

threshold values. Strong performances of S/P of positive samples were also determined in wild boars from Kyiv and Chernihiv oblasts. Average S/P value was 0.93 ± 0.11 and 0.91 ± 0.07 respectively.

Conclusions and prospects for further research. The presence of antibodies to *M. hyopneumoniae* in the blood sera of wild boars confirms the circulation of the pathogen in wild fauna in Ukraine. Serological survey data indicate that a contact of wild boars with the pathogen in different oblasts of Ukraine significantly correlated. Thus, the findings point out the necessity of further continuous monitoring of enzootic pneumonia in swine farms in Ukraine.

Keywords: *M. hyopneumoniae*, ELISA, antibody, seroprevalence, wild boars, Ukraine.

REFERENCES

1. Done, S. N. (1996). Enzootic pneumonia (mycoplasmosis) revisited. *Pig J.*, 38, 40-61.
2. Tracher, E. L. (2004). Diagnosis of *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Anim. Health Res.*, 5, 317-320.
3. Grechuhin, A. N. (2002). Diagnostica micoplazmoznoy pnevmonii sviney [Diagnostic of mycoplasmas swine pneumonia]. *Vet. Practica. – Vet. Practice*, 1, 10-15 [in Russian].
4. Woeste, K., & Grosse, Beilage E. (2007). Transmission of agents of the porcine respiratory disease complex between swine herds. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.*, 114, 364-366.
5. Stegnij, B. T., Kovalenko, A. M., & Guz', S. A. (2006). Monitoringovyе issledovanija na mikoplazmoz i reproduktyvno-respiratornyj sindrom svinej s ispol'zovaniem ELISA i PCR testov [Monitoring studies of mycoplasmosis and porcine reproductive and respiratory syndrome, using ELISA and PCR tests]. *Veterinarnaja medicina. Har'kov – Veterinary medicine. Kharkov*, 86, 307-312 [in Russian].
6. Vengust, G., Valencak, Z. & Bidovec, A. (2006). A serological survey of selected pathogens in wild boar in Slovenia. *J. Vet. Med. Ser. B.*, 52, 24-27.
7. Vicente, J., Leon-Vizcaino, L. & Gortazar, C. (2002). Antibodies to selected viral and bacterial pathogens in European wild boars from southcentral Spain. *J. Wildl. Dis.*, 38, 649-652.

УДК 619:636.1

КРИВОШИЯ П.Ю., канд. вет. наук, ст. наук. сп., e-mail: p.kryvoshyya@gmail.com

КОТ Л.Б., e-mail: ksvlvm@ukr.net

РОМАНКО М.В., e-mail: maximromanko@gmail.com

Дослідна станція епізоотології Інституту ветеринарної медицини НААН

АНАЛІЗ НОРМАТИВНО-ПРАВОВОЇ БАЗИ З ЛІКВІДАЦІЇ ТА ПРОФІЛАКТИКИ ІНФЕКЦІЙНОЇ АНЕМІЇ КОНЕЙ У ДЕЯКИХ РОЗВИНЕНИХ КРАЇНАХ (ОГЛЯДОВА СТАТТЯ)

У статті висвітлені сучасні підходи щодо профілактики інфекційної анемії коней у розвинених країнах світу: Великобританії, Сполучених Штатах Америки, Німеччині, Франції, Італії, Австралії. Проаналізовано методи діагностики, заходи профілактики і ліквідації захворювання, розглянуто нормативно-правову базу. Висвітлено порядок запровадження та скасування обмежувальних заходів, проведення досліджень коней на ІНАН.

Встановлено, що у всіх країнах, де реєструється ІНАН, основним методом діагностики є реакція дифузної преципітації (тест Коггінса), а додатковими – ІФА, імуноблотинг та ПЛР.

Ключові слова: заходи профілактики, тест Коггінса, інфекційна анемія, імуноблотинг.

Вступ. Інфекційна анемія коней (*Anemia infectiosa equorum*) – вірусне захворювання непарнокопитних. Згідно прийнятої класифікації збудник відноситься до підродини *Lentivirinae* родини *Retroviridae*.

Інфекційна анемія коней відноситься до повільних інфекцій та викликає порушення генетичних, імунологічних і фізіологічних механізмів, що забезпечує довготривалу персистенцію вірусу в організмі.

Французькими вченими Карре і Валле у 1904 р. встановлена вірусна етіологія інфекційної анемії коней. У 1969 японський вірусолог Коно виділив вірус з культури клітин. У зв'язку з тим, що хвороба завжди супроводжується анемією, вона отримала назву «інфекційна анемія коней». За даними FAO, інфекційна анемія коней реєструється в 28 країнах світу. Її зареєстровано у США, Канаді, країнах Латинської Америки, Великобританії, Італії, Австралії, в окремих районах Венесуели, Норвегії, Франції, майже на всій території Монголії. Спорадичні випадки відмічаються у Лівії, Мексиці та ін.

Мета роботи. Проаналізувати та узагальнити нормативно-правову базу розвинених країн світу, наукові джерела та подати інформацію про сучасні підходи щодо профілактики та ліквідації інфекційної анемії коней.

Матеріали і методи досліджень. Під час проведення досліджень використовували та опрацьовували доступні джерела: інструкції з боротьби та профілактики інфекційної анемії коней, національне законодавство ряду країн та директиви наднаціональних організацій, наукові посібники, довідники, статті в наукових виданнях, автореферати дисертаційних робіт, електронні ресурси мережі Інтернет.

Результати досліджень та їх обговорення. За даними FAO, на початку 2000 р. серед загального світового поголів'я домашніх тварин всіх видів непарнокопитні складають 4,2% (в тому числі коні 2,5% і верблюди 0,4%).

За стандартами Міжнародного епізоотичного бюро щодо попередження та ліквідації інфекційної анемії коней, РДП [1–3] та ІФА [4] є точними та надійними серологічними методами діагностики ІНАН у коней, окрім лошат та ранньої стадії інфекції, а також у деяких випадках циркуляції антитіл у титрі, недостатньому для їхнього виявлення [5, 6]. Позитивні результати ІФА повинні бути підтверджені в РДП для того, щоб виключити недостовірні результати [7]. З метою виявлення інфікованих тварин проводиться ізоляція вірусу та ідентифікація [8].

Вірус можна ізолювати в культурі лейкоцитів здорового коня та ідентифікувати в ІФА [4], РІФ [9], методами молекулярної генетики або біопробу на сприйнятливих конях. Ізоляція вірусу в культурі лейкоцитів використовується рідко через складність виконання [10]. Біопробу проводять тільки на здорових тваринах. Для зараження зазвичай досить внутрішньовенної

ін'єкції 1–25 см³ цільної крові [11, 12]. Протягом 45 днів проводять клінічний огляд експериментально заражених тварин.

Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) – чутливий метод, що використовується для ідентифікації вірусного генома [13]. Через ризик контамінації ПЛР-продуктами, всі діагностичні зразки рекомендують досліджувати двічі. ПЛР проводять, якщо:

- отримано суперечливі результати серологічними методами;
- необхідне підтвердження позитивних результатів;
- необхідно виявити інфекцію на ранній стадії;
- при виробництві антисироваток або вакцин;
- необхідно з'ясувати статус інфекції лошади, народженого від хворої кобили.

Як матеріал для виявлення вірусу ІНАН в ПЛР використовують паренхіматозні органи (селезінку), а також лейкоцитарну фракцію крові тварин з гострим перебігом інфекції. Аналіз триває 2–3 дні залежно від кількості зразків. Перевагою методу ПЛР є те, що вірус ІНАН може бути виявлений уже на третю добу після зараження, у той час, як стандартними методами діагностики присутність вірусу реєструють на 9–13 добу після зараження, а специфічні антитіла в РДП виявляють тільки на 20–23 добу після зараження.

Всі імунологічні методи дослідження на ІНАН мають певні недоліки. Зареєстровані випадки імунодефіцитного стану в інфікованих коней, при якому вірусспецифічні антитіла не утворюються і, відповідно, не можуть бути виявлені серологічно [14]. Також імунологічні дослідження не можуть виявити заражених тварин на ранній стадії інфекції. Інший недолік – присутність у сироватці антитіл, спрямованих проти міжвидових різновидів антигену р26 [15]. Антитіла в сироватках, що позитивно реагують на ІНАН у РДП або ІФА, в імуноблотингу реагують тільки з антигеном р26 і не реагують з імунодомінантними антигенами gr45 або gr90 [16].

Основними методами виявлення вірусу ІНАН є серологічні. Загальноприйнятим методом серологічної діагностики є реакція дифузної преципітації (РДП) – тест Когінса. Результати, отримані цим методом, відрізняються специфічністю, точністю, стабільною відтворюваністю. Позитивні результати в РДП одержують через 15–30 днів після зараження коня вірусом ІНАН. Преципітуючі антитіла зберігаються протягом всього життя коня. Основне діагностичне значення мають антитіла до білка р29 [17, 18]. У лошади, народжених від заражених кобил, протягом чотирьох-шести місяців у крові зберігаються колостральні антитіла. Дворазовий негативний результат у РДП з інтервалом 45 днів вказує на відсутність вірусу інфекційної анемії.

Антиген може бути виготовлений із селезінки хворого коня з гострим перебігом інфекції, зараженої культури клітин нирки, шкіри ембріона коня, тимусу собаки або рекомбінантних білків [19].

Контроль коней на ІНАН у РДП – обов'язкова вимога при міжнародних перевезеннях, пов'язаних з експортом, кінно-спортивними змаганнями.

Додатковими методами лабораторної діагностики ІНАН є ПЛР, імуноблотинг, ІФА, РІФ та ін. Перші два методи використовують в системі діагностичних тестів для проведення оздоровчих і профілактичних заходів у США та Австралії.

Позитивні результати ІФА повинні бути підтверджені в РДП або імуноблотингу.

Імуноблотинг – якісний метод, який дозволяє визначати Ag (антиген) або At (антитіло) в будь-якому біологічному середовищі організму. Специфічність і чутливість методу – 99–100%. Імуноблотинг використовують як додатковий метод діагностики ІНАН у випадку одержання сумнівних результатів у РДП або ІФА [1–3]. Імуноблотинг виявляє антитіла до різних білків вірусу ІНАН – р26, gp45 та gp 90. Білки gp45 та gp90 є імунодомінантними антигенами та стимулюють утворення антитіл на рівні більш високому, ніж р26. Цю властивість використовують для ранньої лабораторної діагностики коней. Таким чином, імуноблотингом можна виявити заражених коней раніше, ніж у РДП. Імуноблотинг завдяки своїй специфічності належить до референс-тестів (підтверджуючих).

У США в 2006 р. Міністерство сільського господарства (USDA) і Служба охорони здоров'я тварин затвердили пакет нормативних документів «Інфекційна анемія коней – єдині методи діагностики та заходи щодо попередження і ліквідації».

Згідно з цими документами, акредитованим ветеринарним лабораторіям надаються повноваження для проведення лабораторних досліджень коней на ІНАН відповідно до протоколів щодо діагностики. Лабораторії зобов'язані вимагати від власників та ветеринарних лікарів опис коней і повідомляти про результати досліджень на ІНАН у відповідності до федеральних інструкцій. Окремі штати на додаток можуть мати власні додаткові лабораторні стандарти.

Офіційними лабораторними методами діагностики є РДП та ІФА (позитивні результати повинні бути підтверджені в РДП) [20]. Для з'ясування сумнівних результатів РДП або ІФА в Національній ветеринарній лабораторії або в Університеті штату Кентуккі застосовують імуноблотинг.

Планові дослідження коней на ІНАН проводять не менш одного разу на рік, окремі штати або регіони можуть мати додаткові програми моніторингу.

Категорії коней, що підлягають обов'язковому дослідженню на ІНАН:

1. Коні, що беруть участь у змаганнях, виставках та ін.;
2. Коні, яких транспортують в інші штати (протягом 12 місяців до переміщення).
3. Коні, призначені для продажу приватним власникам у межах одного штату (не раніше, ніж за 12 місяців до продажу та через 60 діб після закупівлі).
4. Коні, призначені для продажу на аукціонах або комерційних ринках, які повинні мати ліцензію на продаж коней (ізолюють коней до з'ясування результатів, запрошують акредитованого ветеринарного лікаря для перевірки ветеринарних документів призначених для продажу і для взяття проб крові у

недосліджених тварин).

Вперше на ІНАН лошат досліджують при відлученні. Для запобігання зараження їх ізолюють, не менш ніж на 60 діб, та виводять із карантину тільки за наявності негативних результатів лабораторного дослідження.

Карантин встановлюють протягом 24 годин після отримання повідомлення про перші позитивні результати дослідження коней на ІНАН до з'ясування остаточного діагнозу. Дотримання умов карантину контролюється державною ветеринарною інспекцією. В карантинній зоні радіусом 200 метрів усіх тварин досліджують на ІНАН. Коней вилучають із групи карантину протягом 24 годин після отримання повідомлення про позитивні результати, решту досліджують через 30–60 діб до отримання негативних результатів. Карантин знімають, якщо протягом 60 діб результати дослідження усіх тварин залишаються негативними.

Допускається транспортування хворих коней на територію інших штатів з супровідною ветеринарною інспекцією, який зобов'язаний забезпечити біологічну безпеку для навколишнього середовища. Транспортування коней з карантинної зони на виставки, змагання і т.п. можливе за наявності негативних результатів дослідження на ІНАН та проведенні досліджень кожні 15 діб до отримання негативних результатів не менш 60 діб. Всіх новоприбулих коней досліджують на ІНАН.

На територію країн-членів ЄС дозволяється завезення коней з інших країн, благополучних щодо ІНАН. Заражених тварин направляють на забій, інших повторно досліджують, встановлюють карантин. Якщо результати двохразового дослідження всіх тварин з інтервалом у три місяці залишаються негативними, то карантин може бути знятий. Для всіх коней, окрім перевезених відповідно до Трьохсторонньої угоди між Францією, Великобританією та Ірландією, має бути отримане офіційне ветеринарне свідоцтво, або представлена декларація про здоров'я. Дослідження на ІНАН може знадобитися для деяких категорій коней, якщо раніше вони були імпортовані з країн поза ЄС.

У Великобританії з 1987 року всі випадки ІНАН підлягають реєстрації. Відповідно до закону, будь-який ветеринарний лікар або власник коня, що володіє інформацією про коней хворих або підозрілих щодо захворювання на ІНАН, зобов'язаний повідомити державному ветеринарному інспектору в Бюро державної ветеринарної служби округу. Законодавство передбачає організацію карантину в приміщенні де виявлене вогнище інфекції, проведення дезінсекції та дезінфекції під контролем державної ветеринарної служби.

Хворих тварин виявляють серологічним дослідженням та ізолюють. У приміщенні, де утримуються такі тварини, проводять регулярне чищення і дезінфекцію.

Всі переміщення коней у вогнищі інфекції негайно припиняють. Скасовують всі нетермінові заходи, які можуть бути причиною поширення інфекції.

При завозі коней на територію неблагополучної щодо ІНАН держави для тимчасового перебування власникам коней рекомендується дотримуватися наступних правил:

1. Перебування коней у карантинній зоні іноземної держави оцінюється як ризик першого ступеня, про що негайно повідомляють державному ветеринарному інспекторові округу, який разом з ветеринарним лікарем, що обслуговує карантинну зону, повинен вирішити питання про обмеження переміщення коней з неблагополучного регіону;

2. Спільне утримання здорових коней і коней групи ризику першого ступеня оцінюється як ризик другого ступеня. Державному ветеринарному інспекторові округу про таких коней повідомляють тільки у випадку, якщо у РДП будуть отримані позитивні або сумнівні результати. Власники коней можуть перевірити коней у РДП додатково, але не раніше, ніж через 30 діб (рекомендується 60 діб) від дня дати останнього контакту з неблагополучними кінями;

3. Коні, які перебували у вільному від ІНАН регіоні на території неблагополучної держави, до групи ризику не відносяться;

4. Якщо експорт коней необхідний для участі в змаганнях, продажу на аукціонах і т.п., то власникам коней рекомендується запобігати контакту їх тварин з іншими кінями будь-якої групи ризику та дослідити їх на ІНАН у РДП після повернення на територію Великобританії.

У Німеччині розроблено нормативний документ «Захист від інфекційної анемії коней».

Проводяться серологічні, клінічні, гематологічні та патологоанатомічні дослідження коней на інфекційну анемію. При підозрі на спалах інфекційної анемії виконують захисні заходи. Всіх коней у вогнищі інфекції досліджують серологічними методами. Хворих та підозрілих щодо захворювання коней утримують окремо від здорових тварин. Коні із групи карантину не повинні контактувати з іншими парнокопитними тваринами. Також не допускається спільне використання кормів, інвентарю, предметів догляду і т.п. Пасовища, на яких тривалий час були присутні хворі або підозрілі щодо захворювання коні, не можуть використовуватися парнокопитими тваринами протягом шести місяців.

Хворі та в окремих випадках підозрілі щодо захворювання на ІНАН коні направляються на забій та утилізацію.

При підозрі на зараження ІНАН коні, завезені з території протягом 60 діб після оголошення її неблагополучною, ізолюються та підлягають лабораторному дослідженню серологічними і гематологічними методами.

При підозрі щодо захворювання на ІНАН коней необхідно ізолювати та повідомити органи влади. Клінічний огляд і відбір крові у тварин для серологічних і гематологічних досліджень проводить державний ветеринарний інспектор. Повторно кров беруть через чотири тижні.

У приміщеннях стайні проводять дезінфекцію та дезінсекцію. Гній дезінфікують і витримують мінімум чотири тижні. Після видалення хворих

коней із групи карантину, корм, інвентар, предмети догляду та ін. підлягають очищенню і дезінфекції.

Захисні заходи припиняють, якщо інформація про спалах ІНАН або підозра на ймовірність зараження виявилася необґрунтованою, або всі тварини в карантинній зоні вимушено забиті чи вилучені. Також якщо в карантинній зоні залишилися інші тварини, які клінічно здорові через три тижні після видалення хворих і підозрілих щодо захворювання, мають негативні результати дворазового лабораторного дослідження серологічними методами з інтервалом чотири тижні.

У Франції профілактика та боротьба із захворюваннями на ІНАН регламентується пакетом документів: JORF 11/08/90, JORF 26/09/92, JORF 29/12/94, JORF 07/08/03.

Ветеринарний лікар зобов'язаний забезпечити серологічне дослідження коней у РДП при завезенні на ферму нових тварин з держав поза ЄС та для продажу. Зразок сироватки відправляють у лабораторію протягом 48 годин. Контроль інфікованості лошат, народжених від заражених матерів здійснюють через два місяці після відлучення.

При підозрі на ІНАН у випадку негативних результатів серологічних досліджень відповідно до епізоотологічних даних і клінічного прояву повторно дослідження проводять через місяць, а за позитивних результатів лабораторія попереджає DDSV та ветеринарно-санітарну інспекцію, які проводять відповідні заходи, прийняті APPDI. Заражених тварин знищують протягом 15 днів, а для зняття обмежень APPDI вимагає одержання двох негативних результатів РДП з інтервалом три місяці для всіх коней.

В Італії Міністерством охорони здоров'я виданий декрет від 4 грудня 1976 року «Профілактика інфекційної анемії коней».

Тварин, підозрілих щодо захворювання на ІНАН, перевіряють в РДП. Тест Коггінса проводиться в інститутах експериментальної зоопрофілактики під спостереженням національних координаторів діагностичного відділу в Пізі, Інституті експериментальної зоопрофілактики Лаціо та Тоскані. Тести також можуть бути проведені в Лабораторії ветеринарної служби військового дослідницького центру в Римі.

При виявленні хворих на ІНАН або підозрілих щодо захворювання проводять санітарно-карантинні заходи. Всіх тварин карантинної зони перевіряють в РДП. Тварини з негативними результатами дослідження не можуть бути вилучені з групи карантину до з'ясування негативного статусу всіх тварин карантинної зони в ході періодичних перевірок. Тварин ділять на групи інфікованих та умовно здорових і застосовують вище згадані заходи до інфікованих тварин. Якщо хворих коней не забивають протягом двох днів з моменту повідомлення про остаточний діагноз та при одночасному виявленні випадків ІНАН у конегосподарствах, розташованих далеко одне від одного, на прилеглий території обмежують переміщення тварин та досліджують їх у РДП кілька разів з інтервалом 40 діб. Обмеження знімають при одержанні негативних результатів.

Місцеві ветеринарні служби забезпечують доставку зразків крові в лабораторію та ідентифікацію коней у базі даних. Копії баз даних повинні зберігатися в офісі ветеринарної служби муніципальної влади та місцевої служби охорони здоров'я.

Конєферма може бути визнана благополучною щодо ІНАН якщо протягом трьох місяців у всіх тварин відсутні симптоми, всі тварини старше шести місяців мають негативні результати дворазового дослідження з інтервалом 40 днів у РДП, щорічні перевірки не виявили позитивно реагуючих тварин, а всі коні мають сертифікати здоров'я.

В Австралії Міністерством сільського господарства, лісової та рибної промисловості інфекційна анемія коней визнана екзотичним захворюванням. Державні структури Австралії дотримуються вимог «Санітарного кодексу наземних тварин» та «Стандартів діагностичних методів, вакцин і заходів щодо боротьби із хворобами тварин», розроблених Міжнародним епізоотичним бюро. Вимоги Санітарного кодексу наземних тварин Ст. 12.6. 2. Імпорт коней. Ветеринарна влада вимагає надання ветеринарного свідоцтва, у якому зазначено, що:

1) у коней не виявили клінічних ознак ІНАН за 48 годин та у день відвантаження;

2) приміщення, у якому знаходились коні протягом трьох місяців до відвантаження, благополучне щодо ІНАН;

3) коней, імпортованих для постійного перебування, досліджували на ІНАН серологічними методами за 30 днів до відвантаження;

4) коней, імпортованих для тимчасового перебування, досліджують на ІНАН серологічними методами за 90 днів до відвантаження.

Висновки та перспективи подальших досліджень. Комплекс заходів з ліквідації та профілактики ІНАН ґрунтується на референтних методиках досліджень, які внаслідок з'ясування нових даних в епізоотології захворювання та розробки сучасних методів діагностики потребують постійного доповнення та змін.

Основним методом діагностики ІНАН на даний час являється реакція дифузної преципітації (тест Коггінса), який у деяких випадках (при сумнівних результатах першого тесту, обстеженні особливо цінних коней) доповнюється альтернативними методами: ПЛР та імуноблотингу. Проте можливе ширше застосування інших методик за умови їх модифікації в напрямку спрощення та здешевлення з врахуванням точності, надійності та швидкості постановки.

Проаналізувавши нормативно-правову базу з ліквідації та профілактики ІНАН в деяких розвинених країнах, було з'ясовано, що у США більш докладно відпрацьована взаємодія власників хворих коней і ветеринарної служби.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Coggins L. Immunodiffusion reaction in equine infectious anemia / L. Coggins, N.L. Norcross // *Cornell Vet.* – 1970. – 60. – P. 330-335.
2. Coggins L. Diagnosis of equine infectious anemia by immunodiffusion test / L. Coggins, N.L. Norcross, S.R. Nusbaum // *Am. J. Vet. Res.* – 1972. – 33. – P. 11-18.

3. Coggins L. Mechanism of viral persistence in in equine infectious anemia / L. Coggins // *Cornell Vet.* – 1975. – 65. – N2-3. – P. 151.
4. Archambault D. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for equine. Review article: Advances in diagnosis of EIA *Nat. Inst. Anim. Health / D. Archambault, A.M. Wang, J.C. Lecal // J. Clin. Microbiol.* – 1989. – 27. – P. 1167-1173.
5. Kono Y. Antigenic drift of equine infectious anemia virus in chronically infected horses / Y. Kono, K. Kobayashi, Y. Fukunaga // *Arch. Virol.* – 1973. – 41. – P. 1-10.
6. McConnell S. Transmission of equine infectious anemia virus from a horse negative to agar gel immunodiffusion test / S. McConnell, M. Katada. // *EqVet.* – 1981. – 13. – P. 123-126.
7. Valpotic T. T- and B-lymphocytes of horses persistently infected with equine infectious anemia virus / T. Valpotic, M. Kostelan, M. Rudolf // *Veterinary Research Communication.* – 1989. – 13. – N1. – P. 56-65.
8. Evans K. Detection of equine infectious anemia virus in horse leukocyte cultures taken from horses in various stages of equine infectious anemia viral infection / K. Evans, S. Carpenter, M. Sevoin // *Am. J. Vet. Res.* – 1984. – 45. – P. 20-25.
9. McGuire T.C. Immunofluorescent localization of equine infectious anemia virus in tissue / T.C. McGuire, T.B. Crawford, J.B. Hensen // *Am. J. Path.* – 1971. – 62. – P. 283-292.
10. Rwambo P.M. In vitro isolation of neutralization escape mutant of equine infectious anemia virus (EIAV) / P.M. Rwambo., C.J. Issel, K.A. Hussain // *Arch. Virol.* – 1990. – 111. – P. 275-280.
11. Campbell C.L. Report of the Committee on Infectious Diseases of Horses. / C.L. Campbell // *Proc. US Animal Health Association.* – 1977. – 81. – P. 312-313.
12. Issel C.J. Prospective study of progeny of inapparent equine carriers of equine infectious anemia virus / C.J. Issel, W.V. Adams, L.D. Foil // *Am. J. Vet. Res.* – 1985. – 5. – P. 1114-1116.
13. O'Rourke I.U. Proviral sequences detected by polymerase chain reaction in peripheral blood cells of horses with equine infectious anemia lentivirus / I.U. O'Rourke, M.L. Besola, T.C. McGuire // *Arch. Virol.* – 1991. – 117. – P. 109-119.
14. Montelaro R.C. Antigenic variation during persistent infection by equine infectious anemia virus, a retrovirus / R.C. Montelaro, H. Parer, A. Orrega // *J. Biol. Chem.* – 1984. – 259. – P. 10539-10544.
15. Kono Y. Development of specific in vitro lymphocyte stimulation responses in horses infected with equine infectious anemia virus / Y. Kono, H. Sentsui, Y. Murakami // *Veterinary Microbiology.* – 1976. – 1. – P. 31-34.
16. Nishimura M. Structural proteins of equine infectious anemia virus and their antigenic activity / M. Nishimura, H. Narajima // *Am. J. Vet. Res.* – 1984. – 45. – P. 5-10.
17. Chong Y. Characterization of the antigenic domains of the major core protein (p26) of equine infectious anemia virus / Y. Chong, S.L. Payne, C.J. Issel // *J. Virol.* – 1991. – 65. – P. 1007-1012.
18. O'Rourke I.U. Antiviral, anti-glycoprotein and neutralizing of antibodies of horses with equine infectious anemia virus / I.U. O'Rourke, L.E. Perryman, T.C. McGuire // *J. gemr. Virol.* – 1988. – 3. – P. 667-674.
19. Boulanger P. Equine infectious anemia: Preparation of antigen extract liquid for the Agargel Immunodiffusion and Complement-fixation tests / P. Boulanger, G. Bamieter, S. Carrier // *Canadian Journal of comparative Med.* – 1972. – 36. – N2. – P. 116-122.
20. Pearson J.E. Standartization of equine infectious anemia immunodiffusion and ELISA tests and their application to control of the disease in the United States / J.E. Pearson, C.A. Gipson // *Abstracts. World veterinary Congr. Montreal.* – 1987. – 23. – P. 233-320.

АНАЛИЗ НОРМАТИВНО-ПРАВОВОЙ БАЗЫ ПО ЛИКВИДАЦИИ И ПРОФИЛАКТИКЕ ИНФЕКЦИОННОЙ АНЕМИИ ЛОШАДЕЙ В НЕКОТОРЫХ РАЗВИТЫХ СТРАНАХ (обзорная статья) / Кривошея П.Ю., Кот Л.Б., Романко М.В.

В статье освещены современные подходы к профилактике инфекционной анемии лошадей в развитых странах мира: Великобритании, Соединенных Штатах Америки, Германии, Франции, Италии, Австралии. Проанализированы методы диагностики, меры профилактики и ликвидации заболевания, рассмотрена нормативно-правовая база. Освещен порядок введения и отмены ограничительных мер, исследований лошадей на ИНАН.

Установлено, что во всех странах, где регистрируется ИНАН, основным методом диагностики является реакция диффузной преципитации (тест Коггинса), а дополнительными – ИФА, иммуноблоттинг и ПЦР.

Ключевые слова: *меры профилактики, тест Коггинса, инфекционная анемия, иммуноблоттинг.*

ANALYSIS OF THE REGULATORY BASE FOR THE ELIMINATION AND PREVENTION OF EQUINE INFECTIOUS ANEMIA IN SOME DEVELOPED COUNTRIES (review) / Kryvoshiya P.Yu., Kot L.B., Romanko M.V.

Introduction. *According to FAO Equine Infectious Anemia is registered in 28 countries. It is registered in the United States, Canada, countries of Latin America, Great Britain, Italy, Australia, and in some parts of Venezuela, Norway, France, almost on all territory of Mongolia. Sporadic cases are observed in Libya, Mexico and others.*

The goal of the work *to analyze and summarize the regulatory base of developed countries, research sources and submit the information about current approaches to the prevention and elimination of Equine Infectious Anemia (EIA).*

Materials and methods. *During the research we used and processed available sources: national legislation of a number of countries and directives of supranational organizations, articles in scientific journals.*

Results of research and discussion. *By the standards of OIE for the prevention and elimination of Equine Infectious Anemia Coggins test and ELISA are accurate and reliable serological methods of diagnosis of EIA in horses. Positive ELISA results must be confirmed by Coggins test. Virus isolation and identification are performed in order to identify infected animals.*

The virus can be isolated in a white blood cells culture of healthy horses and identified in ELISA, RIF, by molecular genetics methods or bioassay on susceptible horses. Intravenous injection of 1.25 ml of whole blood usually pretty for infection. Clinical inspection carried out the experimentally infected animals within 45 days.

Polymerase chain reaction (PCR) – a sensitive method used to identify the viral genome. The advantage of the method of RT-PCR is that the virus can be detected already on the third day after infection.

Main methods of virus detection are serological. The conventional method for diagnosis is serologic test in the agar gel immunodiffusion – Coggins test. Control of horses on EIA in Coggins test – a mandatory requirement for international traffic.

Additional methods of laboratory diagnosis are PCR, immunoblotting, IFA, RIF and others. The first two methods are used in the system of diagnostic tests for preventive and health measures in the US and Australia.

Positive ELISA results should be confirmed in RDP or immunoblotting. Immunoblotting used as an additional method of diagnosis of EIA in case of obtaining questionable results in Coggins test or ELISA. This property is used for early laboratory diagnosis

In the United States in 2006 approved the «Equine Infectious Anemia – the only diagnostic methods and measures for prevention and liquidation». Scheduled research of horses carried out least once a year. Coggins test and ELISA are the official diagnostic laboratory methods. Immunoblotting is used to clarify the questionable results.

In Australia, the Department of Agriculture and Water Resources has recognized EIA as exotic disease. Australia State structures adhere to the requirements of «Terrestrial Animal Health Code» and «Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals» developed by OIE.

On the territory of the EU member states are allowed to import horses from other countries safe from EIA. Infected animals are sent to slaughter, other re-examine, establish quarantine. If the results of two consecutive studies of all animals with an interval of three months remain negative, the quarantine can be canceled. Veterinary certificate or submitted a declaration of health must be received for all of horses.

A regulatory document «Protection against Equine Infectious Anemia» was elaborated in Germany.

Serologic, clinical, haematological and pathological studies of horses for EIA are conducted. Patients and, in some cases, suspicious about the disease horses are sent for slaughter and disposal.

In France, prevention and elimination of diseases regulated by a number of documents (JORF 11/08/90, JORF 26/09/92, JORF 29/12/94, JORF 07/08/03).

Horses from outside the EU and to sale are exploring in Coggins test. Infected animals slaughtered for 15 days, and for the abolition of restrictions two negative results in Coggins test with an interval of three months for all horses are required.

In Italy, the Ministry of Health issued a decree on December 4, 1976 «Prevention of Equine Infectious Anemia».

Animal suspicious about the disease and all the animals of quarantine zone, check in Coggins test. Horse farm can be considered safe about the EIA within three months no animals have symptoms, all animals over six months with negative results of two studies with an interval of 40 days in Coggins test, annual inspections did not reveal positively reacting animals, and all the horses have the certificates of health.

Conclusions and prospects for further research. *The main method of diagnosis EIA is serologic test in the agar gel immunodiffusion (Coggins test), which in some cases (with dubious results of the first test examination, especially valuable horses) supplemented by alternative methods: ELISA, immunoblotting and RT-PCR.*

Keywords: *Coggins test, Equine Infectious Anemia, immunoblotting.*

REFERENCES

1. Coggins L., & Norcross N.L. (1970). Immunodiffusion reaction in equine infectious anemia. *Cornell Vet.*, 60, 330-335.
2. Coggins L., Norcross N.L., & Nusbaum S.R. (1972). Diagnosis of equine infectious anemia by immunodiffusion test. *Am. J. Vet. Res.*, 33, 11-18.
3. Coggins L. (1975). Mechanism of viral persistence in in equine infectious anemia. *Cornell Vet.*, 65, N 2-3, 151.
4. Archambault D., Wang A.M., & Lacal J.C. (1989). Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for equine [Review article: Advances in diagnosis of EIA Nat. Inst. Anim. Health]. *J. Clin. Microbiol.*, 27, 1167-1173.
5. Kono Y., Kobayashi K., & Fukunaga Y. (1973). Antigenic drift of equine infectious anemia virus in chronically infected horses. *Arch. Virol.*, 41, 1-10.
6. McConnell S., & Katada M. (1981). Transmission of equine infectious anemia virus from a horse negative to agar gel immunodiffusion test. *EqVet.*, 13, 123-126.
7. Valpotic T., Kostelan M., & Rudolf M. (1989). T- and B-lymphocytes of horses persistently infected with equine infectious anemia virus. *Veterinary Research Communication*, 13, 56-65.
8. Evans K., Carpenter S., & Sevoin M. (1984). Detection of equine infectious anemia virus in horse leukocyte cultures taken from horses in various stages of equine infectious anemia viral infection. *Am. J. Vet. Res.*, 45, 20-25.
9. McGuire T.C., Crawford T.B., & Hensen J.B. (1971). Immunofluorescent localization of equine infectious anemia virus in tissue. *Am. J. Path.*, 62, 283-292.

10. Rwambo P.M., Issel C.J., & Hussain K.A. (1990). In vitro isolation of neutralization escape mutant of equine infectious anemia virus (EIAV). *Arch. Virol.*, 111, 275-280.
11. Campbell C.L. (1977) Report of the Committee on Infectious Diseases of Horses. *Proc. US Animal Health Association*, 81, 312-313.
12. Issel C.J., Adams W.V., & Foil L.D. (1985). Prospective study of progeny of inapparent equine carriers of equine infectious anemia virus. *Am. J. Vet. Res.*, 5, 1114-1116.
13. O'Rourke I.U., Besola M.L., & McGuire T.C. (1991). Proviral sequences detected by polymerase chain reaction in peripheral blood cells of horses with equine infectious anemia lentivirus. *Arch. Virol.*, 117, 109-119.
14. Montelaro R.C., Parer H., & Orrega A. (1984). Antigenic variation during persistent infection by equine infectious anemia virus, a retrovirus. *J. Biol. Chem.*, 259, 10539-10544.
15. Kono Y., Sentsui H., & Murakami Y. (1976). Development of specific in vitro lymphocyte stimulation responses in horses infected with equine infectious anemia virus. *Veterinary Microbiology*, 1, 31-34.
16. Nishimura M., & Narajima H. (1984). Structural proteins of equine infectious anemia virus and their antigenic activity. *Amer. J. Vet. Res.*, 45, 5-10.
17. Chong Y., Payne S.L., & Issel C.J. (1991). Characterization of the antigenic domains of the major core protein (p26) of equine infectious anemia virus. *J. Virol.*, 65, 1007-1012.
18. O'Rourke I.U., Perryman L.E., & McGuire T.C. (1988). Antiviral, anti-glycoprotein and neutralizing of antibodies of horses with equine infectious anemia virus. *J. gemr. Virol.*, 3, 667-674.
19. Boulanger P., Bamieter G., & Carrier S. (1972). Equine infectious anemia: Preparation of antigen extract liquid for the Agargel Immunodiffusion and Complement-fixation tests. *Canadian Journal of comparative Med.*, 36, 116-122.
20. Pearson J.E., & Gipson C.A. (1987). Standardization of equine infectious anemia immunodiffusion and ELISA tests and their application to control of the disease in the United States. *Abstracts. World veterinary Congr. Montreal*, 23, 233-320.

УДК 636.3[616:98+579.834]

КУЛИКОВА В. В., канд. вет. наук, ст. наук. сп., e-mail: vl_sight@mail.ru

ПІСКУН А. В., аспірант, e-mail: anton_piskun@ukr.net

УХОВСЬКИЙ В. В., канд. вет. наук, ст. наук. сп., e-mail: uhovski@ukr.net

ШАРАНДАК П. В., канд. вет. наук, доц., e-mail: psvw.ua@mail.ru

Інститут ветеринарної медицини НААН

ЕТІОЛОГІЧНА СТРУКТУРА ЛЕПТОСПИРОЗУ СВИНЕЙ У ГОСПОДАРСТВАХ УКРАЇНИ

*Наведено аналіз циркуляції основних діагностичних серогруп лептоспір серед поголів'я свиней у господарствах України за 2012–2015 рр., показано відсоток змішаних і монореакцій в етіологічній структурі лептоспірозу свиней. Визначені найбільш розповсюджені серогрупи лептоспір за даними серологічного дослідження сироваток крові свиней в РМА. Встановлено, що провідну роль у етіології лептоспірозої інфекції свиней відіграють серологічні групи *Icterohaemorrhagiae*, антитіла до якої діагностувалися у 279 тварин із 457 позитивно реагуючих на лептоспіроз, що становить 61,1 %, *Australis* (серовар *bratislava*) та *Pomona*, 20,4 % та 22,5 % відповідно.*

Ключові слова: лептоспіроз, монореакції, змішані реакції, етіологія, свині.