

---

2. Гаффаров Х.З, Иванов А.В., Непоклонов Е.А., Равилов А.З. Моно- и смешанные инфекционные диареи новорожденных телят и поросят. Казань, 2002, Издательство “Фэн”

3. Золотухин С.Н., Каврук Л.С., Васильев Д.А. Смешанная кишечная инфекция телят и поросят, вызываемая патогенными энтеробактериями. Ульяновск, 2006.

4. Золотухин С. Н. //Вопр. микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветер.-санит. экспертизы. Ульяновск,1990, с.67-70.

5. Каврук Л.С.//Ж -л “Ветеринария”, 1986, №3, с.56-58.

6. Методические указания “по бактериологической диагностике смешанной кишечной инфекции молодняка животных, вызываемой патогенными энтеробактериями”, 1999

## **ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ СВИНЕЙ ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ**

*Панюшкин А. И., к.в.н., научный консультант ООО  
«Торговый Дом «Биопром-Центр», г. Москва*

*Ключевые слова: иммуноферментный анализ, ELISA, мониторинг болезней свиней, чувствительность, специфичность, воспроизводимость, иммунохроматография.*

За последнее время наука достигла значительных результатов в области диагностики и эпизоотологического мониторинга инфекционных болезней животных. К одним из самых эффективных диагностических методов относится твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA), который к настоящему времени утвержден Госстандартом РФ как один из наиболее высокоспецифичных, чувствительных и достоверных методов количественной и качественной лабораторной диагностики болезней свиней. С его помощью можно проводить массовое обследование поголовья, оценку иммунного статуса после профилактических мероприятий, выявить очаг инфекции и предотвратить ее распространение, подтвердить или исключить факт заболевания сложной этиологии, своевременно принять решение о необходимости вакцинации и терапии, осуществлять контроль затрат на проведение комплекса противозооотических мероприятий.

Преимуществами ИФА являются высокая чувствительность, позволяющая выявлять концентрации белка в диапазоне нг/мл и специфичность; воспроизводимость и сходимость полученных результатов; стабильность при хранении всех необходимых реагентов; простота проведения реакции; возможность инструментального учета реакции и автоматизации всех ее этапов. Все они обусловили широкое применение данного метода, как в органах говетслужбы, так и непосредственно в условиях промышленного свиноводства.

ИФА, в основе которого лежит высокоспецифическое взаимодействие антител с антигенами, используется для развития и совершенствования двух основных

144

направлений современной лабораторной диагностики. К ним относятся методы, направленные на обнаружение антигена и антител. (Табл. 1).

**Таблица 1**

Методы, предназначенные для обнаружения антигена	Методы, предназначенные для выявления антител
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ранняя диагностика заболевания</li> <li>• Этиологический анализ эпизоотии и изучение закономерностей эпизоотического процесса</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Эпизоотологический мониторинг инфекций</li> <li>• Ретроспективная диагностика болезни</li> <li>• Оценка напряженности иммунитета и иммунологической эффективности применяемых в хозяйстве вакцин</li> <li>• Определение уровня колостральных антител у молодняка в первые дни (недели) жизни</li> </ul>

Применение ИФА в лабораторной практике

В настоящее время согласно стандартам МЭБ ИФА, наряду с традиционными тестами, широко используется в национальных программах по борьбе с инфекционными болезнями свиней во многих странах мира (Табл. 2).

**Таблица 2**

**Методы диагностики инфекционных болезней свиней, утвержденные МЭБ**

Название болезни	Основной диагностический метод
Болезнь Ауески	Иммуноферментный анализ, РН
Трихинеллез	Обнаружение антигена
Трансмиссивный гастроэнтерит	-
Везикулярная болезнь свиней	РН
Африканская чума свиней	Иммуноферментный анализ,
Классическая чума свиней	NPLA, ИФА, FAVN

В настоящее время особенно остро возникает вопрос специфической диагностики АЧС (Африканская чума свиней).

Африканская чума свиней (АЧС) – одна из наиболее сложных болезней с/х животных. Она вызывается ДНК содержащим вирусом, принадлежащим к семейству Asfarviridae. Вирус поражает только свиней. Клинические признаки у домашних свиней и диких кабанов отличаются. Острая форма заболевания характеризуется очень высокой смертностью, а также геморрагическими изменениями и функциональными расстройствами пищеварительной и респираторной систем. Клещи рода *Ornithodoros* выполняют роль биологического переносчика и резервуара вируса.

Против этого вируса не разработано эффективного лечения или вакцины, таким образом, борьба с данным заболеванием заключается в быстрой и надежной лабораторной диагностике и строгих санитарных мерах.

АЧС приводит к огромным экономическим потерям, в связи с этим вспышки болезни должны быть немедленно декларированы в МЭБ.

Прогресс в области диагностики, связан с развитием высоко чувствительных методов, позволяющих надежно диагностировать все формы течения болезни в течение нескольких часов.

Существует множество методов обнаружения вируса и специфических ан-

тител. Наиболее часто используемыми в настоящее время методами диагностики АЧС являются: ПЦР (стандартная и в режиме реального времени) для обнаружения вируса; ИФА и иммуноблоттинг для исследования сывороток. Дальнейшая схема показывает методы и их применение наиболее часто используемые в референтных лабораториях.

## АЧС : основные характеристики для диагностики

- Нет вакцины → антитела=инфекция
- Нет вируснейтрализующих антител  
↳ нет серотипов, только генотипы
- Длительная виремия
- Антитела сохраняются месяцами и иногда годами
- Формирование иммунных комплексов антиген-антитело



Ввиду отсутствия вакцин против АЧС, наличие специфических антител к вирусу показывает наличие болезни.

Большое количество серологических методов диагностики АЧС было разработано в последние годы, включая методы позволяющие выполнять диагностику в полевых условиях. В настоящее время наиболее используемыми являются реакция непрямой флуоресценции (РИФ), непрямой вариант ИФА и иммуноблоттинг (ИБ).

Серологические методы являются основой лабораторной диагностики АЧС и используются в программах контроля и ликвидации болезни, благодаря их высокой чувствительности и специфичности.

ИФА метод используется для проведения широкомасштабного эпизоотического мониторинга и исследований при программах контроля болезни. Метод обладает высокой чувствительностью и специфичностью, простотой и быстротой выполнения и экономичностью. Хорошей воспроизводимостью результатов и легкостью интерпретации

Разработаны два варианта ИФА для обнаружения специфических к вирусу АЧС антител:

- **Непрямой вариант ИФА-OIE**: данный метод разработан в лаборатории CISA-INIA и является официальным методом диагностики одобренным OIE. Настоящий метод ИФА основан на применении растворимого вирусного антигена содержащего большинство вирусных белков

- **Коммерческие наборы ИФА (INGENASA)**. Это конкурентный вариант ИФА для обнаружения антител к белку рp73 вируса АЧС (структурного компонента с вы-

---

сокой антигенной силой).

В данном ИФА наборе, на плашках иммобилизован белок vр73. После добавления исследуемой сыворотки, добавляются моноклональные анти-vр73 антитела, меченые пероксидазой. Моноклональные анти-vр73 антитела сорбируются на свободной от специфических антител поверхности плашки. Интерпретация результатов реакция прямо противоположна предыдущему варианту ИФА. Более интенсивная окраска лунки свидетельствует о меньшем количестве антител в сыворотке и наоборот.

Современные подходы к разработке ИФА

За последнее десятилетие произошли значительные изменения в технологии производства ИФА-наборов, обусловленные полученными новыми результатами научно-практических разработок.

Во-первых, моноклональные антитела (МКА) практически полностью вытеснили поликлональные антитела в большинстве тест-систем для их выявления. В этих тест-системах они используются либо в качестве конъюгатов, либо для адсорбции антигена.

Во-вторых, в качестве компонентов иммуноферментных тест-систем эффективно используются рекомбинантные антигены, обладающие иммунохимическими свойствами нативных белков и представляющие собой хорошо охарактеризованные и стандартизированные препараты.

В-третьих, в качестве неспецифических компонентов тест-систем и наборов стали применяться стандартизованные микропанили, стабильные химические реагенты и высокочувствительные субстратные смеси.

Все эти факторы применяются и учитываются на ООО «Щелковский завод фармацевтических и ветеринарных препаратов» при производстве высокочувствительных тест-систем для определения болезней свиней под торговой маркой Zetec по лицензии компании Synbiotics (Табл. 3).

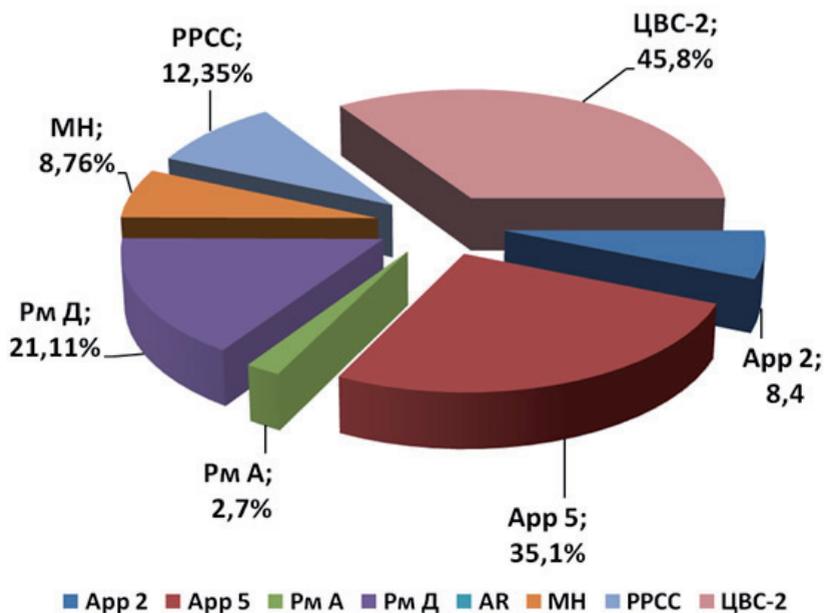
Применение ИФА для эпизоотологического мониторинга инфекций

Примером использования ИФА для эпизоотологического мониторинга инфекций могут служить исследования ООО «Торговый Дом «Биопром-Центр» по оценке распространенности вирусных и бактериальных возбудителей респираторных болезней свиней в свиноводческих хозяйствах промышленного типа. Так референсной лабораторией Synbiotics в России (ОАО «ПЗБ», г. Покров, Владимирской обл.), в течении 2010 года, с помощью различных ИФА-наборов были исследованы пробы сыворотки крови не вакцинированных свиноматок разного возраста из 40 свинок комплексов промышленного типа. Суммарные результаты исследований приведены на рис. 1.

Таблица 3

Наименование тест-системы	Краткие характеристики
Набор для определения антигена р125 вируса классической чумы свиней методом непрямого иммуноферментного анализа	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Набор предназначен для:</li> <li>• массового обследования поголовья свиней на наличие антигена р125 вируса классической чумы свиней в сыворотке, плазме и цельной крови, а также в лейкоцитах и тканевых экстрактах;</li> <li>• иммуноферментной диагностики классической чумы свиней на ранних стадиях инфицирования</li> </ul>
Набор для определения антител к цирковирусу свиней (тип 2) в сыворотке крови методом конкурентного иммуноферментного анализа	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Набор предназначен для:</li> <li>• серологического контроля за распространением цирковирусной инфекции в популяции свиней,</li> <li>• ретроспективной диагностики цирковирусной инфекции свиней по приросту уровня специфических антител;</li> <li>• проведения качественного и количественного анализов</li> </ul>
Набор для определения антигенов цирковируса свиней (тип 2) в фекалиях методом иммуноферментного анализа	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Набор предназначен для:</li> <li>• массового обследования поголовья свиней на наличие в фекалиях антигенов цирковируса свиней (тип 2),</li> <li>• иммуноферментной диагностики цирковирусной инфекции у свиней на ранних стадиях инфицирования</li> </ul>
Набор для определения антител к вирусу классической чумы свиней в сыворотке крови методом конкурентного иммуноферментного анализа.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Набор предназначен для:</li> <li>• серологического контроля за распространением классической чумы в популяциях свиней,</li> <li>• оценки эффективности иммунизации поголовья против данного заболевания,</li> <li>• ретроспективной диагностики классической чумы в популяциях свиней по приросту уровня специфических антител</li> </ul>
Набор для определения антител к гликопротеину g1 вируса болезни Ауески в сыворотке крови свиней методом конкурентного иммуноферментного анализа.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Набор предназначен для:</li> <li>• серологического контроля за распространением болезни Ауески в популяциях свиней,</li> <li>• оценки эффективности иммунизации поголовья против данного заболевания,</li> <li>• ретроспективной диагностики болезни Ауески в популяциях свиней по приросту уровня специфических антител</li> </ul>
Набор для определения антител к возбудителю <i>Mycoplasma hyorheumoniae</i> в сыворотке крови свиней методом конкурентного иммуноферментного анализа.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Набор предназначен для:</li> <li>• серологического контроля за распространением энзоотической пневмонии в популяциях свиней,</li> <li>• оценки эффективности иммунизации поголовья против данного заболевания,</li> <li>• ретроспективной диагностики энзоотической пневмонии свиней по приросту уровня специфических антител</li> </ul>

**Количественная оценка серопозитивных животных по бактериальным и вирусным респираторным инфекциям в хозяйствах РФ, %**



**Рис. 1.** РСС – вирус репродуктивно-респираторного синдрома свиней, ЦВС-2 – цирковирус свиней 2 типа; App 2 - *Actinobacillus pleuropneumoniae* 2, App 5 – *Actinobacillus pleuropneumoniae* 5, Рм А-*Pasteurella multocida* type A, Рм D-*Pasteurella multocida* type D, AR-*Bordetella bronchiseptica*, МН-*Mycoplasma Hyopneumoniae*.

Полученные данные наглядно свидетельствуют о широком распространении в обследованных хозяйствах *Actinobacillus pleuropneumoniae* 5 серотипа и других патогенов бактериальной и вирусной этиологии как в моноварианте, так и в ассоциации. Это подтверждает необходимость проведения противоэпизоотических и ветеринарно-санитарных мероприятий, направленных на предупреждение вспышек болезней, вызываемых данными возбудителями, в число которых входит эпизоотологический мониторинг и вакцинация свинополовья.

**Иммунохроматографический метод (ИХ)**

Данный метод диагностики инфекционных заболеваний человека и животных, основанный на латеральной диффузии реагентов по мембранному пористому носителю, является наиболее экспрессным и простым в постановке. ИХ предназначен для быстрого и одностадийного выявления вирусного антигена или антител с использованием хроматографических мембран (иммунострипов) в качестве твердого носителя и иммобилизованных на них в различных зонах моноклональных антител. Некоторые из мембран мечены коллоидным золотом или другим маркером. В иде-

альном варианте метод по чувствительности и специфичности не уступает гетерогенному ИФА, а по простоте постановке и удобству в использовании – превосходит все ныне существующие диагностические методы.

В мировой ветеринарной практике ассортимент подобных наборов невелик, хотя разработка ИХ для диагностики инфекционных заболеваний других видов животных (в частности крупного рогатого скота и свиней) и апробация их в практических условиях продолжается (Фото 1).



**Фото 1. Оценка эффективности ИХ в дифференциальной диагностике вирусных гастроэнтеритов свиней: 2,5- обнаружение антигена вируса ЭДС; 4- обнаружение антигена вируса ТГС; 1,3 – отрицательный результат реакции на оба антигена (ТГС и ЭДС соответственно).**

#### Заключение

Последнее десятилетие стало периодом интенсивного развития и внедрения в широкую ветеринарную практику иммуноферментных тест-систем и наборов, предназначенных для иммунодиагностики этиологически и экономически значимых инфекционных болезней животных. Их явные преимущества заключаются не только в высокой чувствительности и специфичности, но и в простоте применения и учета результатов, что существенно расширяет возможности их использования для проведения не только массовых, но и индивидуальных исследований. Дальнейшее развитие этого направления будет направлено, прежде всего, на расширение спектра анализируемых патогенов, а также на разработку принципиально новых аналитических подходов, позволяющих с высокой чувствительностью регистрировать минимальные количества образовавшихся в результате реакции иммунных комплексов.

Внедряемые в практику простые и надежные высокочувствительные и специфичные тесты, созданные с использованием современных технологий и последних научных достижений, становятся основой лабораторных исследований.

---

---

### Библиографический список:

1. Байбиков Т.З., Кукушкин С.А. Профилактика основных вирусных болезней свиней в промышленном свиноводстве / Материалы секции «Проблемы инфекционной патологии свиней» // Всероссийский ветеринарный конгресс, Москва, 2007.
2. Верховский О.А и др. Разработка и совершенствование иммуноферментных тест-систем на основе моноклональных антител, предназначенных для диагностики инфекционных болезней животных // Ветеринарная патология, 2003, №1 (5).
3. Шкаева М.А. и др. Иммуноферментный метод выявления антител к цирковирусу свиней второго типа с применением рекомбинантного капсидного белка ORF-2 // Вопросы вирусологии, 2006, №5.
4. Кукушкин С.А., Байбиков Т.З., Фомин А.Е. Атипичный (высокопатогенный) репродуктивно-респираторный синдром свиней (обзор литературы)//Ветеринарная патология.-2008.-№4.-С.37-41.
5. Done S.H. Porcine respiratory disease complex (PRDC)// The Pig Journal.-2002.-N50.-P.174-196.
6. Choi Y.K., Goyal S.M., Joo H.S. Retrospective analysis of etiologic agents associated with respiratory diseases in pigs//Can. Vet.J.-2003.-Vol.44.-P.735-737.
7. Thacker E.L. Immunology of the porcine respiratory disease complex//Vet. Clin. North America: Food Anim. Pract.-2001.-Vol.17.-P.551-565.
8. Tong G.Z., Zhou Y.J., Hao X.F. et al. Highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome, China//Emerg. Infect. Dis.-2007.-Vol.13.-P.1434-1436.

УДК 615.038

## ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ БУТАФОСФАНА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ У СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ПТИЦЫ

**М.Н. Панфилова, к. в. н., руководитель группы доклинических исследований  
ЗАО «Нита-Фарм», Саратов, тел. 8(8452)55-66-85, sr-center@nita-farm.ru**  
**Н.Н. Жукова, к. х. н., старший научный сотрудник  
группы разработки продукции  
ЗАО «Нита-Фарм», Саратов, тел. 8(8452)55-66-85, sr-center@nita-farm.ru**

*Ключевые слова: бутафосфан, стресс, неспецифическая резистентность, птица.*

*Работа посвящена изучению действия препарата на основе бутафосфана на устойчивость птицы к стрессовым факторам, резистентность организма и ускорение роста и развития.*

**Введение.** В настоящее время с развитием промышленного животноводства и, в связи с этим, утратой индивидуального контроля за уровнем и качеством кормления животных и птиц, условиями их содержания и, соответственно, состоянием