



**Національний  
університет  
біоресурсів і  
природокористування  
України**

**Факультет  
ветеринарної  
медицини**

**НДІ Здоров'я тварин**



**«ЄДИНЕ ЗДОРОВ'Я – 2022»  
Матеріали Міжнародної наукової конференції**



**22-24 вересня 2022 р.  
НУБіП України, м. Київ**

**УДК 636.1.09**

**МЕТОДИ ДІАГНОСТИКИ ІНФЕКЦІЙНОЇ АНЕМІЇ КОНЕЙ**

**Ланова Г. О., 2 курс ФВМ**

*Науковий керівник – Ушкалов В.О., доктор вет. наук, професор  
Національний університет біоресурсів і природокористування України,  
м. Київ*

Інфекційна анемія коней (ЕІА) викликається вірусом інфекційної анемії коней (ЕІАВ), представником роду *Lentivirus* сімейства *Retroviridae*. Більшість тварин переходять від хронічної стадії, що характеризується повторюваними піками вірусемії та лихоманки, до безсимптомної стадії інфекції, при якій носії залишаються заразними на все життя. ЕІАВ передається механічним шляхом через ротовий апараткусючих комах, внутрішньоутробно, при переливанні крові, через забруднені голки та хірургічні інструменти.

Від ЕІА немає ефективного лікування чи вакцини, а контроль цього захворювання здійснюється шляхом діагностики з наступною ідентифікацією, сегрегацією та евтаназією хворих непарнокопитних.

На сьогодні завдяки секвенуванню отримано повні геномні послідовності ізольованого в польових умовах ЕІАВ з п'яти різних країн: ЕІАВ<sub>WY</sub> (Сполучені Штати Америки), ЕІАВ<sub>LIA</sub> (Китай), ЕІАВ<sub>MY</sub> (Японія), ЕІАВ<sub>IRE</sub> (Ірландія), ЕІАВ<sub>DEV</sub> та ЕІАВ<sub>CORN</sub> (Англія), і неповна послідовність ЕІАВ<sub>ITA</sub> (Італія).

У більшості країн, у тому числі в Бразилії, офіційним діагностичним тестом на ЕІА є імунодифузійний тест на агаровому гелі (AGID) [1]. Хоча AGID має високу специфічність, він може дати хибнонегативні реакції або сумнівні результати через слабкі лінії преципітації, особливо у зразках, які взяли від ослів, мулів або нещодавно інфікованих непарнокопитних. У Китаї було створено перший непрямий рекомбінантний імуноферментний аналіз (ELISA), зв'язаний з ензимом (rgr 45), розроблений для виявлення антитіл gr 45 NHR-CHR вірусу інфекційної анемії коней. Використовуючи панель із 859 позитивних і негативних зразків сироватки коней, імуноферментний аналіз епітопу (rgr45 ELISA) мав 96,1 % відповідності, 98,6 % чутливості та 95,6 % специфічності, порівняно з AGID. Чутливість і специфічність rgr45 ELISA складала >90 % при тестуванні на окремих видах непарнокопитних, включаючи коней (*Equus caballus*), віслюків (*Equus asinus*) та мулів (*Equus caballus* x *Equus asinus*). Крім того, у коней при використанні rgr45 ELISA вірус-специфічні антитіла були виявлені через 10 днів після зараження, тоді як при AGID – на 18 день. Затверджене Національним довідковим центром з інфекційної анемії коней, ІФА із застосуванням химерного рекомбінантного пептиду (gag та env) показує межу виявлення на 1,43 log<sub>10</sub> більше, ніж AGID. Аналіз виявився надійним і мав високу чутливість у виявленні антитіл, що виробляються на початку інфекції. При цьому аналітична чутливість становила 100 %, специфічність – 99,3 %, тоді як стандартне відхилення коливалося від 1,58 до 5,01, а коефіцієнт варіації від 2,8 % до 28,8 %.

Методи ПЛР-діагностики мають значний потенціал як доповнення до традиційних методів серологічної діагностики ЕІАВ. Однак, більшість опублікованих методів ПЛР, включаючи методи, рекомендовані Всесвітньою організацією охорони здоров'я тварин (OIE), були розроблені з використанням лабораторно-адаптованих штамів вірусу і не працюють із польовими ізолятами вірусу інфекційної анемії коней. З цієї причини було створено гніздовий ПЛР-аналіз для виявлення провірусної ДНК інфекційної анемії коней в клітинах периферичної крові природно інфікованих коней. Попередні дослідження продемонстрували, що цей метод має межу виявлення 10 геномних копій і, при застосуванні до природно-інфікованої популяції диких коней, показує 100 % кореляцію зі звичайними методами серологічної діагностики, що забезпечує новий потужний інструмент для контролю інфекційної анемії коней.

Існує імуногістохімічний аналіз для виявлення вірусних антигенів у тканинах непарнокопитних, що були природно інфіковані ЕІАВ. Зрізи, які на ELISA та AGID дали позитивний результат на ЕІАВ, фіксували в 10 % розчині формаліну та заливали в парафін. Імуногістохімію проводили з використанням поліклональних антитіл проти інфекційної анемії коней. Антигени ЕІАВ спостерігали у червоній

пупці селезінки, синусоїдах печінки, бронхіолярних та альвеолярних епітеліальних клітинах легень, проксимальних і дистальних каналцях нирок. Наявність EIAV в селезінці та печінці була очікуваною через макрофагальний тропізм вірусу, а виявлення EIAV в епітеліальних клітинах легень і нирок було несподіваним і вказало на те, що вірус інфікує не тільки макрофаги і може виділятися з сечею та/або секретією ротової порожнини.

Китайські вчені виділили дикий високопатогенний штам коней (EIAV<sub>LN</sub>) і спробували адаптувати цей вірус до кількох інших тварин, тканин або клітинних ліній. Усі ці спроби зазнали невдачі, окрім однієї: вірус пережив 117 пасажів (EIAV<sub>DV117</sub>) у віслюка, підвищуючи патогенність, а не ослаблюючи її. Після 121 серійного пасажу штаму EIAV<sub>DV117</sub> на лейкоцитах осла (EIAV<sub>DLV121</sub>) відбулася прогресуюча втрата вірулентності. Вакцина EIAV<sub>DLV121</sub> забезпечила 85 % захист для коней і 100 % для ослів. Однак, виділення лейкоцитів осла було дорогим і трудомістким, тому вчені успішно культивували EIAV<sub>DLV121</sub> у дермальних клітинах плода осла за допомогою 13 пасажів. Ця вакцина (EIAV<sub>FDDV13</sub>) була такою ж ефективною, як і EIAV<sub>DLV121</sub>, тому з 1976 року ця ослаблена вакцина була введена більш ніж 70 мільйонам коней, мулів і ослів, ефективно контролюючи епідемію EIAV в Китаї [10]. На жаль, китайські штами належать до самостійної філогенетичної гілки, а розбіжність між повним геномом китайських штамів і геномом основних штамів EIAV в Америці та Японії становить ~23 %.