

Авторы: С.Г. Коляда, А.В. Кокарев, Г.С. Мовкалова, Д.Н. Масюк,
 НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР БИОБЕЗОПАСНОСТИ И ЭКОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ РЕСУРСОВ АПК

Клинические проявления и особенности лабораторной диагностики респираторно-репродуктивного синдрома свиней



Репродуктивно-респираторный синдром свиней (РРСС) – вирусное заболевание, характеризующееся абортными, рождением мертвых поросят, преждевременными опоросами или их задержкой, а также поражением органов дыхания с покраснением кожи ушей и других участков тела. Возбудителем РРСС является РНК-содержащий вирус, который относится к роду артеривирусов.

Клинические признаки

Клинические признаки, которые могут указывать на наличие этого заболевания в стаде у разных хозяйственных групп свиней могут отличаться. Существует две формы проявления РРСС – репродуктивная и респираторная. На предприятиях РРСС может проявляться одной или одновременно несколькими формами, что зависит от ряда факторов, в том числе генетики свиней, штаммов вируса РРСС в стаде, состояния здоровья стада, возраста животных, а также физиологического состояния (например, супоросность), которые могут влиять на проявление клинических признаков.

У **ремонтных свинок и свиноматок**, инфицированных вирусом, РРСС может проявляться отсутствием аппетита (отказ от корма) и лихорадкой, а может протекать без симптомов. Во

время острой стадии заболевания, могут происходить аборты у супоросных животных до 3 %, особенно, в случаях инфицирования свинок в последнем триместре супоросности. Так же у свиноматок может наблюдаться увеличение числа прохолостов, нерегулярные проявления высокой температуры, снижение скорости опороса. При циркуляции высоковирулентных штаммов вируса РРСС может увеличиваться число абортов до 10-50 %, а смертность у ремонтных свинок и свиноматок до 10 %. Также могут наблюдаться признаки поражения центральной нервной системы, в том числе атаксия, кружение, и падение на бок, вследствие чего могут происходить аборты на ранних сроках супоросности.

Острая инфекция переходит во вторую фазу примерно через неделю после появления клинических признаков. В результате вирусной инфекции на поздних сроках супоросности происходит заражение плода возбудителем РРСС (как у животных с клиническими признаками, так и без). Эта фаза обычно длится от 1 до 4 месяцев, и приводит к нарушениям репродуктивной функции у супоросных свиней в 5-80 % в промежутке 100-118 дней супоросности. Большинство зараженных свиноматок abortируют или наблюдаются преждевременные опоросы, количество которых может увеличиваться с 1 по 4 недели после начала вспышки. В гнездах будет разное количество нормальных, слабых, мертвых и мумифицированных поросят на разных стадиях мумификации. В течение этого этапа, картина в пораженных гнездах меняется. Первоначально, зараженные гнезда, содержат мертворожденные и крупные, частично мумифицированные плоды на поздних стадиях супоросности. Со временем картина меняется к более мелким, мумифицированным поросятам; затем мелким, слабым новорожденным поросятам и, наконец, к поросятам нормального размера и нормальным состоянием здоровья. Как правило, в 1-2 % случаев будут пометы с мертворожденными поросятами. У ремонтных свинок/свиноматок, инфицированных вирусом РРСС, изменения этих четырех стадий трудно заметить. Часто эти животные позже приходят в охоту и учащаются случаи прохолостов, что приводит к снижению количества опоросов.

У **хряков**, инфицированных вирусом РРСС, клинические признаки наблюдаются редко и проявляются повышением температуры, вялостью, отсутствием аппетита, снижением либидо, а иногда, респираторными симптомами. Еще реже регистрируются смертельные случаи. Вирус РРСС в сперме от зараженных хряков может быть передан восприимчивым самкам при искусственном осеменении, поэтому производителям необходимо контролировать происхождение хряков и

спермы на наличие возбудителя РРСС [1].

Симптомы острой вирусной РРСС инфекции у **поросят**, инфицированных внутриутробно или вскоре после опороса, включают тяжелую одышку (затрудненное дыхание), вялость, отсутствие аппетита, лихорадку, отек век и синюшность или покраснение ушей или задних конечностей. До отъема смертность может достигать 100 %.

Наиболее яркие и характерные клинические признаки у поросят отъемышей и поросят на дорастивании включают в себя отсутствие аппетита, вялость, одышку (затрудненное дыхание), и синюшность/покраснение ушей или задних конечностей. Наибольший экономический ущерб от инфекции наблюдается именно у этих животных и является следствием снижения прироста и конверсии корма.

Диагностика

При наличии в стаде клинических признаков респираторного заболевания в сочетании с репродуктивными нарушениями на любом этапе производства необходимо проводить дифференциальную диагностику [2].

Репродуктивные болезни	Респираторные и послеотъемные болезни
классическая чума свиней (classical swine fever)	свиной грипп (swine influenza)
африканская чума свиней (african swine fever)	энзоотическая пневмония (pneumonia enzootica)
лептоспироз (leptospirosis)	пролиферативная и некротизирующая пневмонии (PNP)
парвовирус свиней (porcine parvovirus infection)	синцитиальная пневмония и миокардит (syncytial pneumonia and myocarditis)
энтеровирус свиней (enterovirus porcine)	свиной респираторный коронавирус (respiratory coronavirus)
болезнь Ауески (pseudorabies)	болезнь Глессера (poliserositis haemophilus)
цирковироз ассоциированные болезни свиней (circovirus associated disease of pigs)	

При изменении параметров воспроизводства, следует проводить анализ производственной ситуации на ферме. Увеличение количества абортосов или ранних опоросов, снижение количества поросят в опоросе, повышение смертности до отъема, снижение рождаемости и увеличение количества прохолостов у свиноматок, в том числе задержка охоты, могут свидетельствовать о наличии этого вируса в стаде. Некоторые штаммы вируса РРСС могут быть слабовирулентными, проявляться в субклинической форме и обнаружить их можно только при помощи лабораторных исследований.

Таким образом, окончательный диагноз РРСС требует интеграции таких показателей как ретроспектива производственных показателей с клиническими признаками, на момент отбора образцов, подтвержденных результатами лабораторных исследований.

Лабораторная диагностика вируса РРСС базируется на:

1. выделении вируса на культуре клеток;
2. выявлении антигена методом иммуноцитохимии и иммуногистохимии;

3. идентификации НК вируса методом ПЦР;
4. определении специфических антител к вирусу методом ИФА (ELISA).

Современная концепция лабораторной диагностики РРСС характеризуется проведением прямых и непрямых методов выявления данного патогена. Наиболее распространенными в лабораторной практике прямыми методами являются – иммуногистохимические, полимеразная цепная реакция (ПЦР). Непрямым или косвенным методом лабораторной диагностики являются серологические исследования, в основе которых лежит определение специфических антител к возбудителю инфекции, наиболее широкое применение получил твердофазный иммуноферментный анализ.

Метод выделения вируса на культурах клеток. При выделении вирусов из различных инфекционных материалов (кровь, слюна, фрагменты органов) применяют культуры клеток, которые обладают наибольшей чувствительностью к вирусу. Метод трудоемкий и финансово затратный, на сегодняшний день наиболее часто применяется для научных исследований и в практической ветеринарной медицине используется редко.

Методы иммуноцитохимии (ИЦХ) и иммуногистохимии (ИГХ) применяют для подтверждения репликации вируса в клетках путем визуализации вирусных антигенов. Эти методы дают возможность выявления и определения точной локализации антигенов возбудителя РРСС в гистологических срезах в результате их реакции с мечеными специфическими антителами, а также позволяют идентифицировать возбудителя в органах и тканях.

Наиболее распространенными методами в современной лабораторной диагностике РРСС является ПЦР и ИФА.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) является наиболее чувствительным и высокоспецифичным методом на сегодняшний день. Она основана на выявлении и репликации небольшого специфического сегмента генома вируса РРСС. ПЦР позволяет четко, быстро и относительно недорого определить наличие уникальной последовательности генома вируса, а также дифференцировать Североамериканский и Европейский штаммы. кДНК, полученную в результате реакции ПЦР можно секвенировать, дифференцировать инфекцию полевым вирусом от вакцинного модифицированного живого вируса и определить последовательность фрагмента генома вируса соответствующую выделенному штамму. ПЦР, благодаря своей высокой чувствительности, используется не только как метод диагностики, а также как важный инструмент мониторинга эпизоотологической ситуации, эффективности вакцинации или для выявления скрытой инфекции и вирусносителей.

Метод иммуноферментного анализа в основе которого лежит специфическая реакция антиген-антитело, позволяет производить качественное и количественное определение специфических иммуноглобулинов к антигенам вируса РРСС. Этот метод используется для скрининга или для мониторинга инфекции в эндемически инфицированных стадах. На сегодняшний день он является наиболее технологичным методом обнаружения и мониторинга РРСС инфекции в стаде.

Тест позволяет определить наличие специфических антител в сыворотке крови и/или слюне уже через 7 дней после заражения, но оптимально отбирать пробы через 14-21 день после проявления характерных клинических признаков, так

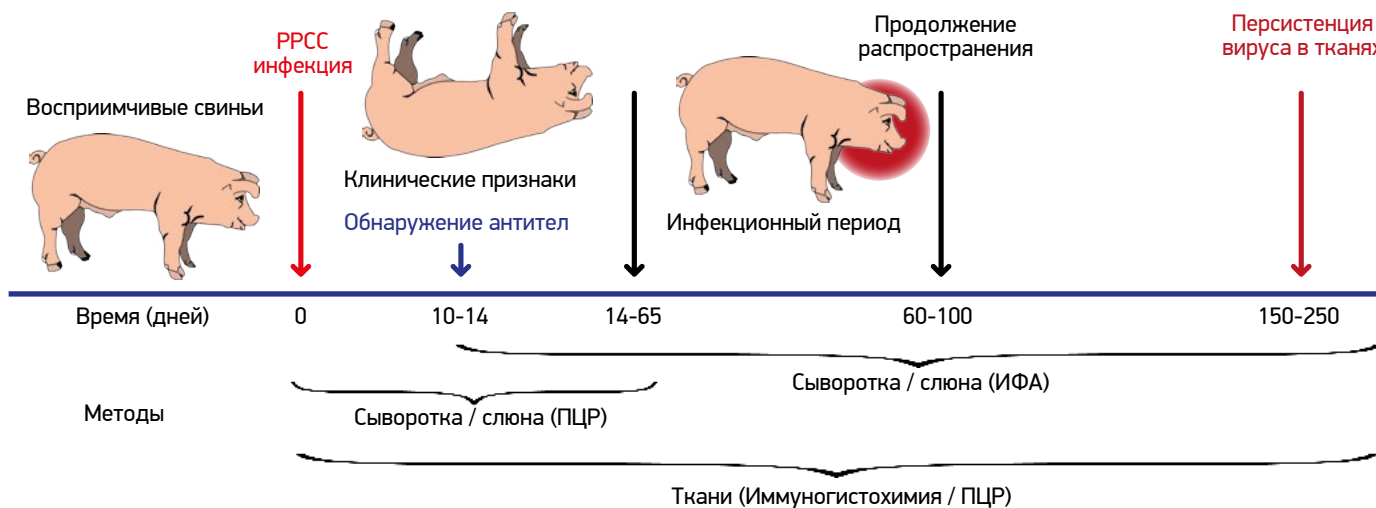


Рисунок 1. Рекомендуемые методы исследования в зависимости от стадии заболевания (Jean Paul Cano) [3]

как в этот период наблюдается пик сероконверсии [1]. Обнаружение антител в слюне животных методом ИФА дает возможность сформировать пулы (до 30 животных), что позволяет исследовать большее количество свиней на наличие РРСС с относительно небольшими финансовыми затратами. (О методике отбора проб слюны у свиней читайте в следующем выпуске).

Отбор образцов для исследования

Для проведения ИГХ предпочтительно отбирать образцы легких, лимфатических узлов и миндалин, поскольку эти ткани содержат наибольшее количество вируса.

Образцы, необходимые для анализа методом ПЦР: при проявлении у животных респираторных клинических признаков отбирать следует сыворотку крови, легкие и средостенные лимфатические узлы, у свиней с характерными проявлениями инфекции РРСС или повышением температуры тела. При нарушении репродуктивной функции: сыворотку крови, сперму, абортированные плоды, трупы слабых поросят (вынужденный забой).

Нельзя отбирать мертворожденные и мумифицированные плоды, так как вирус очень быстро инактивируется в некротических тканях.

После отбора образцы необходимо хранить в прохладном месте и отправлять в диагностическую лабораторию в течение 12 ч. на аккумуляторах холода. Охлаждение в холодильнике предпочтительнее замораживания.

На ранних сроках после заражения, вирус РРСС присутствует в большинстве тканей у ремонтных свинок и свиноматок. По мере прогрессии инфекции, вирус становится локализованным в лимфатических узлах и миндалинах. Наилучшими образцами для прижизненного обнаружения вируса РРСС являются соскобы и биопсия миндалин, отобранные во время фазы активной инфекции. Обычно, у взрослых животных, вирус можно обнаружить в течение 2-4 недель после заражения в тканях, например, легких. Эти образцы могут быть использованы для выделения и идентификации вируса, а также для обнаружения вирусной РНК с помощью ПЦР.

Образцы, необходимые для исследования методом ИФА – сыворотка крови или слюна. Пробы необходимо заморозить и на аккумуляторах холода отправить в диагностическую лабораторию.

кую лабораторию.

В образцах сыворотки у подсосных, поросят-отъемышей или поросят на доращивании, вирус может быть обнаружен в сыворотке в течение 4-6 недель после заражения; у свиноматок и хряков – 1-2 недель.

Отбор образцов	ИФА	ПЦР	ИГХ
Прижизненно	сыворотка крови, слюна	сыворотка крови, сперма, абортированные плоды (не мумии), соскобы с миндалин	—
Посмертно	—	ткани легких, лимфатические узлы, миндалины	—

Выбор диагностических инструментов зависит от цели исследований: исследование животных на карантине, определение статуса стада, распространенности заболевания, скрининг, мониторинг заболеваемости или контроль вакцинации. Универсального способа диагностики РРСС не существует – нужен комплексный подход, при котором необходимо учитывать историю стада и специфическую ситуацию на предприятии, в следствие которых могут изменяться подходы к исследованиям.

Список литературы

1. Zimmerman J., Benfield D., Christopher-Hennings J., Dee S., Stevenson G. Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) // <http://articles.extension.org/pages/27264/porcine-reproductive-and-respiratory-syndrome-prrs>
2. Velasova M., Alarcon P., Williamson S., Wieland B. Risk factors for porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection and resulting challenges for effective disease surveillance // <http://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/1746-6148-8-184>
3. Cano J. P. PRRS surveillance programs for farms, companies and regions // https://www.pig333.com/what_the_experts_say/prrs-surveillance-programs-for-farms-companies-and-regions_6789/