



ИННОВАЦИИ В ВЕТЕРИНАРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ В СВИНОВОДСТВЕ: ОТ ЛАБОРАТОРИИ К ФЕРМЕ

АЛЕКСАНДР КОЛПАКОВ, РУКОВОДИТЕЛЬ ОТДЕЛА РАЗВИТИЯ

МИХАИЛ ЖУРАВЛЕВ, КАНДИДАТ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК, ПРОДАКТ-МЕНЕДЖЕР ООО «КОУДАЙС МКОРМА»

Интенсификация свиноводства неизбежно повышает риски распространения патогенов: чем плотнее поголовье и выше оборот стада, тем быстрее инфекция расходуется по комплексу и за его пределы. Вспышки африканской чумы свиней (АЧС), репродуктивно-респираторного синдрома свиней (PPCC) и классической чумы свиней (КЧС) способны за считанные недели вызвать массовую гибель поголовья и обернуться для хозяйства многомиллионными убытками — особенно когда речь идет об АЧС, против которой до сих пор не существует коммерческой вакцины, причем летальность у свиней при этом заболевании приближается к 100%. Золотой стандарт диагностики — лабораторная ПЦР — обладает высокой чувствительностью, но требует дорогостоящего оборудования, обученного персонала и немалого времени на выполнение анализа. На ферме от отбора пробы до получения результата нередко проходит несколько дней, а для эффективного сдерживания вспышки счет идет на часы.

ПОЛЕВАЯ ДИАГНОСТИКА — ТРЕБОВАНИЕ ВРЕМЕНИ

Разрыв между скоростью распространения инфекции и скоростью ее выявления породил острую потребность в полевой диагностике. Чтобы закрыть эту нишу, диагностический инструмент должен отвечать четырем требованиям одновременно: отличаться высокой скоростью (минуты, а не дни), простотой использования (доступность для персонала без лабораторной подготовки), низкой стоимостью исследования (пригодность для многократного мониторинга промышленного стада) и полевой применимостью (независимостью от сложного стационарного оборудования).

В последние годы сразу три технологических направления меняют методологию диагностики в свиноводстве: быстрая детекция нуклеиновых кислот на основе CRISPR-Cas, неинвазивный отбор оральной жидкости и мультиплексная детекция. По отдельности каждое из них решает лишь часть задачи, но вместе они формируют контур диагностики нового поколения — от пробирки в лаборатории до тест-полоски в руках ветеринарного специалиста.

CRISPR-ДИАГНОСТИКА

В основе метода лежит своеобразный «сторожевой» механизм белков Cas12a и Cas13a. Каждый из них настроен на поиск одного строго определенного участка генетического материала возбудителя: ДНК или РНК. Пока нужный участок не найден, белок ведет себя нейтрально. Но как только он «узнает» искомую последовательность, его поведение резко меняется: он начинает беспорядочно разрезать находящиеся рядом вспомогательные молекулы-метки, специально добавленные в реакцию. Это одноцепочечная ДНК для Cas12a или РНК для Cas13a. Каждая разрезанная метка высвобождает свечение, поэтому чем больше в пробе возбудителя, тем ярче сигнал и его можно считать простым портативным прибором, без сложной лабораторной аппаратуры.

Всю логику CRISPR-теста можно свести к одной простой цепочке: возбудитель есть в пробе → Cas-белок узнает его генетический код → включается молекулярный «нож», который начинает резать метки-репортеры → разрезанные метки высвобождают свечение → свечение видно на тест-полоске или в считывающем приборе. Если возбудителя в пробе нет, Cas-белок ничего не узнает, «нож» не включается и полоска остается немой. Такая схема «нашел — разрезал — засветилось» и есть весь принцип работы теста.

Чувствительность у метода очень высокая: тест способен обнаружить возбудителя, даже если в одном микролитре пробы содержится всего одна его генетическая копия.

Результат при этом готов уже через 25–60 минут при температуре 37 °С, близкой к температуре тела животного, без дорогостоящего оборудования и лаборанта с многолетним стажем: увидеть свечение или полоску на тест-стрипе способен любой сотрудник фермы после короткого инструктажа.

На сегодняшний день эта технология успешно применяется для выявления множества патогенов у свиней, включая АЧС, РРСС, КЧС, цирковир (ЦВС), вирус ящура, ротавирус и парвовирус 7-го типа. Система на основе CRISPR-Cas12a обеспечивает быструю полевую диагностику вируса АЧС. Чувствительность метода сопоставима с чувствительностью ПЦР-детекции. А для вируса эпидемической диареи свиней CRISPR-система позволяет дифференцировать генотипы GI и GII, что важно для выбора вакцин и эпидемиологического отслеживания.

При всей впечатляющей чувствительности полевое применение CRISPR-диагностики пока сталкивается с двумя основными барьерами.

МОНИТОРИНГ ОРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ

Оральная жидкость — это смешанный секрет ротовой полости: помимо собственно слюны, он включает слизистый транссудат со стенок щек и десен, остатки корма и слущенные клетки эпителия. В ней одновременно присутствуют системные маркеры — антитела, которые циркулируют в крови и проникают в ротовую полость, и локальные маркеры, то есть нуклеиновые кислоты возбудителей, попадающие в рот при обнюхивании и облизывании окружающих предметов и сородичей.

Отбор оральной жидкости — неинвазивная альтернатива традиционному взятию проб крови. Когда свиньи жуют хлопчатобумажную веревку, антитела, нуклеиновые кислоты патогенов и другие биомаркеры из ротовой полости адсорбируются на ее волокнах; после отжима собранная жидкость пригодна для ПЦР или ИФА.

Цркулирующие в крови антитела IgM, IgA, IgG проникают в ротовую полость путем пассивной диффузии или рецептор-опосредованного транспорта, а исследовательское поведение свиней (обнюхивание, покусывание, копание) параллельно концентрирует в ротовой полости патогены из окружающей среды. Результаты исследований показали возможность выявления в оральной жидкости как минимум 23 вирусных патогенов свиней, в том числе:

- РРСС — чувствительность ОТ-ПЦР около 81–88% в первые четыре недели после инфицирования;
- ЦВС2 — возможна детекция как антител, так и нуклеиновых кислот;

МУЛЬТИПЛЕКСНОСТЬ И ЦИФРОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

Мультиплексность — это ключевое направление современной диагностики в свиноводстве, позволяющее решить одну из главных практических проблем отрасли: клиническая картина многих инфекций схожа, а возникновение смешанных инфекций скорее является правилом, чем исключением.

Первый — зависимость от экстракции нуклеиновых кислот: большинство CRISPR-тестов по-прежнему требуют предварительного выделения нуклеиновых кислот из образца, а для этого нужны центрифуга, лизирующие растворы и обученный оператор. Именно этот этап становится узким местом на пути к полностью интегрированным полевым системам. Второй барьер — это недостаточная стандартизация и регуляторная валидация: лабораторные CRISPR-протоколы разных разработчиков не унифицированы по дизайну праймеров, концентрации репортеров и условиям реакции, а многоцентровые валидационные данные и одобрение регуляторов пока в дефиците, что сдерживает коммерческое продвижение технологии.

Перспективные направления, способные снять часть этих ограничений, уже определены: методы без экстракции нуклеиновых кислот, применение лиофилизированных реагентов, пригодных для хранения и перевозки при комнатной температуре, и мультиплексная CRISPR-детекция, объединяющая несколько мишеней в одной реакции.

- PEDV, или ВЭДС (вирус эпидемической диареи свиней) — в ИФА-оральной жидкости наилучшие характеристики показывает детекция IgA;
- АЧС, КЧС, вирус гриппа А, вирус ящура и ряд других возбудителей.

Ключевые преимущества метода очевидны: неинвазивность и отсутствие стресса для животного, репрезентативность на уровне группы (одна веревка собирает смешанный образец сразу от нескольких свиней), и экономическая эффективность за счет снижения трудозатрат на индивидуальный отбор проб.

Есть и ограничения, причем самое существенное из них — низкая концентрация антител в пробе. Уровень антител в оральной жидкости заметно ниже, чем в сыворотке крови, что напрямую сказывается на чувствительности серологических тестов. Специализированных диагностических наборов для оральной жидкости пока почти нет: большинство коммерческих наборов валидированы для сыворотки, и их применение к оральной жидкости требует адаптации протоколов и пороговых значений. Заметное влияние оказывают и факторы сбора пробы, такие как время суток, материал веревки, продолжительность жевания и степень гидратации животного. Они влияют на концентрацию аналитов и воспроизводимость результата.

Наконец, смешанный характер образца несет риск контаминации: он затрудняет определение статуса конкретного животного и может разбавлять сигнал от слабо инфицированных особей в стаде.

Вместо тестирования одной пробы на один патоген, мультиплексные системы выявляют сразу несколько мишеней с помощью одной реакции. По сути, мультиплексность — это скорее общий принцип организации анализа, чем отдельная методика: его можно встроить в любую из уже описанных технологий.

Один из вариантов реализации: мультиплексные CRISPR-системы на основе ортогональных Cas-белков, например Cas12a и Cas13a в одной реакции, каждый со своим флуоресцентным каналом. Подход использует разницу в «предпочтениях» двух ферментов: Cas12a расщепляет ДНК-зонды, Cas13a — РНК-зонды, поэтому в одной пробирке можно одновременно детектировать ДНК- и РНК-вирусы. Уже разработана платформа для одновременного выявления вируса гриппа свиней и вируса РСС с пределом детекции 5 копий/мкл для гриппа и 2 копии/мкл для РСС (Guo et al., 2026). Весь процесс занимает около 25 минут: 20 минут амплификации и 5 минут считывания на полоске. Та же технология успешно применена для дуплексного обнаружения SARS-CoV-2 и вируса АЧС: на клинических образцах чувствительность и специфичность достигли 100%, что подтверждает надежность метода.



Мультиплексность активно используется и в цифровой ПЦР — методе, который дает абсолютную количественную оценку без построения стандартной кривой. Мультиплексные панели на его основе позволяют одновременно и с высокой точностью дифференцировать несколько патогенов.

НА ПУТИ К ЕДИНОЙ ПОЛЕВОЙ ПЛАТФОРМЕ

Три рассмотренных направления скорее дополняют друг друга, чем конкурируют между собой, и именно их сочетание определяет облик диагностики ближайшего десятилетия. Оральная жидкость закрывает вопрос неинвазивного и группового отбора проб, CRISPR — быстрой и чувствительной детекции без стационарной лаборатории, а мультиплексность — информативности одного анализа. Следующим логичным шагом, на наш взгляд, является их технологическая интеграция: CRISPR-тесты, адаптированные под матрицу оральной жидкости, и мультиплексные панели, объединяющие в одной реакции сразу несколько актуальных для конкретного хозяйства патогенов.

Отдельная роль в этой интеграции отводится цифровым инструментам считывания и передачи данных. Портативные ридеры и смартфонные приложения, способные распознавать результат на тест-полоске и сразу же передавать его в облачную систему учета,

Например, создана тройная система crystal digital PCR (cdPCR) для дифференциальной диагностики респираторного коронавируса свиней, РСС и гриппа свиней: предел детекции — около 6 копий на реакцию, а чувствительность в 26 раз выше, чем у обычной мультиплексной ОТ-кПЦР (Shi et al., 2025). Валидация на 1657 клинических образцах показала диагностическую специфичность 99,2–99,8%. Метод особенно эффективен при анализе оральных жидкостей и фекалий, поскольку устойчив к ингибиторам ПЦР, которые часто присутствуют в этих матрицах.

Еще одно активно развивающееся направление — мультиплексные панели на основе LAMP и CRISPR. Эта стратегия сочетает простоту изотермальной амплификации (LAMP) с высокой специфичностью CRISPR и ориентирована прежде всего на патогены со схожей клинической картиной, например вирусные диареи. Так, разработана визуальная мультиплексная система для одновременного выявления четырех вирусов диареи поросят — ВЭДС, ТГС (трансмиссивного гастроэнтерита свиней), ДКВС (дельтакоронавируса свиней) и ротавируса, — использующая квантовые точки и CRISPR/Cas12a для визуализации результата на тест-полосках. Смешанные инфекции этих четырех вирусов встречаются очень часто, а их клиническая картина в виде водянистой диареи практически неразличима без лабораторного подтверждения.

В целом мультиплексность решает для свиноводства три ключевые задачи: дифференциацию схожих по клинике инфекций, выявление смешанных инфекций, которые часто протекают тяжелее, и экономию ресурсов — одна проба дает сразу несколько результатов. Технологии CRISPR, в первую очередь Cas12a и Cas13a, вместе с цифровой ПЦР задают тренд на создание полевых мультиплексных панелей, рассчитанных на применение прямо на ферме, а не в центральной лаборатории. Клиническая картина многих вирусных диарей поросят (ВЭДС, ТГС, ДКВС, ротавирус) схожа, что делает дифференциальную диагностику критически важной, а мультиплексные ПЦР-панели, позволяющие выявлять несколько патогенов в одной пробе, снижают затраты времени и реагентов и уменьшают риск ошибок при раздельном тестировании.

превращают единичный тест в элемент постоянного эпизоотологического мониторинга: результаты с разных ферм агрегируются, что позволяет раньше заметить региональную вспышку и точнее спланировать противоэпизоотические меры. Для промышленного свиноводства это не менее важно, чем скорость получения результата по отдельному животному или группе.



ВЫВОДЫ

Инновации в ветеринарной диагностике свиноводства смещают парадигму от подтверждения в лаборатории к быстрому решению на ферме. CRISPR-системы и мониторинг оральной жидкости делают диагностику доступнее, быстрее и менее травматичной для животных, а мультиплексные панели и цифровые технологии повышают информативность и прогностическую ценность получаемых данных.

При этом ни одна из рассмотренных технологий пока не может полностью заменить лабораторную ПЦР, так как каждая, скорее, занимает свою нишу в общей системе диагностики. CRISPR-тесты особенно ценны там, где решение нужно принять за минуты, оральная жидкость применяется там, где важен групповой скрининг без стресса для животных, а мультиплексные и цифровые панели там, где требуется максимальная информативность одного исследования. Оптимальная стратегия для хозяйства — продуманное сочетание нескольких технологий, подобранное под конкретную эпизоотическую ситуацию, стадию производственного цикла и доступный бюджет.

Остаются и системные ограничения, которые сдерживают внедрение новых методов в промышленных масштабах. Технологически это зависимость большинства CRISPR-тестов от предварительной экстракции нуклеиновых кислот и невысокая концентрация антител в оральной жидкости. Регуляторно — отсутствие унифицированных протоколов, многоцентровых валидационных исследований и официального одобрения для значительной части перечисленных методов. Организационно — потребность в обучении персонала хозяйств работе с новыми тест-системами и в интеграции результатов полевой диагностики в существующие протоколы биобезопасности.

Отдельного упоминания заслуживает и вопрос практической доступности описанных методик.

В мировом масштабе большинство из них пока не вышли за пределы научных публикаций и пилотных испытаний: коммерческих CRISPR-тест-систем для полевой диагностики болезней свиней на рынке единицы.

Инструменты для проведения цифровой ПЦР остаются оборудованием исследовательских и референтных лабораторий, а не рядового хозяйства. В России ситуация еще более сдержанная: для подавляющего большинства рассмотренных технологий не производят тест-системы, а повседневная диагностика в хозяйствах и лабораториях по-прежнему опирается на классическую ПЦР и ИФА. Это значит, что путь описанных инноваций от лабораторных публикаций до рутинного применения на российской ферме потребует не только доработки самой технологии, но и времени на импорт или локализацию производства, валидацию под отечественные штаммы патогенов и прохождение регуляторных процедур.

В горизонте ближайших пяти — десяти лет можно ожидать появления полностью интегрированных полевых платформ, объединяющих пробоподготовку без экстракции, мультиплексную CRISPR-детекцию и цифровую передачу результатов в единую систему эпизоотологического мониторинга. Для отрасли это означает переход к проактивной модели контроля здоровья стада, при которой вспышку удастся выявить на самой ранней стадии, когда меры сдерживания, от локальной изоляции секции до точечной вакцинации, еще эффективны и относительно недороги.

Только совместное решение технологических, регуляторных и образовательных задач позволит инновациям в диагностике полностью раскрыть свой потенциал в условиях промышленного свиноводства и превратить лабораторное открытие в рутинный инструмент на ферме.



ООО «Коудайс МКорма» — **компания №1** в России по производству премиксов, ведущий производитель престартеров, комбикормов и кормовых комплексов премиум-класса, а также крупнейший поставщик кормовых добавок. Комплексный подход к решению бизнес-задач наших партнеров, включающий в себя аудит и полное технологическое сопровождение, позволяет увеличить ценность готового продукта в режиме устойчивого развития предприятия.

Инновации являются одним из ключевых элементов стратегии компании. В отделе развития (R&D) «Коудайс МКорма» работают высококвалифицированные специалисты, которые постоянно анализируют мировые тренды и разрабатывают передовые продукты и решения. Это позволяет нам предлагать свиноводческим хозяйствам передовые и эффективные инструменты для улучшения здоровья и продуктивности животных.

ЖИВОТНОВОДСТВО РОССИИ

ОКТАБРЬ 2026

КСМ
КОУДАЙС МКОРМА

- Премиксы
- БВМК
- Кормовые комплексы
- Престартеры

