

## ГЛАВА 3.5.6

### ИНФЕКЦИОННАЯ АНЕМИЯ ЛОШАДЕЙ

---

#### РЕЗЮМЕ

*Инфекционная анемия лошадей (ИАЛ) – это персистирующая вирусная инфекция семейства лошадиных. Возбудитель болезни, вирус ИАЛ (ВИАЛ), принадлежит к роду лентивирусов (lentivirus) подсемейства орторетровирусов (Orthoretrovirinae) семейства ретровирусов (Retroviridae). К роду лентивирусов принадлежат также бычий вирус иммунодефицита, вирус артрита-энцефалита коз и овец, кошачий вирус иммунодефицита, вирус иммунодефицита человека 1, вирус иммунодефицита человека 2 и вирус меди-висна. ИАЛ может быть диагностирован на основании клинических признаков, патологических изменений, методов серологического и молекулярного исследования. Инфицированные лошади остаются носителями вируса на протяжении всей жизни и, за редким исключением, демонстрируют положительную серологическую реакцию. Гуморальная иммунная реакция обычно сохраняется, и животные, демонстрирующие положительные результаты анализа на антитела, возраст которых составляет больше 6–8 месяцев, идентифицируются как носители вируса (у животных младше 6–8 месяцев серологические реакции могут являться следствием наличия в их крови материнских антител; статус может быть подтвержден с помощью молекулярных исследований). Инфицированные представители семейства лошадиных являются потенциальными резервуарами вируса. Жалыющие мухи являются механическими переносчиками вируса в природе.*

**Идентификация возбудителя болезни:** *Вирус, взятый у лошади, может быть выделен путем введения потенциально зараженной крови в организм восприимчивой лошади или в культуры лейкоцитов, приготовленные из крови восприимчивых лошадей. Идентификация инфекции у лошадей, зараженных прививкой в ходе эксперимента, может основываться на клинических признаках, гематологических изменениях и положительной гуморальной иммунной реакции, определенных с помощью реакций иммунодиффузии или твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) или молекулярных исследований. Успешное выделение вируса в культурах лейкоцитов лошадей подтверждается посредством обнаружения специфического антигена ИАЛ, а также с помощью иммунофлуоресцентного анализа, полимеразной цепной реакции, реакции обратной транскриптазы или с помощью введения жидких питательных сред в организм восприимчивых лошадей. Попытки выделения вируса предпринимаются редко по причине необходимости наличия времени, а также сложности и высокой затратности данной процедуры.*

**Серологические реакции:** *Реакции иммунодиффузии в агаровом геле (ИДАГ) и твердофазные ИФА являются простыми и надежными тестами на обнаружение ВИАЛ. В случае положительных результатов твердофазных ИФА такие результаты должны подтверждаться с помощью реакции ИДАГ. Антигены ИАЛ могут быть приготовлены из культур пораженных тканей или с помощью технологии рекомбинантных ДНК.*

**Требования к вакцинам:** *Живая аттенуированная вакцина, изобретенная в начале 1970-х годов, широко использовалась в Китае (Китайской Народной Республике) в период с 1975 года по 1990 год. С тех пор стратегия борьбы с ИАЛ была изменена с вакцинации на карантин. Целью этого изменения являлось предотвращение влияния антител вакцины на результаты диагностических тестов. В настоящее время данные вакцины не используются.*

## А. ВВЕДЕНИЕ

Случаи заболевания инфекционной анемией лошадей (ИАЛ) отмечаются во всем мире. Инфекция, ранее известная как болотная лихорадка, встречается исключительно среди представителей семейства лошадиных. Болезнь характеризуется повторяющимися эпизодами лихорадки, тромбоцитопенией, анемией, быстрой потерей веса и отечностью нижних частей тела животных. Если один из острых клинических приступов болезни не приводит к летальному исходу, наступает хроническая стадия этой инфекционной болезни, приобретающая бессимптомный характер. Инкубационный период болезни обычно составляет 1–3 недели, однако может длиться и до 3 месяцев. В случаях острого заболевания лимфатические узлы, селезенка и печень животного гиперемированы и увеличены в размерах. Гистологически эти органы инфильтрированы скоплениями незрелых лимфоцитов и плазмочитов. Купферовские клетки печени часто содержат гемосидерин или эритроциты. Факт увеличения размеров селезенки может быть установлен при ректальном исследовании. Дифференциальные диагнозы включают в себя инфекцию вирусом артериита лошадей (глава 2.5.10), заражение бактерией анаплазма фагоцитопилум (*Anaplasma phagocytophilum*) и другие причины отечности, лихорадки, анемии или тромбоцитопении / экхимоз.

Вирус ИАЛ (ВИАЛ) принадлежит к роду лентивирусов (*Lentivirus*) подсемейства орторетровирусов (*Orthoretrovirinae*) семейства ретровирусов (*Retroviridae*). Другими представителями этого рода являются бычий вирус иммунодефицита, вирус артрита-энцефалита коз и овец, кошачий вирус иммунодефицита, вирус иммунодефицита человека 1, вирус иммунодефицита человека 2 и вирус меди-висна. Сравнения нуклеотидных последовательностей продемонстрировали выраженное родство этих вирусов.

Если лошадь заражается ВИАЛ, ее кровь остается зараженной на протяжении всей оставшейся жизни. Это означает, что такая лошадь является носителем вируса и теоретически может передавать инфекцию другим лошадям (Cheevers & McGuire, 1985). Инфекция передается путем передачи крови от инфицированной лошади. В природе вирус с большей степенью вероятности распространяется посредством прерванного акта питания кровососущих слепней, питающихся сначала кровью клинически больной лошади, а затем кровью восприимчивых лошадей. Также вирус может передаваться путем ятрогенной передачи крови при использовании зараженных игл. Также может происходить заражение плода в утробе матери (Kemen & Coggins, 1972). Титр вируса выше у лошадей с клиническими признаками болезни, и риск передачи вируса от таких животных выше, чем от животных-носителей с более низким титром вируса.

ВИАЛ не представляет угрозы здоровью людей. Лабораторные процедуры должны проводиться при условии обеспечения надлежащей биологической безопасности и надлежащего уровня мер предосторожности, определенного с помощью анализа биориска (см. главу 1.1.4. *Биологическая безопасность и биозащита: Стандартный контроль биологической опасности в ветеринарной лаборатории и в вивариях*).

## В. ТЕХНОЛОГИИ ДИАГНОСТИКИ

Реакции иммунодиффузии в агаровом геле (ИДАГ) (Coggins *et al.*, 1972) и твердофазные иммуоферментные анализы (твердофазные ИФА) (Suzuki *et al.*, 1982) являются точными методами, надежными тестами на обнаружение ИАЛ у лошадей, за исключением животных на ранних стадиях заражения и жеребят, родившихся от инфицированных

самок. В редких случаях неверные результаты могут являться следствием наличия в крови в острой фазе болезни вируса, количество которого является достаточным для того, чтобы связывать имеющиеся в крови антитела, если при этом изначальное количество антител не повышается до уровня, достаточного для их обнаружения (Томп, 1980). Хотя твердофазный ИФА позволяет обнаружить антитела несколько раньше и при более низкой концентрации, чем реакция ИДАГ, положительные результаты твердофазных ИФА подтверждаются с помощью реакции ИДАГ. Это связано с тем, что при использовании в качестве метода твердофазного ИФА отмечались ложноположительные результаты. Преимущество реакции ИДАГ заключается также в разграничении по линиям тождественности признаков инфекционной анемии лошадей и реакций антиген-антитело, не связанных с данным заболеванием.

**Таблица 1. Методы исследований, применяемые для диагностики инфекционной анемии лошадей и их цель**

Метод	Цель			
	Отсутствие инфекции в популяции / эффективность методов эрадикации	Отсутствие инфекции у отдельных животных	Подтверждение клинических случаев	Надзор за распространением инфекции
<b>Идентификация возбудителя болезни<sup>1</sup></b>				
<b>ПЦР</b>	-	+/-	+	-
<b>Выделение вирусов / заражение лошадей прививкой</b>	-	-	+	-
<b>Обнаружение иммунного ответа</b>				
<b>ИДАГ</b>	++	++	++	++
<b>Твердофазный ИФА</b>	++	++	+	+
<b>Иммуноблот</b>	-	++	++	-

Пояснение: +++ = рекомендованный метод; ++ = приемлемый метод; + = может быть использован в некоторых ситуациях, но применение существенно ограничено стоимостью, достоверностью или другими факторами;

- = не подходит для данной цели.

Хотя не все тесты, относящиеся к категории +++ или ++ формально валидированы, они признаны приемлемыми по причине применения их в установившейся практике и широкого использования без неоднозначных результатов.

ПЦР = полимеразная цепная реакция; ИДАГ = иммунодиффузия в агаровом геле; твердофазный ИФА = твердофазный иммуноферментный анализ.

## 1. Идентификация возбудителя болезни

### 1.1. Выделение и идентификация вируса

Выделение вируса обычно не является необходимым условием постановки диагноза.

Выделение вируса у потенциально зараженных лошадей может осуществляться путем введения в их кровь или в культуры лейкоцитов, приготовленные из крови незараженных лошадей. Факт производства вируса в культурах может быть подтвержден путем обнаружения специфического антигена ИАЛ с помощью твердофазного ИФА (Shane *et al.*, 1984), иммунофлуоресцентного анализа (Weiland *et al.*, 1982), молекулярных исследований или путем перевивания культур клеток в организме восприимчивых

<sup>1</sup> Для анализа клинического образца рекомендуется использовать сочетание методов идентификации возбудителя.

лошадей. Попытки выделения вируса осуществляются редко по причине сложности процедуры выращивания культур лейкоцитов, полученных из крови лошади.

Когда статус инфекции лошади не может быть установлен точно, может применяться метод, заключающийся во введении в организм восприимчивой лошади потенциально зараженной крови. В этом случае лошади, предварительно проверенной на наличие в ее крови антител и продемонстрировавшей отрицательный результат, незамедлительно проводится процедура переливания крови потенциально зараженной лошади, и наличие в ее крови антител, а также клиническое состояние отслеживается на протяжении не менее 45 дней. Как правило, внутривенное введение 1–25 мл цельной крови является достаточным для того, чтобы обнаружить инфекцию, однако в редких случаях может возникать необходимость использования большего объема крови (250 мл) или отмытых лейкоцитов, полученных из такого объема крови (Coggins & Kernen, 1976).

## 1.2. Полимеразная цепная реакция

Имеется описание метода гнездовой полимеразной цепной реакции (ПЦР) с целью обнаружения провирусной ДНК ИАЛ в периферической крови лошадей (Nagarajan & Simard, 2001). Метод гнездовой ПЦР основан на определении последовательностей праймера гена капсидных белков (gag) генома провируса. Данный метод зарекомендовал себя как высокочувствительный метод обнаружения полевых штаммов ВИАЛ в лейкоцитах крови лошадей, зараженных этим вирусом. Нижний предел обнаружения обычно составляет около 10 геномных копий целевой ДНК (Nagarajan & Simard, 2001; 2007). Также имеется описание исследования на полимеразную цепную реакцию с обратной транскрипцией в реальном масштабе времени (Cook *et al.*, 2002). Для подтверждения результатов этих очень чувствительных методов рекомендуется осуществлять дублирующую выборку образцов каждого исследуемого экземпляра. По причине наличия риска перекрестного загрязнения важным является также надлежащее соблюдение соответствующих процедур (см. главу 1.1.5. *Управление качеством в ветеринарных испытательных лабораториях* и главу 1.1.6. *Принципы и методы валидации диагностических испытаний на наличие инфекционных болезней*).

Ниже приводятся некоторые обстоятельства, при которых метод ПЦР может использоваться для обнаружения ВИАЛ у лошадей:

- i) Противоречивые результаты серологических реакций (тестов);
- ii) Подозрение на наличие инфекции при отрицательных или спорных результатах серологических тестов;
- iii) Дополнительные серологические тесты, проводимые с целью подтверждения положительных результатов;
- iv) Подтверждение наличия ранней инфекции перед выработкой сывороточных антител к ВИАЛ;
- v) Необходимость удостовериться в том, что лошади, которые должны использоваться для производства антисыворотки или вакцины или используемые в качестве доноров крови, не заражены ВИАЛ;
- vi) Подтверждение статуса жеребенка, родившегося от инфицированной самки.

## 2. Серологические тесты

Благодаря персистенции ВИАЛ в организме инфицированных представителей семейства лошадиных, обнаружение сывороточных антител к ВИАЛ подтверждает диагноз ИАЛ.

### **2.1. Реакция иммунодиффузии в агаровом геле**

В результате заражения вирусом ИАЛ происходит быстрое продуцирование преципитирующих антител, что может быть установлено с помощью реакции ИДАГ. Специфические реакции определяются по линиям преципитации между антигеном ИАЛ и тест-сывороткой и подтверждаются их идентичностью с реакцией между антигеном и положительной стандартной сывороткой.

Реагенты для реакций ИДАГ продаются несколькими компаниями. В качестве альтернативы антиген ИДАГ и стандартизированная сыворотка могут быть приготовлены нижеописанным способом.

#### **2.1.1. Приготовление антигена**

Специфический антиген ИАЛ может быть приготовлен из селезенки инфицированных лошадей с болезнью в острой стадии (Coggins *et al.*, 1973), из культуры тканей инфицированных лошадей (Malmquist *et al.*, 1973), из клеточной линии тимуса целенаправленно инфицированных собак (Bouillant *et al.*, 1986) или из белков, экспрессированных в бактериях или бакуловирусах с использованием технологии рекомбинантных ДНК (Archambault *et al.*, 1989; Kong *et al.*, 1997). Приготовление антигена из инфицированных культур или с помощью технологий рекомбинантных ДНК дает более единообразный результат, чем использование клеток селезенки, и позволяет осуществлять более эффективную стандартизацию реагентов.

Для получения удовлетворяющего требованиям антигена из селезенки лошадь должна быть инфицирована высоковирулентным штаммом ВИАЛ. Инкубационный период в результате должен составлять 5–7 дней, и забор клеток печени должен осуществляться через 9 дней после заражения прививкой, когда титр вируса находится в пике, и до производства любого обнаруживаемого количества преципитирующих антител. Целая паренхима селезенки используется в реакциях иммунодиффузии в качестве антигена (Coggins *et al.*, 1973). Экстракт антигена из клеток селезенки в солевом растворе с концентратом, содержащим сульфат аммония, не позволяет получить такой же удовлетворяющий требованиям антиген, как отбор клеток селезенки с очень высоким титром антигена ИАЛ.

Альтернативным методом является инфицирование почки или клеток кожи плода лошади или клеток тимуса собаки штаммом ВИАЛ, адаптированным к росту в культуре тканей (Американская коллекция типовых культур или Китайский штамм, адаптированный к клеткам кожи плода лошади). Забор вируса из культур осуществляется путем преципитации 8 % полиэтиленгликолем или путем осаждения ультрацентрифугированием. Диагностический антиген р26 высвобождается из вируса при воздействии на него чистящим средством или эфиром (Malmquist *et al.*, 1973). Капсидные белки ВИАЛ, экспрессированные в бактериях или бакуловирусах, имеются в продаже и находят практическое применение в качестве высококачественных антигенов для серологической диагностики.

р26 представляет собой внутренний структурный белок вируса, трансляция которого кодируется геном капсидных белков (gag). р26 обладает более высокой антигенной устойчивостью среди штаммов ВИАЛ, чем вирионные гликопротеины gp45 и gp90 (Montelaro *et al.*, 1984). Имеются факты, подтверждающие изменения штамма в аминокислотной последовательности р26, однако не имеется никаких фактов,

указывающих на то, что это изменение каким-либо образом влияет на результаты серологических тестов (Zhang *et al.*, 1999).

### **2.1.2. Приготовление иммунной сыворотки**

Известная положительная антисыворотка может быть получена от лошади, ранее зараженной ВИАЛ. Эта сыворотка должна давать единственную плотную линию преципитации, характерную для ИАЛ, что демонстрируется реакцией тождественности с известной стандартной сывороткой. Это имеет большое значение для достижения баланса концентраций антигенов и антител с целью обеспечения оптимальной чувствительности теста. Концентрации реагентов должны корректироваться с целью формирования узкой линии преципитации, приблизительно равноудаленной от двух лунок, содержащих антиген и сыворотку.

### **2.1.2. Процедура испытания (Association Française de Normalisation [AFNOR], 2000; Coggins *et al.*, 1973; Pearson & Coggins, 1979)**

i) Реакции иммунодиффузии проводятся в агаровом слое в чашках Петри. В чашках Петри, диаметр которых составляет 100 мм, 15-17 мл 1 % очищенного агара (нобль-агара) помещается в 0,145 М боратного буфера (9 г H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, плюс 2 г NaOH на литр), pH 8,6 ( $\pm$  0.2). Шесть лунок формируется в агаре, окружающую центральную лунку такого же диаметра. Лунки диаметром 5,3 мм и 2,4 мм расположены порознь. Каждая лунка должна содержать одинаковое количество реагента.

ii) Антиген помещается в центральную лунку, а стандартная антисыворотка помещается в перемежающиеся наружные лунки. Образцы сыворотки для проведения испытаний (тестов) помещаются в оставшиеся три лунки.

iii) Чашки Петри выдерживаются при комнатной температуре во влажной среде.

iv) По истечении 24-48 часов реакции преципитации исследуются над узким параллельным пучком лучей интенсивного света, направленным под углом к поверхности, и на черном фоне. Базисные линии должны быть отчетливо видны по истечении 24 часов, в то время как любые контрольные сыворотки, которые являются строго положительными, могут также формировать с ними линии тождественности между стандартными реагентами. Слабоположительная реакция может длиться 48 часов и отмечается незначительным изгибом линии преципитации контрольной сыворотки между лункой для антигена и лункой для контрольной сыворотки. Сыворотки с титрами антитела высокой степени преципитации могут формировать более широкие полосы преципитации, которые, как правило, являются размытыми. Такие реакции могут подтверждаться как реакции, характерные для ИАЛ, путем разбавления в 1/2 или 1/4 перед проведением повторного исследования. После они формируют более четкую линию тождественности. Сыворотки, не содержащие антител к вирусу ИАЛ, не будут формировать линии преципитации и оказывать какое-либо влияние на реакционные кривые стандартных реагентов.

v) Интерпретация результатов: лошади, находящиеся на ранних стадиях заражения, могут не давать положительную серологическую реакцию при проведении испытаний с использованием реакции ИДАГ. Кровь у таких животных должна быть взята повторно через 3-4 недели. При проведении диагностики болезни у молодого жеребенка может возникнуть необходимость определения статуса антител самки. Если кобыла передает жеребенку антитела к ИАЛ через молозиво, то для снижения количества материнских антител в крови жеребенка с момента его рождения должен истечь период, составляющий 6 месяцев или больше. Последующая диагностика болезни у жеребенка, повторяющаяся с

месячными интервалами, может использоваться для исследования снижения количества материнских антител. Для подтверждения вывода о том, что жеребенок не инфицирован, отрицательный результат (после изначального положительного результата) должен быть получен как минимум через 2 месяца после изоляции жеребенка от кобылы, результат тестирования которой на ИАЛ является положительным, и от любых других лошадей, показавших положительный результат. В качестве альтернативного метода определения наличия / отсутствия вируса ИАЛ может быть использована ПЦР в крови жеребенка.

## **2.2. Твердофазный иммуноферментный анализ**

Существует четыре вида твердофазных ИФА, утвержденных Департаментом сельского хозяйства США в качестве методов диагностики инфекционной анемии лошадей, которые используются также в международной ветеринарной практике. Такими методами являются один конкурентный твердофазный ИФА и три неконкурентных твердофазных ИФА. Конкурентный твердофазный ИФА и два неконкурентных твердофазных ИФА используются для обнаружения антител, вырабатываемых против антигена капсидных белков р26. Третий неконкурентный твердофазный ИФА включает в себя как антигены капсидных белков р26, так и антигены капсидных белков gp45 (вирусных трансмембранных белков). Типичные протоколы твердофазного ИФА используются во всех тестах. Если материалов для проведения твердофазного ИФА не имеется в продаже, то может использоваться материал для проведения неконкурентного твердофазного ИФА, в котором используется антиген р26, очищенный от клеточной культуры (Shane *et al.*, 1984).

Для подтверждения диагноза положительный результат твердофазного ИФА должен перепроверяться с помощью реакции ИДАГ, поскольку при использовании твердофазного ИФА отмечались ложноположительные результаты. Данные результаты также могут быть подтверждены с помощью технологии иммуноблота. Стандартную антисыворотку для иммунодиффузии, содержащую минимальное количество антител, которые должны обнаруживаться лабораториями, можно приобрести в Справочных лабораториях МЭБ (см. таблицу, приведенную в части 4 настоящего *Руководства по диагностическим тестам и вакцинам для наземных животных*). Единые методы борьбы с ИАЛ опубликованы (United States Department of Agriculture [USDA], 2002).

## **С. ТРЕБОВАНИЯ К ВАКЦИНАМ**

Инактивированные и субъединичные вакцины ВИАЛ испытывались в различных лабораториях, в результате чего была подтверждена их эффективность в защите от инфекций, состоящих только из штаммов гомологичного прототипа. Живая аттенуированная вакцина, изобретенная в начале 1970-х годов, широко использовалась в Китае (Китайской Народной Республике) в период с 1975 года по 1990 год, доказав свою эффективность в борьбе с распространением ИАЛ. Имеющая низкую распространенность уже с 1990 года стратегия борьбы с ИАЛ была изменена с вакцинации на карантин. Целью этого изменения являлось предотвращение влияния антител вакцины на результаты диагностических тестов.

Хотя никаких опасений относительно безопасности при использовании аттенуированной вакцины ВИАЛ в Китае не возникало, следует отметить, что, как и другие лентивирусы, ВИАЛ является высоко мутабельным вирусом и может внедряться в геном носителя. Использование живой вакцины ВИАЛ должно осуществляться с большой осторожностью, а его целесообразность должна внимательно оцениваться.

## ЛИТЕРАТУРА

- ASSOCIATION FRANÇAISE DE NORMALISATION (AFNOR) (2000). Animal Health Analysis Methods. Detection of Antibodies against Equine Infectious Anaemia by the Agar Gel Immunodiffusion Test. NF U 47-002. AFNOR, 11 avenue Francis de Pressensé, 93571 Saint-Denis La Plaine Cedex, France.
- ARCHAMBAULT D., WANG Z., LACAL J.C., GAZIT A., YANIV A., DAHLBERG J.E. & TRONICK S.R. (1989). Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for equine infectious anaemia virus detection using recombinant Pr55gag. *J. Clin. Microbiol.*, 27, 1167–1173.
- BOUILLANT A.M.P., NELSON K., RUCKERBAUER C.M., SAMAGH B.S. & HARE W.C.D. (1986). The persistent infection of a canine thymus cell line by equine infectious anaemia virus and preliminary data on the production of viral antigens. *J. Virol. Methods*, 13, 309–321.
- CHEEVERS W.M. & MCGUIRE T.C. (1985). Equine infectious anaemia virus; immunopathogenesis and persistence. *Rev. Infect. Dis.*, 7, 83–88.
- COGGINS L. & KEMEN M.J. (1976). Inapparent carriers of equine infectious anaemia (EIA) virus. In: *Proceedings of the IVth International Conference on Equine Infectious Diseases*. University of Kentucky, Lexington, Kentucky, USA, 14–22.
- COGGINS L., NORCROSS N.L. & KEMEN M.J. (1973). The technique and application of the immunodiffusion test for equine infectious anaemia. *Equine Infect. Dis.*, III, 177–186.
- COGGINS L., NORCROSS N.L. & NUSBAUM S.R. (1972). Diagnosis of equine infectious anaemia by immunodiffusion test. *Am. J. Vet. Res.*, 33, 11–18.
- COOK R.F., COOK S.J., LI F.L., MONTELARO R.C., & ISSEL C.J. (2002). Development of a multiplex real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction for equine infectious anemia virus (EIAV). *Virol Methods*, 105, 171–179.
- KEMEN M.J. & COGGINS L. (1972). Equine infectious anaemia: transmission from infected mares to foals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 161, 496–499.
- KONG X. K., PANG H., SUGIURA T., SENTSU H., ONODERA T., MATSUMOTO Y. & AKASHI H. (1997). Application of equine infectious anaemia virus core proteins produced in a Baculovirus expression system, to serological diagnosis. *Microbiol. Immunol.*, 41, 975–980.
- MALMQUIST W.A., BARNETT D. & BECVAR C.S. (1973). Production of equine infectious anaemia antigen in a persistently infected cell line. *Arch. Gesamte Virusforsch.*, 42, 361–370.
- MONTELARO R.C., PAREKH B., ORREGO A. & ISSEL C.J. (1984). Antigenic variation during persistent infection by equine infectious anaemia, a retrovirus. *J. Biol. Chem.*, 16, 10539–10544.
- NAGARAJAN M.M. & SIMARD C. (2001). Detection of horses infected naturally with equine infectious anemia virus by nested polymerase chain reaction. *J. Virol. Methods*, 94, 97–109.

NAGARAJAN M.M. & SIMARD C. (2007). Gag genomic heterogeneity of equine infectious anemia virus (EIAV) in naturally infected horses in Canada: implication on EIA diagnosis and peptide-based vaccine development. *Virus Res.*, 129, 228–235.

PEARSON J.E. & COGGINS L. (1979). Protocol for the immunodiffusion (Coggins) test for equine infectious anaemia. *Proc. Am. Assoc. Vet. Lab. Diagnosticians*, 22, 449–462.

SHANE B.S., ISSEL C.J. & MONTELARO R.C. (1984). Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of equine infectious anemia virus p26 antigen and antibody. *J. Clin. Microbiol.*, 19, 351–355.

SUZUKI T., UEDA S. & SAMEJINA T. (1982). Enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of equine infectious anaemia. *Vet. Microbiol.*, 7, 307–316.

TOMA B. (1980). Réponse sérologique négative persistante chez une jument infectée. *Rec. Med. Vet.*, 156, 55–63.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA) (2002). Equine Infectious Anemia Uniform Methods and Rules. Animal and Plant Health Inspection Service, USDA: [http://www.aphis.usda.gov/animal\\_health/animal\\_diseases/eia/](http://www.aphis.usda.gov/animal_health/animal_diseases/eia/)

WEILAND F., MATHEKA H.D. & BOHM H.O. (1982). Equine infectious anaemia: detection of antibodies using an immunofluorescence test. *Res. Vet. Sci.*, 33, 347–350.

ZHANG W., AUYONG D.B., OAKS J.L. & MCGUIRE T.C. (1999). Natural variation of equine infectious anemia virus Gag-protein cytotoxic T lymphocyte epitopes. *Virology*, 261, 242–252.

\*

\* \*

**ВНИМАНИЕ:** Существуют Справочные лаборатории МЭБ по диагностике инфекционной анемии лошадей (см. таблицу, приведенную в части 4 настоящего *Руководства по диагностическим тестам и вакцинам для наземных животных* или посетите веб-сайт МЭБ для получения актуального списка лабораторий: <http://www.oie.int/en/our-scientific-expertise/reference-laboratories/list-of-laboratories/>).

Для получения более подробной информации, касающейся тестов и реагентов для диагностики инфекционной анемии лошадей, просим Вас обращаться в Справочные лаборатории МЭБ.