGCCT CCTGTTCCCA GGAAGAACCG AGCTGGTGAC
3121 AGTGCCGGCC TGAAGCAACT GGTGGCGCAG TGGGATAGGA AATCGAGTGT GACACCCCCC
3181 ACAAAACCGG TTGGACCGGT GCTTGACCAG GCCGTCCCTC TGCCTATGGA CATCCAGCAA
3241 GGAGATGCCA TCTCCGCTGA CAAGCCACCC CATTCGCAAA ACCCTTCTAG TCAAGTAGAT
3301 GTGGGTGGAG GTTGGAAAAG TTTTATGCTC TCCGGCACCC GTTTCGCGGG GTCCGTTAGT
3361 CAGCGCCTTA CGACATGGGT TTTTGAGGTT CTCTCCCATC TCCCAGCTTT TATGCTCACA
3421 CTTTTCTCGC CACGGGGCTC TATGGCTCCA GGTGATTGGC TGTTTGCAGG TGCTGTTCTA
3481 CTTGCTCTCC TGCTCTGCCG TTCTTACCCA ATACTCGGAT GCCTTCCCTT ATTGGGTGTC
3541 TTTTCTGGTT CTGTGCGGTG TGTTCGTTTG GGTGTTTTTG GTTCTTGGAT GGCTTTTGCT
3601 GTATTTTTAT TCTCGACTCC ACCCGACCCA GTCGGTTCTT CTTGTGACCA CGATTCGCCG
3661 GAGTGTCATG CTGAGCTTTT GGCTCTTGAG CAGCGCCAAC TTTGGGAACC TGTGCGCAGC
3721 CTTGTGGTCG GGCCATCGGG CCTCTTATGC GTCATTCTTG GCAAGTTACT CGGTGGGTCA
3781 CGTTGTCTCT GGTTTGTTCT CCTACGTATA TGCATGCTCG CAGATTTGGC AATTTCTCTT
3841 ATTTATGTGG TGTCCCAAGG GCGTTGTCAC AAGTGTTGGG GAAAGTGTAT AAGGACGGCT
3901 CCTGCAGAAG TGGCCCTTAA TGTGTTTCCT TTTTCGCGCG CCACCCGCTC ATCTCTTGTG
3961 TCCTTGTGTG ATCGGTTCCA AGCGCCAAAA GGAGTTGACC CCGTGCACTT GGCGACAGGC
4021 TGGCGCGGGT GCTGGTGTGG TGAGAGCCCT ATTCATCAAT CACACCAAAA ACCGATAGCT
4081 TATGCCAACT TGGATGAAAA GAAGATATCC GCCCAGACGG TGATTGCTGT CCCGTATGAT
4141 CCTAGTCAGG CCATTAAATG CCTGAAAGTT TTGCAGGCAG GAGGGGCTAT TGTGGACCAG
4201 CCTACGCCCG AGGTCGTCCG TGTGTCTGAG ATTCCCTTCT CGGCCCCATT TTTTCCGAAG
4261 GTCCCAGTCA ACCCAGACTG CAGGGTTGTG GTAGATTCGG ACACTTTTGT GGCTGCGGTC
4321 CGCTGCGGTT ATTCGACAGC ACAACTGGTC CTTGGTCGGG GCAACTTTGC CAAGCTAAAT
4381 CAGACCCCCC TCAGGAACTC TGTCCCCACC AAAACAACTG GTGGGGCCTC ATACACCCTT
4441 GCCGTGGCCC AGGTATCTGT GTGGACTCTT GTTCATTTCA TCCTCGGCCT TTGGTTAACG
4501 TCACCTCAAG TGTGTGGTCG AGGGACCTCT GACCCGTGGT GTTCGAACCC TTTTTCGTAT
4561 CCTACTTATG GCCCCGGAGT TGTGTGTTCC TCTCGACTCT GCGTGTCTGC CGACGGAGTT
4621 ACCCTGCCAT TGTTCTCAGC CGTTGCCCAT CTTTCCGGTA GAGAGGTGGG GATTTTTATT
4681 TTGGTGCTTG CCTCCTTGGG CGCTTTAGCC CACCGCTTGG CTCTTAAGGC AGACATGTCA
4741 ATGGTCTTTT TGGCGTTTTG TGCTTACGCC TGGCCCATGA GCTCCTGGTT AATTTGCTTC
4801 TTTCCTATGC TCTTGAGGTG GGTAACCCTT CATCCTCTCA CTATGCTTTG GGTGCACTCA
4861 TTTTTGGTGT TTTGCCTACC AGCTGCCGGC GTTCTCTCGC TGGGAATAAC CGGTCTTCTT
4921 TGGGCAGTTG GCCGTTTCAC CCAGGTTGCC GGAATTATCA CACCTTATGA CATCCACCAG
4981 TATACCTCCG GACCACGTGG TGCAGCTGCT GTAGCAACGG CTCCAGAAGG TACTTACATG
5041 GCGGCCGTTC GGAGAGCCGC TTTGACTGGA CGGACTTTGA TCTTCACACC ATCTGCAGTC
5101 GGATCCCTTC TTGAAGGTGC TTTCAGAACT CAAAAGCCCT GCCTTAACAC CGTGAATGTC
5161 GTAGGCTCTT CCCTTGGTTC TGGAGGAGTT TTCACCATTG ATGGCAGAAG AGTCATCGTC
5221 ACTGCCACCC ATGTGTTGAA TGGTAACACA GCCAGGGTCA CTGGTGATTC CTACAACCGC
5281 ATGCACACGT TCAATACTAA TGGTGATTAT GCCTGGTCCC ATGCTGATGA CTGGCAAGGC
5341 GTTGCCCCTA TGGTTAAGAT CGCTAAGGGG TATCGCGGTC GTGCCTACTG GCAAACGTCA
5401 ACCGGAGTCG AACCTGGCAT CATGGGGGAA GGATTCGCCT TCTGTTTCAC TAACTGTGGC
```

```
5461 GACTCAGGGT CACCTGTCAT TTCAGAAGCT GGTGACCTTA TTGGAGTCCA TACCGGTTCA
5521 AACAAACTCG GTTCTGGTCT TGTGACAACC CCTGAAGGGG AGACCTGCTC CATCAAGGAA
5581 ACTAGGCTCT CTGACCTTTC TAGACATTTT GCAGGTCCAA GCGTCCCTCT TGGGGACATT
5641 AAGTTGAGCC CAGCCATCAT CCCTGATGTG ACAACTATTC CGAGTGACTT GGCATCGCTC
5701 CTTGCTTCTG TCCCCGTGAT GGAAGGTGGC CTCTCAACTG TCCAGCTTTT GTGCGTCTTT
5761 TTCCTTCTCT GGCGCATGAT GGGCCATGCC TGGACACCCA TTGTTGCCGT AGGCTTCTTT
5821 TTGCTGAATG AAATTCTCCC AGCAGTCTTG GTCCGAGCTG TGTTCTCTTT TGCACTCTTT
5881 GTACTTGCAT GGGCCACCCC CTGGTCGGCA CAAGTGTTGA TGATTAGACT CCTCACGGCG
5941 GCTCTCAACC GCAACAGGTT GTCCCTGGCG TTCTACGCAT TCGGAGGTGT CGTTGGCCTG
6001 GCCACAGAAA TCGGGACTTT TGCTGGTGGA TGGCCTGAAC TGTCCCAAGC CCTCTCGACA
6061 TACTGCTTCC TGCCCAGGTT CCTTGCTGTG ACTAGTTATG TCCCCACCAT CATCATCGGT
6121 GGGCTCCATG CCCTCGGCGT AATTTTGTGG TTATTCAAAT ACCGATGCCT CCACAACATG
6181 CTGGTTGGTG ATGGGAGTTT CTCAAGCGCT TTCTTCCTAC GGTATTTTGC TGAGGGTAAT
6241 CTTAGGAAAG GCGTGTCGCA GTCCTGTGGC ATGAATAACG AATCCCTGAC AGCTGCTTTG
6301 GCTTGCAAGT TGTCGCAAGC TGACCTTGAT TTTTTGTCCA GTTTAACGAA CTTCAAGTGC
6361 TTTGTGTCCG CTTCAAACAT GAAAAATGCA GCTGGCCAAT ACATCGAGGC GGCGTATGCT
6421 AGAGCTCTGC GTCAGGAGCT GGCCTCCTTG GTTCAGGTTG ACAAGATGAA AGGAGTATTG
6481 GCCAAGCTCG AGGCTTTCGC TGAGACGGCC ACTCCGTCAC TTGACACAGG GGACGTGATT
6541 GTTCTGCTTG GGCAACACCC CCATGGATCC ATCCTCGACA TTAATGTGGG GGGTGAAAGG
6601 AAAACTGTGT CTGTGCAAGA AACACGATGC CTGGGTGGTT CCAAATTCAG TGTCTGCACT
6661 GTCGTGTCCA ACACGCCCGT GGATACCTTG ACCGGTATCC CACTTCAGAC GCCAACCCCA
6721 CTTTTTGAAA ATGGCCCGCG CCATCGCAGC GAGGACGACG ACCTCAAAGT TGAGAGAATG
6781 AAAAAACACT GTGTATCCCT CGGCTTCCAC AAAATCAATG GTAAAGTTTA CTGCAAAATT
6841 TGGGACAAGT CTAACGGCGA CACCTTTTAC ACGGATGATT CCCGATACAC TCAAGACCAT
6901 GCTTTTCAGG ACAGGTCAAC CGACTATAGA GACAGGGATT ATGAAGGTGT ACAGACCGCC
6961 CCCCAACAGG GATTCGATCC AAAGTCCGAA GCCCCTGTTG GCACTGTTGT AATCGGTGGC
7021 ATTACGTATA ACAGGCATCT GGTCAAAGGT AAGGAGGTCC TAGTTCCCAA ACCTGACAAC
7081 TGCCTTGAAG CTGCCAGACT GTCCCTTGAG CAAGCTCTTG CTGGGATGGG CCAAACTTGT
7141 GACCTTACAG CTACCGAAGT GGAGAAACTA AAGCGCATCA TTAGTCAACT CCAAGGTCTG
7201 ACCACTGAAC AGGCTTTAAA CTGCTAGCCG CCAGCGGCTT GACCCGCTGT GGCCGCGGCG
7261 GCCTAGTTGT AACTGAAACG GCGGTAAAAA TCGTAAAATA CCACAGCAGA ACTTTCACCT
7321 TAGGCTCTTT AGACCTAAAA GTCACCTCCG AGGTGGAGGT GAAGAAATCA ACTGAGCAGG
7381 GGCACGCTGT CGTGGCGAAC TTATGTTCCG GTGTCGTCTT GATGAGGCCT CACCCACCGT
7441 CCCTTGTTGA CGTTCTCCTC AAACCCGGAC TTGACACAAC ACCCGGCATT CAACCAGGGC
7501 ATGGGGCCGG GAATATGGGC GTGAACGGTT CTATTTGGGA TTTTGAAACT GCACCCACAA
7561 AGGTAGAACT AGAGTTGTCC AAGCAAATAA TCCAAGCATG TGAAGTCAGG CGCGGGGACG
7621 CCCCTAACCT CCAACTCCCC TACAAGCTTT ATCCTGTCAG GGGGGACCCC GAGCGGCGTA
7681 AAGGTCGCCT TGTCAACACT AGGTTTGGAG ATTTACCTTA CAAAACTCCC CAAGACACCA
7741 AGTCCGCAAT TCATGCGGCT TGTTGCCTGC ATCCCAATGG GGTCCTCGTG TCTGATGGCA
7801 AATCCACGCT GGGTACCACT CTTCAACATG GTTTCGAGCT TTATGTCCCC ACTGTACCTT
7861 ATAGTGTCAT GGAATACCTT GATTCACGCC CTGACACCCC TTTTATGTGT ACTAAACATG
7921 GCACTTCCAA GGCTGCTGCA GAGGACCTCC AAAAATATGA CCTATCCACT CAAGGGTTTG
7981 TCTTGCCTGG GGTCCTACGC CTAGTGCGCA GGTTCATCTT TAGCCATGTT GGTAAGGCGC
8041 CACCACTGTT CCTTCCATCA ACCTACCCTG CCAAGAACTC CATGGCAGGG GTCAATGGCC
8101 AGAGGTTCCC AACAAAGGAT GTCCAGAGCA TACCTGAAAT TGATGAAATG TGCGCCCGTG
8161 CCGTCAAGGA AAATTGGCAG ACTGTGACAC CTTGCACCCT CAAAAAACAG TACTGTTCCA
8221 AACCTAAAAC TAGAACCATC CTAGGTACCA ACAACTTCAT AGCCTTGGCT CACAGGTCAG
8281 CACTCAGTGG TGTCACCCAG GCGTTCATGA AGAAGGCCTG GAAGTCCCCA ATTGCCTTGG
8341 GGAAAAACAA GTTTAAGGAA TTGCATTGCA CTGTCGCCGG CAGATGCCTT GAGGCTGACC
8401 TGGCTTCCTG CGATCGCAGC ACCCCCGCCA TTGTGAGGTG GTTTGTTGCC AACCTCCTGT
8461 ATGAACTTGC AGGATGTGAA GAGTACTTGC CTAGCTACGT GCTCAACTGT TGCCATGACC
8521 TTGTGGCAAC GCAGGATGGC GCTTTCACAA AACGCGGTGG CCTGTCGTCC GGGGACCCCG
8581 TCACCAGTGT GTCCAACACC GTCTACTCAC TGATAATTTA CGCCCAGCAC ATGGTGCTTT
8641 CGGCCTTGAA GATGGGTCAT GAAATTGGTC TCAAGTTCCT TGAGGAACAG CTCAAATTTG
8701 AGGACCTTCT TGAAATCCAG CCCATGTTAG TGTATTCTGA TGACCTCGTC TTGTATGCGG
8761 AAAGACCCAC TTTTCCCAAC TACCATTGGT GGGTCGAGCA TCTTGACCTG ATGTTGGGCT
8821 TTAAAACGGA CCCAAAGAAA ACTGTCATAA CTGATAAACC CAGTTTTCTC GGCTGCAGAA
8881 TTGAAGCAGG ACGGCAGTTA GTCCCCAATC GCGACCGTAT TCTGGCTGCT CTTGCATATC
8941 ATATGAAGGC GCAGAACGCC TCAGAGTATT ATGCGTCCGC TGCCGCAATT CTGATGGATT
9001 CGTGTGCTTG CATTGACCAT GACCCCGAGT GGTATGAGGA TCTTATCTGC GGCATCGCCC
9061 GGTGTGCTCG CCAGGACGGT TACCGTTTTC CAGGCCCGGC ATTTTTCATG TCCATGTGGG
9121 AGAAGCTGAA AAGTCATAAT GAAGGGAAGA AATGCCGTCA CTGCGGCATC TGCGACGCCA
9181 AAGCCGACTA TGCGTCCGCC TGTGGACTTG ATTTGTGTTT GTTCCATTCA CACTTTCATC
9241 AACACTGCCC AGTCACTCTG AGCTGTGGCC ACCATGCCGG TTCAAAGGAA TGTTCGCAGT
9301 GTCAGTCACC TGTCGGGGCT GGCAAATCCC CCCTTGACGC TGTGCTGAAA CAAATCCCGT
9361 ACAAACCTCC TCGTACCATT ATCATGAAGG TGGACAACAA AACAACGACC CTTGACCCGG
9421 GAAGATATCA GTCCCGTCGA GGTCTTGTTG CAGTCAAAAG AGGTATTGCA GGTAATGAGG
9481 TTGATCTTTC TGATGGAGAC TACCAAGTGG TGCCTCTTTT GCCGACTTGC AAAGACATAA
9541 ACATGGTGAA GGTGGCTTGC AACGTACTAC TCAGCAAGTT TATAGTAGGG CCGCCAGGTT
9601 CCGGAAAAAC CACCTGGCTA CTGAACCAAG TCCAGGACGA TGATGTCATT TACACACCTA
```

```
 9661 CTCATCAGAC AATGTTTGAC ATAGTCAGTG CTCTTAAAGT TTGCAGGTAT TCCATCCCAG
 9721 GAGCCTCAGG ACTCCCTTTT CCACCACCTG CCAGGTCCGG GCCGTGGGTT AGGCTCATCG
 9781 CCAGCGGACA TGTCCCTGGC CGAGTGTCAT ATCTCGATGA GGCAGGATAT TGCAATCATC
 9841 TAGACATTCT AAGGCTGCTT TCCAAAACAC CCCTTGTGTG TTTGGGTGAC CTTCAGCAAC
 9901 TTCACCCGGT CGGCTTTGAT TCCTATTGTT ATGTGTTCGA TCAGATGCCT CAGAAGCAGC
 9961 TGACCACCAT TTATAGATTT GGCCCTAACA TCTGTGCAGC CATCCAGCCT TGTTACAGGG
10021 AGAAACTTGA ATCCAAGGCC AGGAACACCA GAGTGGTTTT CACCACCCGG CCTGTGGCCT
10081 TTGGTCAGGT CCTGACACCG TACCACAAAG ATCGTACCGG CTCTGCAATA ACTATAGATT
10141 CATCCCAGGG GGCGACCTTC GACATTGTGA CATTGCATCT ACCATCGCCA AAGTCCCTAA
10201 ACAAATCCCG AGCACTTGTA GCCATCACTC GGGCAAGACA TGGGTTGTTC ATTTATGACC
10261 CTCATGACCA ACTCCAGGAG TTTTTCAACT TAACCCCCGA GCGCACTGAT TGTAACCTTG
10321 CGTTCAGCCG TGGGGATGAG CTGGTTGTTT TGAATGTGGA TAATGCGGTC ACAACTGTAG
10381 CGAAGGCCCT AGAGACAGGT TCACCCCGAT TTCGAGTATC GGACCCGAGG TGCAAGTCTC
10441 TCTTAGCCGC TTGTTCGGCC AGTCTAGAAG GGAGCTGCAT GCCACTACCA CAAGTAGCAC
10501 ATAACCTGGG GTTTTACTTT TCCCCGGACA GCCCAGCTTT TGCACCCCTG CCAAAAGAGC
10561 TGGCGCCACA TTGGCCAGTG GTCACCCACC AGAATAATCG AGCGTGGCCT GATCGACTTG
10621 TCGCTAGTAT GCGCCCAATT GATGCCCGCT ACAGCAAGCC AATGGTCGGT GCAGGGTATG
10681 TGGTCGGGCC ATCCATTTTT CTTGGCACTC CTGGTGTGGT GTCATACTAT CTCACATTAT
10741 ACATCGGGGG CGAGCCTCAG GCCCTGCCAG AAACACTCGT TTCAACAGGA CGTATAGCCA
10801 CAGATTGTCG GGAATATCTC GACGCGGCTG AGGAAGAGGC AGCGAGAGAA CTTCCCCACG
10861 CATTTATTGG CGATGTCAAA GGCACTACGA TCGGGGGGTG TCACCACATT ACATCGAAAT
10921 ACCTACCTAG GTCCCTGCCT AAAGACTCTG TTGCTGTGGT TGGGGTGAGT TCGCCCGGTA
10981 GGGCTGCTAA AGCCGTGTGC ACTCTCACCG ATGTGTACCT CCCCGAACTC CGACCATATT
11041 TGCAACCGGA GACGGCATCA AAATGCTGGA AACTTAAACT GGATTTCAGG GATGTTCGAC
11101 TGATGGTCTG GAAAGGCGCC ACAGCCTATT TCCAGTTGGA AGGGCTGACA TGGTCAGCGC
11161 TGCCCGATTA TGCTAGGTTC ATTCAGCTAC CCAAGGATGC CGTTGTGTAC ATCGATCCGT
11221 GTATAGGGCC GGCAACAGCC AATCGCAAGG TTGTGCGAAC CACAGACTGG CGGGCCGACC
11281 TGGCAGTGAC ACCGTATGAT TACGGTGCTC AGGTCATTTT GACAACAGCC TGGTTCGAGG
11341 ACCTTGGGCC GCAGTGGAAG ATTTTGGGGT TGCAGCCTTT CAGACGAACA TTTGGCTTTG
11401 AGAACACTGA AGATTGGGCA ATTCTCGCAC GCCGTATGAA TGACGGCAAA GATTACACTG
11461 ACTATAATTG GCATTGTGTA CGAGAACGCC CACACGCAAT TTACGGGCGC GCCCGTGACC
11521 ATACGTATCA TTTTGCCCTT GGCACTGAAC TGCAAGTAGA GCTGGGCAGA CCCCGGCTGC
11581 CTCCTGAGCA AGTGCCGTGA ACGCGGAGTG ATGCAATGGG TTTACTGTGG AGTAAAATCA
11641 GTCAGTTGTT CGTGGATGCC TTCACTGAGT TCCTTGTTAG TGTGGTTGAC ATTGTCATCT
11701 TTCTCGCCAT ATTGTTTGGG TTCACTGTTG CAGGCTGGTT ATTGGTCTTC CTTCTCAGAG
11761 TGGTTTGCTC CGCGTTTCTC CGTTCGCGCT CTGCCATTCA CTCTTCCGAA CTATCGAAGG
11821 TCCTATGAGG GCTTGCTACC CAACTGCAGA CCGGATGTCC CACAATTCGC AGTTAAGCAC
11881 CCGTTGGGTA TACTTTGGCA TATGCGAGTC TCCCACCTAA TTGACGAAAT GGTCTCTCGC
11941 CGCATTTACC GGACCATGGA ACATTCGGGT CAAGCGGCCT GGAAGCAGGT TGTTAGTGAA
12001 GCCACTCTCA CAAAACTGTC AAGGCTTGAC GTAGTCACTC ATTTCCAACA CCTGGCCGCA
12061 GTGGAGGCTG ATTCTTGCCG CTTCCTTAGC TCACGACTCG CGATGCTGAA AAACCTTGCC
12121 GTTGGCAATG TGAGCCTGGA GTACAACACT ACTTTGGACC GCGTTGAGCT CATCTTTCCC
12181 ACACCAGGTA CGAGGCCCAA GTTGACCGAT TTTAGGCAAT GGCTTATCAG CGTGCACGCT
12241 TCCATCTTCT CCTCTGTGGC TTCGTCTGTT ACCTTGTTCA CAGTGCTTTG GCTTCGAATT
12301 CCAGCTCTAC GCTATGTTTT TGGTTTCCAT TGGCCCACGG CAACACATCA TTCGAACTAA
12361 CTATCAATTA CACTATATGT AAGCCATGCC CTACCAGTCA AGCTGCCCAA CAAAGACTCG
12421 AGCCTGGCCG TAACGTGTGG TGCAAAATAG GGCACGACAG GTGTGAGGAA CGTGACCATG
12481 ATGAGTTGTC AATGTCCATT CCGTCCGGGT ACGACAACCT CAAACTTGAG GGTTATTATG
12541 CTTGGCTGGC TTTTTTGTCC TTTTCCTACG CGGCCCAATT CCATCCGGAG CTGTTCGGAA
12601 TAGGAAACGT GTCGCGCGTC TTTGTGGATA AGCGACACCA GTTCATTTGC GCCGAGCATG
12661 ATGGACAAAA TTCAACCATA TCTGCCAGAC ACAACATCTC CGCGTCGTAT GCGGTGTATT
12721 ACCATCATCA AATAGACGGG GGCAATTGGT TTCATTTGGA ATGGCTGCGA CCATTCTTTT
12781 CCTCCTGGCT GGTGCTCAAC ATCTCATGGT TTCTGAGGCG TTCGCCTGCA AGCCCTGCTT
12841 CTCGACGCAT CTATCAGATA TTAAGACCAA CACGACCGCG GCTGCCGGTT TCATGGTCCT
12901 TCAGAACATC AATTGTTTCC AATCTCACAG GGCCTCAACA GCGCAAGGTA CCACTCCCCT
12961 CAGGAGGTCG TCCCAATGTC GTGAAGCCGT CGGCATTCCC CAGTACATCA CGATAACGGC
13021 TAATGTGACC GATGAATCGT ATTTGTACAA CGCGGACTTG CTGATGCTTT CCGCGTGCCT
13081 TTTCTACGCC TCGGAAATGA GCGAGAAAGG CTTCAAAGTC ATCTTTGGGA ATATTTCTGG
13141 CGTTGTTTCC GCTTGTGTTA ATTTCACAGA TTATGTGGCC CATGTGACCC AACACACTCA
13201 GCAGCACCAT TTGGTAATTG ATCACATTCG GTTACTACAC TTCTTGACAC CGTCTACGAT
13261 GAGGTGGGCT ACAACCATTG CTTGTTTGCT TGCCATTCTT TTGGCGGTAT GAAATGTTCT
13321 TGCAAGTTGG GGCATTTCTT GACTCCTCAC TCTTGCTTCT GGTGGCTTTT TTTGCTGTGT
13381 ACCGGCTTGT CTTGGTCCTT TGTCGATGGC AACGACGACA GCTCGACATC CCAATACATA
13441 TATAATTTGA CGATATGCGA GCTGAATGGG ACCGAATGGT TGTCCGGTCA TTTTGATTGG
13501 GCAGTCGAAA CCTTTGTGCT TTACCCAGTT GCCACTCATA TCATTTCACT GGGTTTTCTC
13561 ACAACAAGCC ATTTCCTTGA TGCGCTCGGT CTCGGCGCTG TGTCCGCCAC AGGATTCATT
13621 GGCGAGCGGT ATGTACTTAG CAGCATGTAC GGCGTTTGCG CCTTCGCGGC GTTCGTATGT
13681 TTTGTCATCC GTGCTGCTAA AAATTGCATG GCTTGCCGCT ATGCCCGCAC CCGGTTTACC
13741 AACTTCATCG TGGACGACCG GGGAAGAATC CATCGATGGA AGTCTTCAAT AGTGGTGGAG
13801 AAATTGGGCA AAGCTGAAGT CGGTGGTGAC CTTGTCAACA TTAAGCATGT TGTCCTCGAA
```

```
13861 GGGGTTAAAG CTCAACCTTT GACGAGGACT TCGGCTGAGC AATGGGAAGC CTAGACGACT
13921 TTTGCAACGA TCCCACCGCC GCACAAAAAC TCGTGCTGGC CTTTAGCATC ACATATACAC
13981 CCATAATGAT ATACGCCCTT AAGGTGTCAC GCGGCCGACT CCTGGGGCTG TTGCACATCT
14041 TGATATTTCT GAATTGTTCC TTTACTTTTG GGTACATGAC ATATGTGCAT TTTCAATCCA
14101 CCAACCGTGT CGCATTCACT CTGGGGGCTG TAGTCGCCCT TTTGTGGGGT GTTTACAGCC
14161 TCACAGAGTC ATGGAAGTTC ATCACTTCCA GATGCAGATT GTGTTGCCTA GGCCGGCGAT
14221 ACATTCTGGC CCCTGCCCAT CACGTAGAAA GTGCTGCAGG CCTCCATTCA ATCCCAGCGT
14281 CTGGTAACCG AGCATACGCT GTGAGAAAGC CCGGACTAAC ATCAGTGAAC GGCACTCTAG
14341 TACCTGGGCT TCGGAGCCTC GTGCTGGGCG GCAAACGAGC TGTTAAACGA GGAGTGGTTA

14401 ACCTCGTCAA GTATGGCCGG TAAGAACCAG AGCCAGAAGA AAAGAAGAAA TGCAGCTCCG
14461 ATGGGGAAAG GCCAGCCAGT CAATCAACTG TGCCAGTTGC TGGGTACAAT GATAAAGTCC
14521 CAGCGCCAGC AATCTAGGGG AGGACAGGCC AAAAAGAAGA AGCCTGAGAA GCCACATTTT
14581 CCCCTAGCTG CTGAAGATGA CATTCGGCAC CATCTCACCC AGGCCGAACG TTCCCTCTGC
14641 TTGCAATCGA TCCAGACGGC TTTCAATCAA GGCGCAGGAA CTGCGTCGCT TTCATCCAGC
14701 GGGAAGGTCA GTTTCCAGGT TGAGTTCATG CTGCCGGTTG CTCATACAGT GCGCCTGATT
14761 CGCGTGACTT CTACATCCGC CAGTCAGGGT GCAAATTAAT TTGACAGTCA GGTGAATGGC
14821 CGCGATTGAC GTGTGGCCTC TAA
```

SEQ ID NO: 2: OPC 1a MSV 94881, кодируемая участком последовательности SEQ ID NO: 1, расположенным между нуклеотидами 178..7227

MSGMFSRCMCTPAARVFWNAGQVYCTRCLSARSLLSPELQDTDLGAVGLFHKP
KDKLHWKVPIGIPQVECSPSGCCWLSTIFPLARMTSGNHNFLQRLVKVADVLYR
DGCLTPRHLRELQVYERGCNWYPITGPVPGMAVYANSMHVSDQPFPGATHVLT
NSPLPQRACRQPFCPFEEAHSSIYRWEKFVIFMDSSSDGRSRMMWTPESDDSTA
LEVLPPELEHQVKVLVRSFPAHHLVDLADWELTESPDNGFSFSTSHPCGYLVRD
PAVSEGKCWLSCFLSQSAEVLSREAHLATAYGYQTKWGVPGKYIQRRLQVHGL
RAVVDPDGPIHVEALSCPQSWIRHLTLNDDVTPGFVRLMSLRIVPNTEPTTHRIF
RFGVHKWYGAAGKRARGKRAAKSEKDSASTLKVARPTSTSGIVTYSPPADGSC
GWHALAAILNRMINNDFTSPLPRYNRPEDDWASDGDLAQAIQCLQLPAAIARN
RACPNAKYLIKLNGVHWEVEVRPGMAPRSLSRECVVGVCSEGCVASPYPEDGL
PKRALEALASAYRLPSDCVCDGIIDFLANPPPQEFWTLDKMLTSPSPEQSGFSSL
YKLLLEILPQKCGSTEGEFIYTVERMLKDCPSSKQAMALLAKIKVPSSKAPSVTL
NECFPTDVPVNSELISWEEPKDPGAAVVLCPSDAKESKETAPEEAQARNRKVLH
PVVLTEELSEQQVQVVEGDQDMPLDLTWPTLTATATPVRGPVPDNLSSGIGAQP
ATVQELILARPAPRLVERCGTESNGSSSFLDLPDVQTSDQPLDLSLAAWPVRATA
SDPGWIHGRREPVFVKPRGVFSDGESALQFGELSEASSVVDDRTKEAPVVDAPI
DLTTSNETLSGSDPFEFAKFRRPRFSAQALIDRGGPLADVHAKIKSRVYEQCLQA
CEPGSRATPATKKWLDKMWDRVDMKTWRCTSQFQAGHILESLKFLPDMIQDTP
PPVPRKNRAGDSAGLKQLVAQWDRKSSVTPPTKPVGPVLDQAVPLPMDIQQGD
AISADKPPHSQNPSSQVDVGGGWKSFMLSGTRFAGSVSQRLTTWVFEVLSHLPA
FMLTLFSPRGSMAPGDWLFAGAVLLALLLCRSYPILGCLPLLGVFSGSVRCVRL

GVFGSWMAFAVFLFSTPPDPVGSSCDHDSPECHAELLALEQRQLWEPVRSLVV
GPSGLLCVILGKLLGGSRCLWFVLLRICMLADLAISLIYVVSQGRCHKCWGKCIR
TAPAEVALNVFPFSRATRSSLVSLCDRFQAPKGVDPVHLATGWRGCWCGESPIH
QSHQKPIAYANLDEKKISAQTVIAVPYDPSQAIKCLKVLQAGGAIVDQPTPEVVR
VSEIPFSAPFFPKVPVNPDCRVVVDSDTFVAAVRCGYSTAQLVLGRGNFAKLNQ
TPLRNSVPTKTTGGASYTLAVAQVSVWTLVHFILGLWLTSPQVCGRGTSDPWC
SNPFSYPTYGPGVVCSSRLCVSADGVTLPLFSAVAHLSGREVGIFILVLASLGAL
AHRLALKADMSMVFLAFCAYAWPMSSWLICFFPMLLRWVTLHPLTMLWVHSF
LVFCLPAAGVLSLGITGLLWAVGRFTQVAGIITPYDIHQYTSGPRGAAAVATAPE
GTYMAAVRRAALTGRTLIFTPSAVGSLLEGAFRTQKPCLNTVNVVGSSLGSGGV
FTIDGRRVIVTATHVLNGNTARVTGDSYNRMHTFNTNGDYAWSHADDWQGVA
PMVKIAKGYRGRAYWQTSTGVEPGIMGEGFAFCFTNCGDSGSPVISEAGDLIGV
HTGSNKLGSGLVTTPEGETCSIKETRLSDLSRHFAGPSVPLGDIKLSPAIIPDVTTI
PSDLASLLASVPVMEGGLSTVQLLCVFFLLWRMMGHAWTPIVAVGFFLLNEILP
AVLVRAVFSFALFVLAWATPWSAQVLMIRLLTAALNRNRLSLAFYAFGGVVGL
ATEIGTFAGGWPELSQALSTYCFLPRFLAVTSYVPTIIIGGLHALGVILWLFKYRC
LHNMLVGDGSFSSAFFLRYFAEGNLRKGVSQSCGMNNESLTAALACKLSQADL
DFLSSLTNFKCFVSASNMKNAAGQYIEAAYARALRQELASLVQVDKMKGVLA
KLEAFAETATPSLDTGDVIVLLGQHPHGSILDINVGGERKTVSVQETRCLGGSKF
SVCTVVSNTPVDTLTGIPLQTPTPLFENGPRHRSEDDDLKVERMKKHCVSLGFH
KINGKVYCKIWDKSNGDTFYTDDSRYTQDHAFQDRSTDYRDRDYEGVQTAPQ
QGFDPKSEAPVGTVVIGGITYNRHLVKGKEVLVPKPDNCLEAARLSLEQALAG
MGQTCDLTATEVEKLKRIISQLQGLTTEQALNC

SEQ ID NO: 3 OPC 1B MSV 94881, кодируемая участком последовательности SEQ ID NO: 1, расположенным между нуклеотидами 7209...11600

TGFKLLAASGLTRCGRGGLVVTETAVKIVKYHSRTFTLGSLDLKVTSEVEVKKS
TEQGHAVVANLCSGVVLMRPHPPSLVDVLLKPGLDTTPGIQPGHGAGNMGVNG
SIWDFETAPTKVELELSKQIIQACEVRRGDAPNLQLPYKLYPVRGDPERRKGRLV
NTRFGDLPYKTPQDTKSAIHAACCLHPNGVLVSDGKSTLGTTLQHGFELYVPTV
PYSVMEYLDSRPDTPFMCTKHGTSKAAAEDLQKYDLSTQGFVLPGVLRLVRRFI
FSHVGKAPPLFLPSTYPAKNSMAGVNGQRFPTKDVQSIPEIDEMCARAVKENW

QTVTPCTLKKQYCSKPKTRTILGTNNFIALAHRSALSGVTQAFMKKAWKSPIAL
GKNKFKELHCTVAGRCLEADLASCDRSTPAIVRWFVANLLYELAGCEEYLPSY
VLNCCHDLVATQDGAFTKRGGLSSGDPVTSVSNTVYSLIIYAQHMVLSALKMG
HEIGLKFLEEQLKFEDLLEIQPMLVYSDDLVLYAERPTFPNYHWWVEHLDLML
GFKTDPKKTVITDKPSFLGCRIEAGRQLVPNRDRILAALAYHMKAQNASEYYAS
AAAILMDSCACIDHDPEWYEDLICGIARCARQDGYRFPGPAFFMSMWEKLKSH
NEGKKCRHCGICDAKADYASACGLDLCLFHSHFHQHCPVTLSCGHHAGSKECS
QCQSPVGAGKSPLDAVLKQIPYKPPRTIIMKVDNKTTTLDPGRYQSRRGLVAVK
RGIAGNEVDLSDGDYQVVPLLPTCKDINMVKVACNVLLSKFIVGPPGSGKTTWL
LNQVQDDDVIYTPTHQTMFDIVSALKVCRYSIPGASGLPFPPPARSGPWVRLIAS
GHVPGRVSYLDEAGYCNHLDILRLLSKTPLVCLGDLQQLHPVGFDSYCYVFDQ
MPQKQLTTIYRFGPNICAAIQPCYREKLESKARNTRVVFTTRPVAFGQVLTPYHK
DRTGSAITIDSSQGATFDIVTLHLPSPKSLNKSRALVAITRARHGLFIYDPHDQLQ
EFFNLTPERTDCNLAFSRGDELVVLNVDNAVTTVAKALETGSPRFRVSDPRCKS
LLAACSASLEGSCMPLPQVAHNLGFYFSPDSPAFAPLPKELAPHWPVVTHQNNR
AWPDRLVASMRPIDARYSKPMVGAGYVVGPSIFLGTPGVVSYYLTLYIGGEPQA
LPETLVSTGRIATDCREYLDAAEEEAARELPHAFIGDVKGTTIGGCHHITSKYLP
RSLPKDSVAVVGVSSPGRAAKAVCTLTDVYLPELRPYLQPETASKCWKLKLDF
RDVRLMVWKGATAYFQLEGLTWSALPDYARFIQLPKDAVVYIDPCIGPATANR
KVVRTTDWRADLAVTPYDYGAQVILTTAWFEDLGPQWKILGLQPFRRTFGFEN
TEDWAILARRMNDGKDYTDYNWHCVRERPHAIYGRARDHTYHFALGTELQVE
LGRPRLPPEQVP

SEQ ID NO: 4 OPC 2 MSV 94881, кодируемая участком последовательности SEQ ID NO: 1, расположенным между нуклеотидами 11611..12360

MQWVYCGVKSVSCSWMPSLSSLLVWLTLSSFSPYCLGSLLQAGYWSSFSEWFA
PRFSVRALPFTLPNYRRSYEGLLPNCRPDVPQFAVKHPLGILWHMRVSHLIDEM
VSRRIYRTMEHSGQAAWKQVVSEATLTKLSRLDVVTHFQHLAAVEADSCRFLS
SRLAMLKNLAVGNVSLEYNTTLDRVELIFPTPGTRPKLTDFRQWLISVHASIFSS
VASSVTLFTVLWLRIPALRYVFGFHWPTATHHSN

SEQ ID NO: 5 OPC 3 MSV 94881, кодируемая участком последовательности SEQ ID NO: 1, расположенным между нуклеотидами 12219..13016

MAYQRARFHLLLCGFVCYLVHSALASNSSSTLCFWFPLAHGNTSFELTINYTICK
PCPTSQAAQQRLEPGRNVWCKIGHDRCEERDHDELSMSIPSGYDNLKLEGYYA
WLAFLSFSYAAQFHPELFGIGNVSRVFVDKRHQFICAEHDGQNSTISARHNISAS
YAVYYHHQIDGGNWFHLEWLRPFFSSWLVLNISWFLRRSPASPASRRIYQILRPT
RPRLPVSWSFRTSIVSNLTGPQQRKVPLPSGGRPNVVKPSAFPSTSR

SEQ ID NO: 6 OPC 4 MSV 94881, кодируемая участком последовательности SEQ ID NO: 1, расположенным между нуклеотидами 12761..13312

MAATILFLLAGAQHLMVSEAFACKPCFSTHLSDIKTNTTAAAGFMVLQNINCFQ
SHRASTAQGTTPLRRSSQCREAVGIPQYITITANVTDESYLYNADLLMLSACLFY
ASEMSEKGFKVIFGNISGVVSACVNFTDYVAHVTQHTQQHHLVIDHIRLLHFLTP
STMRWATTIACLLAILLAV

SEQ ID NO: 7 OPC 5 MSV 94881, кодируемая участком последовательности SEQ ID NO: 1, расположенным между нуклеотидами 13309..13914

MKCSCKLGHFLTPHSCFWWLFLLCTGLSWSFVDGNDDSSTSQYIYNLTICELNG

TEWLSGHFDWAVETFVLYPVATHIISLGFLTTSHFLDALGLGAVSATGFIGERYV

LSSMYGVCAFAAFVCFVIRAAKNCMACRYARTRFTNFIVDDRGRIHRWKSSIVV

EKLGKAEVGGDLVNIKHVVLEGVKAQPLTRTSAEQWEA

SEQ ID NO: 8 OPC 6 MSV 94881, кодируемая участком последовательности SEQ ID NO: 1, расположенным между нуклеотидами 13902..14423

MGSLDDFCNDPTAAQKLVLAFSITYTPIMIYALKVSRGRLLGLLHILIFLNCSFTF

GYMTYVHFQSTNRVAFTLGAVVALLWGVYSLTESWKFITSRCRLCCLGRRYIL

APAHHVESAAGLHSIPASGNRAYAVRKPGLTSVNGTLVPGLRSLVLGGKRAVK

RGVVNLVKYGR

SEQ ID NO: 9 OPC 7 MSV 94881, кодируемая участком последовательности SEQ ID NO: 1, расположенным между нуклеотидами 14413..14799

MAGKNQSQKKRRNAAPMGKGQPVNQLCQLLGTMIKSQRQQSRGGQAKKKKP

EKPHFPLAAEDDIRHHLTQAERSLCLQSIQTAFNQGAGTASLSSSGKVSFQVEFM

LPVAHTVRLIRVTSTSASQGAN

SEQ ID NO: 10 полноразмерная нуклеотидная последовательность родительского штамма вируса PRRS 94881

```
   1 TTTGTGTACC TTGGAGGCGT GGGTACAGCC CTGCCCCACC CCTTGGCCCC TGTTCTAGCC
  61 CGACAGGTAC CCTTCTCTCT CGGGGCGAGC GCGCCGCCTG CTGCTCCCTT GCGGCGGGAA
 121 GGACCTCCCG AGTATTTCCG GAGAGCACCT GCTTTACGGG ATCTCCGCCC TTTAACCATG
 181 TCTGGGATGT TCTCCCGGTG CATGTGCACC CCGGCTGCCC GGGTATTTTG GAACGCCGGC
 241 CAAGTCTATT GCACACGGTG TCTCAGTGCA CGGTCTCTTC TCTCTCCAGA ACTTCAGGAC
 301 ACGGACCTCG GTGCAGTTGG CTTGTTTCAC AAGCCTAAAG ACAAGCTCCA TTGGAAAGTT
 361 CCCATTGGTA TCCCCCAGGT GGAATGTTCT CCATCTGGGT GTTGCTGGCT GTCAACCATT
 421 TTTCCTTTAG CGCGCATGAC CTCCGGCAAT CACAACTTCC TTCAACGACT CGTGAAGGTT
 481 GCTGACGTAT TGTACCGTGA CGGTTGCTTA ACCCCTAGAC ACCTCCGTGA ACTCCAAGTT
 541 TACGAGCGTG GTTGCAATTG GTATCCGATT ACGGGGCCTG TGCCTGGGAT GGCTGTGTAC
 601 GCGAACTCCA TGCACGTGTC CGACCAACCG TTCCCTGGTG CCACTCATGT GTTAACAAAT
 661 TCCCCTTTGC CTCAACGGGC TTGTCGGCAG CCGTTCTGTC CGTTCGAAGA GGCCCATTCT
 721 AGCATATACA GGTGGGAAAA ATTTGTAATT TTTATGGATT CCTCCTCCGA CGGTCGATCT
 781 CGCATGATGT GGACTCCGGA ATCCGATGAC TCCACGGCTT TGGAAGTTCT GCCGCCCGAG
 841 CTAGAACACC AGGTCAAGGT CCTTGTTCGG AGCTTTCCCG CCCATCACCT TGTCGACCTT
 901 GCCGATTGGG AGCTCACTGA GTCCCCTGAG AACGGTTTTT CCTTCAGCAC GTCACATCCT
 961 TGCGGCTACC TTGTTCGGGA CCCGGCTGTA TCCGAAGGCA AGTGTTGGCT TTCCTGCTTT
1021 TTGAGCCAGT CAGCCGAAGT GCTCAGTCGC GAGGCGCATC TGGCTACCGC CTATGGTTAC
1081 CAAACCAAGT GGGGTGTGCC TGGCAAGTAC ATCCAGCGCA GACTTCAAGT TCACGGTCTC
1141 CGTGCTGTGG TCGACCCTGA TGGTCCCATT CACGTTGAAG CATTGTCTTG CCCCCAGTCT
1201 TGGATCAGGC ACTTGACCCT GAATGATGAT GTCACCCCGG GATTCGTTCG CCTAATGTCT
1261 CTTCGCATTG TGCCGAACAC AGAGCCTACC ACACACCGGA TCTTTCGTTT TGGAGTGCAC
1321 AAGTGGTATG GTGCCGCCGG CAAACGGGCC CGTGGCAAGC GTGCCGCCAA AAGTGAGAAA
1381 GACTCGGCTT CCACCCTCAA GGTTGCCCGA CCGACTTCCA CCAGTGGAAT CGTCACCTAC
1441 TCCCCACCTG CGGACGGGTC TTGTGGTTGG CATGCCCTTG CCGCCATACT GAACCGGATG
1501 ATTAATAATG ACTTCACGTC CCCTCTGCCT CGGTACAACA GGCCGGAGGA CGATTGGGCT
1561 TCTGATGGTG ACCTTGCTCA GGCCATTCAA TGTTTGCAAC TACCTGCCGC CATAGCTCGG
1621 AACCGCGCCT GCCCTAACGC CAAATACCTC GTAAAACTCA ACGGAGTTCA TTGGGAGGTA
1681 GAGGTGAGGC CTGGAATGGC TCCTCGCTCC CTCTCTCGTG AGTGCGTTGT TGGCGTCTGC
1741 TCTGAAGGCT GTGTCGCGTC GCCTTACCCG GAGGACGGGT TGCCTAAACG TGCACTTGAG
1801 GCCCTGGCGT CTGCTTATAG ACTGCCTTCA GACTGTGTTT GTGATGGTAT TATTGACTTC
1861 CTTGCCAATC CACCTCCCCA GGAGTTCTGG ACTCTTGACA AAATGTTGAC TTCCCCGTCA
1921 CCGGAGCAGT CCGGCTTCTC TAGTCTGTAT AAATTGTTGT TAGAGGTCTT GCCGCAGAAA
1981 TGCGGATCCA CAGAAGGGGA ATTCATCTAT ACTGTTGAGA GGATGTTGAA GGATTGTCCG
2041 AGCTCCAAAC AGGCCATGGC CCTCCTTGCA AAAATTAAGG TCCCATCCTC AAAGGCCCCA
2101 TCCGTGACTC TGAACGAGTG CTTCCCCACG GATGTTCCAG TCAACTCTGA GTTAATATCT
2161 TGGGAAGAGC CCAAAGACCC TGGCGCTGCT GTTGTCCTAT GTCCATCGGA TGCAAAAGAA
2221 TCTAAGGAAA CAGCCCCTGA AGAAGCTCAA GCGAGAAACC GTAAGGTCCT CCACCCTGTG
2281 GTCCTTACCG AGGAACTTAG CGAGCAACAG GTGCAGGTGG TTGAGGGTGA TCAGGATATG
2341 CCACTGGATT TGACTTGGCC AACCTTAACC GCTACGGCGA CCCCTGTTAG AGGGCCGGTA
2401 CCGGACAATT TGAGCTCTGG CATTGGTGCC CAGCCCGCTA CCGTTCAAGA ACTCATTCTG
2461 GCGAGGCCTG CACCCCGTCT TGTTGAGCGC TGTGGCACGG AGTCGAACGG CAGCAGTTCA
2521 TTTCTGGATT TGCCTGACGT GCAGACCTCG GACCAGCCTT TAGACCTGTC CCTGGCCGCG
2581 TGGCCTGTAA GGGCTACCGC GTCTGACCCC GGTTGGATCC ACGGTAGGCG TGAGCCTGTC
2641 TTTGTGAAGC CTCGAGGTGT TTTCTCTGAT GGCGAGTCGG CCCTTCAGTT CGGAGAGCTT
2701 TCCGAAGCCA GTTCTGTCGT CGATGACCGG ACAAAAGAAG CTCCGGTGGT TGACGCCCCC
2761 ATCGATTTGA CAACTTCGAA CGAGACGCTC TCTGGGTCTG ACCCCTTTGA ATTCGCCAAA
2821 TTCAGGCGCC CGCGTTTCTC CGCGCAAGCT TTAATCGACC GAGGTGGTCC GCTTGCCGAT
2881 GTTCATGCAA AGATAAAGAG TCGGGTATAT GAACAATGCC TTCAAGCTTG TGAACCTGGT
```

```
2941 AGTCGTGCGA CCCCAGCCAC CAAGAAGTGG CTCGACAAAA TGTGGGACAG GGTGGACATG
3001 AAAACTTGGC GCTGCACCTC GCAGTTCCAA GCTGGTCACA TTCTTGAGTC CCTCAAATTC
3061 CTCCCTGACA TGATTCAAGA CACACCGCCT CCTGTTCCCA GGAAGAACCG AGCTGGTGAC
3121 AGTGCCGGCC TGAAGCAACT GGTGGCGCAG TGGGATAGGA AATTGAGTGT GACACCCCCC
3181 ACAAAACCGG TTGGACCGGT GCTTGACCAG ACCGTCCCTC TGCCTATGGA CATCCAGCAA
3241 GAAGATGCCA TCTCCGCTGA CAAGCCACCC CATTCGCAAA ACCCTTCTAG TCAAGTAGAT
3301 GTGGGTGGAG GTTGGAAAAG TTTTATGCTC TCCGGCACCC GTTTCGCGGG GTCCGTTAGT
3361 CAGCGCCTTA CGACATGGGT TTTTGAGGTT CTCTCCCATC TCCCAGCTTT TATGCTCACA
3421 CTTTTCTCGC CACGGGGCTC TATGGCTCCA GGTGATTGGC TGTTTGCAGG TGCTGTTCTA
3481 CTTGCTCTCC TGCTCTGCCG TTCTTACCCA ATACTCGGAT GCCTTCCCTT ATTGGGTGTC
3541 TTTTCTGGTT CTGTGCGGTG TGTTCGTTTG GGTGTTTTTG GTTCTTGGAT GGCTTTTGCT
3601 GTATTTTTAT TCTCGACTCC ACCCGACCCA GTCGGTTCTT CTTGTGACCA CGATTCGCCG
3661 GAGTGTCATG CTGAGCTTTT GGCTCTTGAG CAGCGCCAAC TTTGGGAACC TGTGCGCAGC
3721 CTTGTGGTCG GGCCATCGGG CCTCTTATGC GTCATTCTTG GCAAGTTACT CGGTGGGTCA
3781 CGTTGTCTCT GGTTTGTTCT CCTACGTATA TGCATGCTCG CAGATTTGGC AATTTCTCTT
3841 ATTTATGTGG TGTCCCAAGG GCGTTGTCAC AAGTGTTGGG GAAAGTGTAT AAGGACGGCT
3901 CCTGCAGAAG TGACCCTTAA TGTGTTTCCT TTTTCGCGCG CCACCCGCTC ATCTCTTGTG
3961 TCCTTGTGTG ATCGGTTCCA AGCGCCAAAA GGAGTTGACC CCGTGCACTT GGCGACAGGC
4021 TGGCGCGGGT GCTGGTGTGG TGAGAGCCCT ATTCATCAAT CACACCAAAA ACCGATAGCT
4081 TATGCCAACT TGGATGAAAA GAAGATATCC GCCCAGACGG TGATTGCTGT CCCGTATGAT
4141 CCCAGTCAGG CCATTAAATG CCTGAAAGTT TTGCAGGCAG GAGGGGCTAT TGTGGACCAG
4201 CCTACGCCCG AGGTCGTCCG TGTGTCTGAG ATTCCCTTCT CGGCCCCATT TTTTCCGAAG
4261 GTCCCAGTCA ACCCAGATTG CAGGGTTGTG GTAGATTCGG ACACTTTTGT GGCTGCGGTC
4321 CGCTGCGGTT ATTCGACAGC ACAACTGGTC CTTGGTCGGG GCAACTTTGC CAAGCTAAAT
4381 CAGACCCCCC TCAGGAACTC TGTCCCCACC AAAACAACTG GTGGGGCCTC ATACACCCTT
4441 GCCGTGGCCC AGGTATCTGT GTGGACTCTT GTTCATTTCA TCCTCGGCCT TTGGTTAACG
4501 TCACCTCAAG TGTGTGGTCG AGGGACCTCT GACCCGTGGT GTTCGAACCC TTTTTCGTAT
4561 CCTACTTATG GCCCCGGAGT TGTGTGTTCC TCTCGACTCT GCGTGTCTGC CGACGGAGTT
4621 ACCCTGCCAT TGTTCTCAGC CGTTGCCCAT CTTTCCGGTA GAGAGGTGGG GATTTTTATT
4681 TTGGTGCTTG CCTCCTTGGG CGCTTTAGCC CACCGCTTGG CTCTTAAGGC AGACATGTCA
4741 ATGGTCTTTT TGGCGTTTTG TGCTTACGCC TGGCCCATGA GCTCCTGGTT AATTTGCTTC
4801 TTTCCTATGC TCTTGAGGTG GGTAACCCTT CATCCTCTCA CTATGCTTTG GGTGCACTCA
4861 TTTTTGGTGT TTTGCCTACC AGCTGCCGGC GTTCTCTCGC TGGGAATAAC CGGTCTTCTT
4921 TGGGCAGTTG GCCGTTTCAC CCAGGTTGCC GGAATTATCA CACCTTATGA CATCCACCAG
4981 TATACCTCCG GACCACGTGG TGCAGCTGCT GTAGCAACGG CTCCAGAAGG TACTTACATG
5041 GCGGCCGTTC GGAGAGCCGC TTTGACTGGA CGGACTTTGA TCTTCACACC ATCTGCAGTC
5101 GGATCCCTTC TTGAAGGTGC TTTCAGAACT CAAAAGCCCT GCCTTAACAC CGTGAATGTC
5161 GTAGGCTCTT CCCTTGGTTC TGGAGGAGTT TTCACCATTG ATGGCAGAAG AGTCATCGTC
5221 ACTGCCACCC ATGTGTTGAA TGGTAACACA GCCAGGGTCA CTGGTGATTC CTACAACCGC
5281 ATGCACACGT TCAATACTAA TGGTGATTAT GCCTGGTCCC ATGCTGATGA CTGGCAAGGC
5341 GTTGCCCCTA TGGTTAAGAT CGCTAAGGGG TATCGCGGTC GTGCCTACTG GCAAACGTCA
5401 ACCGGAGTCG AACCTGGCAT CATGGGGGAA GGATTCGCCT TCTGTTTCAC TAACTGTGGC
5461 GACTCAGGGT CACCTGTCAT TTCAGAAGCT GGTGACCTTA TTGGAGTCCA TACCGGTTCA
5521 AACAAACTCG GTTCTGGTCT TGTGACAACC CCTGAAGGGG AGACCTGCTC CATCAAGGAA
5581 ACTAGGCTCT CTGACCTTTC TAGACATTTT GCAGGTCCAA GCGTCCCTCT TGGGGACATT
5641 AAGTTGAGCC CAGCCATCAT CCCTGATGTG ACAACTATTC CGAGTGACTT GGCATCGCTC
5701 CTTGCTTCTG TCCCCGTGAT GGAAGGTGGC CTCTCAACTG TCCAGCTTTT GTGCGTCTTT
5761 TTCCTTCTCT GGCGCATGAT GGGCCATGCC TGGACACCCA TTGTTGCCGT AGGCTTCTTT
5821 TTGCTGAATG AAATTCTCCC AGCAGTCTTG GTCCGAGCTG TGTTCTCTTT TGCACTCTTT
5881 GTACTTGCAT GGGCCACCCC CTGGTCGGCA CAAGTGTTGA TGATTAGACT CCTCACGGCG
5941 GCTCTCAACC GCAACAGGTT GTCCCTGGCG TTCTACGCAC TCGGAGGTGT CGTTGGCCTG
6001 GCCACAGAAA TCGGGACTTT TGCTGGTGGA TGGCCTGAAC TGTCCCAAGC CCTCTCGACA
6061 TACTGCTTCC TGCCCAGGTT CCTTGCTGTG ACTAGTTATG TCCCCACCAT CATCATCGGT
6121 GGGCTCCATG CCCTCGGCGT AATTTTGTGG TTATTCAAAT ACCGATGCCT CCACAACATG
6181 CTGGTTGGTG ATGGGAGTTT CTCAAGCGCT TTCTTCCTAC GGTATTTTGC TGAGGGTAAT
6241 CTTAGGAAAG GCGTGTCGCA GTCCTGTGGC ATGAATAACG AATCCCTGAC AGCTGCTTTG
6301 GCTTGCAAGT TGTCGCAAGC TGACCTTGAT TTTTTGTCCA GTTTAACGAA CTTCAAGTGC
6361 TTTGTGTCCG CTTCAAACAT GAAAAATGCA GCTGGCCAAT ACATCGAGGC GGCGTATGCT
6421 AGAGCTCTGC GTCAGGAGCT GGCCTCCTTG GTTCAGGTTG ACAAGATGAA AGGAGTATTG
6481 GCCAAGCTCG AGGCTTTCGC TGAGACGGCC ACTCCGTCAC TTGACACAGG TGACGTGATT
6541 GTTCTGCTTG GGCAACACCC CCATGGATCC ATCCTCGACA TTAATGTGGG GGGTGAAAGG
6601 AAAACTGTGT CTGTGCAAGA AACACGATGC CTGGGTGGTT CCAAATTCAG TGTCTGCACT
6661 GTCGTGTCCA ACACGCCCGT GGATACCTTG ACCGGCATCC CACTTCAGAC GCCAACCCCA
6721 CTTTTTGAAA ATGGCCCGCG CCATCGCAGC GAGGACGACG ACCTTAAAGT TGAGAGAATG
6781 AAAAAACACT GTGTATCCCT CGGCTTCCAC AAAATCAATG GTAAAGTTTA CTGCAAAATT
6841 TGGGACAAGT CTAACGGCGA CACCTTTTAC ACGGATGATT CCCGATACAC TCAAGACCAT
6901 GCTTTTCAGG ACAGGTCAAC CGACTATAGA GACAGGGATT ATGAAGGTGT ACAGACCGCC
6961 CCCCAACAGG GATTCGATCC AAAGTCCGAA GCCCCTGTTG GCACTGTTGT AATCGGTGGC
7021 ATTACGTATA ACAGGCATCT GGTCAAAGGT AAGGAGGTCC TAGTTCCCAA ACCTGACAAC
7081 TGCCTTGAAG CTGCCAGACT GTCCCTTGAG CAAGCTCTTG CTGGGATGGG CCAAACTTGT
```

```
 7141 GACCTTACAG CTACCGAAGT GGAGAAACTA AAGCGCATCA TTAGTCAACT CCAAGGTCTG
 7201 ACCACTGAAC AGGCTTTAAA CTGCTAGCCG CCAGCGGCTT GACCCGCTGT GGCCGCGGCG
 7261 GCCTAGTTGT AACTGAAACG GCGGTAAAAA TCGTAAAATA CCACAGCAGA ACTTTCACCT
 7321 TAGGCTCTTT AGACCTAAAA GTCACCTCCG AGGTGGAGGT GAAGAAATCA ACTGAGCAGG
 7381 GGCACGCTGT CGTGGCGAAC TTATGTTCCG GTGTCGTCTT GATGAGGCCT CACCCACCGT
 7441 CCCTTGTTGA CGTTCTCCTC AAACCCGGAC TTGACACAAC ACCCGGCATT CAACCAGGGC
 7501 ATGGGGCCGG GAATATGGGC GTGAACGGTT CTATTTGGGA TTTTGAAACT GCACCCACAA
 7561 AGGTAGAACT AGAGTTGTCC AAGCAAATAA TCCAAGCATG TGAAGTCAGG CGCGGGGACG
 7621 CCCCTAACCT CCAACTCCCC TACAAGCTTT ATCCTGTCAG GGGGGACCCC GAGCGGCGTA
 7681 AAGGTCGCCT TGTCAACACT AGGTTTGGAG ATTTACCTTA CAAAACTCCC CAAGACACCA
 7741 AGTCCGCAAT TCATGCGGCT TGTTGCCTGC ATCCCAATGG GGTCCTCGTG TCTGATGGTA
 7801 AATCCACGCT GGGTACCACT CTTCAACATG GTTTCGAGCT TTATGTCCCC ACTGTACCTT
 7861 ATAGTGTCAT GGAATACCTT GATTCACGCC CTGACACCCC TTTTATGTGT ACTAAACATG
 7921 GCACTTCCAA GGCTGCTGCA GAGGACCTCC AAAAATATGA CCTATCCACT CAAGGGTTTG
 7981 TCTTGCCTGG GGTCCTACGC CTAGTGCGCA GGTTCATCTT TAGCCATGTT GGTAAGGCGC
 8041 CACCACTGTT CCTTCCATCA ACCTACCCTG CCAAGAACTC CATGGCAGGG GTCAATGGCC
 8101 AGAGGTTCCC AACAAAGGAT GTCCAGAGCA TACCTGAAAT TGATGAAATG TGCGCCCGTG
 8161 CCGTCAAGGA AAATTGGCAG ACTGTGACAC CTTGCACCCT CAAAAAACAG TACTGTTCCA
 8221 AACCTAAAAC TAGAACCATC CTAGGTACCA ACAACTTCAT AGCCTTGGCT CACAGGTCAG
 8281 CACTCAGTGG TGTCACCCAG GCGTTCATGA AGAAGGCCTG GAAGTCCCCA ATTGCCTTGG
 8341 GGAAAAACAA GTTTAAGGAA TTGCATTGCA CTGTCGCCGG CAGATGCCTT GAGGCTGACC
 8401 TGGCTTCCTG CGATCGCAGC ACCCCCGCCA TTGTGAGGTG GTTTGTTGCC AACCTCCTGT
 8461 ATGAACTTGC AGGATGTGAA GAGTACTTGC CTAGCTACGT GCTCAACTGT TGCCATGACC
 8521 TTGTGGCAAC GCAGGATGGC GCTTTCACAA AACGCGGTGG CCTGTCGTCC GGGGACCCCG
 8581 TCACCAGTGT GTCCAACACC GTCTACTCAC TGATAATTTA CGCCCAGCAC ATGGTGCTTT
 8641 CGGCCTTGAA GATGGGTCAT GAAATTGGTC TCAAGTTCCT TGAGGAACAG CTCAAATTTG
 8701 AGGACCTTCT TGAAATCCAG CCCATGTTAG TGTATTCTGA TGACCTCGTC TTGTATGCGG
 8761 AAAGACCCAC TTTTCCCAAC TACCATTGGT GGGTCGAGCA TCTTGACCTG ATGTTGGGCT
 8821 TTAAAACGGA CCCAAAGAAA ACTGTCATAA CTGATAAACC CAGTTTTCTC GGCTGCAGAA
 8881 TTGAAGCAGG ACGGCAGTTA GTCCCCAATC GCGACCGTAT TCTGGCTGCT CTTGCATATC
 8941 ATATGAAGGC GCAGAACGCC TCAGAGTATT ATGCGTCCGC TGCCGCAATT CTGATGGATT
 9001 CGTGTGCTTG CATTGACCAT GACCCCGAGT GGTATGAGGA CCTTATCTGC GGCATCGCCC
 9061 GGTGTGCTCG CCAGGACGGT TACCGTTTTC CAGGCCCGGC ATTTTTCATG TCCATGTGGG
 9121 AGAAGCTGAA AAGTCATAAC GAAGGGAAGA AATGCCGTCA CTGCGGCATC TGCGACGCCA
 9181 AAGCCGACTA TGCGTCCGCC TGTGGACTTG ATTTGTGTTT GTTCCATTCA CACTTTCATC
 9241 AACACTGCCC AGTCACTCTG AGCTGTGGCC ACCATGCCGG TTCAAAGGAA TGTTCGCAGT
 9301 GTCAGTCACC TGTCGGGGCT GGCAAATCCC CCCTTGACGC TGTGCTGAAA CAAATCCCGT
 9361 ACAAACCTCC TCGTACCATT ATCATGAAGG TGGACAACAA AACAACGACC CTTGACCCGG
 9421 GAAGATATCA GTCCCGTCGA GGTCTTGTTG CAGTCAAAAG AGGTATTGCA GGTAATGAGG
 9481 TTGATCTTTC TGATGGAGAC TACCAAGTGG TGCCTCTTTT GCCGACTTGC AAAGACATAA
 9541 ACATGGTGAA GGTGGCTTGC AACGTACTAC TCAGCAAGTT TATAGTAGGG CCGCCAGGTT
 9601 CCGGAAAAAC CACCTGGCTA CTGAACCAAG TCCAGGACGA TGATGTCATT TACACACCTA
 9661 CTCATCAGAC AATGTTTGAC ATAGTCAGTG CTCTTAAAGT TTGCAGGTAT TCCATCCCAG
 9721 GAGCCTCAGG ACTCCCTTTT CCACCACCTG CCAGGTCCGG GCCGTGGGTT AGGCTCATCG
 9781 CCAGCGGACA TGTCCCTGGC CGAGTGTCAT ATCTCGATGA GGCAGGATAT TGCAATCATC
 9841 TAGACATTCT AAGGCTGCTT TCCAAAACAC CCCTTGTGTG TTTGGGTGAC CTTCAGCAAC
 9901 TTCACCCGGT CGGCTTTGAT TCCTATTGTT ATGTGTTCGA TCAGATGCCT CAGAAGCAGC
 9961 TGACCACCAT TTATAGATTT GGCCCTAACA TCTGTGCAGC CATCCAGCCT TGTTACAGGG
10021 AGAAACTTGA ATCCAAGGCC AGGAACACCA GAGTGGTTTT CACCACCCGG CCTGTGGCCT
10081 TTGGTCAGGT CCTGACACCG TACCACAAAG ATCGTACCGG CTCTGCAATA ACTATAGATT
10141 CATCCCAGGG GGCGACCTTC GACATTGTGA CATTGCATCT ACCATCGCCA AAGTCCCTAA
10201 ACAAATCCCG AGCACTTGTA GCCATCACTC GGGCAAGACA TGGGTTGTTC ATTTATGACC
10261 CTCATGACCA ACTCCAGGAG TTTTTCAACT TAACCCCCGA GCGCACTGAT TGTAACCTTG
10321 CGTTCAGCCG TGGGGATGAG CTGGTTGTTT TGAATGTGGA TAATGCGGTC ACAACTGTAG
10381 CGAAGGCCCT AGAGACAGGT TCACCCCGAT TTCGAGTATC GGACCCGAGG TGCAAGTCTC
10441 TCTTAGCCGC TTGTTCGGCC AGTCTAGAAG GGAGCTGCAT GCCACTACCA CAAGTAGCAC
10501 ATAACCTGGG GTTTTACTTT TCCCCGGACA GCCCAGCTTT TGCACCCCTG CCAAAAGAGC
10561 TGGCGCCACA TTGGCCAGTG GTCACCCACC AGAATAATCG AGCGTGGCCT GATCGACTTG
10621 TCGCTAGTAT GCGCCCAATT GATGCCCGCT ACAGCAAGCC AATGGTCGGT GCAGGGTATG
10681 TGGTCGGGCC ATCCATTTTT CTTGGCACTC CTGGTGTGGT GTCATACTAT CTCACATTAT
10741 ACATCGGGGG CGAGCCTCAG GCCCTGCCAG AAACACTCGT TTCAACAGGA CGTATAGCCA
10801 CAGATTGTCG GGAATATCTC GACGCGGCTG AGGAAGAGGC AGCGAGAGAA CTTCCCCACG
10861 CATTTATTGG CGATGTCAAA GGCACTACGG TCGGGGGGTG TCACCACATT ACATCGAAAT
10921 ACCTACCTAG GTCCCTGCCT AAAGACTCTG TTGCTGTGGT TGGGGTGAGT TCGCCCGGTA
10981 GGGCTGCTAA AGCCGTGTGC ACTCTCACCG ATGTGTACCT CCCCGAACTC CGACCATATT
11041 TGCAACCGGA GACGGCATCA AAATGCTGGA AACTTAAACT GGATTTCAGG GATGTTCGAC
11101 TGATGGTCTG GAAAGGCGCC ACAGCCTATT TCCAGTTGGA AGGGCTGACA TGGTCAGCGC
11161 TGCCCGATTA TGCTAGGTTC ATTCAGCTAC CCAAGGATGC CGTTGTGTAC ATCGATCCGT
11221 GTATAGGGCC GGCAACAGCC AATCGCAAGG TTGTGCGAAC CACAGACTGG CGGGCCGACC
11281 TGGCAGTGAC ACCGTATGAT TACGGTGCTC AGGTCATTTT GACAACAGCC TGGTTCGAGG
```

```
11341 ACCTTGGGCC GCAGTGGAAG ATTTTGGGGT TGCAGCCTTT CAGACGAACA TTTGGCTTTG
11401 AGAACACTGA AGATTGGGCA ATTCTCGCAC GCCGTATGAA TGACGGCAAA GATTACACTG
11461 ACTATAATTG GCATTGTGTA CGAGAACGCC CACACGCAAT TTACGGGCGC GCCCGTGACC
11521 ATACGTATCA TTTTGCCCTT GGCACTGAAC TGCAAGTAGA GCTGGGCAGA CCCCGGCTGC
11581 CTCCTGAGCA AGTGCCGTGA ACGCGGAGTG ATGCAATGGG TTCACTGTGG AGTAAAATCA
11641 GTCAGTTGTT CGTGGATGCC TTCACTGAGT TCCTTGTTAG TGTGGTTGAC ATTGTCATCT
11701 TTCTCGCCAT ATTGTTTGGG TTCACTGTTG CAGGCTGGTT ATTGGTCTTC CTTCTCAGAG
11761 TGGTTTGCTC CGCGTTTCTC CGTTCGCGCT CTGCCATTCA CTCTCCCGAA CTATCGAAGG
11821 TCCTATGAGG GCTTGCTACC CAACTGCAGA CCGGATGTCC CACAATTCGC AGTTAAGCAC
11881 CCGTTGGGTA TACTTTGGCA TATGCGAGTC TCCCACCTAA TTGACGAAAT GGTCTCTCGC
11941 CGCATTTACC GGACCATGGA ACATTCGGGT CAAGCGGCCT GGAAGCAGGT TGTTAGTGAA
12001 GCCACTCTCA CAAAACTGTC AAGGCTTGAC GTAGTCACTC ATTTCCAACA CCTGGCCGCA
12061 GTGGAGGCTG ATTCTTGCCG CTTCCTTAGC TCACGACTCG CGATGCTGAA AAACCTTGCC
12121 GTTGGCAATG TGAGCCTGGA GTACAACACT ACTTTGGACC GCGTTGAGCT CATCTTTCCC
12181 ACACCAGGTA CGAGGCCCAA GTTGACCGAT TTTAGGCAAT GGCTTATCAG CGTGCACGCT
12241 TCCATCTTCT CCTCTGTGGC TTCGTCTGTT ACCTTGTTCA CAGTGCTTTG GCTTCGAATT
12301 CCAGCTCTAC GCTATGTTTT TGGTTTCCAT TGGCCCACGG CAACACATCA TTCGAACTAA
12361 CTATCAATTA CACTATATGT AAGCCATGCC CTACCAGTCA AGCTGCCCAA CAAAGACTCG
12421 AGCCTGGCCG TAACGTGTGG TGCAAAATAG GGCACGACAG GTGTGAGGAA CGTGACCATG
12481 ATGAGTTGTC AATGTCCATT CCGTCCGGGT ACGACAACCT CAAACTTGAG GGTTATTATG
12541 CTTGGCTGGC TTTTTTGTCC TTTTCCTACG CGGCCCAATT CCATCCGGAG CTGTTCGGAA
12601 TAGGAAACGT GTCGCGCGTC TTTGTGGATA AGCGACACCA GTTCATTTGC GCCGAGCATG
12661 ATGGACAAAA TTCAACCATA TCTGCCAGAC ACAACATCTC CGCGTCGTAT GCGGTGTATT
12721 ACCATCATCA AATAGACGGG GGCAATTGGT TTCATTTGGA ATGGCTGCGA CCATTCTTTT
12781 CCTCCTGGCT GGTGCTCAAC ATCTCATGGT TTCTGAGGCG TTCGCCTGCA AGCCCTGCTT
12841 CTCGACGCAT CTATCAGATA TTAAGACCAA CACGACCGCG GCTGCCGGTT TCATGGTCCT
12901 TCAGAACATC AATTGTTTCC AATCTCACAG GGCCTCAACA GCGCAAGGTA CCACTCCCCT
12961 CAGGAGGTCG TCCCAATGTC GTGAAGCCGT CGGCATTCCC CAGTACATCA CGATAACGGC
13021 TAATGTGACC GATGAATCGT ATTTGTACAA CGCGGACTTG CTGATGCTTT CCGCGTGCCT
13081 TTTCTACGCC TCGGAAATGA GCGAGAAAGG CTTCAAAGTC ATCTTTGGGA ATATTTCTGG
13141 CGTTGTTTCC GCTTGTGTTA ATTTCACAGA TTATGTGGCC CATGTGACCC AACACACTCA
13201 GCAGCACCAT TTGGTAATTG ATCACATTCG GTTACTACAC TTCTTGACAC CGTCTACGAT
13261 GAGGTGGGCT ACAACCATTG CTTGTTTGTT TGCCATTCTT TTGGCGGTAT GAAATGTTCT
13321 TGCAAGTTGG GGCATTTCTT GACTCCTCAC TCTTGCTTCT GGTGGCTTTT TTTGCTGTGT
13381 ACCGGCTTGT CTTGGTCCTT TGTCGATGGC AACGACAACA GCTCGACATC CCAATACATA
13441 TATAATTTGA CGATATGCGA GCTGAATGGG ACCGAATGGT TGTCCGGTCA TTTTGATTGG
13501 GCAGTCGAAA CCTTTGTGCT TTACCCAGTT GCCACTCATA TCATTTCACT GGGTTTTCTC
13561 ACAACAAGCC ATTTCCTTGA TGCGCTCGGT CTCGGCGCTG TGTCCGCCAC AGGATTCATT
13621 GGCGAGCGGT ATGTACTTAG CAGCATGTAC GGCGTTTGCG CCTTCGCGGC GCTCGTATGT
13681 TTTGTCATCC GTGCTGCTAA AAATTGCATG GCTTGCCGCT ATGCCCGCAC CCGGTTTACC
13741 AACTTCATCG TGGACGACCG GGGAAGAATC CATCGATGGA AGTCTTCAAT AGTGGTGGAG
13801 AAATTGGGCA AAGCTGAAGT CGGTGGTGAC CTTGTCAACA TTAAGCATGT TGTCCTCGAA
13861 GGGGTTAAAG CTCAACCCTT GACGAGGACT TCGGCTGAGC AATGGGAAGC CTAGACGACT
13921 TTTGCAACGA TCCCACCGCC GCACAAAAAC TCGTGCTGGC CTTTAGCATC ACATATACAC
13981 CCATAATGAT ATACGCCCTT AAGGTGTCAC GCGGCCGACT CCTGGGGCTG TTGCACATCT
14041 TGATATTTCT GAATTGTTCC TTTACTTTTG GGTACATGAC ATATGTGCAT TTTCAATCCA
14101 CCAACCGTGT CGCACTCACT CTGGGGGCTG TAGTCGCCCT TTTGTGGGGT GTTTACAGCC
14161 TCACAGAGTC ATGGAAGTTC ATCACTTCCA GATGCAGATT GTGTTGCCTA GGCCGGCGAT
14221 ACATTCTGGC CCCTGCCCAT CACGTAGAAA GTGCTGCAGG CCTCCATTCA ATCCCAGCGT
14281 CTGGTAACCG AGCATACGCT GTGAGAAAGC CCGGACTAAC ATCAGTGAAC GGCACTCTAG
14341 TACCTGGGCT TCGGAGCCTC GTGCTGGGCG GCAAACGAGC TGTTAAACGA GGAGTGGTTA
14401 ACCTCGTCAA GTATGGCCGG TAAGAACCAG AGCCAGAAGA AAAGAAGAAA TGCAGCTCCG
14461 ATGGGGAAAG GCCAGCCAGT CAATCAACTG TGCCAGTTGC TGGGTACAAT GATAAAGTCC
14521 CAGCGCCAGC AATCTAGGGG AGGACAGGCC AAAAAGAAGA AGCCTGAGAA GCCACATTTT
14581 CCCCTAGCTG CTGAAGATGA CATTCGGCAC CATCTCACCC AGGCCGAACG TTCCCTCTGC
14641 TTGCAATCGA TCCAGACGGC TTTCAATCAA GGCGCAGGAA CTGCGTCGCT TTCATCCAGC
14701 GGGAAGGTCA GTTTCCAGGT TGAGTTCATG CTGCCGGTTG CTCATACAGT GCGCCTGATT
14761 CGCGTGACTT CTACATCCGC CAGTCAGGGT GCAAATTAAT TTGACAGTCA GGTGAATGGC
14821 CGCGATTGAC GTGTGGCCTC TAA
```

SEQ ID NO: 11 OPC 1a родительского штамма PRRSV 94881, кодируемая участком последовательности SEQ ID NO: 10, расположенным между нуклеотидами 178..7227

MSGMFSRCMCTPAARVFWNAGQVYCTRCLSARSLLSPELQDTDLGAVGLFHKPKDKLHWKVPIGIPQVECSPSGC
CWLSTIFPLARMTSGNHNFLQRLVKVADVLYRDGCLTPRHLRELQVYERGCNWYPITGPVPGMAVYANSMHVSDQ
PFPGATHVLTNSPLPQRACRQPFCPFEEAHSSIYRWEKFVIFMDSSSDGRSRMMWTPESDDSTALEVLPPELEHQ
VKVLVRSFPAHHLVDLADWELTESPENGFSFSTSHPCGYLVRDPAVSEGKCWLSCFLSQSAEVLSREAHLATAYG
YQTKWGVPGKYIQRRLQVHGLRAVVDPDGPIHVEALSCPQSWIRHLTLNDDVTPGFVRLMSLRIVPNTEPTTHRI
FRFGVHKWYGAAGKRARGKRAAKSEKDSASTLKVARPTSTSGIVTYSPPADGSCGWHALAAILNRMINNDFTSPL
PRYNRPEDDWASDGDLAQAIQCLQLPAAIARNRACPNAKYLVKLNGVHWEVEVRPGMAPRSLSRECVVGVCSEGC
VASPYPEDGLPKRALEALASAYRLPSDCVCDGIIDFLANPPPQEFWTLDKMLTSPSPEQSGFSSLYKLLLEVLPQ
KCGSTEGEFIYTVERMLKDCPSSKQAMALLAKIKVPSSKAPSVTLNECFPTDVPVNSELISWEEPKDPGAAVVLC
PSDAKESKETAPEEAQARNRKVLHPVVLTEELSEQQVQVVEGDQDMPLDLTWPTLTATATPVRGPVPDNLSSGIG
AQPATVQELILARPAPRLVERCGTESNGSSSFLDLPDVQTSDQPLDLSLAAWPVRATASDPGWIHGRREPVFVKP
RGVFSDGESALQFGELSEASSVVDDRTKEAPVVDAPIDLTTSNETLSGSDPFEFAKFRRPRFSAQALIDRGGPLA
DVHAKIKSRVYEQCLQACEPGSRATPATKKWLDKMWDRVDMKTWRCTSQFQAGHILESLKFLPDMIQDTPPPVPR
KNRAGDSAGLKQLVAQWDRKLSVTPPTKPVGPVLDQTVPLPMDIQQEDAISADKPPHSQNPSSQVDVGGGWKSFM
LSGTRFAGSVSQRLTTWVFEVLSHLPAFMLTLFSPRGSMAPGDWLFAGAVLLALLLCRSYPILGCLPLLGVFSGS
VRCVRLGVFGSWMAFAVFLFSTPPDPVGSSCDHDSPECHAELLALEQRQLWEPVRSLVVGPSGLLCVILGKLLGG
SRCLWFVLLRICMLADLAISLIYVVSQGRCHKCWGKCIRTAPAEVTLNVFPFSRATRSSLVSLCDRFQAPKGVDP
VHLATGWRGCWCGESPIHQSHQKPIAYANLDEKKISAQTVIAVPYDPSQAIKCLKVLQAGGAIVDQPTPEVVRVS
EIPFSAPFFPKVPVNPDCRVVVDSDTFVAAVRCGYSTAQLVLGRGNFAKLNQTPLRNSVPTKTTGGASYTLAVAQ
VSVWTLVHFILGLWLTSPQVCGRGTSDPWCSNPFSYPTYGPGVVCSSRLCVSADGVTLPLFSAVAHLSGREVGIF
ILVLASLGALAHRLALKADMSMVFLAFCAYAWPMSSWLICFFPMLLRWVTLHPLTMLWVHSFLVFCLPAAGVLSL
GITGLLWAVGRFTQVAGIITPYDIHQYTSGPRGAAAVATAPEGTYMAAVRRAALTGRTLIFTPSAVGSLLEGAFR
TQKPCLNTVNVVGSSLGSGGVFTIDGRRVIVTATHVLNGNTARVTGDSYNRMHTFNTNGDYAWSHADDWQGVAPM
VKIAKGYRGRAYWQTSTGVEPGIMGEGFAFCFTNCGDSGSPVISEAGDLIGVHTGSNKLGSGLVTTPEGETCSIK
ETRLSDLSRHFAGPSVPLGDIKLSPAIIPDVTTIPSDLASLLASVPVMEGGLSTVQLLCVFFLLWRMMGHAWTPI
VAVGFFLLNEILPAVLVRAVFSFALFVLAWATPWSAQVLMIRLLTAALNRNRLSLAFYALGGVVGLATEIGTFAG
GWPELSQALSTYCFLPRFLAVTSYVPTIIIGGLHALGVILWLFKYRCLHNMLVGDGSFSSAFFLRYFAEGNLRKG
VSQSCGMNNESLTAALACKLSQADLDFLSSLTNFKCFVSASNMKNAAGQYIEAAYARALRQELASLVQVDKMKGV
LAKLEAFAETATPSLDTGDVIVLLGQHPHGSILDINVGGERKTVSVQETRCLGGSKFSVCTVVSNTPVDTLTGIP
LQTPTPLFENGPRHRSEDDDLKVERMKKHCVSLGFHKINGKVYCKIWDKSNGDTFYTDDSRYTQDHAFQDRSTDY
RDRDYEGVQTAPQQGFDPKSEAPVGTVVIGGITYNRHLVKGKEVLVPKPDNCLEAARLSLEQALAGMGQTCDLTA
TEVEKLKRIISQLQGLTTEQALNC

SEQ ID NO: 12 OPC 1B родительского штамма PRRSV 94881, кодируемая участком последовательности SEQ ID NO: 10, расположенным между нуклеотидами 7209..11600

TGFKLLAASGLTRCGRGGLVVTETAVKIVKYHSRTFTLGSLDLKVTSEVEVKKSTEQGHAVVANLCSGVVLMRPH
PPSLVDVLLKPGLDTTPGIQPGHGAGNMGVNGSIWDFETAPTKVELELSKQIIQACEVRRGDAPNLQLPYKLYPV
RGDPERRKGRLVNTRFGDLPYKTPQDTKSAIHAACCLHPNGVLVSDGKSTLGTTLQHGFELYVPTVPYSVMEYLD
SRPDTPFMCTKHGTSKAAAEDLQKYDLSTQGFVLPGVLRLVRRFIFSHVGKAPPLFLPSTYPAKNSMAGVNGQRF
PTKDVQSIPEIDEMCARAVKENWQTVTPCTLKKQYCSKPKTRTILGTNNFIALAHRSALSGVTQAFMKKAWKSPI
ALGKNKFKELHCTVAGRCLEADLASCDRSTPAIVRWFVANLLYELAGCEEYLPSYVLNCCHDLVATQDGAFTKRG
GLSSGDPVTSVSNTVYSLIIYAQHMVLSALKMGHEIGLKFLEEQLKFEDLLEIQPMLVYSDDLVLYAERPTFPNY
HWWVEHLDLMLGFKTDPKKTVITDKPSFLGCRIEAGRQLVPNRDRILAALAYHMKAQNASEYYASAAAILMDSCA
CIDHDPEWYEDLICGIARCARQDGYRFPGPAFFMSMWEKLKSHNEGKKCRHCGICDAKADYASACGLDLCLFHSH
FHQHCPVTLSCGHHAGSKECSQCQSPVGAGKSPLDAVLKQIPYKPPRTIIMKVDNKTTTLDPGRYQSRRGLVAVK
RGIAGNEVDLSDGDYQVVPLLPTCKDINMVKVACNVLLSKFIVGPPGSGKTTWLLNQVQDDDVIYTPTHQTMFDI
VSALKVCRYSIPGASGLPFPPPARSGPWVRLIASGHVPGRVSYLDEAGYCNHLDILRLLSKTPLVCLGDLQQLHP
VGFDSYCYVFDQMPQKQLTTIYRFGPNICAAIQPCYREKLESKARNTRVVFTTRPVAFGQVLTPYHKDRTGSAIT
IDSSQGATFDIVTLHLPSPKSLNKSRALVAITRARHGLFIYDPHDQLQEFFNLTPERTDCNLAFSRGDELVVLNV
DNAVTTVAKALETGSPRFRVSDPRCKSLLAACSASLEGSCMPLPQVAHNLGFYFSPDSPAFAPLPKELAPHWPVV
THQNNRAWPDRLVASMRPIDARYSKPMVGAGYVVGPSIFLGTPGVVSYYLTLYIGGEPQALPETLVSTGRIATDC
REYLDAAEEEAARELPHAFIGDVKGTTVGGCHHITSKYLPRSLPKDSVAVVGVSSPGRAAKAVCTLTDVYLPELR
PYLQPETASKCWKLKLDFRDVRLMVWKGATAYFQLEGLTWSALPDYARFIQLPKDAVVYIDPCIGPATANRKVVR
TTDWRADLAVTPYDYGAQVILTTAWFEDLGPQWKILGLQPFRRTFGFENTEDWAILARRMNDGKDYTDYNWHCVR
ERPHAIYGRARDHTYHFALGTELQVELGRPRLPPEQVP

SEQ ID NO: 13 OPC 2 родительского штамма PRRSV 94881, кодируемая участком последовательности SEQ ID NO: 10, расположенным между нуклеотидами 11611..12360

MQWVHCGVKSVSCSWMPSLSSLLVWLTLSSFSPYCLGSLLQAGYWSSFSEWFAPRFSVRALPFTLPNYRRSYEGL
LPNCRPDVPQFAVKHPLGILWHMRVSHLIDEMVSRRIYRTMEHSGQAAWKQVVSEATLTKLSRLDVVTHFQHLAA
VEADSCRFLSSRLAMLKNLAVGNVSLEYNTTLDRVELIFPTPGTRPKLTDFRQWLISVHASIFSSVASSVTLFTV
LWLRIPALRYVFGFHWPTATHHSN

SEQ ID NO: 14 OCP 3 родительского штамма PRRSV 94881, кодируемая участком последовательности SEQ ID NO: 10, расположенным между нуклеотидами 12219..13016

MAYQRARFHLLLCGFVCYLVHSALASNSSSTLCFWFPLAHGNTSFELTINYTICKPCPTSQAAQQRLEPGRNVWC
KIGHDRCEERDHDELSMSIPSGYDNLKLEGYYAWLAFLSFSYAAQFHPELFGIGNVSRVFVDKRHQFICAEHDGQ
NSTISARHNISASYAVYYHHQIDGGNWFHLEWLRPFFSSWLVLNISWFLRRSPASPASRRIYQILRPTRPRLPVS
WSFRTSIVSNLTGPQQRKVPLPSGGRPNVVKPSAFPSTSR

SEQ ID NO: 15 OPC 4 родительского штамма PRRSV 94881, кодируемая участком последовательности SEQ ID NO: 10, расположенным между нуклеотидами 12761..13312

MAATILFLLAGAQHLMVSEAFACKPCFSTHLSDIKTNTTAAAGFMVLQNINCFQSHRASTAQGTTPLRRSSQCRE
AVGIPQYITITANVTDESYLYNADLLMLSACLFYASEMSEKGFKVIFGNISGVVSACVNFTDYVAHVTQHTQQHH
LVIDHIRLLHFLTPSTMRWATTIACLFAILLAV

SEQ ID NO: 16 ОРС 5 родительского штамма PRRSV 94881, кодируемая участком последовательности SEQ ID NO: 10, расположенным между нуклеотидами 13309..13914

MKCSCKLGHFLTPHSCFWWLFLLCTGLSWSFVDGNDNSSTSQYIYNLTICELNGTEWLSGHFDWAVETFVLYPVA
THIISLGFLTTSHFLDALGLGAVSATGFIGERYVLSSMYGVCAFAALVCFVIRAAKNCMACRYARTRFTNFIVDD
RGRIHRWKSSIVVEKLGKAEVGGDLVNIKHVVLEGVKAQPLTRTSAEQWEA

SEQ ID NO: 17 ОРС 6 родительского штамма PRRSV 94881, кодируемая участком последовательности SEQ ID NO: 10, расположенным между нуклеотидами 13902..14423

MGSLDDFCNDPTAAQKLVLAFSITYTPIMIYALKVSRGRLLGLLHILIFLNCSFTFGYMTYVHFQSTNRVALTLG
AVVALLWGVYSLTESWKFITSRCRLCCLGRRYILAPAHHVESAAGLHSIPASGNRAYAVRKPGLTSVNGTLVPGL
RSLVLGGKRAVKRGVVNLVKYGR

SEQ ID NO: 18 ОРС 7 родительского штамма PRRSV 94881, кодируемая участком последовательности SEQ ID NO: 10, расположенным между нуклеотидами 14413..14799

MAGKNQSQKKRRNAAPMGKGQPVNQLCQLLGTMIKSQRQQSRGGQAKKKKPEKPHFPLAAEDDIRHHLTQAERSL
CLQSIQTAFNQGAGTASLSSSGKVSFQVEFMLPVAHTVRLIRVTSTSASQGAN

SEQ ID NO: 19 Нуклеотидная последовательность, кодирующая ОРС 1А ослабленного PRRSV 94881

```
 178 ATG
 181 TCTGGGATGT TCTCCCGGTG CATGTGCACC CCGGCTGCCC GGGTATTTTG GAACGCCGGC
 241 CAAGTCTATT GCACACGGTG TCTCAGTGCA CGGTCTCTTC TCTCTCCAGA ACTTCAGGAC
 301 ACGGACCTCG GTGCAGTTGG CTTGTTTCAC AAGCCTAAAG ACAAGCTCCA TTGGAAAGTT
 361 CCCATTGGTA TCCCCCAGGT GGAATGTTCT CCATCTGGGT GTTGCTGGCT GTCAACCATT
 421 TTTCCTTTAG CGCGCATGAC CTCCGGCAAT CACAACTTCC TTCAACGACT CGTGAAGGTT
 481 GCTGATGTAT TGTACCGTGA CGGTTGCTTA ACCCCTAGAC ACCTCCGTGA ACTCCAAGTT
 541 TACGAGCGTG GTTGCAATTG GTATCCGATT ACGGGGCCTG TGCCTGGGAT GGCTGTGTAC
 601 GCGAACTCCA TGCACGTGTC CGACCAACCG TTCCCTGGTG CCACTCATGT GTTAACAAAT
 661 TCCCCTTTGC CTCAACGGGC TTGTCGGCAG CCGTTCTGTC CGTTCGAAGA GGCCCATTCT
 721 AGCATATACA GGTGGGAAAA ATTTGTAATT TTTATGGATT CCTCCTCCGA CGGTCGATCT
 781 CGCATGATGT GGACTCCGGA ATCCGATGAC TCCACGGCTT TGGAAGTTCT GCCGCCCGAG
 841 CTAGAACACC AGGTCAAGGT CCTTGTTCGG AGCTTTCCCG CCCATCACCT TGTCGACCTT
 901 GCCGATTGGG AGCTCACTGA GTCCCCTGAT AACGGTTTTT CCTTCAGCAC GTCACATCCT
 961 TGCGGCTACC TTGTTCGGGA CCCGGCTGTA TCCGAAGGCA AGTGTTGGCT TTCCTGCTTT
1021 TTGAGCCAGT CAGCCGAAGT GCTCAGTCGC GAGGCGCATC TGGCTACCGC CTATGGTTAC
1081 CAAACCAAGT GGGGTGTGCC TGGCAAGTAC ATCCAGCGCA GACTTCAAGT TCACGGTCTC
1141 CGTGCTGTGG TCGACCCTGA TGGTCCCATT CACGTTGAAG CATTGTCTTG CCCCCAGTCT
1201 TGGATCAGGC ACTTGACCCT GAATGATGAT GTCACCCCGG GATTCGTTCG CCTAATGTCT
1261 CTTCGCATTG TGCCGAACAC AGAGCCTACC ACACACCGGA TCTTTCGTTT TGGAGTGCAC
1321 AAGTGGTATG GTGCCGCCGG CAAACGGGCC CGTGGCAAGC GTGCCGCCAA AAGTGAGAAA
1381 GACTCGGCTT CCACCCTCAA GGTTGCCCGA CCGACTTCCA CCAGTGGAAT CGTCACCTAC
1441 TCCCCACCTG CGGACGGGTC TTGTGGTTGG CATGCCCTTG CCGCCATACT GAACCGGATG
1501 ATTAATAATG ACTTCACGTC CCCTCTGCCT CGGTACAACA GGCCGGAGGA CGATTGGGCT
1561 TCTGATGGTG ACCTTGCTCA GGCCATTCAA TGTTTGCAAC TACCTGCCGC CATAGCTCGG
1621 AACCGCGCCT GCCCTAACGC CAAATACCTC ATAAAACTCA ACGGAGTTCA TTGGGAGGTA
1681 GAGGTGAGGC CTGGAATGGC TCCTCGCTCC CTCTCTCGTG AGTGCGTTGT TGGCGTCTGC
1741 TCTGAAGGCT GTGTCGCGTC GCCTTACCCG GAGGACGGGT TGCCTAAACG TGCACTTGAG
1801 GCCCTGGCGT CTGCTTATAG ACTGCCTTCA GACTGTGTTT GTGATGGTAT TATTGACTTC
1861 CTTGCCAATC CACCTCCCCA GGAGTTCTGG ACTCTTGACA AAATGTTGAC TTCCCCGTCA
1921 CCGGAGCAGT CCGGCTTCTC TAGTCTGTAT AAATTGTTGT TAGAGATCTT GCCGCAGAAA
1981 TGCGGATCCA CAGAAGGGGA ATTCATCTAT ACTGTTGAGA GGATGTTGAA GGATTGTCCG
2041 AGCTCCAAAC AGGCCATGGC CCTCCTTGCA AAAATTAAGG TCCCATCCTC AAAGGCCCCA
2101 TCCGTGACTC TGAACGAGTG CTTCCCCACG GATGTTCCAG TCAACTCTGA GTTAATATCT
2161 TGGGAAGAGC CCAAAGACCC TGGCGCTGCT GTTGTCCTAT GTCCATCGGA TGCAAAAGAA
2221 TCTAAGGAAA CAGCCCCTGA AGAAGCTCAA GCGAGAAACC GTAAGGTCCT TCACCCTGTG
2281 GTCCTTACCG AGGAACTTAG CGAGCAACAG GTGCAGGTGG TTGAGGGTGA TCAGGATATG
2341 CCACTGGATT TGACTTGGCC AACCTTAACC GCTACGGCGA CCCCTGTTAG AGGGCCGGTA
2401 CCGGACAATT TGAGCTCTGG CATTGGTGCC CAGCCCGCTA CCGTTCAAGA ACTCATTCTG
2461 GCGAGGCCTG CACCCCGTCT TGTTGAGCGC TGTGGCACGG AGTCGAACGG CAGCAGTTCA
2521 TTTCTGGATT TGCCTGACGT GCAGACCTCG GACCAGCCTT TAGACCTGTC CCTGGCCGCG
2581 TGGCCTGTAA GGGCTACCGC GTCTGACCCC GGTTGGATCC ACGGTAGGCG TGAGCCTGTC
2641 TTTGTGAAGC CTCGAGGTGT TTTCTCTGAT GGCGAGTCGG CCCTTCAGTT CGGAGAGCTT
2701 TCCGAAGCCA GTTCTGTCGT CGATGACCGG ACAAAAGAAG CTCCGGTGGT TGACGCCCCC
2761 ATCGATTTGA CAACTTCGAA CGAGACGCTC TCTGGGTCTG ACCCCTTTGA ATTCGCCAAA
2821 TTCAGGCGCC CGCGTTTCTC CGCGCAAGCT TTAATCGACC GAGGTGGTCC GCTTGCCGAT
2881 GTTCATGCAA AGATAAAGAG TCGGGTATAT GAACAATGCC TTCAAGCTTG TGAACCTGGT
2941 AGTCGTGCGA CCCCAGCCAC CAAGAAGTGG CTCGACAAAA TGTGGGACAG GGTGGACATG
3001 AAAACTTGGC GCTGCACCTC GCAGTTCCAA GCTGGTCACA TTCTTGAGTC CCTCAAATTC
3061 CTCCCTGACA TGATTCAAGA CACACCGCCT CCTGTTCCCA GGAAGAACCG AGCTGGTGAC
3121 AGTGCCGGCC TGAAGCAACT GGTGGCGCAG TGGGATAGGA AATCGAGTGT GACACCCCCC
3181 ACAAAACCGG TTGGACCGGT GCTTGACCAG GCCGTCCCTC TGCCTATGGA CATCCAGCAA
3241 GGAGATGCCA TCTCCGCTGA CAAGCCACCC CATTCGCAAA ACCCTTCTAG TCAAGTAGAT
3301 GTGGGTGGAG GTTGGAAAAG TTTTATGCTC TCCGGCACCC GTTTCGCGGG GTCCGTTAGT
3361 CAGCGCCTTA CGACATGGGT TTTTGAGGTT CTCTCCCATC TCCCAGCTTT TATGCTCACA
3421 CTTTTCTCGC CACGGGGCTC TATGGCTCCA GGTGATTGGC TGTTTGCAGG TGCTGTTCTA
3481 CTTGCTCTCC TGCTCTGCCG TTCTTACCCA ATACTCGGAT GCCTTCCCTT ATTGGGTGTC
3541 TTTTCTGGTT CTGTGCGGTG TGTTCGTTTG GGTGTTTTTG GTTCTTGGAT GGCTTTTGCT
3601 GTATTTTTAT TCTCGACTCC ACCCGACCCA GTCGGTTCTT CTTGTGACCA CGATTCGCCG
3661 GAGTGTCATG CTGAGCTTTT GGCTCTTGAG CAGCGCCAAC TTTGGGAACC TGTGCGCAGC
3721 CTTGTGGTCG GGCCATCGGG CCTCTTATGC GTCATTCTTG GCAAGTTACT CGGTGGGTCA
3781 CGTTGTCTCT GGTTTGTTCT CCTACGTATA TGCATGCTCG CAGATTTGGC AATTTCTCTT
3841 ATTTATGTGG TGTCCCAAGG GCGTTGTCAC AAGTGTTGGG GAAAGTGTAT AAGGACGGCT
3901 CCTGCAGAAG TGGCCCTTAA TGTGTTTCCT TTTTCGCGCG CCACCCGCTC ATCTCTTGTG
3961 TCCTTGTGTG ATCGGTTCCA AGCGCCAAAA GGAGTTGACC CCGTGCACTT GGCGACAGGC
```

4021 TGGCGCGGGT GCTGGTGTGG TGAGAGCCCT ATTCATCAAT CACACCAAAA ACCGATAGCT
4081 TATGCCAACT TGGATGAAAA GAAGATATCC GCCCAGACGG TGATTGCTGT CCCGTATGAT
4141 CCTAGTCAGG CCATTAAATG CCTGAAAGTT TTGCAGGCAG GAGGGGCTAT TGTGGACCAG
4201 CCTACGCCCG AGGTCGTCCG TGTGTCTGAG ATTCCCTTCT CGGCCCCATT TTTTCCGAAG
4261 GTCCCAGTCA ACCCAGACTG CAGGGTTGTG GTAGATTCGG ACACTTTTGT GGCTGCGGTC
4321 CGCTGCGGTT ATTCGACAGC ACAACTGGTC CTTGGTCGGG GCAACTTTGC CAAGCTAAAT
4381 CAGACCCCCC TCAGGAACTC TGTCCCCACC AAAACAACTG GTGGGGCCTC ATACACCCTT
4441 GCCGTGGCCC AGGTATCTGT GTGGACTCTT GTTCATTTCA TCCTCGGCCT TTGGTTAACG
4501 TCACCTCAAG TGTGTGGTCG AGGGACCTCT GACCCGTGGT GTTCGAACCC TTTTTCGTAT
4561 CCTACTTATG GCCCCGGAGT TGTGTGTTCC TCTCGACTCT GCGTGTCTGC CGACGGAGTT
4621 ACCCTGCCAT TGTTCTCAGC CGTTGCCCAT CTTTCCGGTA GAGAGGTGGG GATTTTTATT
4681 TTGGTGCTTG CCTCCTTGGG CGCTTTAGCC CACCGCTTGG CTCTTAAGGC AGACATGTCA
4741 ATGGTCTTTT TGGCGTTTTG TGCTTACGCC TGGCCCATGA GCTCCTGGTT AATTTGCTTC
4801 TTTCCTATGC TCTTGAGGTG GGTAACCCTT CATCCTCTCA CTATGCTTTG GGTGCACTCA
4861 TTTTTGGTGT TTTGCCTACC AGCTGCCGGC GTTCTCTCGC TGGGAATAAC CGGTCTTCTT
4921 TGGGCAGTTG GCCGTTTCAC CCAGGTTGCC GGAATTATCA CACCTTATGA CATCCACCAG
4981 TATACCTCCG GACCACGTGG TGCAGCTGCT GTAGCAACGG CTCCAGAAGG TACTTACATG
5041 GCGGCCGTTC GGAGAGCCGC TTTGACTGGA CGGACTTTGA TCTTCACACC ATCTGCAGTC
5101 GGATCCCTTC TTGAAGGTGC TTTCAGAACT CAAAAGCCCT GCCTTAACAC CGTGAATGTC
5161 GTAGGCTCTT CCCTTGGTTC TGGAGGAGTT TTCACCATTG ATGGCAGAAG AGTCATCGTC
5221 ACTGCCACCC ATGTGTTGAA TGGTAACACA GCCAGGGTCA CTGGTGATTC CTACAACCGC
5281 ATGCACACGT TCAATACTAA TGGTGATTAT GCCTGGTCCC ATGCTGATGA CTGGCAAGGC
5341 GTTGCCCCTA TGGTTAAGAT CGCTAAGGGG TATCGCGGTC GTGCCTACTG GCAAACGTCA
5401 ACCGGAGTCG AACCTGGCAT CATGGGGGAA GGATTCGCCT TCTGTTTCAC TAACTGTGGC
5461 GACTCAGGGT CACCTGTCAT TTCAGAAGCT GGTGACCTTA TTGGAGTCCA TACCGGTTCA
5521 AACAAACTCG GTTCTGGTCT TGTGACAACC CCTGAAGGGG AGACCTGCTC CATCAAGGAA
5581 ACTAGGCTCT CTGACCTTTC TAGACATTTT GCAGGTCCAA GCGTCCCTCT TGGGGACATT
5641 AAGTTGAGCC CAGCCATCAT CCCTGATGTG ACAACTATTC CGAGTGACTT GGCATCGCTC
5701 CTTGCTTCTG TCCCCGTGAT GGAAGGTGGC CTCTCAACTG TCCAGCTTTT GTGCGTCTTT
5761 TTCCTTCTCT GGCGCATGAT GGGCCATGCC TGGACACCCA TTGTTGCCGT AGGCTTCTTT
5821 TTGCTGAATG AAATTCTCCC AGCAGTCTTG GTCCGAGCTG TGTTCTCTTT TGCACTCTTT
5881 GTACTTGCAT GGGCCACCCC CTGGTCGGCA CAAGTGTTGA TGATTAGACT CCTCACGGCG
5941 GCTCTCAACC GCAACAGGTT GTCCCTGGCG TTCTACGCAT TCGGAGGTGT CGTTGGCCTG
6001 GCCACAGAAA TCGGGACTTT TGCTGGTGGA TGGCCTGAAC TGTCCCAAGC CCTCTCGACA
6061 TACTGCTTCC TGCCCAGGTT CCTTGCTGTG ACTAGTTATG TCCCCACCAT CATCATCGGT
6121 GGGCTCCATG CCCTCGGCGT AATTTTGTGG TTATTCAAAT ACCGATGCCT CCACAACATG
6181 CTGGTTGGTG ATGGGAGTTT CTCAAGCGCT TTCTTCCTAC GGTATTTTGC TGAGGGTAAT
6241 CTTAGGAAAG GCGTGTCGCA GTCCTGTGGC ATGAATAACG AATCCCTGAC AGCTGCTTTG
6301 GCTTGCAAGT TGTCGCAAGC TGACCTTGAT TTTTTGTCCA GTTTAACGAA CTTCAAGTGC
6361 TTTGTGTCCG CTTCAAACAT GAAAAATGCA GCTGGCCAAT ACATCGAGGC GGCGTATGCT
6421 AGAGCTCTGC GTCAGGAGCT GGCCTCCTTG GTTCAGGTTG ACAAGATGAA AGGAGTATTG
6481 GCCAAGCTCG AGGCTTTCGC TGAGACGGCC ACTCCGTCAC TTGACACAGG GGACGTGATT
6541 GTTCTGCTTG GGCAACACCC CCATGGATCC ATCCTCGACA TTAATGTGGG GGGTGAAAGG
6601 AAAACTGTGT CTGTGCAAGA AACACGATGC CTGGGTGGTT CCAAATTCAG TGTCTGCACT
6661 GTCGTGTCCA ACACGCCCGT GGATACCTTG ACCGGTATCC CACTTCAGAC GCCAACCCCA
6721 CTTTTTGAAA ATGGCCCGCG CCATCGCAGC GAGGACGACG ACCTCAAAGT TGAGAGAATG
6781 AAAAAACACT GTGTATCCCT CGGCTTCCAC AAAATCAATG GTAAAGTTTA CTGCAAAATT
6841 TGGGACAAGT CTAACGGCGA CACCTTTTAC ACGGATGATT CCCGATACAC TCAAGACCAT
6901 GCTTTTCAGG ACAGGTCAAC CGACTATAGA GACAGGGATT ATGAAGGTGT ACAGACCGCC
6961 CCCCAACAGG GATTCGATCC AAAGTCCGAA GCCCCTGTTG GCACTGTTGT AATCGGTGGC
7021 ATTACGTATA ACAGGCATCT GGTCAAAGGT AAGGAGGTCC TAGTTCCCAA ACCTGACAAC
7081 TGCCTTGAAG CTGCCAGACT GTCCCTTGAG CAAGCTCTTG CTGGGATGGG CCAAACTTGT
7141 GACCTTACAG CTACCGAAGT GGAGAAACTA AAGCGCATCA TTAGTCAACT CCAAGGTCTG
7201 ACCACTGAAC AGGCTTTAAA CTGCTAG

SEQ ID NO: 20 Нуклеотидная последовательность, кодирующая ОРС 1В ослабленного PRRSV 94881

7209 AC AGGCTTTAAA CTGCTAGCCG CCAGCGGCTT GACCCGCTGT GGCCGCGGCG
7261 GCCTAGTTGT AACTGAAACG GCGGTAAAAA TCGTAAAATA CCACAGCAGA ACTTTCACCT
7321 TAGGCTCTTT AGACCTAAAA GTCACCTCCG AGGTGGAGGT GAAGAAATCA ACTGAGCAGG
7381 GGCACGCTGT CGTGGCGAAC TTATGTTCCG GTGTCGTCTT GATGAGGCCT CACCCACCGT
7441 CCCTTGTTGA CGTTCTCCTC AAACCCGGAC TTGACACAAC ACCCGGCATT CAACCAGGGC
7501 ATGGGGCCGG GAATATGGGC GTGAACGGTT CTATTTGGGA TTTTGAAACT GCACCCACAA
7561 AGGTAGAACT AGAGTTGTCC AAGCAAATAA TCCAAGCATG TGAAGTCAGG CGCGGGGACG
7621 CCCCTAACCT CCAACTCCCC TACAAGCTTT ATCCTGTCAG GGGGGACCCC GAGCGGCGTA

```
 7681 AAGGTCGCCT TGTCAACACT AGGTTTGGAG ATTTACCTTA CAAAACTCCC CAAGACACCA
 7741 AGTCCGCAAT TCATGCGGCT TGTTGCCTGC ATCCCAATGG GGTCCTCGTG TCTGATGGCA
 7801 AATCCACGCT GGGTACCACT CTTCAACATG GTTTCGAGCT TTATGTCCCC ACTGTACCTT
 7861 ATAGTGTCAT GGAATACCTT GATTCACGCC CTGACACCCC TTTTATGTGT ACTAAACATG
 7921 GCACTTCCAA GGCTGCTGCA GAGGACCTCC AAAAATATGA CCTATCCACT CAAGGGTTTG
 7981 TCTTGCCTGG GGTCCTACGC CTAGTGCGCA GGTTCATCTT TAGCCATGTT GGTAAGGCGC
 8041 CACCACTGTT CCTTCCATCA ACCTACCCTG CCAAGAACTC CATGGCAGGG GTCAATGGCC
 8101 AGAGGTTCCC AACAAAGGAT GTCCAGAGCA TACCTGAAAT TGATGAAATG TGCGCCCGTG
 8161 CCGTCAAGGA AAATTGGCAG ACTGTGACAC CTTGCACCCT CAAAAAACAG TACTGTTCCA
 8221 AACCTAAAAC TAGAACCATC CTAGGTACCA ACAACTTCAT AGCCTTGGCT CACAGGTCAG
 8281 CACTCAGTGG TGTCACCCAG GCGTTCATGA AGAAGGCCTG GAAGTCCCCA ATTGCCTTGG
 8341 GGAAAAACAA GTTTAAGGAA TTGCATTGCA CTGTCGCCGG CAGATGCCTT GAGGCTGACC
 8401 TGGCTTCCTG CGATCGCAGC ACCCCCGCCA TTGTGAGGTG GTTTGTTGCC AACCTCCTGT
 8461 ATGAACTTGC AGGATGTGAA GAGTACTTGC CTAGCTACGT GCTCAACTGT TGCCATGACC
 8521 TTGTGGCAAC GCAGGATGGC GCTTTCACAA AACGCGGTGG CCTGTCGTCC GGGGACCCCG
 8581 TCACCAGTGT GTCCAACACC GTCTACTCAC TGATAATTTA CGCCCAGCAC ATGGTGCTTT
 8641 CGGCCTTGAA GATGGGTCAT GAAATTGGTC TCAAGTTCCT TGAGGAACAG CTCAAATTTG
 8701 AGGACCTTCT TGAAATCCAG CCCATGTTAG TGTATTCTGA TGACCTCGTC TTGTATGCGG
 8761 AAAGACCCAC TTTTCCCAAC TACCATTGGT GGGTCGAGCA TCTTGACCTG ATGTTGGGCT
 8821 TTAAAACGGA CCCAAAGAAA ACTGTCATAA CTGATAAACC CAGTTTTCTC GGCTGCAGAA
 8881 TTGAAGCAGG ACGGCAGTTA GTCCCCAATC GCGACCGTAT TCTGGCTGCT CTTGCATATC
 8941 ATATGAAGGC GCAGAACGCC TCAGAGTATT ATGCGTCCGC TGCCGCAATT CTGATGGATT
 9001 CGTGTGCTTG CATTGACCAT GACCCCGAGT GGTATGAGGA TCTTATCTGC GGCATCGCCC
 9061 GGTGTGCTCG CCAGGACGGT TACCGTTTTC CAGGCCCGGC ATTTTTCATG TCCATGTGGG
 9121 AGAAGCTGAA AAGTCATAAT GAAGGGAAGA AATGCCGTCA CTGCGGCATC TGCGACGCCA
 9181 AAGCCGACTA TGCGTCCGCC TGTGGACTTG ATTTGTGTTT GTTCCATTCA CACTTTCATC
 9241 AACACTGCCC AGTCACTCTG AGCTGTGGCC ACCATGCCGG TTCAAAGGAA TGTTCGCAGT
 9301 GTCAGTCACC TGTCGGGGCT GGCAAATCCC CCCTTGACGC TGTGCTGAAA CAAATCCCGT
 9361 ACAAACCTCC TCGTACCATT ATCATGAAGG TGGACAACAA AACAACGACC CTTGACCCGG
 9421 GAAGATATCA GTCCCGTCGA GGTCTTGTTG CAGTCAAAAG AGGTATTGCA GGTAATGAGG
 9481 TTGATCTTTC TGATGGAGAC TACCAAGTGG TGCCTCTTTT GCCGACTTGC AAAGACATAA
 9541 ACATGGTGAA GGTGGCTTGC AACGTACTAC TCAGCAAGTT TATAGTAGGG CCGCCAGGTT
 9601 CCGGAAAAAC CACCTGGCTA CTGAACCAAG TCCAGGACGA TGATGTCATT TACACACCTA
 9661 CTCATCAGAC AATGTTTGAC ATAGTCAGTG CTCTTAAAGT TTGCAGGTAT TCCATCCCAG
 9721 GAGCCTCAGG ACTCCCTTTT CCACCACCTG CCAGGTCCGG GCCGTGGGTT AGGCTCATCG
 9781 CCAGCGGACA TGTCCCTGGC CGAGTGTCAT ATCTCGATGA GGCAGGATAT TGCAATCATC
 9841 TAGACATTCT AAGGCTGCTT TCCAAAACAC CCCTTGTGTG TTTGGGTGAC CTTCAGCAAC
 9901 TTCACCCGGT CGGCTTTGAT TCCTATTGTT ATGTGTTCGA TCAGATGCCT CAGAAGCAGC
 9961 TGACCACCAT TTATAGATTT GGCCCTAACA TCTGTGCAGC CATCCAGCCT TGTTACAGGG
10021 AGAAACTTGA ATCCAAGGCC AGGAACACCA GAGTGGTTTT CACCACCCGG CCTGTGGCCT
10081 TTGGTCAGGT CCTGACACCG TACCACAAAG ATCGTACCGG CTCTGCAATA ACTATAGATT
10141 CATCCCAGGG GGCGACCTTC GACATTGTGA CATTGCATCT ACCATCGCCA AAGTCCCTAA
10201 ACAAATCCCG AGCACTTGTA GCCATCACTC GGGCAAGACA TGGGTTGTTC ATTTATGACC
10261 CTCATGACCA ACTCCAGGAG TTTTTCAACT TAACCCCCGA GCGCACTGAT TGTAACCTTG
10321 CGTTCAGCCG TGGGGATGAG CTGGTTGTTT TGAATGTGGA TAATGCGGTC ACAACTGTAG
10381 CGAAGGCCCT AGAGACAGGT TCACCCCGAT TTCGAGTATC GGACCCGAGG TGCAAGTCTC
10441 TCTTAGCCGC TTGTTCGGCC AGTCTAGAAG GGAGCTGCAT GCCACTACCA CAAGTAGCAC
10501 ATAACCTGGG GTTTTACTTT TCCCCGGACA GCCCAGCTTT TGCACCCCTG CCAAAAGAGC
10561 TGGCGCCACA TTGGCCAGTG GTCACCCACC AGAATAATCG AGCGTGGCCT GATCGACTTG
10621 TCGCTAGTAT GCGCCCAATT GATGCCCGCT ACAGCAAGCC AATGGTCGGT GCAGGGTATG
10681 TGGTCGGGCC ATCCATTTTT CTTGGCACTC CTGGTGTGGT GTCATACTAT CTCACATTAT
10741 ACATCGGGGG CGAGCCTCAG GCCCTGCCAG AAACACTCGT TTCAACAGGA CGTATAGCCA
10801 CAGATTGTCG GGAATATCTC GACGCGGCTG AGGAAGAGGC AGCGAGAGAA CTTCCCCACG
10861 CATTTATTGG CGATGTCAAA GGCACTACGA TCGGGGGGTG TCACCACATT ACATCGAAAT
10921 ACCTACCTAG GTCCCTGCCT AAAGACTCTG TTGCTGTGGT TGGGGTGAGT TCGCCCGGTA
10981 GGGCTGCTAA AGCCGTGTGC ACTCTCACCG ATGTGTACCT CCCCGAACTC CGACCATATT
11041 TGCAACCGGA GACGGCATCA AAATGCTGGA AACTTAAACT GGATTTCAGG GATGTTCGAC
11101 TGATGGTCTG GAAAGGCGCC ACAGCCTATT TCCAGTTGGA AGGGCTGACA TGGTCAGCGC
11161 TGCCCGATTA TGCTAGGTTC ATTCAGCTAC CCAAGGATGC CGTTGTGTAC ATCGATCCGT
11221 GTATAGGGCC GGCAACAGCC AATCGCAAGG TTGTGCGAAC CACAGACTGG CGGGCCGACC
11281 TGGCAGTGAC ACCGTATGAT TACGGTGCTC AGGTCATTTT GACAACAGCC TGGTTCGAGG
11341 ACCTTGGGCC GCAGTGGAAG ATTTTGGGGT TGCAGCCTTT CAGACGAACA TTTGGCTTTG
11401 AGAACACTGA AGATTGGGCA ATTCTCGCAC GCCGTATGAA TGACGGCAAA GATTACACTG
11461 ACTATAATTG GCATTGTGTA CGAGAACGCC CACACGCAAT TTACGGGCGC GCCCGTGACC
11521 ATACGTATCA TTTTGCCCTT GGCACTGAAC TGCAAGTAGA GCTGGGCAGA CCCCGGCTGC
11581 CTCCTGAGCA AGTGCCGTGA
```

SEQ ID NO: 21 Нуклеотидная последовательность, кодирующая ОРС 2 ослабленного PRRSV 94881

11611 ATGCAATGGG TTTACTGTGG AGTAAAATCA
11641 GTCAGTTGTT CGTGGATGCC TTCACTGAGT TCCTTGTTAG TGTGGTTGAC ATTGTCATCT
11701 TTCTCGCCAT ATTGTTTGGG TTCACTGTTG CAGGCTGGTT ATTGGTCTTC CTTCTCAGAG
11761 TGGTTTGCTC CGCGTTTCTC CGTTCGCGCT CTGCCATTCA CTCTTCCGAA CTATCGAAGG
11821 TCCTATGAGG GCTTGCTACC CAACTGCAGA CCGGATGTCC CACAATTCGC AGTTAAGCAC
11881 CCGTTGGGTA TACTTTGGCA TATGCGAGTC TCCCACCTAA TTGACGAAAT GGTCTCTCGC
11941 CGCATTTACC GGACCATGGA ACATTCGGGT CAAGCGGCCT GGAAGCAGGT TGTTAGTGAA
12001 GCCACTCTCA CAAAACTGTC AAGGCTTGAC GTAGTCACTC ATTTCCAACA CCTGGCCGCA
12061 GTGGAGGCTG ATTCTTGCCG CTTCCTTAGC TCACGACTCG CGATGCTGAA AAACCTTGCC
12121 GTTGGCAATG TGAGCCTGGA GTACAACACT ACTTTGGACC GCGTTGAGCT CATCTTTCCC
12181 ACACCAGGTA CGAGGCCCAA GTTGACCGAT TTTAGGCAAT GGCTTATCAG CGTGCACGCT
12241 TCCATCTTCT CCTCTGTGGC TTCGTCTGTT ACCTTGTTCA CAGTGCTTTG GCTTCGAATT
12301 CCAGCTCTAC GCTATGTTTT TGGTTTCCAT TGGCCCACGG CAACACATCA TTCGAACTAA

SEQ ID NO: 22 Нуклеотидная последовательность, кодирующая ОРС 3 ослабленного PRRSV 94881

12219 AT GGCTTATCAG CGTGCACGCT
12241 TCCATCTTCT CCTCTGTGGC TTCGTCTGTT ACCTTGTTCA CAGTGCTTTG GCTTCGAATT
12301 CCAGCTCTAC GCTATGTTTT TGGTTTCCAT TGGCCCACGG CAACACATCA TTCGAACTAA
12361 CTATCAATTA CACTATATGT AAGCCATGCC CTACCAGTCA AGCTGCCCAA CAAAGACTCG
12421 AGCCTGGCCG TAACGTGTGG TGCAAAATAG GGCACGACAG GTGTGAGGAA CGTGACCATG
12481 ATGAGTTGTC AATGTCCATT CCGTCCGGGT ACGACAACCT CAAACTTGAG GGTTATTATG
12541 CTTGGCTGGC TTTTTTGTCC TTTTCCTACG CGGCCCAATT CCATCCGGAG CTGTTCGGAA
12601 TAGGAAACGT GTCGCGCGTC TTTGTGGATA AGCGACACCA GTTCATTTGC GCCGAGCATG
12661 ATGGACAAAA TTCAACCATA TCTGCCAGAC ACAACATCTC CGCGTCGTAT GCGGTGTATT
12721 ACCATCATCA AATAGACGGG GGCAATTGGT TTCATTTGGA ATGGCTGCGA CCATTCTTTT
12781 CCTCCTGGCT GGTGCTCAAC ATCTCATGGT TTCTGAGGCG TTCGCCTGCA AGCCCTGCTT
12841 CTCGACGCAT CTATCAGATA TTAAGACCAA CACGACCGCG GCTGCCGGTT TCATGGTCCT
12901 TCAGAACATC AATTGTTTCC AATCTCACAG GGCCTCAACA GCGCAAGGTA CCACTCCCCT
12961 CAGGAGGTCG TCCCAATGTC GTGAAGCCGT CGGCATTCCC CAGTACATCA CGATAA

SEQ ID NO: 23 Нуклеотидная последовательность, кодирующая ОРС 4 ослабленного PRRSV 94881

12761 ATGGCTGCGA CCATTCTTTT
12781 CCTCCTGGCT GGTGCTCAAC ATCTCATGGT TTCTGAGGCG TTCGCCTGCA AGCCCTGCTT
12841 CTCGACGCAT CTATCAGATA TTAAGACCAA CACGACCGCG GCTGCCGGTT TCATGGTCCT
12901 TCAGAACATC AATTGTTTCC AATCTCACAG GGCCTCAACA GCGCAAGGTA CCACTCCCCT
12961 CAGGAGGTCG TCCCAATGTC GTGAAGCCGT CGGCATTCCC CAGTACATCA CGATAACGGC
13021 TAATGTGACC GATGAATCGT ATTTGTACAA CGCGGACTTG CTGATGCTTT CCGCGTGCCT
13081 TTTCTACGCC TCGGAAATGA GCGAGAAAGG CTTCAAAGTC ATCTTTGGGA ATATTTCTGG
13141 CGTTGTTTCC GCTTGTGTTA ATTTCACAGA TTATGTGGCC CATGTGACCC AACACACTCA
13201 GCAGCACCAT TTGGTAATTG ATCACATTCG GTTACTACAC TTCTTGACAC CGTCTACGAT
13261 GAGGTGGGCT ACAACCATTG CTTGTTTGCT TGCCATTCTT TTGGCGGTAT GA

SEQ ID NO: 24 Нуклеотидная последовательность, кодирующая ОРС 5 ослабленного PRRSV 94881

13309 AT GAAATGTTCT
13321 TGCAAGTTGG GGCATTTCTT GACTCCTCAC TCTTGCTTCT GGTGGCTTTT TTTGCTGTGT
13381 ACCGGCTTGT CTTGGTCCTT TGTCGATGGC AACGACGACA GCTCGACATC CCAATACATA
13441 TATAATTTGA CGATATGCGA GCTGAATGGG ACCGAATGGT TGTCCGGTCA TTTTGATTGG
13501 GCAGTCGAAA CCTTTGTGCT TTACCCAGTT GCCACTCATA TCATTTCACT GGGTTTTCTC
13561 ACAACAAGCC ATTTCCTTGA TGCGCTCGGT CTCGGCGCTG TGTCCGCCAC AGGATTCATT
13621 GGCGAGCGGT ATGTACTTAG CAGCATGTAC GGCGTTTGCG CCTTCGCGGC GTTCGTATGT
13681 TTTGTCATCC GTGCTGCTAA AAATTGCATG GCTTGCCGCT ATGCCCGCAC CCGGTTTACC
13741 AACTTCATCG TGGACGACCG GGGAAGAATC CATCGATGGA AGTCTTCAAT AGTGGTGGAG
13801 AAATTGGGCA AAGCTGAAGT CGGTGGTGAC CTTGTCAACA TTAAGCATGT TGTCCTCGAA
13861 GGGGTTAAAG CTCAACCTTT GACGAGGACT TCGGCTGAGC AATGGGAAGC CTAG

SEQ ID NO: 25 Нуклеотидная последовательность, кодирующая ОРС 6 ослабленного PRRSV 94881

13902 ATGGGAAGC CTAGACGACT
13921 TTTGCAACGA TCCCACCGCC GCACAAAAAC TCGTGCTGGC CTTTAGCATC ACATATACAC
13981 CCATAATGAT ATACGCCCTT AAGGTGTCAC GCGGCCGACT CCTGGGGCTG TTGCACATCT
14041 TGATATTTCT GAATTGTTCC TTTACTTTTG GGTACATGAC ATATGTGCAT TTTCAATCCA
14101 CCAACCGTGT CGCATTCACT CTGGGGGCTG TAGTCGCCCT TTTGTGGGGT GTTTACAGCC
14161 TCACAGAGTC ATGGAAGTTC ATCACTTCCA GATGCAGATT GTGTTGCCTA GGCCGGCGAT
14221 ACATTCTGGC CCCTGCCCAT CACGTAGAAA GTGCTGCAGG CCTCCATTCA ATCCCAGCGT
14281 CTGGTAACCG AGCATACGCT GTGAGAAAGC CCGGACTAAC ATCAGTGAAC GGCACTCTAG
14341 TACCTGGGCT TCGGAGCCTC GTGCTGGGCG GCAAACGAGC TGTTAAACGA GGAGTGGTTA
14401 ACCTCGTCAA GTATGGCCGG TAA

SEQ ID NO: 26 Нуклеотидная последовательность, кодирующая ОРС 7 ослабленного PRRSV 94881

14413 ATGGCCGG TAAGAACCAG AGCCAGAAGA AAAGAAGAAA TGCAGCTCCG
14461 ATGGGGAAAG GCCAGCCAGT CAATCAACTG TGCCAGTTGC TGGGTACAAT GATAAAGTCC
14521 CAGCGCCAGC AATCTAGGGG AGGACAGGCC AAAAAGAAGA AGCCTGAGAA GCCACATTTT
14581 CCCCTAGCTG CTGAAGATGA CATTCGGCAC CATCTCACCC AGGCCGAACG TTCCCTCTGC
14641 TTGCAATCGA TCCAGACGGC TTTCAATCAA GGCGCAGGAA CTGCGTCGCT TTCATCCAGC
14701 GGGAAGGTCA GTTTCCAGGT TGAGTTCATG CTGCCGGTTG CTCATACAGT GCGCCTGATT
14761 CGCGTGACTT CTACATCCGC CAGTCAGGGT GCAAATTAAT TTGACAGTCA GGTGAATGGC
14821 CGCGATTGAC GTGTGGCCTC TAA

SEQ ID NO: 27 Нуклеотидная последовательность, кодирующая ОРС 1a родительского PRRSV 94881

```
 178        ATG
 181 TCTGGGATGT TCTCCCGGTG CATGTGCACC CCGGCTGCCC GGGTATTTTG GAACGCCGGC
 241 CAAGTCTATT GCACACGGTG TCTCAGTGCA CGGTCTCTTC TCTCTCCAGA ACTTCAGGAC
 301 ACGGACCTCG GTGCAGTTGG CTTGTTTCAC AAGCCTAAAG ACAAGCTCCA TTGGAAAGTT
 361 CCCATTGGTA TCCCCCAGGT GGAATGTTCT CCATCTGGGT GTTGCTGGCT GTCAACCATT
 421 TTTCCTTTAG CGCGCATGAC CTCCGGCAAT CACAACTTCC TTCAACGACT CGTGAAGGTT
 481 GCTGACGTAT TGTACCGTGA CGGTTGCTTA ACCCCTAGAC ACCTCCGTGA ACTCCAAGTT
 541 TACGAGCGTG GTTGCAATTG GTATCCGATT ACGGGGCCTG TGCCTGGGAT GGCTGTGTAC
 601 GCGAACTCCA TGCACGTGTC CGACCAACCG TTCCCTGGTG CCACTCATGT GTTAACAAAT
 661 TCCCCTTTGC CTCAACGGGC TTGTCGGCAG CCGTTCTGTC CGTTCGAAGA GGCCCATTCT
 721 AGCATATACA GGTGGGAAAA ATTTGTAATT TTTATGGATT CCTCCTCCGA CGGTCGATCT
 781 CGCATGATGT GGACTCCGGA ATCCGATGAC TCCACGGCTT TGGAAGTTCT GCCGCCCGAG
 841 CTAGAACACC AGGTCAAGGT CCTTGTTCGG AGCTTTCCCG CCCATCACCT TGTCGACCTT
 901 GCCGATTGGG AGCTCACTGA GTCCCCTGAG AACGGTTTTT CCTTCAGCAC GTCACATCCT
 961 TGCGGCTACC TTGTTCGGGA CCCGGCTGTA TCCGAAGGCA AGTGTTGGCT TTCCTGCTTT
1021 TTGAGCCAGT CAGCCGAAGT GCTCAGTCGC GAGGCGCATC TGGCTACCGC CTATGGTTAC
1081 CAAACCAAGT GGGGTGTGCC TGGCAAGTAC ATCCAGCGCA GACTTCAAGT TCACGGTCTC
1141 CGTGCTGTGG TCGACCCTGA TGGTCCCATT CACGTTGAAG CATTGTCTTG CCCCCAGTCT
1201 TGGATCAGGC ACTTGACCCT GAATGATGAT GTCACCCCGG GATTCGTTCG CCTAATGTCT
1261 CTTCGCATTG TGCCGAACAC AGAGCCTACC ACACACCGGA TCTTTCGTTT TGGAGTGCAC
1321 AAGTGGTATG GTGCCGCCGG CAAACGGGCC CGTGGCAAGC GTGCCGCCAA AAGTGAGAAA
1381 GACTCGGCTT CCACCCTCAA GGTTGCCCGA CCGACTTCCA CCAGTGGAAT CGTCACCTAC
1441 TCCCCACCTG CGGACGGGTC TTGTGGTTGG CATGCCCTTG CCGCCATACT GAACCGGATG
1501 ATTAATAATG ACTTCACGTC CCCTCTGCCT CGGTACAACA GGCCGGAGGA CGATTGGGCT
1561 TCTGATGGTG ACCTTGCTCA GGCCATTCAA TGTTTGCAAC TACCTGCCGC CATAGCTCGG
1621 AACCGCGCCT GCCCTAACGC CAAATACCTC GTAAAACTCA ACGGAGTTCA TTGGGAGGTA
1681 GAGGTGAGGC CTGGAATGGC TCCTCGCTCC CTCTCTCGTG AGTGCGTTGT TGGCGTCTGC
1741 TCTGAAGGCT GTGTCGCGTC GCCTTACCCG GAGGACGGGT TGCCTAAACG TGCACTTGAG
```

```
1801 GCCCTGGCGT CTGCTTATAG ACTGCCTTCA GACTGTGTTT GTGATGGTAT TATTGACTTC
1861 CTTGCCAATC CACCTCCCCA GGAGTTCTGG ACTCTTGACA AAATGTTGAC TTCCCCGTCA
1921 CCGGAGCAGT CCGGCTTCTC TAGTCTGTAT AAATTGTTGT TAGAGGTCTT GCCGCAGAAA
1981 TGCGGATCCA CAGAAGGGGA ATTCATCTAT ACTGTTGAGA GGATGTTGAA GGATTGTCCG
2041 AGCTCCAAAC AGGCCATGGC CCTCCTTGCA AAAATTAAGG TCCCATCCTC AAAGGCCCCA
2101 TCCGTGACTC TGAACGAGTG CTTCCCCACG GATGTTCCAG TCAACTCTGA GTTAATATCT
2161 TGGGAAGAGC CCAAAGACCC TGGCGCTGCT GTTGTCCTAT GTCCATCGGA TGCAAAAGAA
2221 TCTAAGGAAA CAGCCCCTGA AGAAGCTCAA GCGAGAAACC GTAAGGTCCT CCACCCTGTG
2281 GTCCTTACCG AGGAACTTAG CGAGCAACAG GTGCAGGTGG TTGAGGGTGA TCAGGATATG
2341 CCACTGGATT TGACTTGGCC AACCTTAACC GCTACGGCGA CCCCTGTTAG AGGGCCGGTA
2401 CCGGACAATT TGAGCTCTGG CATTGGTGCC CAGCCCGCTA CCGTTCAAGA ACTCATTCTG
2461 GCGAGGCCTG CACCCCGTCT TGTTGAGCGC TGTGGCACGG AGTCGAACGG CAGCAGTTCA
2521 TTTCTGGATT TGCCTGACGT GCAGACCTCG GACCAGCCTT TAGACCTGTC CCTGGCCGCG
2581 TGGCCTGTAA GGGCTACCGC GTCTGACCCC GGTTGGATCC ACGGTAGGCG TGAGCCTGTC
2641 TTTGTGAAGC CTCGAGGTGT TTTCTCTGAT GGCGAGTCGG CCCTTCAGTT CGGAGAGCTT
2701 TCCGAAGCCA GTTCTGTCGT CGATGACCGG ACAAAAGAAG CTCCGGTGGT TGACGCCCCC
2761 ATCGATTTGA CAACTTCGAA CGAGACGCTC TCTGGGTCTG ACCCCTTTGA ATTCGCCAAA
2821 TTCAGGCGCC CGCGTTTCTC CGCGCAAGCT TTAATCGACC GAGGTGGTCC GCTTGCCGAT
2881 GTTCATGCAA AGATAAAGAG TCGGGTATAT GAACAATGCC TTCAAGCTTG TGAACCTGGT
2941 AGTCGTGCGA CCCCAGCCAC CAAGAAGTGG CTCGACAAAA TGTGGGACAG GGTGGACATG
3001 AAAACTTGGC GCTGCACCTC GCAGTTCCAA GCTGGTCACA TTCTTGAGTC CCTCAAATTC
3061 CTCCCTGACA TGATTCAAGA CACACCGCCT CCTGTTCCCA GGAAGAACCG AGCTGGTGAC
3121 AGTGCCGGCC TGAAGCAACT GGTGGCGCAG TGGGATAGGA AATTGAGTGT GACACCCCCC
3181 ACAAAACCGG TTGGACCGGT GCTTGACCAG ACCGTCCCTC TGCCTATGGA CATCCAGCAA
3241 GAAGATGCCA TCTCCGCTGA CAAGCCACCC CATTCGCAAA ACCCTTCTAG TCAAGTAGAT
3301 GTGGGTGGAG GTTGGAAAAG TTTTATGCTC TCCGGCACCC GTTTCGCGGG GTCCGTTAGT
3361 CAGCGCCTTA CGACATGGGT TTTTGAGGTT CTCTCCCATC TCCCAGCTTT TATGCTCACA
3421 CTTTTCTCGC CACGGGGCTC TATGGCTCCA GGTGATTGGC TGTTTGCAGG TGCTGTTCTA
3481 CTTGCTCTCC TGCTCTGCCG TTCTTACCCA ATACTCGGAT GCCTTCCCTT ATTGGGTGTC
3541 TTTTCTGGTT CTGTGCGGTG TGTTCGTTTG GGTGTTTTTG GTTCTTGGAT GGCTTTTGCT
3601 GTATTTTTAT TCTCGACTCC ACCCGACCCA GTCGGTTCTT CTTGTGACCA CGATTCGCCG
3661 GAGTGTCATG CTGAGCTTTT GGCTCTTGAG CAGCGCCAAC TTTGGGAACC TGTGCGCAGC
3721 CTTGTGGTCG GGCCATCGGG CCTCTTATGC GTCATTCTTG GCAAGTTACT CGGTGGGTCA
3781 CGTTGTCTCT GGTTTGTTCT CCTACGTATA TGCATGCTCG CAGATTTGGC AATTTCTCTT
3841 ATTTATGTGG TGTCCCAAGG GCGTTGTCAC AAGTGTTGGG GAAAGTGTAT AAGGACGGCT
3901 CCTGCAGAAG TGACCCTTAA TGTGTTTCCT TTTTCGCGCG CCACCCGCTC ATCTCTTGTG
3961 TCCTTGTGTG ATCGGTTCCA AGCGCCAAAA GGAGTTGACC CCGTGCACTT GGCGACAGGC
4021 TGGCGCGGGT GCTGGTGTGG TGAGAGCCCT ATTCATCAAT CACACCAAAA ACCGATAGCT
4081 TATGCCAACT TGGATGAAAA GAAGATATCC GCCCAGACGG TGATTGCTGT CCCGTATGAT
4141 CCCAGTCAGG CCATTAAATG CCTGAAAGTT TTGCAGGCAG GAGGGGCTAT TGTGGACCAG
4201 CCTACGCCCG AGGTCGTCCG TGTGTCTGAG ATTCCCTTCT CGGCCCCATT TTTTCCGAAG
4261 GTCCCAGTCA ACCCAGATTG CAGGGTTGTG GTAGATTCGG ACACTTTTGT GGCTGCGGTC
4321 CGCTGCGGTT ATTCGACAGC ACAACTGGTC CTTGGTCGGG GCAACTTTGC CAAGCTAAAT
4381 CAGACCCCCC TCAGGAACTC TGTCCCCACC AAAACAACTG GTGGGGCCTC ATACACCCTT
4441 GCCGTGGCCC AGGTATCTGT GTGGACTCTT GTTCATTTCA TCCTCGGCCT TTGGTTAACG
4501 TCACCTCAAG TGTGTGGTCG AGGGACCTCT GACCCGTGGT GTTCGAACCC TTTTTCGTAT
4561 CCTACTTATG GCCCCGGAGT TGTGTGTTCC TCTCGACTCT GCGTGTCTGC CGACGGAGTT
4621 ACCCTGCCAT TGTTCTCAGC CGTTGCCCAT CTTTCCGGTA GAGAGGTGGG GATTTTTATT
4681 TTGGTGCTTG CCTCCTTGGG CGCTTTAGCC CACCGCTTGG CTCTTAAGGC AGACATGTCA
4741 ATGGTCTTTT TGGCGTTTTG TGCTTACGCC TGGCCCATGA GCTCCTGGTT AATTTGCTTC
4801 TTTCCTATGC TCTTGAGGTG GGTAACCCTT CATCCTCTCA CTATGCTTTG GGTGCACTCA
4861 TTTTTGGTGT TTTGCCTACC AGCTGCCGGC GTTCTCTCGC TGGGAATAAC CGGTCTTCTT
4921 TGGGCAGTTG GCCGTTTCAC CCAGGTTGCC GGAATTATCA CACCTTATGA CATCCACCAG
4981 TATACCTCCG GACCACGTGG TGCAGCTGCT GTAGCAACGG CTCCAGAAGG TACTTACATG
5041 GCGGCCGTTC GGAGAGCCGC TTTGACTGGA CGGACTTTGA TCTTCACACC ATCTGCAGTC
5101 GGATCCCTTC TTGAAGGTGC TTTCAGAACT CAAAAGCCCT GCCTTAACAC CGTGAATGTC
5161 GTAGGCTCTT CCCTTGGTTC TGGAGGAGTT TTCACCATTG ATGGCAGAAG AGTCATCGTC
5221 ACTGCCACCC ATGTGTTGAA TGGTAACACA GCCAGGGTCA CTGGTGATTC CTACAACCGC
5281 ATGCACACGT TCAATACTAA TGGTGATTAT GCCTGGTCCC ATGCTGATGA CTGGCAAGGC
5341 GTTGCCCCTA TGGTTAAGAT CGCTAAGGGG TATCGCGGTC GTGCCTACTG GCAAACGTCA
5401 ACCGGAGTCG AACCTGGCAT CATGGGGGAA GGATTCGCCT TCTGTTTCAC TAACTGTGGC
5461 GACTCAGGGT CACCTGTCAT TTCAGAAGCT GGTGACCTTA TTGGAGTCCA TACCGGTTCA
5521 AACAAACTCG GTTCTGGTCT TGTGACAACC CCTGAAGGGG AGACCTGCTC CATCAAGGAA
5581 ACTAGGCTCT CTGACCTTTC TAGACATTTT GCAGGTCCAA GCGTCCCTCT TGGGGACATT
5641 AAGTTGAGCC CAGCCATCAT CCCTGATGTG ACAACTATTC CGAGTGACTT GGCATCGCTC
5701 CTTGCTTCTG TCCCCGTGAT GGAAGGTGGC CTCTCAACTG TCCAGCTTTT GTGCGTCTTT
5761 TTCCTTCTCT GGCGCATGAT GGGCCATGCC TGGACACCCA TTGTTGCCGT AGGCTTCTTT
5821 TTGCTGAATG AAATTCTCCC AGCAGTCTTG GTCCGAGCTG TGTTCTCTTT TGCACTCTTT
5881 GTACTTGCAT GGGCCACCCC CTGGTCGGCA CAAGTGTTGA TGATTAGACT CCTCACGGCG
5941 GCTCTCAACC GCAACAGGTT GTCCCTGGCG TTCTACGCAC TCGGAGGTGT CGTTGGCCTG
```

6001 GCCACAGAAA TCGGGACTTT TGCTGGTGGA TGGCCTGAAC TGTCCCAAGC CCTCTCGACA
6061 TACTGCTTCC TGCCCAGGTT CCTTGCTGTG ACTAGTTATG TCCCCACCAT CATCATCGGT
6121 GGGCTCCATG CCCTCGGCGT AATTTTGTGG TTATTCAAAT ACCGATGCCT CCACAACATG
6181 CTGGTTGGTG ATGGGAGTTT CTCAAGCGCT TTCTTCCTAC GGTATTTTGC TGAGGGTAAT
6241 CTTAGGAAAG GCGTGTCGCA GTCCTGTGGC ATGAATAACG AATCCCTGAC AGCTGCTTTG
6301 GCTTGCAAGT TGTCGCAAGC TGACCTTGAT TTTTTGTCCA GTTTAACGAA CTTCAAGTGC
6361 TTTGTGTCCG CTTCAAACAT GAAAAATGCA GCTGGCCAAT ACATCGAGGC GGCGTATGCT
6421 AGAGCTCTGC GTCAGGAGCT GGCCTCCTTG GTTCAGGTTG ACAAGATGAA AGGAGTATTG
6481 GCCAAGCTCG AGGCTTTCGC TGAGACGGCC ACTCCGTCAC TTGACACAGG TGACGTGATT
6541 GTTCTGCTTG GGCAACACCC CCATGGATCC ATCCTCGACA TTAATGTGGG GGGTGAAAGG
6601 AAAACTGTGT CTGTGCAAGA AACACGATGC CTGGGTGGTT CCAAATTCAG TGTCTGCACT
6661 GTCGTGTCCA ACACGCCCGT GGATACCTTG ACCGGCATCC CACTTCAGAC GCCAACCCCA
6721 CTTTTTGAAA ATGGCCCGCG CCATCGCAGC GAGGACGACG ACCTTAAAGT TGAGAGAATG
6781 AAAAAACACT GTGTATCCCT CGGCTTCCAC AAAATCAATG GTAAAGTTTA CTGCAAAATT
6841 TGGGACAAGT CTAACGGCGA CACCTTTTAC ACGGATGATT CCCGATACAC TCAAGACCAT
6901 GCTTTTCAGG ACAGGTCAAC CGACTATAGA GACAGGGATT ATGAAGGTGT ACAGACCGCC
6961 CCCCAACAGG GATTCGATCC AAAGTCCGAA GCCCCTGTTG GCACTGTTGT AATCGGTGGC
7021 ATTACGTATA ACAGGCATCT GGTCAAAGGT AAGGAGGTCC TAGTTCCCAA ACCTGACAAC
7081 TGCCTTGAAG CTGCCAGACT GTCCCTTGAG CAAGCTCTTG CTGGGATGGG CCAAACTTGT
7141 GACCTTACAG CTACCGAAGT GGAGAAACTA AAGCGCATCA TTAGTCAACT CCAAGGTCTG
7201 ACCACTGAAC AGGCTTTAAA CTGCTAGCCG CCAGCGGCTT GACCCGCTGT GGCCGCGGCG

SEQ ID NO: 28 Нуклеотидная последовательность, кодирующая ОРС 1b родительского PRRSV 94881

7209 AC AGGCTTTAAA CTGCTAGCCG CCAGCGGCTT GACCCGCTGT GGCCGCGGCG
7261 GCCTAGTTGT AACTGAAACG GCGGTAAAAA TCGTAAAATA CCACAGCAGA ACTTTCACCT
7321 TAGGCTCTTT AGACCTAAAA GTCACCTCCG AGGTGGAGGT GAAGAAATCA ACTGAGCAGG
7381 GGCACGCTGT CGTGGCGAAC TTATGTTCCG GTGTCGTCTT GATGAGGCCT CACCCACCGT
7441 CCCTTGTTGA CGTTCTCCTC AAACCCGGAC TTGACACAAC ACCCGGCATT CAACCAGGGC
7501 ATGGGGCCGG GAATATGGGC GTGAACGGTT CTATTTGGGA TTTTGAAACT GCACCCACAA
7561 AGGTAGAACT AGAGTTGTCC AAGCAAATAA TCCAAGCATG TGAAGTCAGG CGCGGGGACG
7621 CCCCTAACCT CCAACTCCCC TACAAGCTTT ATCCTGTCAG GGGGGACCCC GAGCGGCGTA
7681 AAGGTCGCCT TGTCAACACT AGGTTTGGAG ATTTACCTTA CAAAACTCCC CAAGACACCA
7741 AGTCCGCAAT TCATGCGGCT TGTTGCCTGC ATCCCAATGG GGTCCTCGTG TCTGATGGTA
7801 AATCCACGCT GGGTACCACT CTTCAACATG GTTTCGAGCT TTATGTCCCC ACTGTACCTT
7861 ATAGTGTCAT GGAATACCTT GATTCACGCC CTGACACCCC TTTTATGTGT ACTAAACATG
7921 GCACTTCCAA GGCTGCTGCA GAGGACCTCC AAAAATATGA CCTATCCACT CAAGGGTTTG
7981 TCTTGCCTGG GGTCCTACGC CTAGTGCGCA GGTTCATCTT TAGCCATGTT GGTAAGGCGC
8041 CACCACTGTT CCTTCCATCA ACCTACCCTG CCAAGAACTC CATGGCAGGG GTCAATGGCC
8101 AGAGGTTCCC AACAAAGGAT GTCCAGAGCA TACCTGAAAT TGATGAAATG TGCGCCCGTG
8161 CCGTCAAGGA AAATTGGCAG ACTGTGACAC CTTGCACCCT CAAAAAACAG TACTGTTCCA
8221 AACCTAAAAC TAGAACCATC CTAGGTACCA ACAACTTCAT AGCCTTGGCT CACAGGTCAG
8281 CACTCAGTGG TGTCACCCAG GCGTTCATGA AGAAGGCCTG GAAGTCCCCA ATTGCCTTGG
8341 GGAAAAACAA GTTTAAGGAA TTGCATTGCA CTGTCGCCGG CAGATGCCTT GAGGCTGACC
8401 TGGCTTCCTG CGATCGCAGC ACCCCCGCCA TTGTGAGGTG GTTTGTTGCC AACCTCCTGT
8461 ATGAACTTGC AGGATGTGAA GAGTACTTGC CTAGCTACGT GCTCAACTGT TGCCATGACC
8521 TTGTGGCAAC GCAGGATGGC GCTTTCACAA AACGCGGTGG CCTGTCGTCC GGGGACCCCG
8581 TCACCAGTGT GTCCAACACC GTCTACTCAC TGATAATTTA CGCCCAGCAC ATGGTGCTTT
8641 CGGCCTTGAA GATGGGTCAT GAAATTGGTC TCAAGTTCCT TGAGGAACAG CTCAAATTTG
8701 AGGACCTTCT TGAAATCCAG CCCATGTTAG TGTATTCTGA TGACCTCGTC TTGTATGCGG
8761 AAAGACCCAC TTTTCCCAAC TACCATTGGT GGGTCGAGCA TCTTGACCTG ATGTTGGGCT
8821 TTAAAACGGA CCCAAAGAAA ACTGTCATAA CTGATAAACC CAGTTTTCTC GGCTGCAGAA
8881 TTGAAGCAGG ACGGCAGTTA GTCCCCAATC GCGACCGTAT TCTGGCTGCT CTTGCATATC
8941 ATATGAAGGC GCAGAACGCC TCAGAGTATT ATGCGTCCGC TGCCGCAATT CTGATGGATT
9001 CGTGTGCTTG CATTGACCAT GACCCCGAGT GGTATGAGGA CCTTATCTGC GGCATCGCCC
9061 GGTGTGCTCG CCAGGACGGT TACCGTTTTC CAGGCCCGGC ATTTTTCATG TCCATGTGGG
9121 AGAAGCTGAA AAGTCATAAC GAAGGGAAGA AATGCCGTCA CTGCGGCATC TGCGACGCCA
9181 AAGCCGACTA TGCGTCCGCC TGTGGACTTG ATTTGTGTTT GTTCCATTCA CACTTTCATC
9241 AACACTGCCC AGTCACTCTG AGCTGTGGCC ACCATGCCGG TTCAAAGGAA TGTTCGCAGT
9301 GTCAGTCACC TGTCGGGGCT GGCAAATCCC CCCTTGACGC TGTGCTGAAA CAAATCCCGT
9361 ACAAACCTCC TCGTACCATT ATCATGAAGG TGGACAACAA AACAACGACC CTTGACCCGG
9421 GAAGATATCA GTCCCGTCGA GGTCTTGTTG CAGTCAAAAG AGGTATTGCA GGTAATGAGG
9481 TTGATCTTTC TGATGGAGAC TACCAAGTGG TGCCTCTTTT GCCGACTTGC AAAGACATAA
9541 ACATGGTGAA GGTGGCTTGC AACGTACTAC TCAGCAAGTT TATAGTAGGG CCGCCAGGTT
9601 CCGGAAAAAC CACCTGGCTA CTGAACCAAG TCCAGGACGA TGATGTCATT TACACACCTA

```
 9661 CTCATCAGAC AATGTTTGAC ATAGTCAGTG CTCTTAAAGT TTGCAGGTAT TCCATCCCAG
 9721 GAGCCTCAGG ACTCCCTTTT CCACCACCTG CCAGGTCCGG GCCGTGGGTT AGGCTCATCG
 9781 CCAGCGGACA TGTCCCTGGC CGAGTGTCAT ATCTCGATGA GGCAGGATAT TGCAATCATC
 9841 TAGACATTCT AAGGCTGCTT TCCAAAACAC CCCTTGTGTG TTTGGGTGAC CTTCAGCAAC
 9901 TTCACCCGGT CGGCTTTGAT TCCTATTGTT ATGTGTTCGA TCAGATGCCT CAGAAGCAGC
 9961 TGACCACCAT TTATAGATTT GGCCCTAACA TCTGTGCAGC CATCCAGCCT TGTTACAGGG
10021 AGAAACTTGA ATCCAAGGCC AGGAACACCA GAGTGGTTTT CACCACCCGG CCTGTGGCCT
10081 TTGGTCAGGT CCTGACACCG TACCACAAAG ATCGTACCGG CTCTGCAATA ACTATAGATT
10141 CATCCCAGGG GGCGACCTTC GACATTGTGA CATTGCATCT ACCATCGCCA AAGTCCCTAA
10201 ACAAATCCCG AGCACTTGTA GCCATCACTC GGGCAAGACA TGGGTTGTTC ATTTATGACC
10261 CTCATGACCA ACTCCAGGAG TTTTTCAACT TAACCCCCGA GCGCACTGAT TGTAACCTTG
10321 CGTTCAGCCG TGGGGATGAG CTGGTTGTTT TGAATGTGGA TAATGCGGTC ACAACTGTAG
10381 CGAAGGCCCT AGAGACAGGT TCACCCCGAT TTCGAGTATC GGACCCGAGG TGCAAGTCTC
10441 TCTTAGCCGC TTGTTCGGCC AGTCTAGAAG GGAGCTGCAT GCCACTACCA CAAGTAGCAC
10501 ATAACCTGGG GTTTTACTTT TCCCCGGACA GCCCAGCTTT TGCACCCCTG CCAAAAGAGC
10561 TGGCGCCACA TTGGCCAGTG GTCACCCACC AGAATAATCG AGCGTGGCCT GATCGACTTG
10621 TCGCTAGTAT GCGCCCAATT GATGCCCGCT ACAGCAAGCC AATGGTCGGT GCAGGGTATG
10681 TGGTCGGGCC ATCCATTTTT CTTGGCACTC CTGGTGTGGT GTCATACTAT CTCACATTAT
10741 ACATCGGGGG CGAGCCTCAG GCCCTGCCAG AAACACTCGT TTCAACAGGA CGTATAGCCA
10801 CAGATTGTCG GGAATATCTC GACGCGGCTG AGGAAGAGGC AGCGAGAGAA CTTCCCCACG
10861 CATTTATTGG CGATGTCAAA GGCACTACGG TCGGGGGGTG TCACCACATT ACATCGAAAT
10921 ACCTACCTAG GTCCCTGCCT AAAGACTCTG TTGCTGTGGT TGGGGTGAGT TCGCCCGGTA
10981 GGGCTGCTAA AGCCGTGTGC ACTCTCACCG ATGTGTACCT CCCCGAACTC CGACCATATT
11041 TGCAACCGGA GACGGCATCA AAATGCTGGA AACTTAAACT GGATTTCAGG GATGTTCGAC
11101 TGATGGTCTG GAAAGGCGCC ACAGCCTATT TCCAGTTGGA AGGGCTGACA TGGTCAGCGC
11161 TGCCCGATTA TGCTAGGTTC ATTCAGCTAC CCAAGGATGC CGTTGTGTAC ATCGATCCGT
11221 GTATAGGGCC GGCAACAGCC AATCGCAAGG TTGTGCGAAC CACAGACTGG CGGGCCGACC
11281 TGGCAGTGAC ACCGTATGAT TACGGTGCTC AGGTCATTTT GACAACAGCC TGGTTCGAGG
11341 ACCTTGGGCC GCAGTGGAAG ATTTTGGGGT TGCAGCCTTT CAGACGAACA TTTGGCTTTG
11401 AGAACACTGA AGATTGGGCA ATTCTCGCAC GCCGTATGAA TGACGGCAAA GATTACACTG
11461 ACTATAATTG GCATTGTGTA CGAGAACGCC CACACGCAAT TTACGGGCGC GCCCGTGACC
11521 ATACGTATCA TTTTGCCCTT GGCACTGAAC TGCAAGTAGA GCTGGGCAGA CCCCGGCTGC
11581 CTCCTGAGCA AGTGCCGTGA
```

SEQ ID NO: 29 Нуклеотидная последовательность, кодирующая ORC 2 родительского PRRSV 94881

```
11611 ATGCAATGGG TTCACTGTGG AGTAAAATCA
11641 GTCAGTTGTT CGTGGATGCC TTCACTGAGT TCCTTGTTAG TGTGGTTGAC ATTGTCATCT
11701 TTCTCGCCAT ATTGTTTGGG TTCACTGTTG CAGGCTGGTT ATTGGTCTTC CTTCTCAGAG
11761 TGGTTTGCTC CGCGTTTCTC CGTTCGCGCT CTGCCATTCA CTCTCCCGAA CTATCGAAGG
11821 TCCTATGAGG GCTTGCTACC CAACTGCAGA CCGGATGTCC CACAATTCGC AGTTAAGCAC
11881 CCGTTGGGTA TACTTTGGCA TATGCGAGTC TCCCACCTAA TTGACGAAAT GGTCTCTCGC
11941 CGCATTTACC GGACCATGGA ACATTCGGGT CAAGCGGCCT GGAAGCAGGT TGTTAGTGAA
12001 GCCACTCTCA CAAAACTGTC AAGGCTTGAC GTAGTCACTC ATTTCCAACA CCTGGCCGCA
12061 GTGGAGGCTG ATTCTTGCCG CTTCCTTAGC TCACGACTCG CGATGCTGAA AAACCTTGCC
12121 GTTGGCAATG TGAGCCTGGA GTACAACACT ACTTTGGACC GCGTTGAGCT CATCTTTCCC
12181 ACACCAGGTA CGAGGCCCAA GTTGACCGAT TTTAGGCAAT GGCTTATCAG CGTGCACGCT
12241 TCCATCTTCT CCTCTGTGGC TTCGTCTGTT ACCTTGTTCA CAGTGCTTTG GCTTCGAATT
12301 CCAGCTCTAC GCTATGTTTT TGGTTTCCAT TGGCCCACGG CAACACATCA TTCGAACTAA
```

SEQ ID NO: 30 Нуклеотидная последовательность, кодирующая ORC 3 родительского PRRSV 94881

```
12219          AT GGCTTATCAG CGTGCACGCT
12241 TCCATCTTCT CCTCTGTGGC TTCGTCTGTT ACCTTGTTCA CAGTGCTTTG GCTTCGAATT
12301 CCAGCTCTAC GCTATGTTTT TGGTTTCCAT TGGCCCACGG CAACACATCA TTCGAACTAA
12361 CTATCAATTA CACTATATGT AAGCCATGCC CTACCAGTCA AGCTGCCCAA CAAAGACTCG
12421 AGCCTGGCCG TAACGTGTGG TGCAAAATAG GGCACGACAG GTGTGAGGAA CGTGACCATG
12481 ATGAGTTGTC AATGTCCATT CCGTCCGGGT ACGACAACCT CAAACTTGAG GGTTATTATG
12541 CTTGGCTGGC TTTTTTGTCC TTTTCCTACG CGGCCCAATT CCATCCGGAG CTGTTCGGAA
12601 TAGGAAACGT GTCGCGCGTC TTTGTGGATA AGCGACACCA GTTCATTTGC GCCGAGCATG
12661 ATGGACAAAA TTCAACCATA TCTGCCAGAC ACAACATCTC CGCGTCGTAT GCGGTGTATT
12721 ACCATCATCA AATAGACGGG GGCAATTGGT TTCATTTGGA ATGGCTGCGA CCATTCTTTT
12781 CCTCCTGGCT GGTGCTCAAC ATCTCATGGT TTCTGAGGCG TTCGCCTGCA AGCCCTGCTT
12841 CTCGACGCAT CTATCAGATA TTAAGACCAA CACGACCGCG GCTGCCGGTT TCATGGTCCT
12901 TCAGAACATC AATTGTTTCC AATCTCACAG GGCCTCAACA GCGCAAGGTA CCACTCCCCT
12961 CAGGAGGTCG TCCCAATGTC GTGAAGCCGT CGGCATTCCC CAGTACATCA CGATAA
```

SEQ ID NO: 31 Нуклеотидная последовательность, кодирующая ORC 4 родительского PRRSV 94881

```
12761 ATGGCTGCGA CCATTCTTTT
12781 CCTCCTGGCT GGTGCTCAAC ATCTCATGGT TTCTGAGGCG TTCGCCTGCA AGCCCTGCTT
12841 CTCGACGCAT CTATCAGATA TTAAGACCAA CACGACCGCG GCTGCCGGTT TCATGGTCCT
12901 TCAGAACATC AATTGTTTCC AATCTCACAG GGCCTCAACA GCGCAAGGTA CCACTCCCCT
12961 CAGGAGGTCG TCCCAATGTC GTGAAGCCGT CGGCATTCCC CAGTACATCA CGATAACGGC
13021 TAATGTGACC GATGAATCGT ATTTGTACAA CGCGGACTTG CTGATGCTTT CCGCGTGCCT
13081 TTTCTACGCC TCGGAAATGA GCGAGAAAGG CTTCAAAGTC ATCTTTGGGA ATATTTCTGG
13141 CGTTGTTTCC GCTTGTGTTA ATTTCACAGA TTATGTGGCC CATGTGACCC AACACACTCA
13201 GCAGCACCAT TTGGTAATTG ATCACATTCG GTTACTACAC TTCTTGACAC CGTCTACGAT
13261 GAGGTGGGCT ACAACCATTG CTTGTTTGTT TGCCATTCTT TTGGCGGTAT GA
```

SEQ ID NO: 32 Нуклеотидная последовательность, кодирующая ОРС 5 родительского PRRSV 94881

```
13309 AT GAAATGTTCT
13321 TGCAAGTTGG GGCATTTCTT GACTCCTCAC TCTTGCTTCT GGTGGCTTTT TTTGCTGTGT
13381 ACCGGCTTGT CTTGGTCCTT TGTCGATGGC AACGACAACA GCTCGACATC CCAATACATA
13441 TATAATTTGA CGATATGCGA GCTGAATGGG ACCGAATGGT TGTCCGGTCA TTTTGATTGG
13501 GCAGTCGAAA CCTTTGTGCT TTACCCAGTT GCCACTCATA TCATTTCACT GGGTTTTCTC
13561 ACAACAAGCC ATTTCCTTGA TGCGCTCGGT CTCGGCGCTG TGTCCGCCAC AGGATTCATT
13621 GGCGAGCGGT ATGTACTTAG CAGCATGTAC GGCGTTTGCG CCTTCGCGGC GCTCGTATGT
13681 TTTGTCATCC GTGCTGCTAA AAATTGCATG GCTTGCCGCT ATGCCCGCAC CCGGTTTACC
13741 AACTTCATCG TGGACGACCG GGGAAGAATC CATCGATGGA AGTCTTCAAT AGTGGTGGAG
13801 AAATTGGGCA AAGCTGAAGT CGGTGGTGAC CTTGTCAACA TTAAGCATGT TGTCCTCGAA
13861 GGGGTTAAAG CTCAACCCTT GACGAGGACT TCGGCTGAGC AATGGGAAGC CTAG
```

SEQ ID NO: 33 Нуклеотидная последовательность, кодирующая ОРС 6 родительского PRRSV 94881

```
13902  ATGGGAAGC CTAGACGACT
13921 TTTGCAACGA TCCCACCGCC GCACAAAAAC TCGTGCTGGC CTTTAGCATC ACATATACAC
13981 CCATAATGAT ATACGCCCTT AAGGTGTCAC GCGGCCGACT CCTGGGGCTG TTGCACATCT
14041 TGATATTTCT GAATTGTTCC TTTACTTTTG GGTACATGAC ATATGTGCAT TTTCAATCCA
14101 CCAACCGTGT CGCACTCACT CTGGGGGCTG TAGTCGCCCT TTTGTGGGGT GTTTACAGCC
14161 TCACAGAGTC ATGGAAGTTC ATCACTTCCA GATGCAGATT GTGTTGCCTA GGCCGGCGAT
14221 ACATTCTGGC CCCTGCCCAT CACGTAGAAA GTGCTGCAGG CCTCCATTCA ATCCCAGCGT
14281 CTGGTAACCG AGCATACGCT GTGAGAAAGC CCGGACTAAC ATCAGTGAAC GGCACTCTAG
14341 TACCTGGGCT TCGGAGCCTC GTGCTGGGCG GCAAACGAGC TGTTAAACGA GGAGTGGTTA
14401 ACCTCGTCAA GTATGGCCGG TAA
```

SEQ ID NO: 34 Нуклеотидная последовательность, кодирующая ОРС 7 родительского PRRSV 94881

```
14413   ATGGCCGG TAAGAACCAG AGCCAGAAGA AAAGAAGAAA TGCAGCTCCG
14461 ATGGGGAAAG GCCAGCCAGT CAATCAACTG TGCCAGTTGC TGGGTACAAT GATAAAGTCC
14521 CAGCGCCAGC AATCTAGGGG AGGACAGGCC AAAAAGAAGA AGCCTGAGAA GCCACATTTT
14581 CCCCTAGCTG CTGAAGATGA CATTCGGCAC CATCTCACCC AGGCCGAACG TTCCCTCTGC
14641 TTGCAATCGA TCCAGACGGC TTTCAATCAA GGCGCAGGAA CTGCGTCGCT TTCATCCAGC
14701 GGGAAGGTCA GTTTCCAGGT TGAGTTCATG CTGCCGGTTG CTCATACAGT GCGCCTGATT
14761 CGCGTGACTT CTACATCCGC CAGTCAGGGT GCAAATTAA
```

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> Бёрингер Ингельхайм Ветмедика ГмбХ

<120> Вирулентный и ослабленный штаммы вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней (PRRSV) европейского типа

<130> 10-0137

<140> US 13/396,298
<141> 2012-02-14

<160> 34

<170> PatentIn, версия 3.5

<210> 1
<211> 14843
<212> ДНК
<213> Вирус репродуктивно-респираторного синдрома свиней

<400> 1
tttgtgtacc ttggaggcgt gggtacagcc ctgccccacc ctttggtccc tgttctagcc 60

cgacaagtac ccttctctct cggggcgagc gcgccgcctg ctgctccctt gcggcgggaa 120

ggacctcccg agtatttccg gagagcacct gctttacggg atctccgccc tttaaccatg 180

tctgggatgt tctcccggtg catgtgcacc ccggctgccc gggtattttg gaacgccggc 240

caagtctatt gcacacggtg tctcagtgca cggtctcttc tctctccaga acttcaggac 300

acggacctcg gtgcagttgg cttgtttcac aagcctaaag acaagctcca ttggaaagtt 360

cccattggta tcccccaggt ggaatgttct ccatctgggt gttgctggct gtcaaccatt 420

tttcctttag cgcgcatgac ctccggcaat cacaacttcc ttcaacgact cgtgaaggtt 480

gctgatgtat tgtaccgtga cggttgctta acccctagac acctccgtga actccaagtt 540

tacgagcgtg gttgcaattg gtatccgatt acggggcctg tgcctgggat ggctgtgtac 600

gcgaactcca tgcacgtgtc cgaccaaccg ttccctggtg ccactcatgt gttaacaaat 660

tcccctttgc ctcaacgggc ttgtcggcag ccgttctgtc cgttcgaaga ggcccattct 720

agcatataca ggtgggaaaa atttgtaatt tttatggatt cctcctccga cggtcgatct 780

cgcatgatgt ggactccgga atccgatgac tccacggctt tggaagttct gccgcccgag 840

ctagaacacc aggtcaaggt ccttgttcgg agctttcccg cccatcacct tgtcgacctt 900

gccgattggg agctcactga gtcccctgat aacggttttt ccttcagcac gtcacatcct 960

tgcggctacc ttgttcggga cccggctgta tccgaaggca agtgttggct ttcctgcttt 1020

ttgagccagt cagccgaagt gctcagtcgc gaggcgcatc tggctaccgc ctatggttac 1080

caaaccaagt ggggtgtgcc tggcaagtac atccagcgca gacttcaagt tcacggtctc 1140

cgtgctgtgg tcgaccctga tggtcccatt cacgttgaag cattgtcttg cccccagtct 1200

tggatcaggc acttgaccct gaatgatgat gtcaccccgg gattcgttcg cctaatgtct 1260

cttcgcattg tgccgaacac agagcctacc acacaccgga tctttcgttt tggagtgcac 1320

aagtggtatg gtgccgccgg caaacgggcc cgtggcaagc gtgccgccaa aagtgagaaa 1380

gactcggctt ccaccctcaa ggttgcccga ccgacttcca ccagtggaat cgtcacctac 1440

tccccacctg cggacgggtc ttgtggttgg catgcccttg ccgccatact gaaccggatg 1500

attaataatg acttcacgtc ccctctgcct cggtacaaca ggccggagga cgattgggct 1560

tctgatggtg accttgctca ggccattcaa tgtttgcaac tacctgccgc catagctcgg 1620

aaccgcgcct gccctaacgc caaatacctc ataaaactca acggagttca ttgggaggta 1680

gaggtgaggc ctggaatggc tcctcgctcc ctctctcgtg agtgcgttgt tggcgtctgc 1740

tctgaaggct gtgtcgcgtc gccttacccg gaggacgggt tgcctaaacg tgcacttgag 1800

gccctggcgt ctgcttatag actgccttca gactgtgttt gtgatggtat tattgacttc 1860

cttgccaatc cacctcccca ggagttctgg actcttgaca aaatgttgac ttccccgtca 1920

ccggagcagt ccggcttctc tagtctgtat aaattgttgt tagagatctt gccgcagaaa 1980

tgcggatcca cagaagggga attcatctat actgttgaga ggatgttgaa ggattgtccg 2040

agctccaaac aggccatggc cctccttgca aaaattaagg tcccatcctc aaaggcccca 2100

tccgtgactc tgaacgagtg cttccccacg gatgttccag tcaactctga gttaatatct 2160

tgggaagagc ccaaagaccc tggcgctgct gttgtcctat gtccatcgga tgcaaaagaa 2220

tctaaggaaa cagcccctga agaagctcaa gcgagaaacc gtaaggtcct tcaccctgtg 2280

gtccttaccg aggaacttag cgagcaacag gtgcaggtgg ttgagggtga tcaggatatg 2340

ccactggatt tgacttggcc aaccttaacc gctacggcga cccctgttag agggccggta 2400

ccggacaatt tgagctctgg cattggtgcc cagcccgcta ccgttcaaga actcattctg 2460

gcgaggcctg caccccgtct tgttgagcgc tgtggcacgg agtcgaacgg cagcagttca 2520

tttctggatt tgcctgacgt gcagacctcg gaccagcctt tagacctgtc cctggccgcg 2580

tggcctgtaa gggctaccgc gtctgacccc ggttggatcc acggtaggcg tgagcctgtc 2640

tttgtgaagc ctcgaggtgt tttctctgat ggcgagtcgg cccttcagtt cggagagctt 2700

tccgaagcca gttctgtcgt cgatgaccgg acaaaagaag ctccggtggt tgacgccccc 2760

atcgatttga caacttcgaa cgagacgctc tctgggtctg acccctttga attcgccaaa 2820

ttcaggcgcc cgcgtttctc cgcgcaagct ttaatcgacc gaggtggtcc gcttgccgat 2880

gttcatgcaa agataaagag tcgggtatat gaacaatgcc ttcaagcttg tgaacctggt 2940

agtcgtgcga ccccagccac caagaagtgg ctcgacaaaa tgtgggacag ggtggacatg 3000

aaaacttggc gctgcacctc gcagttccaa gctggtcaca ttcttgagtc cctcaaattc 3060

ctccctgaca tgattcaaga cacaccgcct cctgttccca ggaagaaccg agctggtgac 3120

agtgccggcc tgaagcaact ggtggcgcag tgggatagga aatcgagtgt gacacccccc 3180

acaaaaccgg ttggaccggt gcttgaccag gccgtccctc tgcctatgga catccagcaa 3240

ggagatgcca tctccgctga caagccaccc cattcgcaaa acccttctag tcaagtagat 3300

gtgggtggag gttggaaaag ttttatgctc tccggcaccc gtttcgcggg gtccgttagt 3360

cagcgcctta cgacatgggt ttttgaggtt ctctcccatc tcccagcttt tatgctcaca 3420

cttttctcgc cacggggctc tatggctcca ggtgattggc tgtttgcagg tgctgttcta 3480

cttgctctcc tgctctgccg ttcttaccca atactcggat gccttccctt attgggtgtc 3540

ttttctggtt ctgtgcggtg tgttcgtttg ggtgtttttg gttcttggat ggcttttgct 3600

gtatttttat tctcgactcc acccgaccca gtcggttctt cttgtgacca cgattcgccg 3660

gagtgtcatg ctgagctttt ggctcttgag cagcgccaac tttgggaacc tgtgcgcagc 3720

cttgtggtcg ggccatcggg cctcttatgc gtcattcttg gcaagttact cggtgggtca 3780

cgttgtctct ggtttgttct cctacgtata tgcatgctcg cagatttggc aatttctctt 3840

atttatgtgg tgtcccaagg gcgttgtcac aagtgttggg gaaagtgtat aaggacggct 3900

cctgcagaag tggcccttaa tgtgtttcct ttttcgcgcg ccacccgctc atctcttgtg 3960

tccttgtgtg atcggttcca agcgccaaaa ggagttgacc ccgtgcactt ggcgacaggc 4020

tggcgcgggt gctggtgtgg tgagagccct attcatcaat cacaccaaaa accgatagct 4080

tatgccaact tggatgaaaa gaagatatcc gcccagacgg tgattgctgt cccgtatgat 4140

cctagtcagg ccattaaatg cctgaaagtt ttgcaggcag gaggggctat tgtggaccag 4200

cctacgcccg aggtcgtccg tgtgtctgag attcccttct cggccccatt ttttccgaag 4260

gtcccagtca acccagactg cagggttgtg gtagattcgg acacttttgt ggctgcggtc 4320

cgctgcggtt attcgacagc acaactggtc cttggtcggg gcaactttgc caagctaaat 4380

cagacccccc tcaggaactc tgtccccacc aaaacaactg gtggggcctc atacaccctt 4440

gccgtggccc aggtatctgt gtggactctt gttcatttca tcctcggcct ttggttaacg 4500

tcacctcaag tgtgtggtcg agggacctct gacccgtggt gttcgaaccc tttttcgtat 4560

cctacttatg gccccggagt tgtgtgttcc tctcgactct gcgtgtctgc cgacggagtt 4620

accctgccat tgttctcagc cgttgcccat ctttccggta gagaggtggg gatttttatt 4680

ttggtgcttg cctccttggg cgctttagcc caccgcttgg ctcttaaggc agacatgtca 4740

atggtctttt tggcgttttg tgcttacgcc tggcccatga gctcctggtt aatttgcttc 4800

tttcctatgc tcttgaggtg ggtaaccctt catcctctca ctatgctttg ggtgcactca 4860

tttttggtgt tttgcctacc agctgccggc gttctctcgc tgggaataac cggtcttctt 4920

tgggcagttg gccgtttcac ccaggttgcc ggaattatca caccttatga catccaccag 4980

tatacctccg gaccacgtgg tgcagctgct gtagcaacgg ctccagaagg tacttacatg 5040

gcggccgttc ggagagccgc tttgactgga cggactttga tcttcacacc atctgcagtc 5100

ggatcccttc ttgaaggtgc tttcagaact caaaagccct gccttaacac cgtgaatgtc 5160

gtaggctctt cccttggttc tggaggagtt ttcaccattg atggcagaag agtcatcgtc 5220

actgccaccc atgtgttgaa tggtaacaca gccagggtca ctggtgattc ctacaaccgc 5280

atgcacacgt tcaatactaa tggtgattat gcctggtccc atgctgatga ctggcaaggc 5340

gttgccccta tggttaagat cgctaagggg tatcgcggtc gtgcctactg gcaaacgtca 5400

accggagtcg aacctggcat catgggggaa ggattcgcct tctgtttcac taactgtggc 5460

gactcagggt cacctgtcat ttcagaagct ggtgacctta ttggagtcca taccggttca 5520

aacaaactcg gttctggtct tgtgacaacc cctgaagggg agacctgctc catcaaggaa 5580

actaggctct ctgacctttc tagacatttt gcaggtccaa gcgtccctct tggggacatt 5640

aagttgagcc cagccatcat ccctgatgtg acaactattc cgagtgactt ggcatcgctc 5700

cttgcttctg tccccgtgat ggaaggtggc ctctcaactg tccagctttt gtgcgtcttt 5760

ttccttctct ggcgcatgat gggccatgcc tggacaccca ttgttgccgt aggcttcttt 5820

ttgctgaatg aaattctccc agcagtcttg gtccgagctg tgttctcttt tgcactcttt 5880

gtacttgcat gggccacccc ctggtcggca caagtgttga tgattagact cctcacggcg 5940

gctctcaacc gcaacaggtt gtccctggcg ttctacgcat tcggaggtgt cgttggcctg 6000

gccacagaaa tcgggacttt tgctggtgga tggcctgaac tgtcccaagc cctctcgaca 6060

tactgcttcc tgcccaggtt ccttgctgtg actagttatg tccccaccat catcatcggt 6120

gggctccatg ccctcggcgt aattttgtgg ttattcaaat accgatgcct ccacaacatg 6180

ctggttggtg atgggagttt ctcaagcgct ttcttcctac ggtattttgc tgagggtaat 6240

cttaggaaag gcgtgtcgca gtcctgtggc atgaataacg aatccctgac agctgctttg 6300

gcttgcaagt tgtcgcaagc tgaccttgat tttttgtcca gtttaacgaa cttcaagtgc 6360

tttgtgtccg cttcaaacat gaaaaatgca gctggccaat acatcgaggc ggcgtatgct 6420

agagctctgc gtcaggagct ggcctccttg gttcaggttg acaagatgaa aggagtattg 6480

gccaagctcg aggctttcgc tgagacggcc actccgtcac ttgacacagg ggacgtgatt 6540

gttctgcttg ggcaacaccc ccatggatcc atcctcgaca ttaatgtggg gggtgaaagg 6600

aaaactgtgt ctgtgcaaga aacacgatgc ctgggtggtt ccaaattcag tgtctgcact 6660

gtcgtgtcca acacgcccgt ggataccttg accggtatcc cacttcagac gccaacccca 6720

ctttttgaaa atggcccgcg ccatcgcagc gaggacgacg acctcaaagt tgagagaatg 6780

aaaaaacact gtgtatccct cggcttccac aaaatcaatg gtaaagttta ctgcaaaatt 6840

tgggacaagt ctaacggcga cacctttac acggatgatt cccgatacac tcaagaccat 6900

gcttttcagg acaggtcaac cgactataga gacagggatt atgaaggtgt acagaccgcc 6960

ccccaacagg gattcgatcc aaagtccgaa gcccctgttg gcactgttgt aatcggtggc 7020

attacgtata acaggcatct ggtcaaaggt aaggaggtcc tagttcccaa acctgacaac 7080

tgccttgaag ctgccagact gtcccttgag caagctcttg ctgggatggg ccaaacttgt 7140

gaccttacag ctaccgaagt ggagaaacta aagcgcatca ttagtcaact ccaaggtctg 7200

accactgaac aggctttaaa ctgctagccg ccagcggctt gacccgctgt ggccgcggcg 7260

gcctagttgt aactgaaacg gcggtaaaaa tcgtaaaata ccacagcaga actttcacct 7320

taggctcttt agacctaaaa gtcacctccg aggtggaggt gaagaaatca actgagcagg 7380

ggcacgctgt cgtggcgaac ttatgttccg gtgtcgtctt gatgaggcct cacccaccgt 7440

cccttgttga cgttctcctc aaacccggac ttgacacaac acccggcatt caaccagggc 7500

atggggccgg gaatatgggc gtgaacggtt ctatttggga ttttgaaact gcacccacaa 7560

aggtagaact agagttgtcc aagcaaataa tccaagcatg tgaagtcagg cgcggggacg 7620

cccctaacct ccaactcccc tacaagcttt atcctgtcag gggggacccc gagcggcgta 7680

aaggtcgcct tgtcaacact aggtttggag atttacctta caaaactccc caagacacca 7740

agtccgcaat tcatgcggct tgttgcctgc atcccaatgg ggtcctcgtg tctgatggca 7800

aatccacgct gggtaccact cttcaacatg gtttcgagct ttatgtcccc actgtacctt 7860

atagtgtcat ggaatacctt gattcacgcc ctgacacccc ttttatgtgt actaaacatg 7920

gcacttccaa ggctgctgca gaggacctcc aaaaatatga cctatccact caagggtttg 7980

tcttgcctgg ggtcctacgc ctagtgcgca ggttcatctt tagccatgtt ggtaaggcgc 8040

caccactgtt ccttccatca acctaccctg ccaagaactc catggcaggg gtcaatggcc 8100

agaggttccc aacaaaggat gtccagagca tacctgaaat tgatgaaatg tgcgcccgtg 8160

ccgtcaagga aaattggcag actgtgacac cttgcaccct caaaaaacag tactgttcca 8220

aacctaaaac tagaaccatc ctaggtacca acaacttcat agccttggct cacaggtcag 8280

cactcagtgg tgtcacccag gcgttcatga agaaggcctg gaagtcccca attgccttgg 8340

ggaaaaacaa gtttaaggaa ttgcattgca ctgtcgccgg cagatgcctt gaggctgacc 8400

tggcttcctg cgatcgcagc acccccgcca ttgtgaggtg gtttgttgcc aacctcctgt 8460

atgaacttgc aggatgtgaa gagtacttgc ctagctacgt gctcaactgt tgccatgacc 8520

ttgtggcaac gcaggatggc gctttcacaa aacgcggtgg cctgtcgtcc ggggaccccg 8580

tcaccagtgt gtccaacacc gtctactcac tgataattta cgcccagcac atggtgcttt 8640

cggccttgaa gatgggtcat gaaattggtc tcaagttcct tgaggaacag ctcaaatttg 8700

aggaccttct tgaaatccag cccatgttag tgtattctga tgacctcgtc ttgtatgcgg 8760

aaagacccac ttttcccaac taccattggt gggtcgagca tcttgacctg atgttgggct 8820

ttaaaacgga cccaaagaaa actgtcataa ctgataaacc cagttttctc ggctgcagaa 8880

ttgaagcagg acggcagtta gtccccaatc gcgaccgtat tctggctgct cttgcatatc 8940

atatgaaggc gcagaacgcc tcagagtatt atgcgtccgc tgccgcaatt ctgatggatt 9000

cgtgtgcttg cattgaccat gaccccgagt ggtatgagga tcttatctgc ggcatcgccc 9060

ggtgtgctcg ccaggacggt taccgttttc caggcccggc atttttcatg tccatgtggg 9120

agaagctgaa aagtcataat gaagggaaga aatgccgtca ctgcggcatc tgcgacgcca 9180

aagccgacta tgcgtccgcc tgtggacttg atttgtgttt gttccattca cactttcatc 9240

aacactgccc agtcactctg agctgtggcc accatgccgg ttcaaaggaa tgttcgcagt 9300

gtcagtcacc tgtcggggct ggcaaatccc cccttgacgc tgtgctgaaa caaatcccgt 9360

acaaacctcc tcgtaccatt atcatgaagg tggacaacaa aacaacgacc cttgacccgg 9420

gaagatatca gtcccgtcga ggtcttgttg cagtcaaaag aggtattgca ggtaatgagg 9480

ttgatctttc tgatggagac taccaagtgg tgcctctttt gccgacttgc aaagacataa 9540

acatggtgaa ggtggcttgc aacgtactac tcagcaagtt tatagtaggg ccgccaggtt 9600

ccggaaaaac cacctggcta ctgaaccaag tccaggacga tgatgtcatt tacacaccta 9660

ctcatcagac aatgtttgac atagtcagtg ctcttaaagt ttgcaggtat tccatcccag 9720

gagcctcagg actccctttt ccaccacctg ccaggtccgg gccgtgggtt aggctcatcg 9780

ccagcggaca tgtccctggc cgagtgtcat atctcgatga ggcaggatat tgcaatcatc 9840

tagacattct aaggctgctt tccaaaacac cccttgtgtg tttgggtgac cttcagcaac 9900

ttcacccggt cggctttgat tcctattgtt atgtgttcga tcagatgcct cagaagcagc 9960

tgaccaccat ttatagattt ggccctaaca tctgtgcagc catccagcct tgttacaggg 10020

agaaacttga atccaaggcc aggaacacca gagtggtttt caccacccgg cctgtggcct 10080

ttggtcaggt cctgacaccg taccacaaag atcgtaccgg ctctgcaata actatagatt 10140

catcccaggg ggcgaccttc gacattgtga cattgcatct accatcgcca aagtccctaa 10200

acaaatcccg agcacttgta gccatcactc gggcaagaca tgggttgttc atttatgacc 10260

ctcatgacca actccaggag tttttcaact taacccccga gcgcactgat tgtaaccttg 10320

cgttcagccg tggggatgag ctggttgttt tgaatgtgga taatgcggtc acaactgtag 10380

cgaaggccct agagacaggt tcaccccgat ttcgagtatc ggacccgagg tgcaagtctc 10440

tcttagccgc ttgttcggcc agtctagaag ggagctgcat gccactacca caagtagcac 10500

ataacctggg gttttacttt tccccggaca gcccagcttt tgcacccctg ccaaaagagc 10560

tggcgccaca ttggccagtg gtcacccacc agaataatcg agcgtggcct gatcgacttg 10620

tcgctagtat gcgcccaatt gatgcccgct acagcaagcc aatggtcggt gcagggtatg 10680

tggtcgggcc atccattttt cttggcactc ctggtgtggt gtcatactat ctcacattat 10740

acatcggggg cgagcctcag gccctgccag aaacactcgt ttcaacagga cgtatagcca 10800

cagattgtcg ggaatatctc gacgcggctg aggaagaggc agcgagagaa cttccccacg 10860

catttattgg cgatgtcaaa ggcactacga tcgggggggtg tcaccacatt acatcgaaat 10920

acctacctag gtccctgcct aaagactctg ttgctgtggt tggggtgagt tcgcccggta 10980

gggctgctaa agccgtgtgc actctcaccg atgtgtacct ccccgaactc cgaccatatt 11040

tgcaaccgga gacggcatca aaatgctgga aacttaaact ggatttcagg gatgttcgac 11100

tgatggtctg gaaaggcgcc acagcctatt tccagttgga agggctgaca tggtcagcgc 11160

tgcccgatta tgctaggttc attcagctac ccaaggatgc cgttgtgtac atcgatccgt 11220

gtatagggcc ggcaacagcc aatcgcaagg ttgtgcgaac cacagactgg cgggccgacc 11280

tggcagtgac accgtatgat tacggtgctc aggtcatttt gacaacagcc tggttcgagg 11340

accttgggcc gcagtggaag attttggggt tgcagccttt cagacgaaca tttggctttg 11400

agaacactga agattgggca attctcgcac gccgtatgaa tgacggcaaa gattacactg 11460

actataattg gcattgtgta cgagaacgcc cacacgcaat ttacgggcgc gcccgtgacc 11520

atacgtatca ttttgccctt ggcactgaac tgcaagtaga gctgggcaga ccccggctgc 11580

ctcctgagca agtgccgtga acgcggagtg atgcaatggg tttactgtgg agtaaaatca 11640

gtcagttgtt cgtggatgcc ttcactgagt tccttgttag tgtggttgac attgtcatct 11700

ttctcgccat attgtttggg ttcactgttg caggctggtt attggtcttc cttctcagag 11760

tggtttgctc cgcgtttctc cgttcgcgct ctgccattca ctcttccgaa ctatcgaagg 11820

tcctatgagg gcttgctacc caactgcaga ccggatgtcc cacaattcgc agttaagcac 11880

ccgttgggta tactttggca tatgcgagtc tcccacctaa ttgacgaaat ggtctctcgc 11940

cgcatttacc ggaccatgga acattcgggt caagcggcct ggaagcaggt tgttagtgaa 12000

gccactctca caaaactgtc aaggcttgac gtagtcactc atttccaaca cctggccgca 12060

gtggaggctg attcttgccg cttccttagc tcacgactcg cgatgctgaa aaaccttgcc 12120

gttggcaatg tgagcctgga gtacaacact actttggacc gcgttgagct catctttccc 12180

acaccaggta cgaggcccaa gttgaccgat tttaggcaat ggcttatcag cgtgcacgct 12240

tccatcttct cctctgtggc ttcgtctgtt accttgttca cagtgctttg gcttcgaatt 12300

ccagctctac gctatgtttt tggtttccat tggcccacgg caacacatca ttcgaactaa 12360

ctatcaatta cactatatgt aagccatgcc ctaccagtca agctgcccaa caaagactcg 12420

agcctggccg taacgtgtgg tgcaaaatag ggcacgacag gtgtgaggaa cgtgaccatg 12480

atgagttgtc aatgtccatt ccgtccgggt acgacaacct caaacttgag ggttattatg 12540

cttggctggc ttttttgtcc ttttcctacg cggcccaatt ccatccggag ctgttcggaa 12600

taggaaacgt gtcgcgcgtc tttgtggata agcgacacca gttcatttgc gccgagcatg 12660

atggacaaaa ttcaaccata tctgccagac acaacatctc cgcgtcgtat gcggtgtatt 12720

accatcatca aatagacggg ggcaattggt ttcatttgga atggctgcga ccattctttt 12780

cctcctggct ggtgctcaac atctcatggt ttctgaggcg ttcgcctgca agccctgctt 12840

ctcgacgcat ctatcagata ttaagaccaa cacgaccgcg gctgccggtt tcatggtcct 12900

tcagaacatc aattgtttcc aatctcacag ggcctcaaca gcgcaaggta ccactcccct 12960

caggaggtcg tcccaatgtc gtgaagccgt cggcattccc cagtacatca cgataacggc 13020

taatgtgacc gatgaatcgt atttgtacaa cgcggacttg ctgatgcttt ccgcgtgcct 13080

tttctacgcc tcggaaatga gcgagaaagg cttcaaagtc atctttggga atatttctgg 13140

cgttgtttcc gcttgtgtta atttcacaga ttatgtggcc catgtgaccc aacacactca 13200

gcagcaccat ttggtaattg atcacattcg gttactacac ttcttgacac cgtctacgat 13260

gaggtgggct acaaccattg cttgtttgct tgccattctt ttggcggtat gaaatgttct 13320

tgcaagttgg ggcatttctt gactcctcac tcttgcttct ggtggctttt tttgctgtgt 13380

accggcttgt cttggtcctt tgtcgatggc aacgacgaca gctcgacatc ccaatacata 13440

tataatttga cgatatgcga gctgaatggg accgaatggt tgtccggtca ttttgattgg 13500

gcagtcgaaa cctttgtgct ttacccagtt gccactcata tcatttcact gggttttctc 13560

acaacaagcc atttccttga tgcgctcggt ctcggcgctg tgtccgccac aggattcatt 13620

ggcgagcggt atgtacttag cagcatgtac ggcgtttgcg ccttcgcggc gttcgtatgt 13680

tttgtcatcc gtgctgctaa aaattgcatg gcttgccgct atgcccgcac ccggtttacc 13740

aacttcatcg tggacgaccg gggaagaatc catcgatgga agtcttcaat agtggtggag 13800

aaattgggca aagctgaagt cggtggtgac cttgtcaaca ttaagcatgt tgtcctcgaa 13860

ggggttaaag ctcaaccttt gacgaggact tcggctgagc aatgggaagc ctagacgact 13920

tttgcaacga tcccaccgcc gcacaaaaac tcgtgctggc ctttagcatc acatatacac 13980

ccataatgat atacgccctt aaggtgtcac gcggccgact cctggggctg ttgcacatct 14040

tgatatttct gaattgttcc tttacttttg ggtacatgac atatgtgcat tttcaatcca 14100

ccaaccgtgt cgcattcact ctgggggctg tagtcgccct tttgtggggt gtttacagcc 14160

tcacagagtc atggaagttc atcacttcca gatgcagatt gtgttgccta ggccggcgat 14220

acattctggc ccctgcccat cacgtagaaa gtgctgcagg cctccattca atcccagcgt 14280

ctggtaaccg agcatacgct gtgagaaagc ccggactaac atcagtgaac ggcactctag 14340

tacctgggct tcggagcctc gtgctgggcg gcaaacgagc tgttaaacga ggagtggtta 14400

acctcgtcaa gtatggccgg taagaaccag agccagaaga aaagaagaaa tgcagctccg 14460

atggggaaag gccagccagt caatcaactg tgccagttgc tgggtacaat gataaagtcc 14520

cagcgccagc aatctagggg aggacaggcc aaaaagaaga agcctgagaa gccacatttt 14580

cccctagctg ctgaagatga cattcggcac catctcaccc aggccgaacg ttccctctgc 14640

ttgcaatcga tccagacggc tttcaatcaa ggcgcaggaa ctgcgtcgct ttcatccagc 14700

gggaaggtca gtttccaggt tgagttcatg ctgccggttg ctcatacagt gcgcctgatt 14760

cgcgtgactt ctacatccgc cagtcagggt gcaaattaat ttgacagtca ggtgaatggc 14820

cgcgattgac gtgtggcctc taa 14843

<210> 2
<211> 2349
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ОРС 1a MSV 94881

<400> 2

Met Ser Gly Met Phe Ser Arg Cys Met Cys Thr Pro Ala Ala Arg Val 1
5 10 15

Phe Trp Asn Ala Gly Gln Val Tyr Cys Thr Arg Cys Leu Ser Ala Arg
20 25 30

Ser Leu Leu Ser Pro Glu Leu Gln Asp Thr Asp Leu Gly Ala Val Gly 35
40 45

Leu Phe His Lys Pro Lys Asp Lys Leu His Trp Lys Val Pro Ile Gly 50
55 60

Ile Pro Gln Val Glu Cys Ser Pro Ser Gly Cys Cys Trp Leu Ser Thr 65
70 75 80

Ile Phe Pro Leu Ala Arg Met Thr Ser Gly Asn His Asn Phe Leu Gln
85 90 95

Arg Leu Val Lys Val Ala Asp Val Leu Tyr Arg Asp Gly Cys Leu Thr
100 105 110

Pro Arg His Leu Arg Glu Leu Gln Val Tyr Glu Arg Gly Cys Asn Trp 115
120 125

Tyr Pro Ile Thr Gly Pro Val Pro Gly Met Ala Val Tyr Ala Asn Ser 130
135 140

Met His Val Ser Asp Gln Pro Phe Pro Gly Ala Thr His Val Leu Thr 145
150 155 160

Asn Ser Pro Leu Pro Gln Arg Ala Cys Arg Gln Pro Phe Cys Pro Phe
165 170 175

Glu Glu Ala His Ser Ser Ile Tyr Arg Trp Glu Lys Phe Val Ile Phe
180 185 190

Met Asp Ser Ser Ser Asp Gly Arg Ser Arg Met Met Trp Thr Pro Glu 195
200 205

Ser Asp Asp Ser Thr Ala Leu Glu Val Leu Pro Pro Glu Leu Glu His 210
215 220

Gln Val Lys Val Leu Val Arg Ser Phe Pro Ala His His Leu Val Asp 225
230 235 240

Leu Ala Asp Trp Glu Leu Thr Glu Ser Pro Asp Asn Gly Phe Ser Phe
245 250 255

Ser Thr Ser His Pro Cys Gly Tyr Leu Val Arg Asp Pro Ala Val Ser
260 265 270

Glu Gly Lys Cys Trp Leu Ser Cys Phe Leu Ser Gln Ser Ala Glu Val 275
280 285

Leu Ser Arg Glu Ala His Leu Ala Thr Ala Tyr Gly Tyr Gln Thr Lys 290
295 300

Trp Gly Val Pro Gly Lys Tyr Ile Gln Arg Arg Leu Gln Val His Gly 305
310 315 320

Leu Arg Ala Val Val Asp Pro Asp Gly Pro Ile His Val Glu Ala Leu
325 330 335

Ser Cys Pro Gln Ser Trp Ile Arg His Leu Thr Leu Asn Asp Asp Val
340 345 350

Thr Pro Gly Phe Val Arg Leu Met Ser Leu Arg Ile Val Pro Asn Thr 355
360 365

Glu Pro Thr Thr His Arg Ile Phe Arg Phe Gly Val His Lys Trp Tyr 370
375 380

Gly Ala Ala Gly Lys Arg Ala Arg Gly Lys Arg Ala Ala Lys Ser Glu 385
390 395 400

Lys Asp Ser Ala Ser Thr Leu Lys Val Ala Arg Pro Thr Ser Thr Ser
405 410 415

Gly Ile Val Thr Tyr Ser Pro Pro Ala Asp Gly Ser Cys Gly Trp His
420 425 430

Ala Leu Ala Ala Ile Leu Asn Arg Met Ile Asn Asn Asp Phe Thr Ser 435
440 445

Pro Leu Pro Arg Tyr Asn Arg Pro Glu Asp Asp Trp Ala Ser Asp Gly 450
455 460

Asp Leu Ala Gln Ala Ile Gln Cys Leu Gln Leu Pro Ala Ala Ile Ala 465
470 475 480

Arg Asn Arg Ala Cys Pro Asn Ala Lys Tyr Leu Ile Lys Leu Asn Gly
485 490 495

Val His Trp Glu Val Glu Val Arg Pro Gly Met Ala Pro Arg Ser Leu
500 505 510

Ser Arg Glu Cys Val Val Gly Val Cys Ser Glu Gly Cys Val Ala Ser 515
520 525

Pro Tyr Pro Glu Asp Gly Leu Pro Lys Arg Ala Leu Glu Ala Leu Ala 530
535 540

Ser Ala Tyr Arg Leu Pro Ser Asp Cys Val Cys Asp Gly Ile Ile Asp 545
550 555 560

Phe Leu Ala Asn Pro Pro Pro Gln Glu Phe Trp Thr Leu Asp Lys Met
565 570 575

Leu Thr Ser Pro Ser Pro Glu Gln Ser Gly Phe Ser Ser Leu Tyr Lys
580 585 590

Leu Leu Leu Glu Ile Leu Pro Gln Lys Cys Gly Ser Thr Glu Gly Glu 595
600 605

Phe Ile Tyr Thr Val Glu Arg Met Leu Lys Asp Cys Pro Ser Ser Lys 610
615 620

Gln Ala Met Ala Leu Leu Ala Lys Ile Lys Val Pro Ser Ser Lys Ala 625
630 635 640

```
Pro Ser Val Thr Leu Asn Glu Cys Phe Pro Thr Asp Val Pro Val Asn
645                 650                 655

Ser Glu Leu Ile Ser Trp Glu Glu Pro Lys Asp Pro Gly Ala Ala Val
660                 665                 670

Val Leu Cys Pro Ser Asp Ala Lys Glu Ser Lys Glu Thr Ala Pro Glu          675
680                 685

Glu Ala Gln Ala Arg Asn Arg Lys Val Leu His Pro Val Val Leu Thr     690
695                 700

Glu Glu Leu Ser Glu Gln Gln Val Gln Val Val Glu Gly Asp Gln Asp 705
710                 715                 720

Met Pro Leu Asp Leu Thr Trp Pro Thr Leu Thr Ala Thr Ala Thr Pro
725                 730                 735

Val Arg Gly Pro Val Pro Asp Asn Leu Ser Ser Gly Ile Gly Ala Gln
740                 745                 750

Pro Ala Thr Val Gln Glu Leu Ile Leu Ala Arg Pro Ala Pro Arg Leu          755
760                 765

Val Glu Arg Cys Gly Thr Glu Ser Asn Gly Ser Ser Ser Phe Leu Asp     770
775                 780

Leu Pro Asp Val Gln Thr Ser Asp Gln Pro Leu Asp Leu Ser Leu Ala 785
790                 795                 800
```

Ala Trp Pro Val Arg Ala Thr Ala Ser Asp Pro Gly Trp Ile His Gly
805 810 815

Arg Arg Glu Pro Val Phe Val Lys Pro Arg Gly Val Phe Ser Asp Gly
820 825 830

Glu Ser Ala Leu Gln Phe Gly Glu Leu Ser Glu Ala Ser Ser Val Val 835
840 845

Asp Asp Arg Thr Lys Glu Ala Pro Val Val Asp Ala Pro Ile Asp Leu 850
855 860

Thr Thr Ser Asn Glu Thr Leu Ser Gly Ser Asp Pro Phe Glu Phe Ala 865
870 875 880

Lys Phe Arg Arg Pro Arg Phe Ser Ala Gln Ala Leu Ile Asp Arg Gly
885 890 895

Gly Pro Leu Ala Asp Val His Ala Lys Ile Lys Ser Arg Val Tyr Glu
900 905 910

Gln Cys Leu Gln Ala Cys Glu Pro Gly Ser Arg Ala Thr Pro Ala Thr 915
920 925

Lys Lys Trp Leu Asp Lys Met Trp Asp Arg Val Asp Met Lys Thr Trp 930
935 940

Arg Cys Thr Ser Gln Phe Gln Ala Gly His Ile Leu Glu Ser Leu Lys 945
950 955 960

```
Phe Leu Pro Asp Met Ile Gln Asp Thr Pro Pro Pro Val Pro Arg Lys
965                 970                 975

Asn Arg Ala Gly Asp Ser Ala Gly Leu Lys Gln Leu Val Ala Gln Trp
980                 985                 990

Asp Arg Lys Ser Ser Val Thr Pro  Pro Thr Lys Pro Val  Gly Pro Val          995
1000                1005

Leu Asp  Gln Ala Val Pro Leu  Pro Met Asp Ile Gln  Gln Gly Asp     1010
1015                1020

Ala Ile  Ser Ala Asp Lys Pro  Pro His Ser Gln Asn  Pro Ser Ser     1025
1030                1035

Gln Val  Asp Val Gly Gly Gly  Trp Lys Ser Phe Met  Leu Ser Gly     1040
1045                1050

Thr Arg  Phe Ala Gly Ser Val  Ser Gln Arg Leu Thr  Thr Trp Val     1055
1060                1065

Phe Glu  Val Leu Ser His Leu  Pro Ala Phe Met Leu  Thr Leu Phe     1070
1075                1080

Ser Pro  Arg Gly Ser Met Ala  Pro Gly Asp Trp Leu  Phe Ala Gly     1085
1090                1095

Ala Val  Leu Leu Ala Leu Leu  Leu Cys Arg Ser Tyr  Pro Ile Leu     1100
1105                1110

Gly Cys  Leu Pro Leu Leu Gly  Val Phe Ser Gly Ser  Val Arg Cys     1115
1120                1125
```

Val Arg Leu Gly Val Phe Gly Ser Trp Met Ala Phe Ala Val Phe 1130
1135 1140

Leu Phe Ser Thr Pro Pro Asp Pro Val Gly Ser Ser Cys Asp His 1145
1150 1155

Asp Ser Pro Glu Cys His Ala Glu Leu Leu Ala Leu Glu Gln Arg 1160
1165 1170

Gln Leu Trp Glu Pro Val Arg Ser Leu Val Val Gly Pro Ser Gly 1175
1180 1185

Leu Leu Cys Val Ile Leu Gly Lys Leu Leu Gly Gly Ser Arg Cys 1190
1195 1200

Leu Trp Phe Val Leu Leu Arg Ile Cys Met Leu Ala Asp Leu Ala 1205
1210 1215

Ile Ser Leu Ile Tyr Val Val Ser Gln Gly Arg Cys His Lys Cys 1220
1225 1230

Trp Gly Lys Cys Ile Arg Thr Ala Pro Ala Glu Val Ala Leu Asn 1235
1240 1245

Val Phe Pro Phe Ser Arg Ala Thr Arg Ser Ser Leu Val Ser Leu 1250
1255 1260

Cys Asp Arg Phe Gln Ala Pro Lys Gly Val Asp Pro Val His Leu 1265
1270 1275

```
Ala Thr  Gly Trp Arg Gly Cys  Trp Cys Gly Glu Ser  Pro Ile His     1280
1285                1290

Gln Ser  His Gln Lys Pro Ile  Ala Tyr Ala Asn Leu  Asp Glu Lys     1295
1300                1305

Lys Ile  Ser Ala Gln Thr Val  Ile Ala Val Pro Tyr  Asp Pro Ser     1310
1315                1320

Gln Ala  Ile Lys Cys Leu Lys  Val Leu Gln Ala Gly  Gly Ala Ile     1325
1330                1335

Val Asp  Gln Pro Thr Pro Glu  Val Val Arg Val Ser  Glu Ile Pro     1340
1345                1350

Phe Ser  Ala Pro Phe Phe Pro  Lys Val Pro Val Asn  Pro Asp Cys     1355
1360                1365

Arg Val  Val Val Asp Ser Asp  Thr Phe Val Ala Ala  Val Arg Cys     1370
1375                1380

Gly Tyr  Ser Thr Ala Gln Leu  Val Leu Gly Arg Gly  Asn Phe Ala     1385
1390                1395

Lys Leu  Asn Gln Thr Pro Leu  Arg Asn Ser Val Pro  Thr Lys Thr     1400
1405                1410

Thr Gly  Gly Ala Ser Tyr Thr  Leu Ala Val Ala Gln  Val Ser Val     1415
1420                1425
```

```
Trp Thr  Leu Val His Phe Ile  Leu Gly Leu Trp Leu  Thr Ser Pro     1430
1435                1440

Gln Val  Cys Gly Arg Gly Thr  Ser Asp Pro Trp Cys  Ser Asn Pro     1445
1450                1455

Phe Ser  Tyr Pro Thr Tyr Gly  Pro Gly Val Val Cys  Ser Ser Arg     1460
1465                1470

Leu Cys  Val Ser Ala Asp Gly  Val Thr Leu Pro Leu  Phe Ser Ala     1475
1480                1485

Val Ala  His Leu Ser Gly Arg  Glu Val Gly Ile Phe  Ile Leu Val     1490
1495                1500

Leu Ala  Ser Leu Gly Ala Leu  Ala His Arg Leu Ala  Leu Lys Ala     1505
1510                1515

Asp Met  Ser Met Val Phe Leu  Ala Phe Cys Ala Tyr  Ala Trp Pro     1520
1525                1530

Met Ser  Ser Trp Leu Ile Cys  Phe Phe Pro Met Leu  Leu Arg Trp     1535
1540                1545

Val Thr  Leu His Pro Leu Thr  Met Leu Trp Val His  Ser Phe Leu     1550
1555                1560

Val Phe  Cys Leu Pro Ala Ala  Gly Val Leu Ser Leu  Gly Ile Thr     1565
1570                1575

Gly Leu  Leu Trp Ala Val Gly  Arg Phe Thr Gln Val  Ala Gly Ile     1580
1585                1590
```

```
Ile Thr  Pro Tyr Asp Ile His  Gln Tyr Thr Ser Gly  Pro Arg Gly     1595
1600                1605

Ala Ala  Ala Val Ala Thr Ala  Pro Glu Gly Thr Tyr  Met Ala Ala     1610
1615                1620

Val Arg  Arg Ala Ala Leu Thr  Gly Arg Thr Leu Ile  Phe Thr Pro     1625
1630                1635

Ser Ala  Val Gly Ser Leu Leu  Glu Gly Ala Phe Arg  Thr Gln Lys     1640
1645                1650

Pro Cys  Leu Asn Thr Val Asn  Val Val Gly Ser Ser  Leu Gly Ser     1655
1660                1665

Gly Gly  Val Phe Thr Ile Asp  Gly Arg Arg Val Ile  Val Thr Ala     1670
1675                1680

Thr His  Val Leu Asn Gly Asn  Thr Ala Arg Val Thr  Gly Asp Ser     1685
1690                1695

Tyr Asn  Arg Met His Thr Phe  Asn Thr Asn Gly Asp  Tyr Ala Trp     1700
1705                1710

Ser His  Ala Asp Asp Trp Gln  Gly Val Ala Pro Met  Val Lys Ile     1715
1720                1725

Ala Lys  Gly Tyr Arg Gly Arg  Ala Tyr Trp Gln Thr  Ser Thr Gly     1730
1735                1740
```

Val Glu Pro Gly Ile Met Gly Glu Gly Phe Ala Phe Cys Phe Thr 1745
1750 1755

Asn Cys Gly Asp Ser Gly Ser Pro Val Ile Ser Glu Ala Gly Asp 1760
1765 1770

Leu Ile Gly Val His Thr Gly Ser Asn Lys Leu Gly Ser Gly Leu 1775
1780 1785

Val Thr Thr Pro Glu Gly Glu Thr Cys Ser Ile Lys Glu Thr Arg 1790
1795 1800

Leu Ser Asp Leu Ser Arg His Phe Ala Gly Pro Ser Val Pro Leu 1805
1810 1815

Gly Asp Ile Lys Leu Ser Pro Ala Ile Ile Pro Asp Val Thr Thr 1820
1825 1830

Ile Pro Ser Asp Leu Ala Ser Leu Leu Ala Ser Val Pro Val Met 1835
1840 1845

Glu Gly Gly Leu Ser Thr Val Gln Leu Leu Cys Val Phe Phe Leu 1850
1855 1860

Leu Trp Arg Met Met Gly His Ala Trp Thr Pro Ile Val Ala Val 1865
1870 1875

Gly Phe Phe Leu Leu Asn Glu Ile Leu Pro Ala Val Leu Val Arg 1880
1885 1890

Ala Val Phe Ser Phe Ala Leu Phe Val Leu Ala Trp Ala Thr Pro 1895
1900 1905

Trp Ser Ala Gln Val Leu Met Ile Arg Leu Leu Thr Ala Ala Leu 1910
1915 1920

Asn Arg Asn Arg Leu Ser Leu Ala Phe Tyr Ala Phe Gly Gly Val 1925
1930 1935

Val Gly Leu Ala Thr Glu Ile Gly Thr Phe Ala Gly Gly Trp Pro 1940
1945 1950

Glu Leu Ser Gln Ala Leu Ser Thr Tyr Cys Phe Leu Pro Arg Phe 1955
1960 1965

Leu Ala Val Thr Ser Tyr Val Pro Thr Ile Ile Ile Gly Gly Leu 1970
1975 1980

His Ala Leu Gly Val Ile Leu Trp Leu Phe Lys Tyr Arg Cys Leu 1985
1990 1995

His Asn Met Leu Val Gly Asp Gly Ser Phe Ser Ser Ala Phe Phe 2000
2005 2010

Leu Arg Tyr Phe Ala Glu Gly Asn Leu Arg Lys Gly Val Ser Gln 2015
2020 2025

Ser Cys Gly Met Asn Asn Glu Ser Leu Thr Ala Ala Leu Ala Cys 2030
2035 2040

Lys Leu Ser Gln Ala Asp Leu Asp Phe Leu Ser Ser Leu Thr Asn 2045
2050 2055

Phe Lys Cys Phe Val Ser Ala Ser Asn Met Lys Asn Ala Ala Gly 2060
2065 2070

Gln Tyr Ile Glu Ala Ala Tyr Ala Arg Ala Leu Arg Gln Glu Leu 2075
2080 2085

Ala Ser Leu Val Gln Val Asp Lys Met Lys Gly Val Leu Ala Lys 2090
2095 2100

Leu Glu Ala Phe Ala Glu Thr Ala Thr Pro Ser Leu Asp Thr Gly 2105
2110 2115

Asp Val Ile Val Leu Leu Gly Gln His Pro His Gly Ser Ile Leu 2120
2125 2130

Asp Ile Asn Val Gly Gly Glu Arg Lys Thr Val Ser Val Gln Glu 2135
2140 2145

Thr Arg Cys Leu Gly Gly Ser Lys Phe Ser Val Cys Thr Val Val 2150
2155 2160

Ser Asn Thr Pro Val Asp Thr Leu Thr Gly Ile Pro Leu Gln Thr 2165
2170 2175

Pro Thr Pro Leu Phe Glu Asn Gly Pro Arg His Arg Ser Glu Asp 2180
2185 2190

Asp Asp Leu Lys Val Glu Arg Met Lys Lys His Cys Val Ser Leu 2195
2200 2205

Gly Phe His Lys Ile Asn Gly Lys Val Tyr Cys Lys Ile Trp Asp 2210
2215 2220

Lys Ser Asn Gly Asp Thr Phe Tyr Thr Asp Asp Ser Arg Tyr Thr 2225
2230 2235

Gln Asp His Ala Phe Gln Asp Arg Ser Thr Asp Tyr Arg Asp Arg 2240
2245 2250

Asp Tyr Glu Gly Val Gln Thr Ala Pro Gln Gln Gly Phe Asp Pro 2255
2260 2265

Lys Ser Glu Ala Pro Val Gly Thr Val Val Ile Gly Gly Ile Thr 2270
2275 2280

Tyr Asn Arg His Leu Val Lys Gly Lys Glu Val Leu Val Pro Lys 2285
2290 2295

Pro Asp Asn Cys Leu Glu Ala Ala Arg Leu Ser Leu Glu Gln Ala 2300
2305 2310

Leu Ala Gly Met Gly Gln Thr Cys Asp Leu Thr Ala Thr Glu Val 2315
2320 2325

Glu Lys Leu Lys Arg Ile Ile Ser Gln Leu Gln Gly Leu Thr Thr 2330
2335 2340

Glu Gln Ala Leu Asn Cys 2345

<210> 3
<211> 1463

<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ОРС 1B MSV 94881, кодируемая участком последовательности SEQ ID NO:1, расположенным между нуклеотидами 7209...11600

<400> 3

Thr Gly Phe Lys Leu Leu Ala Ala Ser Gly Leu Thr Arg Cys Gly Arg 1
5 10 15

Gly Gly Leu Val Val Thr Glu Thr Ala Val Lys Ile Val Lys Tyr His
20 25 30

Ser Arg Thr Phe Thr Leu Gly Ser Leu Asp Leu Lys Val Thr Ser Glu 35
40 45

Val Glu Val Lys Lys Ser Thr Glu Gln Gly His Ala Val Val Ala Asn 50
55 60

Leu Cys Ser Gly Val Val Leu Met Arg Pro His Pro Pro Ser Leu Val 65
70 75 80

Asp Val Leu Leu Lys Pro Gly Leu Asp Thr Thr Pro Gly Ile Gln Pro
85 90 95

Gly His Gly Ala Gly Asn Met Gly Val Asn Gly Ser Ile Trp Asp Phe
100 105 110

Glu Thr Ala Pro Thr Lys Val Glu Leu Glu Leu Ser Lys Gln Ile Ile 115
120 125

Gln Ala Cys Glu Val Arg Arg Gly Asp Ala Pro Asn Leu Gln Leu Pro 130
135 140

Tyr Lys Leu Tyr Pro Val Arg Gly Asp Pro Glu Arg Arg Lys Gly Arg 145
150 155 160

Leu Val Asn Thr Arg Phe Gly Asp Leu Pro Tyr Lys Thr Pro Gln Asp
165 170 175

Thr Lys Ser Ala Ile His Ala Ala Cys Cys Leu His Pro Asn Gly Val
180 185 190

Leu Val Ser Asp Gly Lys Ser Thr Leu Gly Thr Thr Leu Gln His Gly 195
200 205

Phe Glu Leu Tyr Val Pro Thr Val Pro Tyr Ser Val Met Glu Tyr Leu 210
215 220

Asp Ser Arg Pro Asp Thr Pro Phe Met Cys Thr Lys His Gly Thr Ser 225
230 235 240

Lys Ala Ala Ala Glu Asp Leu Gln Lys Tyr Asp Leu Ser Thr Gln Gly
245 250 255

Phe Val Leu Pro Gly Val Leu Arg Leu Val Arg Arg Phe Ile Phe Ser
260 265 270

His Val Gly Lys Ala Pro Pro Leu Phe Leu Pro Ser Thr Tyr Pro Ala 275
280 285

Lys Asn Ser Met Ala Gly Val Asn Gly Gln Arg Phe Pro Thr Lys Asp 290
295 300

Val Gln Ser Ile Pro Glu Ile Asp Glu Met Cys Ala Arg Ala Val Lys 305
310 315 320

Glu Asn Trp Gln Thr Val Thr Pro Cys Thr Leu Lys Lys Gln Tyr Cys
325 330 335

Ser Lys Pro Lys Thr Arg Thr Ile Leu Gly Thr Asn Asn Phe Ile Ala
340 345 350

Leu Ala His Arg Ser Ala Leu Ser Gly Val Thr Gln Ala Phe Met Lys 355
360 365

Lys Ala Trp Lys Ser Pro Ile Ala Leu Gly Lys Asn Lys Phe Lys Glu 370
375 380

Leu His Cys Thr Val Ala Gly Arg Cys Leu Glu Ala Asp Leu Ala Ser 385
390 395 400

Cys Asp Arg Ser Thr Pro Ala Ile Val Arg Trp Phe Val Ala Asn Leu
405 410 415

Leu Tyr Glu Leu Ala Gly Cys Glu Glu Tyr Leu Pro Ser Tyr Val Leu
420 425 430

Asn Cys Cys His Asp Leu Val Ala Thr Gln Asp Gly Ala Phe Thr Lys 435
440 445

Arg Gly Gly Leu Ser Ser Gly Asp Pro Val Thr Ser Val Ser Asn Thr 450
455 460

Val Tyr Ser Leu Ile Ile Tyr Ala Gln His Met Val Leu Ser Ala Leu 465
470 475 480

Lys Met Gly His Glu Ile Gly Leu Lys Phe Leu Glu Glu Gln Leu Lys
485 490 495

Phe Glu Asp Leu Leu Glu Ile Gln Pro Met Leu Val Tyr Ser Asp Asp
500 505 510

Leu Val Leu Tyr Ala Glu Arg Pro Thr Phe Pro Asn Tyr His Trp Trp 515
520 525

Val Glu His Leu Asp Leu Met Leu Gly Phe Lys Thr Asp Pro Lys Lys 530
535 540

Thr Val Ile Thr Asp Lys Pro Ser Phe Leu Gly Cys Arg Ile Glu Ala 545
550 555 560

Gly Arg Gln Leu Val Pro Asn Arg Asp Arg Ile Leu Ala Ala Leu Ala
565 570 575

Tyr His Met Lys Ala Gln Asn Ala Ser Glu Tyr Tyr Ala Ser Ala Ala
580 585 590

Ala Ile Leu Met Asp Ser Cys Ala Cys Ile Asp His Asp Pro Glu Trp 595
600 605

Tyr Glu Asp Leu Ile Cys Gly Ile Ala Arg Cys Ala Arg Gln Asp Gly 610
615 620

Tyr Arg Phe Pro Gly Pro Ala Phe Phe Met Ser Met Trp Glu Lys Leu 625
630 635 640

Lys Ser His Asn Glu Gly Lys Lys Cys Arg His Cys Gly Ile Cys Asp
645 650 655

Ala Lys Ala Asp Tyr Ala Ser Ala Cys Gly Leu Asp Leu Cys Leu Phe
660 665 670

His Ser His Phe His Gln His Cys Pro Val Thr Leu Ser Cys Gly His
680 685 675

His Ala Gly Ser Lys Glu Cys Ser Gln Cys Gln Ser Pro Val Gly Ala
695 700 690

Gly Lys Ser Pro Leu Asp Ala Val Leu Lys Gln Ile Pro Tyr Lys Pro
710 715 720 705

Pro Arg Thr Ile Ile Met Lys Val Asp Asn Lys Thr Thr Thr Leu Asp
725 730 735

Pro Gly Arg Tyr Gln Ser Arg Arg Gly Leu Val Ala Val Lys Arg Gly
740 745 750

Ile Ala Gly Asn Glu Val Asp Leu Ser Asp Gly Asp Tyr Gln Val Val
760 765 755

Pro Leu Leu Pro Thr Cys Lys Asp Ile Asn Met Val Lys Val Ala Cys
775 780 770

Asn Val Leu Leu Ser Lys Phe Ile Val Gly Pro Pro Gly Ser Gly Lys
790 795 800 785

Thr Thr Trp Leu Leu Asn Gln Val Gln Asp Asp Asp Val Ile Tyr Thr
805 810 815

Pro Thr His Gln Thr Met Phe Asp Ile Val Ser Ala Leu Lys Val Cys
820 825 830

Arg Tyr Ser Ile Pro Gly Ala Ser Gly Leu Pro Phe Pro Pro Pro Ala 835
840 845

Arg Ser Gly Pro Trp Val Arg Leu Ile Ala Ser Gly His Val Pro Gly 850
855 860

Arg Val Ser Tyr Leu Asp Glu Ala Gly Tyr Cys Asn His Leu Asp Ile 865
870 875 880

Leu Arg Leu Leu Ser Lys Thr Pro Leu Val Cys Leu Gly Asp Leu Gln
885 890 895

Gln Leu His Pro Val Gly Phe Asp Ser Tyr Cys Tyr Val Phe Asp Gln
900 905 910

Met Pro Gln Lys Gln Leu Thr Thr Ile Tyr Arg Phe Gly Pro Asn Ile 915
920 925

Cys Ala Ala Ile Gln Pro Cys Tyr Arg Glu Lys Leu Glu Ser Lys Ala 930
935 940

Arg Asn Thr Arg Val Val Phe Thr Thr Arg Pro Val Ala Phe Gly Gln 945
950 955 960

Val Leu Thr Pro Tyr His Lys Asp Arg Thr Gly Ser Ala Ile Thr Ile
965 970 975

```
Asp Ser Ser Gln Gly Ala Thr Phe Asp Ile Val Thr Leu His Leu Pro
980                 985                 990

Ser Pro Lys Ser Leu Asn Lys Ser  Arg Ala Leu Val Ala  Ile Thr Arg         995
1000                1005

Ala Arg  His Gly Leu Phe Ile  Tyr Asp Pro His Asp  Gln Leu Gln     1010
1015                1020

Glu Phe  Phe Asn Leu Thr Pro  Glu Arg Thr Asp Cys  Asn Leu Ala     1025
1030                1035

Phe Ser  Arg Gly Asp Glu Leu  Val Val Leu Asn Val  Asp Asn Ala     1040
1045                1050

Val Thr  Thr Val Ala Lys Ala  Leu Glu Thr Gly Ser  Pro Arg Phe     1055
1060                1065

Arg Val  Ser Asp Pro Arg Cys  Lys Ser Leu Leu Ala  Ala Cys Ser     1070
1075                1080

Ala Ser  Leu Glu Gly Ser Cys  Met Pro Leu Pro Gln  Val Ala His     1085
1090                1095

Asn Leu  Gly Phe Tyr Phe Ser  Pro Asp Ser Pro Ala  Phe Ala Pro     1100
1105                1110

Leu Pro  Lys Glu Leu Ala Pro  His Trp Pro Val Val  Thr His Gln     1115
1120                1125
```

```
Asn Asn  Arg Ala Trp Pro Asp  Arg Leu Val Ala Ser  Met Arg Pro     1130
1135                 1140

Ile Asp  Ala Arg Tyr Ser Lys  Pro Met Val Gly Ala  Gly Tyr Val     1145
1150                 1155

Val Gly  Pro Ser Ile Phe Leu  Gly Thr Pro Gly Val  Val Ser Tyr     1160
1165                 1170

Tyr Leu  Thr Leu Tyr Ile Gly  Gly Glu Pro Gln Ala  Leu Pro Glu     1175
1180                 1185

Thr Leu  Val Ser Thr Gly Arg  Ile Ala Thr Asp Cys  Arg Glu Tyr     1190
1195                 1200

Leu Asp  Ala Ala Glu Glu Glu  Ala Ala Arg Glu Leu  Pro His Ala     1205
1210                 1215

Phe Ile  Gly Asp Val Lys Gly  Thr Thr Ile Gly Gly  Cys His His     1220
1225                 1230

Ile Thr  Ser Lys Tyr Leu Pro  Arg Ser Leu Pro Lys  Asp Ser Val     1235
1240                 1245

Ala Val  Val Gly Val Ser Ser  Pro Gly Arg Ala Ala  Lys Ala Val     1250
1255                 1260

Cys Thr  Leu Thr Asp Val Tyr  Leu Pro Glu Leu Arg  Pro Tyr Leu     1265
1270                 1275
```

Gln Pro Glu Thr Ala Ser Lys Cys Trp Lys Leu Lys Leu Asp Phe 1280
1285 1290

Arg Asp Val Arg Leu Met Val Trp Lys Gly Ala Thr Ala Tyr Phe 1295
1300 1305

Gln Leu Glu Gly Leu Thr Trp Ser Ala Leu Pro Asp Tyr Ala Arg 1310
1315 1320

Phe Ile Gln Leu Pro Lys Asp Ala Val Val Tyr Ile Asp Pro Cys 1325
1330 1335

Ile Gly Pro Ala Thr Ala Asn Arg Lys Val Val Arg Thr Thr Asp 1340
1345 1350

Trp Arg Ala Asp Leu Ala Val Thr Pro Tyr Asp Tyr Gly Ala Gln 1355
1360 1365

Val Ile Leu Thr Thr Ala Trp Phe Glu Asp Leu Gly Pro Gln Trp 1370
1375 1380

Lys Ile Leu Gly Leu Gln Pro Phe Arg Arg Thr Phe Gly Phe Glu 1385
1390 1395

Asn Thr Glu Asp Trp Ala Ile Leu Ala Arg Arg Met Asn Asp Gly 1400
1405 1410

Lys Asp Tyr Thr Asp Tyr Asn Trp His Cys Val Arg Glu Arg Pro 1415
1420 1425

His Ala Ile Tyr Gly Arg Ala Arg Asp His Thr Tyr His Phe Ala 1430
1435 1440

Leu Gly Thr Glu Leu Gln Val Glu Leu Gly Arg Pro Arg Leu Pro 1445
1450 1455

Pro Glu Gln Val Pro 1460

<210> 4
<211> 249
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ОРС 2 MSV 94881, кодируемая участком последовательности SEQ ID NO:1, расположенным между нуклеотидами 11611..12360

<400> 4

Met Gln Trp Val Tyr Cys Gly Val Lys Ser Val Ser Cys Ser Trp Met 1
5 10 15

Pro Ser Leu Ser Ser Leu Leu Val Trp Leu Thr Leu Ser Ser Phe Ser
20 25 30

Pro Tyr Cys Leu Gly Ser Leu Leu Gln Ala Gly Tyr Trp Ser Ser Phe 35
40 45

Ser Glu Trp Phe Ala Pro Arg Phe Ser Val Arg Ala Leu Pro Phe Thr 50
55 60

Leu Pro Asn Tyr Arg Arg Ser Tyr Glu Gly Leu Leu Pro Asn Cys Arg 65
70 75 80

Pro Asp Val Pro Gln Phe Ala Val Lys His Pro Leu Gly Ile Leu Trp
85 90 95

His Met Arg Val Ser His Leu Ile Asp Glu Met Val Ser Arg Arg Ile
100 105 110

Tyr Arg Thr Met Glu His Ser Gly Gln Ala Ala Trp Lys Gln Val Val 115
120 125

Ser Glu Ala Thr Leu Thr Lys Leu Ser Arg Leu Asp Val Val Thr His 130
135 140

Phe Gln His Leu Ala Ala Val Glu Ala Asp Ser Cys Arg Phe Leu Ser 145
150 155 160

Ser Arg Leu Ala Met Leu Lys Asn Leu Ala Val Gly Asn Val Ser Leu
165 170 175

Glu Tyr Asn Thr Thr Leu Asp Arg Val Glu Leu Ile Phe Pro Thr Pro
180 185 190

Gly Thr Arg Pro Lys Leu Thr Asp Phe Arg Gln Trp Leu Ile Ser Val 195
200 205

His Ala Ser Ile Phe Ser Ser Val Ala Ser Ser Val Thr Leu Phe Thr 210
215 220

Val Leu Trp Leu Arg Ile Pro Ala Leu Arg Tyr Val Phe Gly Phe His 225
230 235 240

Trp Pro Thr Ala Thr His His Ser Asn 245

<210> 5
<211> 265

<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ОРС 3 MSV 94881, кодируемая участком последовательности SEQ ID NO:1, расположенным между нуклеотидами 12219..13016

<400> 5

Met Ala Tyr Gln Arg Ala Arg Phe His Leu Leu Leu Cys Gly Phe Val 1
5 10 15

Cys Tyr Leu Val His Ser Ala Leu Ala Ser Asn Ser Ser Ser Thr Leu
20 25 30

Cys Phe Trp Phe Pro Leu Ala His Gly Asn Thr Ser Phe Glu Leu Thr 35
40 45

Ile Asn Tyr Thr Ile Cys Lys Pro Cys Pro Thr Ser Gln Ala Ala Gln 50
55 60

Gln Arg Leu Glu Pro Gly Arg Asn Val Trp Cys Lys Ile Gly His Asp 65
70 75 80

Arg Cys Glu Glu Arg Asp His Asp Glu Leu Ser Met Ser Ile Pro Ser
85 90 95

Gly Tyr Asp Asn Leu Lys Leu Glu Gly Tyr Tyr Ala Trp Leu Ala Phe
100 105 110

Leu Ser Phe Ser Tyr Ala Ala Gln Phe His Pro Glu Leu Phe Gly Ile 115
120 125

Gly Asn Val Ser Arg Val Phe Val Asp Lys Arg His Gln Phe Ile Cys 130
135 140

Ala Glu His Asp Gly Gln Asn Ser Thr Ile Ser Ala Arg His Asn Ile 145
150 155 160

Ser Ala Ser Tyr Ala Val Tyr Tyr His His Gln Ile Asp Gly Gly Asn
165 170 175

Trp Phe His Leu Glu Trp Leu Arg Pro Phe Phe Ser Ser Trp Leu Val
180 185 190

Leu Asn Ile Ser Trp Phe Leu Arg Arg Ser Pro Ala Ser Pro Ala Ser 195
200 205

Arg Arg Ile Tyr Gln Ile Leu Arg Pro Thr Arg Pro Arg Leu Pro Val 210
215 220

Ser Trp Ser Phe Arg Thr Ser Ile Val Ser Asn Leu Thr Gly Pro Gln 225
230 235 240

Gln Arg Lys Val Pro Leu Pro Ser Gly Gly Arg Pro Asn Val Val Lys
245 250 255

Pro Ser Ala Phe Pro Ser Thr Ser Arg 260 265

<210> 6
<211> 183
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ОРС 4 MSV 94881, кодируемая участком последовательности SEQ ID NO:1, расположенным между нуклеотидами 12761..13312

<400> 6

Met Ala Ala Thr Ile Leu Phe Leu Leu Ala Gly Ala Gln His Leu Met 1
5 10 15

Val Ser Glu Ala Phe Ala Cys Lys Pro Cys Phe Ser Thr His Leu Ser
20 25 30

Asp Ile Lys Thr Asn Thr Thr Ala Ala Ala Gly Phe Met Val Leu Gln 35
40 45

Asn Ile Asn Cys Phe Gln Ser His Arg Ala Ser Thr Ala Gln Gly Thr 50
55 60

Thr Pro Leu Arg Arg Ser Ser Gln Cys Arg Glu Ala Val Gly Ile Pro 65
70 75 80

Gln Tyr Ile Thr Ile Thr Ala Asn Val Thr Asp Glu Ser Tyr Leu Tyr
85 90 95

Asn Ala Asp Leu Leu Met Leu Ser Ala Cys Leu Phe Tyr Ala Ser Glu
100 105 110

Met Ser Glu Lys Gly Phe Lys Val Ile Phe Gly Asn Ile Ser Gly Val 115
120 125

Val Ser Ala Cys Val Asn Phe Thr Asp Tyr Val Ala His Val Thr Gln 130
135 140

His Thr Gln Gln His His Leu Val Ile Asp His Ile Arg Leu Leu His 145
150 155 160

Phe Leu Thr Pro Ser Thr Met Arg Trp Ala Thr Thr Ile Ala Cys Leu
165 170 175

Leu Ala Ile Leu Leu Ala Val 180

<210> 7
<211> 201
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ОРС 5 MSV 94881, кодируемая участком последовательности SEQ ID NO:1, расположенным между нуклеотидами 13309..13914

<400> 7

Met Lys Cys Ser Cys Lys Leu Gly His Phe Leu Thr Pro His Ser Cys 1
5 10 15

Phe Trp Trp Leu Phe Leu Leu Cys Thr Gly Leu Ser Trp Ser Phe Val
20 25 30

Asp Gly Asn Asp Asp Ser Ser Thr Ser Gln Tyr Ile Tyr Asn Leu Thr 35
40 45

Ile Cys Glu Leu Asn Gly Thr Glu Trp Leu Ser Gly His Phe Asp Trp 50
55 60

Ala Val Glu Thr Phe Val Leu Tyr Pro Val Ala Thr His Ile Ile Ser 65
70 75 80

Leu Gly Phe Leu Thr Thr Ser His Phe Leu Asp Ala Leu Gly Leu Gly
85 90 95

Ala Val Ser Ala Thr Gly Phe Ile Gly Glu Arg Tyr Val Leu Ser Ser
100 105 110

Met Tyr Gly Val Cys Ala Phe Ala Ala Phe Val Cys Phe Val Ile Arg 115
120 125

Ala Ala Lys Asn Cys Met Ala Cys Arg Tyr Ala Arg Thr Arg Phe Thr 130
135 140

Asn Phe Ile Val Asp Asp Arg Gly Arg Ile His Arg Trp Lys Ser Ser 145
150 155 160

Ile Val Val Glu Lys Leu Gly Lys Ala Glu Val Gly Gly Asp Leu Val
165 170 175

Asn Ile Lys His Val Val Leu Glu Gly Val Lys Ala Gln Pro Leu Thr
180 185 190

Arg Thr Ser Ala Glu Gln Trp Glu Ala 195 200

<210> 8
<211> 173
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ОРС 6 MSV 94881, кодируемая участком последовательности SEQ ID NO:1, расположенным между нуклеотидами 13902..14423

<400> 8

Met Gly Ser Leu Asp Asp Phe Cys Asn Asp Pro Thr Ala Ala Gln Lys 1
5 10 15

Leu Val Leu Ala Phe Ser Ile Thr Tyr Thr Pro Ile Met Ile Tyr Ala
20 25 30

Leu Lys Val Ser Arg Gly Arg Leu Leu Gly Leu Leu His Ile Leu Ile 35
40 45

Phe Leu Asn Cys Ser Phe Thr Phe Gly Tyr Met Thr Tyr Val His Phe 50
55 60

Gln Ser Thr Asn Arg Val Ala Phe Thr Leu Gly Ala Val Val Ala Leu 65
70 75 80

Leu Trp Gly Val Tyr Ser Leu Thr Glu Ser Trp Lys Phe Ile Thr Ser
85 90 95

Arg Cys Arg Leu Cys Cys Leu Gly Arg Arg Tyr Ile Leu Ala Pro Ala
100 105 110

His His Val Glu Ser Ala Ala Gly Leu His Ser Ile Pro Ala Ser Gly 115
120 125

Asn Arg Ala Tyr Ala Val Arg Lys Pro Gly Leu Thr Ser Val Asn Gly 130
135 140

Thr Leu Val Pro Gly Leu Arg Ser Leu Val Leu Gly Gly Lys Arg Ala 145
150 155 160

Val Lys Arg Gly Val Val Asn Leu Val Lys Tyr Gly Arg 165
170

<210> 9
<211> 128
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> ОРС 7 MSV 94881, кодируемая участком последовательности SEQ ID NO:1, расположенным между нуклеотидами 14413..14799

<400> 9

Met Ala Gly Lys Asn Gln Ser Gln Lys Lys Arg Arg Asn Ala Ala Pro 1
5 10 15

Met Gly Lys Gly Gln Pro Val Asn Gln Leu Cys Gln Leu Leu Gly Thr
20 25 30

Met Ile Lys Ser Gln Arg Gln Gln Ser Arg Gly Gly Gln Ala Lys Lys 35
40 45

Lys Lys Pro Glu Lys Pro His Phe Pro Leu Ala Ala Glu Asp Asp Ile 50
55 60

Arg His His Leu Thr Gln Ala Glu Arg Ser Leu Cys Leu Gln Ser Ile 65
70 75 80

Gln Thr Ala Phe Asn Gln Gly Ala Gly Thr Ala Ser Leu Ser Ser Ser
85 90 95

Gly Lys Val Ser Phe Gln Val Glu Phe Met Leu Pro Val Ala His Thr
100 105 110

Val Arg Leu Ile Arg Val Thr Ser Thr Ser Ala Ser Gln Gly Ala Asn 115
120 125

<210> 10
<211> 14843
<212> ДНК
<213> Вирус репродуктивно-респираторного синдрома свиней

<400> 10
tttgtgtacc ttggaggcgt gggtacagcc ctgccccacc ccttggcccc tgttctagcc 60

cgacaggtac ccttctctct cggggcgagc gcgccgcctg ctgctccctt gcggcgggaa 120

ggacctcccg agtatttccg gagagcacct gctttacggg atctccgccc tttaaccatg 180

tctgggatgt tctcccggtg catgtgcacc ccggctgccc gggtattttg gaacgccggc 240

caagtctatt gcacacggtg tctcagtgca cggtctcttc tctctccaga acttcaggac 300

acggacctcg gtgcagttgg cttgtttcac aagcctaaag acaagctcca ttggaaagtt 360

cccattggta tcccccaggt ggaatgttct ccatctgggt gttgctggct gtcaaccatt 420

tttcctttag cgcgcatgac ctccggcaat cacaacttcc ttcaacgact cgtgaaggtt 480

gctgacgtat tgtaccgtga cggttgctta acccctagac acctccgtga actccaagtt 540

tacgagcgtg gttgcaattg gtatccgatt acggggcctg tgcctgggat ggctgtgtac 600

gcgaactcca tgcacgtgtc cgaccaaccg ttccctggtg ccactcatgt gttaacaaat 660

tcccctttgc ctcaacgggc ttgtcggcag ccgttctgtc cgttcgaaga ggcccattct 720

agcatataca ggtgggaaaa atttgtaatt tttatggatt cctcctccga cggtcgatct 780

cgcatgatgt ggactccgga atccgatgac tccacggctt tggaagttct gccgcccgag 840

ctagaacacc aggtcaaggt ccttgttcgg agctttcccg cccatcacct tgtcgacctt 900

gccgattggg agctcactga gtcccctgag aacggttttt ccttcagcac gtcacatcct 960

tgcggctacc ttgttcggga cccggctgta tccgaaggca agtgttggct ttcctgcttt 1020

ttgagccagt cagccgaagt gctcagtcgc gaggcgcatc tggctaccgc ctatggttac 1080

caaaccaagt ggggtgtgcc tggcaagtac atccagcgca gacttcaagt tcacggtctc 1140

cgtgctgtgg tcgaccctga tggtcccatt cacgttgaag cattgtcttg cccccagtct 1200

tggatcaggc acttgaccct gaatgatgat gtcaccccgg gattcgttcg cctaatgtct 1260

cttcgcattg tgccgaacac agagcctacc acacaccgga tctttcgttt tggagtgcac 1320

aagtggtatg gtgccgccgg caaacgggcc cgtggcaagc gtgccgccaa aagtgagaaa 1380

gactcggctt ccaccctcaa ggttgcccga ccgacttcca ccagtggaat cgtcacctac 1440

tccccacctg cggacgggtc ttgtggttgg catgcccttg ccgccatact gaaccggatg 1500

attaataatg acttcacgtc ccctctgcct cggtacaaca ggccggagga cgattgggct 1560

tctgatggtg accttgctca ggccattcaa tgtttgcaac tacctgccgc catagctcgg 1620

aaccgcgcct gccctaacgc caaatacctc gtaaaactca acggagttca ttgggaggta 1680

gaggtgaggc ctggaatggc tcctcgctcc ctctctcgtg agtgcgttgt tggcgtctgc 1740

tctgaaggct gtgtcgcgtc gccttacccg gaggacgggt tgcctaaacg tgcacttgag 1800

gccctggcgt ctgcttatag actgccttca gactgtgttt gtgatggtat tattgacttc 1860

cttgccaatc cacctcccca ggagttctgg actcttgaca aaatgttgac ttccccgtca 1920

ccggagcagt ccggcttctc tagtctgtat aaattgttgt tagaggtctt gccgcagaaa 1980

tgcggatcca cagaagggga attcatctat actgttgaga ggatgttgaa ggattgtccg 2040

agctccaaac aggccatggc cctccttgca aaaattaagg tcccatcctc aaaggcccca 2100

tccgtgactc tgaacgagtg cttccccacg gatgttccag tcaactctga gttaatatct 2160

tgggaagagc ccaaagaccc tggcgctgct gttgtcctat gtccatcgga tgcaaaagaa 2220

tctaaggaaa cagcccctga agaagctcaa gcgagaaacc gtaaggtcct ccaccctgtg 2280

gtccttaccg aggaacttag cgagcaacag gtgcaggtgg ttgagggtga tcaggatatg 2340

ccactggatt tgacttggcc aaccttaacc gctacggcga cccctgttag agggccggta 2400

ccggacaatt tgagctctgg cattggtgcc cagcccgcta ccgttcaaga actcattctg 2460

gcgaggcctg caccccgtct tgttgagcgc tgtggcacgg agtcgaacgg cagcagttca 2520

tttctggatt tgcctgacgt gcagacctcg gaccagcctt tagacctgtc cctggccgcg 2580

tggcctgtaa gggctaccgc gtctgacccc ggttggatcc acggtaggcg tgagcctgtc 2640

tttgtgaagc ctcgaggtgt tttctctgat ggcgagtcgg cccttcagtt cggagagctt 2700

tccgaagcca gttctgtcgt cgatgaccgg acaaaagaag ctccggtggt tgacgccccc 2760

atcgatttga caacttcgaa cgagacgctc tctgggtctg acccctttga attcgccaaa 2820

ttcaggcgcc cgcgtttctc cgcgcaagct ttaatcgacc gaggtggtcc gcttgccgat 2880

gttcatgcaa agataaagag tcgggtatat gaacaatgcc ttcaagcttg tgaacctggt 2940

agtcgtgcga ccccagccac caagaagtgg ctcgacaaaa tgtgggacag ggtggacatg 3000

aaaacttggc gctgcacctc gcagttccaa gctggtcaca ttcttgagtc cctcaaattc 3060

ctccctgaca tgattcaaga cacaccgcct cctgttccca ggaagaaccg agctggtgac 3120

agtgccggcc tgaagcaact ggtggcgcag tgggatagga aattgagtgt gacacccccc 3180

acaaaaccgg ttggaccggt gcttgaccag accgtccctc tgcctatgga catccagcaa 3240

gaagatgcca tctccgctga caagccaccc cattcgcaaa acccttctag tcaagtagat 3300

gtgggtggag gttggaaaag ttttatgctc tccggcaccc gtttcgcggg gtccgttagt 3360

cagcgcctta cgacatgggt ttttgaggtt ctctcccatc tcccagcttt tatgctcaca 3420

cttttctcgc cacggggctc tatggctcca ggtgattggc tgtttgcagg tgctgttcta 3480

cttgctctcc tgctctgccg ttcttaccca atactcggat gccttccctt attgggtgtc 3540

ttttctggtt ctgtgcggtg tgttcgtttg ggtgtttttg gttcttggat ggcttttgct 3600

gtatttttat tctcgactcc acccgaccca gtcggttctt cttgtgacca cgattcgccg 3660

gagtgtcatg ctgagctttt ggctcttgag cagcgccaac tttgggaacc tgtgcgcagc 3720

cttgtggtcg ggccatcggg cctcttatgc gtcattcttg gcaagttact cggtgggtca 3780

cgttgtctct ggtttgttct cctacgtata tgcatgctcg cagatttggc aatttctctt 3840

atttatgtgg tgtcccaagg gcgttgtcac aagtgttggg gaaagtgtat aaggacggct 3900

cctgcagaag tgacccttaa tgtgtttcct ttttcgcgcg ccacccgctc atctcttgtg 3960

tccttgtgtg atcggttcca agcgccaaaa ggagttgacc ccgtgcactt ggcgacaggc 4020

tggcgcgggt gctggtgtgg tgagagccct attcatcaat cacaccaaaa accgatagct 4080

tatgccaact tggatgaaaa gaagatatcc gcccagacgg tgattgctgt cccgtatgat 4140

cccagtcagg ccattaaatg cctgaaagtt ttgcaggcag gaggggctat tgtggaccag 4200

cctacgcccg aggtcgtccg tgtgtctgag attcccttct cggccccatt ttttccgaag 4260

gtcccagtca acccagattg cagggttgtg gtagattcgg acacttttgt ggctgcggtc 4320

cgctgcggtt attcgacagc acaactggtc cttggtcggg gcaactttgc caagctaaat 4380

cagacccccc tcaggaactc tgtccccacc aaaacaactg gtggggcctc atacaccctt 4440

gccgtggccc aggtatctgt gtggactctt gttcatttca tcctcggcct ttggttaacg 4500

tcacctcaag tgtgtggtcg agggacctct gacccgtggt gttcgaaccc tttttcgtat 4560

cctacttatg gccccggagt tgtgtgttcc tctcgactct gcgtgtctgc cgacggagtt 4620

accctgccat tgttctcagc cgttgcccat ctttccggta gagaggtggg gatttttatt 4680

ttggtgcttg cctccttggg cgctttagcc caccgcttgg ctcttaaggc agacatgtca 4740

atggtctttt tggcgttttg tgcttacgcc tggcccatga gctcctggtt aatttgcttc 4800

tttcctatgc tcttgaggtg ggtaaccctt catcctctca ctatgctttg ggtgcactca 4860

tttttggtgt tttgcctacc agctgccggc gttctctcgc tgggaataac cggtcttctt 4920

tgggcagttg gccgtttcac ccaggttgcc ggaattatca caccttatga catccaccag 4980

tatacctccg gaccacgtgg tgcagctgct gtagcaacgg ctccagaagg tacttacatg 5040

gcggccgttc ggagagccgc tttgactgga cggactttga tcttcacacc atctgcagtc 5100

ggatcccttc ttgaaggtgc tttcagaact caaaagccct gccttaacac cgtgaatgtc 5160

gtaggctctt cccttggttc tggaggagtt ttcaccattg atggcagaag agtcatcgtc 5220

actgccaccc atgtgttgaa tggtaacaca gccagggtca ctggtgattc ctacaaccgc 5280

atgcacacgt tcaatactaa tggtgattat gcctggtccc atgctgatga ctggcaaggc 5340

gttgccccta tggttaagat cgctaagggg tatcgcggtc gtgcctactg gcaaacgtca 5400

accggagtcg aacctggcat catgggggaa ggattcgcct tctgtttcac taactgtggc 5460

gactcagggt cacctgtcat ttcagaagct ggtgacctta ttggagtcca taccggttca 5520

aacaaactcg gttctggtct tgtgacaacc cctgaagggg agacctgctc catcaaggaa 5580

actaggctct ctgacctttc tagacatttt gcaggtccaa gcgtccctct tggggacatt 5640

aagttgagcc cagccatcat ccctgatgtg acaactattc cgagtgactt ggcatcgctc 5700

cttgcttctg tccccgtgat ggaaggtggc ctctcaactg tccagctttt gtgcgtcttt 5760

ttccttctct ggcgcatgat gggccatgcc tggacaccca ttgttgccgt aggcttcttt 5820

ttgctgaatg aaattctccc agcagtcttg gtccgagctg tgttctcttt tgcactcttt 5880

gtacttgcat gggccacccc ctggtcggca caagtgttga tgattagact cctcacggcg 5940

gctctcaacc gcaacaggtt gtccctggcg ttctacgcac tcggaggtgt cgttggcctg 6000

gccacagaaa tcgggacttt tgctggtgga tggcctgaac tgtcccaagc cctctcgaca 6060

tactgcttcc tgcccaggtt ccttgctgtg actagttatg tccccaccat catcatcggt 6120

gggctccatg ccctcggcgt aattttgtgg ttattcaaat accgatgcct ccacaacatg 6180

ctggttggtg atgggagttt ctcaagcgct ttcttcctac ggtattttgc tgagggtaat 6240

cttaggaaag gcgtgtcgca gtcctgtggc atgaataacg aatccctgac agctgctttg 6300

gcttgcaagt tgtcgcaagc tgaccttgat tttttgtcca gtttaacgaa cttcaagtgc 6360

tttgtgtccg cttcaaacat gaaaaatgca gctggccaat acatcgaggc ggcgtatgct 6420

agagctctgc gtcaggagct ggcctccttg gttcaggttg acaagatgaa aggagtattg 6480

gccaagctcg aggctttcgc tgagacggcc actccgtcac ttgacacagg tgacgtgatt 6540

gttctgcttg ggcaacaccc ccatggatcc atcctcgaca ttaatgtggg gggtgaaagg 6600

aaaactgtgt ctgtgcaaga aacacgatgc ctgggtggtt ccaaattcag tgtctgcact 6660

gtcgtgtcca acacgcccgt ggataccttg accggcatcc cacttcagac gccaacccca 6720

ctttttgaaa atggcccgcg ccatcgcagc gaggacgacg accttaaagt tgagagaatg 6780

aaaaaacact gtgtatccct cggcttccac aaaatcaatg gtaaagttta ctgcaaaatt 6840

tgggacaagt ctaacggcga cacctttac acggatgatt cccgatacac tcaagaccat 6900

gcttttcagg acaggtcaac cgactataga gacagggatt atgaaggtgt acagaccgcc 6960

ccccaacagg gattcgatcc aaagtccgaa gcccctgttg gcactgttgt aatcggtggc 7020

attacgtata acaggcatct ggtcaaaggt aaggaggtcc tagttcccaa acctgacaac 7080

tgccttgaag ctgccagact gtcccttgag caagctcttg ctgggatggg ccaaacttgt 7140

gaccttacag ctaccgaagt ggagaaacta aagcgcatca ttagtcaact ccaaggtctg 7200

accactgaac aggctttaaa ctgctagccg ccagcggctt gacccgctgt ggccgcggcg 7260

gcctagttgt aactgaaacg gcggtaaaaa tcgtaaaata ccacagcaga actttcacct 7320

taggctcttt agacctaaaa gtcacctccg aggtggaggt gaagaaatca actgagcagg 7380

ggcacgctgt cgtggcgaac ttatgttccg gtgtcgtctt gatgaggcct cacccaccgt 7440

cccttgttga cgttctcctc aaacccggac ttgacacaac acccggcatt caaccagggc 7500

atggggccgg gaatatgggc gtgaacggtt ctatttggga ttttgaaact gcacccacaa 7560

aggtagaact agagttgtcc aagcaaataa tccaagcatg tgaagtcagg cgcggggacg 7620

cccctaacct ccaactcccc tacaagcttt atcctgtcag gggggacccc gagcggcgta 7680

aaggtcgcct tgtcaacact aggtttggag atttacctta caaaactccc caagacacca 7740

agtccgcaat tcatgcggct tgttgcctgc atcccaatgg ggtcctcgtg tctgatggta 7800

aatccacgct gggtaccact cttcaacatg gtttcgagct ttatgtcccc actgtacctt 7860

atagtgtcat ggaatacctt gattcacgcc ctgacacccc ttttatgtgt actaaacatg 7920

gcacttccaa ggctgctgca gaggacctcc aaaaatatga cctatccact caagggtttg 7980

tcttgcctgg ggtcctacgc ctagtgcgca ggttcatctt tagccatgtt ggtaaggcgc 8040

caccactgtt ccttccatca acctaccctg ccaagaactc catggcaggg gtcaatggcc 8100

agaggttccc aacaaaggat gtccagagca tacctgaaat tgatgaaatg tgcgcccgtg 8160

ccgtcaagga aaattggcag actgtgacac cttgcaccct caaaaaacag tactgttcca 8220

aacctaaaac tagaaccatc ctaggtacca acaacttcat agccttggct cacaggtcag 8280

cactcagtgg tgtcacccag gcgttcatga agaaggcctg gaagtcccca attgccttgg 8340

ggaaaaacaa gtttaaggaa ttgcattgca ctgtcgccgg cagatgcctt gaggctgacc 8400

tggcttcctg cgatcgcagc acccccgcca ttgtgaggtg gtttgttgcc aacctcctgt 8460

atgaacttgc aggatgtgaa gagtacttgc ctagctacgt gctcaactgt tgccatgacc 8520

ttgtggcaac gcaggatggc gctttcacaa aacgcggtgg cctgtcgtcc ggggaccccg 8580

tcaccagtgt gtccaacacc gtctactcac tgataattta cgcccagcac atggtgcttt 8640

cggccttgaa gatgggtcat gaaattggtc tcaagttcct tgaggaacag ctcaaatttg 8700

aggaccttct tgaaatccag cccatgttag tgtattctga tgacctcgtc ttgtatgcgg 8760

aaagacccac ttttcccaac taccattggt gggtcgagca tcttgacctg atgttgggct 8820

ttaaaacgga cccaaagaaa actgtcataa ctgataaacc cagttttctc ggctgcagaa 8880

ttgaagcagg acggcagtta gtccccaatc gcgaccgtat tctggctgct cttgcatatc 8940

atatgaaggc gcagaacgcc tcagagtatt atgcgtccgc tgccgcaatt ctgatggatt 9000

cgtgtgcttg cattgaccat gaccccgagt ggtatgagga ccttatctgc ggcatcgccc 9060

ggtgtgctcg ccaggacggt taccgttttc caggcccggc atttttcatg tccatgtggg 9120

agaagctgaa aagtcataac gaagggaaga aatgccgtca ctgcggcatc tgcgacgcca 9180

aagccgacta tgcgtccgcc tgtggacttg atttgtgttt gttccattca cactttcatc 9240

aacactgccc agtcactctg agctgtggcc accatgccgg ttcaaaggaa tgttcgcagt 9300

gtcagtcacc tgtcggggct ggcaaatccc cccttgacgc tgtgctgaaa caaatcccgt 9360

acaaacctcc tcgtaccatt atcatgaagg tggacaacaa aacaacgacc cttgacccgg 9420

gaagatatca gtcccgtcga ggtcttgttg cagtcaaaag aggtattgca ggtaatgagg 9480

ttgatctttc tgatggagac taccaagtgg tgcctctttt gccgacttgc aaagacataa 9540

acatggtgaa ggtggcttgc aacgtactac tcagcaagtt tatagtaggg ccgccaggtt 9600

ccggaaaaac cacctggcta ctgaaccaag tccaggacga tgatgtcatt tacacaccta 9660

ctcatcagac aatgtttgac atagtcagtg ctcttaaagt ttgcaggtat tccatcccag 9720

gagcctcagg actccctttt ccaccacctg ccaggtccgg gccgtgggtt aggctcatcg 9780

ccagcggaca tgtccctggc cgagtgtcat atctcgatga ggcaggatat tgcaatcatc 9840

tagacattct aaggctgctt tccaaaacac cccttgtgtg tttgggtgac cttcagcaac 9900

ttcacccggt cggctttgat tcctattgtt atgtgttcga tcagatgcct cagaagcagc 9960

tgaccaccat ttatagattt ggccctaaca tctgtgcagc catccagcct tgttacaggg 10020

agaaacttga atccaaggcc aggaacacca gagtggtttt caccacccgg cctgtggcct 10080

ttggtcaggt cctgacaccg taccacaaag atcgtaccgg ctctgcaata actatagatt 10140

catcccaggg ggcgaccttc gacattgtga cattgcatct accatcgcca aagtccctaa 10200

acaaatcccg agcacttgta gccatcactc gggcaagaca tgggttgttc atttatgacc 10260

ctcatgacca actccaggag tttttcaact taacccccga gcgcactgat tgtaaccttg 10320

cgttcagccg tggggatgag ctggttgttt tgaatgtgga taatgcggtc acaactgtag 10380

cgaaggccct agagacaggt tcaccccgat ttcgagtatc ggacccgagg tgcaagtctc 10440

tcttagccgc ttgttcggcc agtctagaag ggagctgcat gccactacca caagtagcac 10500

ataacctggg gttttacttt tccccggaca gcccagcttt tgcacccctg ccaaaagagc 10560

tggcgccaca ttggccagtg gtcacccacc agaataatcg agcgtggcct gatcgacttg 10620

tcgctagtat gcgcccaatt gatgcccgct acagcaagcc aatggtcggt gcagggtatg 10680

tggtcgggcc atccattttt cttggcactc ctggtgtggt gtcatactat ctcacattat 10740

acatcggggg cgagcctcag gccctgccag aaacactcgt ttcaacagga cgtatagcca 10800

cagattgtcg ggaatatctc gacgcggctg aggaagaggc agcgagagaa cttccccacg 10860

catttattgg cgatgtcaaa ggcactacgg tcgggggggtg tcaccacatt acatcgaaat 10920

acctacctag gtccctgcct aaagactctg ttgctgtggt tggggtgagt tcgcccggta 10980

gggctgctaa agccgtgtgc actctcaccg atgtgtacct ccccgaactc cgaccatatt 11040

tgcaaccgga gacggcatca aaatgctgga aacttaaact ggatttcagg gatgttcgac 11100

tgatggtctg gaaaggcgcc acagcctatt tccagttgga agggctgaca tggtcagcgc 11160

tgcccgatta tgctaggttc attcagctac ccaaggatgc cgttgtgtac atcgatccgt 11220

gtatagggcc ggcaacagcc aatcgcaagg ttgtgcgaac cacagactgg cgggccgacc 11280

tggcagtgac accgtatgat tacggtgctc aggtcatttt gacaacagcc tggttcgagg 11340

accttgggcc gcagtggaag attttggggt tgcagccttt cagacgaaca tttggctttg 11400

agaacactga agattgggca attctcgcac gccgtatgaa tgacggcaaa gattacactg 11460

actataattg gcattgtgta cgagaacgcc cacacgcaat ttacgggcgc gcccgtgacc 11520

atacgtatca ttttgccctt ggcactgaac tgcaagtaga gctgggcaga ccccggctgc 11580

ctcctgagca agtgccgtga acgcggagtg atgcaatggg ttcactgtgg agtaaaatca 11640

gtcagttgtt cgtggatgcc ttcactgagt tccttgttag tgtggttgac attgtcatct 11700

ttctcgccat attgtttggg ttcactgttg caggctggtt attggtcttc cttctcagag 11760

tggtttgctc cgcgtttctc cgttcgcgct ctgccattca ctctcccgaa ctatcgaagg 11820

tcctatgagg gcttgctacc caactgcaga ccggatgtcc cacaattcgc agttaagcac 11880

ccgttgggta tactttggca tatgcgagtc tcccacctaa ttgacgaaat ggtctctcgc 11940

cgcatttacc ggaccatgga acattcgggt caagcggcct ggaagcaggt tgttagtgaa 12000

gccactctca caaaactgtc aaggcttgac gtagtcactc atttccaaca cctggccgca 12060

gtggaggctg attcttgccg cttccttagc tcacgactcg cgatgctgaa aaaccttgcc 12120

gttggcaatg tgagcctgga gtacaacact actttggacc gcgttgagct catctttccc 12180

acaccaggta cgaggcccaa gttgaccgat tttaggcaat ggcttatcag cgtgcacgct 12240

tccatcttct cctctgtggc ttcgtctgtt accttgttca cagtgctttg gcttcgaatt 12300

ccagctctac gctatgtttt tggtttccat tggcccacgg caacacatca ttcgaactaa 12360

ctatcaatta cactatatgt aagccatgcc ctaccagtca agctgcccaa caaagactcg 12420

agcctggccg taacgtgtgg tgcaaaatag ggcacgacag gtgtgaggaa cgtgaccatg 12480

atgagttgtc aatgtccatt ccgtccgggt acgacaacct caaacttgag ggttattatg 12540

cttggctggc ttttttgtcc ttttcctacg cggcccaatt ccatccggag ctgttcggaa 12600

taggaaacgt gtcgcgcgtc tttgtggata agcgacacca gttcatttgc gccgagcatg 12660

atggacaaaa ttcaaccata tctgccagac acaacatctc cgcgtcgtat gcggtgtatt 12720

accatcatca aatagacggg ggcaattggt ttcatttgga atggctgcga ccattctttt 12780

cctcctggct ggtgctcaac atctcatggt ttctgaggcg ttcgcctgca agccctgctt 12840

ctcgacgcat ctatcagata ttaagaccaa cacgaccgcg gctgccggtt tcatggtcct 12900

tcagaacatc aattgtttcc aatctcacag ggcctcaaca gcgcaaggta ccactcccct 12960

caggaggtcg tcccaatgtc gtgaagccgt cggcattccc cagtacatca cgataacggc 13020

taatgtgacc gatgaatcgt atttgtacaa cgcggacttg ctgatgcttt ccgcgtgcct 13080

tttctacgcc tcggaaatga gcgagaaagg cttcaaagtc atctttggga atatttctgg 13140

cgttgtttcc gcttgtgtta atttcacaga ttatgtggcc catgtgaccc aacacactca 13200

gcagcaccat ttggtaattg atcacattcg gttactacac ttcttgacac cgtctacgat 13260

gaggtgggct acaaccattg cttgtttgtt tgccattctt ttggcggtat gaaatgttct 13320

tgcaagttgg ggcatttctt gactcctcac tcttgcttct ggtggctttt tttgctgtgt 13380

accggcttgt cttggtcctt tgtcgatggc aacgacaaca gctcgacatc ccaatacata 13440

tataatttga cgatatgcga gctgaatggg accgaatggt tgtccggtca ttttgattgg 13500

gcagtcgaaa cctttgtgct ttacccagtt gccactcata tcatttcact gggttttctc 13560

acaacaagcc atttccttga tgcgctcggt ctcggcgctg tgtccgccac aggattcatt 13620

ggcgagcggt atgtacttag cagcatgtac ggcgtttgcg ccttcgcggc gctcgtatgt 13680

tttgtcatcc gtgctgctaa aaattgcatg gcttgccgct atgcccgcac ccggtttacc 13740

aacttcatcg tggacgaccg gggaagaatc catcgatgga agtcttcaat agtggtggag 13800

aaattgggca aagctgaagt cggtggtgac cttgtcaaca ttaagcatgt tgtcctcgaa 13860

ggggttaaag ctcaaccctt gacgaggact tcggctgagc aatgggaagc ctagacgact 13920

tttgcaacga tcccaccgcc gcacaaaaac tcgtgctggc ctttagcatc acatatacac 13980

ccataatgat atacgcccct aaggtgtcac gcggccgact cctggggctg ttgcacatct 14040

tgatatttct gaattgttcc tttacttttg ggtacatgac atatgtgcat tttcaatcca 14100

ccaaccgtgt cgcactcact ctgggggctg tagtcgccct tttgtggggt gtttacagcc 14160

tcacagagtc atggaagttc atcacttcca gatgcagatt gtgttgccta ggccggcgat 14220

acattctggc ccctgcccat cacgtagaaa gtgctgcagg cctccattca atcccagcgt 14280

ctggtaaccg agcatacgct gtgagaaagc ccggactaac atcagtgaac ggcactctag 14340

tacctgggct tcggagcctc gtgctgggcg gcaaacgagc tgttaaacga ggagtggtta 14400

acctcgtcaa gtatggccgg taagaaccag agccagaaga aaagaagaaa tgcagctccg 14460

atggggaaag gccagccagt caatcaactg tgccagttgc tgggtacaat gataaagtcc 14520

cagcgccagc aatctagggg aggacaggcc aaaaagaaga agcctgagaa gccacatttt 14580

cccctagctg ctgaagatga cattcggcac catctcaccc aggccgaacg ttccctctgc 14640

ttgcaatcga tccagacggc tttcaatcaa ggcgcaggaa ctgcgtcgct ttcatccagc 14700

gggaaggtca gtttccaggt tgagttcatg ctgccggttg ctcatacagt gcgcctgatt 14760

cgcgtgactt ctacatccgc cagtcagggt gcaaattaat ttgacagtca ggtgaatggc 14820

cgcgattgac gtgtggcctc taa 14843

<210> 11
<211> 2349
<212> БЕЛОК
<213> Вирус репродуктивно-респираторного синдрома свиней

<400> 11

Met Ser Gly Met Phe Ser Arg Cys Met Cys Thr Pro Ala Ala Arg Val 1
5 10 15

Phe Trp Asn Ala Gly Gln Val Tyr Cys Thr Arg Cys Leu Ser Ala Arg
20 25 30

Ser Leu Leu Ser Pro Glu Leu Gln Asp Thr Asp Leu Gly Ala Val Gly 35
40 45

Leu Phe His Lys Pro Lys Asp Lys Leu His Trp Lys Val Pro Ile Gly 50
55 60

Ile Pro Gln Val Glu Cys Ser Pro Ser Gly Cys Cys Trp Leu Ser Thr 65
70 75 80

Ile Phe Pro Leu Ala Arg Met Thr Ser Gly Asn His Asn Phe Leu Gln
85 90 95

Arg Leu Val Lys Val Ala Asp Val Leu Tyr Arg Asp Gly Cys Leu Thr
100 105 110

Pro Arg His Leu Arg Glu Leu Gln Val Tyr Glu Arg Gly Cys Asn Trp 115
120 125

Tyr Pro Ile Thr Gly Pro Val Pro Gly Met Ala Val Tyr Ala Asn Ser 130
135 140

Met His Val Ser Asp Gln Pro Phe Pro Gly Ala Thr His Val Leu Thr 145
150 155 160

Asn Ser Pro Leu Pro Gln Arg Ala Cys Arg Gln Pro Phe Cys Pro Phe
165 170 175

Glu Glu Ala His Ser Ser Ile Tyr Arg Trp Glu Lys Phe Val Ile Phe
180 185 190

Met Asp Ser Ser Ser Asp Gly Arg Ser Arg Met Met Trp Thr Pro Glu 195
200 205

Ser Asp Asp Ser Thr Ala Leu Glu Val Leu Pro Pro Glu Leu Glu His 210
215 220

Gln Val Lys Val Leu Val Arg Ser Phe Pro Ala His His Leu Val Asp 225
230 235 240

Leu Ala Asp Trp Glu Leu Thr Glu Ser Pro Glu Asn Gly Phe Ser Phe
245 250 255

Ser Thr Ser His Pro Cys Gly Tyr Leu Val Arg Asp Pro Ala Val Ser
260 265 270

Glu Gly Lys Cys Trp Leu Ser Cys Phe Leu Ser Gln Ser Ala Glu Val 275
280 285

Leu Ser Arg Glu Ala His Leu Ala Thr Ala Tyr Gly Tyr Gln Thr Lys 290
295 300

Trp Gly Val Pro Gly Lys Tyr Ile Gln Arg Arg Leu Gln Val His Gly 305
310 315 320

Leu Arg Ala Val Val Asp Pro Asp Gly Pro Ile His Val Glu Ala Leu
325 330 335

Ser Cys Pro Gln Ser Trp Ile Arg His Leu Thr Leu Asn Asp Asp Val
340 345 350

Thr Pro Gly Phe Val Arg Leu Met Ser Leu Arg Ile Val Pro Asn Thr 355
360 365

Glu Pro Thr Thr His Arg Ile Phe Arg Phe Gly Val His Lys Trp Tyr 370
375 380

Gly Ala Ala Gly Lys Arg Ala Arg Gly Lys Arg Ala Ala Lys Ser Glu 385
390 395 400

Lys Asp Ser Ala Ser Thr Leu Lys Val Ala Arg Pro Thr Ser Thr Ser
405 410 415

Gly Ile Val Thr Tyr Ser Pro Pro Ala Asp Gly Ser Cys Gly Trp His
420 425 430

Ala Leu Ala Ala Ile Leu Asn Arg Met Ile Asn Asn Asp Phe Thr Ser 435
440 445

Pro Leu Pro Arg Tyr Asn Arg Pro Glu Asp Asp Trp Ala Ser Asp Gly 450
455 460

Asp Leu Ala Gln Ala Ile Gln Cys Leu Gln Leu Pro Ala Ala Ile Ala 465
470 475 480

Arg Asn Arg Ala Cys Pro Asn Ala Lys Tyr Leu Val Lys Leu Asn Gly
485 490 495

Val His Trp Glu Val Glu Val Arg Pro Gly Met Ala Pro Arg Ser Leu
500 505 510

Ser Arg Glu Cys Val Val Gly Val Cys Ser Glu Gly Cys Val Ala Ser 515
520 525

Pro Tyr Pro Glu Asp Gly Leu Pro Lys Arg Ala Leu Glu Ala Leu Ala 530
535 540

Ser Ala Tyr Arg Leu Pro Ser Asp Cys Val Cys Asp Gly Ile Ile Asp 545
550 555 560

```
Phe Leu Ala Asn Pro Pro Pro Gln Glu Phe Trp Thr Leu Asp Lys Met
565                 570                 575

Leu Thr Ser Pro Ser Pro Glu Gln Ser Gly Phe Ser Ser Leu Tyr Lys
580                 585                 590

Leu Leu Leu Glu Val Leu Pro Gln Lys Cys Gly Ser Thr Glu Gly Glu          595
600                 605

Phe Ile Tyr Thr Val Glu Arg Met Leu Lys Asp Cys Pro Ser Ser Lys      610
615                 620

Gln Ala Met Ala Leu Leu Ala Lys Ile Lys Val Pro Ser Ser Lys Ala 625
630                 635                 640

Pro Ser Val Thr Leu Asn Glu Cys Phe Pro Thr Asp Val Pro Val Asn
645                 650                 655

Ser Glu Leu Ile Ser Trp Glu Glu Pro Lys Asp Pro Gly Ala Ala Val
660                 665                 670

Val Leu Cys Pro Ser Asp Ala Lys Glu Ser Lys Glu Thr Ala Pro Glu          675
680                 685

Glu Ala Gln Ala Arg Asn Arg Lys Val Leu His Pro Val Val Leu Thr      690
695                 700

Glu Glu Leu Ser Glu Gln Gln Val Gln Val Val Glu Gly Asp Gln Asp 705
710                 715                 720
```

Met Pro Leu Asp Leu Thr Trp Pro Thr Leu Thr Ala Thr Ala Thr Pro
725 730 735

Val Arg Gly Pro Val Pro Asp Asn Leu Ser Ser Gly Ile Gly Ala Gln
740 745 750

Pro Ala Thr Val Gln Glu Leu Ile Leu Ala Arg Pro Ala Pro Arg Leu 755
760 765

Val Glu Arg Cys Gly Thr Glu Ser Asn Gly Ser Ser Ser Phe Leu Asp 770
775 780

Leu Pro Asp Val Gln Thr Ser Asp Gln Pro Leu Asp Leu Ser Leu Ala 785
790 795 800

Ala Trp Pro Val Arg Ala Thr Ala Ser Asp Pro Gly Trp Ile His Gly
805 810 815

Arg Arg Glu Pro Val Phe Val Lys Pro Arg Gly Val Phe Ser Asp Gly
820 825 830

Glu Ser Ala Leu Gln Phe Gly Glu Leu Ser Glu Ala Ser Ser Val Val 835
840 845

Asp Asp Arg Thr Lys Glu Ala Pro Val Val Asp Ala Pro Ile Asp Leu 850
855 860

Thr Thr Ser Asn Glu Thr Leu Ser Gly Ser Asp Pro Phe Glu Phe Ala 865
870 875 880

Lys Phe Arg Arg Pro Arg Phe Ser Ala Gln Ala Leu Ile Asp Arg Gly
885 890 895

Gly Pro Leu Ala Asp Val His Ala Lys Ile Lys Ser Arg Val Tyr Glu
900 905 910

Gln Cys Leu Gln Ala Cys Glu Pro Gly Ser Arg Ala Thr Pro Ala Thr 915
920 925

Lys Lys Trp Leu Asp Lys Met Trp Asp Arg Val Asp Met Lys Thr Trp 930
935 940

Arg Cys Thr Ser Gln Phe Gln Ala Gly His Ile Leu Glu Ser Leu Lys 945
950 955 960

Phe Leu Pro Asp Met Ile Gln Asp Thr Pro Pro Pro Val Pro Arg Lys
965 970 975

Asn Arg Ala Gly Asp Ser Ala Gly Leu Lys Gln Leu Val Ala Gln Trp
980 985 990

Asp Arg Lys Leu Ser Val Thr Pro Pro Thr Lys Pro Val Gly Pro Val 995
1000 1005

Leu Asp Gln Thr Val Pro Leu Pro Met Asp Ile Gln Gln Glu Asp 1010
1015 1020

Ala Ile Ser Ala Asp Lys Pro Pro His Ser Gln Asn Pro Ser Ser 1025
1030 1035

Gln Val Asp Val Gly Gly Gly Trp Lys Ser Phe Met Leu Ser Gly 1040
1045 1050

Thr Arg Phe Ala Gly Ser Val Ser Gln Arg Leu Thr Thr Trp Val 1055
1060 1065

Phe Glu Val Leu Ser His Leu Pro Ala Phe Met Leu Thr Leu Phe 1070
1075 1080

Ser Pro Arg Gly Ser Met Ala Pro Gly Asp Trp Leu Phe Ala Gly 1085
1090 1095

Ala Val Leu Leu Ala Leu Leu Leu Cys Arg Ser Tyr Pro Ile Leu 1100
1105 1110

Gly Cys Leu Pro Leu Leu Gly Val Phe Ser Gly Ser Val Arg Cys 1115
1120 1125

Val Arg Leu Gly Val Phe Gly Ser Trp Met Ala Phe Ala Val Phe 1130
1135 1140

Leu Phe Ser Thr Pro Pro Asp Pro Val Gly Ser Ser Cys Asp His 1145
1150 1155

Asp Ser Pro Glu Cys His Ala Glu Leu Leu Ala Leu Glu Gln Arg 1160
1165 1170

Gln Leu Trp Glu Pro Val Arg Ser Leu Val Val Gly Pro Ser Gly 1175
1180 1185

Leu Leu Cys Val Ile Leu Gly Lys Leu Leu Gly Gly Ser Arg Cys 1190
1195 1200

```
Leu Trp  Phe Val Leu Leu Arg  Ile Cys Met Leu Ala  Asp Leu Ala     1205
1210                 1215

Ile Ser  Leu Ile Tyr Val Val  Ser Gln Gly Arg Cys  His Lys Cys     1220
1225                 1230

Trp Gly  Lys Cys Ile Arg Thr  Ala Pro Ala Glu Val  Thr Leu Asn     1235
1240                 1245

Val Phe  Pro Phe Ser Arg Ala  Thr Arg Ser Ser Leu  Val Ser Leu     1250
1255                 1260

Cys Asp  Arg Phe Gln Ala Pro  Lys Gly Val Asp Pro  Val His Leu     1265
1270                 1275

Ala Thr  Gly Trp Arg Gly Cys  Trp Cys Gly Glu Ser  Pro Ile His     1280
1285                 1290

Gln Ser  His Gln Lys Pro Ile  Ala Tyr Ala Asn Leu  Asp Glu Lys     1295
1300                 1305

Lys Ile  Ser Ala Gln Thr Val  Ile Ala Val Pro Tyr  Asp Pro Ser     1310
1315                 1320

Gln Ala  Ile Lys Cys Leu Lys  Val Leu Gln Ala Gly  Gly Ala Ile     1325
1330                 1335

Val Asp  Gln Pro Thr Pro Glu  Val Val Arg Val Ser  Glu Ile Pro     1340
1345                 1350
```

Phe Ser Ala Pro Phe Phe Pro Lys Val Pro Val Asn Pro Asp Cys 1355
1360 1365

Arg Val Val Val Asp Ser Asp Thr Phe Val Ala Ala Val Arg Cys 1370
1375 1380

Gly Tyr Ser Thr Ala Gln Leu Val Leu Gly Arg Gly Asn Phe Ala 1385
1390 1395

Lys Leu Asn Gln Thr Pro Leu Arg Asn Ser Val Pro Thr Lys Thr 1400
1405 1410

Thr Gly Gly Ala Ser Tyr Thr Leu Ala Val Ala Gln Val Ser Val 1415
1420 1425

Trp Thr Leu Val His Phe Ile Leu Gly Leu Trp Leu Thr Ser Pro 1430
1435 1440

Gln Val Cys Gly Arg Gly Thr Ser Asp Pro Trp Cys Ser Asn Pro 1445
1450 1455

Phe Ser Tyr Pro Thr Tyr Gly Pro Gly Val Val Cys Ser Ser Arg 1460
1465 1470

Leu Cys Val Ser Ala Asp Gly Val Thr Leu Pro Leu Phe Ser Ala 1475
1480 1485

Val Ala His Leu Ser Gly Arg Glu Val Gly Ile Phe Ile Leu Val 1490
1495 1500

Leu Ala Ser Leu Gly Ala Leu Ala His Arg Leu Ala Leu Lys Ala 1505
1510 1515

```
Asp Met  Ser Met Val Phe Leu  Ala Phe Cys Ala Tyr  Ala Trp Pro     1520
1525                1530

Met Ser  Ser Trp Leu Ile Cys  Phe Phe Pro Met Leu  Leu Arg Trp     1535
1540                1545

Val Thr  Leu His Pro Leu Thr  Met Leu Trp Val His  Ser Phe Leu     1550
1555                1560

Val Phe  Cys Leu Pro Ala Ala  Gly Val Leu Ser Leu  Gly Ile Thr     1565
1570                1575

Gly Leu  Leu Trp Ala Val Gly  Arg Phe Thr Gln Val  Ala Gly Ile     1580
1585                1590

Ile Thr  Pro Tyr Asp Ile His  Gln Tyr Thr Ser Gly  Pro Arg Gly     1595
1600                1605

Ala Ala  Ala Val Ala Thr Ala  Pro Glu Gly Thr Tyr  Met Ala Ala     1610
1615                1620

Val Arg  Arg Ala Ala Leu Thr  Gly Arg Thr Leu Ile  Phe Thr Pro     1625
1630                1635

Ser Ala  Val Gly Ser Leu Leu  Glu Gly Ala Phe Arg  Thr Gln Lys     1640
1645                1650

Pro Cys  Leu Asn Thr Val Asn  Val Val Gly Ser Ser  Leu Gly Ser     1655
1660                1665
```

Gly Gly Val Phe Thr Ile Asp Gly Arg Arg Val Ile Val Thr Ala 1670
1675 1680

Thr His Val Leu Asn Gly Asn Thr Ala Arg Val Thr Gly Asp Ser 1685
1690 1695

Tyr Asn Arg Met His Thr Phe Asn Thr Asn Gly Asp Tyr Ala Trp 1700
1705 1710

Ser His Ala Asp Asp Trp Gln Gly Val Ala Pro Met Val Lys Ile 1715
1720 1725

Ala Lys Gly Tyr Arg Gly Arg Ala Tyr Trp Gln Thr Ser Thr Gly 1730
1735 1740

Val Glu Pro Gly Ile Met Gly Glu Gly Phe Ala Phe Cys Phe Thr 1745
1750 1755

Asn Cys Gly Asp Ser Gly Ser Pro Val Ile Ser Glu Ala Gly Asp 1760
1765 1770

Leu Ile Gly Val His Thr Gly Ser Asn Lys Leu Gly Ser Gly Leu 1775
1780 1785

Val Thr Thr Pro Glu Gly Glu Thr Cys Ser Ile Lys Glu Thr Arg 1790
1795 1800

Leu Ser Asp Leu Ser Arg His Phe Ala Gly Pro Ser Val Pro Leu 1805
1810 1815

Gly Asp Ile Lys Leu Ser Pro Ala Ile Ile Pro Asp Val Thr Thr 1820
1825 1830

Ile Pro Ser Asp Leu Ala Ser Leu Leu Ala Ser Val Pro Val Met 1835
1840 1845

Glu Gly Gly Leu Ser Thr Val Gln Leu Leu Cys Val Phe Phe Leu 1850
1855 1860

Leu Trp Arg Met Met Gly His Ala Trp Thr Pro Ile Val Ala Val 1865
1870 1875

Gly Phe Phe Leu Leu Asn Glu Ile Leu Pro Ala Val Leu Val Arg 1880
1885 1890

Ala Val Phe Ser Phe Ala Leu Phe Val Leu Ala Trp Ala Thr Pro 1895
1900 1905

Trp Ser Ala Gln Val Leu Met Ile Arg Leu Leu Thr Ala Ala Leu 1910
1915 1920

Asn Arg Asn Arg Leu Ser Leu Ala Phe Tyr Ala Leu Gly Gly Val 1925
1930 1935

Val Gly Leu Ala Thr Glu Ile Gly Thr Phe Ala Gly Gly Trp Pro 1940
1945 1950

Glu Leu Ser Gln Ala Leu Ser Thr Tyr Cys Phe Leu Pro Arg Phe 1955
1960 1965

Leu Ala Val Thr Ser Tyr Val Pro Thr Ile Ile Ile Gly Gly Leu 1970
1975 1980

His Ala Leu Gly Val Ile Leu Trp Leu Phe Lys Tyr Arg Cys Leu 1985
1990 1995

His Asn Met Leu Val Gly Asp Gly Ser Phe Ser Ser Ala Phe Phe 2000
2005 2010

Leu Arg Tyr Phe Ala Glu Gly Asn Leu Arg Lys Gly Val Ser Gln 2015
2020 2025

Ser Cys Gly Met Asn Asn Glu Ser Leu Thr Ala Ala Leu Ala Cys 2030
2035 2040

Lys Leu Ser Gln Ala Asp Leu Asp Phe Leu Ser Ser Leu Thr Asn 2045
2050 2055

Phe Lys Cys Phe Val Ser Ala Ser Asn Met Lys Asn Ala Ala Gly 2060
2065 2070

Gln Tyr Ile Glu Ala Ala Tyr Ala Arg Ala Leu Arg Gln Glu Leu 2075
2080 2085

Ala Ser Leu Val Gln Val Asp Lys Met Lys Gly Val Leu Ala Lys 2090
2095 2100

Leu Glu Ala Phe Ala Glu Thr Ala Thr Pro Ser Leu Asp Thr Gly 2105
2110 2115

Asp Val Ile Val Leu Leu Gly Gln His Pro His Gly Ser Ile Leu 2120
2125 2130

```
Asp Ile  Asn Val Gly Gly Glu  Arg Lys Thr Val Ser  Val Gln Glu     2135
2140                2145

Thr Arg  Cys Leu Gly Gly Ser  Lys Phe Ser Val Cys  Thr Val Val     2150
2155                2160

Ser Asn  Thr Pro Val Asp Thr  Leu Thr Gly Ile Pro  Leu Gln Thr     2165
2170                2175

Pro Thr  Pro Leu Phe Glu Asn  Gly Pro Arg His Arg  Ser Glu Asp     2180
2185                2190

Asp Asp  Leu Lys Val Glu Arg  Met Lys Lys His Cys  Val Ser Leu     2195
2200                2205

Gly Phe  His Lys Ile Asn Gly  Lys Val Tyr Cys Lys  Ile Trp Asp     2210
2215                2220

Lys Ser  Asn Gly Asp Thr Phe  Tyr Thr Asp Asp Ser  Arg Tyr Thr     2225
2230                2235

Gln Asp  His Ala Phe Gln Asp  Arg Ser Thr Asp Tyr  Arg Asp Arg     2240
2245                2250

Asp Tyr  Glu Gly Val Gln Thr  Ala Pro Gln Gln Gly  Phe Asp Pro     2255
2260                2265

Lys Ser  Glu Ala Pro Val Gly  Thr Val Val Ile Gly  Gly Ile Thr     2270
2275                2280
```

Tyr Asn Arg His Leu Val Lys Gly Lys Glu Val Leu Val Pro Lys 2285
2290 2295

Pro Asp Asn Cys Leu Glu Ala Ala Arg Leu Ser Leu Glu Gln Ala 2300
2305 2310

Leu Ala Gly Met Gly Gln Thr Cys Asp Leu Thr Ala Thr Glu Val 2315
2320 2325

Glu Lys Leu Lys Arg Ile Ile Ser Gln Leu Gln Gly Leu Thr Thr 2330
2335 2340

Glu Gln Ala Leu Asn Cys 2345

<210> 12
<211> 1463
<212> БЕЛОК
<213> Вирус репродуктивно-респираторного синдрома свиней

<400> 12

Thr Gly Phe Lys Leu Leu Ala Ala Ser Gly Leu Thr Arg Cys Gly Arg 1
5 10 15

Gly Gly Leu Val Val Thr Glu Thr Ala Val Lys Ile Val Lys Tyr His
20 25 30

Ser Arg Thr Phe Thr Leu Gly Ser Leu Asp Leu Lys Val Thr Ser Glu 35
40 45

Val Glu Val Lys Lys Ser Thr Glu Gln Gly His Ala Val Val Ala Asn 50
55 60

```
Leu Cys Ser Gly Val Val Leu Met Arg Pro His Pro Pro Ser Leu Val 65
70                  75                  80

Asp Val Leu Leu Lys Pro Gly Leu Asp Thr Thr Pro Gly Ile Gln Pro
85                  90                  95

Gly His Gly Ala Gly Asn Met Gly Val Asn Gly Ser Ile Trp Asp Phe
100                 105                 110

Glu Thr Ala Pro Thr Lys Val Glu Leu Glu Leu Ser Lys Gln Ile Ile         115
120                 125

Gln Ala Cys Glu Val Arg Arg Gly Asp Ala Pro Asn Leu Gln Leu Pro     130
135                 140

Tyr Lys Leu Tyr Pro Val Arg Gly Asp Pro Glu Arg Arg Lys Gly Arg 145
150                 155                 160

Leu Val Asn Thr Arg Phe Gly Asp Leu Pro Tyr Lys Thr Pro Gln Asp
165                 170                 175

Thr Lys Ser Ala Ile His Ala Ala Cys Cys Leu His Pro Asn Gly Val
180                 185                 190

Leu Val Ser Asp Gly Lys Ser Thr Leu Gly Thr Thr Leu Gln His Gly         195
200                 205

Phe Glu Leu Tyr Val Pro Thr Val Pro Tyr Ser Val Met Glu Tyr Leu     210
215                 220

Asp Ser Arg Pro Asp Thr Pro Phe Met Cys Thr Lys His Gly Thr Ser 225
230                 235                 240
```

Lys Ala Ala Ala Glu Asp Leu Gln Lys Tyr Asp Leu Ser Thr Gln Gly
245 250 255

Phe Val Leu Pro Gly Val Leu Arg Leu Val Arg Arg Phe Ile Phe Ser
260 265 270

His Val Gly Lys Ala Pro Pro Leu Phe Leu Pro Ser Thr Tyr Pro Ala 275
280 285

Lys Asn Ser Met Ala Gly Val Asn Gly Gln Arg Phe Pro Thr Lys Asp 290
295 300

Val Gln Ser Ile Pro Glu Ile Asp Glu Met Cys Ala Arg Ala Val Lys 305
310 315 320

Glu Asn Trp Gln Thr Val Thr Pro Cys Thr Leu Lys Lys Gln Tyr Cys
325 330 335

Ser Lys Pro Lys Thr Arg Thr Ile Leu Gly Thr Asn Asn Phe Ile Ala
340 345 350

Leu Ala His Arg Ser Ala Leu Ser Gly Val Thr Gln Ala Phe Met Lys 355
360 365

Lys Ala Trp Lys Ser Pro Ile Ala Leu Gly Lys Asn Lys Phe Lys Glu 370
375 380

Leu His Cys Thr Val Ala Gly Arg Cys Leu Glu Ala Asp Leu Ala Ser 385
390 395 400

Cys Asp Arg Ser Thr Pro Ala Ile Val Arg Trp Phe Val Ala Asn Leu
405 410 415

Leu Tyr Glu Leu Ala Gly Cys Glu Glu Tyr Leu Pro Ser Tyr Val Leu
420 425 430

Asn Cys Cys His Asp Leu Val Ala Thr Gln Asp Gly Ala Phe Thr Lys 435
440 445

Arg Gly Gly Leu Ser Ser Gly Asp Pro Val Thr Ser Val Ser Asn Thr 450
455 460

Val Tyr Ser Leu Ile Ile Tyr Ala Gln His Met Val Leu Ser Ala Leu 465
470 475 480

Lys Met Gly His Glu Ile Gly Leu Lys Phe Leu Glu Glu Gln Leu Lys
485 490 495

Phe Glu Asp Leu Leu Glu Ile Gln Pro Met Leu Val Tyr Ser Asp Asp
500 505 510

Leu Val Leu Tyr Ala Glu Arg Pro Thr Phe Pro Asn Tyr His Trp Trp 515
520 525

Val Glu His Leu Asp Leu Met Leu Gly Phe Lys Thr Asp Pro Lys Lys 530
535 540

Thr Val Ile Thr Asp Lys Pro Ser Phe Leu Gly Cys Arg Ile Glu Ala 545
550 555 560

```
Gly Arg Gln Leu Val Pro Asn Arg Asp Arg Ile Leu Ala Ala Leu Ala
565                 570                 575

Tyr His Met Lys Ala Gln Asn Ala Ser Glu Tyr Tyr Ala Ser Ala Ala
580                 585                 590

Ala Ile Leu Met Asp Ser Cys Ala Cys Ile Asp His Asp Pro Glu Trp         595
600                 605

Tyr Glu Asp Leu Ile Cys Gly Ile Ala Arg Cys Ala Arg Gln Asp Gly     610
615                 620

Tyr Arg Phe Pro Gly Pro Ala Phe Phe Met Ser Met Trp Glu Lys Leu 625
630                 635                 640

Lys Ser His Asn Glu Gly Lys Lys Cys Arg His Cys Gly Ile Cys Asp
645                 650                 655

Ala Lys Ala Asp Tyr Ala Ser Ala Cys Gly Leu Asp Leu Cys Leu Phe
660                 665                 670

His Ser His Phe His Gln His Cys Pro Val Thr Leu Ser Cys Gly His         675
680                 685

His Ala Gly Ser Lys Glu Cys Ser Gln Cys Gln Ser Pro Val Gly Ala     690
695                 700

Gly Lys Ser Pro Leu Asp Ala Val Leu Lys Gln Ile Pro Tyr Lys Pro 705
710                 715                 720

Pro Arg Thr Ile Ile Met Lys Val Asp Asn Lys Thr Thr Thr Leu Asp
725                 730                 735
```

```
Pro Gly Arg Tyr Gln Ser Arg Arg Gly Leu Val Ala Val Lys Arg Gly
740                 745                 750

Ile Ala Gly Asn Glu Val Asp Leu Ser Asp Gly Asp Tyr Gln Val Val         755
760                 765

Pro Leu Leu Pro Thr Cys Lys Asp Ile Asn Met Val Lys Val Ala Cys     770
775                 780

Asn Val Leu Leu Ser Lys Phe Ile Val Gly Pro Pro Gly Ser Gly Lys 785
790                 795                 800

Thr Thr Trp Leu Leu Asn Gln Val Gln Asp Asp Asp Val Ile Tyr Thr
805                 810                 815

Pro Thr His Gln Thr Met Phe Asp Ile Val Ser Ala Leu Lys Val Cys
820                 825                 830

Arg Tyr Ser Ile Pro Gly Ala Ser Gly Leu Pro Phe Pro Pro Pro Ala         835
840                 845

Arg Ser Gly Pro Trp Val Arg Leu Ile Ala Ser Gly His Val Pro Gly     850
855                 860

Arg Val Ser Tyr Leu Asp Glu Ala Gly Tyr Cys Asn His Leu Asp Ile 865
870                 875                 880

Leu Arg Leu Leu Ser Lys Thr Pro Leu Val Cys Leu Gly Asp Leu Gln
885                 890                 895
```

Gln Leu His Pro Val Gly Phe Asp Ser Tyr Cys Tyr Val Phe Asp Gln
900 905 910

Met Pro Gln Lys Gln Leu Thr Thr Ile Tyr Arg Phe Gly Pro Asn Ile 915
920 925

Cys Ala Ala Ile Gln Pro Cys Tyr Arg Glu Lys Leu Glu Ser Lys Ala 930
935 940

Arg Asn Thr Arg Val Val Phe Thr Thr Arg Pro Val Ala Phe Gly Gln 945
950 955 960

Val Leu Thr Pro Tyr His Lys Asp Arg Thr Gly Ser Ala Ile Thr Ile
965 970 975

Asp Ser Ser Gln Gly Ala Thr Phe Asp Ile Val Thr Leu His Leu Pro
980 985 990

Ser Pro Lys Ser Leu Asn Lys Ser Arg Ala Leu Val Ala Ile Thr Arg 995
1000 1005

Ala Arg His Gly Leu Phe Ile Tyr Asp Pro His Asp Gln Leu Gln 1010
1015 1020

Glu Phe Phe Asn Leu Thr Pro Glu Arg Thr Asp Cys Asn Leu Ala 1025
1030 1035

Phe Ser Arg Gly Asp Glu Leu Val Val Leu Asn Val Asp Asn Ala 1040
1045 1050

```
Val Thr  Thr Val Ala Lys Ala  Leu Glu Thr Gly Ser  Pro Arg Phe     1055
1060                1065

Arg Val  Ser Asp Pro Arg Cys  Lys Ser Leu Leu Ala  Ala Cys Ser     1070
1075                1080

Ala Ser  Leu Glu Gly Ser Cys  Met Pro Leu Pro Gln  Val Ala His     1085
1090                1095

Asn Leu  Gly Phe Tyr Phe Ser  Pro Asp Ser Pro Ala  Phe Ala Pro     1100
1105                1110

Leu Pro  Lys Glu Leu Ala Pro  His Trp Pro Val Val  Thr His Gln     1115
1120                1125

Asn Asn  Arg Ala Trp Pro Asp  Arg Leu Val Ala Ser  Met Arg Pro     1130
1135                1140

Ile Asp  Ala Arg Tyr Ser Lys  Pro Met Val Gly Ala  Gly Tyr Val     1145
1150                1155

Val Gly  Pro Ser Ile Phe Leu  Gly Thr Pro Gly Val  Val Ser Tyr     1160
1165                1170

Tyr Leu  Thr Leu Tyr Ile Gly  Gly Glu Pro Gln Ala  Leu Pro Glu     1175
1180                1185

Thr Leu  Val Ser Thr Gly Arg  Ile Ala Thr Asp Cys  Arg Glu Tyr     1190
1195                1200

Leu Asp  Ala Ala Glu Glu Glu  Ala Ala Arg Glu Leu  Pro His Ala     1205
1210                1215
```

Phe Ile Gly Asp Val Lys Gly Thr Thr Val Gly Gly Cys His His 1220
1225 1230

Ile Thr Ser Lys Tyr Leu Pro Arg Ser Leu Pro Lys Asp Ser Val 1235
1240 1245

Ala Val Val Gly Val Ser Ser Pro Gly Arg Ala Ala Lys Ala Val 1250
1255 1260

Cys Thr Leu Thr Asp Val Tyr Leu Pro Glu Leu Arg Pro Tyr Leu 1265
1270 1275

Gln Pro Glu Thr Ala Ser Lys Cys Trp Lys Leu Lys Leu Asp Phe 1280
1285 1290

Arg Asp Val Arg Leu Met Val Trp Lys Gly Ala Thr Ala Tyr Phe 1295
1300 1305

Gln Leu Glu Gly Leu Thr Trp Ser Ala Leu Pro Asp Tyr Ala Arg 1310
1315 1320

Phe Ile Gln Leu Pro Lys Asp Ala Val Val Tyr Ile Asp Pro Cys 1325
1330 1335

Ile Gly Pro Ala Thr Ala Asn Arg Lys Val Val Arg Thr Thr Asp 1340
1345 1350

Trp Arg Ala Asp Leu Ala Val Thr Pro Tyr Asp Tyr Gly Ala Gln 1355
1360 1365

Val Ile Leu Thr Thr Ala Trp Phe Glu Asp Leu Gly Pro Gln Trp 1370
1375 1380

Lys Ile Leu Gly Leu Gln Pro Phe Arg Arg Thr Phe Gly Phe Glu 1385
1390 1395

Asn Thr Glu Asp Trp Ala Ile Leu Ala Arg Arg Met Asn Asp Gly 1400
1405 1410

Lys Asp Tyr Thr Asp Tyr Asn Trp His Cys Val Arg Glu Arg Pro 1415
1420 1425

His Ala Ile Tyr Gly Arg Ala Arg Asp His Thr Tyr His Phe Ala 1430
1435 1440

Leu Gly Thr Glu Leu Gln Val Glu Leu Gly Arg Pro Arg Leu Pro 1445
1450 1455

Pro Glu Gln Val Pro 1460

<210> 13
<211> 249
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ОРС 2 родительского штамма PRRSV 94881, кодируемая участком последовательности SEQ ID NO:10, расположенным между нуклеотидами 11611..12360

<400> 13

Met Gln Trp Val His Cys Gly Val Lys Ser Val Ser Cys Ser Trp Met 1
5 10 15

```
Pro Ser Leu Ser Ser Leu Leu Val Trp Leu Thr Leu Ser Ser Phe Ser
20                  25                  30

Pro Tyr Cys Leu Gly Ser Leu Leu Gln Ala Gly Tyr Trp Ser Ser Phe          35
40                  45

Ser Glu Trp Phe Ala Pro Arg Phe Ser Val Arg Ala Leu Pro Phe Thr     50
55                  60

Leu Pro Asn Tyr Arg Arg Ser Tyr Glu Gly Leu Leu Pro Asn Cys Arg 65
70                  75                  80

Pro Asp Val Pro Gln Phe Ala Val Lys His Pro Leu Gly Ile Leu Trp
85                  90                  95

His Met Arg Val Ser His Leu Ile Asp Glu Met Val Ser Arg Arg Ile
100                 105                 110

Tyr Arg Thr Met Glu His Ser Gly Gln Ala Ala Trp Lys Gln Val Val          115
120                 125

Ser Glu Ala Thr Leu Thr Lys Leu Ser Arg Leu Asp Val Val Thr His     130
135                 140

Phe Gln His Leu Ala Ala Val Glu Ala Asp Ser Cys Arg Phe Leu Ser 145
150                 155                 160

Ser Arg Leu Ala Met Leu Lys Asn Leu Ala Val Gly Asn Val Ser Leu
165                 170                 175

Glu Tyr Asn Thr Thr Leu Asp Arg Val Glu Leu Ile Phe Pro Thr Pro
180                 185                 190
```

Gly Thr Arg Pro Lys Leu Thr Asp Phe Arg Gln Trp Leu Ile Ser Val 195
200 205

His Ala Ser Ile Phe Ser Ser Val Ala Ser Ser Val Thr Leu Phe Thr 210
215 220

Val Leu Trp Leu Arg Ile Pro Ala Leu Arg Tyr Val Phe Gly Phe His 225
230 235 240

Trp Pro Thr Ala Thr His His Ser Asn 245

<210> 14
<211> 265
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ОРС 3 родительского штамма PRRSV 94881, кодируемая участком последовательности SEQ ID NO:10, расположенным между нуклеотидами 12219..13016

<400> 14

Met Ala Tyr Gln Arg Ala Arg Phe His Leu Leu Leu Cys Gly Phe Val 1
5 10 15

Cys Tyr Leu Val His Ser Ala Leu Ala Ser Asn Ser Ser Ser Thr Leu
20 25 30

Cys Phe Trp Phe Pro Leu Ala His Gly Asn Thr Ser Phe Glu Leu Thr 35
40 45

Ile Asn Tyr Thr Ile Cys Lys Pro Cys Pro Thr Ser Gln Ala Ala Gln 50
55 60

Gln Arg Leu Glu Pro Gly Arg Asn Val Trp Cys Lys Ile Gly His Asp 65
70 75 80

Arg Cys Glu Glu Arg Asp His Asp Glu Leu Ser Met Ser Ile Pro Ser
85 90 95

Gly Tyr Asp Asn Leu Lys Leu Glu Gly Tyr Tyr Ala Trp Leu Ala Phe
100 105 110

Leu Ser Phe Ser Tyr Ala Ala Gln Phe His Pro Glu Leu Phe Gly Ile 115
120 125

Gly Asn Val Ser Arg Val Phe Val Asp Lys Arg His Gln Phe Ile Cys 130
135 140

Ala Glu His Asp Gly Gln Asn Ser Thr Ile Ser Ala Arg His Asn Ile 145
150 155 160

Ser Ala Ser Tyr Ala Val Tyr Tyr His His Gln Ile Asp Gly Gly Asn
165 170 175

Trp Phe His Leu Glu Trp Leu Arg Pro Phe Phe Ser Ser Trp Leu Val
180 185 190

Leu Asn Ile Ser Trp Phe Leu Arg Arg Ser Pro Ala Ser Pro Ala Ser 195
200 205

Arg Arg Ile Tyr Gln Ile Leu Arg Pro Thr Arg Pro Arg Leu Pro Val 210
215 220

Ser Trp Ser Phe Arg Thr Ser Ile Val Ser Asn Leu Thr Gly Pro Gln 225
230 235 240

Gln Arg Lys Val Pro Leu Pro Ser Gly Gly Arg Pro Asn Val Val Lys
245 250 255

Pro Ser Ala Phe Pro Ser Thr Ser Arg 260 265

<210> 15
<211> 183
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ОРС 4 родительского штамма PRRSV 94881, кодируемая участком последовательности SEQ ID NO:10, расположенным между нуклеотидами 12761..13312

<400> 15

Met Ala Ala Thr Ile Leu Phe Leu Leu Ala Gly Ala Gln His Leu Met 1
5 10 15

Val Ser Glu Ala Phe Ala Cys Lys Pro Cys Phe Ser Thr His Leu Ser
20 25 30

Asp Ile Lys Thr Asn Thr Thr Ala Ala Ala Gly Phe Met Val Leu Gln 35
40 45

Asn Ile Asn Cys Phe Gln Ser His Arg Ala Ser Thr Ala Gln Gly Thr 50
55 60

Thr Pro Leu Arg Arg Ser Ser Gln Cys Arg Glu Ala Val Gly Ile Pro 65
70 75 80

Gln Tyr Ile Thr Ile Thr Ala Asn Val Thr Asp Glu Ser Tyr Leu Tyr
85 90 95

Asn Ala Asp Leu Leu Met Leu Ser Ala Cys Leu Phe Tyr Ala Ser Glu
100 105 110

Met Ser Glu Lys Gly Phe Lys Val Ile Phe Gly Asn Ile Ser Gly Val 115
120 125

Val Ser Ala Cys Val Asn Phe Thr Asp Tyr Val Ala His Val Thr Gln 130
135 140

His Thr Gln Gln His His Leu Val Ile Asp His Ile Arg Leu Leu His 145
150 155 160

Phe Leu Thr Pro Ser Thr Met Arg Trp Ala Thr Thr Ile Ala Cys Leu
165 170 175

Phe Ala Ile Leu Leu Ala Val 180

<210> 16
<211> 201
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ОРС 5 родительского штамма PRRSV 94881, кодируемая участком последовательности SEQ ID NO:10, расположенным между нуклеотидами 13309..13914

<400> 16

Met Lys Cys Ser Cys Lys Leu Gly His Phe Leu Thr Pro His Ser Cys 1
5 10 15

```
Phe Trp Trp Leu Phe Leu Leu Cys Thr Gly Leu Ser Trp Ser Phe Val
20                  25                  30

Asp Gly Asn Asp Asn Ser Ser Thr Ser Gln Tyr Ile Tyr Asn Leu Thr         35
40                  45

Ile Cys Glu Leu Asn Gly Thr Glu Trp Leu Ser Gly His Phe Asp Trp     50
55                  60

Ala Val Glu Thr Phe Val Leu Tyr Pro Val Ala Thr His Ile Ile Ser 65
70                  75                  80

Leu Gly Phe Leu Thr Thr Ser His Phe Leu Asp Ala Leu Gly Leu Gly
85                  90                  95

Ala Val Ser Ala Thr Gly Phe Ile Gly Glu Arg Tyr Val Leu Ser Ser
100                 105                 110

Met Tyr Gly Val Cys Ala Phe Ala Ala Leu Val Cys Phe Val Ile Arg         115
120                 125

Ala Ala Lys Asn Cys Met Ala Cys Arg Tyr Ala Arg Thr Arg Phe Thr     130
135                 140

Asn Phe Ile Val Asp Asp Arg Gly Arg Ile His Arg Trp Lys Ser Ser 145
150                 155                 160

Ile Val Val Glu Lys Leu Gly Lys Ala Glu Val Gly Gly Asp Leu Val
165                 170                 175

Asn Ile Lys His Val Val Leu Glu Gly Val Lys Ala Gln Pro Leu Thr
180                 185                 190
```

Arg Thr Ser Ala Glu Gln Trp Glu Ala 195 200

<210> 17
<211> 173
<212> БЕЛОК
<213> Вирус репродуктивно-респираторного синдрома свиней

<400> 17

Met Gly Ser Leu Asp Asp Phe Cys Asn Asp Pro Thr Ala Ala Gln Lys 1
5 10 15

Leu Val Leu Ala Phe Ser Ile Thr Tyr Thr Pro Ile Met Ile Tyr Ala
20 25 30

Leu Lys Val Ser Arg Gly Arg Leu Leu Gly Leu Leu His Ile Leu Ile 35
40 45

Phe Leu Asn Cys Ser Phe Thr Phe Gly Tyr Met Thr Tyr Val His Phe 50
55 60

Gln Ser Thr Asn Arg Val Ala Leu Thr Leu Gly Ala Val Val Ala Leu 65
70 75 80

Leu Trp Gly Val Tyr Ser Leu Thr Glu Ser Trp Lys Phe Ile Thr Ser
85 90 95

Arg Cys Arg Leu Cys Cys Leu Gly Arg Arg Tyr Ile Leu Ala Pro Ala
100 105 110

His His Val Glu Ser Ala Ala Gly Leu His Ser Ile Pro Ala Ser Gly 115
120 125

Asn Arg Ala Tyr Ala Val Arg Lys Pro Gly Leu Thr Ser Val Asn Gly 130
135 140

Thr Leu Val Pro Gly Leu Arg Ser Leu Val Leu Gly Gly Lys Arg Ala 145
150 155 160

Val Lys Arg Gly Val Val Asn Leu Val Lys Tyr Gly Arg 165
170

<210> 18
<211> 128
<212> БЕЛОК
<213> Вирус репродуктивно-респираторного синдрома свиней

<400> 18

Met Ala Gly Lys Asn Gln Ser Gln Lys Lys Arg Arg Asn Ala Ala Pro 1
5 10 15

Met Gly Lys Gly Gln Pro Val Asn Gln Leu Cys Gln Leu Leu Gly Thr
20 25 30

Met Ile Lys Ser Gln Arg Gln Gln Ser Arg Gly Gly Gln Ala Lys Lys 35
40 45

Lys Lys Pro Glu Lys Pro His Phe Pro Leu Ala Ala Glu Asp Asp Ile 50
55 60

Arg His His Leu Thr Gln Ala Glu Arg Ser Leu Cys Leu Gln Ser Ile 65
70 75 80

Gln Thr Ala Phe Asn Gln Gly Ala Gly Thr Ala Ser Leu Ser Ser Ser
85 90 95

Gly Lys Val Ser Phe Gln Val Glu Phe Met Leu Pro Val Ala His Thr
100 105 110

Val Arg Leu Ile Arg Val Thr Ser Thr Ser Ala Ser Gln Gly Ala Asn 115
120 125

<210> 19
<211> 7050
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Нуклеотид, кодирующий OPC1A ослабленного PRRSV 94881

<400> 19
atgtctggga tgttctcccg gtgcatgtgc accccggctg cccgggtatt ttggaacgcc 60

ggccaagtct attgcacacg gtgtctcagt gcacggtctc ttctctctcc agaacttcag 120

gacacggacc tcggtgcagt tggcttgttt cacaagccta aagacaagct ccattggaaa 180

gttcccattg gtatccccca ggtggaatgt tctccatctg ggtgttgctg gctgtcaacc 240

atttttcctt tagcgcgcat gacctccggc aatcacaact tccttcaacg actcgtgaag 300

gttgctgatg tattgtaccg tgacggttgc ttaaccccta gacacctccg tgaactccaa 360

gtttacgagc gtggttgcaa ttggtatccg attacggggc ctgtgcctgg gatggctgtg 420

tacgcgaact ccatgcacgt gtccgaccaa ccgttccctg gtgccactca tgtgttaaca 480

aattcccctt tgcctcaacg ggcttgtcgg cagccgttct gtccgttcga agaggcccat 540

tctagcatat acaggtggga aaaatttgta atttttatgg attcctcctc cgacggtcga 600

tctcgcatga tgtggactcc ggaatccgat gactccacgg ctttggaagt tctgccgccc 660

gagctagaac accaggtcaa ggtccttgtt cggagctttc ccgcccatca ccttgtcgac 720

cttgccgatt gggagctcac tgagtcccct gataacggtt tttccttcag cacgtcacat 780

ccttgcggct accttgttcg ggacccggct gtatccgaag gcaagtgttg gctttcctgc 840

tttttgagcc agtcagccga agtgctcagt cgcgaggcgc atctggctac cgcctatggt 900

taccaaacca agtggggtgt gcctggcaag tacatccagc gcagacttca agttcacggt 960

ctccgtgctg tggtcgaccc tgatggtccc attcacgttg aagcattgtc ttgcccccag 1020

tcttggatca ggcacttgac cctgaatgat gatgtcaccc cgggattcgt tcgcctaatg 1080

tctcttcgca ttgtgccgaa cacagagcct accacacacc ggatctttcg ttttggagtg 1140

cacaagtggt atggtgccgc cggcaaacgg gcccgtggca agcgtgccgc caaaagtgag 1200

aaagactcgg cttccaccct caaggttgcc cgaccgactt ccaccagtgg aatcgtcacc 1260

tactccccac ctgcggacgg gtcttgtggt tggcatgccc ttgccgccat actgaaccgg 1320

atgattaata atgacttcac gtcccctctg cctcggtaca acaggccgga ggacgattgg 1380

gcttctgatg gtgaccttgc tcaggccatt caatgtttgc aactacctgc cgccatagct 1440

cggaaccgcg cctgccctaa cgccaaatac ctcataaaac tcaacggagt tcattgggag 1500

gtagaggtga ggcctggaat ggctcctcgc tccctctctc gtgagtgcgt tgttggcgtc 1560

tgctctgaag gctgtgtcgc gtcgccttac ccggaggacg ggttgcctaa acgtgcactt 1620

gaggccctgg cgtctgctta tagactgcct tcagactgtg tttgtgatgg tattattgac 1680

ttccttgcca atccacctcc ccaggagttc tggactcttg acaaaatgtt gacttccccg 1740

tcaccggagc agtccggctt ctctagtctg tataaattgt tgttagagat cttgccgcag 1800

aaatgcggat ccacagaagg ggaattcatc tatactgttg agaggatgtt gaaggattgt 1860

ccgagctcca aacaggccat ggccctcctt gcaaaaatta aggtcccatc ctcaaaggcc 1920

ccatccgtga ctctgaacga gtgcttcccc acggatgttc cagtcaactc tgagttaata 1980

tcttgggaag agcccaaaga ccctggcgct gctgttgtcc tatgtccatc ggatgcaaaa 2040

gaatctaagg aaacagcccc tgaagaagct caagcgagaa accgtaaggt ccttcaccct 2100

gtggtcctta ccgaggaact tagcgagcaa caggtgcagg tggttgaggg tgatcaggat 2160

atgccactgg atttgacttg gccaacctta accgctacgg cgacccctgt tagagggccg 2220

gtaccggaca atttgagctc tggcattggt gcccagcccg ctaccgttca agaactcatt 2280

ctggcgaggc ctgcaccccg tcttgttgag cgctgtggca cggagtcgaa cggcagcagt 2340

tcatttctgg atttgcctga cgtgcagacc tcggaccagc ctttagacct gtccctggcc 2400

gcgtggcctg taagggctac cgcgtctgac cccggttgga tccacggtag gcgtgagcct 2460

gtctttgtga agcctcgagg tgttttctct gatggcgagt cggcccttca gttcggagag 2520

ctttccgaag ccagttctgt cgtcgatgac cggacaaaag aagctccggt ggttgacgcc 2580

cccatcgatt tgacaacttc gaacgagacg ctctctgggt ctgacccctt tgaattcgcc 2640

aaattcaggc gcccgcgttt ctccgcgcaa gctttaatcg accgaggtgg tccgcttgcc 2700

gatgttcatg caaagataaa gagtcgggta tatgaacaat gccttcaagc ttgtgaacct 2760

ggtagtcgtg cgaccccagc caccaagaag tggctcgaca aaatgtggga cagggtggac 2820

atgaaaactt ggcgctgcac ctcgcagttc caagctggtc acattcttga gtccctcaaa 2880

ttcctccctg acatgattca agacacaccg cctcctgttc ccaggaagaa ccgagctggt 2940

gacagtgccg gcctgaagca actggtggcg cagtgggata ggaaatcgag tgtgacaccc 3000

cccacaaaac cggttggacc ggtgcttgac caggccgtcc ctctgcctat ggacatccag 3060

caaggagatg ccatctccgc tgacaagcca ccccattcgc aaaacccttc tagtcaagta 3120

gatgtgggtg gaggttggaa aagttttatg ctctccggca cccgtttcgc ggggtccgtt 3180

agtcagcgcc ttacgacatg ggtttttgag gttctctccc atctcccagc ttttatgctc 3240

acacttttct cgccacgggg ctctatggct ccaggtgatt ggctgtttgc aggtgctgtt 3300

ctacttgctc tcctgctctg ccgttcttac ccaatactcg gatgccttcc cttattgggt 3360

gtcttttctg gttctgtgcg gtgtgttcgt ttgggtgttt ttggttcttg gatggctttt 3420

gctgtatttt tattctcgac tccacccgac ccagtcggtt cttcttgtga ccacgattcg 3480

ccggagtgtc atgctgagct tttggctctt gagcagcgcc aactttggga acctgtgcgc 3540

agccttgtgg tcgggccatc gggcctctta tgcgtcattc ttggcaagtt actcggtggg 3600

tcacgttgtc tctggtttgt tctcctacgt atatgcatgc tcgcagattt ggcaatttct 3660

cttatttatg tggtgtccca agggcgttgt cacaagtgtt ggggaaagtg tataaggacg 3720

gctcctgcag aagtggccct taatgtgttt ccttttcgc gcgccacccg ctcatctctt 3780

gtgtccttgt gtgatcggtt ccaagcgcca aaaggagttg accccgtgca cttggcgaca 3840

ggctggcgcg ggtgctggtg tggtgagagc cctattcatc aatcacacca aaaaccgata 3900

gcttatgcca acttggatga aaagaagata tccgcccaga cggtgattgc tgtcccgtat 3960

gatcctagtc aggccattaa atgcctgaaa gttttgcagg caggaggggc tattgtggac 4020

cagcctacgc ccgaggtcgt ccgtgtgtct gagattccct tctcggcccc attttttccg 4080

aaggtcccag tcaacccaga ctgcagggtt gtggtagatt cggacacttt tgtggctgcg 4140

gtccgctgcg gttattcgac agcacaactg gtccttggtc ggggcaactt tgccaagcta 4200

aatcagaccc ccctcaggaa ctctgtcccc accaaaacaa ctggtggggc ctcatacacc 4260

cttgccgtgg cccaggtatc tgtgtggact cttgttcatt tcatcctcgg cctttggtta 4320

acgtcacctc aagtgtgtgg tcgagggacc tctgacccgt ggtgttcgaa ccctttttcg 4380

tatcctactt atggccccgg agttgtgtgt tcctctcgac tctgcgtgtc tgccgacgga 4440

gttaccctgc cattgttctc agccgttgcc catctttccg gtagagaggt ggggattttt 4500

attttggtgc ttgcctcctt gggcgcttta gcccaccgct tggctcttaa ggcagacatg 4560

tcaatggtct ttttggcgtt ttgtgcttac gcctggccca tgagctcctg gttaatttgc 4620

ttctttccta tgctcttgag gtgggtaacc cttcatcctc tcactatgct ttgggtgcac 4680

tcatttttgg tgttttgcct accagctgcc ggcgttctct cgctgggaat aaccggtctt 4740

ctttgggcag ttggccgttt cacccaggtt gccggaatta tcacacctta tgacatccac 4800

cagtatacct ccggaccacg tggtgcagct gctgtagcaa cggctccaga aggtacttac 4860

atggcggccg ttcggagagc cgctttgact ggacggactt tgatcttcac accatctgca 4920

gtcggatccc ttcttgaagg tgctttcaga actcaaaagc cctgccttaa caccgtgaat 4980

gtcgtaggct cttcccttgg ttctggagga gttttcacca ttgatggcag aagagtcatc 5040

gtcactgcca cccatgtgtt gaatggtaac acagccaggg tcactggtga ttcctacaac 5100

cgcatgcaca cgttcaatac taatggtgat tatgcctggt cccatgctga tgactggcaa 5160

ggcgttgccc ctatggttaa gatcgctaag gggtatcgcg gtcgtgccta ctggcaaacg 5220

tcaaccggag tcgaacctgg catcatgggg gaaggattcg ccttctgttt cactaactgt 5280

ggcgactcag ggtcacctgt catttcagaa gctggtgacc ttattggagt ccataccggt 5340

tcaaacaaac tcggttctgg tcttgtgaca acccctgaag gggagacctg ctccatcaag 5400

gaaactaggc tctctgacct ttctagacat tttgcaggtc caagcgtccc tcttggggac 5460

attaagttga gcccagccat catccctgat gtgacaacta ttccgagtga cttggcatcg 5520

ctccttgctt ctgtccccgt gatggaaggt ggcctctcaa ctgtccagct tttgtgcgtc 5580

tttttccttc tctggcgcat gatgggccat gcctggacac ccattgttgc cgtaggcttc 5640

ttttgctga atgaaattct cccagcagtc ttggtccgag ctgtgttctc ttttgcactc 5700

tttgtacttg catgggccac cccctggtcg gcacaagtgt tgatgattag actcctcacg 5760

gcggctctca accgcaacag gttgtccctg gcgttctacg cattcggagg tgtcgttggc 5820

ctggccacag aaatcgggac ttttgctggt ggatggcctg aactgtccca agccctctcg 5880

acatactgct tcctgcccag gttccttgct gtgactagtt atgtccccac catcatcatc 5940

ggtgggctcc atgccctcgg cgtaattttg tggttattca aataccgatg cctccacaac 6000

atgctggttg gtgatgggag tttctcaagc gctttcttcc tacggtattt tgctgagggt 6060

aatcttagga aaggcgtgtc gcagtcctgt ggcatgaata acgaatccct gacagctgct 6120

ttggcttgca agttgtcgca agctgacctt gatttttttgt ccagtttaac gaacttcaag 6180

tgctttgtgt ccgcttcaaa catgaaaaat gcagctggcc aatacatcga ggcggcgtat 6240

gctagagctc tgcgtcagga gctggcctcc ttggttcagg ttgacaagat gaaaggagta 6300

ttggccaagc tcgaggcttt cgctgagacg gccactccgt cacttgacac aggggacgtg 6360

attgttctgc ttgggcaaca cccccatgga tccatcctcg acattaatgt ggggggtgaa 6420

aggaaaactg tgtctgtgca agaaacacga tgcctgggtg gttccaaatt cagtgtctgc 6480

actgtcgtgt ccaacacgcc cgtggatacc ttgaccggta tcccacttca gacgccaacc 6540

ccacttttg aaaatggccc gcgccatcgc agcgaggacg acgacctcaa agttgagaga 6600

atgaaaaaac actgtgtatc cctcggcttc cacaaaatca atggtaaagt ttactgcaaa 6660

atttgggaca agtctaacgg cgacaccttt tacacggatg attcccgata cactcaagac 6720

catgcttttc aggacaggtc aaccgactat agagacaggg attatgaagg tgtacagacc 6780

gccccccaac agggattcga tccaaagtcc gaagcccctg ttggcactgt tgtaatcggt 6840

ggcattacgt ataacaggca tctggtcaaa ggtaaggagg tcctagttcc caaacctgac 6900

aactgccttg aagctgccag actgtccctt gagcaagctc ttgctgggat gggccaaact 6960

tgtgacctta cagctaccga agtggagaaa ctaaagcgca tcattagtca actccaaggt 7020

ctgaccactg aacaggcttt aaactgctag 7050

<210> 20
<211> 4392

<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Нуклеотид, кодирующий OPC1B ослабленного PRRSV 94881

<400> 20
acaggcttta aactgctagc cgccagcggc ttgacccgct gtggccgcgg cggcctagtt 60

gtaactgaaa cggcggtaaa aatcgtaaaa taccacagca gaactttcac cttaggctct 120

ttagacctaa aagtcacctc cgaggtggag gtgaagaaat caactgagca ggggcacgct 180

gtcgtggcga acttatgttc cggtgtcgtc ttgatgaggc ctcacccacc gtcccttgtt 240

gacgttctcc tcaaacccgg acttgacaca acacccggca ttcaaccagg gcatggggcc 300

gggaatatgg gcgtgaacgg ttctatttgg gattttgaaa ctgcacccac aaaggtagaa 360

ctagagttgt ccaagcaaat aatccaagca tgtgaagtca ggcgcgggga cgcccctaac 420

ctccaactcc cctacaagct ttatcctgtc agggggggacc ccgagcggcg taaaggtcgc 480

cttgtcaaca ctaggtttgg agatttacct tacaaaactc cccaagacac caagtccgca 540

attcatgcgg cttgttgcct gcatcccaat ggggtcctcg tgtctgatgg caaatccacg 600

ctgggtacca ctcttcaaca tggtttcgag ctttatgtcc ccactgtacc ttatagtgtc 660

atggaatacc ttgattcacg ccctgacacc ccttttatgt gtactaaaca tggcacttcc 720

aaggctgctg cagaggacct ccaaaaatat gacctatcca ctcaagggtt tgtcttgcct 780

ggggtcctac gcctagtgcg caggttcatc tttagccatg ttggtaaggc gccaccactg 840

ttccttccat caacctaccc tgccaagaac tccatggcag gggtcaatgg ccagaggttc 900

ccaacaaagg atgtccagag catacctgaa attgatgaaa tgtgcgcccg tgccgtcaag 960

gaaaattggc agactgtgac accttgcacc ctcaaaaaac agtactgttc caaacctaaa 1020

actagaacca tcctaggtac caacaacttc atagccttgg ctcacaggtc agcactcagt 1080

ggtgtcaccc aggcgttcat gaagaaggcc tggaagtccc caattgcctt ggggaaaaac 1140

aagtttaagg aattgcattg cactgtcgcc ggcagatgcc ttgaggctga cctggcttcc 1200

tgcgatcgca gcacccccgc cattgtgagg tggtttgttg ccaacctcct gtatgaactt 1260

gcaggatgtg aagagtactt gcctagctac gtgctcaact gttgccatga ccttgtggca 1320

acgcaggatg gcgctttcac aaaacgcggt ggcctgtcgt ccggggaccc cgtcaccagt 1380

gtgtccaaca ccgtctactc actgataatt tacgcccagc acatggtgct ttcggccttg 1440

aagatgggtc atgaaattgg tctcaagttc cttgaggaac agctcaaatt tgaggacctt 1500

cttgaaatcc agcccatgtt agtgtattct gatgacctcg tcttgtatgc ggaaagaccc 1560

acttttccca actaccattg gtgggtcgag catcttgacc tgatgttggg ctttaaaacg 1620

gacccaaaga aaactgtcat aactgataaa cccagttttc tcggctgcag aattgaagca 1680

ggacggcagt tagtccccaa tcgcgaccgt attctggctg ctcttgcata tcatatgaag 1740

gcgcagaacg cctcagagta ttatgcgtcc gctgccgcaa ttctgatgga ttcgtgtgct 1800

tgcattgacc atgaccccga gtggtatgag gatcttatct gcggcatcgc ccggtgtgct 1860

cgccaggacg gttaccgttt tccaggcccg gcatttttca tgtccatgtg ggagaagctg 1920

aaaagtcata atgaagggaa gaaatgccgt cactgcggca tctgcgacgc caaagccgac 1980

tatgcgtccg cctgtggact tgatttgtgt ttgttccatt cacactttca tcaacactgc 2040

ccagtcactc tgagctgtgg ccaccatgcc ggttcaaagg aatgttcgca gtgtcagtca 2100

cctgtcgggg ctggcaaatc ccccttgac gctgtgctga aacaaatccc gtacaaacct 2160

cctcgtacca ttatcatgaa ggtggacaac aaaacaacga cccttgaccc gggaagatat 2220

cagtcccgtc gaggtcttgt tgcagtcaaa agaggtattg caggtaatga ggttgatctt 2280

tctgatggag actaccaagt ggtgcctctt ttgccgactt gcaaagacat aaacatggtg 2340

aaggtggctt gcaacgtact actcagcaag tttatagtag ggccgccagg ttccggaaaa 2400

accacctggc tactgaacca agtccaggac gatgatgtca tttacacacc tactcatcag 2460

acaatgtttg acatagtcag tgctcttaaa gtttgcaggt attccatccc aggagcctca 2520

ggactccctt ttccaccacc tgccaggtcc gggccgtggg ttaggctcat cgccagcgga 2580

catgtccctg gccgagtgtc atatctcgat gaggcaggat attgcaatca tctagacatt 2640

ctaaggctgc tttccaaaac acccccttgtg tgtttgggtg accttcagca acttcacccg 2700

gtcggctttg attcctattg ttatgtgttc gatcagatgc ctcagaagca gctgaccacc 2760

atttatagat ttggccctaa catctgtgca gccatccagc cttgttacag ggagaaactt 2820

gaatccaagg ccaggaacac cagagtggtt ttcaccaccc ggcctgtggc ctttggtcag 2880

gtcctgacac cgtaccacaa agatcgtacc ggctctgcaa taactataga ttcatcccag 2940

ggggcgacct tcgacattgt gacattgcat ctaccatcgc caaagtccct aaacaaatcc 3000

cgagcacttg tagccatcac tcgggcaaga catgggttgt tcatttatga ccctcatgac 3060

caactccagg agtttttcaa cttaaccccc gagcgcactg attgtaacct tgcgttcagc 3120

cgtggggatg agctggttgt tttgaatgtg gataatgcgg tcacaactgt agcgaaggcc 3180

ctagagacag gttcaccccg atttcgagta tcggacccga ggtgcaagtc tctcttagcc 3240

gcttgttcgg ccagtctaga agggagctgc atgccactac cacaagtagc acataacctg 3300

gggttttact tttccccgga cagcccagct tttgcacccc tgccaaaaga gctggcgcca 3360

cattggccag tggtcaccca ccagaataat cgagcgtggc ctgatcgact tgtcgctagt 3420

atgcgcccaa ttgatgcccg ctacagcaag ccaatggtcg gtgcagggta tgtggtcggg 3480

ccatccattt ttcttggcac tcctggtgtg gtgtcatact atctcacatt atacatcggg 3540

ggcgagcctc aggccctgcc agaaacactc gtttcaacag gacgtatagc cacagattgt 3600

cgggaatatc tcgacgcggc tgaggaagag gcagcgagag aacttcccca cgcatttatt 3660

ggcgatgtca aaggcactac gatcgggggg tgtcaccaca ttacatcgaa atacctacct 3720

aggtccctgc ctaaagactc tgttgctgtg gttggggtga gttcgcccgg tagggctgct 3780

aaagccgtgt gcactctcac cgatgtgtac ctccccgaac tccgaccata tttgcaaccg 3840

gagacggcat caaaatgctg gaaacttaaa ctggatttca gggatgttcg actgatggtc 3900

tggaaaggcg ccacagccta tttccagttg gaagggctga catggtcagc gctgcccgat 3960

tatgctaggt tcattcagct acccaaggat gccgttgtgt acatcgatcc gtgtataggg 4020

ccggcaacag ccaatcgcaa ggttgtgcga accacagact ggcgggccga cctggcagtg 4080

acaccgtatg attacggtgc tcaggtcatt ttgacaacag cctggttcga ggaccttggg 4140

ccgcagtgga agattttggg gttgcagcct ttcagacgaa catttggctt tgagaacact 4200

gaagattggg caattctcgc acgccgtatg aatgacggca aagattacac tgactataat 4260

tggcattgtg tacgagaacg cccacacgca atttacgggc gcgcccgtga ccatacgtat 4320

cattttgccc ttggcactga actgcaagta gagctgggca gaccccggct gcctcctgag 4380

caagtgccgt ga 4392

<210> 21
<211> 750
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Нуклеотид, кодирующий ORC2 ослабленного PRRSV 94881

<400> 21
atgcaatggg tttactgtgg agtaaaatca gtcagttgtt cgtggatgcc ttcactgagt 60

tccttgttag tgtggttgac attgtcatct ttctcgccat attgtttggg ttcactgttg 120

caggctggtt attggtcttc cttctcagag tggtttgctc cgcgtttctc cgttcgcgct 180

ctgccattca ctcttccgaa ctatcgaagg tcctatgagg gcttgctacc caactgcaga 240

ccggatgtcc cacaattcgc agttaagcac ccgttgggta tactttggca tatgcgagtc 300

tcccacctaa ttgacgaaat ggtctctcgc cgcatttacc ggaccatgga acattcgggt 360

caagcggcct ggaagcaggt tgttagtgaa gccactctca caaaactgtc aaggcttgac 420

gtagtcactc atttccaaca cctggccgca gtggaggctg attcttgccg cttccttagc 480

tcacgactcg cgatgctgaa aaaccttgcc gttggcaatg tgagcctgga gtacaacact 540

actttggacc gcgttgagct catctttccc acaccaggta cgaggcccaa gttgaccgat 600

tttaggcaat ggcttatcag cgtgcacgct tccatcttct cctctgtggc ttcgtctgtt 660

accttgttca cagtgctttg gcttcgaatt ccagctctac gctatgtttt tggtttccat 720

tggcccacgg caacacatca ttcgaactaa 750

<210> 22
<211> 798
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Нуклеотид, кодирующий ORC3 ослабленного PRRSV 94881

<400> 22
atggcttatc agcgtgcacg cttccatctt ctcctctgtg gcttcgtctg ttaccttgtt 60

cacagtgctt tggcttcgaa ttccagctct acgctatgtt tttggtttcc attggcccac 120

ggcaacacat cattcgaact aactatcaat tacactatat gtaagccatg ccctaccagt 180

caagctgccc aacaaagact cgagcctggc cgtaacgtgt ggtgcaaaat agggcacgac 240

aggtgtgagg aacgtgacca tgatgagttg tcaatgtcca ttccgtccgg gtacgacaac 300

ctcaaacttg agggttatta tgcttggctg gctttttttgt ccttttccta cgcggcccaa 360

ttccatccgg agctgttcgg aataggaaac gtgtcgcgcg tctttgtgga taagcgacac 420

cagttcattt gcgccgagca tgatggacaa aattcaacca tatctgccag acacaacatc 480

tccgcgtcgt atgcggtgta ttaccatcat caaatagacg ggggcaattg gtttcatttg 540

gaatggctgc gaccattctt ttcctcctgg ctggtgctca acatctcatg gtttctgagg 600

cgttcgcctg caagccctgc ttctcgacgc atctatcaga tattaagacc aacacgaccg 660

cggctgccgg tttcatggtc cttcagaaca tcaattgttt ccaatctcac agggcctcaa 720

cagcgcaagg taccactccc ctcaggaggt cgtcccaatg tcgtgaagcc gtcggcattc 780

cccagtacat cacgataa 798

<210> 23
<211> 552
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Нуклеотид, кодирующий ОРС4 ослабленного PRRSV 94881

<400> 23
atggctgcga ccattctttt cctcctggct ggtgctcaac atctcatggt ttctgaggcg 60

ttcgcctgca agccctgctt ctcgacgcat ctatcagata ttaagaccaa cacgaccgcg 120

gctgccggtt tcatggtcct tcagaacatc aattgtttcc aatctcacag ggcctcaaca 180

gcgcaaggta ccactccccct caggaggtcg tcccaatgtc gtgaagccgt cggcattccc 240

cagtacatca cgataacggc taatgtgacc gatgaatcgt atttgtacaa cgcggacttg 300

ctgatgcttt ccgcgtgcct tttctacgcc tcggaaatga gcgagaaagg cttcaaagtc 360

atctttggga atatttctgg cgttgtttcc gcttgtgtta atttcacaga ttatgtggcc 420

catgtgaccc aacacactca gcagcaccat ttggtaattg atcacattcg gttactacac 480

ttcttgacac cgtctacgat gaggtgggct acaaccattg cttgtttgct tgccattctt 540

ttggcggtat ga 552

<210> 24
<211> 606
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Нуклеотид, кодирующий ОРС5 ослабленного PRRSV 94881

<400> 24
atgaaatgtt cttgcaagtt ggggcatttc ttgactcctc actcttgctt ctggtggctt 60

tttttgctgt gtaccggctt gtcttggtcc tttgtcgatg gcaacgacga cagctcgaca 120

tcccaataca tatataattt gacgatatgc gagctgaatg ggaccgaatg gttgtccggt 180

cattttgatt gggcagtcga aacctttgtg ctttacccag ttgccactca tatcatttca 240

ctgggttttc tcacaacaag ccatttcctt gatgcgctcg gtctcggcgc tgtgtccgcc 300

acaggattca ttggcgagcg gtatgtactt agcagcatgt acggcgtttg cgccttcgcg 360

gcgttcgtat gttttgtcat ccgtgctgct aaaaattgca tggcttgccg ctatgcccgc 420

acccggttta ccaacttcat cgtggacgac cggggaagaa tccatcgatg gaagtcttca 480

atagtggtgg agaaattggg caaagctgaa gtcggtggtg accttgtcaa cattaagcat 540

gttgtcctcg aaggggttaa agctcaacct ttgacgagga cttcggctga gcaatgggaa 600

gcctag 606

<210> 25
<211> 522
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Нуклеотид, кодирующий ОРС6 ослабленного PRRSV 94881

<400> 25
atgggaagcc tagacgactt ttgcaacgat cccaccgccg cacaaaaact cgtgctggcc 60

tttagcatca catatacacc cataatgata tacgccctta aggtgtcacg cggccgactc 120

ctggggctgt tgcacatctt gatatttctg aattgttcct ttacttttgg gtacatgaca 180

tatgtgcatt ttcaatccac caaccgtgtc gcattcactc tgggggctgt agtcgccctt 240

ttgtggggtg tttacagcct cacagagtca tggaagttca tcacttccag atgcagattg 300

tgttgcctag gccggcgata cattctggcc cctgcccatc acgtagaaag tgctgcaggc 360

ctccattcaa tcccagcgtc tggtaaccga gcatacgctg tgagaaagcc cggactaaca 420

tcagtgaacg gcactctagt acctgggctt cggagcctcg tgctgggcgg caaacgagct 480

gttaaacgag gagtggttaa cctcgtcaag tatggccggt aa 522

<210> 26
<211> 431
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Нуклеотид, кодирующий ORC7 ослабленного PRRSV 94881

<400> 26
atggccggta agaaccagag ccagaagaaa agaagaaatg cagctccgat ggggaaaggc 60

cagccagtca atcaactgtg ccagttgctg ggtacaatga taaagtccca gcgccagcaa 120

tctaggggag gacaggccaa aaagaagaag cctgagaagc cacattttcc cctagctgct 180

gaagatgaca ttcggcacca tctcacccag gccgaacgtt ccctctgctt gcaatcgatc 240

cagacggctt tcaatcaagg cgcaggaact gcgtcgcttt catccagcgg gaaggtcagt 300

ttccaggttg agttcatgct gccggttgct catacagtgc gcctgattcg cgtgacttct 360

acatccgcca gtcagggtgc aaattaattt gacagtcagg tgaatggccg cgattgacgt 420

gtggcctcta a 431

<210> 27
<211> 7083
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Нуклеотид, кодирующий ORC1a родительского PRRSV 94881

<400> 27
atgtctggga tgttctcccg gtgcatgtgc accccggctg cccgggtatt ttggaacgcc 60

ggccaagtct attgcacacg gtgtctcagt gcacggtctc ttctctctcc agaacttcag 120

gacacggacc tcggtgcagt tggcttgttt cacaagccta aagacaagct ccattggaaa 180

gttcccattg gtatccccca ggtggaatgt tctccatctg ggtgttgctg gctgtcaacc 240

atttttcctt tagcgcgcat gacctccggc aatcacaact tccttcaacg actcgtgaag 300

gttgctgacg tattgtaccg tgacggttgc ttaaccccta gacacctccg tgaactccaa 360

gtttacgagc gtggttgcaa ttggtatccg attacggggc ctgtgcctgg gatggctgtg 420

tacgcgaact ccatgcacgt gtccgaccaa ccgttccctg gtgccactca tgtgttaaca 480

aattcccctt tgcctcaacg ggcttgtcgg cagccgttct gtccgttcga agaggcccat 540

tctagcatat acaggtggga aaaatttgta atttttatgg attcctcctc cgacggtcga 600

tctcgcatga tgtggactcc ggaatccgat gactccacgg ctttggaagt tctgccgccc 660

gagctagaac accaggtcaa ggtccttgtt cggagctttc ccgcccatca ccttgtcgac 720

cttgccgatt gggagctcac tgagtccccc gagaacggtt tttccttcag cacgtcacat 780

ccttgcggct accttgttcg ggacccggct gtatccgaag gcaagtgttg gctttcctgc 840

tttttgagcc agtcagccga agtgctcagt cgcgaggcgc atctggctac cgcctatggt 900

taccaaacca agtggggtgt gcctggcaag tacatccagc gcagacttca agttcacggt 960

ctccgtgctg tggtcgaccc tgatggtccc attcacgttg aagcattgtc ttgccccag 1020

tcttggatca ggcacttgac cctgaatgat gatgtcaccc cgggattcgt tcgcctaatg 1080

tctcttcgca ttgtgccgaa cacagagcct accacacacc ggatctttcg ttttggagtg 1140

cacaagtggt atggtgccgc cggcaaacgg gcccgtggca agcgtgccgc caaaagtgag 1200

aaagactcgg cttccaccct caaggttgcc cgaccgactt ccaccagtgg aatcgtcacc 1260

tactccccac ctgcggacgg gtcttgtggt tggcatgccc ttgccgccat actgaaccgg 1320

atgattaata atgacttcac gtcccctctg cctcggtaca acaggccgga ggacgattgg 1380

gcttctgatg gtgaccttgc tcaggccatt caatgtttgc aactacctgc cgccatagct 1440

cggaaccgcg cctgccctaa cgccaaatac ctcgtaaaac tcaacggagt tcattgggag 1500

gtagaggtga ggcctggaat ggctcctcgc tccctctctc gtgagtgcgt tgttggcgtc 1560

tgctctgaag gctgtgtcgc gtcgccttac ccggaggacg ggttgcctaa acgtgcactt 1620

gaggccctgg cgtctgctta tagactgcct tcagactgtg tttgtgatgg tattattgac 1680

ttccttgcca atccacctcc ccaggagttc tggactcttg acaaaatgtt gacttccccg 1740

tcaccggagc agtccggctt ctctagtctg tataaattgt tgttagaggt cttgccgcag 1800

aaatgcggat ccacagaagg ggaattcatc tatactgttg agaggatgtt gaaggattgt 1860

ccgagctcca aacaggccat ggccctcctt gcaaaaatta aggtcccatc ctcaaaggcc 1920

ccatccgtga ctctgaacga gtgcttcccc acggatgttc cagtcaactc tgagttaata 1980

tcttgggaag agcccaaaga ccctggcgct gctgttgtcc tatgtccatc ggatgcaaaa 2040

gaatctaagg aaacagcccc tgaagaagct caagcgagaa accgtaaggt cctccaccct 2100

gtggtcctta ccgaggaact tagcgagcaa caggtgcagg tggttgaggg tgatcaggat 2160

atgccactgg atttgacttg gccaacctta accgctacgg cgacccctgt tagagggccg 2220

gtaccggaca atttgagctc tggcattggt gcccagcccg ctaccgttca agaactcatt 2280

ctggcgaggc ctgcaccccg tcttgttgag cgctgtggca cggagtcgaa cggcagcagt 2340

tcatttctgg atttgcctga cgtgcagacc tcggaccagc ctttagacct gtccctggcc 2400

gcgtggcctg taagggctac cgcgtctgac cccggttgga tccacggtag gcgtgagcct 2460

gtctttgtga agcctcgagg tgttttctct gatggcgagt cggcccttca gttcggagag 2520

ctttccgaag ccagttctgt cgtcgatgac cggacaaaag aagctccggt ggttgacgcc 2580

cccatcgatt tgacaacttc gaacgagacg ctctctgggt ctgacccctt tgaattcgcc 2640

aaattcaggc gcccgcgttt ctccgcgcaa gctttaatcg accgaggtgg tccgcttgcc 2700

gatgttcatg caaagataaa gagtcgggta tatgaacaat gccttcaagc ttgtgaacct 2760

ggtagtcgtg cgaccccagc caccaagaag tggctcgaca aaatgtggga cagggtggac 2820

atgaaaactt ggcgctgcac ctcgcagttc caagctggtc acattcttga gtccctcaaa 2880

ttcctccctg acatgattca agacacaccg cctcctgttc ccaggaagaa ccgagctggt 2940

gacagtgccg gcctgaagca actggtggcg cagtgggata ggaaattgag tgtgacaccc 3000

cccacaaaac cggttggacc ggtgcttgac cagaccgtcc ctctgcctat ggacatccag 3060

caagaagatg ccatctccgc tgacaagcca ccccattcgc aaaaccccttc tagtcaagta 3120

gatgtgggtg gaggttggaa aagttttatg ctctccggca cccgtttcgc ggggtccgtt 3180

agtcagcgcc ttacgacatg ggtttttgag gttctctccc atctcccagc ttttatgctc 3240

acacttttct cgccacgggg ctctatggct ccaggtgatt ggctgtttgc aggtgctgtt 3300

ctacttgctc tcctgctctg ccgttcttac ccaatactcg gatgccttcc cttattgggt 3360

gtcttttctg gttctgtgcg gtgtgttcgt ttgggtgttt ttggttcttg gatggctttt 3420

gctgtatttt tattctcgac tccacccgac ccagtcggtt cttcttgtga ccacgattcg 3480

ccggagtgtc atgctgagct tttggctctt gagcagcgcc aactttggga acctgtgcgc 3540

agccttgtgg tcgggccatc gggcctctta tgcgtcattc ttggcaagtt actcggtggg 3600

tcacgttgtc tctggtttgt tctcctacgt atatgcatgc tcgcagattt ggcaatttct 3660

cttatttatg tggtgtccca agggcgttgt cacaagtgtt ggggaaagtg tataaggacg 3720

gctcctgcag aagtgaccct taatgtgttt ccttttcgc gcgccacccg ctcatctctt 3780

gtgtccttgt gtgatcggtt ccaagcgcca aaaggagttg accccgtgca cttggcgaca 3840

ggctggcgcg ggtgctggtg tggtgagagc cctattcatc aatcacacca aaaaccgata 3900

gcttatgcca acttggatga aaagaagata tccgcccaga cggtgattgc tgtcccgtat 3960

gatcccagtc aggccattaa atgcctgaaa gttttgcagg caggaggggc tattgtggac 4020

cagcctacgc ccgaggtcgt ccgtgtgtct gagattccct tctcggcccc attttttccg 4080

aaggtcccag tcaacccaga ttgcagggtt gtggtagatt cggacacttt tgtggctgcg 4140

gtccgctgcg gttattcgac agcacaactg gtccttggtc ggggcaactt tgccaagcta 4200

aatcagaccc ccctcaggaa ctctgtcccc accaaaacaa ctggtggggc ctcatacacc 4260

cttgccgtgg cccaggtatc tgtgtggact cttgttcatt tcatcctcgg cctttggtta 4320

acgtcacctc aagtgtgtgg tcgagggacc tctgacccgt ggtgttcgaa ccctttttcg 4380

tatcctactt atggccccgg agttgtgtgt tcctctcgac tctgcgtgtc tgccgacgga 4440

gttaccctgc cattgttctc agccgttgcc catctttccg gtagagaggt ggggattttt 4500

attttggtgc ttgcctcctt gggcgcttta gcccaccgct tggctcttaa ggcagacatg 4560

tcaatggtct ttttggcgtt ttgtgcttac gcctggccca tgagctcctg gttaatttgc 4620

ttctttccta tgctcttgag gtgggtaacc cttcatcctc tcactatgct ttgggtgcac 4680

tcatttttgg tgttttgcct accagctgcc ggcgttctct cgctgggaat aaccggtctt 4740

ctttgggcag ttggccgttt cacccaggtt gccggaatta tcacacctta tgacatccac 4800

cagtatacct ccggaccacg tggtgcagct gctgtagcaa cggctccaga aggtacttac 4860

atggcggccg ttcggagagc cgctttgact ggacggactt tgatcttcac accatctgca 4920

gtcggatccc ttcttgaagg tgctttcaga actcaaaagc cctgccttaa caccgtgaat 4980

gtcgtaggct cttcccttgg ttctggagga gttttcacca ttgatggcag aagagtcatc 5040

gtcactgcca cccatgtgtt gaatggtaac acagccaggg tcactggtga ttcctacaac 5100

cgcatgcaca cgttcaatac taatggtgat tatgcctggt cccatgctga tgactggcaa 5160

ggcgttgccc ctatggttaa gatcgctaag gggtatcgcg gtcgtgccta ctggcaaacg 5220

tcaaccggag tcgaacctgg catcatgggg gaaggattcg ccttctgttt cactaactgt 5280

ggcgactcag ggtcacctgt catttcagaa gctggtgacc ttattggagt ccataccggt 5340

tcaaacaaac tcggttctgg tcttgtgaca acccctgaag gggagacctg ctccatcaag 5400

gaaactaggc tctctgacct ttctagacat tttgcaggtc caagcgtccc tcttggggac 5460

attaagttga gcccagccat catccctgat gtgacaacta ttccgagtga cttggcatcg 5520

ctccttgctt ctgtccccgt gatggaaggt ggcctctcaa ctgtccagct tttgtgcgtc 5580

tttttccttc tctggcgcat gatgggccat gcctggacac ccattgttgc cgtaggcttc 5640

tttttgctga atgaaattct cccagcagtc ttggtccgag ctgtgttctc ttttgcactc 5700

tttgtacttg catgggccac cccctggtcg gcacaagtgt tgatgattag actcctcacg 5760

gcggctctca accgcaacag gttgtccctg gcgttctacg cactcggagg tgtcgttggc 5820

ctggccacag aaatcgggac ttttgctggt ggatggcctg aactgtccca agccctctcg 5880

acatactgct tcctgcccag gttccttgct gtgactagtt atgtccccac catcatcatc 5940

ggtgggctcc atgccctcgg cgtaattttg tggttattca aataccgatg cctccacaac 6000

atgctggttg gtgatgggag tttctcaagc gctttcttcc tacggtattt tgctgagggt 6060

aatcttagga aaggcgtgtc gcagtcctgt ggcatgaata acgaatccct gacagctgct 6120

ttggcttgca agttgtcgca agctgacctt gatttttgt ccagtttaac gaacttcaag 6180

tgctttgtgt ccgcttcaaa catgaaaaat gcagctggcc aatacatcga ggcggcgtat 6240

gctagagctc tgcgtcagga gctggcctcc ttggttcagg ttgacaagat gaaaggagta 6300

ttggccaagc tcgaggcttt cgctgagacg gccactccgt cacttgacac aggtgacgtg 6360

attgttctgc ttgggcaaca cccccatgga tccatcctcg acattaatgt ggggggtgaa 6420

aggaaaactg tgtctgtgca agaaacacga tgcctgggtg gttccaaatt cagtgtctgc 6480

actgtcgtgt ccaacacgcc cgtggatacc ttgaccggca tcccacttca gacgccaacc 6540

ccacttttg aaaatggccc gcgccatcgc agcgaggacg acgaccttaa agttgagaga 6600

atgaaaaaac actgtgtatc cctcggcttc cacaaaatca atggtaaagt ttactgcaaa 6660

atttgggaca agtctaacgg cgacaccttt tacacggatg attcccgata cactcaagac 6720

catgcttttc aggacaggtc aaccgactat agagacaggg attatgaagg tgtacagacc 6780

gcccccccaac agggattcga tccaaagtcc gaagcccctg ttggcactgt tgtaatcggt 6840

ggcattacgt ataacaggca tctggtcaaa ggtaaggagg tcctagttcc caaacctgac 6900

aactgccttg aagctgccag actgtccctt gagcaagctc ttgctgggat gggccaaact 6960

tgtgacctta cagctaccga agtggagaaa ctaaagcgca tcattagtca actccaaggt 7020

ctgaccactg aacaggcttt aaactgctag ccgccagcgg cttgacccgc tgtggccgcg 7080

gcg 7083

<210> 28
<211> 4392
<212> ДНК
<213> Вирус репродуктивно-респираторного синдрома свиней

<400> 28
acaggcttta aactgctagc cgccagcggc ttgacccgct gtggccgcgg cggcctagtt 60

gtaactgaaa cggcggtaaa aatcgtaaaa taccacagca gaactttcac cttaggctct 120

ttagacctaa aagtcacctc cgaggtggag gtgaagaaat caactgagca ggggcacgct 180

gtcgtggcga acttatgttc cggtgtcgtc ttgatgaggc ctcacccacc gtcccttgtt 240

gacgttctcc tcaaacccgg acttgacaca acacccggca ttcaaccagg gcatggggcc 300

gggaatatgg gcgtgaacgg ttctatttgg gattttgaaa ctgcacccac aaaggtagaa 360

ctagagttgt ccaagcaaat aatccaagca tgtgaagtca ggcgcgggga cgcccctaac 420

ctccaactcc cctacaagct ttatcctgtc agggggggacc ccgagcggcg taaaggtcgc 480

cttgtcaaca ctaggtttgg agatttacct tacaaaactc cccaagacac caagtccgca 540

attcatgcgg cttgttgcct gcatcccaat ggggtcctcg tgtctgatgg taaatccacg 600

ctgggtacca ctcttcaaca tggtttcgag ctttatgtcc ccactgtacc ttatagtgtc 660

atggaatacc ttgattcacg ccctgacacc ccttttatgt gtactaaaca tggcacttcc 720

aaggctgctg cagaggacct ccaaaaatat gacctatcca ctcaagggtt tgtcttgcct 780

ggggtcctac gcctagtgcg caggttcatc tttagccatg ttggtaaggc gccaccactg 840

ttccttccat caacctaccc tgccaagaac tccatggcag gggtcaatgg ccagaggttc 900

ccaacaaagg atgtccagag catacctgaa attgatgaaa tgtgcgcccg tgccgtcaag 960

gaaaattggc agactgtgac accttgcacc ctcaaaaaac agtactgttc caaacctaaa 1020

actagaacca tcctaggtac caacaacttc atagccttgg ctcacaggtc agcactcagt 1080

ggtgtcaccc aggcgttcat gaagaaggcc tggaagtccc caattgcctt ggggaaaaac 1140

aagtttaagg aattgcattg cactgtcgcc ggcagatgcc ttgaggctga cctggcttcc 1200

tgcgatcgca gcacccccgc cattgtgagg tggtttgttg ccaacctcct gtatgaactt 1260

gcaggatgtg aagagtactt gcctagctac gtgctcaact gttgccatga ccttgtggca 1320

acgcaggatg gcgctttcac aaaacgcggt ggcctgtcgt ccggggaccc cgtcaccagt 1380

gtgtccaaca ccgtctactc actgataatt tacgcccagc acatggtgct ttcggccttg 1440

aagatgggtc atgaaattgg tctcaagttc cttgaggaac agctcaaatt tgaggacctt 1500

cttgaaatcc agcccatgtt agtgtattct gatgacctcg tcttgtatgc ggaaagaccc 1560

acttttccca actaccattg gtgggtcgag catcttgacc tgatgttggg ctttaaaacg 1620

gacccaaaga aaactgtcat aactgataaa cccagttttc tcggctgcag aattgaagca 1680

ggacggcagt tagtccccaa tcgcgaccgt attctggctg ctcttgcata tcatatgaag 1740

gcgcagaacg cctcagagta ttatgcgtcc gctgccgcaa ttctgatgga ttcgtgtgct 1800

tgcattgacc atgaccccga gtggtatgag gaccttatct gcggcatcgc ccggtgtgct 1860

cgccaggacg gttaccgttt tccaggcccg gcatttttca tgtccatgtg ggagaagctg 1920

aaaagtcata acgaagggaa gaaatgccgt cactgcggca tctgcgacgc caaagccgac 1980

tatgcgtccg cctgtggact tgatttgtgt ttgttccatt cacactttca tcaacactgc 2040

ccagtcactc tgagctgtgg ccaccatgcc ggttcaaagg aatgttcgca gtgtcagtca 2100

cctgtcgggg ctggcaaatc ccccttgac gctgtgctga aacaaatccc gtacaaacct 2160

cctcgtacca ttatcatgaa ggtggacaac aaaacaacga cccttgaccc gggaagatat 2220

cagtcccgtc gaggtcttgt tgcagtcaaa agaggtattg caggtaatga ggttgatctt 2280

tctgatggag actaccaagt ggtgcctctt ttgccgactt gcaaagacat aaacatggtg 2340

aaggtggctt gcaacgtact actcagcaag tttatagtag ggccgccagg ttccggaaaa 2400

accacctggc tactgaacca agtccaggac gatgatgtca tttacacacc tactcatcag 2460

acaatgtttg acatagtcag tgctcttaaa gtttgcaggt attccatccc aggagcctca 2520

ggactccctt ttccaccacc tgccaggtcc gggccgtggg ttaggctcat cgccagcgga 2580

catgtccctg gccgagtgtc atatctcgat gaggcaggat attgcaatca tctagacatt 2640

ctaaggctgc tttccaaaac acccccttgtg tgtttgggtg accttcagca acttcacccg 2700

gtcggctttg attcctattg ttatgtgttc gatcagatgc ctcagaagca gctgaccacc 2760

atttatagat ttggccctaa catctgtgca gccatccagc cttgttacag ggagaaactt 2820

gaatccaagg ccaggaacac cagagtggtt ttcaccaccc ggcctgtggc ctttggtcag 2880

gtcctgacac cgtaccacaa agatcgtacc ggctctgcaa taactataga ttcatcccag 2940

ggggcgacct tcgacattgt gacattgcat ctaccatcgc caaagtccct aaacaaatcc 3000

cgagcacttg tagccatcac tcgggcaaga catgggttgt tcatttatga ccctcatgac 3060

caactccagg agtttttcaa cttaaccccc gagcgcactg attgtaacct tgcgttcagc 3120

cgtggggatg agctggttgt tttgaatgtg gataatgcgg tcacaactgt agcgaaggcc 3180

ctagagacag gttcaccccg atttcgagta tcggacccga ggtgcaagtc tctcttagcc 3240

gcttgttcgg ccagtctaga agggagctgc atgccactac cacaagtagc acataacctg 3300

gggttttact tttccccgga cagcccagct tttgcacccc tgccaaaaga gctggcgcca 3360

cattggccag tggtcaccca ccagaataat cgagcgtggc ctgatcgact tgtcgctagt 3420

atgcgcccaa ttgatgcccg ctacagcaag ccaatggtcg gtgcagggta tgtggtcggg 3480

ccatccattt ttcttggcac tcctggtgtg gtgtcatact atctcacatt atacatcggg 3540

ggcgagcctc aggccctgcc agaaacactc gtttcaacag gacgtatagc cacagattgt 3600

cgggaatatc tcgacgcggc tgaggaagag gcagcgagag aacttcccca cgcatttatt 3660

ggcgatgtca aaggcactac ggtcgggggg tgtcaccaca ttacatcgaa atacctacct 3720

aggtccctgc ctaaagactc tgttgctgtg gttggggtga gttcgcccgg tagggctgct 3780

aaagccgtgt gcactctcac cgatgtgtac ctccccgaac tccgaccata tttgcaaccg 3840

gagacggcat caaaatgctg gaaacttaaa ctggatttca gggatgttcg actgatggtc 3900

tggaaaggcg ccacagccta tttccagttg gaagggctga catggtcagc gctgcccgat 3960

tatgctaggt tcattcagct acccaaggat gccgttgtgt acatcgatcc gtgtataggg 4020

ccggcaacag ccaatcgcaa ggttgtgcga accacagact ggcgggccga cctggcagtg 4080

acaccgtatg attacggtgc tcaggtcatt ttgacaacag cctggttcga ggaccttggg 4140

ccgcagtgga agattttggg gttgcagcct ttcagacgaa catttggctt tgagaacact 4200

gaagattggg caattctcgc acgccgtatg aatgacggca aagattacac tgactataat 4260

tggcattgtg tacgagaacg cccacacgca atttacgggc gcgcccgtga ccatacgtat 4320

cattttgccc ttggcactga actgcaagta gagctgggca gaccccggct gcctcctgag 4380

caagtgccgt ga 4392

<210> 29
<211> 750
<212> ДНК
<213> Вирус репродуктивно-респираторного синдрома свиней

<400> 29
atgcaatggg ttcactgtgg agtaaaatca gtcagttgtt cgtggatgcc ttcactgagt 60

tccttgttag tgtggttgac attgtcatct ttctcgccat attgtttggg ttcactgttg 120

caggctggtt attggtcttc cttctcagag tggtttgctc cgcgtttctc cgttcgcgct 180

ctgccattca ctctcccgaa ctatcgaagg tcctatgagg gcttgctacc caactgcaga 240

ccggatgtcc cacaattcgc agttaagcac ccgttgggta tactttggca tatgcgagtc 300

tcccacctaa ttgacgaaat ggtctctcgc cgcatttacc ggaccatgga acattcgggt 360

caagcggcct ggaagcaggt tgttagtgaa gccactctca caaaactgtc aaggcttgac 420

gtagtcactc atttccaaca cctggccgca gtggaggctg attcttgccg cttccttagc 480

tcacgactcg cgatgctgaa aaaccttgcc gttggcaatg tgagcctgga gtacaacact 540

actttggacc gcgttgagct catctttccc acaccaggta cgaggcccaa gttgaccgat 600

tttaggcaat ggcttatcag cgtgcacgct tccatcttct cctctgtggc ttcgtctgtt 660

accttgttca cagtgctttg gcttcgaatt ccagctctac gctatgtttt tggtttccat 720

tggcccacgg caacacatca ttcgaactaa 750

<210> 30
<211> 798
<212> ДНК
<213> Вирус репродуктивно-респираторного синдрома свиней

<400> 30
atggcttatc agcgtgcacg cttccatctt ctcctctgtg gcttcgtctg ttaccttgtt 60

cacagtgctt tggcttcgaa ttccagctct acgctatgtt tttggtttcc attggcccac 120

ggcaacacat cattcgaact aactatcaat tacactatat gtaagccatg ccctaccagt 180

caagctgccc aacaaagact cgagcctggc cgtaacgtgt ggtgcaaaat agggcacgac 240

aggtgtgagg aacgtgacca tgatgagttg tcaatgtcca ttccgtccgg gtacgacaac 300

ctcaaacttg agggttatta tgcttggctg gctttttgt ccttttccta cgcggcccaa 360

ttccatccgg agctgttcgg aataggaaac gtgtcgcgcg tctttgtgga taagcgacac 420

cagttcattt gcgccgagca tgatggacaa aattcaacca tatctgccag acacaacatc 480

tccgcgtcgt atgcggtgta ttaccatcat caaatagacg ggggcaattg gtttcatttg 540

gaatggctgc gaccattctt ttcctcctgg ctggtgctca acatctcatg gtttctgagg 600

cgttcgcctg caagccctgc ttctcgacgc atctatcaga tattaagacc aacacgaccg 660

cggctgccgg tttcatggtc cttcagaaca tcaattgttt ccaatctcac agggcctcaa 720

cagcgcaagg taccactccc ctcaggaggt cgtcccaatg tcgtgaagcc gtcggcattc 780

cccagtacat cacgataa 798

<210> 31
<211> 552
<212> ДНК
<213> Вирус репродуктивно-респираторного синдрома свиней

<400> 31
atggctgcga ccattctttt cctcctggct ggtgctcaac atctcatggt ttctgaggcg 60

ttcgcctgca agccctgctt ctcgacgcat ctatcagata ttaagaccaa cacgaccgcg 120

gctgccggtt tcatggtcct tcagaacatc aattgtttcc aatctcacag ggcctcaaca 180

gcgcaaggta ccactcccct caggaggtcg tcccaatgtc gtgaagccgt cggcattccc 240

cagtacatca cgataacggc taatgtgacc gatgaatcgt atttgtacaa cgcggacttg 300

ctgatgcttt ccgcgtgcct tttctacgcc tcggaaatga gcgagaaagg cttcaaagtc 360

atctttggga atatttctgg cgttgtttcc gcttgtgtta atttcacaga ttatgtggcc 420

catgtgaccc aacacactca gcagcaccat ttggtaattg atcacattcg gttactacac 480

ttcttgacac cgtctacgat gaggtgggct acaaccattg cttgtttgtt tgccattctt 540

ttggcggtat ga 552

<210> 32
<211> 606
<212> ДНК
<213> Вирус репродуктивно-респираторного синдрома свиней

<400> 32
atgaaatgtt cttgcaagtt ggggcatttc ttgactcctc actcttgctt ctggtggctt 60

tttttgctgt gtaccggctt gtcttggtcc tttgtcgatg gcaacgacaa cagctcgaca 120

tcccaataca tatataattt gacgatatgc gagctgaatg ggaccgaatg gttgtccggt 180

cattttgatt gggcagtcga aacctttgtg ctttacccag ttgccactca tatcatttca 240

ctgggttttc tcacaacaag ccatttcctt gatgcgctcg gtctcggcgc tgtgtccgcc 300

acaggattca ttggcgagcg gtatgtactt agcagcatgt acggcgtttg cgccttcgcg 360

gcgctcgtat gttttgtcat ccgtgctgct aaaaattgca tggcttgccg ctatgcccgc 420

acccggttta ccaacttcat cgtggacgac cggggaagaa tccatcgatg gaagtcttca 480

atagtggtgg agaaattggg caaagctgaa gtcggtggtg accttgtcaa cattaagcat 540

gttgtcctcg aaggggttaa agctcaaccc ttgacgagga cttcggctga gcaatgggaa 600

gcctag 606

<210> 33
<211> 522
<212> ДНК
<213> Нуклеотид OPC6 PRRSV 94881

<400> 33
atgggaagcc tagacgactt ttgcaacgat cccaccgccg cacaaaaact cgtgctggcc 60

tttagcatca catatacacc cataatgata tacgccctta aggtgtcacg cggccgactc 120

ctggggctgt tgcacatctt gatatttctg aattgttcct ttacttttgg gtacatgaca 180

tatgtgcatt ttcaatccac caaccgtgtc gcactcactc tgggggctgt agtcgccctt 240

ttgtggggtg tttacagcct cacagagtca tggaagttca tcacttccag atgcagattg 300

tgttgcctag gccggcgata cattctggcc cctgcccatc acgtagaaag tgctgcaggc 360

ctccattcaa tcccagcgtc tggtaaccga gcatacgctg tgagaaagcc cggactaaca 420

tcagtgaacg gcactctagt acctgggctt cggagcctcg tgctgggcgg caaacgagct 480

gttaaacgag gagtggttaa cctcgtcaag tatggccggt aa 522

<210> 34
<211> 387
<212> ДНК
<213> Вирус репродуктивно-респираторного синдрома свиней

<400> 34
atggccggta agaaccagag ccagaagaaa agaagaaatg cagctccgat ggggaaaggc 60

cagccagtca atcaactgtg ccagttgctg ggtacaatga taaagtccca gcgccagcaa 120

tctaggggag gacaggccaa aaagaagaag cctgagaagc cacattttcc cctagctgct 180

gaagatgaca ttcggcacca tctcacccag gccgaacgtt ccctctgctt gcaatcgatc 240

cagacggctt tcaatcaagg cgcaggaact gcgtcgcttt catccagcgg gaaggtcagt 300

ttccaggttg agttcatgct gccggttgct catacagtgc gcctgattcg cgtgacttct 360

acatccgcca gtcagggtgc aaattaa 387

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Вирулентный вирус репродуктивно-респираторного синдрома свиней (PRRSV) европейского типа, представляющий собой штамм ECACC 11012501.

2. Живой ослабленный вирус репродуктивно-респираторного синдрома свиней (PRRSV) европейского типа, представляющий собой штамм ECACC 11012502, полученный из родительского штамма ECACC 11012501.

3. PRRSV по п.2, который ослаблен путем осуществления по меньшей мере 36 пассажей указанного родительского штамма в клеточной культуре и который при введении свинье, восприимчивой к PRRSV, не вызывает клинических признаков репродуктивно-респираторного синдрома свиней (PRRS), но индуцирует иммунный ответ, приводящий к иммунизации указанной свиньи против патогенных форм PRRSV.

4. Способ получения живого ослабленного PRRSV по п.2, включающий адаптацию PRRSV европейского типа по п.1 путем непрерывных пассажей на клетках линии MA 104, к клеткам млекопитающих, не относящихся к линии MA 104.

5. Вакцина, предназначенная для защиты свиней от инфекции PRRSV, которая содержит живой ослабленный PRRSV по п.2 и фармацевтически приемлемый носитель.

6. Вакцина по п.5, дополнительно содержащая один или несколько не представляющих собой PRRSV ослабленных или инактивированных патогенов или их антигенный материал.

7. Вакцина по п.6, в которой указанные не представляющие собой PRRSV патогены выбраны из вируса псевдобешенства, вируса свиного гриппа, парвовируса свиней, трансмиссивного вируса гастроэнтерита, Escherichia coli, Erysipelo rhusiopathiae, Bordetella bronchiseptica, Salmonella cholerasuis, Haemophilus parasuis, Pasteurella multocida, Streptococcus suis, Mycoplasma hyopneumoniae и Actinobacillus pleuropneumoniae.

8. Вакцина по п.5, дополнительно содержащая один или несколько штаммов европейского PRRSV,

выбранных из штамма вируса Лелистад (CDI-NL-2.91) или штаммов ECACC 04102703, ECACC 04102702, ECACC 04102704, CNCM I-1140, CNCM I-1387, CNCM I-1388, CNCM I-1102, CNCM I-1387, или ECACC V93070108, pT7P129A; ATCC VR-2332, ATCC VR-2368; ATCC VR-2495; ATCC VR 2385, ATCC VR 2386, ATCC VR 2429, ATCC VR 2474 и ATCC VR 2402.

9. Вакцина по п.5, содержащая носитель, который пригоден для внутрикожного или внутримышечного введения.

10. Вакцина по п.5, находящаяся в высушенной вымораживанием форме.

11. Вакцина по п.5, где указанная вакцина содержит по меньшей мере примерно 10^7 вирусных частиц.

12. Способ получения вакцины для защиты свиней от инфекции PRRSV, включающий смешивание живого ослабленного PRRSV по п.2 с фармацевтически приемлемым носителем.

13. Способ по п.12, в котором к живому ослабленному PRRSV дополнительно добавляют адъювант.

14. Применение вакцины по любому из пп.5-11 для иммунизации свиней от репродуктивно-респираторного синдрома свиней (PRRS).

15. Применение по п.14, не приводящее к повреждению легких у указанных свиней после вакцинации.

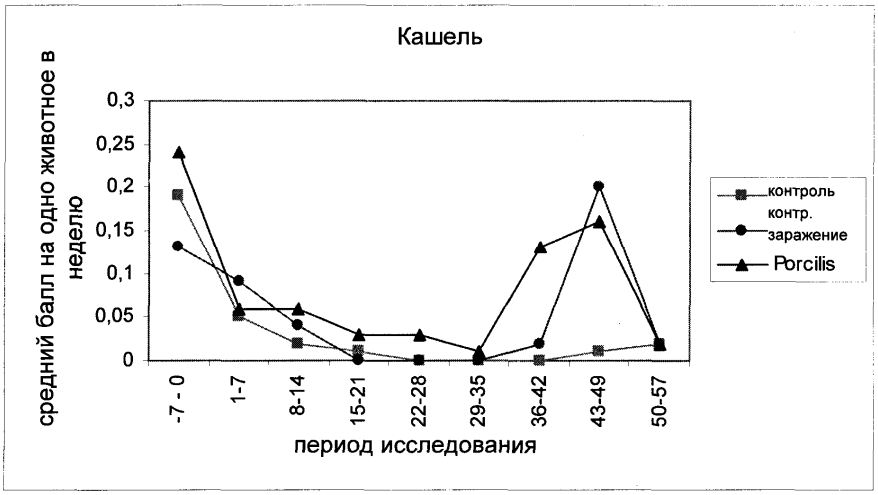
16. Вирус PRRS, имеющий нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 95% гомологична последовательности PRRSV по п.1, представленной в SEQ ID NO: 1, или последовательности PRRSV по п.2, представленной в SEQ ID NO: 10.

17. Вирус PRRS по п.16, имеющий нуклеотидную последовательность, которая представлена либо в SEQ ID NO: 1, либо в SEQ ID NO: 10.

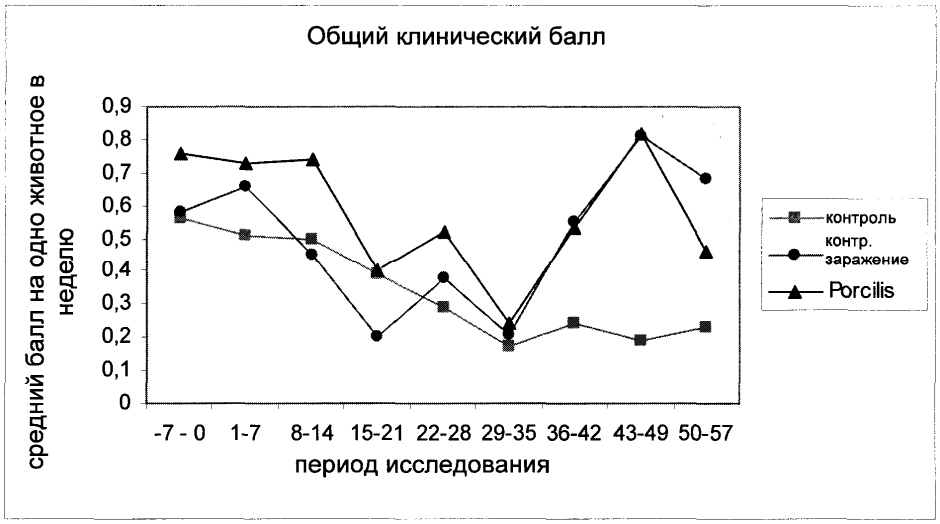
18. Вакцина для защиты свиней от вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней (PRRSV), содержащая PRRS вирус по пп.16 или 17 и фармацевтически приемлемый носитель, где указанный PRRS вирус имеет нуклеотидную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 1, или ослабленный PRRS вирус, который имеет нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 95% гомологична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 1.

19. Вакцина по п.18, которая дополнительно включает один или более не представляющих собой PRRSV ослабленных или инактивированных патогенов или их антигенный материал.

20. Вакцина по п.19, в которой не представляющие собой PRRSV патогены выбраны из вируса псевдобешенства, вируса свиного гриппа, парвовируса свиней, трансмиссивного вируса гастроэнтерита, Escherichia coli, Erysipelo rhusiopathiae, Bordetella bronchiseptica, Salmonella cholerasuis, Haemophilus parasuis, Pasteurella multocida, Streptococcus suis, Mycoplasma hyopneumoniae и Actinobacillus pleuropneumoniae.

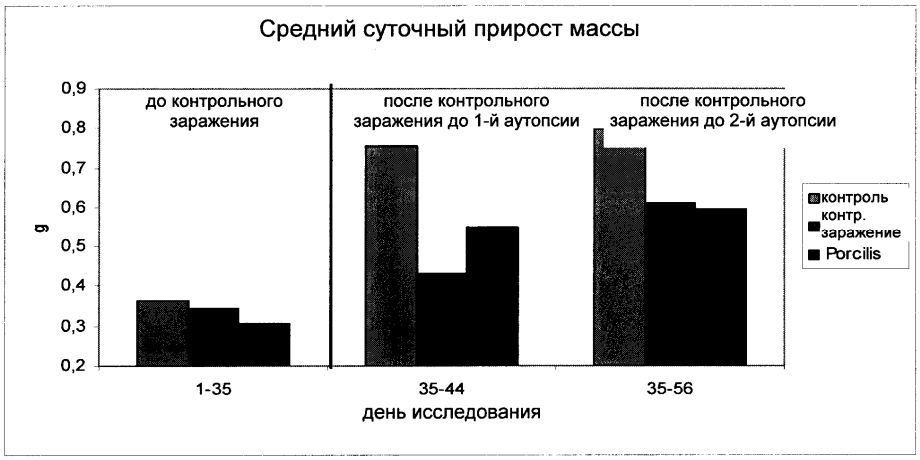


Фиг. 1А

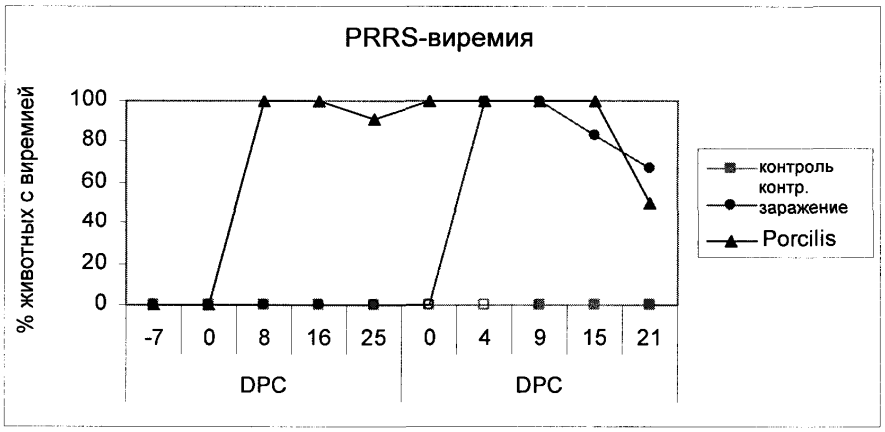


Фиг. 1Б

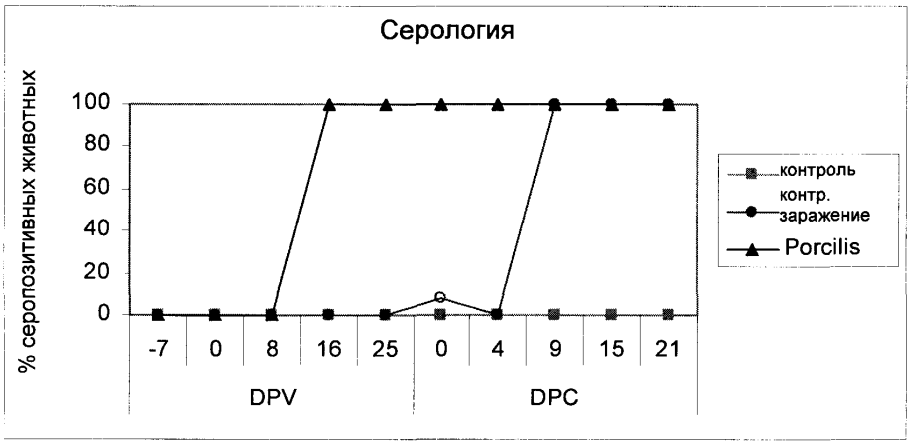
Фиг. 2



Фиг. 3

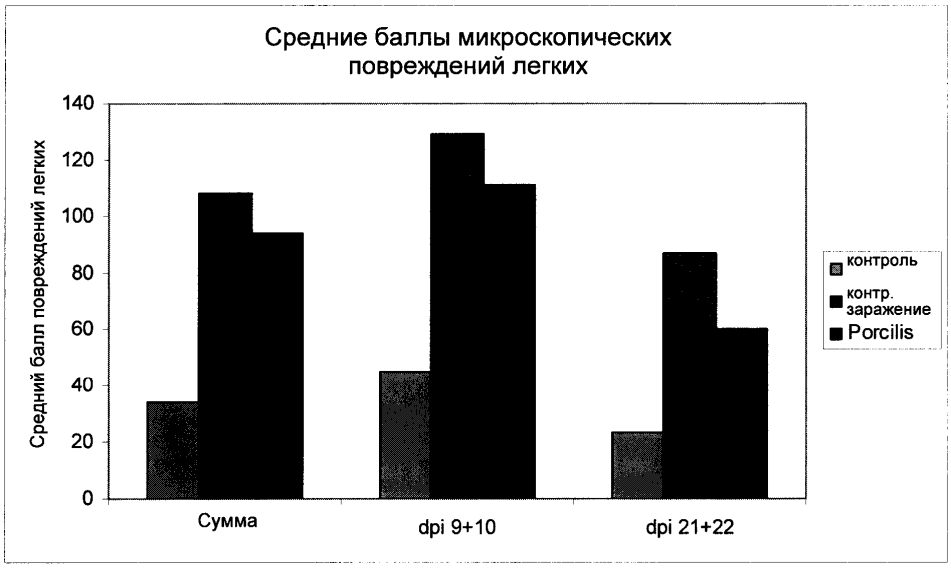


Фиг. 4

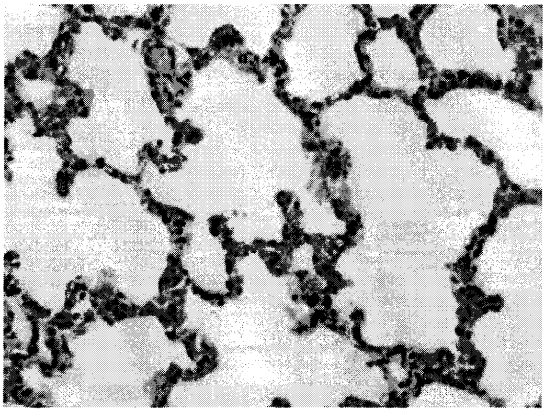


Фиг. 5

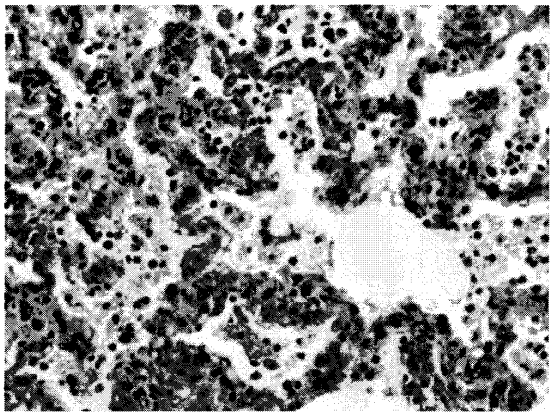
Фиг. 6



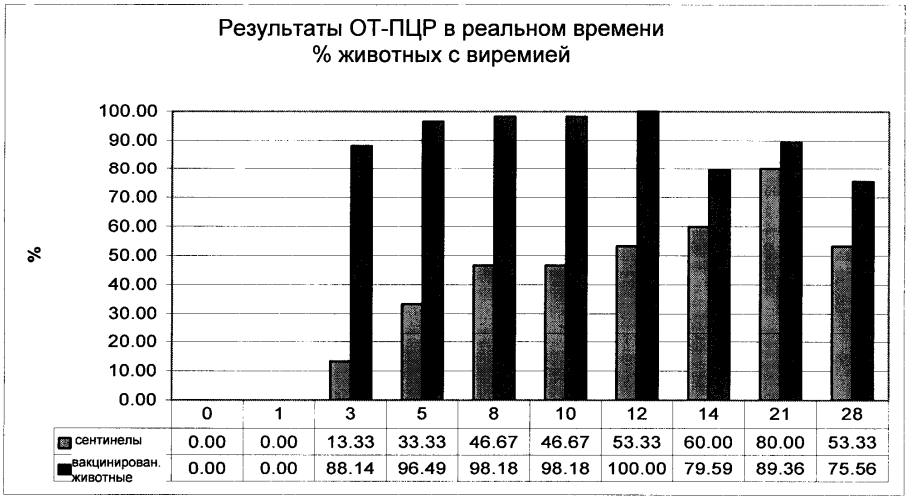
Фиг. 7А



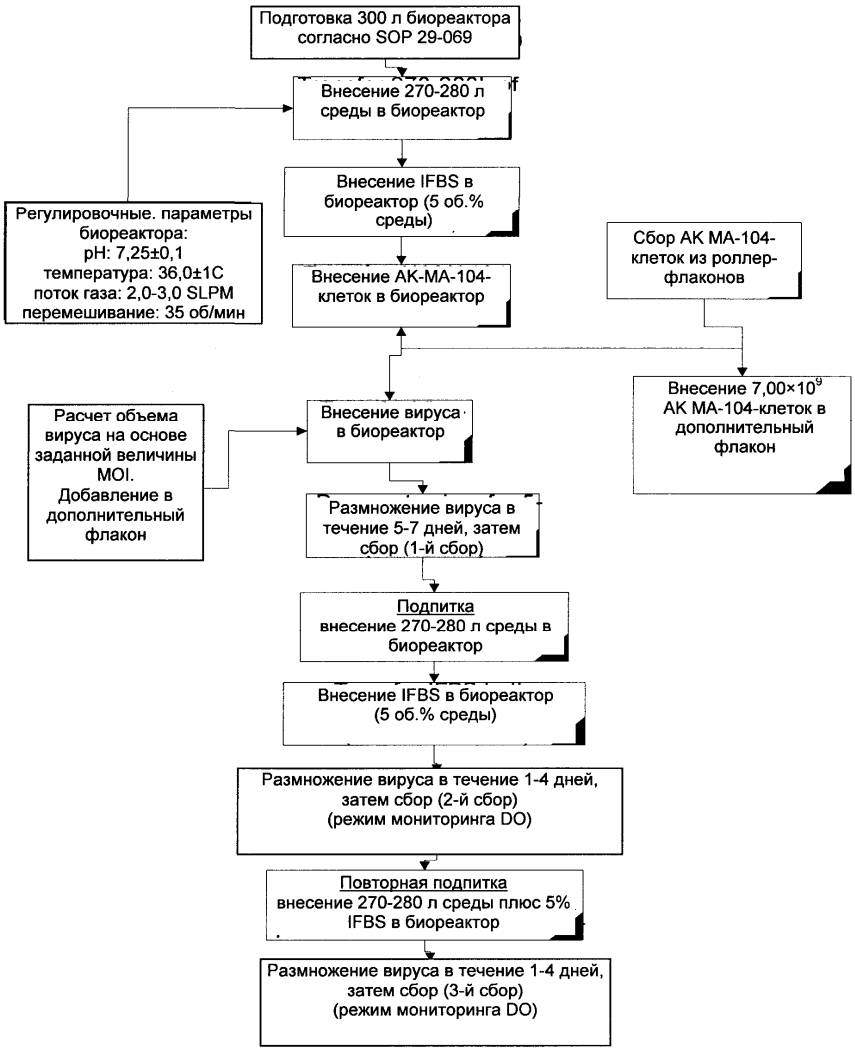
Фиг. 7Б



Фиг. 7В


Результаты ОТ-ПЦР в реальном времени
% животных с виремией
%
100.00
90.00
80.00
70.00
60.00
50.00
40.00
30.00
20.00
10.00
0.00
0 1 3 5 8 10 12 14 21 28
сентинелы 0.00 0.00 13.33 33.33 46.67 46.67 53.33 60.00 80.00 53.33
вакцинирован. животные 0.00 0.00 88.14 96.49 98.18 98.18 100.00 79.59 89.36 75.56

Фиг. 8


Подготовка 300 л биореактора согласно SOP 29-069
Внесение 270-280 л среды в биореактор
Внесение IFBS в биореактор (5 об.% среды)
Внесение АК-МА-104-клеток в биореактор
Регулировочные. параметры биореактора:
pH: 7,25±0,1
температура: 36,0±1С
поток газа: 2,0-3,0 SLPM
перемешивание: 35 об/мин
Сбор АК МА-104-клеток из роллер-флаконов
Внесение 7,00×10^9 АК МА-104-клеток в дополнительный флакон
Расчет объема вируса на основе заданной величины MOI.
Добавление в дополнительный флакон
Внесение вируса в биореактор
Размножение вируса в течение 5-7 дней, затем сбор (1-й сбор)
Подпитка
внесение 270-280 л среды в биореактор
Внесение IFBS в биореактор (5 об.% среды)
Размножение вируса в течение 1-4 дней, затем сбор (2-й сбор) (режим мониторинга DO)
Повторная подпитка
внесение 270-280 л среды плюс 5% IFBS в биореактор
Размножение вируса в течение 1-4 дней, затем сбор (3-й сбор) (режим мониторинга DO)

Фиг. 9