

УДК 578/579:061.6]:331.45

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2021-347-4-33-34>

Оригинальное исследование/Original research

**Дураков В. А.**

ГК ВИК, Белгород, Россия

E-mail: [durakov@vicgroup.ru](mailto:durakov@vicgroup.ru)

**Ключевые слова:** лабораторные исследования, иммуноферментный анализ, полимеразная цепная реакция, свиньи

**Для цитирования:** Дураков В.А. Роль лабораторных исследований в обеспечении биобезопасности предприятия. Аграрная наука. 2021; 347 (4): 33–34.

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2021-347-4-33-34>

**Конфликт интересов отсутствует**

**Vitaliy A. Durakov**

VIC Group of Companies, Belgorod, Russia

E-mail: [durakov@vicgroup.ru](mailto:durakov@vicgroup.ru)

**Key words:** laboratory research, ELISA, PCR, pigs

**For citation:** Durakov V.A. The role of laboratory research in ensuring the biosafety of the farm. Agrarian Science. 2021; 347 (4): 33–34. (In Russ.)

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2021-347-4-33-34>

**There is no conflict of interests**

# Роль лабораторных исследований в обеспечении биобезопасности предприятия

## РЕЗЮМЕ

**Актуальность.** Работа посвящена изучению специфики проведения лабораторных исследований в промышленном свиноводстве. Целью исследований было определение оптимальных размеров выборки проб и методов лабораторной диагностики для недопущения заноса возбудителей инфекционных заболеваний с ввозимыми животными в стадо и комплексной оценки эпизоотической ситуации на свиноводческом предприятии.

**Методика.** Одним из ключевых моментов получения достоверных результатов лабораторных исследований является корректно определенный размер выборки при отборе проб. При контроле благополучия ввозимого поголовья по инфекционным заболеваниям наиболее достоверными будут исследования при отборе проб от всех ввозимых животных. В случае невозможности отбора проб и исследования всех животных при ввозе поголовья может быть использована выборка; при этом требуется добиться достоверности не ниже 95% и учитывать, что в популяции клинически здоровых животных распространенность/превалентность инфекционного заболевания может находиться на уровне 5% и ниже. Для группы животных в размере 600 голов размер выборки составляет 56. Расчет объема выборки, требуемого для определения болезни в неблагополучном стаде, проводился с аналогичным уровнем достоверности в 95%, но иными уровнями превалентности заболевания в 10% (для *Mycoplasma hyopneumoniae*) и 30% (для *Actinobacillus pleuropneumoniae*). Размеры выборок составили 30 и 10 проб соответственно.

**Результаты.** Анализ патогенеза инфекций свиней *Mycoplasma hyopneumoniae* и *Actinobacillus pleuropneumoniae* показал риск заноса возбудителей данных инфекционных заболеваний, если при подтверждении благополучия предприятия-поставщика и проведении ввозного карантина используются только серологические методы исследований. Отбор проб тканей для исследований методом ПЦР от животных, выращенных на предприятии-поставщике и направленных на убой, повысил достоверность выявления инфицированных животных. Разработанная схема проведения мониторинговых исследований с применением методов ИФА и ПЦР в отношении циркулярной инфекции свиней (ЦИС) позволяет дать оценку эпизоотической обстановки по данному заболеванию, прогнозировать клинические проявления и своевременно вносить коррективы в схему профилактических мероприятий.

# The role of laboratory research in ensuring the biosafety of the farm

## ABSTRACT

**Relevance.** The work is devoted to the study of the specifics of laboratory research in industrial pig breeding. The aim of the research was to determine the optimal sample sizes and methods of laboratory diagnostics to prevent the introduction of infectious disease agents with imported animals into the herd and a comprehensive assessment of the epizootic situation at the pig breeding enterprise.

**Methodology.** One of the key points of obtaining reliable laboratory results is the correctly determined sample size during sampling. When monitoring the welfare of imported livestock for infectious diseases, the most reliable studies will be the sampling of all imported animals. If it is not possible to take samples and study all animals when importing livestock, a sample can be used, while it is required to achieve a confidence of at least 95% and take into account that in a population of clinically healthy animals the prevalence of an infectious disease can be at the level of 5% or lower. For a group of 600 animals the sample size is 56. The sample size required to determine the disease in the affected herd was calculated with a similar 95% confidence level, but different disease prevalence levels of 10% (for *Mycoplasma hyopneumoniae*) and 30% (for *Actinobacillus pleuropneumoniae*). The sample sizes were 30 and 10 samples respectively.

**Results.** The analysis of the pathogenesis of infections of pigs *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Actinobacillus pleuropneumoniae* showed the risk of introducing pathogens of these infectious diseases if only serological research methods are used to confirm the well-being of the supplier enterprise and conduct import quarantine. The selection of tissue samples for PCR studies from animals raised at the supplier and sent for slaughter increased the reliability of detecting infected animals. The developed scheme of monitoring studies with the use of ELISA and PCR methods for porcine circovirus infection (CVIS) allows us to assess the epizootic situation for this disease, predict clinical manifestations and make timely adjustments to the scheme of preventive measures.

Поступила: 30 марта

После доработки: 5 апреля

Принята к публикации: 5 апреля

Received: 30 March

Revised: 5 April

Accepted: 5 April

## Введение

В связи с перепроизводством свинины на внутреннем рынке РФ особое значение приобретает сохранение рентабельности производства и недопущение роста затрат при выращивании свиней, в т.ч. связанных с инфекционными заболеваниями. Эпизоотическое благополучие предприятия достигается благодаря комплексу мер по биобезопасности, которые могут быть разделены на внешнюю (направленную на защиту стада от проникновения инфекционных агентов извне) и внутреннюю биобезопасность (направленную на контроль уже имеющихся на предприятии инфекций) [1].

Неотъемлемой частью внешней биобезопасности является проведение диагностических исследований ввозимого поголовья в соответствии с Перечнем противозооотических мероприятий. При этом чаще всего проводятся исследования сыворотки крови методом иммуноферментного анализа (ИФА), основанного на выявлении антител (АТ) к антигенам вирулентных для свиней бактерий и вирусов. К сожалению, в ходе планирования данных исследований не всегда учитываются важные особенности инфекционного процесса: различия в динамике выработки антител (сероконверсии) при различных инфекционных патологиях, динамика и уровень распространения заболевания в группе — в результате остается угроза необнаружения инфицированных животных и животных-носителей. Например, ранее было установлено, что АТ к *M. hyopneumoniae* могут быть обнаружены в сыворотке крови спустя только 6 недель после инфицирования [3], что делает практически невозможным обнаружение недавно инфицированных животных при помощи серологических методов. Также существуют затруднения при определении носительства возбудителя *A. pleuropneumoniae* или субклинической формы актинобациллезной плевропневмонии (АПП), так как концентрации АТ часто недостаточно для обнаружения [3].

В связи с ограниченными возможностями серологических исследований становится целесообразным использование дополнительно молекулярной диагностики (ПЦР). При этом важно при отборе проб учитывать тропизм инфекционных агентов при субклинической форме заболевания. В отношении *M. hyopneumoniae* предпочтительным материалом для ПЦР-исследований являются смывы со слизистой оболочки крупных бронхов и трахеи [5], что позволяет обнаруживать до 52% инфицированных животных независимо от того, сколько времени прошло от момента инфицирования [8]. Прижизненно для этого выполняется бронхоальвеолярный лаваж, который представляет собой трудоемкую и инвазивную процедуру [6], что может затруднять ее применение в рамках регулярных исследований при поставках ремонтного поголовья. Как альтернатива может быть рассмотрен отбор проб от животных, выращенных на том же предприятии и направленных на убой. Данный подход позволяет избежать трудоемких манипуляций,

предоставляет возможность визуального осмотра внутренних органов, снижает вероятность контаминации образцов и обеспечивает требуемый размер выборки (для *M. hyopneumoniae* — не менее 30 проб).

Исследования субклинической формы АПП показали, что при данной форме заболевания предпочтительным материалом для молекулярной диагностики являются смывы с крипт миндалины (для прижизненной диагностики) или фрагменты миндалины (для послеубойной диагностики) [4], отбор которых также возможен на убойном пункте от выбракованных животных племенной фермы. Использование метода ПЦР для обнаружения ДНК *A. pleuropneumoniae* в тканях миндалин позволяет обнаруживать 98% инфицированных животных независимо от того, было ли ранее клиническое проявление АПП или имеет место бессимптомная колонизация верхних отделов дыхательных путей. В то время как наборы-ИФА для выявления АТ к АрхIV показывают чувствительность в 94% только у переболевших животных и не обладают достаточной чувствительностью для выявления клинически здоровых особей с колонизацией верхних дыхательных путей [7].

Применение лабораторной диагностики в рамках внутренней биобезопасности основано на регулярных мониторинговых исследованиях, например, в отношении цирковирусной инфекции свиней (ЦВИС). В настоящее время субклиническая форма ЦВИС остается наиболее распространенной в промышленном свиноводстве, что обуславливает не только экономический ущерб, но и иммуносупрессию от данного заболевания.

Системный принцип мониторинговых исследований при ЦВИС основан на применении ИФА и количественной ПЦР в реальном времени: при этом первым проводится исследование сыворотки крови от животных разных групп методом ИФА для построения серологического профиля предприятия. Вторым этапом мониторинговых исследований будет определение количества копий ДНК ЦВС2 в сыворотке крови (при субклинической форме заболевания обнаруживается  $10^5$ – $10^6$  копий ДНК ЦВС2 в 1 мл сыворотки крови, а при клинической форме — более  $10^7$  копий ДНК ЦВС2 в 1 мл сыворотки крови) [11].

## Выводы

Анализ существующих методов лабораторной диагностики ряда инфекционных заболеваний свиней выявил недостатки применения только серологических методов исследований при карантинировании животных. Дополнительное использование метода ПЦР в реальном времени позволяет минимизировать риск заноса инфекций на предприятие.

Системные мониторинговые исследования представляют дополнительную информацию об инфицировании поголовья внутри предприятия со стороны имеющихся инфекционных агентов и развитии субклинических форм заболеваний.

## ЛИТЕРАТУРА:

1. Levis D.G., Baker R.B. Biosecurity of Pigs and Farm Security. Nebraska: University of Nebraska. 2011. 3 p.
2. Дудников С.А. Количественная эпизоотология: основы прикладной эпидемиологии и биостатистики. - Владимир: Демиург. 2004. - 460 с.
3. Bandrick M. Mycoplasma hyopneumoniae: Dynamics of Immunity and Physiology. Доступно по адресу: <https://www.pig333.com>
4. Zimmerman J.J., Karriker L.A., Ramirez A., Schwartz K.J., Stevenson G.W. Diseases of Swine, Tenth Edition. Iowa: John Wiley & Sons. 2012.
5. Clavijo M.J. Key points for the elimination of *M. hyopneumoniae*. Доступно по адресу: <https://www.pig333.com>
6. Pérez G.P., Arnal Bernal J.L. Sampling for the detection of

agents of the porcine respiratory disease complex: Bronchoalveolar lavage or bronchial scraping? Доступно по адресу: <https://www.pig333.com>

7. Tobias T.J. Actinobacillus pleuropneumoniae: transmission and clinical outbreaks. The Netherlands: Utrecht University. 2014

8. Clavijo M.J., Johnson C., Farkas A., Cano J.P. What happens when *M. hyopneumoniae* enters a herd? Assessment of natural infection in gilts. Доступно по адресу: <https://www.pig333.com>

9. Segalés J. Update on the importance of porcine circovirus type 2 (PCV2) subclinical infection. Доступно по адресу: <https://www.pig333.com>

10. Segalés J. The importance of porcine circovirus type 2 (PCV2) subclinical infection. Доступно по адресу: <https://www.pig333.com>

11. Liu D. Molecular Detection of Animal Viral Pathogens. London: Taylor & Francis Group. 2016