

УДК 619:616.98:578.833.3-076

В. А. СИНИЦИН, доктор ветеринарних наук

В. В. КУЛИКОВА, кандидат ветеринарних наук

М. В. ПЕКНИЙ

Інститут ветеринарної медицини НААН України

УДОСКОНАЛЕНА ДІАГНОСТИКА ВІРУСНОГОАРТЕРІІТУ КОНЕЙ

В статті наведені методи лабораторної діагностики вірусної хвороби коней – вірусний артеріїт. Дана інфекційна хвороба коней є поширеною у багатьох країнах світу, тому в Україні необхідно проводити її лабораторну діагностику. Поставити діагноз тільки на основі клінічного обстеження – дуже складно, так як дана хвороба схожа з іншими вірусними хворобами коней щодо клінічних ознак. Таким чином, метою дослідження лабораторії було удосконалення лабораторних методів діагностики вірусного артеріїту коней для постановки остаточного діагнозу.

Ключові слова: вірусний артеріїт коней, лабораторна діагностика, методи дослідження, інфекційні хвороби коней.

Вірусний артеріїт коней (Equineviralarteritis) – контагіозне вірусне захворювання, яке характеризується некрозом стінки кровоносних судин, катаральним запаленням органів дихання, травлення, абортми у кобил і порушенням відтворювальної функції у жеребців, набряком повік, черева, кінцівок.

Мета дослідження. Провести аналіз методів щодо удосконалення діагностики вірусного артеріїту коней, які були проведені в лабораторії вірусних хвороб коней ІВМ НААН.

Особливо небезпечною хвороба є для кінноспортивної галузі внаслідок зниження фізіологічних показників, виникнення проблем з кінцівками та заборони переміщення тварин. До економічних збитків конегосподарств додаються втрати за рахунок зниження репродуктивної здатності жеребців, недоотримання здорового приплоду, загибелі лошат, народжених від хворих на вірусний артеріїт кобил. Хворіють коні різних вікових груп, але лоша́та найсприйнятливіші [1].

Ефективність організації комплексних протиепізоотичних заходів за вірусного артеріїту коней залежить від наявності чутливих і специфічних методів діагностики. У зв'язку з цим в епізоотологічному моніторингу інфекційних хвороб коней актуальною є розробка засобів експресної ідентифікації збудника вірусного артеріїту.

У світовій практиці для діагностики цього захворювання застосовують серологічні дослідження з використанням реакції зв'язування комплементу (РЗК), реакції нейтралізації (РН) та вірусу, виділеного у культурі клітин. Разом з тим, комплексний метод постановки діагнозу на підставі епізоотологічних даних, виділення й ідентифікації збудника в культурі клітин за допомогою РН, яка є основною за рекомендацією МЕБ для постановки діагнозу. У зв'язку із стрімким розвитком методів лабораторної діагностики у світі, найбільш сучасним та перспективним сьогодні є молекулярно-генетичний метод дослідження у клінічному та патологічному матеріалі збудника вірусного артеріїту коней за допомогою полімеразної ланцюгової реакції [2].

Дослідження в реакції нейтралізації сироваток крові, в першу чергу жеребців, є обов'язковим правилом при завезенні коней до Великобританії, Японії та інших країн. Виявлення вірусонейтралізуючих антитіл у крові жеребців вказує на наявність у них персистентної інфекції вірусу артеріїту. Оскільки персистентно інфіковані жеребці виділяють вірус із спермою, її досліджують шляхом зараження культури клітин. На відміну від вірусу, виділеного із статевих шляхів, атенуйовані та вакцинні штами не передаються зі спермою. Внаслідок неможливості розрізнити антитіла після вакцинації і антитіла, які мають місце після захворювання, для контролю жеребців використовують метод біопроби [3].

Чутливість реакції нейтралізації для виявлення антитіл до вірусу артеріїту коней залежить від ряду факторів, особливо це стосується джерела та кількості пасажів ізоляту вірусу, який використовується в реакції. Також для цього тесту важливо відбирати стерильні проби крові, оскільки контамінація може вплинути на результати РН [4].

Антитіла до вірусу артеріїту коней можна виявити в реакції зв'язування комплементу (РЗК), яка найбільш підходить для вивчення імунітету до вірусного артеріїту в перші 4 місяці після зараження з огляду на те, що титр, найбільш високий через 2–4 тижні після інфекції, знижується нижче за межі виявлення через 8 місяців. Комплементозв'язувальні антитіла відіграють певну роль у діагностиці інфекції, оскільки їх титри знижуються швидше, ніж вірусонейтралізуючі.

Лабораторна діагностика серопозитивних коней базується на комплементзалежній реакції нейтралізації з використанням штаму *Virusus* вірусного артеріїту для зараження культури клітин. У Великобританії використовує цю стандартизовану реакцію центральна ветеринарна лабораторія Weybridge (для експортної та імпоротної документації) та TheAnimalHealthTrustNewmarket. Чотириразове підвищення титру у парних сироватках свідчить про етіологічну роль виділеного ізоляту. Титр антитіл 1:4 вважається діагностичним [5].

Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) – експериментальний метод молекулярної біології–спосіб значного примноження кількості цільових фрагментів ДНК в біологічному матеріалі (пробі) за малих концентрацій останньої. Крім простого збільшення числа копій ДНК (цей процес називається ампліфікацією), ПЛР дозволяє проводити безліч інших маніпуляцій з генетичним матеріалом (введення мутацій, зрощення фрагментів ДНК) і широко використовується в біологічній і медичній практиці, наприклад, для клонування генів, виділення нових генів, секвенування, для створення генетично модифікованих організмів, діагностики захворювань (спадкових, інфекційних), ідентифікації малих кількостей ДНК. За свідченням зарубіжних авторів Dwyer D.E [6], у 1983 році КеріМюлліс із співробітниками розробив метод ампліфікації фрагментів ДНК, що отримав назву полімеразної ланцюгової реакції – ПЛР (polymerase chain reaction, PCR). За даними закордонних авторів Domingo E. та ін. [7], ПЛР вперше була здійснена в 1985 році в корпорації «Cetus». Подальше використання в ПЛР термостабільної ДНК–полімери істотно розширило можливості її застосування як з науковою метою, так і в клінічній практиці.

Хвороба може протікати у вигляді гострої, хронічної й інпаарант-ної форм. При респіраторному захворюванні інкубаційний період становить до 2–х тижнів, при вагінальному інфікуванні – 6–8 днів. У випадку гострого перебігу хвороби

температура у тварин підвищується до 41°С протягом 2–9 діб. У тварин відмічають прискорений пульс, порушення функції центральної нервової системи, парез лицьового нерва, іноді коні приймають неприродну позу: стоять зі схрещеними передніми кінцівками, підпираючи головою годівницю. Хворий кінь рухається похитуючись. Відзначають катаральне запалення слизових оболонок очей, носової та ротової порожнин. Повіки у хворих тварин набрякають, відмічають сльозотечу, світлобоязливість. У кон'юнктивальних мішках нагромаджується слизово-гнійний секрет. Інколи запалення переходить на роговооболонку ока ("червоне око"). У хворих коней спостерігають кашель, рідкі витікання з носу та у подальшому слизово-гнійний ексудат. Підщелепові лімфовузли набрякли та болючі. Підшкірна клітковина черева, кінцівки, у жеребців ще й мошонка та препуцій, у кобил молочна залоза, набрякають. Жеребці на 6–7 тижнів втрачають відтворювальну здатність. На 3–11-му місяцях вагітності 10–60% жеребчих кобил абортують. Плоди мають ознаки аутолізу. Персистенція вірусу у жеребців може тривати до кількох років і вони здатні інфікувати майже 100% кобил [8].

Діагноз ставлять з урахуванням епізоотологічних, клінічних даних, але основними при постановці діагнозу є лабораторні дослідження. Так, виділяють та ідентифікують вірус і досліджують сироватку крові за реакцією нейтралізації. Цю реакцію виконують в усіх країнах світу. У разі виявлення антитіл проти вірусу вважають, що цей жеребець має персистентну інфекцію вірусу артеріїту. Такий жеребець виділяє вірус із спермою.

Хворобу диференціюють від грипу, герпесвірусної інфекції, інфекційної анемії.

Забороняється ввозити до господарства підозрілих на захворювання коней. Сперму жеребців, яких завозять у господарство, необхідно досліджувати сучасними експрес-методами, зокрема полімеразною ланцюговою реакцією. Одержувати результати досліджень сироваток крові методом реакції нейтралізації щодо контролюваного захворювання. Хворих коней ізолюють, а денники, де їх утримували, очищують і дезінфікують. Абортовані плоди, плідні оболонки, залишки корму, інвентар дезінфікують згідно з інструкцією. Господарство оголошують неблагополучним і забороняють ввозити коней, передавати одержану сперму в інші господарства. У зимово-весняний період забороняється парувати тварин до одержання результатів дослідження в РН крові від жеребців. У випадку, коли реакція на вірусний артеріїт позитивна, жеребця краще хірургічно каструвати. Обмеження з господарств знімають через 2 міс. після останнього випадку виздоровлення чи абортів кобил [9].

Для профілактики застосовують у США живу модифіковану вакцину – ARVAC® та у Європі застосовують інактивовану вакцину Artervac®. В Україні вакцин проти вірусного артеріїту коней не розроблено [10].

Висновок за результатами дослідження. В лабораторії хвороб коней ІВМ НААН для діагностики вірусного артеріїту коней запропоновано реакцію нейтралізації (РН) у модифікації та ПЛР, підібрані специфічні праймери до референтного штаму *Vesugus* – збудника вірусного артеріїту коней, а також визначені оптимальні параметри для постановки реакції.

Розроблено і затверджено Державним комітетом ветеринарної медицини відповідну нормативно-технічну документацію: «Тест – система «ЕАВ–3Т–ПЛР–ТЕСТ»» для виявлення РНК вірусу артеріїту коней методом зворотньо–транскрип-тазної ПЛР (ТУ У 24.4–05510830–069:2006), «Набір діагностиків вірусного артеріїту коней для реакції нейтралізації» (ТУ У 24.4 –05510830–077:2006).

1. Юров К. П. Вирусный артериит лошадей / К. П. Юров // Росс – 1 вет. Журнал. – 2006. – № 3. – С. 27–29.
2. Cavanagh D. Nidovirales: a new order comprising Coronaviridae and Arteriviridae / D. Cavanagh // Arch. Virol. – 1997. – Vol. 142. – P. 629–633.
3. Галатюк О. Є. Заразні хвороби коней [Текст] / О. Є. Галатюк. – Житомир: Волинь, 2003. – С. 117–123.
4. Гнап Л. К. Артеріїт вірусний [Текст] / Л. К. Гнап // Вет. медицина України. – 2001. – № 7. – С. 16–17.
5. Старчеус А. П. Вірусні хвороби коней [Текст] / А. П. Старчеус, А. Ф. Ображей // Б-ка вет. медицини. – 1999. – № 7–8. – С. 21–47.
6. Dwyer D. E. Failure of ultra-violet irradiation and autoclaving to eliminate PCR contamination [Text] / D. E. Dwyer, N. Saksena // Mol. Cell. Probes. – 1992. – Vol. 6. – P. 87–98.
7. Basic concepts in RNA virus evolution [Text] / E. Domingo [et al.] // FASEB J. – 1996. – Vol. 10. – P. 859–864.
8. Del Piero F. Equine viral arteritis in newborn foals: clinical, pathological, serological, microbiological and immunohistochemical observations [Text] / F. Del Piero [et al.] // Equine Vet. J. – 1997. – Vol. 29. – P. 178–185.
9. Сюрин В. Н. Общая вирусология. Частная вирусология [Текст] / В. Н. Сюрин, Р. В. Белоусова, Н. В. Фомина. – М.: Агропромиздат, 1991. – 472 с.
10. Hullinger P. J. Seroprevalence of antibodies against equine arteritis virus in horses residing in the United States and imported horses [Text] / P. J. Hullinger [et al.] // J. Am. Vet. Med. Assoc. – 2001. – Vol. 219. – P. 946–949.

УСОВЕРШЕНСТВОВАННЯ ДІАГНОСТИКА ВІРУСНОГО АРТЕРИИТА ЛОШАДЕЙ / Синицин В. А., Куликова В. В., Пекний М. В.

В статті подано коротке описання і усовершенствовані методи лабораторної діагностики вірусного артериїта лошадей. Данне інфекційне захворювання лошадей розповсюдене во многих странах мира, поэтому на Украине необходимо проводить лабораторную диагностику этого заболевания. Поставити діагноз тільки по результатам клінічного обстеження – дуже складно, тому що данне захворювання подібно другим болезням лошадей по клінічним признакам. Таким образом, цель исследования лаборатории – усовершенствование лабораторних методів діагностики вірусного артериїта лошадей для постановки окончательного діагноза.

Ключевые слова: вирусный артериит лошадей, лабораторная диагностика, методы исследования, инфекционные болезни лошадей.

IMPROVED DIAGNOSTIC OF EQUINE VIRAL ARTERITIS/ Synytsyn V. A.,
Kulykova V. V., Pekniy M. V.

The article includes a short description and improved diagnostic methods of Equine viral arteritis. This equine disease is well-spread in the whole world that is why it is important to do laboratory diagnostic of that disease in Ukraine. It is very difficult to diagnose this infection using only clinical signs of the disease, because clinical signs of this infection are similar to many other diseases of horses. The purpose of our laboratory research is improving laboratory diagnostic methods of Equine viral arteritis for the final diagnosis.

Key words: Equine viral arteritis, laboratory diagnostic, diagnostic methods, Equine infectious diseases.

Рецензент – кандидат ветеринарних наук В. В. Уховський