

УДК 619:616.98:578.831.31:636.4:614.31(470)
<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2021-345-2-16-20>

Краткий обзор/Brief review

**Хенао-Диас А.¹,
 Джиб Дж.²,
 Хименес-Лиролаа Л.¹,
 Баума Д. Х.¹,
 Циммерман Дж.¹**

¹ Отдел ветеринарной диагностики и медицины продуктивных животных, Университет штата Айова, г. Амес, США (Department of Veterinary Diagnostic and Production Animal Medicine, College of Veterinary Medicine, Iowa State University, Ames, IA 50011. USA)

² Отдел статистики колледжа искусств и науки, Университет штата Айова, США (Department of Statistics, College of Liberal Arts and Sciences, Iowa State University, Ames, IA, 50011. USA)

Ключевые слова: ПРСС, ИФА, диагностика, этапы болезни

Для цитирования: Хенао-Диаса А., Джиб Дж., Хименес-Лиролаа Л., Баума Д.Х., Циммерман Дж. Понимание и интерпретация диагностики ПРСС в контексте «стадий заболевания». *Аграрная наука.* 2021; 345(2): 16–20.

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2021-345-2-52-60>

Конфликт интересов отсутствует

**Alexandra Henao-Diaza¹,
 Ju Jib²,
 Luis Gimenez-Lirolaa¹,
 David H. Bauma¹,
 Jeffrey Zimmerman¹**

¹ Department of Veterinary Diagnostic and Production Animal Medicine, College of Veterinary Medicine, Iowa State University, Ames, IA 50011. USA

² Department of Statistics, College of Liberal Arts and Sciences, Iowa State University, Ames, IA, 50011. USA

Key words: PRRS, ELISA, diagnostics, stages of the disease

For citation: Henao-Diaza A., Jib J., Jimenez-Lirolaa L., Bauma D.H., Zimmerman J. Understanding and Interpreting a PRRS Diagnosis in the context of “disease stages”. *Agrarian Science.* 2021; 345(2): 16–20. (In Russ.)

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2021-345-2-16-20>

There is no conflict of interests

Понимание и интерпретация диагностики ПРСС в контексте «стадий заболевания»

РЕЗЮМЕ

В статье рассмотрены вопросы, связанные с эффективностью диагностики персистирующих инфекций. На примере ПРСС обсуждается взаимосвязь между «стадиями заболевания» и «стадиями диагностики» на основе мета-анализа данных результатов диагностических исследований ($n = 4307$ результатов), представленных в реферированных научных работах для понимания ключевых моментов. Несмотря на продолжающееся усовершенствование методов диагностики, ни один из них по отдельности не может быть признан единственно правильным решением: выбор типа образца и теста для исследования зависит от конкретной поставленной задачи. В большинстве случаев для установления истинной картины эпизоотии необходимо использовать несколько методов исследования и/или типов образцов.

Understanding and interpreting a PRRS diagnosis in the context of “disease stages”

ABSTRACT

The article discusses issues related to the effectiveness of diagnostics of persistent infections. Using PRRS as an example, the relationship between “disease stages” and “diagnostic stages” is discussed on the basis of a meta-analysis of data from diagnostic studies ($n = 4307$ results) presented in refereed scientific papers to understand the key points. Despite the ongoing improvement of diagnostic methods, none of them individually can be recognized as the only correct decision: the choice of the type of sample and test for research depends on the specific task. In most cases, to establish the true picture of an epizootic, it is necessary to use several research methods and / or types of samples.

Поступила: 15 февраля
 После доработки: 19 февраля
 Принята к публикации: 20 февраля

Received: 15 February
 Revised: 19 February
 Accepted: 20 February

ходит в лимфоидных тканях (Horter et al., 2002; Molina, 2008; Wills et al., 1997, 2003); 4) в итоге происходит выведение вируса из организма свиньи. Wills et al. (1997) сообщали об изоляции ВРРСС из глоточных образцов (соскоб с миндалин) у свиней, содержащихся в индивидуальных станках, до 157 суток после заражения (Wills et al., 1997).

Lopez and Osorio (2004) описали весь процесс инфекции ВРРСС во времени (рис. 1), но в их работе не рассматривалась значимость лабораторных исследований. Чтобы заполнить этот пробел, был проведен мета-анализ с соответствующим логистическим регрессионным анализом (V 9.4 SAS®, SAS Institute Inc., Cary, NC) на основе данных научных статей ($n = 19$; с 1995 по 2018 гг.), в которых сообщалось о выделении ВРРСС в разное время после заражения у отдельных животных (Allende et al., 2000; Christopher-Hennings et al., 1995, 1998, 2001; Hena-Diaz et al., 2018; Horter et al., 2002; Kittawornrat et al., 2010, 2013; Molina, 2008; Molina et al., 2008; Pepin et al., 2015; Prickett et al., 2008; Reicks et al., 2006; Rovira et al., 2007; Rowland et al., 2003; Sattler et al., 2014; Wasilk et al., 2004; Wills et al., 1997, 2003).

В целом, база данных содержала 4307 продолжительных наблюдений, связанных с выделением ВРРСС с использованием трех подходов: РНК в сыворотке (РТ-ПЦР), инфекционный вирус в лимфоидных тканях (биопроба) и антитела в сыворотке крови (ИФА). Для данного анализа применялась обобщенная смешанная модель с логит-связью и с использованием "PROC GLIMMIX" (V 9.4 SAS®). Результаты тестирования закладывались как «негативные» 0, «позитивные» 1; дни после заражения (ДПЗ) рассматривались как независимая переменная; источник диагностических данных (1–19-я научная статья) рассматривался как случайный эффект. Предполагаемые отрезки времени переменной ДПЗ использовались при составлении трех уравнений логистической регрессии для прогноза выявления ВРРСС во времени тремя изучаемыми методами (табл. 1). На рис. 2 показан прогноз уровня выявления ВРРСС по трем уравнениям в период до 250-го дня после заражения.

Стоит отметить, что уровень выявления ВРРСС существенно зависел от типа образца для тестирования (сыворотка или лимфоидные ткани) и диагностического метода (РТ-ПЦР, биопроба или ELISA). К примеру, на 98-й ДПЗ по прогнозу следовало, что <2% свиней будут на стадии вiremии, при этом у 30% свиней будет находиться в лимфоидных тканях, и >90% свиней будут позитивны по антителам к ВРРСС. Прогностические уровни выделения ВРРСС в зависимости от ДПЗ представлены в таблице 2.

Рис. 2. Уровни выявления ВРРСС, прогнозируемые в соответствии с уравнениями, приведенными в таблице 1. Графики демонстрируют прогнозируемый уровень выявления РНК ВРРСС в сыворотке методом РТ-ПЦР (стадия вiremии), выделения инфекционного ВРРСС в лимфоидных тканях методом биопробы (инфицированные свиньи) и выделения антител к ВРРСС методом ИФА (ранее был контакт с вирусом). Область между графиками для РТ-ПЦР и биопробы представляет прогностическую вероятность выявления свиней без вiremии, но способных являться носителями инфекционного вируса

Fig. 2. Levels of detection of VRRSV predicted in accordance with the equations given in Table 1. The graphs show the predicted level of detection of VRRSV RNA in serum by RT-PCR (stage of viremia), isolation of infectious VRRSV in lymphoid tissues by biosimulation (infected pigs) and isolation antibodies to BPRSV by ELISA (previously had contact with the virus). The area between the plots for RT-PCR and bioassay represents the predictive probability of detecting pigs without viremia, but which may carry infectious virus

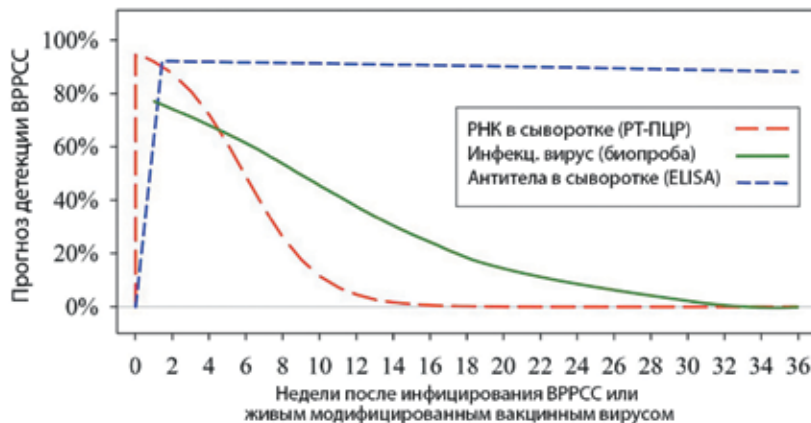


Таблица 2. Прогностический уровень ВРРСС-позитивных животных для разных диагностических методов во времени

Table 2. Predictive level of BRRSV-positive animals for different diagnostic methods over time

	Дни после заражения (ДПЗ) ВРРСС или живым модифицированным вакцинным вирусом								
	N	3	7	14	28	42	77	98	175
ВРРСС в сыворотке (РТ-ПЦР) ^a	1973	94%	92%	87%	72%	48%	7%	2%	0%
Инфекционный ВРРСС (биопроба) ^b	468	•	77%	74%	68%	61%	41%	30%	7%
Антитела к ВРРСС (ELISA) ^c	1866	•	•	92%	92%	92%	91%	91%	90%

• Не тестировалось.

^a Уровни детекции ВРРСС, полученные из прогностических уравнений (таблица 1) на основании обобщенных данных ($n = 4307$) из 19 научных статей (1995–2018).

^b Постановка биопробы: заражение здоровых животных гомогенатом лимфоидных тканей или изоляция вируса в культуре клеток. Данные биопробы представляют собой индивидуальные образцы, отобранные на ≥ 7 -е сутки после заражения ВРРСС.

^c Тестирование ELISA проводилось в IDEXX ELISA HerdCheck® или IDEXX PRRS ELISA X3 Ab Test (IDEXX Laboratories, Inc., Westbrook, ME, USA). Данные ELISA представляют собой индивидуальные образцы проб, взятых на ≥ 14 -е сутки после инфицирования свиней ВРРСС

Обсуждение

При классическом подходе «естественная история» инфекционного заболевания подразумевает «стадии заболевания», которые организм проходит во время инфекции (Thurmond, 2003). В свое время Lopez and Osorio (2004) описывали стадии течения РРСС следующим образом: вiremия, иммунный ответ, секвестрация вируса в лимфоидных тканях и конечная элиминация вируса из организма свиньи (рис. 1). Thurmond (2003) на примере ящура ввел понятие «диагностические стадии» для описания изменений в чувствительности и специфичности в зависимости от типа исследуемого образца и диагностического метода на разные стадиях заболевания ящуром. В случае с ящуром образцы сыворотки крови свиней могут использоваться для выделения ДНК этого вируса, если сыворотка получена до исчезновения признаков вiremии (≤ 10 ДПЗ), но при этом инфекционный вирус по-прежнему присутствует в миндалинах мягкого

неба и других тканях до 28-го дня после инфицирования (Poonsuk et al., 2018). Thurmond (2003) заключил в своей работе, что для достоверного определения вируса следует хорошо понимать заболевание как таковое и стадии, наиболее подходящие для диагностики тем или иным методом, особенно в случае персистирующих инфекций, таких как РРСС, ящур, КЧС, болезнь Ауески (Beran et al., 1980; Panyasing et al., 2018).

Заболевание, вызванное ВРРСС, и его диагностические стадии частично представлены во многих независимых исследованиях (Allende et al., 2000; Christopher-Hennings et al., 1995, 1998, 2001; Hena-Diaz et al., 2018; Horter et al., 2002; Kittawornrat et al., 2010, 2013; Molina, 2008; Molina et al., 2008; Pepin et al., 2015; Prickett et al., 2008; Reicks et al., 2006; Rovira et al., 2007; Rowland et al., 2003; Sattler et al., 2014; Wasilk et al., 2004; Wills et al., 1997, 2003).

Проведение обобщенного анализа данных этих исследований позволило более полно охарактеризовать диагностические стадии в отношении ВРРСС в период до 250-го дня после инфицирования для трех диагностических методов исследования. При сопоставлении рисунков 1 и 2 видно, что описанная в литературе «естественная история» протекания РРСС полностью соответствует результатам обобщенного анализа. Таким образом, в подтверждение общих соображений Thurmond'a (2003) по поводу диагностических стадий настоящее исследование показывает, что вероятность определения ВРРСС варьирует в зависимости от типа образца, метода исследования и времени от начала инфекции у животного.

Технологии диагностики заболеваний будут продолжать развиваться с усовершенствованием методов исследования и их адаптацией к новым типам образцов для исследований, но при этом все равно сохраняются ограничения в эффективности различных методов диагностики в рамках стадий эпизоотии.

В условиях производства оптимальным подходом будет тот, при котором используются разные типы об-

разцов и методов без ущерба эффективности, в соответствии с поставленными задачами — будь то раннее выявление заболевания, оценка инфекционного статуса, постоянный мониторинг поголовья, эффективность вакцинации, групповой иммунитет и т.д. Такой подход требует определенной квалификации и кругозора специалистов для правильного выбора типа образца и/или метода исследования. Сыворотка всегда останется ценным материалом для проведения диагностики, но также и объединенные образцы жидкостей, выделяемых при кастрации и купировании хвостов, слюна отдельного животного или группы свиней способны обеспечить высокую эффективность и вероятность выявления инфекции с наименьшими затратами.

Как показано на рис. 2, обнаружение нуклеиновых кислот и определение антител должны использоваться как дополняющие друг друга методы исследования при РРСС.

В данной статье авторы попытались осветить фундаментальные вопросы диагностики, их практическое применение и конкретно — взаимосвязь между стадиями заболевания и диагностическими стадиями. Как показано на примере ВРРСС, выбор образца и теста для диагностики определяет, насколько точно удастся выявить инфекцию.

Знания таких закономерностей необходимы при выборе методов исследований — например, РТ-ПЦР используется в острую фазу, а ИФА — для выявления свиней-носителей вне стадии виремии и/или для выявления ранее произошедшего контакта с вирусом (Wills et al., 2003).

Приведенная в статье информация будет полезна при интерпретации результатов диагностических исследований, использующихся для контроля ВРРСС — например, положительные результаты в ИФА и отрицательные результаты в РТ-ПЦР у одной и той же группы животных не являются диагностическим противоречием, если рассматривать подобные результаты в свете концепции диагностических стадий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Molina, R.M., 2008. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus understanding and managing persistent infection. In: Iowa State Univ. PhD Thesis, Iowa State University, Veterinary Microbiology and Preventive Medicine.
- Allende, R., Laegreid, W.W., Kutish, G.F., Galeota, J.A., Wills, R.W., Osorio, F.A., 2000. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus description of persistence in individual pigs upon experimental infection. *J. Virol.* 74, 10834–10837. <https://doi.org/10.1128/JVI.74.22.10834-10837.2000>.
- Beran, G.W., Davies, E.B., Arambulo, P.V., Will, L.A., Hill, H.T., Rock, D.L., 1980. Persistence of pseudorabies virus in infected swine. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 176, 998–1000.
- Christopher-Hennings, J., Nelson, E.A., Hines, R.J., Nelson, J.K., Swenson, S.L., Zimmerman, J.J., Chase, C.C.L., Yaeger, M.J., Benfield, D.A., 1995. Persistence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in serum and semen of adult boars. *J. Vet. Diagn. Investig.* 7, 456–464. <https://doi.org/10.1177/104063879500700406>.
- Christopher-Hennings, J., Nelson, E., Nelson, J., Rossow, K., Shivers, J., Yaeger, M., Chase, C., Garduno, R., Collins, J., Benfield, D., 1998. Identification of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in semen and tissues from vasectomized and nonvasectomized boars. *Vet. Pathol.* 35, 260–267. <https://doi.org/10.1177/030098589803500404>.
- Christopher-Hennings, J., Holler, L.D., Benfield, D.A., Nelson, E.A., 2001. Detection and duration of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in semen, serum, peripheral blood mononuclear cells and tissues from Yorkshire, Hampshire and Landrace boars. *J. Vet. Diagn. Investig.* 14, 133–142. <https://doi.org/10.1177/104063870101300207>.
- Hena-Diaz, Y.A., Gimenez-Lirola, L., Poonsuk, K., Cheng, T.-Y.T.-Y.Y., Wang, C., Ji, J., Baum, D.H.D.H., Main, R.G., Zimmerman, J.J., 2018. Effect of chemical clarification of oral

fluids on the detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus IgG. *J. Vet. Diagn. Investig.* 30, 1–7. <https://doi.org/10.1177/1040638718789220>.

8. Horter, D.C., Pogranichniy, R.M., Chang, C.-C., Evans, R.B., Yoon, K.-J., Zimmerman, J.J., 2002. Characterization of the carrier state in porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *Vet. Microbiol.* 86, 213–228. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(02\)00013-5](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(02)00013-5).

9. Kittawornrat, A., Prickett, J., Chittick, W., Wang, C., Engle, M., Johnson, J., Patnayak, D., Schwartz, T., Whitney, D., Olsen, C., Schwartz, K., Zimmerman, J., 2010. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in serum and oral fluid samples from individual boars. Will oral fluid replace serum for PRRSV surveillance? *Virus Res.* 154, 170–176. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2010.07.025>.

10. Kittawornrat, A., Engle, M., Panyasing, Y., Olsen, C., Schwartz, K., Rice, A., Lizano, S., Wang, C., Zimmerman, J., 2013. Kinetics of the porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) humoral immune response in swine serum and oral fluids collected from individual boars. *BMC Vet. Res.* 9, 61. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-61>.

11. Lopez, O.J., Osorio, F.A., 2004. Role of neutralizing antibodies in PRRSV protective immunity. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 102, 155–163. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2004.09.005>.

12. Loving, C.L., Osorio, F.A., Murtaugh, M.P., Zuckermann, F.A., 2015. Innate and adaptive immunity against porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 167, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2015.07.003>.

13. MacLachlan, N.J., Dubovi, E.J., 2017. Pathogenesis of viral infections and diseases. In: MacLachlan, N.J., Dubovi, E.J. (Eds.), *Fenner's Veterinary Virology*, pp. 47–78. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-800946-8.00003-9>.

14. Molina, R.M., Cha, S.H., Chittick, W., Lawson, S., Murtaugh, M.P., Nelson, E.A., Christopher-Hennings, J., Yoon, K.J., Evans,

- R., Rowland, R.R.R., Zimmerman, J.J., 2008. Immune response against porcine reproductive and respiratory syndrome virus during acute and chronic infection. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 126, 283–292. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2008.08.002>.
15. Nathues, H., Alarcon, P., Rushton, J., Jolie, R., Fiebig, K., Jimenez, M., Geurts, V., Nathues, C., 2017. Cost of porcine reproductive and respiratory syndrome virus at individual farm level – an economic disease model. *Prev. Vet. Med.* 142, 16–29. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2017.04.006>.
16. Panyasing, Y., Kedkovid, R., Thanawongnuwech, R., Kittawornrat, A., Ji, J., Gimenez-Lirola, L., Zimmerman, J., 2018. Effective surveillance for early classical swine fever virus detection will utilize both virus and antibody detection capabilities. *Vet. Microbiol.* 216, 72–78. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.01.020>.
17. Pepin, B.J., Kittawornrat, A., Liu, F., Gauger, P.C.P., Harmon, K., Abate, S., Main, R., Garton, C., Hargrove, J., Rademacher, C., Ramirez, A., Zimmerman, J., 2015. Comparison of specimens for detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in boar studs. *Transbound. Emerg. Dis.* 62, 295–304. <https://doi.org/10.1111/tbed.12135>.
18. Poonsuk, K., Gimenez-Lirola, L., Zimmerman, J.J., 2018. A review of foot-and-mouth disease virus (FMDV) testing in livestock with an emphasis on the use of alternative diagnostic specimens. *Anim. Health Res. Rev.* 19, 100–112. <https://doi.org/10.1017/S1466252318000063>.
19. Prickett, J., Simer, R., Christopher-Hennings, J., Yoon, K.-J., Evans, R.B., Zimmerman, J.J., 2008. Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in porcine oral fluid samples a longitudinal study under experimental conditions. *J. Vet. Diagnostic Investig.* 20, 156–163. <https://doi.org/10.1177/104063870802000203>.
20. Reicks, D.L., Munoz-Zanzi, C., Rossow, K., 2006. Sampling of adult boars during early infection with porcine reproductive and respiratory syndrome virus for testing by polymerase chain reaction using a new blood collection technique (blood-swab method). *J. Swine Heal. Prod* 14, 258–264.
21. Rovira, A., Clement, T., Christopher-Hennings, J., Thompson, B., Engle, M., Reicks, D., Munoz-Zanzi, C.A., 2007. Evaluation of the sensitivity of reverse-transcription polymerase chain reaction to detect porcine reproductive and respiratory syndrome virus on individual and pooled. *J. Vet. Diagn. Investig.* 19, 502–509. <https://doi.org/10.1177/104063870701900507>.
22. Rowland, R.R.R., Lawson, S., Rossow, K., Benfield, D.A., 2003. Lymphoid tissue tropism of porcine reproductive and respiratory syndrome virus replication during persistent infection of pigs originally exposed to virus in utero. *Vet. Microbiol.* 96, 219–235. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2003.07.006>.
23. Sattler, T., Wodak, E., Revilla-Fernandez, S., Schmoll, F., 2014. Comparison of different commercial ELISAs for detection of antibodies against porcine reproductive and respiratory syndrome virus in serum. *BMC Vet. Res.* 10, 300. <https://doi.org/10.1186/s12917-014-0300-x>.
24. Thurmond, M.C., 2003. Conceptual foundations for infectious disease surveillance. *J. Vet. Diagn. Investig.* 15, 501–514. <https://doi.org/10.1177/104063870301500601>.
25. Trevisan, G., Linhares, L.C.M., Crim, B., Dubey, P., Schwartz, K.J., Burrough, E.R., Main, R.G., Sundberg, P., Thurn, M., Lages, P.T.F., Corzo, C.A., Torrison, J., Henningson, J., Herrman, E., Hanzlicek, G.A., Raghavan, R., Marthaler, D., Greseth, J., Clement, T., Christopher-Hennings, J., Linhares, D.C.L., 2019. Macroepidemiological aspects of porcine reproductive and respiratory syndrome virus detection by major United States veterinary diagnostic laboratories over time, age group, and specimen. *PLoSOne* 14, 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223544>.
26. Wasilk, A., Callahan, J.D., Fang, Y., Dammen, M., Reos, M.E., Torremorell, M., Mellencamp, M., Nelson, E., Nelson, W.M., 2004. Detection of U.S., Lelystad, and European-Like Porcine reproductive and respiratory syndrome viruses and relative quantitation in boar semen and serum samples by real-time PCR. *J. Clin. Microbiol.* 42, 4453–4461. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.10.4453>.
27. Wills, R.W., Zimmerman, J.J., Yoon, K.-J., Swenson, S.L., Hoffman, L.J., McGinley, M.J., Hill, H.T., Platt, K.B., Christopher-Hennings, J., Nelson, E.A., Hoffman, L.J., McGinley, M.J., Hill, H.T., Platt, K.B., 1997. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus a persistent infection. *Vet. Microbiol.* 57, 69–81. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(97\)00079-5](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(97)00079-5).
28. Wills, R.W., Doster, A.R., Galeota, J.A., Sur, J.-H., Osorio, F.A., 2003. Duration of infection and proportion of pigs persistently infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J. Clin. Microbiol.* 41, 58–62. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.1.58>.
29. Zimmerman, J., Yoon, K.-J., 2003. PRRSV compendium, Second. ed. National Pork Board. National Pork Board, Des Moines.

**ХОТИТЕ ПОЛУЧИТЬ СКИДКУ 5 %
НА ПРОДУКЦИЮ КОМПАНИИ IDEXX?**

Звоните по телефонам: +7 (800) 500 3585 или +7 (495) 120 7787
и назовите код скидки – ВЕРУМБИО321АМА.
Акция действительна до 30 апреля 2021 года.
Скидки не суммируются.

