

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

# Клинические проявления и особенности лабораторной диагностики респираторно-репродуктивного синдрома свиней

Часть 2. Начало статьи читайте в журнале «Корма и Факты» №6-7 (70-71), 2016



Чтобы эффективно контролировать инфекционные болезни в условиях промышленного свиноводства, необходимы быстрые и чувствительные тесты для выявления вирусных агентов – антигенов и специфических белков, которые вырабатываются организмом животного в ответ на воздействие возбудителя – антител. Материал для исследования имеет немаловажную, а порой и решающую роль в диагностике заболевания. При этом некоторые заболевания достаточно сложно выявить в стаде и оценить стадию инфекции и распространенность, одним из таких заболеваний является респираторно-репродуктивный синдром свиней. Существует несколько подходов к диагностике РРСС (см. «Корма и факты», №6-7 (70-71), 2016, С.47-49<sup>1</sup>). Исследование образцов слюны (oral fluid – ротовой жидкости) – это достаточно новый способ, который позволяет достаточно дешево, а главное эффективно отслеживать наличие РРСС инфекции как в стаде, так и у отдельных животных<sup>2</sup>.

Ротовая жидкость, необходимая для исследований, представляет собой смесь слюны, транссудата слизистой ротовой полости и десен. Эту жидкость извлекают из ротовой полости с помощью обычной хлопковой веревки. Среди множества других компонентов, слюна содержит как местные (локальные) антитела, так и системные антитела. В образцах слюны можно обнаружить специфические IgM, IgA, и IgG. Достаточно высокая концентрация системных и локальных антител в слюне привела к ее использованию в качестве образца для диагностики различных инфекционных заболеваний: РРСС, цирковирусной инфекции 2 типа, гриппа типа А, энзоотической пневмонии и других<sup>3</sup>.

Наиболее распространенный метод, используемый для мониторинга инфекции в эндемически-инфицированных стадах, является обнаружение антител в слюне методом

твердофазного **иммуноферментного анализа (ELISA)**. Это наиболее технологичный метод обнаружения и мониторинга РРСС инфекции в стаде. Тест позволяет определить наличие специфических антител уже через 7 дней после заражения, но рекомендуем отбирать пробы через 14-21 дней, так как в этот период наблюдается пик сероконверсии. Обнаружение антител в слюне животных методом ИФА (ELISA) позволяет исследовать большее количество животных на наличие РРСС с относительно небольшими финансовыми затратами.

## Отбор образцов для исследования

Для отбора проб необходимы веревка из натурального волокна (100 % хлопок) диаметром 0,6-1,2 см, новый полиэтиленовый пакет, пластиковые пробирки типа «Эппендорф» (см. [Рисунок 1](#))

### Рисунок 1. Инвентарь для отбора проб слюны



Количество проб определяется числом станков или клеток, в которых содержатся животные. В среднем для отбора слюны нужна 1 веревка на 20-30 животных.

Отбор образцов желательно проводить утром до кормления, т.к. в это время животные более охотно жуют веревки. Повесьте веревку в станке с животными возле кормушки или поилки на уровне пяточка свиней и оставьте на 20-30 минут (см. [Рисунок 2](#)). Время можно сократить или увеличить, в зависимости от того, насколько охотно свиньи жуют веревки.

### Рисунок 2. Размещение веревок в станке



После того, как свиньи пожевали веревку (25-30 минут) и в ней накопилось достаточное количество слюны, снимите ее.

Положите ее в полиэтиленовый пакет и хорошо выкрутите, жидкость соберется на дне пакета (см. [Рисунок 3а](#)).

### Рисунок 3а. Отбор проб слюны



Аккуратно срежьте уголок пакета, а жидкость слейте в пробирку (см. [Рисунок 3б](#)).

### Рисунок 3б. Отбор проб слюны



Далее образцы следует пронумеровать, заморозить при температуре не выше  $-20^{\circ}\text{C}$  и отправить в лабораторию вместе с сопроводительными документами. Нельзя объединять образцы с разных веревочек.

Обычно животные активно жуют веревки, но если в вашем хозяйстве свиньи не проявляют интереса к веревкам, можно привлечь их, используя аттрактанты со сладким запахом или вкусом для хрючков, синтетические феромоны хрючка для свиноматок, а для остальных групп животных на веревку можно распылить яблочный сок или сладкую воду.

## Диагностика

Полученные образцы слюны можно использовать как для определения наличия антител с помощью иммуноферментного анализа (ИФА), так и для быстрого определения наличия уникальной последовательности генома вируса методом ПЦР.

Использование слюны в качестве объекта исследования позволяет:

1. Подтверждать негативный статус здоровья свиней на предприятии.
2. Не пропустить момент инфицирования животных в негативных стадах, особенно при ввозе извне ремонтных свинок и хрючков.
3. Определять на каком этапе выращивания свиней происходит вирусное выделение и, соответственно, перезаражение животных как горизонтальным, так и вертикальным путем.
4. Подтверждать эффективность схемы вакцинации. При этом разобраться в качестве вакцины, технике вакцинации и сроках ее проведения. Отработать оптимальную схему вакцинации.
5. Проводить тестирования чаще и получать более точную эпизоотическую информацию.

## Схема диагностики

В негативных стадах или стадах с неизвестным статусом рекомендуется отбирать пробы слюны от супоросных

свиноматок, хрючков, ремонтного молодняка и животных на откорме на ИФА исследования, а также от карантинированных ремонтных свинок и хрючков на ПЦР.

В стадах, положительных по РРСС, которые применяют вакцинацию животных живыми или инактивированными вакцинами рекомендуется отбирать пробы слюны для ИФА от супоросных свиноматок и хрючков, а также проводить комплексную диагностику ИФА и ПЦР ремонтных животных, порослят на подсосе, дорастивании и откорме. Дополнительно следует проводить ПЦР исследование абортплодов и спермы от хрючков. В стадах с положительным статусом по РРСС, и в которых не применяют вакцинацию, следует использовать комбинацию методов ИФА и ПЦР для диагностики всех групп животных, а также абортплодов.

## Интерпретация

Если после проведения комплекса исследований ИФА и ПЦР в слюне животных вы получили такие результаты:

- ПЦР – положительный, ИФА – положительный: животные инфицированы, ситуацию нужно стабилизировать путем исключения животных-вирусоносителей (так как ранее провели тестирование слюны животных пулом (1 проба=30 животных) необходимо провести исследование сыворотки крови методом ИФА на наличие титров антител к РРСС и методом ПЦР на наличие вируса индивидуально у каждого животного);
- ПЦР – отрицательный, ИФА – отрицательный: животные свободны от вируса РРСС, ситуация стабильная в случае отсутствия вакцинации в стаде (если в стаде проводилась вакцинация, а иммунного ответа нет – нужно обратить внимание на технику вакцинации, условия хранения вакцины, иммунный статус животных на момент проведения вакцинации или учесть другие возможные причины);
- ПЦР – положительный, ИФА – отрицательный: животные инфицированы, вирус выделяется в окружающую среду, иммунной защиты нет или иммунный ответ еще не сформировался (прошло менее 7-14 дней после инфицирования).
- ПЦР – отрицательный, ИФА – положительный: животные имели контакт с антигеном, сформировался иммунный фон стада – защита есть, вирусное выделение нет.

Выбор диагностических инструментов зависит от цели исследований: мониторинг, скрининг, контроль вакцинации и др. Универсального способа диагностики РРСС не существует – **нужен комплексный подход**, при котором необходимо учитывать **специфическую ситуацию** в каждом отдельном хозяйстве, в следствие которых могут изменяться параметры и подходы к исследованиям.

## Список литературы

1. Коляда С.Г. Клинические проявления и особенности лабораторной диагностики респираторно-репродуктивного синдрома свиней / С.Г. Коляда, А.В. Кокарев, Г.С. Мовкалова, Д.Н. Масюк // «Корма и факты», №6-7 (70-71), 2016. - С.47-49.
2. <http://www.oie.int/en>
3. Kittawornrat A. Kinetics of the porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) humoral immune response in swine serum and oral fluids collected from individual boars / A. Kittawornrat, M. Engle, Y. Panyasing, C. Olsen, K. Schwartz, A. Rice, S. Lizano, C. Wang, J. Zimmerman // BMC Veterinary Research, 2013. <https://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/1746-6148-9-61>