

of the proportion of associative gastrointestinal infections over the past 5 years has shown that they occupy the 4th place among all the bacterial disease of cattle, and their share is 9.3%. At the

same time it found a pronounced seasonality of the disease. Most cases of mixed infections in calves lays to the period from November to March with a peak in February.

Сведения об авторах:

Тамбиев Тимур Сергеевич, канд. вет. наук, старший преподаватель кафедры паразитологии, ветеринарно-санитарной экспертизы и эпизоотологии Донского государственного аграрного университета; пос. Персиановский, Октябрьский район, Ростовская область, Россия, 346493; тел.: 8-906-425-61-34; e-mail: tim.tambieff-earl@yandex.ru

Тазаан Артур Ноярович, канд. вет. наук, доцент кафедры паразитологии, ветеринарно-санитарной экспертизы и эпизоотологии Донского государственного аграрного университета; пос. Персиановский, Октябрьский район, Ростовская область, Россия, 346493; тел.: 8-909-407-02-50; e-mail: arthyr_61@mail.ru

Бывайлов Василий Петрович, аспирант кафедры биологии, морфологии и вирусологии Донского государственного аграрного университета; пос. Персиановский, Октябрьский район, Ростовская область, Россия, 346493; тел.: 8-989-503-83-71; e-mail: strautyn@yandex.ru

Кошляк Владимир Васильевич, канд. с.-х. наук, доцент кафедры паразитологии, ветеринарно-санитарной экспертизы и эпизоотологии Донского государственного аграрного университета; пос. Персиановский, Октябрьский район, Ростовская область, Россия, 346493; тел.: 8-908-185-85-75; e-mail: epiz@mail.ru

Author affiliation:

Tambiev Timur Sergeevich, Ph. D. in Veterinary Medicine, Assistant Professor of parasitology, veterinary and sanitary expertise and epizootology Department of Don State Agrarian University; Persianovsky settlement, Oktyabrskiy district, Rostov Region, Russia, 346493; phone: 8-906-425-61-34; e-mail: tim.tambieff-earl@yandex.ru

Tazayan Arthur Noyarovich, Ph. D. in Veterinary Medicine, Associate Professor of parasitology, veterinary and sanitary expertise and epizootology Department of Don State Agrarian University; Persianovsky settlement, Oktyabrskiy district, Rostov Region, Russia, 346493; phone: 8-909-407-02-50; e-mail: arthyr_61@mail.ru

Byvaylov Vasily Petrovich, a graduate student of biology, morphology and virology Department of Don State Agrarian University; Persianovsky settlement, Oktyabrskiy district, Rostov Region, Russia, 346493; phone: 8-989-503-83-71; e-mail: strautyn@yandex.ru

Koshlyak Vladimir Vasilyevich, Ph. D. in Agriculture, Associate Professor of parasitology, veterinary and sanitary expertise and epizootology Department of Don State Agrarian University; Persianovsky settlement, Oktyabrskiy district, Rostov Region, Russia, 346493; phone: 8-908-185-85-75; e-mail: epiz@mail.ru

УДК 619:616.933:612

Карташов С.Н., Ключников А.Г., Бутенков А.И.

ВЕКТОРНЫЕ ИНФЕКЦИИ СОБАК, КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ БАБЕЗИОЗА У СОБАК В РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Ключевые слова: пироплазмоз собак, бабезиоз собак, скрытый бабезиоз, хронический бабезиоз, носительство бабесий, *B. gibsoni*, *B. Canis*, *B. Vogeli*, векторные инфекции, клинические формы бабезиоза, морфологические особенности бабезиоза.

Резюме: Целью исследования было установить наличие носительства бабезиоза у собак на территории Ростовской области, выяснить векторы передачи бабезиоза и виды бабезий, паразитирующих на собаках в данном регионе. По данным зарубежных авторов, носительство может приводить к аутоиммунным анемиям, поражениям почек и развитию фатальной почечной недостаточности. Поставить диагноз методом световой микроскопии таким животным невозможно, и при обычном исследовании в ветеринарной клинике такие диагнозы проходят как криптогенные, а гибель животных связывают с другими причинами. Выяснено, что носительство бабезиоза у собак в Ростовской области в конце периода передачи инвазии составляет 12%, при этом инцидентность носительства *B. canis* составляет 9% от числа всех исследованных животных или 75% — от числа носителей, микст-инвазия *B. canis* и *B. vogeli* составила 4% от числа всех исследованных животных, или 33,3% — от числа всех носителей. В 25% случаев идентифицировать вид бабезии (пироплазмы) не удалось.

Введение

Бабезиоз собак является широко распространенным во всем мире клинически существенным, трансмиссивным гемопротозойным заболеванием. Только в Ростовской области зараженность собак бабезиозом в период с марта по июнь достигает 35% [1- 4]. В англоязычной литературе на основании величины бабезий при световой микроскопии выделяют «большой» бабезиоз при обнаружении в мазках крови методом световой микроскопии бабезий размерами более 3-5 μm . На сегодняшний день мы знаем, что это такие бабезии (пироплазмы) как *B. canis* и *B. vogeli*. О «малом» бабезиозе говорят при обнаружении в мазках крови бабезий менее 3 μm , это такие бабезии как *B. gibsoni*. Несмотря на кропотливое наблюдение в течение почти ста лет за паразитами в мазках крови, классификация бабезий не шла дальше, чем классификация их по морфологическим особенностям и размерам. С 2000 года при классификации бабезий предпочтение отдают генетическим аспектам возбудителей. При молекулярных исследованиях в основном используют локус субъединицы рибосомального гена 18S рНК для родовых отличий бабезий, поскольку эта часть гена достаточно устойчива к мутациям. Но другие рНК гены, например, цитохрома b и гены, кодирующие белки теплового шока, также использовались для родовой идентификации возбудителей бабезиоза [5-7].

На сегодняшний день установлены зоны распространения бабезиоза собак, имеется всесторонняя и современная карта распространения клещевых инфекций собак Европы, Восточной и Юго-Восточная Азии [2, 8-10]. Как и ожидалось, географическое распространение клещевых инфекций полностью связано с географическим распространением клещей-переносчиков этих заболеваний. Интересно отметить,

что распространение *Babesiagibsoni* не связано с распространением каких-либо клещей, и быстрое глобальное распространение этого возбудителя связано с его уникальной возможностью прямой передачи от больной собаки к здоровой через укусы, минуя какие-либо клещевые векторы [9, 11-13].

До сегодняшнего дня в Российской Федерации световая микроскопия остается единственным методом диагностики бабезиоза у собак. По литературным данным, предел чувствительности световой микроскопии приблизительно 0,01% зараженных паразитами эритроцитов [2]. С 2000 года для диагностики бабезиоза начал активно внедряться метод ПЦР. Методом ПЦР можно обнаружить паразитов при паразитемии 5 бабезий в 1 мкл крови [2, 14]. Группой авторов была проверена чувствительность ПЦР [2, 5, 12] в комплексном исследовании у трех собак. Присутствие ДНК бабезий определялось методом ПЦР каждый день после экспериментального заражения. После полного клинического выздоровления, диагностированного по клиническим признакам, на фоне отсутствия увеличения селезенки, нормальной геммограммы и отсутствия бабезий при световой микроскопии на 50 день после пика паразитемии в крови этих собак была обнаружена ДНК бабезий. Данное исследование показывает возможность обнаружения очень незначительного количества ДНК возбудителя методом ПЦР; данный эксперимент, возможно, моделирует ситуацию, сравнимую с хроническим бабезиозом. До сегодняшнего дня нет ясности в клинических последствиях носительства и хронического течения бабезиоза. Имеются данные как о тяжелом прогнозе для животных с таким течением бабезиоза, так и о полном выздоровлении. Имеются сообщения о том, что у большинства собак после незначительных клини-

ческих проявлений заболевания развивается преиммунное состояние, которое может закончиться иммуннообусловленными осложнениями или развитием клинического заболевания в более позднее время. Вместе с тем хроническая инвазия может вообще не иметь никаких последствий для собак, а в неблагополучных районах — даже приводить к устойчивости животных к пироплазмозу [2].

В иностранной литературе достаточно данных по распространению бабезиоза за пределами Российской Федерации. Аналогичных данных по Российской Федерации, а также по распространению носительства бабезий у собак, в доступной отечественной литературе мы не нашли, что и определило цель нашего исследования.

Цель исследования — установить наличие носительства бабезиоза у собак на территории Ростовской области, выяснить векторы передачи бабезиоза и виды бабезий, паразитирующих на собаках в данном регионе.

Материалы и методы исследований

Исследования были проведены на 100 собаках, поступивших в клиники Ростовской области в период с начала октября по конец ноября.

Все собаки были клинически здоровы, и у них не ставился диагноз бабезиоз за весь предшествующий весенне-летний период. У животных отбиралась и стабилизировалась EDTA кровь. Исследования на бабезиоз проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией.

Анализ нуклеотидных полноразмерных геномов и участков различных генов бабезий, взятых из базы данных GenBank (NCBI) последовательностей, проводили с применением пакета прикладных программ «BioEdit 6.0». Исходя из нуклеотидного состава геномов бабезий разных видов, нами были выбраны участки 18S рРНК-гена, наиболее консервативные среди известных изолятов. На консервативные участки были рассчитаны родоспецифические праймеры BabspF (5'-GTTGCTTCTTAGAGGGACTTTGG-3') и BabspR (5'-GCTCTAAGCCCTGAGGAAGTTTAAG-3'), фланкирующие участок в 282 пары нуклеотидов (п. н.).

Для идентификации вида бабезий исследовалась кровь от собак на присутствие видоспецифических участков гена 18S рРНК. Исходя из диагностической ценности эксперимента для обнаружения кДНК

конкретных видов бабезий, был выбран «стандартный» вариант ПЦР. С этой целью были сконструированы праймеры:

BrosF

(5'-CTCACCAGGTCAGACAAACG-3')

и BrosR (5'-GTAGGATTGACAG

ATTGATAGCTC-3') к *B. rossi*,

BcanF

(5'-GATTCTTTGGGTGGTGGTGCATG-3')

и BcanR

(5'-CGTTCTTAGTTGGTGGAGTGAT-3')

к *B. Canis*

BvogF

(5'-TGTCTGGTTAATCCGTTAAC-3')

и BvogR (5'-GAACGAGACCTTA

ACCTGCTAACT-3') к *B. vogeli*.

Рассчитанные видоспецифические праймеры для выявления к ДНК имели высокую температуру отжига 62-64°C, это позволило объединить два этапа реакции (отжиг и элонгацию) в один. В результате удалось значительно снизить время постановки реакции, что не повлияло на её специфичность и чувствительность. Постановку ПЦР проводили в реакционной смеси стандартного состава с использованием 10 пкМ каждого праймера, 5мкл раствора кДНК с добавлением 3 мМ MgCl₂.

Результаты и обсуждение

Нами были собраны клещи с территории Ростовской области с идентификацией их вида, результаты исследования занесены в таблицу.

Из таблицы видно, что наиболее ожидаемым видом бабезий, распространенным на территории Ростовской области, будет *Babesiacanis*.

Из 100 собак, у которых была отобрана кровь на носительство бабезиоза, у 12 был получен положительный результаты в реакции ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией (рис. 1).

Таким образом, носительство бабезиоза в Ростовской области составило 12%. Наибольшее распространение бабезиоз (пироплазмоз) получил среди таких пород как немецкая овчарка, метисы и таксы, но, учитывая незначительное количество собак, возможно, эта тенденция отражает только высокую распространенность данных пород в Ростовской области. Чтобы точнее ответить на этот вопрос, требуются дополнительные исследования.

Нами были проведены дальнейшие исследования материала, положительного на наличие родовых генов к бабезиям. Все 12 положительных материалов были дополнительно исследованы в реакции ПЦР для

Таблица. Видовой состав иксодофауны Ростовской области

Виды иксодид	Количество особей				Виды бабезий, передаваемые клещами
	Общее		Самцы	Самки	
	абс.	%	абс.	абс.	
<i>Dermacentormarginatus</i>	3854	70,8	1348	2506	<i>Babesiacanis</i>
<i>Dermacentorpictus</i>	1125	20,7	294	831	<i>Babesiacanis</i>
<i>Hyalommascupense</i>	86	1,6	44	42	<i>Theileriasp.</i>
<i>Hyalommadetrutum</i>	75	1,4	31	44	нет данных
<i>Rhipicephalussanguineus</i>	248	4,6	114	134	<i>Babesiavogeli</i>
<i>Ixodesricinus</i>	53	0,9	28	25	<i>Babesiacanis</i>

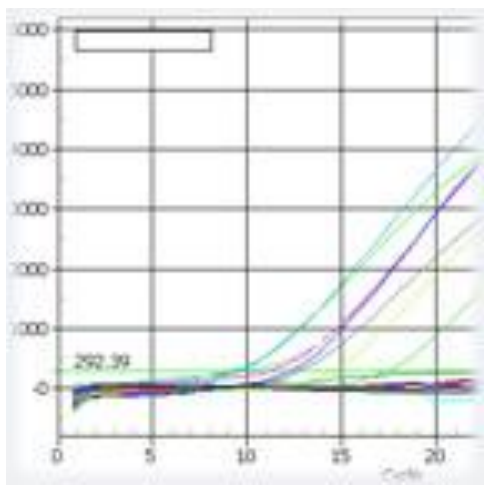


Рисунок 1. По данным ПЦР 12% собак являются носителями бабезий

определения вида возбудителя. Из 12 исследованных положительных материалов клинически здоровых животных положительный тест на *B. Canis* оказался у 9 животных, номера исследования – 1, 7, 15, 28, 29, 33, 35, 44, 56 (рис. 2). Что составило 9 % от числа всех исследованных животных и 75% — от числа всех носителей.

В 4 случаях тест оказался положительным на *B. vogeli*, номера исследования – 1, 15, 33, 35 (рис. 3), что составило 4% от числа всех исследованных животных и 33,3 % — от числа всех носителей.

На *B. rossi* все пробы оказались отрицательными. При этом, как видно из цифро-

вых значений исследования, все животные, зараженные *B. vogeli*, были заражены и *B. canis*. Таким образом, в Ростовской области широко распространена микст-инвазия *B. vogeli* и *B. canis*.

Вместе с тем пробы 10, 39, 95 оказались отрицательными на *B. vogeli*, *B. canis* и *B. rossi*, что указывает, что в Ростовской области распространены не только эти бабезии (пироплазмы), но и другие виды. Мы планируем продолжить исследование и в ближайшее время представить материал о распространении всех видов бабезий на территории Ростовской области.

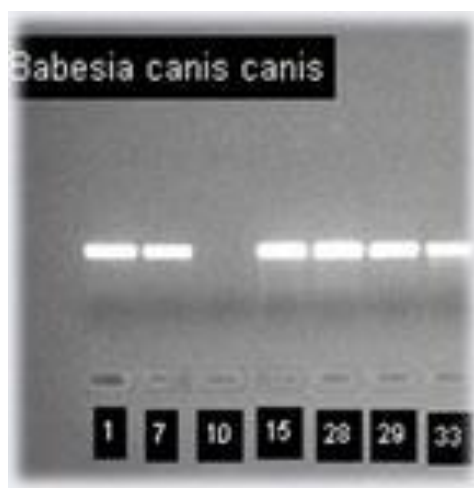


Рисунок 2. Носителями *B. Canis* являются 75% зараженных собак



Рисунок 3. Носителями *B. vogeli* являются 33% зараженных собак

Выводы и заключение

Таким образом, на сегодняшний день бабезиоз (пироплазмоз) собак остается важной клинической проблемой, несмотря на серьезные достижения последних лет в понимании патогенеза этого заболевания. Остаются нерешенными проблемы передачи инфекции, ее патофизиологический механизм, много нерешенных вопросов в диагностике заболевания и терапии этой инвазии, открытыми остаются вопросы профилактики данного заболевания.

В настоящее время выделены неклассифицированные возбудители заболевания, не до конца выявлен ареал распространения, который, по всей видимости, будет продолжать расширяться из-за международного движения собак и расширения

ареала клещей.

Носительство бабезиоза у собак в Ростовской области в конце периода передачи инвазии составляет 12%, при этом инцидентность носительства *B. canis* составляет 9% от числа всех исследованных животных или 75% от числа носителей; микстинвазия *B. canis* и *B. vogeli* составила 4% от числа всех исследованных животных или 33,3% от числа всех носителей. В 25% случаев идентифицировать вид бабезии (пироплазмы) не удалось.

Необходимо напомнить, что, по данным зарубежных авторов, носительство может приводить к аутоиммунным анемиям, поражениям почек и развитию фатальной почечной недостаточности. Поставить диагноз методом световой микроскопии

таким животным невозможно, и при обычном исследовании в ветеринарной клинике такие диагнозы проходят как криптоген-

ные, а гибель животных связывают с другими причинами.

Библиографический список:

1. Peter J Irwin, Canine babesiosis: from molecular taxonomy to control /4th International Canine Vector-Borne Disease Symposium Seville, Spain. 26–28 March 2009.
2. Kjemtrup AM, Wainwright K, Miller M, Penzhorn BL, Carreno RA: Babesiiconradae, sp. nov., a small canine Babesia identified in California. Vet Parasitol 2006, 138:103-111.
3. Criado-Fornelio A, Martinez-Marcos A, Bulung-Sara A, Barba-Carretero JC: Molecular studies on Babesia, Theileria and Hepatozoon in southern Europe Part I: Epizootiological aspects. Vet Parasitol 2003, 113:189-201.
4. deScally MP, Lobetti RG, Reyers F, Humphris D: Are urea and creatinine values reliable indicators of azotaemia in canine babesiosis? J SthAfrVetAssoc 2004, 75:121-124.
5. Camacho AT, Pallas E, Gestal JJ, Guiti n FJ, Olmeda AS, Goethert HK, Telford SR: Infection of dogs in north-west Spain with a Babesiamicroti-like agent. VetRec 2001, 149:552-555.
6. Matjila PT, Leisewitz AL, Ooshuizen MC, Jongejan F, Penzhorn B: Detection of a Theileria species in dogs in South Africa. Vet Parasitol 2008, 157:34-40.
7. Birkenheuer AJ, Correa MT, Levy MG, Breitschwerdt EB: Geographic distribution of babesiosis among dogs in the United States and association with dog bites: 150 cases (2000-2003). J AmVetMedAssoc 2005, 227:942-947.
8. Yamasaki M, Inokuma H, Sugimoto C, Shaw S, Aktas M, Yabsley MJ, Yamato O, Maede Y: Comparison and phylogenetic analysis of the heat shock protein 70 gene of Babesia parasites from dogs. Vet Parasitol 2007, 145:217-227.
9. Jefferies R, Ryan UM, Jardine J, Broughton DK, Robertson ID, Irwin PJ: Blood, bull terriers and babesiosis: further evidence for direct transmission of Babesiagibsoni in dogs. Aust Vet J 2007, 85:459-463.
10. Wulansari R, Wijaya A, Ano H, Horii Y, Nasu T, Yamane S, Makimura S: Clindamycin in the treatment of Babesiagibsoni infections in dogs. J AmAnimHospAssoc 2003, 39:558-562.
11. 57. Lobetti RG, Jacobsen LS: Renal involvement in dogs with babesiosis. J SthAfrVetAssoc 2001, 72: 23-28.
12. Suzuki K, Wakabayashi H, Takahashi M, Fukushima K, Yabuki A, Endo Y: A possible treatment strategy and clinical factors to estimate the treatment response in Babesiagibsoni infection. J VetMedSci 2007, 69:563-568.
13. Vercammen F, de Deken R, Maes L: Prophylactic treatment of experimental canine babesiosis (Babesiacaenis) with doxycycline. Vet Parasitol 1996, 66:251-255.
14. Schoeman JP, Rees P, Herrtage ME: Endocrine predictors of mortality in canine babesiosis caused by Babesiacaenisrossi. Vet Parasitol 2007, 148:75-82.
15. Zahler M, Rinder H, Schein E, Gothe R: Detection of a new pathogenic Babesiamicroti-like species in dogs. Vet Parasitol 2000, 89:241-248.

References:

1. – 15. Vide supra.

Kartashov S.N., Kolesnikov A.G., Butenkov A.I.

VECTOR DOGS INFECTION, CLINICAL AND MORPHOLOGICAL ASPECTS OF BABESIOSIS IN DOGS IN THE ROSTOV REGION

Key Words: piroplasmosis in dogs, babesiosis in dogs, hidden babesiosis, chronic babesiosis, *B. gibsoni*, *B. Canis*, *B. vogeli*, vector infection, clinical forms of babesiosis, morphological features of babesiosis.

Abstract: The aim of this study was to determine the presence of babesiosis in dogs in the Rostov region, find the vectors of transmit babesiosis and determine the *Babesia* species in the region. According to foreign authors, the carrier of infection can lead to autoimmune anemia, to kidney damage and to the development of a fatal kidney failure. Diagnosis by light microscopy such animals is impossible. It was found that the carrier of babesiosis in dogs in the Rostov region at the end of infection transmission consist 12%, while the incidence of carrier *B. canis* consist 9% of all animals or 75% - of the number of carriers. The mixed invasion of *B. canis* and *B. vogeli* was 4% of all animals tested, or 33.3% - of the number of carriers. In 25% of cases to identify the type of *Babesia* failed.

Сведения об авторах:

Карташов Сергей Николаевич, доктор биологических наук, заведующий лабораторией функциональной диагностики болезней животных ФГБНУ Северо-Кавказского зонального научно-исследовательского ветеринарного института, д. 0, шоссе Ростовское, Новочеркасск, Ростовская область, Россия, тел.: 8-909-434-02-02; e-mail: kartashovsn@gmail.com

Ключников Александр Геннадьевич, канд. вет. наук, старший научный сотрудник лаборатории функциональной диагностики болезней животных ФГБНУ Северо-Кавказского

зонального научно-исследовательского ветеринарного института, д. 0, шоссе Ростовское, Новочеркасск, Ростовская область, Россия, тел.: 8-928-167-81-77; e-mail: alex-roz@mail.ru

Бутенков Александр Иванович, доктор ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории функциональной диагностики болезней животных ФГБНУ Северо-Кавказского зонального научно-исследовательского ветеринарного института, д. 0, шоссе Ростовское, Новочеркасск, Ростовская область, Россия, тел.: 8-909-434-03-03, e-mail: butencov@gmail.com

Author affiliation:

Kartashov Sergey Nikolaevich, Dr. Sci in Biology, Head of the Laboratory of functional Diagnostics of Animal Diseases of the North Caucasian Zonal Research Veterinary Institute; Rostovskoe Shosse, 0, Novocherkassk, Rostov region, Russia, phone: 8-909-434-02-02; e-mail: kartashovsn@gmail.com

Kluchnikov Alexander Gennadevich, Ph. D. in Veterinary Medicine, Senior Researcher at the Laboratory of functional Diagnostics of Animal Diseases of the North Caucasian Zonal Research Veterinary Institute; Rostovskoe Shosse, 0, Novocherkassk, Rostov region, Russia, phone: 8-928-167-81-77; e-mail: alex-roz@mail.ru

Butenkov Alexander Ivanovich, Dr. Sci. in Veterinary Medicine, Leading Researcher at the Laboratory of functional Diagnostics of Animal Diseases of the North Caucasian Zonal Research Veterinary Institute; Rostovskoe Shosse, 0, Novocherkassk, Rostov region, Russia, phone: 8-909-434-03-03, e-mail: butencov@gmail.com

УДК 619:616.98:636.2

Дробин Ю.Д., Солдатенко Н.А., Бокун Е.А., Коваленко А.В.

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ МЕТОДОЛОГИИ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ СВИНЕЙ

Ключевые слова: болезни свиней, дифференциальная диагностика, анамнез, патологоанатомические изменения, штамм сальмонелл, чувствительность к антибактериальным препаратам.

Резюме: В статье представлены некоторые аспекты методологии дифференциальной диагностики болезней свиней бактериальной этиологии. Выделение патогенных *S. cholerae suis* из различных органов свиней показало, что наибольшее количество патогенных штаммов сальмонелл удается выделить из желчного пузыря – 30,3%, тогда как из печени возбудитель выделяется только в 14,5 % случаев, почки и селезенки – 13,1 % случаев, сердца – 9,2 %. Полученные экспериментальные данные позволяют рекомендовать при исследовании на сальмонеллез обязательно делать посевы из желчного пузыря для выделения «чистой культуры». Установлены отличия в чувствительности к лекарственным препаратам выделенных патогенов из разных органов. Так, патогены, выделенные из крови сердца, характеризовались наибольшей устойчивостью. Они были чувствительны только к 4 из 32 исследованных препаратов, в то время как патогенные микроорганизмы, выделенные из других органов, обладали чувствительностью к 6–15 лекарственных веществ. Поэтому исследования при выделении патогенов необходимо проводить из разных органов и тканей для осуществления эффективных лечебно-профилактических мероприятий, проводимых с учетом, как места локализации возбудителя, так и фармакокинетики применяемых лекарственных препаратов.

Введение

Современное отечественное свиноводство характеризуется сложной эпизоотиче-

ской обстановкой. Важная роль среди этиологических факторов при желудочно-кишечных болезнях поросят принадлежит па-