

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека
ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций»
Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
ФГБОУ ВПО «Омский государственный аграрный университет
имени П. А. Столыпина»
Институт ветеринарной медицины и биотехнологии

А. П. Красиков, Н. В. Рудаков

РИККЕТСИОЗЫ, КОКСИЕЛЛЕЗ И АНАПЛАЗМОЗЫ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ



ООО «Издательский центр “Омский научный вестник”»

Омск 2013

УДК 619:616.981.71:636.2
ББК 55.142.2+48.731.226
К 78

Рецензенты

- М. А. Бажин — д-р вет. наук, профессор ВНИИБТЖ СО Россельхозакадемии.
А. Н. Евстропов — д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии и вирусологии Новосибирского ГМУ.
В. И. Околелов — д-р вет. наук, профессор, начальник Главного управления ветеринарии Омской области.
В. И. Плешакова — д-р вет. наук, профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии института ветеринарной медицины и биотехнологии ОмГАУ имени П. А. Столыпина ИВМиБ.

К 78 Красиков, А. П.

Риккетсиозы, кокциеллёз и анаплазмозы человека и животных: монография / А. П. Красиков, Н. В. Рудаков. — Омск: ООО ИЦ «Омский научный вестник», 2013. — 280 с. Ил.: 16 с.
ISBN 978-5-91306-048-8

В монографии систематизированы современные данные о представителях порядка *Rickettsiales*. Дается оценка степени их изученности в России. Представлены материалы об этиологии, эпидемиологии, эпизоотологии, патогенезе, клинике, лабораторной диагностике, методах изучения возбудителей, профилактике риккетсиозов в медицине и ветеринарии. Даны рекомендации по лечению крупного рогатого скота при анаплазмозе и кокциеллёзе, описаны эпизоотологические и иммунологические особенности проявления риккетсиозов, ассоциированных с возбудителями других инфекций, приведены методы индикации и идентификации риккетсий, меры профилактики и борьбы.

Адресуется инфекционистам, эпидемиологам, эпизоотологам, микробиологам, научным сотрудникам, аспирантам, преподавателям гуманитарной и ветеринарной медицины, учащимся медицинских и ветеринарных учреждений высшего и среднего образования, слушателям системы последипломного образования.

УДК 619:616.981.71:636.2
ББК 55.142.2+48.731.226

ISBN 978-5-91306-048-8

© А. П. Красиков, Н. В. Рудаков, 2013
© ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций», 2013
© ФГБОУ ВПО ОмГАУ им. П. А. Столыпина, 2013

Russian Federal Consumer Rights Service
Omsk Research Institute of Natural Focal Infections
Ministry of Agriculture of the Russian Federation
Institute of Veterinary Medicine and Biotechnology
of Omsk State Agrarian University named after P. A. Stolypin

A. P. Krasikov and N. V. Rudakov

**RICKETTSIOSES, Q-FEVER
AND ANAPLASMOSES OF HUMAN
AND ANIMALS**



Publishing Center "Omsk Scientific Herald"
Omsk 2013

UDC 619:616.981.71:636.2
LBC 55.142.2+48.731.226
K 78

Reviewers

- M. A. Bazhin — Dr. Vet. Sc., Professor of the Research Institute of Tuberculosis and Brucellosis of Animals of the Siberian branch of the Russian Agricultural Academy,
A. N. Evstropov — Dr. Med. Sc., Head of the Department of Microbiology and Virology of the Novosibirsk State Medical University,
V. I. Okolelov — Dr. Vet. Sc., Professor, Head of the Department of Veterinary of Omsk region.
V. I. Pleshakova — Dr. Vet. Sc., Professor of the Department of Microbiology, Virology and Immunology of the Institute of Veterinary Medicine and Biotechnology of the Omsk State Agrarian University named after P. A. Stolypin

K 78 Krasikov, A. P.
Rickettsioses, Q-fever and anaplasmoses of human and animals: monograph / A. P. Krasikov and N. V. Rudakov— Omsk: Publishing Center "Omsk Scientific Herald", 2013. — 280 p. Il.: 16 p.
ISBN 978-5-91306-048-8

Modern data on the representatives of the order *Rickettsiales* were systematized in the book. The materials of the etiology, epidemiology, epizootiology, pathogenesis, clinical and laboratory diagnostics, methods of studying of rickettsiae, prevention of rickettsioses in human and veterinary medicine, the degree of their study in Russia are presented. The data on the treatment of cattle with anaplasmosis and Q-fever, epizootological and immunologic features of display of rickettsioses associated with other infectious agents, methods of indication and identification of *Rickettsia*, measures for control and prevention are characterized.

The publication is intended for infectious diseases specialists, epidemiologists, epizootiology, microbiologists, medical and veterinary students of universities and students of post-graduate education, as well as for researchers, teachers of human and veterinary medicine, graduate students, veterinarians and farm managers.

UDC 619:616.981.71:636.2
LBC 55.142.2+48.731.226

ISBN 978-5-91306-048-8

© A.P. Krasikov, N. V. Rudakov, 2013
© Omsk Research Institute of Natural Focal Infections, 2013
© Omsk State Agrarian University named after P. A. Stolypin, 2013

Предисловие

Риккетсии и риккетсиоподобные микроорганизмы широко распространены среди различных представителей членистоногих, в том числе у вшей, блох, комаров, клопов, а также в большинстве видов иксодовых клещей. Принято считать эту группу микроорганизмов эндосимбионтами, находящимися в мутуалистических отношениях с хозяевами-членистоногими. Высокая адаптация к организму членистоногих большинства видов риккетсий, в том числе патогенных для позвоночных животных, позволяет рассматривать их в качестве первичных хозяев риккетсий. Вместе с тем, многие виды риккетсий патогенны для человека и животных, что определяет их медицинское и ветеринарное значение.

Одна из основных задач монографии — привлечь внимание медицинских и ветеринарных работников к проблеме риккетсий и риккетсиозов, охарактеризовать современный уровень её изучения.

В основу работы положены результаты собственных исследований авторов и их учеников по анаплазмам и коксииеллам и вызываемым ими инфекционным болезням у человека и животных, имеющим природно-очаговую направленность. В книге дан анализ современной отечественной и зарубежной литературы по альфа-протеобактериям, приведена современная классификация риккетсий и методы диагностики. Примеры из практики позволят студентам медицинских и ветеринарных институтов лучше усваивать изучаемые темы.

Монография состоит из трёх глав. В первой представлены данные об основных нозологических формах и особенностях клинического и эпидемического проявления риккетсиозов (сыпной тиф, клещевой риккетсиоз, марсельская лихорадка, астраханская пятнистая лихорадка, лихорадка цуцугамуши, лихорадка Ку), их иммунитете, лабораторной диагностике, лечении и профилактике.

Вторая глава посвящена анаплазмозу крупного рогатого скота: этиологическим и таксонометрическим особенностям, диагностике,

терапии и профилактике, роли клещей — основных переносчиков возбудителя анаплазмоза, распространению анаплазмоза и ассоциациям его с другими инфекциями в зоне Южного Урала и Западной Сибири, морфологическим, ультраструктурным, молекулярно-генетическим свойствам возбудителя и его локализации в клетках крови, клинико-морфологическими изменениями у спонтанно и экспериментально инфицированных *A.sp.Omsk* животных. Здесь представлены материалы по усовершенствованию методов диагностики анаплазмоза, методики постановки и оценки результатов исследования в РНИФ и РНГА и их диагностическая ценность в производственных условиях. Кроме этого, показаны схемы лечения крупного рогатого скота при анаплазмозе, в том числе ассоциированного с другими инфекциями, дано их экономическое обоснование.

Третья глава посвящена лихорадке Ку крупного рогатого скота: этиологии, эпизоотологическим особенностям, роли мелких млекопитающих и клещей как резервуара *Coxiella burnetii* в природе, методам лабораторной диагностики, эпизоотической ситуации по данной инфекции, а также ассоциативным формам её проявления в хозяйствах Омской области.

Foreword

Rickettsia and Rickettsia-like microorganisms are widely distributed among the various representatives of arthropods, including the lice, fleas, mosquitoes, bedbugs, as well as in the majority of ixodid ticks' species.

It is considered that a large group of these microorganisms (alpha-Proteobacteria) are intracellular symbiotes, located in the mutually beneficial relations with the owners — the arthropods. High adaptation to the body of arthropods of most species of Rickettsiales, including pathogenic for vertebrate animals, allows considering them as primary hosts of Rickettsiae. However, many species of Rickettsiales are pathogens of humans and animals, which determine their medical and veterinary importance.

The majority of the work is based on the results of own studies of the authors and their disciples, as well as the analysis of modern Russian and foreign literature on alpha-Proteobacteria. One of the main tasks of this work is to attract the attention of medical and veterinary workers to the problem of Rickettsiae and rickettsioses, to describe the modern level of their study.

The book gives analysis of modern Russian and foreign literature on alpha-Proteobacteria, a modern classification of Rickettsia and methods of diagnostics. Examples from the practice will allow students of medical and veterinary institutions better master the subject.

The monograph consists of three chapters. The first presents data on the main nosological forms and features of clinical and epidemic manifestations of rickettsioses, their immunity, laboratory diagnosis, treatment and prevention.

The second chapter is devoted to anaplasmosis of cattle: etiologic and taxonomic features, diagnosis, therapy and prevention, the role of ticks — the main vectors of the causative agent of anaplasmosis, the spread of anaplasmosis and associations with other infections in the zone of Southern Ural and Western Siberia, morphological, ultrastructural, molecular-genetic properties of the pathogen and its localization in the cells of blood, clinic-morphological changes in spontaneously and experimentally infected *Anaplasma sp.Omsk* animals.

Here the materials on the improvement of methods of diagnosis of anaplasmosis, methods of setting and assessment of the results of research in indirect immunofluorescence and indirect hemagglutination and their diagnostic value in a production environment are presented. In addition, the scheme of treatment of cattle at anaplasmosis, including those associated with other infections is shown, their economic justification is given.

The third chapter is devoted to a Q-fever of cattle: etiology, epizootical features, the role of small mammals and ticks as the natural reservoirs of *Coxiella burnetii*, methods of laboratory diagnostics, the epizootic situation for this disease, as well as associative forms of its manifestation in the farms of the Omsk region.

ВВЕДЕНИЕ

Изучение нуклеотидных последовательностей гена 16S рибосомальной РНК у клеточных форм жизни позволило выделить три домена: *Archaea*, *Bacteria* и *Eukaria*. Имеется группа отличающихся от классических бактерий домена *Bacteria* (эубактерий) по экологии и биологическим характеристикам прокариотов-паразитов эукариотических клеток. Результаты исследований свидетельствуют о генетических связях не только облигатных внутриклеточных альфа1-протеобактерий из родов *Rickettsia*, *Orientia*, *Anaplasma*, *Ehrlichia* и *Wolbachia*, но и представителей ряда других родов протеобактерий: *Coxiella*, *Brucella*, *Bartonella*.

Несмотря на отличия эпизоотологических и эпидемиологических закономерностей вызываемых инфекций, эти возбудители имеют общие биологические и экологические характеристики. Среди них эндоцитобиоз (внутриклеточный паразитизм) в эукариотических клетках, отсутствие чётких критериев патогенности и классических эндотоксинов, преобладание мелких кокко-бациллярных форм, небольшой размер генома, зависимость от метаболизма клеток хозяина. Метаболическая зависимость является причиной отсутствия или слабого их роста на питательных средах даже сложного состава, оптимальной средой для культивирования бактерий-эндоцитобионтов является эукариотическая клетка (культуры клеток).

Генетические исследования свидетельствуют об эволюционном родстве риккетсий и митохондрий эукариотов, наличии у них общего предка — внутриклеточного эндосимбионта. Предполагается, что приобретение предшественником эукариотической клетки риккетсиального эндосимбионта (митохондриона), давшего начало митохондриям, сыграло определяющую роль в возникновении эукариотического мира. Митохондрии и современные риккетсии являются ближайшими родственниками, имеющими ряд общих свойств

(структура генома, морфология, аэробный тип дыхания и особенности метаболизма).

Одновременно с эукариотами эволюционировали и прокариоты — симбионты эукариотических клеток. Редукция генома риккетсий может быть связана с их специализацией и играть существенную роль в облигатном внутриклеточном паразитизме этой группы протобактерий.

Наиболее изучены эндоцитобионты — патогены человека и животных, многие из которых (риккетсии, эрлихии, бартоanelлы) являются возбудителями природно-очаговых инфекций, имеют широкий круг клеток-мишеней. Бактерии-эндоцитобионты часто могут быть внутрифагоцитарными паразитами, имеют тропность к определённым клеткам кроветворного ряда и системы эндотелия, вступают в специфический лигандно-рецепторный контакт с мембранами эритроцитов, фагоцитов, эндотелиальных клеток сосудов.

Менее всего изучены эндоцитобионты, апатогенные для теплокровных. У многих более низкоорганизованных хозяев (беспозвоночных) бактерии-эндосимбионты наделяют их полезными свойствами, способствуют увеличению биоразнообразия, влияют на процессы размножения, например представители рода *Wolbachia* у насекомых, нематод.

Термин «риккетсии», введённый Н. da Rocha-Lima (1916) в честь американского исследователя Н. Т. Ricketts, описавшего возбудителя лихорадки Скалистых гор, объединяет обширную группу грамотрицательных микроорганизмов, тесно связанных в своей жизнедеятельности с членистоногими. Риккетсии имеют ряд общих свойств:

- а) они являются облигатными внутриклеточными паразитами;
- б) в отличие от подавляющего большинства бактерий риккетсии не способны к росту на питательных средах;
- в) их биология связана с паразитизмом у членистоногих (клещи, вши, блохи);
- г) они имеют ряд особенностей в строении, размножении, биохимических, генетических и иммунобиологических характеристиках;
- д) вызываемые риккетсиями заболевания (риккетсиозы) характеризуются своеобразием клиники и эпидемиологии;

е) требуют специализированных методов изучения (риккетсиологических).

Учение о риккетсиях и риккетсиозах, благодаря работам многих отечественных и зарубежных исследователей, приведено в стройную систему. Важную роль в этом отношении имеют труды академика П. Ф. Здродовского и его школы. Существенный вклад в развитие риккетсиологии в нашей стране внесла академик РАМН Ирина Владимировна Тарасевич.

Ранее термин «риккетсии» в русскоязычной литературе применяли ко всем представителям порядка *Rickettsiales*, в настоящее время это слово применяют преимущественно к микроорганизмам, относящимся к семейству *Rickettsiaceae*, в ряде случаев ещё более узко — к представителям рода *Rickettsia*. Коксиеллёз исторически относят к риккетсиям, однако по современной таксономии они относятся не к альфа-протеобактериям, а к гамма-протеобактериям.

Микроорганизмы семейства *Anaplasmataceae* порядка *Rickettsiales* «эрлихии» и «анаплазмы» известны около ста лет как возбудители заболеваний животных, их медицинская значимость выявлена относительно недавно. Исследования по двум наиболее распространённым нозологическим формам — моноцитарному эрлихиозу человека (МЭЧ) и гранулоцитарному анаплазмозу человека (ГАЧ) — были начаты в конце 80-х и начале 90-х годов соответственно.

В 1910 г. Theiler описал *Anaplasma marginale* — клещевой патоген крупного рогатого скота, поражающий бычьи эритроциты — возбудитель анаплазмоза крупного рогатого скота. Далее представителями ветеринарной медицины были описаны *Cowdria ruminantium* — возбудитель сердечной водянки крупного рогатого скота, *Ehrlichia canis*, *E. phagocytophila*. В 1945 г. было утверждено родовое название *Ehrlichia* в честь немецкого микробиолога Пауля Эрлиха.

E. sennetsu — этиологический агент первого известного эрлихиоза человека (лихорадки Сеннетсу) — был описан первоначально как представитель рода *Rickettsia* — *R. sennetsu*. Открытию новых эрлихиозов человека предшествовало также описание в 1950 г. *Neorickettsia helminthoeca*, в 1964 г. — *N. elokominica*, в 1969 г. — *E. equi*, в 1971 г. — *E. ewingii*, в 1978 г. — *E. platys*, в 1984 г. — *E. risticii*.

Существенный толчок к развитию исследований по эрлихиям связан с массовой гибелью служебных собак в американских войсках во Вьетнаме в 1968–1970 гг., вызванной *Ehrlichia canis*. При изучении этого вида эрлихий были выявлены его фенотипические связи с возбудителем лихорадки сеннетсу — *R.sennetsu*, что привело в 1984 г. к пересмотру таксономического положения этой «риккетсии» и включению её в род *Ehrlichia* под видовым названием *E.sennetsu*. В настоящее время возбудитель лихорадки сеннетсу включен в род *Neorickettsia* под названием *Neorickettsia sennetsu*.

Интерес к изучению эрлихий существенно возрос, когда в США был описан первый случай моноцитарного эрлихиоза человека (МЭЧ). Гранулоцитарный анаплазмоз человека (ГАЧ) впервые выявлен в 1991 г., его этиология уточнена в 1994 г.

Вместе с тем проблема анаплазмозов в России является новой и недостаточно изученной, официальная регистрация двух основных нозологических форм заболеваний — ГАЧ и МЭЧ — введена официально с 2013 года (формы № 1 и № 2 Росстата «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях»). Ряд представителей порядка *Rickettsiales* имеют как медицинское, так и ветеринарное значение, что обусловило необходимость написания монографии, объединяющей накопленные данные медицинских и ветеринарных специалистов в этой области.

Существенно расширились в последние годы представления о риккетсиях и риккетсиозах, что определило написание первой главы «Представители порядка *Rickettsiales*», в которой обобщены современные данные по общей риккетсиологии, включая таксономию, характеристику основных семейств, родов и видов, имеющих значение в медицинской и ветеринарной практике. Описаны биологические и генетические свойства, клиника, лабораторная диагностика, эпидемиологические и эпизоотологические особенности вызываемых заболеваний.

В двух последующих частях представлены оригинальные результаты научных исследований авторов и их учеников, посвящённые проблемам анаплазмозов и кокциеллёза крупного рогатого скота по материалам изучения очагов этих инфекций в зонах Южного Урала и Западной Сибири. Анализируется этиология, лабораторная диагностика, терапия и профилактика анаплазмозов, распростране-

ние анаплазмоза крупного рогатого скота и его ассоциаций с другими инфекциями, морфологические, ультраструктурные и молекулярно-генетические свойства вновь выявленного возбудителя анаплазмоза крупного скота *Anaplasma sp. Omsk*.

Представлены материалы по усовершенствованию методов лабораторной диагностики (реакция непрямой иммунофлюоресценции), по разработке эритроцитарного антигенного диагностикума и схем лечения крупного рогатого скота, заражённого анаплазмозом, в том числе ассоциированным с другими инфекциями. Оценена эпизоотическая ситуация по коксииеллёзу крупного рогатого скота в Омской области, патоморфоз инфекции, наличие ассоциативных инфекций, разработаны новые диагностические подходы и показано их значение для практики.

Авторы надеются, что представленная попытка комплексного подхода к проблеме известных и новых представителей порядка *Rickettsiales* и вызываемых ими заболеваний людей и животных с позиций гуманитарной и ветеринарной медицины будет представлять интерес для специалистов здравоохранения и ветеринарной службы.

1. ПРЕДСТАВИТЕЛИ ПОРЯДКА *RICKETTSIALES*

1.1. Таксономия риккетсий, микроэкология, круг хозяев и среда естественного обитания

Порядок *Rickettsiales* типа *Proteobacteria* домена *Bacteria* объединяет α 1-протеобактерии двух родов семейства *Rickettsiaceae* — *Rickettsia* и *Orientia* и четырёх родов вновь организованного семейства *Anaplasmataceae* — рода *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Neorickettsia*, *Wolbachia* (Dumler J. et al., 1991).

Семейство *Rickettsiaceae*

Семейство включает представителей двух родов: *Rickettsia* и *Orientia*. Среди облигатных внутриклеточных микроорганизмов порядка *Rickettsiales* особое место занимают представители рода *Rickettsia*. В составе рода традиционно выделяли две группы: клещевой пятнистой лихорадки (КПЛ) и сыпного тифа (СТ). Содержание Г+Ц в ДНК риккетсий — 30–32,5 мол.%. Типовой вид — *Rickettsia prowazekii* da Rocha-Lima, 1916 (риккетсия Провачека).

Генетические исследования позволили выделить шесть подгрупп: *R.rickettsii*, *R.massiliae*, *R.akari*, *R.helvetica* (эти четыре подгруппы соответствуют группе КПЛ), *R.prowazekii* (соответствует группе сыпного тифа — СТ) и *R.canadensis* (предковая или «ancestral» группа, предшествующая разделению риккетсий на группы КПЛ и СТ (схема 1).

В соответствии с критериями идентификации новых риккетсий, List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature — Genus *Rickettsia* включает сейчас 27 видов¹. За последние 20 лет этот список пополнили 14 риккетсий, которые получили официальный статус вида: *R.aeschlimannii* (1997), *R.africae* (1996), *R.asiatica* (2006), *R.felis* (2001), *R.heilongjiangensis* (2006), *R.helvetica* (1993), *R.honei* (1998), *R.hoogstraalii* (2010), *R.japonica* (1992), *R.massiliae* (1993),

¹ <http://www.bacterio.cict.fr/qr/rickettsia.html>

R.peacockii (1997), *R.raoultii* (2008), *R.slovaca* (1998), *R.tamurae* (2006).

К группе «предшественников» (Stothard D. and Fuerst P., 1998) отнесены *Rickettsia bellii* и *Rickettsia canadensis*, к группе СТ — *R.prowazekii* — возбудитель эпидемического, передаваемого вшами, сыпного тифа и болезни Брилля, и *R.typhi* — возбудитель эндемического (крысиного или блошиного) сыпного тифа, остальные виды — к группе КПЛ. Количество риккетсий группы КПЛ, имеющих статус вида, постоянно увеличивается. К ним относятся классические патогены (9): *R.akari*, *R.australis*, *R.conorii*, *R.felis*, *R.heilongjiangensis*, *R.honei*, *R.japonica*, *R.rickettsii*, *R.sibirica*; новые патогены (7): *R.aeschlimannii*, *R.africae*, *R.slovaca*, *R.parkeri*, *R.monacensis*, *R.helvetica*, *R.raoultii*; риккетсии с недоказанной патогенностью для человека (8): *R.andennae*, *R.asiatica*, *R.hoogstraalii*, *R.massiliae*, *R.montanensis*, *R.peacockii*, *R.rhipicephali*, *R.tamurae*; кандидаты в новые виды: *Candidatus R.amblyommii*, *Candidatus R.barbariae*, *Candidatus R.cooleyi*, *Candidatus R.kellyi* (новый патоген), *Candidatus R.principis*, *Candidatus R.rioja* (новый патоген), *Candidatus R.tasmanensis*. Следовательно, к настоящему времени известно 16 видов патогенных риккетсий группы КПЛ, 8 видов с недоказанной патогенностью и как минимум 7 кандидатов в новые виды, из них два с доказанной патогенностью для человека. *R.rickettsii* — возбудитель пятнистой лихорадки Скалистых гор (ПЛСГ) в Америке, *R.conorii* — возбудитель марсельской (средиземноморской) лихорадки в странах Средиземноморского бассейна, *R.sibirica* — возбудитель клещевого риккетсиоза (клещевого сыпного тифа) в Азиатской части России, в Казахстане, Монголии и Китае, *R.africae* (в Африке), *R.slovaca* — возбудителя синдрома TIBOLA (DEBONEL) в Европе, *R.honei* — возбудитель лихорадки острова Флиндерс (выявлен также в Азии и Америке), *R.japonica* — возбудитель Японской пятнистой лихорадки, *R.australis* — возбудитель Австралийского клещевого риккетсиоза, *R.akari* — возбудитель осповидного или гамазового клещевого риккетсиоза, *R.felis* (связана с кошачьими блохами), *R.aeschlimannii*, *R.helvetica* (в Швейцарии и некоторых других европейских странах в зоне распространения клещей *Ixodes ricinus*, близкие генотипы выявлены в Японии и России), *R.massiliae*, *R.rhipicephali*, *R.montanensis*,

R.parkeri, *R.peacockii*, *R.heilongjiangii* (Китай, Россия). Из них не установлена патогенность для человека только у *R.massiliae*, *R.montanensis*, *R.parkeri*, *R.peacockii*.

К патогенным для человека микроорганизмам порядка *Rickettsiales* относятся также представители семейства *Anaplasmaceae* — *Neorickettsia sennetsu* (возбудитель лихорадки сеннетсу в Японии), *Ehrlichia chaffeensis* и *E.ewingii* (возбудители моноцитарного эрлихиоза человека — МЭЧ, в России к ним также относят *E.muris*), *Anaplasma phagocytophila* (возбудитель гранулоцитарного анаплазмоза человека — ГАЧ).

Возбудитель лихорадки цуцугамуши — *Orientia tsutsugamushi* (ранее *Rickettsia tsutsugamushi*) — реквалифицирован из группы цуцугамуши рода *Rickettsia* в самостоятельный род ***Orientia***. *Orientia tsutsugamushi* переводится на русский язык как «восточная кустарниковая лихорадка». Ранее входил в состав рода *Rickettsia* на правах серогруппы. Отмечена выраженная генетическая и антигенная гетерогенность возбудителя, наличие как минимум трёх основных его типов: *Gilliam*, *Karp*, *Kato*. Выявлены также антигенные типы *Shimokoshi*, *Kawasaki*, *Kukori*. Все они вызывают одну нозологическую форму (лихорадку цуцугамуши). Ориенции различных антигенных типов отличаются между собой по антигенной структуре больше, чем *R.prowazekii* от *R.typhi*. Ориенции не имеют антигенных связей с риккетсиями групп КПЛ и сыпного тифа (Кулагин С. М., Тарасевич И. В., 1972).

В табл. 1.1 показаны дифференциальные признаки основных видов родов *Rickettsia* и *Orientia*.

Coxiella (ранее *Rickettsia*) *burnetii* относится к классу гамма-протеобактерий, порядку *Legionellales*, семейству *Coxiellaceae*, роду *Coxiella*.

Микроэкология возбудителей

Экологической микронишей представителей рода *Rickettsia* служит цитоплазма, для ряда из них (риккетсии группы КПЛ) — и ядро эукариотической клетки, где они размножаются свободно, без окружения паразитофорной вакуолью. Этим они отличаются от коксиелл Бернета, представителей семейства *Anaplasmataceae* и хламидий, микронишей для которых является фагосома и фаголи-

зосома (Рудаков Н. В. и др. 2012). Экологические особенности риккетсий обусловлены их облигатным внутриклеточным паразитизмом с широким кругом филогенетически далеко отстоящих друг от друга хозяев — кровососущих членистоногих (клещей, вшей, блох) и их теплокровных прокормителей — грызунов, насекомоядных, сумчатых, копытных и других млекопитающих и птиц.

Схема 1.1

Основные виды и подгруппы рода *Rickettsia*

A. *R.rickettsii* подгруппа

1. *R.conorii*
2. *R.rickettsii*
3. *R.sibirica*
4. *R.africae*
5. *R.slovaca*
6. *R.japonica*
7. *R.heilongjiangensis*
8. *R.honei*
9. *R.parkeri*

B. *R.massiliae* подгруппа

10. *R.massiliae*
11. *R.rhipicephali*
12. *R.montanensis*
13. *R.aeschlimannii*

C. *R.helvetica* подгруппа

14. *R.helvetica*

D. *R.akari* подгруппа

15. *R.akari*
16. *R.australis*
17. *R.felis*

**ГРУППА КЛЕЩЕВОЙ
ПЯТНИСТОЙ ЛИХОРАДКИ**

E. *R.canadensis* подгруппа

18. *R.canadensis*
19. *R.tarasevichiae*
20. *R.bellii*

ПРЕДКОВАЯ ГРУППА

F. *R.prowazekii* подгруппа

21. *R.prowazekii*
22. *R.typhi*

ГРУППА СЫПНОГО ТИФА

Таблица 1.1

Дифференциация групп видов родов *Rickettsia* и *Orientia*

Виды	Группа сыпного тифа	Группа пятнистой лихорадки Скалистых гор	Группа цуцугамуши
	1. <i>R.prowazekii</i> 2. <i>R.typhi</i>	3. <i>R.rickettsii</i> 4. <i>R.sibirica</i> 5. <i>R.conorii</i> 6. <i>R.australis</i> 7. <i>R.akari</i>	8. <i>O.tsutsugamushi</i>
1. Внутриклеточная локализация: – цитоплазма – ядро	+ –	+ +	+ –
2. Культивирование в куриных эмбрионах (оптим. t° C) – максимальный титр перед гибелью эмбрионов; – через 24–72 час. после гибели	35 + – 8–10 1	32–34 – + 5–8 2–3	35 + – 11–17 1
3. Число дней для образования бляшек на монослоях куриных эмбрионов	+++ +(1) ++(2)	+++ + (3–5) ++ (6) +++ (7)	+ или ++ +++
4. Величина бляшек, мм	+ –	+ –	– +
5. Восприимчивость морской свинки*	+ –	+ –	+ +
6. Восприимчивость белой мыши			
7. Специфический антиген в РСК: – растворимый, экстрагируется эфиром; – групповой, удовлетворительно; – групповой, неудовлетворительно			
8. Корпускулярный антиген: – видовой – типовой			

* Только лихорадка — *R.prowazekii*, лихорадка и отёк мошонки — *R.typhi*, *R.conorii*, *R.australis*, *R.akari*, лихорадка и некроз — *R.rickettsii* и *R.sibirica*. Цифры в скобках — номера видов.

Риккетсии имеют широкий диапазон патогенности и могут быть разделены по этому признаку на три группы — классические патогены, новые патогены и симбионты эукариотических клеток, преимущественно насекомых (табл. 1.2). К классическим патогенам относятся представители группы СТ (*R.prowazekii*, *R.typhi*), а также три наиболее значимых представителя группы КПЛ с широким географическим распространением: *R.rickettsii* — возбудитель пятнистой лихорадки Скалистых гор, *R.conorii* — возбудитель марсельской или средиземноморской лихорадки, *R.sibirica* — возбудитель клещевого сыпного тифа (клещевого риккетсиоза Северной Азии). Кроме того, некоторые патогены группы КПЛ имеют локальные ареалы (*R.australis*, *R.japonica*) или их распространение слабо изучено (*R.akari*). Вторая группа (новые патогены) включает *R.slovaca*, *R.helvetica*, *R.honei*, *R.africa*, *R.mongolotimonaе*, *R.felis*, *R.aeschlimannii*, *R.canadensis*, *R.hulinii*, *R.heilongjiangensis*. Заболеваемость инфекциями, вызванными ими, связана с увеличением контактов населения с природными очагами, часто на фоне снижения иммунной резистентности.

Наибольший интерес представляют риккетсии, не относящиеся к группам КПЛ и СТ, среди которых описаны эндоцитобионты клеток насекомых: *Adalia bipunctata bacteria* (AB bacterium), *Adalia decempunctata bacterium* (AD bacterium), *Pea Aphid rickettsia* (PAR), которые филогенетически тесно связаны с *R.canadensis* и *R.bellii*.

Уникальность этой группы заключается в том, что они занимают экологические ниши как среди питающихся кровью, так и среди некровососущих насекомых. Существует мнение, что риккетсии группы сыпного тифа (*R.prowazekii*) в наибольшей степени сходны с митохондриями как в отношении экологической ниши, так и в отношении «стиля жизни». Однако эволюционно близкими «родственниками» митохондрий являются апатогенные риккетсии, широко распространённые в иксодовых клещах.

Риккетсии группы КПЛ — клещевые микроорганизмы с эффективной трансвариальной и трансфазовой передачей. Основными хозяевами риккетсий этой группы являются клещи родов *Dermacentor*, *Rhipicephalus*, *Haemaphysalis*, *Ixodes*, *Amblyomma* (табл. 1.3).

Патогенность известных к настоящему времени риккетсий

Риккетсии группы КПЛ	Риккетсии группы СТ	Неклассифицированные риккетсии
<p>Классические патогены</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. <i>Rickettsia rickettsii</i> 2. <i>Rickettsia conorii</i> 3. <i>Rickettsia sibirica</i> 4. <i>Rickettsia australis</i> 5. <i>Rickettsia japonica</i> 6. <i>Rickettsia akari</i> <p>Новые патогены (оппортунисты)</p> <ol style="list-style-type: none"> 7. <i>Rickettsia slovaca</i> 8. <i>Rickettsia helvetica</i> 9. <i>Rickettsia honei</i> 10. <i>Rickettsia africae</i> 11. <i>Rickettsia aeschlimannii</i> 12. <i>Rickettsia heilongjiangensis</i> 13. <i>Rickettsia felis</i> 14. <i>Rickettsia raoultii</i> 15. <i>Rickettsia amblyommii</i> 16. <i>Rickettsia cooleyi</i> 17. <i>Rickettsia massiliae</i> 18. <i>Rickettsia martinet</i> 19. <i>Rickettsia montanensis</i> 20. <i>Rickettsia moreli</i> 21. <i>Rickettsia peacockii</i> 22. <i>Rickettsia parkeri</i> 23. <i>Rickettsia rhipicephali</i> 24. <i>Rickettsia sp. A-167</i> 25. <i>Rickettsia sp. AT1</i> 26. <i>Rickettsia sp. Bar29</i> 27. <i>Rickettsia sp. California-2</i> 28. <i>Rickettsia sp. DaE100R</i> 29. <i>Rickettsia sp. DT1</i> 30. <i>Rickettsia sp. FUJ98</i> 31. <i>Rickettsia sp. FLA1</i> 32. <i>Rickettsia sp. IM1</i> 33. <i>Rickettsia sp. IO1</i> 34. <i>Rickettsia sp. IP1</i> 35. <i>Rickettsia sp. IRS4</i> 36. <i>Rickettsia sp. IRS3</i> 37. <i>Rickettsia sp. RAv1</i> 38. <i>Rickettsia sp. Rav3</i> 39. <i>Rickettsia sp. Rav9</i> 40. <i>Rickettsia sp. RpA4</i> 41. <i>Rickettsia sp. S</i> 	<p>Классические патогены</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. <i>Rickettsia prowazekii</i> 2. <i>Rickettsia typhi</i> 	<p>Новые патогены</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. <i>R. canadensis</i> <p>Симбионты эукариотических клеток членистоногих</p> <ol style="list-style-type: none"> 2. <i>Rickettsia amblyommii</i> 3. <i>Rickettsia bellii</i> 4. <i>Rickettsia cooleyi</i> 5. <i>Rickettsia peacockii</i> 6. <i>Rickettsia moreli</i> 7. <i>Rickettsia sp. 'La Copita'</i> 8. <i>Rickettsia sp. 'midichlorii'</i> 9. <i>Rickettsia sp. California 2</i> 10. <i>Rickettsia sp. IrR/Munich</i> 11. <i>Rickettsia sp. MOAa</i> 12. <i>Rickettsia sp. WB-8-2</i> <p>Симбионты других эукариотических клеток</p> <ol style="list-style-type: none"> 13. <i>male-killing Rickettsia from Adalia bipunctata</i> 14. <i>male-killing Rickettsia from Adalia decempunctata</i> 15. <i>papaya bunchy top disease rickettsia</i> 16. <i>Rickettsia sp. PAR (pea aphid rickettsia)</i> 17. <i>Rickettsia endosymbiont of Hemicrepsis marginata</i> 18. <i>Rickettsia endosymbiont of Torix tagoi</i>

Иксодовые клещи — хозяева риккетсий

Подсемейства клещей	Виды клещей	Виды риккетсий
Ixodinae	<i>Ixodes ricinus</i>	<i>R. helvetica</i> , IRS3, IRS4
	<i>Ixodes persulcatus</i>	<i>R. helvetica</i> , <i>Rickettsia</i> sp. IP1 "R. tarasevichiae"
	<i>Ixodes monospinosus</i>	<i>R. helvetica</i>
	<i>Ixodes ovatus</i>	<i>R. japonica</i> , <i>R. helvetica</i> <i>Rickettsia</i> sp. IO1
	<i>Ixodes granulatus</i>	Thai tick typhus strain TT-118 <i>Rickettsia honei</i> , <i>R. thailandii</i>
Amblyomminae	<i>Amblyomma maculatum</i>	<i>R. parkeri</i>
	<i>Amblyomma americanum</i>	"R. amblyommii", <i>R. texiana</i> <i>Rickettsia</i> sp. AaR/SoCarolina
	<i>Amblyomma cajennense</i>	<i>R. rickettsii</i>
	<i>Amblyomma variegatum</i>	<i>R. africae</i>
	<i>Amblyomma hebraeum</i>	<i>R. africae</i>
Haemaphysalinae	<i>A. testudinarium</i>	<i>R. genotype AT</i>
	<i>Haemaphysalis concinna</i>	<i>R. sibirica</i> , <i>R. heilongjiangensis</i>
	<i>Haemaphysalis yeni</i>	<i>R. sibirica</i>
	<i>Haemaphysalis punctata</i>	<i>R. aeschlimannii</i>
	<i>H. leporispalustris</i>	<i>R. canadensis</i> , <i>R. bellii</i>
	<i>H. longicornis</i>	<i>R. japonica</i>
Hyalomminae	<i>Haemaphysalis flava</i>	<i>R. japonica</i>
	<i>Hyalomma asiaticum</i>	<i>R. mongolotimonae</i>
Rhipicephalinae	<i>Hyalomma marginatum</i>	<i>R. aeschlimannii</i>
	<i>Dermacentor andersoni</i>	<i>R. rickettsii</i> , <i>R. rhipicephali</i> , <i>R. montanensis</i> , <i>R. peacockii</i> , <i>R. bellii</i> , <i>R. sp. DaE100R</i>
	<i>Dermacentor variabilis</i>	<i>R. rickettsii</i> , <i>R. montanensis</i> <i>R. bellii</i> , <i>R. rhipicephali</i>
	<i>Dermacentor occidentalis</i>	<i>R. rhipicephali</i> , <i>R. bellii</i>
	<i>D. parumapertis</i>	<i>R. bellii</i>
	<i>Dermacentor albipictus</i>	<i>R. bellii</i>
	<i>Dermacentor nuttalli</i>	<i>R. sibirica</i> , <i>R. raoultii</i>
	<i>Dermacentor marginatus</i>	<i>R. sibirica</i> , <i>R. slovacca</i> , <i>R. raoultii</i>
	<i>Dermacentor silvarum</i>	<i>R. sibirica</i> , <i>R. raoultii</i> , <i>R. heilongjiangensis</i>
	<i>Dermacentor reticulatus</i>	<i>R. sibirica</i> , <i>R. raoultii</i>
	<i>Dermacentor niveus</i>	<i>R. raoultii</i>
	<i>Dermacentor sinicus</i>	<i>R. sibirica</i>
	<i>Dermacentor taiwanensis</i>	<i>R. japonica</i> , <i>Rickettsia</i> sp. DT1
	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	<i>R. conorii</i> , strain S, Bar 29, <i>R. massiliae</i> , <i>R. rhipicephali</i>
<i>Rhipicephalus pumilio</i>	<i>R. conorii</i> Astrakhan, RpA4	
<i>Rhipicephalus turanicus</i>	<i>R. massiliae</i>	

Наибольшее значение в циркуляции патогенных для человека и непатогенных риккетсий имеют клещи родов *Dermacentor* (*R.sibirica*, *R.slovaca*, *R.rickettsii*, *R.japonica*, *R.paecockii*, *R.montanensis*, *R.bellii*, *R.raoultii*) и *Rhipicephalis* (риккетсии генокомплекса *R.conorii*, strain S, *R.massiliae*, Bar29, *R.rhipicephali*), которые относятся к одному подсемейству *Rhipicephalinae*. Нозоареалы клещевого риккетсиоза (клещевого сыпного тифа), вызываемого *R.sibirica* (палеарктический регион к востоку от Урала) и лихорадки Скалистых гор, вызываемой *R.rickettsii* (неарктические и неотропические области Америки) связаны с клещами рода *Dermacentor*, под родами *Serdjukovia* (*D.nuttalli*, *D.marginatus*, *D.sil-varum*) и *Dermacentor s.str.* (*D.andersoni*, *D.variabilis*) соответственно. Эти под роды и подрод *Asiacentor* более тесно связаны, чем два других: *Indocentor* и *Amblyocentor*.

В соответствии с мнением Б. Н. Померанцева (1948) и Г. В. Колонина (1984) центром происхождения *Dermacentor* являются горы Центральной Азии с более ранним отделением *Indocentor* и *Amblyocentor* от общего предшественника. Переходные формы между этими под родами неизвестны, их ареалы не перекрываются. Общий корень происхождения евроазиатских и американских риккетсий определяется их общей, сопряжённой с переносчиками, эволюцией.

Риккетсиозы группы КПЛ — природноочаговые инфекции. В качестве переносчиков возбудителя КР наибольшее значение имеют клещи под рода *Serdjukovia* рода *Dermacentor* (*D.nuttalli*, *D.marginatus*, *D.silvarum*) и *Haemaphysalis* (*H.concinna*).

1.2. Биологические свойства риккетсий

Морфологические и тинкториальные свойства

Риккетсии — мелкие плеоморфные микроорганизмы от кокковидных до палочковидных, иногда нитевидные, однако чаще короткие палочки 0,3–0,6 x 0,8–2,0 мкм, у некоторых видов длиной до 4 мкм перед делением клеток. Размножение риккетсий происходит бинарным делением вегетативных форм. Жгутиков и капсул нет, но

на электронных микрофотографиях клеток, подвергнутых минимальным лабораторным манипуляциям, обычно виден внешний слой аморфного материала (микрокапсула). Риккетсии — граммотрицательные микроорганизмы, они плохо окрашиваются обычными анилиновыми красителями. Удерживают основной фуксин. Наиболее часто применяют модификацию окраски по П. Ф. Здродовскому, рекомендовавшему в связи с наличием большого количества липидов использование карболового фуксина. При этом риккетсии окрашиваются в ярко-розовый или рубиново-красный цвет, цитоплазма клеток — в голубой, ядра — в синий (Здродовский П. Ф., Голиневич Е. М. 1972).

Риккетсии имеют сходное с классическими граммотрицательными бактериями строение клетки: снаружи расположен микрокапсулярный слой толщиной 10–15 нм, обладающий антигенными свойствами, далее выявляется трёхслойная мембрана клеточной стенки шириной 8–12 нм; цитоплазма образуется рибосомоподобными гранулами, между которыми обнаруживаются нити ДНК. При изучении поверхностных структур риккетсий с помощью электронной микроскопии выявлены, как у многих бактерий, особого рода образования — волосовидные придатки, или фимбрии. С наличием жгутикоподобных образований у *R. sibirica* и *R. conorii*, вероятно, связана подвижность. В настоящее время подвижность риккетсий связывают с наличием «актиновых хвостов». У ряда видов риккетсий отмечают наличие вегетативных и покоящихся форм (Гудима О. С., 1969, 1976).

Вегетативные формы риккетсий Провачека в куриных эмбрионах, вшах, культурах клеток и в организме белых мышей имеют поперечный размер от 250 до 400 мкм. Снаружи имеется капсулоподобный аморфный слой (микрокапсула), толщина которого составляет 100–150 ангстрем. Под ним расположена клеточная стенка, состоящая из трёх слоев по 25–30 А каждый. Ниже лежит трёхслойная цитоплазматическая мембрана толщиной 75–80 А, покрывающая риккетсиоплазму. В её структуре содержатся крупные гранулы до 100–150 А, соответствующие рибосомам и образующие группы или короткие цепочки. Нуклеоид содержит нити ДНК толщиной от 25 до 75 А. Покоящиеся формы риккетсий Провачека характеризуются меньшими размерами (диаметр 200–300 мкм),

утолщённой (100–110 А) клеточной стенкой, концентрированными цитоплазмой и нуклеоидом (Гулевская С. А., Балаева Н. М., 1970).

Антигенное строение риккетсий, культуральные и физиологические особенности

Внедрение методов очистки при центрифугировании в градиенте плотности, дающих возможность отделить риккетсии от компонентов клеток хозяина, сделало возможным изучение антигенов риккетсий. Основными антигенными комплексами риккетсий являются группоспецифический (отличающийся у риккетсий групп КПЛ и СТ) термостабильный липополисахаридный комплекс и два протективных поверхностных белка — *rOmpA* и *rOmpB*.

Дифференциация риккетсий на основе протеиновых профилей, определяемых электрофорезом в полиакриламидном геле с додигидрохлоридом натрия (SDS-page) позволила относить изучаемые штаммы к отдельным видам риккетсий группы КПЛ. Вестерн-блот с сыворотками крови переболевших показал их способность реагировать с двумя риккетсиальными протеинами (позднее названными *rOmpA* и *rOmpB*) у риккетсий группы КПЛ и *R. canadensis* и только с протеином *rOmpB* у риккетсий группы сыпного тифа. Эти протеины наружных мембран риккетсий характеризовались различными молекулярными массами для каждого вида (Anacker R. et al., 1987).

Наличие на риккетсиальных протеинах *rOmpA* и *OmpB* видовых, субвидовых и субгрупповых антигенных детерминант позволяет дифференцировать большинство риккетсий в РНИФ с моноклональными антителами, кроме *R. akari* и *R. australis*. Эти два вида риккетсий взаимодействуют только с МКА к липополисахаридному антигену (ЛПС), являющемуся группоспецифическим. У ориенций цуцугамуши и риккетсий группы сыпного тифа *rOmpB* обладает свойствами адгезина.

Токсические субстанции риккетсий являются термолабильными белками, неотделимы от их клеток, инактивируются формалином. Патогенные виды риккетсий синтезируют гемолизины, вызывающие гемолиз эритроцитов различных видов животных.

Облигатный характер внутриклеточного паразитизма риккетсий требует для их развития веществ и ферментов, содержащихся

в клетках хозяина. С учётом особенностей метаболизма J. W. Moulder считает, что риккетсии представляют собой бактерии, которые, приспособившись к внутриклеточному существованию, утратили в значительной степени способность к внеклеточному существованию. Не культивируются в отсутствие клеток хозяина. Размножаются в клетках позвоночных и членистоногих, в эпидермальных клетках, выстилающих желточный мешок развивающегося куриного эмбриона. Хороший рост получен *in vitro* в клетках куриного эмбриона и в некоторых стационарных линиях клеток млекопитающих (Vero, Herp-2). Образуют бляшки на фибробластах куриного эмбриона. Температурный оптимум роста от 32 до 35° С (выше — для группы СТ, ниже — для группы КПЛ).

Наиболее распространёнными методами культивирования служат метод накопления в тканях желточного мешка развивающихся куриных эмбрионов по Коксу и культуры эукариотических клеток в условиях пониженного метаболизма. Для экспериментального воспроизведения инфекции и выделения штаммов патогенных риккетсий с успехом применяют различные виды чувствительных к определённым видам риккетсий животных, чаще морских свинок-самцов (при внутрибрюшинном заражении возникает скротальный феномен — воспалительная реакция *tunica vaginalis* яичек) и хомячков (Здродовский П. Ф., Голиневич Е. М., 1972).

Риккетсии являются медленно растущими микроорганизмами, размножаются поперечным бинарным делением, время их генерации составляет не менее 8–9 часов. Риккетсии имеют осмотически активную клеточную мембрану, содержащую специфические переносчики для транспорта субстратов. У них имеется транспортная система переноса АТФ–АДФ, известная у митохондрий и другого внутриклеточного паразита — хламидий. Однако у риккетсий имеются и собственные системы синтеза АТФ. Наличие системы транспорта АТФ–АДФ и собственного синтеза АТФ при окислении глютаминовой кислоты указывает на два типа использования риккетсиями АТФ.

При размножении риккетсии получают АТФ от клетки-хозяина, в её присутствии ингибируется цитратсинтаза — ключевой фермент цикла Кребса, что сопровождается снижением катаболизма глютаминовой кислоты. При выходе риккетсий из клеток

в условиях дефицита АТФ активность цитратсинтазы усиливается, что ведёт к активации цикла Кребса и генерации эндогенной риккетсиальной АТФ.

У риккетсий отмечается высокое содержание липидов (до 50 %) и низкое — углеводов. По высокому содержанию нуклеиновых кислот (до 12 %) и наличию в составе как ДНК, так и РНК риккетсии представляют собой бактериальные организмы. Сходны по химическому составу и клеточные стенки риккетсий и классических бактерий. В них выявлены диаминопимелиновая и мурамовая кислоты, белки, липиды, полисахариды. Однако у риккетсий содержится и глюкуроновая кислота, которая в оболочках бактерий обычно отсутствует.

Соотношение ДНК и РНК составляет 1:6–1:8. РНК содержится в риккетсиях преимущественно в цитоплазме, а ДНК образует скопления, которые по существу и представляют нуклеоид.

О сложности химического состава риккетсий свидетельствует наличие в них витаминов (никотинамид, фолиевая кислота, биотин, рибофлавин, тиамин, пантотеновая кислота, витамины В₆, В₁₂). У риккетсий обнаружены энзимные системы, в частности, трансаминазы, глютамат-оксидазная система, с помощью которых осуществляется в живой клетке хозяина автономный метаболизм этих микроорганизмов.

Риккетсии относятся к аэробам. Окисление осуществляется по циклу Кребса с образованием цитрата, углекислого газа и переаминованием глютаминовой кислоты в аспарагиновую, что свидетельствует об энергетической активности риккетсий.

Генетическая характеристика

По результатам пульсового гель-электрофореза средний размер генома большинства изученных представителей группы КПЛ находится между 1200 и 1300 тыс. нуклеотидов. Размер генома *R.massiliae* и *R.helvetica* составляет 1400 тыс. нуклеотидов, *R.bellii* — 1600 тыс. нуклеотидов. Средний размер генома риккетсий группы сыпного тифа (*R.prowazekii*, *R.typhi*) находится между 1100 и 1200 тыс. нуклеотидов. Наибольший размер генома у *R.bellii* из группы предшественников, наименьший — у риккетсий группы сыпного тифа, что косвенно подтверждает гипотезу о редукции ге-

нома у адаптированных к теплокровным видов риккетсий (вызываемый *R.prowazekii* сыпной тиф — антропоноз).

В соответствии с современными требованиями для идентификации новых риккетсий необходимо использовать определение нуклеотидных последовательностей не менее 5 генов, включая кодирующие основные белки (Fournier P.-E. et al., 2003). Для этих целей предлагается изучать панбактериальные гены, кодирующие 16S rRNA и цитратсинтазу (*gltA*), *Rickettsia* — специфические *OmpA* и *OmpB* гены и ген *D*, кодирующие поверхностные, высокомолекулярные белки *rOmpA* (190КД) и *rOmpB* (120 КД), *PS120* (термостабильный цитоплазмальный белок) соответственно. В соответствии с этими критериями *R.sp. BJ-90* и *R.mongolotimonae* относятся к виду *R.sibirica*, в котором выделяют подвиды *R.sibirica subsp. R.sibirica*, *R.sibirica subsp. BJ-90*, *R.sibirica subsp.mongolotimonae*.

Ген, кодирующий 16S рРНК, является первым геном, секвенированным в геноме риккетсий. Поскольку этот панбактериальный ген присутствует у всех прокариотов, определение его первичной структуры позволяет изучать степень гомологии микроорганизмов, строить филогенетические деревья и изучать их эволюционные связи. Отмечена высокая степень гомологии различных риккетсий по этому гену (от 97,2 до 99,9 %).

В основе методов идентификации и дифференциации риккетсий был положен анализ генов, кодирующих цитратсинтазу (*gltA*) и протеин *rOmpA* (*ompA*), основанный на полиморфизме фрагментов ПЦР-рестрикции. Как известно, цитратсинтаза является компонентом почти всех живых клеток и ферментом главного цикла метаболизма — цикла лимонной кислоты, играющей ключевую роль в выработке энергии и в обеспечении важнейших биосинтетических метаболитов.

При помощи ПЦР-амплификации было показано присутствие этого гена в хромосомах всех риккетсий. Определение ПЦР ПДРФ профилей, полученных после расщепления продуктов ПЦР с рестриктазой (эндонуклеазой) *Alu 1*, было использовано для изучения геномных различий риккетсий. Только пять геномовидов имели свои характерные профили: *R.akari*, *R.australis*, *R.japonica*, *R.massiliae* и *R.bellii*. Все остальные виды изученных риккетсий группы КПЛ характеризовались идентичными профилями.

Дендрограмма генотипического родства нуклеотидных последовательностей риккетсиальной цитратсинтазы свидетельствует о промежуточном положении *R.canadensis* между кластером, включающим риккетсии сыпнотифозной группы (*R.prowazekii*, *R.typhi*), и другим кластером, включающим риккетсии группы КПЛ. Используя праймеры, амплифицирующие 532 первых основания, и ферментативное расщепление с помощью эндонуклеаз Pst 1 и Rsa 1, можно дифференцировать все изученные риккетсии группы КПЛ, за исключением *R.africae* и *R.parkeri*.

В последнее время всё более широкое применение для изучения риккетсий находит метод сравнения нуклеотидных последовательностей продуктов ПЦР-амплификации.

Факторы патогенности

Риккетсии — экологически особая группа облигатных внутриклеточных прокариотических микроорганизмов, имеющих ряд отличий от классических бактерий в паразито-хозяйинных отношениях. Среди них эндоцитобиоз в эукариотических клетках позвоночных животных и членистоногих переносчиков, отсутствие чётких критериев патогенности и классических эндотоксинов. Риккетсии (кроме *R.prowazekii*) — возбудители природноочаговых зоонозов, для которых эпидемический процесс является лишь проекцией эпизоотической активности природных очагов, а человек является случайным звеном в цепи циркуляции возбудителя. Патогенность для человека не является значимым признаком для сохранения возбудителей природноочаговых инфекций как видов. Наряду с патогенными для человека видами риккетсий имеется целый ряд условно-патогенных видов или видов с неустановленной патогенностью. К настоящему времени отсутствует систематизированный анализ факторов, обуславливающих отличия различных видов риккетсий по патогенности.

У риккетсий описана микрокапсула, с наличием которой связывают так называемый механизм «реактивации» риккетсий (восстановления вирулентности штаммов под влиянием повышения температуры и питания клещей кровью). Во взаимодействии риккетсий с эукариотическими клетками придаётся значение фосфолипазе А2 и адгезинам риккетсий, которыми являются поверхно-

стные белки *rOmpA* (имеют значение преимущественно для риккетсий группы КПЛ) и *OmpB* (для риккетсий группы СТ и ориенций), а также активной подвижности патогенных риккетсий, связанной с наличием актиновых хвостов. Риккетсии имеют субстанции, обладающие токсическими свойствами, в том числе липополисахарид, фосфолипидные фракции, специфический набор жирных кислот, однако токсичность риккетсий и их пирогенное действие связано преимущественно с поражением риккетсиями эндотелиальных клеток сосудистого русла. Риккетсии обладают гемолитическими свойствами в отношении эритроцитов кролика и барана, гемагглютинином. Риккетсии имеют также аллергенные субстанции, входящие в состав растворимых антигенных фракций, с которыми связано формирование клеточного иммунитета (гиперчувствительности замедленного типа).

Устойчивость к факторам внешней среды

Риккетсии малоустойчивы к нагреванию. Быстро инактивируются даже при 56 °С (не более 30 минут), при 80 °С — в течение 1 минуты, при кипячении — практически мгновенно. Риккетсии нестабильны, когда отделены от компонентов клеток хозяина. Они более стабильны в средах с белками молока, альбумином плазмы, сахарозой, фосфатом калия, глутаматом, что используется при лиофильном высушивании культур. Риккетсии инактивируются различными дезинфицирующими средствами: 0,5 %-ным раствором формалина — в течение 30 минут, 0,5 %-ным раствором фенола. Быстро погибают под действием жирорастворителей (спирта, эфира, хлороформа).

Будучи облигатными внутриклеточными паразитами, риккетсии, тем не менее, хорошо адаптированы к окружающим условиям. Наиболее длительно риккетсии сохраняются в высушенном состоянии и при низких температурах. Яичные культуры риккетсий в лиофилизированном состоянии при температуре +4 °С можно сохранять в течение нескольких лет, наиболее эффективно хранение риккетсиальных культур при низких температурах (лучше при –70 С в низкотемпературном холодильнике или в жидком азоте в сосудах Дьюара). Вместе с тем, риккетсии Провачека длительно сохраняются в экскрементах переносчика (платяных вшей) при

комнатной температуре (до 233 дней). Длительное сохранение риккетсий группы КПЛ в клещах и, особенно, риккетсий Провачека в фекалиях вшей может иметь значение в заражении людей путём контаминации содержащих риккетсии фекалий переносчиков при расчёсах или (реже) аэрогенным путём.

1.3. Клиническое проявление, иммунитет и эпидемиология в связи с особенностями инфекционного процесса

Заражение людей риккетсиями группы КПЛ обусловлено присасыванием клещей-переносчиков определённых видов. Во входных воротах (на месте присасывания) при большинстве риккетсиозов группы КПЛ (кроме пятнистой лихорадки Скалистых гор) происходит размножение возбудителя в эпителиальных клетках с формированием «первичного аффекта». Далее риккетсии распространяются лимфогенно, что может сопровождаться лимфангоитом и регионарным лимфаденитом. Дальнейшее гематогенное распространение возбудителя сопровождается генерализованным поражением эндотелия сосудов, в том числе формированием различной выраженности эндоваскулитов и тромбангиитов в сосочковом слое кожи (сыпь).

Патологический процесс при риккетсиозах обусловлен размножением риккетсий в клетках-мишенях (главным образом, в эндотелиальных клетках кровеносных сосудов, особенно мелких) и сосудорасширяющим действием токсических субстанций, что вызывает значительные изменения центральной нервной системы и расстройства кровообращения. Имеет место поражение сосудистого аппарата, преимущественно прекапилляров, капилляров и артериол с развитием десквамативно-пролиферативного тромбоваскулита и образованием специфических гранул в местах паразитирования риккетсий. Этот процесс проявляется постепенным, по мере внутриклеточного размножения риккетсий и гибели инфицированных клеток, развитием инфекционно-токсического синдрома. По образ-

ному выражению К. М. Лобана с соавторами (Лобан К. М., Лобзин Ю. В., Лукин Е. П., 2002), «площадь, занимаемая выстилающими сосуды человека и животных эндотелиоцитами, можно представить как “идеальный” монослой клеточной культуры в автономном режиме саморегуляции и питания».

Высказывается мнение о возможности не только длительной персистенции риккетсий в организме переболевшего, но и, с учётом ангиотропизма риккетсий, развития различной сердечно-сосудистой патологии, через годы после перенесённого риккетсиоза. Для некоторых риккетсиозов характерно возникновение рецидивов инфекции, особенно для *R. prowazekii* (болезнь Брилля-Цинссера — рецидив сыпного тифа через месяцы, годы после перенесённого сыпного тифа).

Риккетсии осуществляют специфический лигандно-рецепторный контакт с плазматическими мембранами различных по функциям клеток: эритроцитами, клетками млекопитающих и человека, не являющихся профессиональными фагоцитами (прежде всего эндотелиальными клетками сосудов), а также фагоцитирующими клетками (Walker D., 1988).

Взаимодействие риккетсий с непрофессиональными фагоцитами осуществляется в два основных этапа: индукции фагоцитоза и лизиса плазматической мембраны эукариотической клетки при метаболической активности, как микроорганизма, так и клетки хозяина. В процессе принимает участие фосфолипаза А₂ и холестеринсодержащие рецепторы клетки. Эндоцитированные риккетсии оказываются в фагосоме. Риккетсии обладают способностью разрушать фагосому до её слияния с лизосомой и тем самым избегают воздействия защитного механизма клетки, соответственно являются цитоплазматическими паразитами. На ранних стадиях заболевания макрофаги также колонизируются риккетсиями и участвуют в распространении возбудителя, размножение риккетсий в макрофагах тормозится антителами и интерферонами.

Основные нозологические формы

В инфекционной патологии человека основное значение имеют риккетсии группы сыпного тифа (*R. prowazekii* — возбудитель сыпного тифа и *R. typhi* — возбудитель крысиного сыпного тифа) и

группы клещевой пятнистой лихорадки (КПЛ): *R.rickettsii* — возбудитель пятнистой лихорадки Скалистых гор (в Америке), *R.conorii* — возбудитель марсельской лихорадки (преимущественно в Средиземноморском регионе, а также в бассейнах Черного и Каспийского морей), *R.sibirica* — возбудитель клещевого риккетсиоза или клещевого сыпного тифа (Северная и Центральная Азия, включая регионы юга Сибири и Дальнего Востока), *R.akari* — возбудитель осповидного (везикулезного) риккетсиоза, *R.australis* — возбудитель австралийского риккетсиоза, *R.japonica* — возбудитель японской клещевой пятнистой лихорадки.

Сыпной тиф — антропоноз, при котором циркуляция возбудителя *Rickettsia prowazekii* происходит в паразитарной системе, включающей человека (резервуар) и платяную вошь-переносчика. В организме вши риккетсии размножаются в эпителии кишечника, вызывая его разрушение (несовершенная адаптация) и гибель инфицированных переносчиков. Риккетсии в высоких концентрациях содержатся в фекалиях вшей. Платяная вошь покидает больного хозяина при сыпнотифозной лихорадке и переходит к новому хозяину, что определяет её роль как переносчика. Механизм передачи — трансмиссивный (контаминация инфицированных фекалий вшей при расчёсах). Следовательно, эпидемическая цепь при сыпном тифе: больной человек → вошь → здоровый человек.

Исторически эпидемический сыпной тиф — одна из наиболее важных эпидемических инфекций, получавших наибольшее распространение в период войн, других социальных и природных потрясений (т. е. на фоне увеличения вшивости населения). Кроме этого, с *R.prowazekii* связана болезнь Брилля-Цинссера — рецидив эпидемического сыпного тифа, возникающий у переболевших через месяцы — десятки лет (эндогенная реактивация возбудителя). В соответствующей обстановке больной болезнью Брилля может явиться исходным звеном эпидемической цепи вспышки сыпного тифа. Клинически острая инфекция носит циклический характер после инкубационного периода, длящегося в среднем 10–12 дней. Она проявляется длительной лихорадкой, вначале постоянной, далее чаще ремитирующего характера, появлением в разгар заболевания розеолёзной, далее розеолёзно-петехиальной или при более лёгком течении розеолёзно-папулёзной сыпи, резкими изменениями нерв-

ной (до менингоэнцефалита) и сердечно-сосудистой систем, тифозным статусом, наличием ряда осложнений.

Болезнь Брилля возникает у ранее переболевших лиц как рецидив эндогенной инфекции. Клиническая картина аналогична таковой при острой форме, но клинические проявления менее выражены, существенные осложнения обычно отсутствуют.

Для диагностики применяют преимущественно серологические методы (РА, РСК, РНГА, РНИФ, ИФА); выделение возбудителя можно проводить только в специализированных риккетсиологических лабораториях (2-я группа патогенности). Для исследования переносчиков можно применять методы экспресс-диагностики: метод флюоресцирующих антител (МФА), РНГА с иммуноглобулиновым диагностикумом для выявления риккетсий группы сыпного тифа. Препараты для этих методов выпускают в Пермском филиале НПО «Микроген». ДНК возбудителя можно выявлять в ПЦР с последующей идентификацией путём определения нуклеотидных последовательностей ампликона.

В настоящее время выявляют преимущественно спорадические случаи болезни Брилля, вспышки возможны при наличии у больного болезнью Брилля и в его окружении платяных вшей (педикулеза).

Эндемический (крысиный или блошиный) сыпной тиф вызывается возбудителем *R.typhi*, относящимся к группе сыпного тифа, и передаётся человеку через эктопаразитов (преимущественно блох, гамазовых клещей), при контакте с грызунами (крысы, мыши). Возникает острая циклическая инфекция с клинической картиной, мало отличимой от болезни Брилля, с появлением розеолёзно-папулёзной сыпи. В отличие от сыпного тифа и болезни Брилля течение относительно доброкачественное, а сыпь локализуется на различных участках тела, в том числе на лице, ладонях, стопах и подошвах.

Инфекция распространена преимущественно в прибрежных зонах теплых и жарких поясов в Северной и Южной Америке, в Африке, Юго-Восточной Азии и в Австралии, бассейнах Средиземного, Чёрного и Каспийского морей, в Закавказье. Человек может заразиться трансмиссивным, алиментарным или аэрогенным путём. У переболевших лиц развивается стойкий антитоксический

и антиинфекционный гомологичный иммунитет и менее продолжительный перекрестный иммунитет с сыпным тифом. Необходима дифференциация от сыпного тифа, особенно с учётом образования группоспецифических антител. При лабораторной диагностике титры антител в РСК к риккетсиям тифи (Музера) должны превышать титры антител к риккетсиям Провачека в 4–8 раз, минимальный диагностический титр при однократном исследовании 1:160, в связи с длительным (годы) выявлением антител к риккетсиям группы сыпного тифа необходимо исследование парных сывороток в динамике инфекционного процесса.

Возбудителем **клещевого риккетсиоза** является *Rickettsia sibirica* из группы клещевых пятнистых лихорадок. В настоящее время выделяют три подвида: *R.sibirica* — *R.sibirica subsp. sibirica*, *R.sibirica subsp. BJ-90*, *R.sibirica subsp. mongolotimoniae*. На территории России доказано наличие первых двух подвигов, причём *R.sibirica subsp. BJ-90* — только на Дальнем Востоке. Доказанные случаи КР в РФ связаны только с *R.sibirica subsp. sibirica*. В последние годы на Дальнем Востоке России О. Ю. Медяниковым с соавторами доказано наличие случаев заболеваний, клинически напоминающих КР, этиологическим агентом которых является *R.heilongjiangensis*, а основным переносчиком — клещи *H.concinna*. Случаи заболеваний выявляют преимущественно на юге Хабаровского края, характерна летняя сезонность заболеваний.

Клещевой риккетсиоз — облигатно-трансмиссивная природно-очаговая инфекция, передаваемая человеку клещами преимущественно из родов *Dermacentor* (*D.nuttalli*, *D.silvarum*, *D.marginatus*, *D.reticulatus*) и *Haemaphysalis* (*H.concinna*). Природные очаги распространены в Сибири и на Дальнем Востоке России, в Казахстане, Монголии, Китае (Лысковцев М. М., 1963; Рудаков Н.В., 2001; Рудаков Н. В. и др., 2012). Наиболее эпидемически активны горно-степные очаги с переносчиком *D.nuttalli* и лесостепные очаги с переносчиками *D.nuttalli*, *D.silvarum*, *D.marginatus*, *D.reticulatus*. Более 80 % заболеваний приходится на Алтайский и Красноярский края. Механизм передачи — трансмиссивный (инокуляция при присасывании переносчика с инфицированной слюной). Клинически заболевание проявляется лихорадкой, первичным аффектом на месте присасывания клеща, регионарным лимфаденитом, розеолёз-

но-папулёзной полиморфной сыпью, относительной доброкачественностью течения. В отличие от сыпного тифа поражаются преимущественно сосуды кожи, а не головного мозга, деструкция эндотелиальных клеток сосудов менее выражена. В типичных случаях диагноз можно ставить клинически, из лабораторных методов чаще применяют РСК со специфическим антигеном.

Марсельская (средиземноморская) лихорадка — риккетсиоз из группы КПЛ, клиническая картина которого в целом схожа с клиникой других риккетсиозов этой группы (Лобан К. М., Лобзин Ю. В., Лукин Е. П., 2002). Характерны относительная доброкачественность течения, появление пятнистой сыпи на ладонях и подошвах и чёрных пятен, образующихся обычно в месте присасывания клеща (первичный аффект). *R. conorii* (возбудитель марсельской лихорадки) экологически связан преимущественно с собачьими клещами *Rhipicephalus sanguineus*, различные фазы развития которых питаются на мелких млекопитающих, ежах, зайцах и собаках. Эпидемиологическое значение имеет контакт с собаками, присасывание клещей (дворовые, синантропные очаги). Возможно заражение при раздавливании клещей, в том числе в некоторых случаях не исключается и аэрогенное инфицирование. Марсельская лихорадка распространена преимущественно в Средиземноморском регионе, а также в бассейнах Чёрного и Каспийского морей, в Африке, в Индии и Пакистане. В Африке возбудитель связан с различными видами клещей родов *Hyalomma* (*H. aegyptium*), *Haemophysalis* (*H. leachi*), *Rhipicephalus* (*R. appendiculatus*, *R. evertsi*, *R. simus*), *Amblyomma* (*A. hebraeum*). Отмечены генетические и антигенные отличия возбудителя в пределах генокомплекса *R. conorii*, а также определённые особенности клинического течения вызываемых *R. conorii* в различных регионах пятнистых лихорадок. В связи с этим дискутируется вопрос о выделении отдельных нозологических форм и вызывающих их возбудителей *R. conorii* комплекса (*R. conorii* subsp. *sharoni* — возбудитель Израильской пятнистой лихорадки, *R. conorii* subsp. *caspiensis* — возбудитель Астраханской пятнистой лихорадки, *R. conorii* subsp. *Indian Tick Typhus* — возбудитель Индийского клещевого тифа).

Астраханская пятнистая лихорадка вызывается риккетсией, относящейся к генокомплексу *R. conorii* из группы КПЛ, *R. conorii subsp. caspiensis*. Анализ белкового и антигенного состава штаммов возбудителя АПЛ, их генетических характеристик показал наличие ряда отличий от других представителей этого генокомплекса, которые можно использовать для его идентификации.

Переносчиками возбудителя АПЛ являются иксодовые клещи *Rhipicephalus pumilio*, паразитирующие на различных животных (в том числе на собаках, кошках, ежах). Имаго и особенно нимфы этих иксодид способны присасываться к человеку и передавать возбудителя с пиком заболеваемости в июле – августе. Клинически существенных отличий от марсельской лихорадки не отмечено, преобладают формы средней тяжести, лихорадка, выраженный токсикоз, первичный эффект выявлялся редко и с трудом, отмечается выраженная пятнисто-розеолёзно-папулёзная или геморрагическая сыпь. Для лабораторной диагностики могут быть использованы различные серологические реакции (РСК, РНИФ, ИФА), предпочтительной является РНИФ с высокоочищенными корпускулярными антигенами из штаммов риккетсий АПЛ («антигенными пятнами») при начальном разведении сывороток крови 1:40. Очаги эпидемически активны преимущественно в Астраханской области, их существование выявлено на смежных территориях юга России (Калмыкия, Волгоградская область) и западной части Казахстана (Тарасевич И. В., 2002).

Ориенции и лихорадка цуцугамуши. *Orientia* — отдельный род семейства *Rickettsiaceae*, который по ранее существовавшей таксономии входил в род *Rickettsia* на правах (серо)группы. Однако в последние годы установлено, что ориенции имеют ряд отличий от представителей рода *Rickettsia*. Эти плеоморфные граммотрицательные микроорганизмы имеют форму коротких палочек, часто — диплобацилл. Характерно околядерное расположение в цитоплазме эукариотических клеток. В связи с малой устойчивостью отдают фуксин при принятых в риккетсиологии методах окраски (Здродовского, Маккиавелло, Романовского-Гимза). В мазках, окрашенных по методу Романовского–Гимза, ориенции приобретают грубую тёмно-пурпурную окраску, плохо отличимую от цвета окружающих тканей. Наиболее пригоден для световой микроскопии метод Гиме-

неса, при котором ориенции окрашены в тёмно-розовый цвет и дифференцируются малахитовым зелёным от окружающих тканей (Кулагин С. М., Тарасевич И. В., 1972). Наружная мембрана *Orientia tsutsugamushi* толще внутренней, в отличие от риккетсий. У ориенций отсутствует липополисахарид и пептидогликан и их основные компоненты, такие как муреиновые кислоты, глюкозамин, жирные кислоты, 2-кето-3-деоксиоктоновая кислота. Отсутствие пептидогликана объясняет нестойкость и низкую механическую резистентность ориенций, а также их очень высокую устойчивость к пенициллину.

Отмечена выраженная генетическая и антигенная гетерогенность возбудителя, наличие как минимум трёх основных типов: Giliam, Karp, Kato. Кроме них, выявлены антигенные типы Shimokoshi, Kawasaki, Kuroki. Антигенная гетерогенность в наибольшей степени связана с вариабельностью доминантного поверхностного белка 56 КД. Считается, что штаммы антигенных типов ориенций по антигенной структуре отличаются больше, чем *R. prowazekii* от *R. typhi*. Ориенции имеют видоспецифический и не менее трёх типоспецифических антигенов. Протективный иммунитет формируется преимущественно к типоспецифическому антигену, нестойкий и непродолжительный, вследствие чего могут быть повторные заболевания. Ориенции не имеют антигенных связей с риккетсиями групп СТ и КПЛ. Имеются общие антигенные детерминанты с *Proteus mirabilis* ОКК, выявляемые в реакции Вейля-Феликса. Специфическая серодиагностика затруднительна в связи со сложной антигенной структурой и необходимостью использования антигенов из всех основных антигенных типов возбудителя. Используют РСК, РНИФ и ИФА с определением титров антител в динамике инфекционного процесса с использованием антигенов, приготовленных из различных типов возбудителя.

Протеиновый профиль, выявляемый SDS — PAGE (солевым додецил-сульфатным полиакриламидным гелевым электрофорезом), существенно отличается от видов рода *Rickettsia*. Основной белок 56КД находится на клеточной поверхности, остальные мажорные белки — 60, 46, 43, 39, 28 и 25 КД, три из них — 25, 28 и 56 КД, являются термолабильными.

Анализ оснований ДНК выявил молекулярный % Г+Ц у ориенций в диапазоне 28,1–30,5 %, что эквивалентно риккетсиям группы СТ (29,0–30,3 %), несколько меньше, чем у риккетсий группы КПЛ (32,3–33,3 %) и существенно отличается от представителей *Bartonella* (38,5–39 %) и *Coxiella burnetii* (43,0 %). По данным пульсгелевого электрофореза размер генома ДНК риккетсий групп СТ и КПЛ составляет около 1200 Kbp, ориенции имеют циркулярную хромосому размерами от 2400 до 2700 Kbp, т. е. в два раза большую, чем у представителей рода *Rickettsia*. Это находит своё отражение и в несколько большей длине ориенций, что обуславливает их двукратный объём в сравнении с риккетсиями.

Возбудитель — *Orientia tsutsugamushi* — передаётся человеку в результате присасывания личинок краснотелковых клещей (Trombididae) и вызывает лихорадку цуцугамуши (другие названия: тропический тиф, тиф джунглей, кустарниковый тиф) — острую инфекцию, характеризующуюся наличием лихорадки, первичного аффекта, регионарного лимфаденита, лимфаденопатии и макулопапулёзной сыпи. Лихорадка цуцугамуши — природноочаговая инфекция, распространённая преимущественно в экваториальном, субэкваториальном и субтропическом климатическом поясах с высокой влажностью. Заболевание эндемично для стран юго-восточной Азии и юго-восточной части Тихого океана. Меньшая часть ареала, охватывающая территории Японии и Корейского полуострова, лежит в умеренном климатическом поясе. В России малоактивные очаги находятся на юге Приморского края, Сахалине и примыкающих к Японии островах.

Естественными хранителями возбудителя являются краснотелковые клещи родов *Leptotrombidium* (*L. akamushi*, *L. deliense*, *L. pallidum*, *L. scuttellaris*) и *Neotrombicula*, которые лишь на личиночной стадии является кровососущими и нападают на людей.

При постановке диагноза учитывают очаговость, эпидемиологический анамнез, наличие таких клинических проявлений, как первичный аффект, регионарный лимфаденит или лимфаденопатия, обильная розеолезно-папулёзная сыпь, брадикардия, гипотония и результаты серологических исследований. В случае необходимости проводят выделение возбудителя в биопробах из крови больных или личинок краснотелковых клещей. Для культивирования ис-

пользуют белых мышей, куриные эмбрионы, культуры клеток (лимфобласты, фибробласты, эпителиальные клетки почек).

Летальность варьирует от 1 до 30 % и более в разных географических районах. Для лечения лихорадки цуцугамуши наиболее приемлемы антибиотики тетрациклинового ряда.

***Coxiella burnetii* и лихорадка Ку.** Из представителей других родов, ранее относимых к риккетсиям, в патологии человека имеет значение *Coxiella burnetii* — возбудитель лихорадки Ку (в настоящее время относят к гамма-протеобактериям).

Свое название инфекция получила от первых букв (Qu) английского слова *query* (англ. — *неясный, неопределённый*), т. е. «лихорадка неясного генеза». Возбудитель — *Coxiella burnetii* — облигатный фаголизосомальный паразит эукариотических клеток, не размножающийся на питательных средах. *C. burnetii* культивируют в куриных эмбрионах, культурах клеток, в биопробах на различных лабораторных животных.

Выделяют фазовые вариации коксиилл, аналогично R- и S-формам бактерий. Возбудитель в фазе 1 и фазе 2 отличается по вирулентности, строению, иммуногенности и другим свойствам. В естественных условиях возбудитель находится в фазе 1, при культивировании в куриных эмбрионах при пассажах возбудитель переходит в фазу 2, утрачивая поверхностные структуры и в определённой мере вирулентность. Коксиеллы мельче риккетсий, способны образовывать инфраформы (менее 40 нм), легко проходящие через бактериальные фильтры, проявляют значительную устойчивость во внешней среде.

Лихорадка Ку — зооноз преимущественно сельскохозяйственных животных с длительным и самостоятельным характером существования очагов сельскохозяйственных животных как при бруцеллёзе (Рудаков Н. В., 1990; Рудаков Н. В., Фетисова Н. Ф., Сыскова Т. Г., 1994). Характеризуется множественностью источников (прежде всего пуховые козы, овцы, крупный рогатый скот, меньше — птицы) и факторов передачи инфекции (молоко, мясо, шкуры, вода, солома, пыль и др.). С наибольшей частотой заражение людей происходит прямо или опосредовано от сельскохозяйственных животных. Возбудитель в большом количестве содержится в плаценте и выделяется при родах (окоте, отеле) с околоплодной жидкостью,

с молоком, с экскрементами животных. Коксиеллами инфицируется шерсть и пух животных, среда их обитания. Возбудитель обладает очень высокой устойчивостью во внешней среде. Ведущее значение имеют аспирационный и контактный пути передачи, меньшее — алиментарный (Федорова Н. И., 1968). С учётом высокой устойчивости возбудителя особое значение при лихорадке Ку имеет пылевая инфекция.

Возбудитель характеризуется высокой экологической пластичностью и широким кругом позвоночных и беспозвоночных хозяев (сельскохозяйственные и дикие животные, иксодовые клещи). Для сохранения возбудителя определённое значение имеет метаксеноз — периодическая смена двух- и трёхчленных (при участии переносчика — иксодового клеща) циклов циркуляции (Балашов Ю. С. и Дайтер А. Б., 1973).

При векторной роли иксодовых клещей коксиеллы могут переходить из сельскохозяйственных очагов в природные станции и наоборот. Доказана инфицированность коксиеллами домашних животных (собаки, кошки, попугаи) и возможность передачи инфекции человеку.

Клинически лихорадка Ку многолика, часто проходит под масками других инфекций (лихорадка неясного генеза, грипп, ОРЗ, бруцеллёз и многие другие). Наиболее характерны острое начало, высокая температура, лихорадка длительностью около недели или больше, гипергидроз, головные, суставные и мышечные боли, гепато-лиенальный синдром, возможно развитие интерстициальной пневмонии, осложнения в виде тромбозов, панкреатита (Лобан К. М., Лобзин Ю. В., Лукин Е. П., 2002). Наряду с острой инфекцией возможны рецидивы, хроническое течение с развитием легочного эндокардита.

Разработана живая вакцина против лихорадки Ку, основные мероприятия проводятся по санации очагов лихорадки Ку среди сельскохозяйственных животных.

Для лабораторной диагностики применяют РСК и РНИФ с антигенами 1 и 2 фазы, ИФА. Для выявления возбудителя применяют методы экспресс-диагностики — МФА, ИФА. Экспериментально-производственные серии препаратов выпускают в Санкт-Петербургском НИИЭМ им. Пастера. Классические методы выде-

ления возбудителя с использованием биопробных животных (морские свинки, белые мыши) и куриных эмбрионов применяют в специализированных лабораториях (возбудитель относится ко второй группе патогенности).

У больных с острой формой лихорадки Ку преобладают антитела к антигену фазы 2, при формировании хронического течения выявляют антитела преимущественно к антигену фазы 1. Комплексы связывающие антитела выявляют, как правило, не ранее второй–третьей недели с начала заболевания, у части больных — позднее. Более эффективно применение для серодиагностики ИФА и РНИФ.

Особенности клинического и эпидемиологического проявления риккетсиозов

Иммунитет. У переболевших риккетсиозами лиц развивается стойкий антитоксический и антибактериальный иммунитет, при сыпном тифе он может быть нестерильным. При риккетсиозах группы КПЛ после перенесённой инфекции создаётся стойкий иммунитет не только к данному виду риккетсий, но и к другим возбудителям группы КПЛ.

При лихорадке цуцугамуши, в связи с выраженной гетерогенностью генетических и антигенных свойств возбудителя, иммунитет типоспецифический, нестойкий. Возможны повторные заболевания, связанные преимущественно с заражением другими серовариантами ориенций.

При риккетсиозах группы КПЛ и СТ, лихорадке цуцугамуши доказано наличие стёртых и бессимптомных форм инфекции, связанных как с гетерогенностью возбудителей, так и неодинаковой резистентностью населения, в том числе наличием популяционного иммунитета.

В развитии специфической невосприимчивости ведущее значение имеет клеточный иммунитет в виде гиперчувствительности замедленного типа, выявляемой с помощью внутрикожных аллергических проб (в настоящее время не применяют) или методов аллергодиагностики *in vitro* — реакции торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ), реакции бластной трансформации лимфоцитов

(РБТЛ) на специфические риккетсиальные аллергены (Рудаков Н. В. и др., 2012).

Эпидемиология. Эволюционно риккетсии связаны как с кровососущими, так и с некровососущими членистоногими. Некровососущие членистоногие являются, по-видимому, первичными хозяевами риккетсий-симбионтов (Балашов Ю. С., 1967; Балашов Ю. С. и Дайтер А. Б., 1973). В эпидемиологии большинства риккетсиозов определяющее значение имеет экология возбудителя и его связи с переносчиком.

Риккетсиозы группы КПЛ — классические природно-очаговые, передаваемые клещами, облигатно-трансмиссивные инфекции. Связь заболеваний с присасыванием иксодовых клещей определяют две основные эпидемиологические особенности этих инфекций: обязательный предшествующий контакт заболевших с природными очагами (определёнными местностями, ландшафтами, специфическими переносчиками) и их сезонность, соответствующая периоду активности клещей, чаще взрослых (имаго). Заражение происходит вследствие присасывания или раздавливания клещей (втирание содержимого в ранки, реже — аэрогенно). Большинство риккетсиозов группы КПЛ передаётся различными видами иксодовых клещей, возбудитель везикулезного (осповидного) риккетсиоза *R.akari* — гамазовыми клещами *Allodermanyssus sanguineus* — гнездоротовыми паразитами мышей и крыс.

В России в настоящее время регистрируют заболевания двумя риккетсиозами группы КПЛ: клещевым риккетсиозом (КР) и Астраханской пятнистой лихорадкой (АПЛ). Продолжающийся рост заболеваемости КР в России и сопредельных территориях позволяет отнести его к группе возвращающихся (reemerging, англ.) инфекций.

К настоящему времени получены данные, свидетельствующие о циркуляции на территориях России и Казахстана, по крайней мере, восьми видов риккетсий: *R.sibirica*, *R.slovaca*, *R.aeschlimanii*, *R.tarasevichiae*, *R.heilongjiangensis*, *R.raoultii* (геномны *R.sp.RpA4*, *R.sp.DnS14*, *R.sp.DnS28*), *R.conorii subsp.caspiensis*, *R.helvetic*a (Тарасевич И. В., 2002; Shrynov S. et al., 2004, 2006 a, b). Как на эндемичных по КР, так и территориях с отсутствием заболеваемости этой инфекцией преобладала не *R.sibirica*, а виды риккетсий группы

КПЛ с неизученной патогенностью. Необходимо отметить широкое распространение *R.tarasevichiae* в клещах *I.persulcatus* в различных частях их ареала, *R.raoultii* — в различных видах клещей, преимущественно *D.reticulatus* и *D.marginatus*. Генотип *R.sp.DnS28* выявлен в клещах *D.nuttalli*, а генотип *R.sp.DnS14* — в *D.silvarum*, *D.nuttalli* и *D.niveus*. *R.slovaca* выявлена в клещах *D.marginatus* в Ставропольском крае, Воронежской области, штамм этого вида риккетсий выделен в 1969 г. в Курганской области и недавно идентифицирован. Реальная роль новых риккетсиальных генотипов в инфекционной патологии требует уточнения.

Вероятная эволюция риккетсий группы СТ направлена от клещевых риккетсиозов через блошинные и гамазовые к антропонозу, передаваемому вшами (Рудаков Н. В., 2001). *R.canadensis* и *R.tarasevichae* из группы «предшественников» (т. е. до разделения на группы СТ и КПЛ) связаны с иксодовыми клещами, однако имеют антигенные связи с риккетсиями группы СТ, прежде всего *R.typhi*. Установлена возможность *R.canadensis* вызывать у человека цереброваскулиты.

R.felis, имеющая антигенные связи с риккетсиями групп СТ и по данным генетических исследований отнесённая к одной подгруппе с риккетсиями группы КПЛ *R.akari* и *R.ausrtalis*, экологически связана с кошками и дикими кошачьими, передаётся человеку через кошачьих блох *Ctenocephalides felis* и вызывает «тиф кошачьих блох».

Представитель группы СТ *R.typhi* — возбудитель эндемического (крысиного или блошиного) сыпного тифа экологически связан с эктопаразитами крыс и других грызунов, в том числе блохами (*Xenopsylla cheopis*), вшами (*Polyplax spinulosus*), гамазовыми клещами (*Ornitoryssus bacoti*). Эктопаразиты грызунов (блохи, вши, клещи) заражаются при кровососании на заражённых грызунах с накоплением риккетсий в их кишечниках (но не в слюнных железах) и выделением возбудителя с фекалиями. Механизм передачи риккетсий от заражённых блох через их экскременты человеку аналогичен механизму передачи риккетсий Провачека через вшей. Заражение людей *R.typhi* может происходить алиментарным, аспирационным и трансмиссивным путями и быть связано с инфицированием фекалиями блох, гамазовых клещей или вшей, мочой

грызунов. Возможна также передача через платяных вшей аналогично возбудителю эпидемического сыпного тифа (контаминация фекалиями).

На территории США описан отдельный природный цикл *R.prowazekii*, не связанный с человеком как хозяином и его моноксенным паразитом платяной вошью. В такой цикл вовлечены белки-летяги *Glaucomys volans* и беличьи вши *Neohaematopinus sciuropteri*. Белки являются хозяевами многочисленных видов эктопаразитов гнездо-норового комплекса (клещи, блохи, вши), однако именно беличьи вши являются специфическим переносчиком возбудителя СТ и могут передавать его не только белкам, но и человеку. В условиях природного цикла отмечена высокая адаптация, как теплокровного хозяина (белки-летяги), так и их эктопаразитов (вши, блохи) к *R.prowazekii*, что свидетельствует о длительной сопряжённой эволюции в условиях данной паразитарной системы. В условиях очага осенью и ранней весной инфицируется до 40 % белок без выраженной заболеваемости или смертности. Риккетсии не оказывают выраженного патогенного действия и на эктопаразитов белок, в отличие от действия *R.prowazekii* на переносчика эпидемического сыпного тифа — платяную вошь, приводящего к 100 % гибели инфицированной популяции переносчика (несовершенная адаптация).

Эпидемический сыпной тиф представляет антропоноз, при котором источником возбудителя всегда является больной человек. *R.prowazekii* может персистировать только в организме человека, переболевшие люди в эпидемиологическом аспекте представляют собой «сыпнотифозный потенциал». Платяная вошь является лишь переносчиком с несовершенной адаптацией к *R.prowazekii* и не может сохранять этого возбудителя в своей популяции без участия сыпнотифозного больного (носителя). В организме вшей (преимущественно платяных) риккетсии размножаются в эпителиальных клетках кишечника с набуханием и отслоением инфицированных клеток вплоть до нарушения анатомической целостности пищеварительного тракта, что закономерно приводит к гибели переносчика. В слюнных железах и слюне вшей риккетсий не содержится. Заражение человека происходит путём втирания инфицированных экскрементов вшей при расчёсах, реже — при вдыхании аэрозолей

с высохшими фекалиями переносчика. В современных условиях отмечают преимущественно болезнь Брилля-Цинссера — рецидивный сыпной тиф у ранее переболевших (длительная персистенция возбудителя в организме хозяина). Эпидемические вспышки сыпного тифа возможны при наличии источника (больного сыпным тифом или болезнью Брилля-Цинссера) и педикулёза (прежде всего платяных вшей) у больного и в его окружении. По мере ликвидации эпидемического сыпного тифа и естественных демографических процессов сокращения численности людей, ранее переболевших сыпным тифом, вероятность появления случаев болезни Брилля сокращается, что находит своё отражение в резком сокращении регистрируемой заболеваемости.

1.4. Лабораторная диагностика

Микробиологическая диагностика риккетсиозов

Лабораторная диагностика сыпного тифа и других риккетсиозов включает выделение возбудителя, определение его антигенов и ДНК, выявление антител к риккетсиям соответствующих видов, чаще осуществляется с использованием серологических (РСК, РНГА, РНИФ, ИФА) и молекулярно-генетических (ПЦР, определение нуклеотидных последовательностей фрагментов генов) методов.

Выделение возбудителей риккетсиозов от больных наиболее эффективно в острый лихорадочный период, до начала антибиотикотерапии. Основные риккетсиологические методы включают заражение, чаще интраперитонеальное, чувствительных животных (морские свинки, хомячки, хлопковые и белые крысы, белые мыши), развивающихся куриных эмбрионов (в желточный мешок по Коксу), перевиваемых культур клеток (Vero, HeLa, Hep-2, L929), клеток членистоногих.

Животным и при заражении куриных эмбрионов вводят дефибринированную кровь или суспензию растёртых на физиологическом растворе сгустков крови, биопсийного материала кожи, а также других тканей больного в зависимости от формы поражений.

При заражении клеточных культур используют плазму, гепаринизированную (или обработанную ЭДТА) кровь, биопсийный материал. Целесообразно выделение возбудителя не только от больного, но и из переносчиков (клещи, блохи, вши).

Эффективно риккетсиологическое обследование снятых с человека переносчиков классическими (выделение возбудителя) и экспресс-методами (метод флюоресцирующих антител, ИФА, РНГА с иммуноглобулиновыми диагностикумами для выявления антигенов риккетсий групп СТ и КПЛ).

Для биопроб используют молодых, весом 300–350 г морских свинок-самцов. Заражение проводят внутрибрюшинным введением 3–5 мл крови или 10 %-ных суспензий материалов, содержащих риккетсии (сгустки крови и органы человека и животных, членистоногие) двум-трём животным. У животных ежедневно измеряют ректальную температуру. После инкубационного периода от нескольких дней до нескольких недель у морских свинок развиваются различные формы экспериментальных риккетсиозов (лихорадочные, лихорадочно-скротальные, бессимптомные). При заражении *R.rickettsii*, реже *O.tsutsugamushi* и *C.burnetii*, у морских свинок может возникать летальная инфекция. Наиболее характерным для риккетсиозов проявлением экспериментальной инфекции у морских свинок-самцов при внутрибрюшинном заражении является скротальный феномен-периорхит с накоплением риккетсий во влажных оболочках яичка. В ряде случаев может возникать специфический перитонит, риккетсии накапливаются в эндотелиальных клетках кровеносных сосудов различных органов и тканей (тестикулы, мозг, селезёнка, надпочечники). Животных вскрывают на высоте лихорадки, одно из биопробных животных оставляют для серологического исследования (как правило, через 3–4 недели после заражения).

При всех формах инфекционного процесса у биопробных животных выявляют антитела к антигенам риккетсий в различных серологических реакциях (РА, РСК, РНИФ, ИФА). Используют цельно-растворимые и корпускулярные антигены из штаммов различных видов риккетсий. В большинстве серологических реакций отмечается выраженная перекрёстная реактивность внутри групп (СТ и КПЛ). Для анализа антигенной структуры риккетсий чаще

используют гипоиммунные сыворотки белых мышей и корпускулярные антигены.

При пассажах штаммов риккетсий на морских свинках наиболее часто используют 10 %-ные суспензии головного мозга и яичек, в ряде случаев также селезёнок, надпочечников, реже — печени и почек (лихорадка Ку, крысиный сыпной тиф). При лихорадке цуцугамуши, крысином и осповидном риккетсиозах, лихорадке Ку для изоляции возбудителя можно применять белых мышей. Их заражают внутрибрюшинно 10 %-ными суспензиями риккетсиальных материалов в объёме 0,5 мл. Летальность у мышей чаще отмечают при заражении *O.tsutsugamushi*, *R.akari*, реже — *R.typhi*.

При подкожном заражении морских свинок и белых мышей *Coxiella burnetii* характерно образование подкожного инфильтрата на месте введения с накоплением кокциелл. В ряде случаев при экспериментальных риккетсиозах воспроизводят тестикулярные, легочные, перитонеальные и глазные формы инфекционного процесса.

Культивирование в желточных мешках развивающихся куриных эмбрионов более эффективно для накопления риккетсий, по сравнению с биопробными животными. Однако первичное выделение штаммов риккетсий на куриных эмбрионах проводят редко в связи с высокой вероятностью контаминации посторонней микрофлорой, преимущественно для выделения гемокультур. Обычно куриные эмбрионы при выделении штаммов заражают пассажным материалом от заражённых лабораторных животных (чаще суспензии тестикул, селезёнок, головного мозга).

По результатам овоскопии для заражения отбирают нормально развившиеся куриные эмбрионы с характерным сосудистым рисунком. Заражение проводят с соблюдением строгих асептических условий в специальном стерильном боксе. После дезинфекции спиртом, затем йодной настойкой с последующей обработкой смоченной спиртом поверхности куриного яйца пламенем через пробуренное в скорлупе отверстие над вершиной воздушной камеры проводят заражение риккетсиальной суспензией в объёме до 0,5 мл проколом в полость желточного мешка. Отверстие в скорлупе герметизируют расплавленным стерильным парафином. Для контроля на стерильность суспензии для заражения параллельно высевают

на специальные среды (сахарный бульон, тиогликолевая среда, среды для выявления контаминации микоплазмами).

Для культивирования риккетсий группы КПЛ используют 4–5-суточные эмбрионы, для риккетсий группы сыпного тифа и ориенций — 6–7-суточные, для коксиелл Бернета — 7–8-суточные. Заражённые яйца помещают в термостат при влажности 45–60 % и инкубируют при оптимальной для каждой группы риккетсий температуре до специфической массовой гибели эмбрионов. Оптимальной температурой для накопления риккетсий группы сыпного тифа, ориенций и *R. akari* является +35 °С, риккетсий группы клещевых пятнистых лихорадок — +33 °С.

При культивировании учитывают сроки гибели заражённых эмбрионов, видимые изменения (геморрагические поражения), интенсивность накопления риккетсий. Погибшие в течение 3 суток после заражения эмбрионы отбраковывают (неспецифические проявления, чаще травматическая гибель). При дальнейшей ежедневной овоскопии отбирают для вскрытия погибшие эмбрионы (отсутствие подвижности эмбрионов, утрата сосудистого узора). Куриные эмбрионы вскрывают в стерильных условиях, извлекают желточные мешки, которые и используют для дальнейших пассажей. Параллельно делают мазки из сосудов желточного мешка для световой и люминесцентной микроскопии (определение накопления риккетсий, контаминации посторонней микрофлорой).

Гибель эмбрионов при культивировании риккетсий группы сыпного тифа наступает в более поздние сроки (6–10 сутки после заражения, иногда и позже), чем риккетсий группы КПЛ (4–6 сутки), сопровождается более интенсивным накоплением риккетсий при менее выраженных изменениях геморрагического характера. Заражение куриных эмбрионов коксиеллами Бернета вызывает относительно позднюю гибель эмбрионов (6–8 сутки) при интенсивном размножении возбудителя без выраженных изменений самого эмбриона.

Для культивирования риккетсий могут быть использованы как первично трипсинизированные, так и перевиваемые культуры клеток. Большинство видов риккетсий размножаются в культурах клеток почечного эпителия, мезотелия, перевиваемых линиях клеток Vero, HeLa, Hep-2, L929. Коксиеллы Бернета хорошо размножаются

также в культурах фибробластов куриного эмбриона и морских свинок, макрофагов и ретикулярных клеток костного мозга и селезёнки. Получены данные о возможности культивирования на культурах клеток Vero и Нер-2 риккетсий, не культивируемых на традиционных моделях — морских свинках и куриных эмбрионах (*R. tarasevichiae*, риккетсии подгруппы *R. massiliae*).

Для пассирования культуры клеток подвергают версенизации по стандартной методике. Культуры клеток Vero и Нер-2 выращивают в стеклянных флаконах, засев проводят в концентрации 150 тыс. клеток на 1 мл. В качестве питательной среды используют среду Игла MEM с двойным набором аминокислот, к общему объёму добавляют до 10 % эмбриональной сыворотки. Подготовленные флаконы заражают 10 %-ной риккетсиальной суспензией в объёме 0,5 мл на флакон. Заражённые флаконы центрифугируют при 800 об/мин при температуре +22 °С в течение 30 мин, после центрифугирования во все флаконы добавляют среду поддержки (Игла MEM с добавлением эмбриональной сыворотки до 1 %) в объёме 1,5 мл на флакон. Флаконы с заражёнными клетками культивируют в углекислотном термостате при температуре 35,6 °С в течение 8 суток. После завершения инкубации все флаконы подвергают замораживанию в низкотемпературном холодильнике на –20 °С, а потом оттаиванию, для разрушения клеток и максимального выхода из них микроорганизмов. После оттаивания материал центрифугируют 10 минут при 3000 об/мин, супернатант в объёме 0,5 мл берут на следующий пассаж, а из 0,2 мл делают мазки. Остатки супернатанта хранят в криопробирках в низкотемпературном холодильнике. Инфицированность и стерильность культуры клеток определяют в мазках, окрашивая их по Романовскому-Гимза и методом флюоресцирующих антител. Отсутствие посторонней микрофлоры в пассажах контролируется также посевом на питательные среды (сахарный бульон, тиогликолевая среда, среда Сабуро, среды для культивирования микоплазм).

Развитие инфекции в клеточных культурах у различных видов родов *Rickettsia* и *Orientia* отличается. Для риккетсий Провачека и ориенций цуцугамуши характерно накопление микроорганизмов в больших количествах в отдельных клетках. Дегенеративные изменения клеток вследствие перепроизводства возбудителя

сопровождаются их разрывом и освобождением микроорганизмов с распространением инфекции на соседние клетки.

У риккетсий группы КПЛ накопление возбудителя в отдельных клетках не сопровождается их переполнением, риккетсии ещё на ранней стадии выходят из клеток без существенных их повреждений с быстрым распространением инфекции клеточной культуры. Дегенеративные изменения клеток обусловлены преимущественно токсическим действием риккетсий.

Методы выделения и последующей идентификации риккетсий требуют специальной подготовки, соблюдения режимных требований (возбудители второй-третьей группы патогенности). К возбудителям второй группы патогенности относят *R.prowazekii*, *Coxiella burnetii*, *R.rickettsii*. Их культивирование можно осуществлять в специализированных риккетсиологических лабораториях или лабораториях особо опасных инфекций, что ограничивает возможности использования методов выделения риккетсий в диагностических целях.

При изучении штаммов риккетсий придерживаются общей схемы дифференциации, предложенной П. Ф. Здродовским и Е. М. Голиневич (1972), которая включает:

- а) изучение морфологии;
- б) характеристику размножения при культивировании в желточных мешках куриных эмбрионов;
- в) воспроизведение экспериментальной инфекции на лабораторных животных;
- г) иммунологическую характеристику в опытах перекрёстного иммунитета;
- д) серологический анализ антигенной структуры.

В последние годы выявлен ряд новых риккетсий, не культивируемых на традиционных риккетсиологических моделях (лабораторные животные, куриные эмбрионы). Для их культивирования использована клещевая экспериментальная модель (воспроизведение естественного цикла развития иксодид) и длительно культивируемые линии клеток млекопитающих (Vero, Нер-2) и иксодовых клещей.

Для группоспецифической идентификации риккетсий группы КПЛ можно использовать РСК с сыворотками крови биопробных

морских свинок и цельно-растворимыми антигенами оригинальных штаммов риккетсий и музейных штаммов известных видов. Дифференциация риккетсий группы клещевой пятнистой лихорадки (КПЛ) ранее базировалась преимущественно на учёте их токсических свойств, а также использовании корпускулярных антигенов и иммунных мышинных сывороток для идентификации риккетсий.

Можно использовать метод флюоресцирующих антител с мазками-отпечатками желточных мешков куриных эмбрионов, ИФА и РНГА с иммуноглобулиновым диагностикумом для выявления риккетсий группы КПЛ и сыпного тифа производства Пермского филиала НПО «Микроген».

Дальнейшая идентификация проводится в перекрёстной РСК с сыворотками мышей СВА и набором антигенов риккетсий, в реакции непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ) с моноклональными антителами к риккетсиям, а также с помощью молекулярно-биологических методов (рестрикционный анализ ДНК, полимеразная цепная реакция с использованием праймеров области гена цитратсинтазы и белкового антигена 190 кДа с последующим определением нуклеотидных последовательностей амплифицированных фрагментов ДНК и др.).

Серологическая диагностика

У риккетсий и ориенций выявлено наличие перекрёстно реагирующих эпитопов с протеями. Реакция агглютинации Вейля-Феликса с протеями была первым тестом, использованным для серодиагностики риккетсиозов. Антигены из клеточных стенок *Proteus vulgaris* ОХ-2 реагируют в реакции агглютинации с сыворотками больных риккетсиозами группы КПЛ, за исключением пятнистой лихорадки Скалистых гор. Антигены *Proteus vulgaris* ОХ-19 взаимодействуют с сыворотками крови больных риккетсиозами группы СТ и пятнистой лихорадки Скалистых гор. Сыворотки больных болезнью Брилля-Цинссера и осповидного (вызываемого *R. akari*) риккетсиоза обычно не вступают в реакцию агглютинации Вейля-Феликса. Ориенции не имеют антигенных связей с риккетсиями групп СТ и КПЛ, однако имеют общие антигенные детерминанты с *Proteus mirabilis* ОХК, выявляемые в реакции Вейля-Феликса (РА).

Реакцию Вейля-Феликса с протейными антигенами и варианты реакции агглютинации со специфическими риккетсиальными антигенами в настоящее время применяют редко в связи с недостаточной чувствительностью и специфичностью. Существует более чувствительный метод микроагглютинации с мечеными флюорохромом риккетсиями для серодиагностики риккетсиозов группы СТ производства Пермского филиала НПО «Микроген», однако не нашедший широкого применения в практике.

В течение многих десятилетий реакция связывания комплемента (РСК) являлась базовым методом серологической диагностики риккетсиозов. Метод обладает высокой групповой специфичностью даже при низких (1:10–1:20) разведениях сывороток, однако недостаточно чувствителен в ранней фазе заболевания. Комплексы связывающие антитела при большинстве риккетсиозов групп СТ и КПЛ выявляют в конце первой — начале второй недели инфекции, в некоторых случаях — в более поздние сроки. Наличие группоспецифического полисахаридного комплекса в составе препарата растворимого антигена для РСК приводит к отсутствию четкой видовой дифференциации внутри групп СТ и КПЛ, хотя титры антител обычно бывают выше к гомологичному антигену. Группоспецифическая диагностика риккетсиозов группы КПЛ в РСК в России осуществляется с растворимым антигеном *R.sibirica*, в Америке — *R.rickettsii*, в Европе — *R.conorii*, что определяется распространением важнейших риккетсиозов этой группы — клещевого сыпного тифа Северной Азии, пятнистой лихорадки Скалистых гор и марсельской лихорадки соответственно. Более четкая видовая дифференциация внутри групп осуществляется с помощью корпускулярных антигенов, однако чаще не в РСК, а в РНИФ. Антигены и другие ингредиенты для РСК выпускают в Пермском филиале НПО «Микроген».

Реакцию непрямой гемагглютинации (РНГА) применяют для диагностики риккетсиозов как группы СТ, так и группы КПЛ. В качестве гемосенситина используют комплекс липополисахарида (ЛПС) и белковых антигенов. В нашей стране метод применяется преимущественно для выявления антител к риккетсиям группы СТ. Препарат выпускают в Пермском филиале НПО «Микроген». РНГА — наиболее ранний чувствительный метод выявления текущей

(острой) риккетсиозной инфекции, выявляет преимущественно IgM-антитела, быстро исчезающие после перенесения инфекции. Латекс-агглютинация в целом близка по своим параметрам к РНГА, используется как метод первичного тестирования сывороток крови, группоспецифична, выявляет как IgM-, так и IgG-антитела, в связи с высокой перекрёстной реактивностью внутри группы СТ не позволяет дифференцировать эпидемический и эндемический сыпной тиф.

Иммуноферментный анализ (ИФА) применяют для серодиагностики риккетсиозов групп СТ и КПЛ, лихорадки цуцугамуши. Применяют различные варианты ИФА с использованием ренографин-очищенных антигенов для сенсibilизации планшет. По чувствительности и специфичности ИФА сопоставима с РНИФ, однако имеет некоторые преимущества для выявления антител в низких титрах (у вакцинированных, в период поздней реконвалесценции), что можно использовать при ретроспективном эпидемиологическом анализе. В России выпускают тест-системы ИФА для выявления антигенов коксиелл Бернета и антител к ним (Санкт-Петербургский НИИЭМ им. Пастера).

Реакция непрямой иммунофлуоресценции (РНИФ) считается «золотым стандартом» серологической диагностики риккетсиозов, используемым в большинстве лабораторий. Метод обладает высокой специфичностью и чувствительностью, воспроизводимостью, позволяет выявлять IgM- и IgG-антитела как вместе, так и отдельно в зависимости от применяемых конъюгатов. При риккетсиозах группы КПЛ и лихорадке цуцугамуши диагностически значимые титры IgM-антител выявляют в конце первой недели, IgG-антител — в конце второй недели заболевания. В России корпускулярных антигенов для РНИФ не выпускают, экспериментальные серии производят НИИЭМ им. Гамалеи РАМН, Омский НИИ природно-очаговых инфекций, Санкт-Петербургский НИИЭМ им. Пастера.

Методом подтверждения стандартных серологических методов диагностики является иммуноблот. Показано, что перекрёстно-реагирующие антитела направлены против ЛПС и относятся к IgM-антителам, IgG-антитела образуются как к ЛПС, так и белковым антигенам риккетсий. Коммерческие наборы для иммуноблота находятся в стадии разработки.

Диагноз лихорадки Ку вследствие полиморфизма клинического течения невозможен без лабораторного подтверждения. Основной метод — РСК. Наряду с ним используют более чувствительные методы: РНИФ и ИФА. У больных преобладают антитела к антигену *S.burnetii* фазы 2; антитела к антигену фазы 1 преобладают при формировании хронического течения.

В последние годы для диагностики риккетсиозов применяют всё чаще генетические методы (ПЦР, рестрикционный анализ, определение нуклеотидных последовательностей фрагментов ДНК). Генетические методы находят всё более широкое применение для изучения и идентификации риккетсий. Среди них используют анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов ДНК (ПДРФ), метод геномной дактилоскопии (ДНК-зонды), анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов амплифицированной в полимеразной цепной реакции ДНК (ПДРФ аДНК ПЦР), пульсовый гелевый электрофорез, метод сравнения нуклеотидных последовательностей.

Рестрикционный анализ требует для своего осуществления большого количества ДНК, что на первых этапах генетического изучения риккетсий требовало накопления биомасс риккетсий на чувствительных моделях (желточные мешки куриных эмбрионов, культуры клеток). Использование методов, основанных на полимеразной цепной реакции, является более рациональным. При этом не только не требуется длительное культивирование микроорганизмов, но часто эти варианты молекулярно-биологического анализа оказываются более чувствительными и специфичными.

Несмотря на высокую перспективность, особенно для диагностики новых риккетсиозов и анаплазмозов, эти методы не нашли широкого применения в практике ввиду сложности и трудоёмкости, а также в связи с методическими проблемами взятия и исследования клинического материала от больных. Тем не менее, с помощью методов генодиагностики в последние годы доказана этиологическая значимость возбудителей ряда новых риккетсиозов — вызываемого *R.slovaca* синдрома TIBOLA (англ. — tick borne lymphadenopathy — лимфоаденопатия после присасывания клеща), вызываемого *R.heilongjiangensis* клещевого («дальневосточного») риккетсиоза и др.

1.5. Определение чувствительности к антибактериальным препаратам, лечение и профилактика

С учётом внутриклеточного цикла жизни риккетсий определение их антибиотико-чувствительности классическими микробиологическими методами невозможно. Для этих целей используют лабораторных животных, развивающиеся куриные эмбрионы и различные модели клеточных культур. Рост риккетсий подавляется п-аминобензойной кислотой, этот эффект снимается п-оксибензойной кислотой. Сульфамиды не влияют на рост. Пенициллины и аминогликозиды не эффективны против риккетсий в клеточных системах. Отмечена чувствительность риккетсий к тетрациклинам, хлорамфениколу (левомицетину), из макролидов — к джозамицину и кларитромицину. Все изученные виды оказались чувствительными к фторхинолонам (офлоксацину, перфлорксацину, спарфлоксацину, цiproфлоксацину). Препараты тетрациклинового ряда (тетрациклин, доксициклин, миноциклин) и левомицетин оказывают риккетсиостатическое действие.

Выявлены существенные отличия чувствительности различных риккетсий к эритромицину и рифампицину. Риккетсии группы СТ более чувствительны к эритромицину, чем риккетсии группы КПЛ. Риккетсии группы СТ и большинство исследованных риккетсий группы КПЛ чувствительны к рифампицину, кроме филогенетического кластера (генетической подгруппы) *R.massiliae* (*R.sp.Bar29*, *R.massiliae*, *R.rhipicephali*, *R.aeschlimanii*, *R.montanensis*), что свидетельствует о таксономической значимости этого признака. Их резистентность к рифампицину связана с дивергенцией в этой подгруппе гена, кодирующего РНК-полимеразу.

Наиболее эффективными и доступными средствами антибиотикотерапии риккетсиозов и лихорадки цуцугамуши являются препараты группы тетрациклинов и фторхинолонов. В лечении лихорадки Ку, равно как и риккетсиозов групп СТ и КПЛ, назначают преимущественно доксициклин, обладающий наилучшими фармакокинетическими характеристиками в отношении этих внутриклеточных микроорганизмов. Назначение тетрациклина или доксициклина в общетерапевтических дозах (2,0 г тетрациклина или 200 мг

доксциклина в двух капсулах в сутки для взрослого) при острых формах риккетсиозов и лихорадки цуцугамуши является эффективным и позволяет нормализовать температуру и улучшить состояние больного в течение 36–96 часов с начала лечения. В связи с возможностью длительной персистенции риккетсий и ориенций лечение необходимо продолжать 2–3 дня после нормализации температуры.

Разработана и применяется живая сыпнотифозная вакцина. Однако наибольшее значение применительно к СТ имеет борьба с педикулёзом, своевременное лабораторное обследование на сыпной тиф длительно лихорадящих больных, особенно из категорий риска (завшивленные, бездомные, беженцы и др.). Применительно к риккетсиозам группы КПЛ и лихорадке цуцугамуши применяют противоклещевые обработки территорий, меры личной защиты от нападения и присасывания клещей, возможно превентивное назначение антибиотиков.

1.6. Анаплазмозы человека

Этиология и таксономия

Семейство *Anaplasmataceae* включает четыре рода: *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Neorickettsia*, *Wolbachia*. Представители родов *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Neorickettsia* и *Wolbachia* являются облигатными внутриклеточными альфа-протеобактериями, размножающимися в специализированных вакуолях эукариотических клеток и имеющими общие морфологические, экологические, эпидемиологические и клинические характеристики (Рудаков Н. В., Оберт А. С., Шпынов С. Н., 2005).

До относительно недавнего времени эрлихии были известны как возбудители заболеваний животных на ряде континентов, а проблема эрлихиозов интересовала только ветеринарных работников. В 1910 г. Тейлер (Theiler) описал *Anaplasma marginale* — клещевой патоген крупного рогатого скота, поражающий бычьи эритроциты, — возбудитель экономически важного, широко распространённого в мире зооноза — анаплазмоза крупного рогатого

скота, проявляющегося в различной выраженности гемолитической болезни. Далее представителями ветеринарной медицины были описаны *Cowdria ruminantium* — возбудитель сердечной водянки крупного рогатого скота (Cowdry, 1925), *Ehrlichia canis* (Donatien and Lestoquard, 1935), *E.phagocytophila* (Gordon, 1940).

Родовое название *Ehrlichia* (эрлихии) предложено Ш. Д. Мошковским в 1945 г. в честь немецкого микробиолога Пауля Эрлиха. До реклассификации этот род объединял более 20 видов эрлихий, включавших три геногруппы: *Ehrlichia canis*, *E. phagocytophila* и *E.risticii*, в том числе возбудителей заболеваний человека — лихорадки сеннетсу, моноцитарного эрлихиоза человека (МЭЧ) и гранулоцитарного анаплазмоза человека (ГАЧ). Экология эрлихий из первой и второй геногрупп связана с иксодовыми клещами, экология основного представителя третьей геногруппы *E.sennetsu* связана с рыбами и их моллюсками.

Совершенствование молекулярных подходов к исследованию микроорганизмов способствовало дальнейшему прогрессу в изучении представителей *Anaplasmataceae*. *E.sennetsu* — этиологический агент первого известного эрлихиоза человека был описан первоначально как представитель рода *Rickettsia* (Misao et al., 1956). Заболевание эндемично для южных островов Японии, связано с употреблением сырой рыбы и по клинике напоминает инфекционный мононуклеоз, известно с 80-х годов XIX века.

Открытию новых анаплазмозов и эрлихиозов человека предшествовало также описание в 1950 г. *Neorickettsia helminthoeca*, в 1964 г. — *N.elokominica*, в 1969 г. — *E.equi*, в 1971 г. — *E.ewingii*, в 1978 г. — *E.platys*, в 1984 г. — *E.risticii* (Rikihisa, 1991). Существенный толчок развитию исследований по эрлихиям обусловила крупная эпизоотия эрлихиоза собак, вызванная *Ehrlichia canis*, приведшая к гибели нескольких сотен служебных животных в американских войсках во Вьетнаме в 1968–1970 гг. (Ristic et al., 1991). При изучении этого вида эрлихий были выявлены его фенотипические связи с возбудителем лихорадки сеннетсу *R.sennetsu*, что привело в 1984 г. к пересмотру таксономического положения этой «риккетсии» и включению её в род *Ehrlichia* под видовым названием *E.sennetsu* (Ristic, Huxsoll, 1984), в дальнейшем он включён в род

Neorickettsia под названием *Neorickettsia sennetsu comb.nov.* (Dumler et al., 2001).

Интерес к изучению эрлихий существенно возрос, когда в США был описан первый случай моноцитарного эрлихиоза человека — МЭЧ (Maeda K. et al., 1987). Гранулоцитарный анаплазмоз человека (ГАЧ) впервые выявлен в 1991–1992 гг., его этиология уточнена в 1994 г. (Bakken J. et al., 1994; Chen S.-M. et al., 1994). Проведённые в последующие годы молекулярно-генетические и клинико-эпидемиологические исследования позволили установить высокую медицинскую и социальную значимость этой группы инфекций в Америке и более низкую (особенно МЭЧ) — в Европе.

Исследования в отношении анаплазмозов и эрлихиозов человека в России начаты в конце 90-х гг. XX в. и к настоящему времени носят фрагментарный характер. Вместе с тем выявление *Ehrlichia muris* и гранулоцитарных анаплазм в клещах *Ixodes persulcatus* в ряде регионов России, а также ретроспективная серологическая верификация диагнозов МЭЧ и ГАЧ в Уральском, Сибирском и Дальневосточном федеральном округах свидетельствуют об актуальности этой проблемы в Российской Федерации.

В последнее время благодаря широкому внедрению методов генетического анализа пересмотрена филогенетическая позиция представителей трибы *Ehrlichieae*. Подверглась пересмотру структура родов *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Cowdria*, *Neorickettsia*, *Wolbachia* (рис. 1.1).

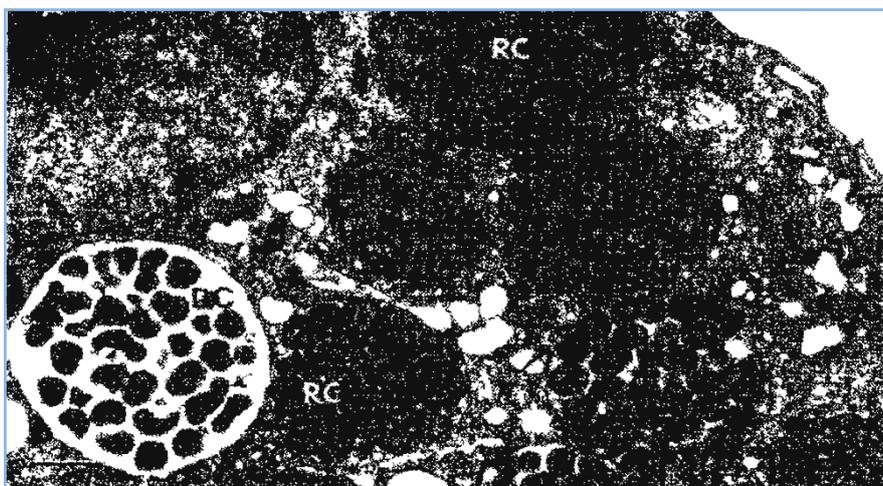


Рис. 1.1. *E. canis* в культуре клеток DH82^{1*}

* Электронограмма В. Л. Попова, 1996.

Молекулярный филогенетический анализ 16S rRNA гена и оперона *groesI* показал наиболее тесные связи этих протеобактерий с родами *Rickettsia* и *Orientia* и возможность их распределения в четыре отличающихся кластера (рода). В род *Anaplasma* (с минимальным сходством между видами 96,1 %) включены *Anaplasma* (ранее *Ehrlichia*) *phagocytophilum* (объединены в один вид с бывшими видами *Ehrlichia equi* и агентом гранулоцитарного эрлихиоза человека (HGE, англ.) в связи с несущественностью генетических различий), *Anaplasma* (ранее *Ehrlichia*) *bovis*, *Anaplasma* (*Ehrlichia*) *platys*. В род *Ehrlichia* (сходство не менее 97,7 %) включена *Ehrlichia* (*Cowdria*) *ruminantum*, в род *Neorickettsia* (сходство 94,9 %) — *Neorickettsia* (*Ehrlichia*) *risticii* и *Neorickettsia* (*Ehrlichia*) *sennetsu*. В соответствии с новой классификацией все члены триб *Ehrlichieae* и *Wolbachieae* трансформируются в состав семейства *Anaplasmataceae*, исключается деление семейства *Rickettsiaceae* на трибы.

Альфа-протеобактерии, вызывающие эрлихиозы человека, оказались реклассифицированными в три рода: *Ehrlichia*, *Anaplasma* и *Neorickettsia* вместо одного рода *Ehrlichia* (Dumler J. and Walker D., 2001; Dumler J. et al., 2001).

Первый выявленный патоген человека среди этих микроорганизмов, *N. sennetsu*, был определён в род *Neorickettsia*. *Neorickettsia sennetsu* инфицирует преимущественно моноциты и мононуклеарные фагоцитирующие клетки в организме человека и вызывает лихорадку сеннетсу — редко распознаваемую инфекцию, распространённую ограниченно (южные острова Японии) на Дальнем Востоке. Эпидемиологические данные и тесные генетические связи этого вида с *N.risticii* и *N.helminthoeca* косвенно свидетельствуют, что употребление инвазированной моллюсками рыбы может обуславливать заболевания.

Второй выявленный вид анаплазм человека — *Ehrlichia chaffeensis* — передаётся клещами, инфицирует преимущественно моноциты и мононуклеарные фагоциты у больных и является этиологическим агентом моноцитарного эрлихиоза человека в Северной Америке. Эта эрлихия и недавно описанная как патоген человека (третий вид) *E.ewingii* тесно связаны с патогеном собак *E.canis*, который также очевидно может инфицировать человека, однако без

развития клинической картины заболевания. *E.chaffeensis* и *E.ewingii* оставлены в составе рода *Ehrlichia*. *E.ewingii* инфицирует преимущественно нейтрофилы и (как и *E.chaffeensis*) передается в Северной Америке клещами *Amblyomma americanum*.

Четвёртая анаплазма, имеющая медицинское значение — *Anaplasma phagocytophila*, инфицирует преимущественно нейтрофилы и вызывает гранулоцитарный анаплазмоз человека (ГАЧ), связанный с иксодовыми клещами группы *Ixodes persulcatus*. Этот вид попадает в отдельный от других анаплазм человека род, поскольку генетически тесно связан с *Anaplasma marginale* — паразитом эритроцитов крупного рогатого скота. Вследствие этого этиологический агент ГАЧ была реклассифицирована и помещена в соседний род *Anaplasma* семейства *Anaplasmataceae* под названием *Anaplasma phagocytophila*. Ниже приводим рабочую классификацию основных видов семейства *Anaplasmataceae* (табл. 1.4).

Таблица 1.4

Классификация основных родов и видов семейства Anaplasmataceae

Род	<i>Ehrlichia</i>	<i>Anaplasma</i>	<i>Neorickettsia</i>	<i>Wolbachia</i>
Виды	1. <i>E.muris</i>	1. <i>A.marginale</i>	1. <i>N.helminthoeca</i>	1. <i>W.pipientis</i>
	2. <i>E.chaffeensis</i>	2. <i>A.(Ehrlichia) platys</i>	2. <i>N.(Ehrlichia) sennetsu</i>	
	3. <i>E.ewingii</i>	3. <i>A.phagocytophila</i>	3. <i>N.(Ehrlichia) risticii</i>	
	4. <i>E.canis</i>	4. <i>A.bovis</i>	4. <i>SF* agent</i>	
	5. <i>E.(Cowdria) ruminantium</i>	5. <i>A.centrale</i>	(* <i>Stellantchasma falcatus</i>)	
	6. <i>Schotti variant</i>	6. <i>A.ofis</i>	5. <i>N.elokominica</i>	
		7. <i>A.odocoilei</i>		

Микроэкология возбудителя, основные хозяева и среда естественного обитания

Эрлихии являются облигатными внутриклеточными паразитами, поражающими мезодермальные клетки млекопитающих, прежде всего клетки крови и эндотелия сосудов теплокровных. Их резервуаром являются различные виды теплокровных животных, а переносчиками — преимущественно иксодовые клещи, которые при питании кровью передают эрлихии своим хозяевам. Возбудители локализуются в цитоплазматических вакуолях (эндосомах) лейкоцитов и вызывают у человека острые гриппоподобные лихо-

радочные заболевания. По спектру поражаемых клеток человека различают возбудителей МЭЧ (поражают преимущественно моноциты периферической крови) и ГАЧ (поражают преимущественно гранулоциты, в основном нейтрофилы). Эрлихии могут также поражать тромбоциты, эритроциты, клетки эндотелия капилляров.

В процессе метаморфоза иксодид анаплазмы передаются от стадии к стадии через линьки (личинки→нимфы→имаго), но не трансвариально (через яйца). Клещи, которые известны как специфические переносчики *E.phagocytophila*, включают представителей «*Ixodes persulcatus*» комплекса — *I.scapularis* (восток Северной Америки), *I.pacificus* (западная часть Северной Америки), *I.ricinus* (Европа) и *I.persulcatus* (Восточная Европа, Азия). Нимфы *I.scapularis* инфицируются в стадии личинок при питании на содержащих в крови анаплазмы мелких млекопитающих. Они появляются поздней весной и ранним летом и питаются преимущественно на белоногих мышах (*Peromyscus leucopus*), у которых наблюдается персистентная инфекция. Новое поколение личинок, которое появляется в середине лета, часто питается на уже содержащих в крови анаплазмы мелких млекопитающих, что поддерживает цикл циркуляции. Инфицированные нимфы и имаго клещей могут нападать и присасываться к людям, передавая им анаплазмы. Олени играют важную роль как прокормители (хозяева) имаго *Ixodes spp.* и резервуар гранулоцитарных анаплазм (Telford Sam R., 1996). В Великобритании и на Европейском континенте в качестве резервуарного хозяина гранулоцитарных анаплазм рассматривают косуль *Capreolus capreolus*.

Морфологические и тинкториальные свойства

Анаплазмы и эрлихии — грамотрицательные, коккобациллярные бактерии небольшого размера (в длину от 0,5 до 1,5 микрон). Морфологически они представляют плеоморфные кокковидные или овоидной формы микроорганизмы, приобретающие тёмно-голубой или пурпурный цвет при окраске по Романовскому. Их выявляют в специализированных вакуолях — фагосомах в цитоплазме инфицированных эукариотических клеток в виде компактных скоплений — морул, названных так за внешнее сходство с ягодами тутового дерева (рис. 1.2).

Вакуоли содержат чаще небольшое количество эрлий, количество содержащих эти микроорганизмы эндосом может достигать нескольких сотен на клетку.

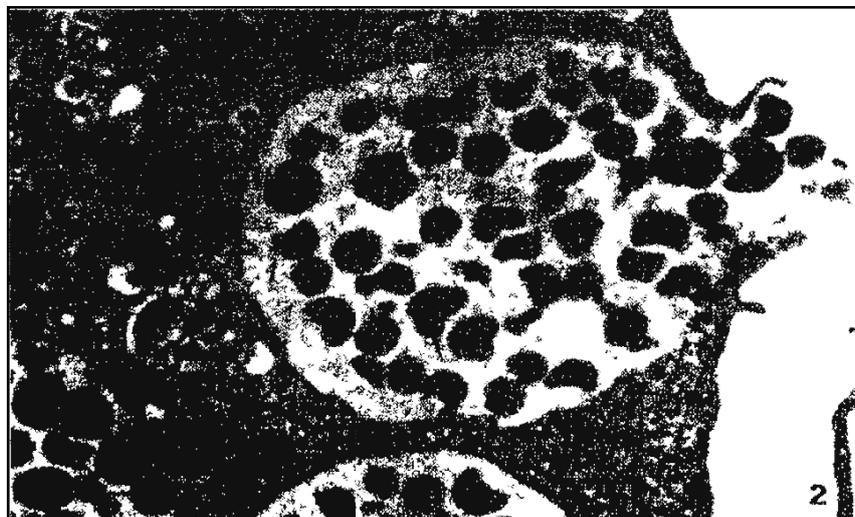


Рис. 1.2. *E.chaffeensis* в культуре клеток Vero, RC и DC в морулах:
А — морулы содержат ретикулярные клетки (RC) плотные клетки (DC);
В — выход DC из морулы*

Изучение ультраструктуры эрлий показало их схожесть с риккетсиями и ориенциями (возбудителем лихорадки цуцугамуши). Наружная мембрана отстаёт от цитоплазматической мембраны и имеет волнообразный вид, внутренняя мембрана — гладкая. Чётко выделяются две различные морфологические формы эрлий (аналогично хламидиям): большего размера *ретикулярные клетки* с равномерным распределением рибосом и филоментов ДНК (нуклеоида) и клетки меньшего размера с центральным расположением рибосом и филоментов нуклеоида и электронно-плотным центром (*dense — cored cells — клетки с плотной сердцевиной*).

Ретикулярные клетки характеризуют стадию вегетативного развития, уплотнённые эрлии — стационарную стадию покоя. Выход эрлий из клетки осуществляется путём разрыва мембраны эндосомы, а затем клеточной стенки, возможен экзоцитоз (выдавливание) эрлий или инфицированных вакуолей из клетки хозяина. Другие представители *Anaplasmataceae* имеют сходную морфологию (Роров V., 1996).

* Электронограмма В. Л. Попова, 1996.

Физиологические особенности возбудителей

Анаплазмы и эрлихии являются медленно растущими микроорганизмами, размножаются поперечным бинарным делением, с наличием вегетативных (ретикулярных) и покоящихся (элементарных) клеток, аналогично хламидиям. Представители родов *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Neorickettsia* и *Wolbachia* являются облигатными внутриклеточными протеобактериями, размножающимися в специализированных вакуолях (фагосомах или эндосомах) эукариотических клеток, обозначаемых как «морулы». Возбудитель МЭЧ размножается в моноцитах и макрофагах, возбудитель ГАЧ — в гранулоцитах (нейтрофилах). Представители семейства обладают механизмом, препятствующим слиянию фагосом с лизосомами. Они имеют осмотически активную клеточную мембрану, содержащую специфические переносчики для транспорта субстратов.

Свободные от клеток хозяина *N.risticii* и *N.sennetsu* способны усваивать L-глутамин, но не глюкозу или глюкозо-6-фосфат, что показывает неспособность к классическому гликолитическому пути.

Лабораторное поддержание представителей семейства связано с культивированием на специальных линиях клеток — макрофагоподобные клетки гистиоцитомы собак (DH82) и лейкемии человека (линия HL60), в некоторых случаях эпителиоидноподобные клетки (линии эндотелиальных клеток человека, клетки Vero, HeLa). Накопление анаплазм в них происходит медленно и незначительно, поэтому используют длительно культивируемые линии с выдерживанием клеточных культур до месяца и более с периодической сменой поддерживающей питательной среды. Для размножения *N.sennetsu* можно использовать белых мышей, у которых наблюдается генерализованная инфекция с накоплением возбудителя в селезёнке и макрофагах перитонеальной жидкости.

Устойчивость к факторам внешней среды

Конкретная устойчивость представителей семейства к факторам внешней среды изучена недостаточно, можно лишь предполагать, что они существенно не отличаются по этим параметрам от риккетсий. Анаплазмы устойчивы к неблагоприятным условиям

внешней среды. *Anaplasma marginale* сохраняется в цитратной крови при температуре 3–5 °С до 94–104 дней, в глюкозо-сахарозо-цитратном растворе при той же температуре — 334 дня. В цитратной крови анаплазмы сохраняют свою патогенность до 82 дней. Выживаемость и патогенность анаплазм при сохранении *in vitro* зависит от того, в начале или в конце заболевания была взята кровь и насколько сильно была выражена клиника анаплазмоза у овцы-донора. Наиболее продолжительно анаплазмы сохраняются в крови, взятой на высоте паразитарного приступа у тяжелобольных анаплазмозом овец.

Антигенная структура

На первом этапе изучения было установлено отсутствие общих антигенных детерминант эрлихий с риккетсиями сыпнотифозной и клещевой групп, коксииеллами Бернета и боррелиями Бургдорфера, однако в дальнейшем показана перекрёстная реактивность белков теплового шока HSP60 у риккетсий и анаплазм. У представителей семейства *Anaplasmataceae* имеются общие антигенные детерминанты, обуславливающие наибольшую перекрёстную реактивность внутри видов (геногрупп), что позволило в своё время диагностировать МЭЧ с использованием антигена *E.canis*. Использование техники вестерн-иммуоблота позволило выявить семь главных белков: 120, 66, 58, 44, 29, 28 и 22 КД, наибольшим набором антигенов обладает *E.canis*. С использованием техники моноклональных антител и моноспецифических поликлональных антител показано, что главные, иммунодоминантные, белки 120, 29, 28 и 22 КД, а также минорный 30 КД белок являются поверхностными протеинами, а белки 28 и 22 КД антигенно взаимосвязаны. ДНК-клонирование показало, что белки 58 и 10 КД генетически гомологичны белкам теплового шока GroEL и GroES *Escherichia coli*. Белок 120 КД имеет регион идентичных 80-ти аминокислотных tandemных повторяющихся единиц, вероятно, определяющий адгезию эрлихий к клеткам хозяина.

Представители рода *Ehrlichia* и *Anaplasma marginale* имеют главный поверхностный антигенный комплекс от 24 до 31 КД, *Anaplasma phagocytophila* — 44 КД, представители рода *Neorickettsia* — от 51 до 55 КД.

Генетическая характеристика

Степень гомологии рода *Rickettsia* с представителями *Anaplasmataceae* по данным определения нуклеотидных последовательностей 16S рДНК составляет около 83–84 %. Максимальное сходство между родами семейства *Anaplasmataceae* составляет от 87,1 до 94,9 %. Геномный размер различных штаммов *Anaplasma marginale* отличается и составляет 1200–1280 kbp, *Neorickettsia* (*N.risticii*, *N.sennetsu*) — от 860 до 880, *E.chaffeensis* — 1160 kbp. Содержание Г+Ц составляет в ДНК *Anaplasma marginale* 56 мол.%. На рис. 1.3 показаны взаимоотношения α_1 протеобактерий на основе сравнения нуклеотидных последовательностей 16S рРНК.

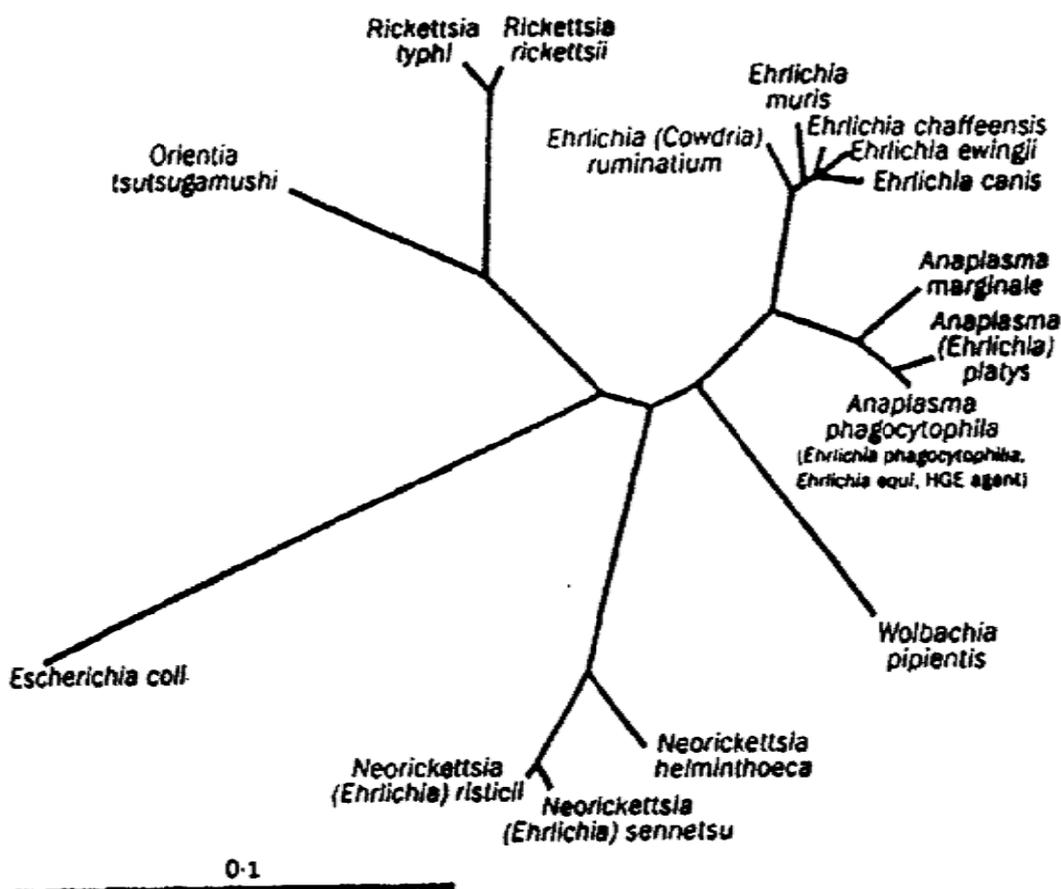


Рис. 1.3. Филогендрограмма, демонстрирующая эволюционные взаимоотношения α_1 протеобактерий на основе секвенса 16S рРНК*

* Dumler J. and Walker D., 2001.

Факторы патогенности

У представителей семейства выявлены поверхностные белки, выполняющие функции адгезинов. Они взаимодействуют с лектинсодержащими CD15 — ассоциированными (для возбудителя ГАЧ) рецепторами клеток хозяина. Доказано наличие факторов, препятствующих фагосома-лизосомальному слиянию и обеспечивающих возможность внутрифагосомного цикла развития. *Anaplasma phagocytophila* обладает механизмом задержки спонтанного апоптоза нейтрофилов, что способствует их размножению в них.

1.7. Эпидемиология, патогенез, клиническо-лабораторные, патоморфологические особенности проявления, иммунитет, профилактика и лечение при анаплазмозах

Патогенез и патологоанатомическая картина

Патогенез ГАЧ и МЭЧ в начальной стадии обусловлен процессом внедрения возбудителя через кожу и реализуется с участием клеща-переносчика. Первичный аффект на месте внедрения при этих инфекциях и пятнистой лихорадке Скалистых гор, в отличие от других риккетсиозов группы КПЛ, отсутствует. Возбудитель распространяется лимфогенно и далее гематогенно по всему организму. Заражение чувствительных клеток-мишеней происходит в три стадии: проникновение в клетку (инициация фагоцитоза), размножение в ограниченных мембраной цитоплазматических вакуолях (фагосомах), выход из клетки. Инфекционный процесс изучен преимущественно при моноцитарном эрлихиозе человека и сопровождается поражением макрофагов селезёнки, печени, лимфатических узлов, костного мозга и других органов. Нередко возникают очаговые некрозы и полиорганные периваскулярные лимфоцито-гистиоцитарные инфильтраты преимущественно микроциркуляторного русла. В селезёнке, печени, лимфатических узлах, костном мозге развивается мегакариоцитоз и гемофагоцитоз с формированием миелоидной гипоплазии. При тяжёлых формах

поражений и нарушениях проницаемости сосудов развивается геморрагический синдром с кровоизлияниями внутренних органов, желудочно-кишечными кровотечениями, геморрагическими высыпаниями на кожных покровах. Морфологические изменения в сосудистой системе, костном мозге и внутренних органах сопровождаются лейкопенией и тромбоцитопенией, повышением уровня печёночных трансаминаз.

Патогенез и патологическая картина при гранулоцитарном анаплазмозе человека изучены недостаточно. Нейтрофилы приобретают инфекционный агент в месте присасывания клеща или после диссеминации в костный мозг или другие ткани (Walker D.H., 2002). Инфицированные нейтрофилы активируются для секреции хемокинов, которые мобилизуют клетки иммунного воспаления, такие как лимфоциты и макрофаги. Эти клетки в дальнейшем продуцируют такие провоспалительные цитокины, как гамма-интерфероны, и усиливают воспалительный компонент реакции. Гамма-интерфероны необходимы для элиминации возбудителя и тесно ассоциированы с гистопатологическими проявлениями. Часто выявляют небольшие агрегаты лимфоцитов и макрофагов, включающие апоптотические и гемофагоцитические клетки и другие проявления активации мононуклеарных фагоцитов. Лабораторные нарушения характеризуются тромбоцитопенией, лейкопенией, повышением уровней в крови печёночных аминотрансфераз.

Определение чувствительности к антибиотикам

Экспериментальное изучение возбудителей в клеточных культурах и эмпирическое лечение больных показали достаточную эффективность применения препаратов тетрациклинового ряда, прежде всего доксициклина в общетерапевтических дозировках и низкую эффективность левомицетина (хлорамфеникола). Перспективным является использование рифампицина, особенно у детей и у беременных женщин как альтернатива тетрациклинам. Минимальная ингибирующая концентрация в культуре клеток составила для доксициклина и рифампицина менее 0,5 и 0,125 мг/мл соответственно, левомицетин не задерживал развитие инфекции клеточных культур при концентрациях 16 мг/мл. Выявлена резистентность

эрлихий к эритромицину, котримоксазолу, пенициллину. *E. chaffeensis* резистентна к хинолонам.

Моноцитарный эрлихиоз человека (МЭЧ). Эпидемиология, клинико-лабораторные и патоморфологические особенности

Наиболее изучено распространение МЭЧ в США, где эта инфекция выявлена в большинстве штатов, включая Аляску и Гавайские острова. *E. chaffeensis* была изолирована на культурах клеток и (или) детектирована в ПЦР от пациентов с МЭЧ, оленей, собак и клещей в США. Серологически верифицированные случаи МЭЧ были выявлены в 47 штатах США, Мексике, Западной Европе, Израиле и в Африке. Антитела к моноцитарным анаплазмам выявлены у людей в Юго-Восточной Азии, Африке и в России.

Существование и распространение возбудителя МЭЧ, равно как и эпидемиологические особенности, связаны с существованием природных очагов, в поддержании которых наибольшее значение имеют специфические виды клещей-переносчиков и их теплокровных хозяев-прокормителей. Основным видом клещей-переносчиков является *Amblyomma americanum* (the lone star tick). Меньшее значение имеет *Dermacentor variabilis*. Иксодовые клещи этих видов широко распространены в США, основными прокормителями взрослых особей (имаго) являются белохвостые олени (в природных станциях) и собаки (в синантропных станциях). Эти виды теплокровных хозяев в экспериментальных условиях высокочувствительны к заражению *E. chaffeensis*, с эрлихиемией на протяжении нескольких недель. Голодные нимфы и имаго *Amblyomma americanum*, полученные из личинок, нимф и имаго, накормленных на белохвостых оленях, заражённых *E. chaffeensis*, через три месяца передавали возбудитель оленям, однако не передавали собакам.

Эрлихии попадают в организм человека со слюной инфицированного клеща. Инкубационный период составляет чаще от 8 до 15 дней. Активизация клещей в тёплый период времени определяет сезонность случаев инфекции (с апреля по сентябрь с пиком в мае–июне). Отмечают связь случаев с проживанием в сельской местности, наличие в анамнезе контакта с клещами за одну–три недели до заболевания. Соотношение мужчин и женщин среди заболевших

составляем 4:1, средний возраст — 44–51 лет. Наибольшее число случаев МЭЧ выявляют в зонах распространения основного переносчика — клещей *Amblyomma americanum*.

Единичные случаи моноцитарного эрлихиоза выявлены серологически в нескольких странах Европы (Португалия, Испания, Бельгия). Наличие выраженных перекрёстных серологических реакций между различными моноцитарными эрлихиями и отсутствие подтверждения случаев молекулярно-генетическими методами или изоляцией возбудителя не позволяет окончательно оценить их достоверность. Вместе с тем вызываемый *E.canis* моноцитарный эрлихиоз диагностирован среди собак в различных странах Европы: Франции, Испании, Португалии, Италии и Германии. Не до конца понятно значение в патологии человека выявленного в очагах гранулоцитарного анаплазмоза и недавно описанного под названием “*Schotti variant*” нового вида микроорганизмов семейства *Anaplasmataceae*, наиболее генетически близкого с *E.(Cowdria) ruminantium*. Этот вариант (вид) эрлихий выявлен в ряде стран Европы в клещах *I.ricinus* и преобладает над *A.phagocytophila*. Недавнее выявление *E.muris* в клещах *Ixodes persulcatus* в России может возобновить интерес к изучению МЭЧ в Европе.

В 1999 г. впервые серологически подтверждено заболевание МЭЧ в России у четырёх больных в г. Перми после присасывания клещей. В клещах *Ixodes persulcatus*, собранных с растительности на территории Пермской области, авторами был генотипирован микроорганизм из рода *Ehrlichia* — *Ehrlichia muris* (Ravyn M. D. et al., 1999). Этот вид эрлихий впервые выявлен от южно-азиатских полёвок в Японии и не был известен как патоген человека. Эрлихии этого вида и до настоящего времени не изолированы и не генотипированы от больных МЭЧ.

К настоящему времени установлено широкое распространение *E.muris* на ряде территорий Азиатской части России в зоне распространения основного переносчика этого вида моноцитарных эрлихий — таёжного клеща *Ixodes persulcatus*.

‘*Schotti variant*’ эрлихий к настоящему времени выявлен в клещах *I. persulcatus* на территории Омской области.

Можно считать достаточно вероятным распространение *E.muris* в пределах всего ареала этого клеща, в том числе в России

в пределах всего лесного пояса от западных до восточных границ. Вместе с тем сохраняет актуальность не только изучение распространения моноцитарных эрлихий и их видовой принадлежности, но и выделение *E. muris* от больных МЭЧ (т. е. подтверждение их этиологической роли) и иксодовых клещей.

Большинство случаев МЭЧ выявляют у больных с тяжёлыми формами клинических проявлений и формами средней тяжести. У части больных наблюдают угрожающие жизни формы заболевания, близкие по клиническому проявлению синдрому токсического шока. Летальные исходы составляют от 2 до 7%. МЭЧ чаще (в сравнении с ГАЧ) проявляется менингоэнцефалитом, синдромом лёгочной недостаточности, острой почечной недостаточностью, сыпью.

Анализ случаев МЭЧ в США позволяет определить основные клиничко-лабораторные особенности этой инфекции. Средняя длительность заболевания составила 23 дня. Симптомы этой системной инфекции не носят специфического характера и не позволяют диагностировать эту инфекцию чисто клинически. Лихорадка выявлена у 97% больных, в том числе:

Симптомы	% от числа случаев
головные боли	81
мышечные боли	68
анорексия	66
тошнота	48
рвота	37
сыпь (макуло-папулёзная или петехиальная) :	
в начале заболевания	6
в течение первой недели	25
в целом	36
фарингит и кашель	26
лимфаденопатия и диарея	25
боли в животе	22

Наиболее тяжёлые осложнения включали дыхательную и почечную недостаточность, гипотензию, коагулопатию, геморрагические проявления, неврологические нарушения. Среди рентгенографически обследованных больных МЭЧ почти у половины выявлены инфильтраты в лёгких.

Использование клинико-лабораторных тестов позволило выявить лейкопению (60 %), тромбоцитопению (68 %), анемию, повышение печёночных трансаминаз (86 %). Количество белых кровяных телец в типичных случаях уменьшалось с третьего дня заболевания с наибольшим снижением количества лимфоцитов и в меньшей степени — нейтрофилов.

Тяжелые печёночные нарушения выявлены лишь в отдельных случаях. Нарушения центральной нервной системы документированы в виде светобоязни, ступора, галлюцинаций, судорог, коматозного состояния. Отмечали плеоцитоз, чаще с преобладанием лимфоцитов (хотя в 23 % отмечено преобладание полиморфноядерных лейкоцитов), и возрастание белка в спинномозговой жидкости. Присутствие *E.chaffeensis* в ликворе доказано с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) и иммуноцитологическими методами. Отмечена периваскулярная инфильтрация лимфоцитами, плазматическими клетками, макрофагами, часть из клеток содержали эрлихии. Указанная картина отмечена как в головном мозге, так и в мягких мозговых оболочках.

Наиболее частыми клиническими находками у больных с цереброспинальными циркуляторными нарушениями являлись ухудшение умственной деятельности, неустойчивая походка, атаксия, гиперрефлексия, клонус, черепно-мозговой паралич, спутанное сознание, менингизм. Выявлены и миокардиальные нарушения у больных МЭЧ. Заболевание по ряду проявлений напоминало лихорадку Скалистых гор (при обеих инфекциях отсутствует первичный аффект на месте присасывания клеща), за исключением сыпи, которая при МЭЧ встречается реже, носит транзиторный характер, появляется позже и редко носит петехиальный характер.

По результатам наблюдений за больными в Пермской области клиническая картина МЭЧ (Григорян Е. В. и др., 2000) характеризовалась полиморфизмом. Опорными признаками для ранней диагностики эрлихиозов являлись развитие общеинфекционного синдрома в сочетании с острым безжелтушным гепатитом, поражением центральной нервной системы (легко текущий энцефалит, серозный менингит) и изменениями в периферической крови в виде тромбоцитопении, лейкопении, относительной лимфопении, сдвига лейкоцитарной формулы влево, увеличения СОЭ.

У реконвалесцентов в 75,7 % случаев выявляли остаточные явления в виде астенического синдрома, реже — увеличения печени, изменений в гемограмме, повышения артериального давления, проходящие в течение нескольких месяцев.

Клиническая картина гранулоцитарного анаплазмоза менее специфична, чем МЭЧ. Обычные проявления ГАЧ — лихорадка неясной этиологии, у больных также отмечают головные и мышечные боли, недомогание — комплекс, который напоминает синдром острой респираторной вирусной инфекции (ОРВИ). Другие проявления наблюдают менее чем у половины больных — тошнота, рвота, боли в брюшной области, анорексия, диарея, боли в суставах, кашель. Сыпь выявляют не более чем у 10 % больных ГАЧ. Лабораторными методами чаще выявляют тромбоцитопению (92 %), /повышение уровня аспартатаминотрансферазы (91 %) и сывороточного креатинина (70 %), достаточно часто — анемию, лейко- и лимфопению.

Тяжесть и формы клинического проявления в различных частях нозоареала существенно отличаются. В Словении клиническая картина ГАЧ значительно мягче, чем в США (Висконсин и Миннесота) и в Швеции, где нередко наблюдают такие тяжёлые проявления, как септический синдром, синдром токсического шока, синдром острого нарушения дыхания, миокардит, неврологические нарушения, такие как димиелинизирующие полиневриты. Менингиты и менингоэнцефалиты встречаются значительно реже, чем при МЭЧ.

У многих больных ГАЧ лихорадка и другие клинические проявления быстро проходят при лечении тетрациклинами, без антибиотикотерапии длительность заболевания может составлять до двух месяцев. Для ГАЧ не характерны рецидивы и персистентная инфекция. Более тяжёлое клиническое течение связано с пожилым возрастом, диабетом, коллагенозами, иммуносупрессивной терапией, несвоевременной диагностикой или отсутствием лечения. Летальные исходы составляют от 0,5 до 1,0 % и большинство смертельных исходов является результатом оппортунистических инфекций и инвазий, включающих диссеминированный кандидоз, лёгочной аспергиллёз, некротизирующий герпетический фарингит, криптококкоз.

Антитела к возбудителю ГАЧ могут выявляться у переболевших на протяжении ряда лет, выявление антител не информативно для определения эффективности проведённого лечения. Кроме того, применяемые методы мало стандартизированы и получаемые в различных лабораториях результаты не всегда сопоставимы. Протективный иммунитет связан с поверхностными иммунодоминантными белками и кодирующими их генами (у возбудителя ГАЧ — ген *p44*, кодирующий главный белок наружной мембраны 44-kDa). Было показано, что *p44* мультигены имеют несколько активных сайтов экспрессии, и экспрессия регулируется на транскрипционном уровне. Это обуславливает уникальный механизм проявления разнообразия белков наружной мембраны 44-kDa возбудителя ГАЧ. При анаплазмозах постинфекционный иммунитет связан преимущественно с клеточными механизмами защиты. Его длительность и напряжённость не изучена, однако повторные заболевания не описаны.

Гранулоцитарный анаплазмоз человека (ГАЧ)

Хотя *Anaplasma phagocytophila* была известна как патоген животных ещё с 1932 г., вызываемый этим микроорганизмом гранулоцитарный анаплазмоз человека не был известен по 1990 г. ГАЧ был впервые выявлен в 1991 г. в штате Миннесота Д. Бэккеном (J. S. Bakken как клинический синдром потенциально летального заболевания с лихорадкой у пациента с цитоплазматическими включениями в нейтрофилах.

Амплификация в ПЦР и последующее секвенирование гена 16S rRNA выявили наиболее тесные связи инфекционного агента с *E. phagocytophila* (патоген овец, крупного рогатого скота и оленей), *E. equi* (патоген лошадей), тесные связи с патогеном собачьих (canids) *E. platys*. Связи с *E. chaffeensis* оказались слабее, и в наименьшей степени отмечено родство с *E. sennetsu*. Выявление ещё 12 аналогичных случаев заболеваний с наличием морул в нейтрофилах и подтверждённых в ПЦР со специфическими праймерами свидетельствовало о существовании отдельного эрлихиоза человека с преимущественным поражением гранулоцитов, аналогичного гранулоцитарным эрлихиозам (анаплазмозам) животных.

К 1997 г. было выявлено более 450 случаев ГАЧ в США, а также в Европе. В США инфекция распространена в наибольшей степени на северо-востоке, среднем Западе, в северной Калифорнии. В Европе ГАЧ выявлен преимущественно на северо-западе и в Восточной Европе, одновременно с распространением соответствующих инфекций у жвачных животных, собак и лошадей. Первые случаи ГАЧ в Европе выявлены в Словении. Случаи ГАЧ в Европе относительно редки, хотя специфические антитела в Европейских странах у людей распространены достаточно широко. Основным вектором возбудителя ГАЧ считают клещей группы «*Ixodes ricinus* — *I. persulcatus*». *Anaplasma marginale* была выявлена в клещах *Boophilus microplus* с крупного рогатого скота в Тибете, гранулоцитарные анаплазмы были идентифицированы с помощью ПЦР и секвенирования в северо-восточных районах Китая, эндемичных по иксодовым клещевым боррелиозам, в клещах *Ixodes persulcatus*.

Заболевания ГАЧ встречаются не только в сельской местности, но и в пригородных зонах городов. Хотя средние показатели заболеваемости в штатах Нью-Йорк и Коннектикут составляют от 3 до 16 на 100 тысяч населения, активное выявление больных в очагах повысило эти показатели до 51–58 на 100 тысяч населения. Реальная интенсивность контактов с возбудителем значительно выше, чем заболеваемость. Например, частота серопозитивных результатов к возбудителю ГАЧ в северо-западном Винконсине превышает 15 %, в Швеции — 15–20 % среди подвергшихся нападению клещей. От 75 до 85 % больных ГАЧ имеют в анамнезе нападение или присасывание иксодовых клещей за 7–11 дней до заболевания. Средний возраст больных выше, чем при других клещевых инфекциях, и составляет в среднем от 44 до 60 лет. Соотношение мужчин и женщин среди заболевших лиц составляет три к одному. Наибольшему риску подвергаются жители сельских районов, а также люди, содержащие собак. Большинство случаев в восточных районах США и в Европе выявляют в летние месяцы с пиком в июне–июле и небольшим повышением числа заболеваний в ноябре, что соответствует активности взрослых (имаго) клещей.

Наблюдается диспропорция между относительно высокой инфицированностью переносчиков в очагах и небольшим числом описанных случаев ГАЧ, что может быть связано с гетерогенностью

генетических и биологических свойств анаплазм. В клещах *Ixodes scapularis* выявлены генетические варианты *Anaplasma phagocytophila*, вызывающие и не вызывающие заболевания человека, отличающиеся по патогенности для мышей.

Эрлихии геногруппы ГАЧ были первоначально выявлены в клещах *Ixodes persulcatus* в Балтийском регионе России (Дубинина Е. В. и Алексеев А. Н., 1999; Alekseev A. N. et al., 2001) и граничащих с Российским Дальним Востоком северо-восточных районах Китая (Сао W.-C. et al., 2000), в дальнейшем — на Дальнем Востоке России — в Приморском (Шпынов С. Н. и др., 2004) и Хабаровском краях (Медянников О. Ю. и др., 2001). Гранулоцитарные эрлихии выявлены также в Новосибирской области (Mogozova O. et al., 2002) и Алтайском крае (Шпынов С. Н. и др., 2003).

На Дальнем Востоке России ГАЧ был впервые выявлен ретроспективно О. Ю. Медянниковым и др. (2001). На территориях Сибири случаи гранулоцитарного эрлихиоза у людей были выявлены нами ретроспективно в Алтайском крае в 1999 г. (Рудаков Н. В. и др., 2001) и в Новосибирской области в 2002 г. (Рудаков Н. В. и др., 2002). На территории Алтайского края на фоне роста заболеваемости клещевым риккетсиозом (КР) часть случаев серонегативного КР была верифицирована с использованием реакции непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ) как гранулоцитарный эрлихиоз (Рудаков Н. В. и др., 2000). Случаи ГАЧ в Новосибирской области протекали более тяжело, часто на фоне описторхоза.

Гранулоцитарные эрлихии были выявлены также в таёжных клещах на территории Пермской области, где ранее в этом виде переносчиков была выявлена *E.muris*. Можно считать достаточно вероятным распространение возбудителя ГАЧ в России в пределах всего ареала клещей *Ixodes persulcatus*, с возможными эпидемическими проявлениями очагов этой инфекции. Несомненно необходимость дифференциации случаев ГАЧ и других распространённых клещевых инфекций — прежде всего клещевого энцефалита, иксодовых клещевых боррелиозов и риккетсиозов.

Лабораторная диагностика

Должны быть исследованы тонкие мазки периферической крови на наличие скоплений небольших бактерий (морулы) внутри

нейтрофилов. Выявление морул позволило осуществить раннюю индикацию ГАЧ максимально у 62 % больных из Северной Америки на первой неделе заболевания. У больных из Европы частота положительных результатов при обследовании аналогичных больных оказалась ниже. ПЦР позволяет выявлять *E.phagocytophila* в крови в острую фазу до применения антибиотиков максимально у 67 % больных. Можно также использовать выделение на культуре клеток HL-60, однако такими возможностями обладают немногие лаборатории, а получение результатов в этом случае может затягиваться на несколько недель.

Серологическая диагностика в настоящее время — наиболее распространенный подход для подтверждения диагноза ГАЧ и МЭЧ. Методы включают реакцию непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ), иммуноферментный анализ (ИФА), иммуноблоттинг, основанный на рекомбинантных белках (ИФА/иммуноблоттинг). В целом эти методы высокочувствительны и достаточно специфичны. Уже на первом этапе изучения было установлено отсутствие у анаплазм и эрлихий общих антигенных детерминант с риккетсиями сыпнотифозной и клещевой групп, коксиилами Бернета и боррелиями Бургдорфера, что имеет существенное практическое значение в условиях наличия сочетанных природных очагов и общих переносчиков. Сероконверсия — лучший метод подтверждения на первой (25 % больных) – второй (75 %) неделях заболевания.

Однако определённые проблемы могут быть при диагностике больных с другими эрлихиозами (прежде всего дифференциация ГАЧ/МЭЧ), у больных с аутоиммунными заболеваниями, больных с активной инфекцией вирусом Эпштейн-Барр. У представителей семейства *Anaplasmataceae* имеются общие антигенные детерминанты, обуславливающие наибольшую перекрёстную реактивность внутри видов (геногрупп), что позволило в своё время диагностировать МЭЧ с использованием антигена *E.canis*. По данным Ravun с соавторами (1998) две из четырёх сывороток больных пятнистой лихорадкой Скалистых гор (ПЛСГ) перекрёстно реагировали в РНИФ с антигеном, полученным из инфицированной штаммом ГАЧ культуры клеток HL-60. С учётом значительного клинического сходства ПЛСГ и ГАЧ перекрёстная реактивность в РНИФ может

создавать определённые проблемы в верификации диагнозов этих инфекций, часто имеющих сопряжённые очаги.

К настоящему времени наборы для РНИФ выпускают фирмы Focus (MRL Diagnostics) и Panbio. Лабораторная диагностика в России с использованием разработанных в нашей стране диагностикумов до последнего времени отсутствовала. К настоящему времени разработаны тест-системы для выявления IgM- и IgG- антител к возбудителям ГАЧ и МЭЧ и тест-системы ПЦР для выявления анаплазм и эрлихий («Омникс», Санкт-Петербург).

Лечение и профилактика

Поскольку ГАЧ — потенциально серьёзная или даже летальная инфекция, ранняя диагностика и лечение имеют жизненные показания. Эмпирическая превентивная антибиотикотерапия до лабораторного подтверждения проводится, если нет возможностей экспресс-диагностики. Больные из очаговых по ГАЧ территорий с проявлениями неясной лихорадки, недомогания, напояния или присасывания клещей, с тромбоцитопенией и (или) лейкопенией, повышенным уровнем сывороточных аланин - и аспартаттрансаминаз должны быть заподозрены на эту инфекцию.

Для лечения оказался эффективным доксициклин в дозе 100 мг 2 раза в день в течение 10–21 дня.

Как и при других клещевых инфекциях, при ГАЧ и МЭЧ применимы меры неспецифической профилактики и противоклещевые мероприятия. Специфическая профилактика в отношении ГАЧ и МЭЧ не разработана, в ветеринарной практике используют вакцины против анаплазмоза крупного рогатого скота (*A. marginale*).

1.8. Род *Neorickettsia* и *Wolbachia*

В состав рода включены *Neorickettsia sennetsu*, *Neorickettsia risticii*, *Neorickettsia helminthoeca*, *Stellantchasma falcatus* (SF) agent, *N. elokominica*. Из них только *Neorickettsia sennetsu* вызывает заболевание у людей — лихорадку сеннетсу.

Лихорадка сеннетсу

Эта инфекция встречается на южных островах Японии (Кюсю, Сикоко), известна под различными названиями (эпидемический инфекционный мононуклеоз, железистая лихорадка) с 1880 г. В 1915 г. отмечена вспышка в префектуре Кумамото (остров Кюсю). Возбудитель был выделен из крови, лимфатических узлов и костного мозга больных и описан как «риккетсия» *R.sennetsu* в 1953–1956 гг. (Misao, Kobayashi, Fukuda и др.). Его можно культивировать на культурах макрофагальных или эпителиальных клеток, в организме белых мышей при внутрибрюшинном заражении (накопление в перитонеальных макрофагах, в селезёнке).

По морфологии неориккетсии, как и другие представители семейства *Anaplasmataceae*, представляют мелкие кокковидные или овоидные микроорганизмы, имеющие тёмно-голубой или пурпурный цвет при окраске по Романовскому-Гимза. Они выявляются в вакуолях (эндосомах) клеток моноцитарного ряда в виде компактных скоплений, по конфигурации напоминающих ягоды тутового дерева и называемых «морулы».

Заболевания лихорадкой сеннетсу связаны с употреблением в пищу термически не обработанной рыбы. Предполагается заражение человека и собак через метацеркарии трематод лососевых рыб. Попадание *R.sennetsu* через рот с входными воротами инфекции в области рта и глотки приводит к увеличению заднешейных и заднеушных лимфатических узлов на пятый–седьмой дни болезни с последующей генерализацией инфекционного процесса с поражением костного мозга, лейкопенией и лимфоаденопатией.

Для лихорадки сеннетсу наиболее характерны: лихорадка с подъёмом температуры до 38–39 °С, генерализованная лимфоаденопатия, повышенное содержание моноцитов в крови. В ряде случаев отмечают гепатоспленомегалию и увеличение уровня печёночных ферментов — аспартатаминостраниферазы и аланинаминотрансферазы. Окончательный диагноз определяют с учётом клинических и эпидемиологических данных с серологическим исследованием сывороток крови больных и реконвалесцентов в реакции непрямой иммунофлюоресценции со специфическим корпускулярным антигеном. Лечение проводят препаратами тетрациклинового ряда, прогноз благоприятный.

Лихорадка Потомак

Лихорадка лошадей Потомак впервые выявлена у лошадей в 1979 г. на пастбищах вдоль реки Потомак, далее — во многих регионах, преимущественно в США и Канаде. *N.risticii* — возбудитель лихорадки лошадей Потомака, найден в трематодах пресноводных улиток. Трематоды (Pleuroceridae: *Juga* spp.) имеют пять личиночных стадий в жизненном цикле: мирацидиум, спороцисты, редии, церкарии, метацеркарии. Улитки являются первыми промежуточными хозяевами трематод, в которых спороцисты развиваются в редии и церкарии. Вторыми промежуточными хозяевами, в которых выявляют метацеркарии нематод, инфицированные *N.risticii*, являются водные насекомые. Основные хозяева этой неориккетсии — лошади и собаки, у которых возбудитель поражает моноциты, энтероциты, тучные клетки. Предполагается природный цикл *N.risticii* с заражением основного хозяина через метацеркарии трематод из сырой рыбы и пресноводных улиток. У лошадей лихорадка Потомак проявляется лихорадкой, депрессией, анорексией, водянистой диареей, дегидратацией, коликами, лейкопенией. Выявлено наличие перекрёстных антител к *R.sennetsu*. Патогенность *N.risticii* для человека не установлена.

Другие инфекции, вызванные неориккетсиями

N.helminthoeca вызывает тяжёлое, часто летальное заболевание собак, называемое «salmon poisoning» (отравление лососевыми рыбами). Заражение происходит за счёт метацеркарий трематод *Nanophyetus salmincola*, паразитирующих в лососевых рыбах. Основной мишенью для *N.helminthoeca* у собак являются макрофаги. Инфекция выявлена в США (Северная Калифорния, Вашингтон, Орегон, Идахо).

N.elokominica вызывает «Elokomín fluke fever», поражающую преимущественно собак. У собак эта неориккетсия инфицирует макрофаги. Основной беспозвоночный хозяин — трематоды, у которых *N.elokominica* передается трансовариально. Инфекция выявлена в США (штат Вашингтон).

«*SF agent*» выявлен в трематодах *Stellantochasmus falcatus* в Японии.

Род *Wolbachia*

Wolbachia spp. были впервые описаны в 20-х и 30-х годах XX века Hertig и Wolbach как микроорганизмы, инфицирующие овариальные органы moskitov, принадлежащих к *Culex pipiens* комплексу. Поэтому типовой вид получил название *Wolbachia pipientis*. Представители этого рода наиболее распространены по сравнению с другими родами семейства *Anaplasmataceae*. Вольбахии известны как внутриклеточные симбионты насекомых, арахнидов, crustaceans и нематод. *Wolbachia spp.* передаются трансвариально у специфических беспозвоночных хозяев и влияют на их репродукцию, в ряде случаев способствуя функциональной феминизации генетических «самцов». От 15 до 30 % видов насекомых содержат *Wolbachia spp.* Вольбахии выявлены у многих видов филяриальных нематод, имеющих медицинское и ветеринарное значение (*Dirofilaria immitis*, *Brugia malayi*, *Wuchereria bancrofti*, *Onchocerca volvulus*). Хотя неизвестна способность вольбахий инфицировать клетки позвоночных, их можно найти в мазках крови позвоночных животных, инвазированных червями-филяриями. Имеются экспериментальные данные, свидетельствующие о возможном участии вольбахий в иммунопатологических реакциях, возникающих при некоторых филяриозах (*Brugia malayi*) у человека.

2. АНАПЛАЗМОЗ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

На современном этапе развития агропромышленного комплекса перед работниками ветеринарной службы ставятся ответственные задачи, а именно, профилактика и борьба с болезнями инфекционной этиологии для обеспечения выпуска высококачественной безопасной в санитарном отношении продукции. Среди инфекционных болезней, которые до настоящего времени изучены недостаточно хорошо, особое место занимают трансмиссивные инфекции.

Анаплазмоз (гранулоцитарный) крупного рогатого скота — трансмиссивная, природно-очаговая болезнь, протекающая с явлениями глубокой анемии аутоиммунной природы и истощения, вызываемая возбудителями из рода *Anaplasma*. Болезнь распространена во всех частях света и наносит животноводству значительный экономический ущерб в результате резкого снижения продуктивности и гибели крупного рогатого скота (Казаков Н. А., 2003).

Длительное время считалось, что анаплазмы и эрлихии вызывают болезни только у животных и не представляют опасности для человека. В настоящее время доказано развитие у человека заболеваний, вызываемых представителями семейства *Anaplasmataceae* — лихорадки Сеннетсу (*Neorickettsia sennetsu*), моноцитарного эрлихиоза (*Ehrlichia chaffeensis*) и гранулоцитарного эрлихиоза.

На территории Алтайского края, на фоне роста заболеваемости клещевым риккетсиозом (КР), часть случаев «серонегативного КР» была верифицирована нами с использованием реакции непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ) как гранулоцитарный эрлихиоз.

Из обследованных территорий юга Западной Сибири отдельные районы Алтайского края и Новосибирской области характеризуются высоким уровнем заболеваемости КР. Это заболевание также регистрируют в некоторых районах Тюменской и Курганской областей. Эпидемически значимыми переносчиками *R.sibirica* — этиологического агента КР — являются клещи рода *Dermacentor* (*D.nuttalli*, *D.marginatus*, *D.silvarum*), а также *Haemaphysalis concinna*. На обследованных территориях в зоне лесостепи ареалы *I.persulcatus* и клещей рода *Dermacentor* пересекаются. С учётом этого

особого внимания заслуживают находки антител к возбудителю ГАЧ в Алтайском крае у серонегативных в антителах *R.sibirica* больных с клиникой, типичной для этого риккетсиоза.

Основной вид анаплазм, поражающих крупный рогатый скот — *Anaplasma marginale*. Относится к роду *Anaplasma*, семейству *Anaplasmataceae* порядка *Rickettsiales*. До сих пор нет единого мнения, в каких клетках преимущественно локализуются различные анаплазмы. В частности, Yasuko Rikihisa (1996) пишет, что возбудитель *A.marginale* поражает клетки гранулоцитарного ряда. За основу систематизации она берёт локализацию возбудителя в клетках крови.

В связи с этим весьма актуальным являлось: изучение эпизоотической ситуации по анаплазмозу крупного рогатого скота в различных регионах Российской Федерации, определение таксономического положения возбудителя, эпизоотологической и эпидемиологической опасности данной болезни и роли членистоногих в передаче инфекции, для разработки профилактики и эффективных мер борьбы с ней.

У людей выявляют гранулоцитарный анаплазмоз человека (ГАЧ) — трансмиссивную зоонозную, остро протекающую лихорадочную болезнь, передающуюся при присасывании клещей и часто приводящую к летальному исходу, связанную с *Anaplasma phagocytophilum*. Клинические признаки анаплазмозов: синдром интоксикации, поражения органов и гематологические нарушения зависят от вида возбудителя (Рудаков Н. В. и др., 2001). До относительно недавнего времени анаплазмы и эрлихии были известны как возбудители болезней животных на ряде континентов, а проблема анаплазмозов интересовала только ветеринарных работников. Исследования в отношении анаплазмозов и эрлихиозов человека в России начаты в конце 90-х годов XX века. Выявление *Ehrlichia muris* и гранулоцитарных анаплазм в клещах *Ixodes persulcatus* в ряде регионов России, а также серологическая верификация диагнозов МЭЧ и ГАЧ у людей в различных федеральном округах, свидетельствуют об актуальности этой проблемы в Российской Федерации.

2.1. Этиологические и таксонометрические особенности

Возбудитель болезни — *Anaplasma marginale* — локализуется в эритроцитах, иногда его находят в лейкоцитах и тромбоцитах. При исследовании мазков крови, окрашенных по Романовскому-Гимза, обнаруживают круглые включения диаметром 0,2–1,2 мкм. Располагаются в эритроцитах (преимущественно на периферии, иногда ближе к центру). В одном эритроците может быть от одного до четырёх включений. Поражённость эритроцитов составляет 3–40 %, иногда до 80 %.

С помощью электронного микроскопа было установлено, что анаплазмы состоят из нескольких «инициальных тел» (Ristic, 1960). В. М. Петешев (1975) такие скопления паразитов назвал колониями, а Л. П. Дьяконов и А. А. Авакян (1970) — микроколониями. Таким образом, более крупные включения состоят из нескольких особей. Их число определяет форму колонии. При наличии двух паразитов колония имеет вытянутую форму, трёх — треугольную, четырёх — четырёхугольную, свыше четырёх — округло-угловатую.

Ristic (1960), Л. П. Дьяконов и А. А. Авакян (1970) изучив *A. marginale* с помощью электронного микроскопа, пришли к выводу, что анаплазмы в процессе развития имеют три формы: 1) классическое тело, включение (0,3–1 мкм); 2) инициальное (начальное) тело, или частичка классического включения (0,3–0,4 мкм); 3) полигедральное тело — частичка инициального тела (0,09–0,12 мкм). При этом Ristic (1960) отмечает, что «инициальные тела» — инвазии, т. е. им присущи все признаки самостоятельного паразита. Результаты изучения морфологии паразитов, размножающихся *in vitro*, с учётом наблюдений данного учёного, позволили сделать вывод, что включение, состоящее из нескольких «инициальных тел», представляет собой не одного паразита, а целую колонию.

Mazzola V. и др. (1979) в своих электронно-микроскопических исследованиях установил, что *Anaplasma marginale* способна сохраняться в клетках комара (*Aedes albopictus*) в течение 60 дней (срок наблюдения).

Анаплазмы размножаются простым делением и почкованием, формируя колонии из 2–8 особей. При электронно-микро-

скопическом исследовании обнаружены так называемые инициальные тельца, состоящие из микроколоний, окружённые двухслойной плазменной оболочкой. Эти тельца могут переходить из эритроцитов через мембрану и снова внедряться в здоровые эритроциты.

Анаплазмы проникают в кишечник клещей с кровью, где и размножаются. Передача анаплазм происходит трансфазно и трансовариально. Кровососущие членистоногие могут переносить анаплазм от одних животных к другим в процессе питания кровью, однако в их организме они не размножаются.

Размножаются они в эритроцитах путём перетяжек. Уровень паразитемии может достигать 80 %. Размножение происходит в четыре стадии: 1) медленное нарастание количества поражённых эритроцитов, в течение двух недель; 2) логарифмический рост численности организмов в течение полутора недель, характеризующийся размножением анаплазм и ежедневным увеличением их численности в два раза; 3) угасание процесса паразитемии; 4) хроническое течение и анаплазмоносительство, может продолжаться годами.

И. И. Мяло (1957) занимался выяснением вопроса о сроках выживаемости и патогенности анаплазм (*Anaplasma ovis*) при сохранении *in vitro*. На основе проведённой работы он пришёл к следующим выводам:

1. Анаплазмы устойчивы к неблагоприятным условиям внешней среды. Они сохраняются в цитратной крови при температуре 3–5 °С до 94–104 дней, в глюкозо-сахарозоцитратном растворе при той же температуре — 334 дня. В процессе хранения отмечено деление анаплазм на 2, 3 и 4 особи и уменьшение их величины с 0,6–0,8 до 0,3–0,4 мкм.

2. В цитратной крови анаплазмы сохраняют свою патогенность до 82 дней.

3. Выживаемость и патогенность анаплазм при сохранении *in vitro* зависит от того, в начале или в конце заболевания была взята кровь и насколько сильно была выражена клиника анаплазмоза у овцы-донора. Наиболее продолжительно анаплазмы сохраняются в крови, взятой на высоте паразитарного приступа у тяжелобольных анаплазмозом овец.

Овсянникова Ю. П. (1990) на основании проведённых исследований отметила, что при длительном хранении (срок наблюдений 5 лет) в 199-й среде *Anaplasma ovis* имеет самые разнообразные формы, величина паразитов от 0,5 до 1,0 мкм. При этом возбудитель сохраняет инвазионные свойства и вызывает заболевание овец.

Возбудители семейства *Anaplasmataceae* — облигатные внутриклеточные микроорганизмы с уникальной специфичностью к клеткам хозяина. В зависимости от разновидности они инфицируют определённые клетки: гранулоциты, эндотелиальные клетки, моноциты, макрофаги, красные клетки крови и клетки костного мозга. Эта уникальная специфичность к клеткам хозяина одновременно является главным препятствием для культивирования этой группы микроорганизмов в лабораторных условиях.

Поскольку они не могут жить вне клетки хозяина, когда-то вышедшие из клеток хозяина, они должны быстро стимулировать сигналы для внедрения в другую клетку хозяина, уникальную к каждой разновидности. Когда они взаимодействуют с клетками хозяина, сигналы преобразуются и внутри клеток хозяина, и внутри бактерий. Сигналы, преобразованные внутри микроорганизмов, позволяют им точно настраивать их метаболизм и физиологию в новой окружающей среде клетки хозяина, так, чтобы их пребывание не повредило физиологию клетки хозяина, пока они недостаточно размножились (Rikihisa Y., 1991, 2003).

2.2. Диагностика анаплазмозов животных

При постановке диагноза учитывают эпизоотологические данные, клинические признаки, а также исследуют мазки крови, окрашенные по Романовскому-Гимза, на наличие анаплазм. Разработаны серологические методы диагностики: РА, РСК, РИФ (Акбаев М. Ш., 1998). Для определения животных-носителей используются реакции связывания комплемента и агглютинации; также используется РНИФ и выявление ДНК возбудителя (Г. Уркхарт и др., 2000). Больные и недавно переболевшие животные дают положительную реакцию в титрах от 1:80 до 1:280 и выше, у паразито-

носителей — от 1:10 до 1:40. Уточнить диагноз можно также биопробой, для чего вводят 10–20 мл крови от подозреваемых в заражении животных здоровым (Дьяконов Л. П., 1985).

Микроскопический диагноз ставят на основании обнаружения возбудителя в мазках крови от больного и подозреваемого в заболевании животного. Мазки фиксируют метиловым (3–5 минут) или этиловым (20–25 минут) спиртом или смесью этилового спирта и серного эфира в равных количествах (10–15 минут). После высушивания их окрашивают по методу Романовского-Гимза, азурэозином или ускоренным способом по Шуренковой. Анаплазмы окрашиваются в тёмно-красный цвет. В отличие от телец Жюли они обычно бывают мельче и менее интенсивно окрашены. Не следует смешивать анаплазмы с базофильной зернистостью эритроцитов, которая в большинстве случаев проявляется множественностью разнообразных форм включения в одном эритроците (Дылько Н. И., 1977).

Вид анаплазм в световом микроскопе напоминает кокковидные формы риккетсий. Анаплазмы, как и риккетсии, являются внутриклеточными паразитами, однако первые размножаются в эритроцитах, а вторые — в эндотелиальных и мезотелиальных клетках.

Основным возбудителем анаплазмоза является *Anaplasma marginale*. Паразиты мелкие, от 0,3 до 0,8 мкм в диаметре. Форма округлая, точковидная. Возбудитель состоит из одного хроматинового вещества, окрашивается по Романовскому-Гимза в тёмно-красный цвет. В эритроците чаще располагается по краю. Число анаплазм в одном эритроците — 1–4. Заражённость эритроцитов может достигать 50 % и более (Дзасохов Г. С., 1959).

Эпизоотологические данные

Анаплазмоз крупного рогатого скота распространён во многих регионах России, Белоруссии, странах Балтии, Средней Азии, Латинской Америки (причём очагово). Анаплазмозом болеют, кроме домашних, дикие парнокопытные, филогенетически родственные крупному рогатому скоту, овцам, козам. Болеют как взрослые, так и молодняк. Наличие восприимчивых животных в дикой фауне, клещей-переносчиков и широкое паразитоносительство позволяет отнести анаплазмоз к природно-очаговым болезням.

Переносчиками возбудителя анаплазмоза являются иксодовые (11 видов) и аргасовые клещи, а также слепни, комары, мошки, мокрецы, мухи-жигалки и др. (Казаков Н. А., 2003). *Anaplasma marginale* — это риккетсия, развивающаяся в организме жвачных животных и иксодовых клещей (Ristic M., 1968). Передача возбудителя анаплазмоза крупному рогатому скоту осуществляется секретом слюнных желёз с помощью острого ротового аппарата приблизительно у 20 видов клещей, являющихся носителями данной болезни (Anthoni D. W. and Roby T. O., 1962; Kocan K. M. et al., 1981).

Е. И. Теплова и др. (1983), наблюдали клиническое проявление анаплазмоза в ряде хозяйств Новосибирской, Свердловской области и Алтайского края преимущественно в острой форме, в хозяйствах Амурской, Кемеровской области, Красноярского, Ставропольского края — в виде анаплазмонительства. Особенно тяжело болели нетели и первотёлки чёрно-пёстрой породы. Коровы и нетели болели в последние месяцы стельности или в первые дни после отёла. Преимущественно заболевание анаплазмозом крупного рогатого скота приходится на август–октябрь. Начало его совпадало с массовым лётom и нападением слепней. Кроме того, на больных животных обнаруживались в небольшом количестве клещи *Dermacentor reticulatus*.

Как отмечают П. М. Мордасов и П. А. Битюков (1968), анаплазмоз снижает надой молока в среднем по стаду на 27,3 %, а в период заболевания у некоторых коров происходят абортy, особенно во второй половине стельности. У быков заболевание может вызвать стерильность. По данным этих же исследователей, в Белоруссии из 1562 животных пало от анаплазмоза 12 и вынужденно убито 291 животное.

В большинстве случаев анаплазмоз протекает в ассоциации с возбудителями протозойных, бактериальных, вирусных инфекций, гельминтозов; инкубационный период при этом значительно сокращается, клинически болезнь проявляется в более тяжёлой форме (Казаков Н. А., 2003).

Е. М. Мирутян, А. А. Зацарян сообщают, что анаплазмоз крупного рогатого скота в ряде районов Армянской ССР проявляется в острой форме лишь при ассоциации с другими кровепаразитами или с возбудителями лептоспироза.

Переболевшие животные становятся паразитоносителями в течение последующих нескольких лет, а иногда на протяжении всей жизни, являясь основным источником инвазии в природе (Загородный М. В., 1973).

На территории Западной Сибири анаплазмоз крупного рогатого скота ранее официально не регистрировался. По данным В. А. Стрельчика, Ю. М. Гичева, В. И. Зайнчковского (2000), за последние 15 лет в ряде хозяйств Омской, Новосибирской и Тюменской областей отмечались периодические вспышки заболевания крупного рогатого скота с клиническими признаками анаплазмоза. Во всех случаях в мазках крови от больных животных они обнаруживали поражение эритроцитов анаплазмами.

По данным Рашидова А. А. (1975), в равнинной зоне Дагестанской республики анаплазмоз регистрируется с конца апреля по октябрь с наибольшим количеством больных в июле, августе и сентябре. Со второй половины сентября заболеваемость снижается.

В крови животных, больных анаплазмозом, часто обнаруживали антитела против возбудителей лептоспироза, Ку-лихорадки и хламидийных инфекций. А. А. Агаев и Н. М. Ширинов (1988) в Азербайджане почти в течение всего года регистрировали смешанную инфекцию (пироплазмоз и анаплазмоз). При этом в зависимости от активизации клещей заболеваемость отмечалась с конца апреля, в мае она нарастала, пик её проявления наблюдался в июне, в середине июля отмечали снижение заболеваемости и в конце августа следовало её уменьшение до минимума. Вторую вспышку регистрировали во второй декаде сентября, однако она была непродолжительной и к концу сентября снижалась. В спорадических случаях заболевание регистрировали и в зимние месяцы.

В периферической крови животных, больных анаплазмозом, возбудитель встречается как в чистой форме (горная зона Азербайджана), так и в смешанной инвазии с другими кровепаразитами (низменная и предгорная зона Азербайджана). Чаще всего наблюдается совместное течение анаплазмоза с тейлериозом, пироплазмозом и реже — с франсаиллэзом. В случае совместного течения анаплазмоза с другими болезнями вначале преобладают возбудители тейлериоза, пироплазмоза и франсаиллэза, а после выздоровления

в крови больных животных начинает нарастать количество анаплазм.

В большинстве случаев анаплазмоз протекает в ассоциации с возбудителями протозойных, бактериальных, вирусных инфекций, гельминтозов; инкубационный период при этом значительно сокращается, клинически болезнь проявляется в более тяжёлой форме. Так, будучи фоновой инфекцией, при пастереллёзе ягнят, вызываемом гемолитической пастереллой типа «А», анаплазмоз снижает резистентность животных, способствуя распространению и более тяжёлому течению пневмоний. Отмечены тяжёлые проявления анаплазмоза у молодняка крупного рогатого скота в ассоциации с лептоспирозом, листериозом и северным бабезиозом на фоне неблагополучия хозяйств по лейкозу.

По данным А. А. Агаева (1971), в условиях Азербайджанской республики, телята в возрасте до 6 месяцев переболевают анаплазмозом тяжело, смертность при этом достигает до 30 % и более. Молодняк старше 6 месяцев и до полутора лет переболевает в лёгкой форме и чаще без клинических признаков, тогда как животные в возрасте от полутора до трёх лет болеют с выраженными симптомами. Крупный рогатый скот в возрасте старше трёх лет переболевает тяжело.

Крупный рогатый скот местной породы в Узбекистане обладает более высокой иммунологической устойчивостью к анаплазмозу, чем животные чёрно-пёстрой и бурой латвийской пород (Абдуллаев У. А., и др., 1984).

Е. А. Belongia (2002), А. Hildebrandt и др. (2003) обнаружили в клещах *Ixodes scapularis* и *Ixodes ricinus* возбудителей двух инфекций (*Borrelia burgdorferi sensu lato* и *Anaplasma phagocytophilum*), вызывающих такие заболевания, как боррелиоз и гранулоцитарный анаплазмоз, протекающие в ассоциативной форме и вызывающие у жителей Нью-Йорка (США) и центральной части Германии клиническую форму болезни.

По наблюдениям А. А. Рашидова (1975), основными факторами, способствующими распространению анаплазмоза крупного рогатого скота в Дагестане, являются многочисленность видов клещей-переносчиков, условия ведения хозяйства (перегоны,

перевозки, завоз из других республик племенного скота), нарушения в проведении ветеринарно-санитарных мероприятий.

В предгорной зоне Северного Кавказа среди овец широко распространён анаплазмоз. Заболевание развивается в течение трёх-четырёх недель после выгона животных на пастбища и сопровождается снижением приростов массы, анемией, истощением. Анаплазмоз у ягнят предшествует развитию массовых пневмоний, основным возбудителем которых является гемолитическая пастерелла биотипа А (Шегидевич Э. А. и др., 1982).

Смешанные инвазии у овец, обусловленные кровепаразитами (*B. ovis*, *Th. recondite*, *A. ovis*), эймериями (*E. ninaehlyakimovae*, *E. faurei*), гельминтами (*F. hepatica*, *Chab. ovina*), в производственных и экспериментальных условиях протекают тяжелее моноинвазий: инкубационный период сокращается, усиливаются клинические признаки, больные животные нуждаются в комплексном лечении (Сулейманов С. А., 1982).

Анаплазмы могут передаваться трансплацентарно. Зимой в Краснодарском районе они обнаружены у двухнедельных телят. От больных анаплазмозом матерей (хотя нередко аборт в во второй половине беременности) и анаплазмоносителей, по мнению большинства исследователей, рождается здоровый молодняк, который, однако, при последующем заражении в 1–2-месячном возрасте болеет тяжелее молодняка аналогичного возраста, родившегося от здоровых матерей. Данное обстоятельство обусловлено, видимо, сенсibilизацией плода в период внутриутробного развития, так как аллергическая составляющая играет огромную роль в патогенезе заболевшей анаплазмозом матери (Казаков Н. А., 2003). Переболевшие животные становятся паразитоносителями в течение последующих нескольких лет, а иногда на протяжении всей жизни, являясь основным источником инфекции.

Клиническая картина и патогенез

При описании клинических признаков анаплазмоза крупного рогатого скота З. П. Корниенко-Конева (1957), Н. И. Степанова, Л. П. Дьяконов, Н. А. Казаков (1968) отмечали, что температура у больных анаплазмозом животных повышается до 40 °С и выше, затем снижается до нормы, а через некоторое время может повы-

шаться, что совпадает с наличием в крови анаплазм. Такое соотношение температурной реакции и уровня паразитемии часто затрудняет диагностику анаплазмоза. Подобное течение болезни было воспроизведено Е. И. Тепловой (1990). По её данным, развитие анаплазмоза у крупного рогатого скота происходит по двум типам. Первый — когда температурная реакция имеет один пик, что совпадает с нарастанием паразитемии, и заболевание, как правило, заканчивается выздоровлением. При другом — первый взлёт температуры соответствует нарастанию паразитемии, а в дальнейшем через неделю или две с развитием глубокой анемии наблюдается второй взлёт температуры при низкой паразитемии. По-видимому, второй взлёт температуры необходимо рассматривать как реакцию организма на анемию.

Попадая в организм восприимчивых животных, анаплазмы вызывают нарушения окислительно-восстановительных и обменных процессов. Для своего развития они используют фосфолипиды эритроцитов, уменьшение содержания фосфолипидов приводит к осмолитической хрупкости последних. Сокращается продолжительность жизни эритроцитов, усиливается эритрофагоцитоз. В активности последнего важную роль играют аутоантитела, образующиеся против антигенно-изменённых эритроцитов. Нарушается гемопоэз. Уменьшается содержание эритроцитов и гемоглобина в крови, что приводит к нарушению кислородного питания клеток и тканей. Развивается анемия. Гемоглобинурия бывает редко. В крови снижается содержание общего белка и альбуминов. После пика паразитемии ускоряется разрушение эритроцитов и прогрессирует анемия. В кровь поступает много незрелых и изменённых эритроцитов (анизо- и пойкилоцитоз, ретикулоцитоз, эритробластоз). Нарушение обмена веществ ведёт к интоксикации организма, воспалительным процессам, кровоизлияниям в органах и тканях. Развиваются сердечно-сосудистый и желудочно-кишечный синдромы.

Патологический процесс усугубляется образованием аутоантител против поражённых и антигенно-изменённых эритроцитов. Возрастание в 5–8 раз концентрации лейкокинина — фагоцитирующего фактора в сыворотке крови больных анаплазмозом и в период анемичного кризиса — указывает на участие его в патогенезе болезни.

Результаты исследований показали, что содержание Т-клеток в процессе заболевания сначала повышается в два раза, на 19–20-й дни снижается в два раза по сравнению с исходными показателями. Содержание В-клеток увеличивается на 7–8-й дни после заражения почти в три раза, а затем, на 20-й день, снижается. У животных с удалённой селезёнкой отмечена ингибция иммунного ответа на уровне Т-клеток на всём протяжении болезни (Т. Х. Рахимов, Т. А. Фаткулина, 1983).

В период нарастания паразитемии у овец отмечается иммунодепрессия Е-РОК крови, в то время как уровень В-РОК изменяется лишь в начале болезни (Т. А. Фаткулина и Т. Х. Рахимов, 1981).

Аллергический компонент входит важнейшим, а часто и определяющим фактором в патогенезе болезни, отягощая её клиническое проявление — глубокую анемию — основной и ведущий признак всего симптомокомплекса.

Известно, что одним из ведущих гематологических показателей при анаплазмозе помимо анемии являются структурные изменения эритроцитов — пойкилоцитоз и анизоцитоз. Эти изменения описаны многими исследователями: Д. Н. Заслухиным (1930), Н. И. Степановой (1960), И. В. Абрамовым и др. (1965), Е. И. Тепловой и Л. К. Лиховозом (1984).

Результаты дисперсного анализа эритроцитов по их объёму с помощью электронного счётчика частиц «Культер» показали, что с развитием экспериментального анаплазмоза количество макроцитов увеличивается на 25–37,8 % по сравнению со здоровыми овцами (Георгиу Х. и Зиневич Л. А., 1984).

Анаплазмоз крупного рогатого скота сопровождается глубокими изменениями комплекса биохимических показателей крови. Отмечаются снижение содержания общего белка на 10,7 %, альбуминов — на 20 % и бета-, альфа-глобулинов — на 26,6 %. С развитием болезни повышается активность АСТ, а после клинического выздоровления она понижается на 23,5 %. Аланинаминотрансфераза, наоборот, вначале понижается, а с выздоровлением увеличивается на 11,1 %. Уровень щелочной фосфатазы увеличивается в 2–3 раза, а уровень кислотной фосфатазы тесно связан с температурной реакцией организма. Так, с подъёмом температуры тела активность её повышается, с понижением — снижается. Клиническое проявление

болезни влечёт за собой и повышение количества рибонуклеиновой кислоты с 17,2 до 40,8 мг%. Количество ДНК в начале болезни снижается с 12,6 до 6,5 мг%, а затем колеблется в пределах 10,0–11,0 мг%. Показатели свободных аминокислот также носят ремитирующий характер. Увеличение суммарного содержания их чередуется с понижением (Абдуллаев У. А. и др., 1984).

По результатам опытов А. М. Ганиева (1971), при подкожном заражении инвазированной кровью интактного крупного рогатого скота инкубационный период варьировал от 14 до 46, а спленэктомированных животных — 10–14 суток. С появлением в эритроцитах первых анаплазм отмечались характерные клинические признаки болезни: повышение температуры тела, расстройство сердечной деятельности, учащение дыхания, общее угнетённое состояние. У некоторых животных наблюдалось серозное или слизистое истечение из носа, увеличение надколенных и предлопаточных лимфатических узлов. В последующие дни — бледность видимых слизистых оболочек и конъюнктивы глаз. У отдельных тёлочек на высоте паразитарной реакции наблюдалась желтушность непигментированных участков кожи. Температура тела у больных животных обычно имела ремитирующий характер, с резкими подъёмами до 40,5–41,5 °С, у большинства — не выше 40,9 °С. При высокой паразитемии (40–77 %) наблюдалась стойкая температурная реакция и только перед летальным исходом она снижалась до нормальной и субнормальной. Наряду с другими показателями значительные изменения при анаплазмозе претерпевало количество общего белка и соотношение белковых фракций в крови больных животных. С появлением анаплазм в эритроцитах содержание общего белка, бета- и гамма-глобулинов в сыворотке крови начинало уменьшаться, и с развитием паразитарной реакции общий белок продолжал падать, а фракция бета- и гамма-глобулинов удерживалась на том же уровне. Наибольшее снижение количества общего белка отмечалось на высоте паразитарной реакции.

А. А. Рашидов (1975) сообщает, что поражённость эритроцитов анаплазмами у естественно-больного анаплазмозом крупного рогатого скота в Дагестане незначительная, от 3–5 до 8–15 паразитов в поле зрения микроскопа. Клинические признаки болезни хорошо прослеживаются у экспериментально заражённых и спленэктомии-

рованных животных. У них развивается глубокая анемия, слизистые оболочки становятся бледно-розовыми и бледными. Количество эритроцитов снижается до 2,7–3 млн в 1 мм³, гемоглобина — с 10–12 г.% до 3–4 г.%. Число лейкоцитов часто возрастает в 1,5–2 раза в начале болезни, а к концу снижается до 4–5 тыс. в 1 мм³ крови.

Результаты гематологических исследований крупного рогатого скота красной степной и чёрно-пёстрой пород при экспериментальном анаплазмозе показали, что при данном заболевании не отмечается стойкий лейкоцитоз с лимфоцитозом, характерный для лейкозов. А обнаруженный относительный лимфоцитоз при анаплазмозе носит лишь кратковременный характер и через два–три месяца показатели крови нормализуются. В мазках крови, больных анаплазмозом животных не отмечаются бластные клетки, свойственные лейкозам, а обнаруживаются анаплазмоподобные включения (Салимов Х. С., Гафуров А., 1983).

К концу переболевания картина крови подвергается существенным изменениям. В циркулирующей крови больного крупного рогатого скота появляются полихроматофильные и базофильные эритроциты, отмечаются анизоцитоз, пойкилоцитоз. Изменения эти держатся до 15–20 дней, потом наступает стадия хронической инвазии или паразитоносительства, когда анаплазмы в крови обнаруживаются в значительно меньшем количестве и нерегулярно.

Клиническая болезнь проявляется в острой, подострой и хронической формах, а также в виде анаплазмоносительства. У молодняка крупного рогатого скота анаплазмоз протекает в лёгкой форме. Заболевание проявляется обычно одно-двухдневным подъёмом температуры до 40–41 °С, истощением, угнетением, паразитемией от 10 до 20 анаплазм на 100 полей зрения. Цвет слизистых оболочек от слабо-розового до бледного. Переболевшие животные приобретают иммунитет и остаются анаплазмоносителями.

Л. П. Артёменко (1967) при изучении клинической картины экспериментального и спонтанного анаплазмоза отмечает, что при тяжёлом течении болезни наступает угнетение, общая слабость, отказ от корма, атония желудочно-кишечного тракта, усиленная жажда, учащённое дыхание до 65 движений в минуту, отёки век, подгрудка, слизистое истечение из ноздрей. Моча у животных светло-

жёлтая, при тяжёлом течении в ней обнаруживали следы белка и большое количество индикана. Паразитарная реакция как у спонтанно больных, так и искусственно заражённых животных колебалась в широких пределах — от единичных анаплазм до 26–30 паразитов в одном поле. Самая высокая паразитемия у спонтанно больного составляла 36 %, у искусственно заражённого животного — 40,1 %. Однако, у большинства спонтанно больных животных она не превышала 10 %.

По данным сотрудников ИВМ ОмГАУ, в ряде хозяйств Омской области, в каждом случае проявления анаплазмоза крупного рогатого скота отмечались различия в клинико-морфологическом проявлении болезни, в возрасте заболевших животных и летальности. Так, при клиническом осмотре у коров они отмечали угнетение, анемию, желтушность слизистых оболочек и кожи молочного зеркала, мышечную дрожь, гипотонию и атонию преджелудков, повышение температуры тела до 40,5 °С. На коже коров обнаруживали десятки напившихся самок клещей рода *Dermacentor*. При гематологическом исследовании отмечают анизоцитоз, пойкилоцитоз, увеличение количества ретикулоцитов и поражение до 60 % эритроцитов *A. marginale*. У больных телят в возрасте 4–10 месяцев наблюдалось исхудание, атония преджелудков, прогрессирующая кахексия и анемия, залёживание, скрежет зубами, извращённый аппетит. В мазках крови от больных телят выявляли паразитемию с поражением от 10 до 80 % эритроцитов.

По сообщению Е. И. Тепловой и др. (1983), у больного анаплазмозом крупного рогатого скота температура тела повышалась до 41 °С. Наблюдалось резкое исхудание, угнетённое состояние, отказ от корма, желтушность видимых слизистых и кожных покровов, моча соломенно-жёлтого цвета. Количество эритроцитов снижалось до 1,3–3,8 млн.

Хроническое течение анаплазмоза проявляется в перемежающейся лихорадке. Животные плохо принимают корм, быстро устают при перегонах, не набирают массу тела. Наблюдается гипотония желудочно-кишечного канала. Уменьшается число эритроцитов, снижается содержание гемоглобина, слизистые оболочки становятся бледными. Отмечается базофильная зернистость, что считается

благоприятным прогностическим признаком. Тяжело болеет привозной скот, часто с летальным исходом.

К. К. Бейсембаев (2005), аспирант кафедры эпизоотологии ИВМ ОмГАУ, в ходе своей работы по изучению анаплазмоза крупного рогатого скота в Омской области наблюдал следующие клинические признаки: повышение температуры тела до 40,5 °С, расстройство сердечной деятельности, анемичность (иногда со слабо выраженной желтушностью) слизистых оболочек, исхудание животных. При тяжёлом течении болезни наступает угнетение, общая слабость, отказ от корма, атония желудочно-кишечного тракта, усиленная жажда, учащённое дыхание до 65 движений в минуту, отёки век, подгрудка, слизистое истечение из ноздрей.

При осмотре подозреваемых в заболевании телят он наблюдал следующие клинические признаки: очаговая поражённость кожного покрова с характерными признаками стригущего лишая, серозно-катаральный и гнойный конъюнктивиты, бледность слизистых оболочек ротовой и носовой полостей, серозно-катаральные бронхиты и бронхопневмонии. Гематологическими исследованиями установлено наличие анаплазм в эритроцитах у 60 % телят и у 90 % коров.

Картина красной крови характеризуется глубокими нарушениями костно-мозгового кровообращения, которое проявляется анизо-пойкилоцитозом, включениями типа ретикулярной сетчатости и анемией. Также отмечены реологические нарушения крови, проявляющиеся образованием «монетных» столбиков в результате потери заряда эритроцитами. Картина белой крови свидетельствует о дистрофических и литических процессах в лимфоцитах и нейтрофилах, характеризующихся ворсинчатостью ядер и набуханием внутриклеточных структур. В каждом мазке от больных животных регистрировали клетки (лимфоциты и моноциты) с признаками недостаточной зрелости. Изменения лейкоцитарного профиля проявлялись нейтрофилией и эозинофилией у больных телят и коров (табл. 2.1).

Как показывают наблюдения, после клинического проявления болезни (острого, чаще подострого) она переходит в анаплазмонительство, сопровождаемое периодическими рецидивами. Всем стадиям болезненного процесса, особенно в клинический период при рецидивах, присуще гиперактивное состояние костного мозга,

заканчивающееся в итоге его аплазией, т. е. неспособностью к кроветворению, приводящее нередко животное к гибели. Паразитемия колеблется в широких пределах — от 1–3 до 26–30 % заражённых клеток (в 100 полях зрения микроскопа). Однако у большинства инфицированных животных она не превышает 10 %.

Таблица 2.1

Морфологический состав крови у животных, подозреваемых на заражение анаплазмозом

№ п/п	Показатели	Количество исследованных гол./% положительно реагирующих животных	
		телята	коровы
1	Лимфоцитоз + незрелые лимфоциты и моноциты	10/100	10/100
2	Зернистость цитоплазмы и ворсинчатость ядер нейтрофилов	7/70	5/50
3	Тромбоцитоз	2/20	–
4	Анизцитоз	4/40	–
5	Пойкилоцитоз	3/30	–
6	Анаплазмы в эритроцитах	6/60	9/90
7	Нейтрофилия	1/10	1/10
8	Эозинофилия	2/20	1/10
9	Увеличение количества сегментоядерных клеток	1/10	–
10	Эритроцитарные монетные столбики	–	1/10

Примечание: 10 голов телят в возрасте 5 месяцев, 10 голов коров в возрасте от 3 до 8 лет.

Изучение возможности пассирования анаплазм в организме лабораторных животных имеет как теоретическое, так и практическое значение.

А. М. Ганиев (1971) на основании своих исследований показал, что при пассажировании на кроликах *A.marginale* переживают в первом и во втором пассажах, а затем не обнаруживаются. Материалом от пассажей не удаётся вызвать переболевание крупного рогатого скота анаплазмозом.

К. К. Бейсембаев (2005) при проведении опытов по заражению белых мышей возбудителем анаплазмоза крупного рогатого скота использовал клинически здоровых особей в возрасте 1–1,5 месяцев, весом 12–14 г (по 5 голов в каждой группе). Для заражения белых мышей автор использовал кровь от больных анаплазмозом телят,

которую вводил внутривенно по 1 мл на голову инфицированной крови.

После первого заражения через 10 дней в крови мышей были обнаружены единичные включения в эритроцитах, расположенные по периферии клетки. Ещё через 20 дней одна из пяти заражённых белых мышей, в крови, которой находились анаплазмы, погибла. После исследования в мазках были обнаружены анаплазмы, причём паразитемия составляла 8–10 %.

При повторном заражении мышей кровью и суспензией, взятых от больных анаплазмозом мышей, гибель у мышей, заражённых инфицированной кровью, наступила уже через 10 дней, а в крови были обнаружены анаплазмы. У мышей, заражённых суспензией, гибель наступила на следующий же день после заражения, а в мазках-отпечатках в эритроцитах были обнаружены включения (анаплазмы).

При вскрытии лабораторных животных после повторного заражения обнаруживали резкую реакцию паренхиматозных органов. Селезёнка, печень, сердце, почки были увеличены. Селезёнка в состоянии гипертрофии, края разреза не сходятся, селезёнка тёмно-вишнёвого цвета, пульпа сглажена. Края печени округлые, с пятнами глинистого цвета, в области пятен тестоватой консистенции края разреза не сходятся. Сердечная сумка напряжена, плотно прилегает к сердцу, почечная капсула напряжена, края разреза не сходятся. Причём у мышей, заражённых кровью, на вскрытии в основном реагировала селезёнка, а у мышей, погибших от заражения суспензией, всегда реагировали селезёнка, печень, сердце.

Для исключения сопутствующих и ассоциативных инфекций, таких как хламидиоз, ИРТ–ПВВ, лептоспироз, сальмонеллёз, пастереллёз, автором был исследован патологический материал (селезёнка, печень, сердце, почки) от больных мышей, которые дали отрицательный результат на данные инфекции.

Патологоанатомическая картина

М. Е. Кондратьев с соавторами (Ульяновский СХИ, 1988) сообщает, что в животноводческом комплексе молочного направления у переболевших и явно больных коров в печени, селезёнке, сердце, почках, желудочно-кишечном тракте были обнаружены

типичные для анаплазмоза изменения. При морфологическом исследовании гистосрезов подозрения подтвердились. В печени отмечали крупноочаговую жировую инфильтрацию и жировую деструкцию; в почках проявлялась картина интерстициального и некротического гломеруло- и тубулонефрита; в сердце — зернистая дистрофия и интерстициальный миокардит; в селезёнке — атрофия лимфофоликулов, разrost ретикулярной ткани; в лёгких — серозно-катаральная и катарально-фибринозная пневмония. В окрашенных мазках, от всех восьми животных с выраженными клиническими признаками, в эритроцитах выявляли округло-овальные включения размером 0,2–0,6 мкм.

Трупы животных были сильно истощены, слизистые анемичны, в некоторых случаях с желтушным оттенком. Кровь светлая, водянистая, сгустки рыхлые. Сердце увеличено, мышца дряблая, под эпикардом — кровоизлияния. Лёгкие эмфизематозны. Селезёнка увеличена, размягчённой или плотной консистенции, иногда с кровоизлияниями. Печень увеличена, желтушная, с виду пятнистая. Желчный пузырь увеличен и наполнен густой желчью. Почки на разрезе желтовато-тёмного цвета, иногда с кровоизлияниями в корковом слое и почечной лоханке. Мочевой пузырь растянут, заполнен мутной, желтоватого цвета мочой.

Анаплазмоз животных характеризуется выраженной анемией, гемосидерозом, диффузной пролиферативной реакцией ретикулоэндотелия и обще-токсическими изменениями в виде геморрагического диатеза и дистрофии паренхиматозных органов и клеток центральной нервной системы.

В своих опытах А. М. Ганиев (1971), при изучении особенностей патологоанатомических изменений экспериментально заражённых *A. marginale* крупного и мелкого рогатого скота установил, что патологоанатомическая картина у павших и вынужденно убитых животных в основном совпадала: слизистые оболочки, подкожная клетчатка и серозные покровы были окрашены в лимонно-жёлтый цвет. В сердечной сорочке находили нити фибрина и паренхиматозную дегенерацию сердечной мышцы. В печени и почках — дегенерацию и венозный застой. В лёгких — резко выраженный отёк. У мелкого рогатого скота при вскрытии устанавливали набухание лимфатических узлов, гиперемия сосудов твёрдой

оболочки головного мозга, незначительные дегенеративные изменения в печени, почках и сердечной мышце.

По данным Н. А. Анищенко (1960), патологоанатомические изменения при анаплазмозе крупного рогатого скота в Белоруссии при остром течении болезни со смертельным исходом выражаются общей анемией, бледно-желтушным окрашиванием видимых слизистых оболочек кожи, светло-красными студенистыми инфильтрациями подкожной клетчатки в области пахов. Внутренний жир лимонно-жёлтого цвета. Селезёнка увеличена в 3–4 раза, дряблой консистенции, на разрезе пульпа тёмно-вишнёвого цвета, крупнозернистая, слегка растекающаяся. Печень увеличена, охряно-бурого цвета. Желчный пузырь увеличен и свешивается ниже края печени на 10–15 см, переполнен тёмно-коричневой густой желчью. Портальные лимфатические узлы желтушного оттенка. Корковый слой почек окрашен в коричневый цвет. Мочевой пузырь переполнен. Точечные кровоизлияния под эпикардом и капсулой селезёнки, на печени и плевре. Сердце расширено, мышца дряблая, с сероватым оттенком. В периферических сосудах не свернувшаяся кровь. Мозговые оболочки гиперемированы, белое вещество головного и спинного мозга имеет желтушный оттенок.

При патологоанатомическом исследовании трупов животных, погибших от анаплазмоза, Е. И. Тепловой и Л. К. Лиховозом (1984) отмечено следующее: труп истощён, подкожная клетчатка и серозные оболочки желтушны, сердце увеличено, под эпикардом полосчатые и точечные кровоизлияния, печень глинистого цвета, ломкая, желчный пузырь растянут и наполнен густой желчью, селезёнка увеличена.

При гистологическом исследовании у всех больных животных установлено уменьшение количества гемосидерина в селезёнке (в первые дни болезни), отмечается гемосидероз печени, почек, лёгких, лимфатических узлов (портальных, бронхиальных, средостенных). Поверхностные лимфатические узлы содержали меньше гемосидерина. У многих животных находили бурую атрофию миокарда, застойную желтуху, гломерулонефрит и нарушение жирового обмена, выражающееся в жировой дистрофии паренхиматозных органов. В головном мозгу устанавливали увеличение количества клеток микроглии, перицелюлярное расположение их вокруг пира-

мидалльных клеток коры. В солнечном сплетении часть нервных клеток вакуолизируется и отмечается нейронофагия.

По данным сотрудников ИВМ ОмГАУ, в случае проявления анаплазмоза крупного рогатого скота в хозяйствах Омской области при вскрытии трупов, обнаруживали: общую анемию, желтушность слизистых оболочек и серозных покровов, отёк подкожной и межмышечной клетчатки, серозную атрофию жира естественного депо, дистрофию печени, дистрофию и гипертрофию миокарда, переполнение желчного пузыря жидкой жёлтого цвета желчью, жидкую прозрачную кровь, иногда с пузырьками газа. У всех животных отмечалось переполнение преджелудков плотными кормовыми массами. Селезёнка во всех случаях была увеличена. При этом у отдельных коров она было увеличена в 4–5 раз, и пульпа её была сильно размягчена. Кроме того, у всех животных резцы были стёрты до основания, на языке имелись изъязвлённые участки, внедрившиеся в толщу языка щепки, в преджелудках было найдено большое количество щепок и щебня. В мазках-отпечатках из печени и селезёнки, кроме анаплазм в эритроцитах, обнаруживали кокковую микрофлору, а у отдельных животных и клостридии. При вскрытии у всех погибших телят обнаруживали лобарную крупозную пневмонию, серозно-воспалительные отёки подкожной клетчатки нижней части головы, шеи, подгрудка, серозно-геморрагический лимфаденит средостенных и предлопаточных лимфоузлов, переполнение преджелудков плотным сухим содержимым, кровоизлияния на серозных покровах, дистрофию печени и переполнение желчного пузыря жидкой желтого цвета желчью. Селезёнка во всех случаях не была увеличена. В мазках-отпечатках из лёгких, лимфоузлов и селезёнки обнаруживали многочисленные пастереллы, а в мазках крови — анаплазмы. Количество поражённых эритроцитов колебалось у разных животных от 30 до 40 %.

Микроскопия

Микроскопический диагноз ставят на основании обнаружения паразитов в мазках крови от больного и подозреваемого в заболевании животного. Мазки фиксируют метиловым (3–5 минут) или этиловым (20–25 минут) спиртом или смесью этилового спирта и серного эфира в равных количествах (10–15 минут). После высушива-

ния их окрашивают по методу Романовского-Гимза, азури-эозином или ускоренным способом по Шуренковой. Анаплазмы окрашиваются в тёмно-красный цвет. В отличие от телец Жоли они обычно бывают мельче и менее интенсивно окрашены. Не следует смешивать анаплазмы с базофильной зернистостью эритроцитов, которая в большинстве случаев проявляется множественностью разнообразных форм включения в одном эритроците.

Вид анаплазм в световом микроскопе напоминает кокковидные формы риккетсий. Анаплазмы, как и риккетсии, являются внутриклеточными паразитами, однако первые размножаются в эритроцитах, а вторые — в эндотелиальных и мезотелиальных клетках.

Основным возбудителем анаплазмоза является *Anaplasma marginale*. Паразиты мелкие, от 0,3 до 0,8 мкм в диаметре. Форма округлая, точковидная. Анаплазмы окрашиваются по Романовско-Гимза в тёмно-красный цвет, в эритроците чаще располагаются по краю. Число анаплазм в одном эритроците 1–4, заражённость эритроцитов может достигать 50 % и более.

Г. Г. Гасанов (1968) при изучении морфологии анаплазм в Азербайджане, установил, что возбудитель анаплазмоза крупного рогатого скота в окрашенных по Романовскому-Гимза мазках крови имеет округлую, кокковидную, иногда овальную или треугольную форму и располагается преимущественно в краевой части эритроцита, реже эксцентрично. Количество паразитов в одном эритроците может достигать 6–8, паразитарная реакция при спонтанном заболевании анаплазмозом доходит до 40–90 % поражения эритроцитов.

В результате проведённых исследований по изучению экспериментального анаплазмоза крупного рогатого скота А. М. Ганиев (1971), установил, что в люминесцентном микроскопе анаплазмы дают жёлто-зелёное свечение и имеют округлую или овальную форму. Ядро лейкоцитов светится тёмным горящим светом, кровяные пластинки дают бледно-оранжевое свечение, а эритроциты остаются тёмными.

Анаплазмы продолжают светиться в окрашенных мазках до 2,5 месяцев, но в дальнейшем флуоресценция паразитов заметно слабеет. В мазках крови, хранившихся в фиксированном виде

больше года, анаплазмы светились также интенсивно, как и в свежеприготовленных мазках.

Серологическая диагностика

Применение иммунологических реакций при кровепаразитарных болезнях издавна интересовало исследователей, так как этими методами, помимо клинически выраженного заболевания, можно безошибочно выявить скрытое паразитоносительство, которое имеет довольно широкое распространение и препятствует оздоровлению благополучных хозяйств. Первые опыты по доказательству наличия антител при тейляриозе крупного рогатого скота осуществил Lechtenheld D (1911). Серологические методы диагностики при анаплазмозе крупного рогатого скота впервые использовали К. Е. Price, L. J. Poelma and Farber (1952). В последующие годы L. O. Moot and D. W. Gates (1949–1953), James G. Milier (1954); Pyff, Franglin (1960), M. Ristic (1962), K. Kuttler (1963) и другие доказали практическую ценность и высокую специфичность этой реакции для диагностики больных анаплазмозом животных и паразитоносителей.

У овец впервые серологическую диагностику применил E. Splitter et al. (1955). В России эти реакции при анаплазмозе крупного рогатого скота и овец впервые начали проводить в 1959 г. в лаборатории протозоологии ВИЭВ. Исследованиями Н. И. Степановой (1961), Т. Х. Рахимова (1965), С. Н. Слипченко (1969) были подтверждены специфичность антигенов *A. marginale* и *A. ovis* и диагностическая ценность серологического теста при анаплазмозе и анаплазмоносительстве рогатого скота. Установлено, что РСК чувствительна и специфична при анаплазмозе и выявляет до 98 % анаплазмоносителей. Кроме того, С. Н. Слипченко (1969), сравнивая диагностическую ценность РСК и РДСК при анаплазмозе овец, отдаёт предпочтение последней реакции.

РДСК также является высокоспецифичной серологической реакцией, позволяющей выявлять больных животных и анаплазмоносителей и, что не менее важно, судить в известной мере об иммунологическом состоянии животных. А. М. Ганиев (1971), при использовании реакции связывания комплемента для диагностики анаплазмоносительства и анаплазмоза установил, что она является

высококочувствительной и специфической реакцией. Она даёт возможность выявлять заражённых анаплазмозом животных в инкубационном периоде (на 6–10-й день), больных и паразитоносителей спустя длительное время после переболевания (свыше двух лет).

Для выявления скрытых носителей анаплазм Н. И. Степанова (1961) использовала РСК, биопробу на восприимчивых животных и удаление селезёнки. Реакция связывания комплемента является ценным методом для диагностики анаплазмоза и анаплазмоносительства, особенно для выявления очагов анаплазмоносительства крупного рогатого скота.

По данным Vidwell et al., (1977), из более чувствительных сероиммунологических тестов, требующих меньшего расхода антигена, наиболее полно отвечает этим условиям реакция энзим-меченных антител, требующая в отличие от РСК растворимого анаплазменного антигена.

Разработаны методы получения высокоактивных антигенов из *A. ovis*, *A. marginale*, и *N. eaqi* и специфических антисывороток к ним, для серологической диагностики анаплазмоза рогатого скота и нутталиоза лошадей в РДСК, РНГА и ИФА. Впервые установлено наличие общих антигенных свойств в структуре *A. ovis* и *A. marginale*, позволивших разработать и внедрить РДСК, ИФА с единым антигеном из *A. ovis* для серологической диагностики анаплазмоза парнокопытных жвачных. Серологические методы РНГА и ИФА разработаны впервые при анаплазмозе рогатого скота, а ИФА — при нутталиозе лошадей. Показаны более высокая чувствительность и специфичность ИФА для выявления анаплазмоносителей и нутталиозоносителей.

Разработано и освоено производство наборов компонентов для иммуноферментной диагностики анаплазмоза рогатого скота и пироплазмидозов лошадей. Установлено, что реакция ИФА является более чувствительным серологическим методом диагностики анаплазмоза рогатого скота, выявляя на 27,7 % больше больных и недавно переболевших, чем РДСК, и на 16,8 % больше, чем РНГА.

Имеются также сообщения об эффективности при анаплазмозе крупного рогатого скота картовой агглютинации (Amerault T. et. al., 1981), реакции латекс-агглютинации — РЛА, агглютинации в капиллярных трубках — РАКТ и непрямой иммунофлуоресценции —

НРИФ (Montenegros T. S. et. al., 1985), непрямо́й реакции флуоресцирующих антител с окрашиванием комплемента в диагностике бабезиоза и анаплазмоза крупного рогатого скота и овец (Кюртов Н., 1983), реакции капиллярной агглютиниации (Norval R. A. et. al., 1984), картагглютинации — КА и непрямо́й реакции флуоресцирующих антител — РФА (Barbosa R. M. F. et. al., 1984), теста латекс-агглютинации — ЛА и непрямо́й реакции флуоресцирующих антител — РФА (James M. A. et. al., 1985; Георгиу Х., 1997).

В США и России при развёртывании исследований по изучению иммунологического состояния больных анаплазмозом животных отработывались методы получения биомассы возбудителя с целью использования его в качестве антигена. Впервые антиген был приготовлен из экстракта (на физиологическом растворе) инвазированных анаплазмами клещей (Rees S. W. and Mohler W. M., 1943). Но данный метод не имел практического применения, так как антиген оказался недостаточно специфичным и малоактивным. Позднее для приготовления антигена стали использовать кровь больных анаплазмозом животных, взятую на высоте развития паразитемии. Такая методика, хотя и была описана (Moot L. O. and Gates D. W., 1949), однако полученный антиген оказался недостаточно активным.

К. Е. Price, L. J. Poelma and J. E. Farber (1952), R. Schindler (1966) получали анаплазмозный антиген путём отмыывания эритроцитов крови от плазмы и лизиса их в дистиллированной воде. Освобождение анаплазм осуществлялось осаждением при длительном и многократном центрифугировании на суперцентрифуге.

В лаборатории протозоологии ВИЭВ антиген получали из крови заражённых животных (*A. marginale* и *A. ovis*) по усовершенствованной методике Н. И. Степановой (1961–1970).

Зарубежные исследователи: V. Mazzola (1980); M. Samish (1988); U. G. Munderloh (1996); E. F. Blouin et. al. (1998, 2002); J. T. Saliki et. al. (1998); S. J. Rodgers et. al. (1998); M. Leal (2000); K. M. Kocan (2001); J. De la Fuente (2002) — для получения антигенной биомассы *Anaplasma marginale* использовали культуру клеток иксодовых клещей или бычьих эритроциты для их культивирования. S. D. Waghela et. al. (1997) для культивирования *Anaplasma*

marginale использовали бычьи эритроциты с эндотелиальными клетками.

О. П. Ананьева и Т. Т. Сулейменова (1984) сообщают, что наибольшей активностью обладали корпускулярный антиген и растворимый антиген, приготовленный с помощью неионного детергента тритона X-100 (дезинтегрирующий агент). Отличаясь максимальной активностью, они не обладали антикомплементарными и гемотоксичными свойствами. Хороший солубилизирующий эффект давал низкочастотный ультразвук; при этом значительная часть иммунологически активных биополимеров была связана с корпускулами паразита. Тритон X-100 позволяет полностью перевести в растворимое состояние иммунологически активные компоненты *Anaplasma ovis*.

Х. Георгиу (1982) в ходе своих опытов показал, что после спленэктомии переболевших анаплазмозом овец уровень комплементсвязывающих антител в сыворотке их крови резко снижается.

Обострение паразитарного приступа после спленэктомии животных в многочисленных опытах наблюдали О. Ф. Гробов (1961), Н. А. Казаков (1967). Большинство исследователей отмечает, что после спленэктомии у взрослых животных-носителей наступает рецидив, а молодняк, который в большинстве проявляет только слабые симптомы болезни, становится восприимчивым к острому течению анаплазмоза. Обострение носительства наступает не сразу после удаления селезёнки, а через определённый период.

Многочисленными опытами, проведёнными в лаборатории протозоологии ВИЭВ (Н. И. Степанова, Л. П. Дьяконов, Н. А. Казаков, 1968), установлено, что у спленэктомированных животных при микроскопической диагностике установлено увеличение количества анаплазм начинается с 4–5-го дня после операции, в последующие двое–трое суток отмечается 3–5 паразитов в поле зрения микроскопа, а затем ежедневно происходит удвоение их числа. На 10–22-й день после спленэктомии у овец наступает максимальная паразитемия (18–96 %).

В опытах Х. Георгиу и др. (1983) исходным материалом для получения антигена была кровь больных анаплазмозом животных. Для получения большей паразитемии заражали спленэктомированных животных, затем на первый–второй день после спленэктомии

они вводили им кровь от анаплазмоносителей. Использовали также анаплазмоносителей, которых спленэктомировали с целью обострения болезни и получения высокой паразитемии. Удаление селезёнки у переболевших животных всегда приводило к резкому повышению анаплазм в крови. При значительной паразитемии животных обескровливали.

У овец впервые серологическую диагностику применил E. Splitter et al. (1955). В России эти реакции при анаплазмозе крупного рогатого скота и овец впервые начали проводить в 1959 г. в лаборатории протозоологии ВИЭВ. Исследованиями Н. И. Степановой (1961), Т. Х. Рахимова (1965), С. Н. Слипченко (1969) были подтверждены специфичность антигенов *A. marginale* и *A. ovis* и диагностическая ценность серологического теста при анаплазмозе и анаплазмоносительстве рогатого скота. РСК более чувствительна и специфична при анаплазмозе и выявляет до 98 % анаплазмоносителей. Кроме того, С. Н. Слипченко (1969), сравнивая диагностическую ценность РСК и РДСК при анаплазмозе овец, отдаёт предпочтение последней.

РСК даёт возможность выявлять заражённых анаплазмозом животных в инкубационном периоде (6–10-й день), больных и паразитоносителей, спустя длительное время (свыше двух лет) после переболевания (А. М. Ганиев, 1971).

Из более чувствительных сероиммунологических тестов, требующих меньшего расхода антигена, наиболее полно отвечает этим условиям реакция энзиммеченных антител, требующая в отличие от РСК растворимого анаплазмозного антигена (Bidwell et al., 1977).

Генотипическая идентификация выделенных от больных животных культур и таксономическое положение полученных штаммов

В последние годы всё большее применение для изучения и идентификации альфа-протеобактерий находят генетические методы. Основными из них являются: анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов ДНК (ПДРФ), метод геномной дактилоскопии, анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов амплификационных фрагментов ДНК в полимеразной цепной реакции (ПДРФ в ДНК ПЦР), пульсовой гелевый электрофорез, метод

сравнения нуклеотидных последовательностей. Использование этих подходов позволило существенно углубить представления о таксономии альфа-протеобактерий.

При проведении двухраундовой полимеразной цепной реакции (ПЦР) в присутствии родоспецифичных праймеров среди образцов ДНК из селезёнок подозреваемых в заболевании анаплазмозом коров в хозяйствах Омской области анаплазмы были обнаружены во всех образцах.

В образцах от телят положительный сигнал был только после второго раунда ПЦР, а в образцах от крупного рогатого скота был сильный положительный сигнал и после первого раунда ПЦР.

Положительные образцы ДНК из селезёнок телят и коров были подвергнуты секвенированию. Данные образцы содержали ДНК *Anaplasma marginale*. Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей фрагмента гена 16S рРНК выявил нуклеотидную замену в ДНК *Anaplasma marginale*, отличающую данный вид от *Anaplasma centrale*.

2.3. Терапия и профилактика анаплазмозов

Лечение не является идеальным методом борьбы с анаплазмозом, однако при отсутствии адекватных эффективных средств профилактики оно приобретает особую актуальность.

Терапия применительно к анаплазмозу бывает лечебной, позволяющей снизить паразитемию возбудителя и восстановить клинико-гематологические показатели у заболевшего животного, а также стерилизующей, дающей возможность полностью освободить организм от возбудителя. Стерилизующая терапия даёт возможность, например, формировать стада, отары в благополучных местностях племенными животными из неблагополучных хозяйств.

Разработка рациональных методов терапии анаплазмоза рогатого скота остаётся серьёзной проблемой, несмотря на значительные успехи в этом вопросе. Некоторые исследователи: G. Miller James (1956); C. C. Pearson, W. E. Brook (1957); Т. А. Мотрич (1959); Л. П. Дьяконов, Н. А. Казаков (1964); И. Х. Расулов, У. Б. Базаров

(1975) — для лечения анаплазмоза рогатого скота рекомендовали применять антибиотики тетрациклинового ряда.

Л. П. Артёменко (1967), при изучении терапии больного анаплазмозом крупного рогатого скота в условиях полесья Украины установил, что беренил, введённый двукратно в дозе 0,0035 г/кг веса, не оказывает терапевтического действия на анаплазмозный процесс, в то время как 3–4-кратные инъекции тетрациклина в дозах 7–10 мг/кг с интервалами в 12–24 часа, приводят к резкому снижению паразитемии на 2–3 сутки после начала лечения.

Результаты опытов, проведённых Г. Г. Гасановым (1968), показали, что применение химиотерапевтических препаратов (триафлавин, акаприн, гемоспоридин, беренил, аминокрихин, атоксил, норсульфазол, сульфантрол) при лечении анаплазмоза крупного рогатого скота оказалось малоэффективным, поэтому в дальнейшем применение этих средств в условиях Астрахан-Базарского и Пушкинского районов Азербайджана оказалось нецелесообразным.

Выраженный лечебный эффект был получен от тетрациклиновых антибиотиков. Схема лечения тетрациклинами больных анаплазмозом овец разработана для парентерального и перорального применения (Абрамов И. В., Степанова Н. И., Дьяконов Л. П., Гробов О. Ф., 1965; Дьяконов Л. П., Казаков Н. А., 1964).

В лаборатории протозоологии и арахнологии ВИЭВ проведены исследования по разработке оптимальных дозировок тетрациклинов с учётом концентрации и времени пребывания антибиотиков в крови (Акулова Н. С., Дьяконов Л. П., Куташова А. Н., Казаков Н. А., 1963). Так, применение овцам внутрь 5–7,5 мг/кг живой массы хлортетрациклина (биомицина) или внутримышечно окситетрациклина, тетрациклина в дозе 10 мг/кг живой массы один раз в сутки в течение 5–6 дней подавляет развитие возбудителя, приводит к выздоровлению животных (Дьяконов Л. П., Казаков Н. А., 1964; Казаков Н. А., 1967).

Исследованиями установлено отсутствие лечебного действия и влияния на паразитемию анаплазм ампицилина-тригидрата и левомицитина, левоциклин же оказывал определённый лечебный эффект и сдерживал развитие паразитемии анаплазм за счёт содержащегося в его составе тетрациклина (Казаков Н. А., Парфёнов И. С., 1982).

В экспериментальных и производственных условиях получены хорошие результаты лечения больных анаплазмозом животных препаратом делагил, который применялся на 187 больных анаплазмозом животных, из них 186 голов выздоровело. Препарат рекомендуется давать внутрь два раза в день с интервалом 6–8 часов в дозе 25–30 мг/кг или 2,5–3,0 на 100 кг массы тела животного три дня подряд. При тяжёлом клиническом состоянии делагил даётся животным и на пятый день после начала лечения в той же дозе.

Делагил с сульфаленом и делагил с тетрациклином по данным Э. К. Шмунк, Т. Н. Шевченко (1983) оказались весьма эффективными средствами при лечении смешанной инвазии анаплазмоза и тейлериоза. Этими же исследователями выявлено, что применение «препарата-С» и диамидина при анаплазмозе молодняка крупного рогатого скота 9-месячного возраста в дозе 2 мг/кг живой массы животного оказывает не только лечебный эффект, но и снижает размеры потерь живой массы у больных животных. Использование этих лекарственных веществ позволило животным почти безболезненно перенести заболевание и исключить неблагоприятное воздействие болезни. Лечение сульфапиридазином натрия (тетраолеан с глюкозой и тетрахлорид) также задерживает развитие возбудителя, способствует восстановлению красной крови и улучшению общего состояния.

А. А. Агаев (1971) пишет, что акаприн, гемоспоридин, беренил, аминокрихин, арренал, сульфантрол и норсульфазол не обладают чётко выраженными лечебными свойствами при анаплазмозе крупного рогатого скота в условиях Азербайджана.

По данным Л. П. Артёменко (1967) наиболее эффективным при лечении анаплазмоза крупного рогатого скота оказался делагил в сочетании с тетрациклином, витамином В₁₂ и микроэлементами. При смешанной же инвазии анаплазмоза с пироплазмидозом наиболее эффективной оказалась смесь препаратов в сочетании с делагилом или тетрациклином, которую применяли по прописи: акаприн (1,0), гемоспоридин (0,5), беренил (2,0), витамин В₁₂ (6000 мкг), дистиллированная вода (84,0). Смесь препаратов применялась внутримышечно или подкожно в дозе 4 мл на 100 кг массы животного, делагил давали per os в дозе 4,0 на 100 кг массы, тетрациклин — внутримышечно, в дозе 6000 ЕД на 1 кг массы на

1 %-ном растворе новокаина 1 раз в день в течение трёх дней. Делагил в дозе 4 г на 100 кг массы животного, применённый один раз в день в течение трёх дней подряд, обладает профилактическим свойством на протяжении двадцати дней при анаплазмозе крупного рогатого скота в условиях Азербайджана. Большинство животных за этот период анаплазмозом не заболевает, а заболевшие переболевают в лёгкой форме.

А. М. Ганиев (1971), изучая лечебно-профилактические свойства ряда препаратов при экспериментальном анаплазмозе крупного рогатого скота, выяснил, что спиротрипан «форте» и делагил не препятствуют размножению и нарастанию количества анаплазм в крови и не приостанавливают развитие болезненного процесса. Применение их в сочетании с тетрациклином и тетраамицином оказывает лечебный эффект, но животные остаются носителями инвазии.

Длительное применение тетрациклина и тетраамицина задерживает размножение анаплазм, но выздоровевшие животные остаются анаплазмонасителями. При применении этих препаратов одновременно с заражением и в инкубационном периоде подопытные животные заболевают легко, или болезненный процесс прерывается полностью. Морфоциклин и олеморфоциклин при анаплазмозе крупного рогатого скота оказывает эффективное и специфическое действие. Данные препараты стерилизуют организм от анаплазм, и выздоровевшие животные не остаются паразитонасителями. В большинстве случаев при применении этих препаратов с целью митигирующей профилактики подопытные животные не заболевали анаплазмозом. Гамма- и полиглобулины оказались весьма эффективными терапевтическими препаратами. Они проявляли лечебный эффект как в начале заболевания, так и при очень тяжёлом течении болезни. При введении гамма- и полиглобулинов с профилактической целью подопытные животные не заболевали анаплазмозом или переболевали сравнительно легко.

Сульфацидазин-натрий в дозе 50 мг/кг при трёхкратном внутримышечном введении с интервалом 24 часа обладает лечебными свойствами при анаплазмозе овец. Введение овцам сульфацидазина-натрия в дозе 75 мг/кг двукратно с интервалом 48 часов

предупреждает инвазирование их анаплазмами (Овсянникова Ю. О., Прохорова В. Г., 1983).

Сульфален и димидин обладают высокой терапевтической эффективностью при анаплазмозе крупного рогатого скота и не оказывают отрицательного влияния на организм больного анаплазмозом крупного рогатого скота (Абдуллаев У. А., и др., 1984).

Сульфапиридазин-натрий обладает лечебным эффектом при анаплазмозе крупного рогатого скота в дозе 25 мг/кг живой массы в виде 10 %-ного раствора при внутримышечном введении и 20 %-ного — при внутривенном (Теплова Е. И., 1982).

Исследования показали, что препараты АБП, БП, делагил, мономицин, эритромицин и левомицетин оказались неэффективными в начальный период анаплазмоза при внутривенном заражении животных (Рахимов Т. А., 1980; Шмунк Э. К., Шевченко Т. Н., Шеркулов Н., 1980).

В 60–70-е годы в зарубежной печати появились сообщения о применении имидокарбов гидрохлорида дипропионата в качестве лечебных препаратов при анаплазмозе крупного рогатого скота (Kuller K., 1972 и Mc Heardy N., Berger I., Simbson H., 1974). Хороший терапевтический эффект при применении этих препаратов был получен и при лечении бабезиоза (Euseiy, 1981 и Morel P. C., 1981).

Б. А. Тимофеев и др. (1975) на спленэктомированных овцах изучали стерилизующие свойства диамидина — отечественного аналога английского имидокарба — и пришли к выводу, что стерилизующие свойства диамидина при некоторых пироплазмидозах овец отсутствуют.

Н. А. Казаков (1977) изучал действие имидокарба на интактных и спленэктомированных овцах и сделал заключение, что имидокарб дипропионат лечебным и тем более стерилизующим действием при анаплазмозе овец не обладает.

При анаплазмозе овец (в опытах как на спленэктомированных, так и на интактных животных) имизол в дозе 2 мл на 100 кг живой массы при однократном подкожном введении оказался высокоэффективным. Для ускорения восстановления эритропоеза целесообразно сочетать лечение с инъекциями витамина В₁₂ в дозе по 100 мкг/кг живой массы (Т. Х. Рахимов и др., 1984).

Ю. П. Овсянникова (1988) при испытании имизола на больных анаплазмозом овец, отметила, что данный препарат обладает терапевтическим действием при подкожном однократном введении в дозе 0,02 мл/кг живой массы.

При сравнительном изучении терапевтической эффективности имизола и сульфапиридазина натрия при анаплазмозе овец. Наибольший лечебный эффект был достигнут при одновременном введении имизола в дозе 0,02 мл/кг и сульфапиридазина натрия в дозе 50 мкг/кг (Ю. П. Овсянникова, 1989).

Наилучший лечебный результат при смешанной инфекции получен от смеси препаратов по следующей прописи: акаприн — 1 г, азидин — 2 г, гемоспоридин — 1 г, витамин В₁₂ — 6000 мкг и дистиллированная вода — 84 мл из расчёта 4 мл раствора на 100 кг живой массы при подкожной и внутривенной инъекциях. Наряду со смесью один раз в три дня животным давали кобальт, сернокислую медь и хлористый цинк, соответственно 20, 80, и 60 мг на 100 кг массы животного (А. А. Агаев, Н. М. Ширинов, 1988).

Сравнительное изучение терапевтической и профилактической эффективности некоторых антибиотиков и химиотерапевтических препаратов при анаплазмозе крупного рогатого скота показало, что дитетрациклин, дибиомицин, тетрациклин, морфоциклин, олеоморфоциклин в дозе 10 мг/кг живой массы на 0,5 %-ном растворе новокаина при 4–5-кратном внутримышечном введении с интервалом в 12–24 часа обладают терапевтической эффективностью. Наилучший лечебный эффект получен от применения окситетрациклина, олеандомицина, делагила в дозе 10 мг/кг живой массы при 4–5-кратном введении внутримышечно на 0,5 %-ном растворе новокаина с интервалом в 12–24 часа. Применение этих препаратов обеспечивает митигирующую профилактику анаплазмоза крупного рогатого скота в течение 12–15 дней.

Можно применить спирт риванол внутривенно по прописи: риванола — 0,2 г, спирта-ректификата — 60 мл, воды дистиллированной — 120 мл. Риванол растворяют в горячей кипячёной воде, фильтруют и охлаждают до 40–50 °С, затем добавляют спирт и вводят больному животному по 180 мл.

Сыворотка переболевших анаплазмозом животных, взятая в период высокого содержания в ней иммуноглобулинов и

комплементсвязывающих антител, обладает лечебным свойством. В опытах показано, что при анаплазмозе у овец этот период наступает с 38-го по 42-й день после заражения.

Эффекты лечебной и стерилизующей терапии были достигнуты некоторыми исследователями после применения тетрациклинов (биомицин, тетрациклин, окситетрациклин, тетраамицин), а также их пролонгированных лекарственных форм на депонирующей основе (дибиомицин-ПЭГ, дитетрациклин).

Создание рациональной и эффективной терапии является важной задачей при анаплазмозе рогатого скота. А если учесть, что из более чем 200 испытанных в мире препаратов выраженным лечебным эффектом обладают в большей степени лишь тетрациклиновые антибиотики, то важность проблемы в плане расширения арсенала эффективных лечебных средств приобретает особую актуальность. К тому же применение препаратов из одной и той же группы может привести при их длительном использовании к повышению устойчивости возбудителя.

Конечно же, важнейшим моментом в мероприятиях по борьбе с анаплазмозом крупного рогатого скота является воздействие (искусственное управление) на одно из звеньев эпизоотической цепи — факторы передачи возбудителя инфекции, а именно членистоногими насекомыми (клещи, слепни и т. д.) — переносчиками данной болезни.

Многолетний опыт борьбы с иксодовыми клещами показал, что из всех предложенных мер борьбы, применяемых в России, наиболее эффективными оказались: проведение агромелиоративных мероприятий на пастбищах, смена пастбищ и уничтожение клещей на теле животных путём применения акарицидных средств. Этими мероприятиями создаются неблагоприятные условия для существования и дальнейшего развития клещей в их биотопах.

Из применявшихся акарицидных препаратов по борьбе с клещами в хозяйствах, неблагополучных по анаплазмозу, лучшими оказались 0,75–1 %-ный раствор хлорофоса и 1 %-ная суспензия севина.

Анализ полученных данных показал высокотоксичное действие руелена в 1 %-ной концентрации и выше на все фазы развития клещей. Водные 1 %-ные эмульсии препарата вызывали у всех клещей

необратимые параличи в первые минуты или часы и 100 %-ную их гибель в промежутке от нескольких часов до нескольких дней. Выяснено, что опрыскивание 1–2 %-ными эмульсиями руелена крупного рогатого скота регулярно, через каждые 6–7 дней, вызывало гибель клещей родов *Hyalomma*, *Boophilus*, *Rhipicephalus* на теле животных через одни–двое суток после обработки. В качестве акарицида также применялся водный раствор мышьяковистокислого натрия, содержащего 0,16 % мышьяковистого ангидрида. Животные обрабатывались один раз в 6 дней в сезон анаплазмоза. Растворы мышьяка убивали находящихся на скоте клещей непосредственно во время обработки (контактное действие мышьяка). Кроме того, часть мышьяка при систематических обработках задерживается в сосудах кожи животного до 5–6 дней. В этот период клещи вместе с кровью всасывают и мышьяк, который вызывает их гибель. При этом отравление происходит через пищеварительный тракт.

Испытание 0,5 %-ной эмульсии циодрина показало, что она полностью защищает скот от нападения клещей *I. ricinus* в течение 4–6 суток и снижает количество нападающих клещей в последующие 2–4 суток. По отдельным группам остаточное действие эмульсии циодрина было на 2–4 суток дольше по сравнению с суспензией севина и раствором хлорофоса.

2.4. Роль клещей — основных переносчиков возбудителя анаплазмоза

Иксодовые клещи служат переносчиками многих видов возбудителей трансмиссивных инфекций позвоночных животных и человека, включая вирусы, риккетсии, бактерии, простейшие и филярии. Для большинства возбудителей они являются не только переносчиками, но также промежуточными или окончательными хозяевами. В системе возбудитель — клещ доминируют антагонистические отношения между партнёрами, и возбудитель является паразитом своего переносчика. Внутри рассматриваемой системы обнаруживается весь спектр отношений: от высокой патогенности и даже летальности возбудителя для переносчика до быстрой и полной

элиминации микроорганизма в клеще. Преобладает сбалансированный тип отношений, так что патогенные возбудители причиняют минимальный ущерб клещам-переносчикам и при этом могут практически пожизненно находиться в их организме и сохранять способность к передаче хозяевам позвоночным и внутри популяции клещей (Балашов Ю. С., 1995).

Для подавляющего числа возбудителей трансмиссивных инфекций иксодовые клещи являются их биологическими хозяевами в принятом в паразитологии значении этого понятия. Большинство возбудителей успешно размножается и проходит в клещах определённую часть своего жизненного цикла (Павловский Е. Н., 1947; Беклемишев В. Н., 1955). Они передаются теплокровным животным наиболее эффективным инокулятивным путём вместе с инфицированной слюной, а некоторые из них обладают способностью к трансовариальной передаче и к горизонтальной передаче от клеща к клещу (половая, при совместном питании заражённых и «чистых» особей). Эффективность трансфазовой передачи может сильно варьировать для разных видов возбудителей и в разных видах клещей (Mather T. N., 1990). Основной путь передачи возбудителя от клещей — алиментарный (Балашов Ю. С., 1995).

В отношении риккетсий до последнего времени считали, что они индифферентны для иксодовых клещей. Действительно, заражение многих видов иксодид риккетсиями не вело к заметному сокращению продолжительности жизни клещей, снижения плодовитости и другим нарушениям жизнедеятельности (Балашов Ю. С., Дайтер А. Б., 1969; Балашов Ю. С. и др., 1969).

Изучение экологии переносчиков требует знания не только мест обитания клещей, но выяснения характера распределения их по участкам, сезонного хода численности клещей в каждой фазе развития, определения горизонтального перемещения по поверхности почвы, вертикального передвижения по растительности и ряда других вопросов, связанных с жизнедеятельностью клещей (Петрищева П. А., Олсуфьев Н. Г., 1964).

Одним из методов определения инфицированности клещей является гемолимфотест (Burgdorfer W., 1970) или гемоцитотест (Rehacek J. et al., 1971-a, b). Данный метод основан на выявлении риккетсий в мазках из гемолимфы клещей.

Работа проводилась в период с 2002 по 2006 годы в лаборатории микст-инфекций кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней ИВМ ОмГАУ. Отдельные исследования были выполнены в лаборатории зоонозных инфекций ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций Роспотребнадзора» и ОГУ «Магнитогорской районной ветеринарной лаборатории».

Объектом исследований являлся крупный рогатый скот различных возрастов, принадлежавший хозяйствам Омской и Челябинской областей, Республики Башкортостан.

Прижизненно от животных исследовали кровь и её сыворотку, секрет молочной железы, цервикагинальную слизь, бронхоальвеолярную слизь, полученную методом бронхоальвеолярного лаважа. Кровь для серологических исследований брали из ярёмной, а для гематологических — из краевой вены уха.

Материалом для посмертных исследований служил патологический материал, полученный от вынужденно убитых и павших животных, а именно внутренние органы: печень, почки, селезёнка, лёгкие, сердечная мышца, лимфоузлы.

В лабораторных опытах использовали белых мышей (5-дневных и 1–1,5-месячного возраста), кроликов, культуры микроорганизмов, выделенные из патологического материала от крупного рогатого скота.

Клиническое проявление инфекционных болезней крупного рогатого скота наблюдали в хозяйствах Омской области. Из общих методов исследования использовали осмотр, пальпацию, термометрию, подсчёт пульса и количества дыхательных движений. Гематологические исследования проводили по общепринятым методикам.

Вынужденному убою с диагностической целью подвергали животных с выраженными клиническими признаками болезни. Параллельно проводили посев на клеточные культуры. Отбор патологического материала проводили согласно общепринятым методикам.

В процессе выделения чистой культуры изучали их морфологические, тинкториальные, культуральные и вирулентные свойства. Изучение морфологических и тинкториальных свойств выделенных микроорганизмов осуществляли при окраске мазков — препаратов по Романовскому-Гимза. Микроскопирование проводили при

помощи светового микроскопа МБИ-15 с иммерсионным объективом при увеличении (100x15). Интенсивность паразитемии определяли количеством анаплазм в 100 полях зрения (п./з.) микроскопа, в %.

Культуральные свойства микроорганизмов изучали в процессе выделения и культивирования их на клеточных культурах.

Вирулентные свойства выделенных культур изучали при постановке биологической пробы на белых мышах, которым внутрибрюшинно вводили по 1 мл на голову цитрированной крови от больного анаплазмозом телёнка. Наблюдение проводили в течение 30 дней. Животных, оставшихся в живых, по истечении срока наблюдения девитализировали с помощью эфира.

Трупы вскрывали, из внутренних органов готовили мазки-отпечатки, с последующим окрашиванием.

Серологическую типизацию микроорганизмов проводили с агглютинирующими люминесцентными анаплазмозными сыворотками в реакции прямой и непрямой иммуннофлуоресценции (РПИФ, РНИФ).

При подозрении на заболевание крупного рогатого скота ассоциативными инфекционными болезнями органов дыхания брали пробы биоматериала из бронхов и лёгких. Для этого использовали направляющий резиновый зонд длиной 35 см и диаметром 7 см со сточенными краями с целью предупреждения травмирования слизистой оболочки носоглотки. Край зонда смазывали глицерином или растительным маслом. Зонд вводили в одну из ноздрей под контролем большого и указательного пальцев. Затем в направляющий зонд вставляли основной зонд длиной 90–100 см, имеющий на конце резиновую канюлю для крепления шприца Жанэ. В качестве основного зонда использовали полистироловую трубочку из системы для внутривенного введения лекарственных препаратов. Контроль правильности введения основного зонда в лёгкие осуществляли по выдыхаемому воздуху и характерному лёгочному запаху. Шприцом Жанэ в бронхи и лёгкие вводили 15–20 мл стерильного физиологического раствора, затем от канюли отсоединяли шприц, подсоединяли другой стерильный шприц Жанэ и, прилагая усилия, извлекали шприцом экссудат, который помещали в пробирку под давлением шприца. Пробирки с бронхоальвеолярной жидкостью

укупоривали и доставляли в лабораторию микст-инфекций при кафедре эпизоотологии ИВМ ОмГАУ для проведения серологических исследований на наличие антигенов возбудителей или антител.

Для постановки РНИФ использовали стандартные диагностические агглютинирующие антигены и сыворотки: листериозную I серотип для капельной РА 0–II; лептоспирозную сыворотку серогрупп Помона, Тарасови, Гриппотифоза, Иктерогемморагия, Каникола. Использовали также сыворотки, полученные после гипериммунизации кроликов вакцинами: хламидиозную кроличью — на вакцину против хламидиоза КРС, ИРТ кроличью — на вакцину против ИРТ–ПВ, и стрептококковую, стафилококковую и диплококковую сыворотки, полученные нами после гипериммунизации кроликов соответствующими микроорганизмами, выделенными от больных телят, а также антивидовые люминесцентные сыворотки против глобулинов кролика производства НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН.

Патологический материал для постановки ПЦР помещали в специальный лизирующий буфер (4-молярный гуанидин-изоционат) в полистироловых пробирках по 200 мкл.

Двухраундовую полимеразную цепную реакцию проводили на родоспецифичных праймерах, затем секвенирование положительных образцов ДНК совместно с сотрудниками Новосибирского института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН.

Из общих методов исследования использовали осмотр, пальпацию, термометрию, подсчёт пульса и количества дыхательных движений.

Для посмертного исследования использовали материал из паренхиматозных органов (селезёнка, печень, лимфатические узлы), из которых готовили окрашенные мазки-отпечатки.

Видоспецифические сыворотки к полевому штамму анаплазм получали путём гипериммунизации кроликов по схеме D. Schimmel в нашей модификации (Красиков А. П., Новикова Н. Н., 2002). Для постановки РНИФ использовали ослиный антикроличий глобулин, меченный ФИТЦ (флуоресциина изотиоционат натрия).

Для культуральных исследований применяли культуру клеток Vero. Для накопления антигенной биомассы проводили до восьми

пассажей анаплазм. Культуру клеток с анаплазмами после каждого пассажа просматривали при помощи световой и люминесцентной микроскопии.

Больных и анаплазмоносителей (по результатам микроскопии) дополнительно исследовали на ассоциативные формы анаплазмоза. Для этого применяли стандартные и дополнительные, разработанные в лаборатории микст инфекций кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней методы серологической диагностики — прямой и непрямой иммунофлуоресценции (РПИФ и РНИФ) для прижизненного выявления антигенов и антител (Красиков А. П., Малошевич В. Э., 2005). Фиксацию мазков проводили по методу Модри с соавт. (1958), а постановку РНИФ — по методике, предложенной Уэллером и Кунсом (1945). В качестве антигенов применяли антигены вакцинных штаммов и стандартные антигены, используемые для постановки РА и РСК, а в качестве антител — гомологичные антигенам кроличьи и бычьи антисыворотки, антивидовые для РНИФ и специфические сальмонеллёзные, риккетсиозные, листериозные для РПИФ люминесцентные сыворотки, меченные ФИТЦ.

Мазки просматривали под люминесцентным микроскопом ЛЮМ Р-8 при увеличении в 900 раз. Степень флуоресценции антител оценивали по 4-крестной системе (Вайтекер и др., 1958). При этом кроличьи сыворотки против возбудителей хламидиоза, диплококкоза, стрептококкоза и стафилококкоза были получены и изучены на специфичность и чувствительность в лаборатории микст-инфекций кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней (Лобанова Н. В., 2004).

Опыт по изучению активности анаплазмозного антигена с гемолимфой клещей, инфицированных возбудителем анаплазмоза крупного рогатого скота проводили совместно с аспирантом К. К. Бейсембаевым на клещах *D. reticulatus* и *D. silvarum*.

На рис. 2.1 изображена культура клеток Vero, инфицированная возбудителем анаплазмоза крупного рогатого скота (*A.sp.Omsk*). Клеточная структура нарушена, а цитоплазма содержит большое количество анаплазмозных «морул» различной величины и формы. Цитоплазматическая мембрана клетки Vero истончена и местами

разорвана. Морюлы, содержащие анаплазмы, располагаются как в цитоплазме клеток, так и за её пределами.

Конструирование анаплазмозного эритроцитарного диагностикума проводили по методике изготовления бруцеллёзного R-диагностикума для РНГА, в нашей (Красиков А. П., 1982).

Реакции непрямо́й иммунофлуоресценции и непрямо́й гемагглютинации проводили в экспериментальных и производственных условиях с сыворотками крови крупного рогатого скота из неблагополучных по анаплазмозу хозяйств Южно-Уральского и Западно-Сибирского регионов, РНИФ с материалом от клещей, собранных в указанных регионах.

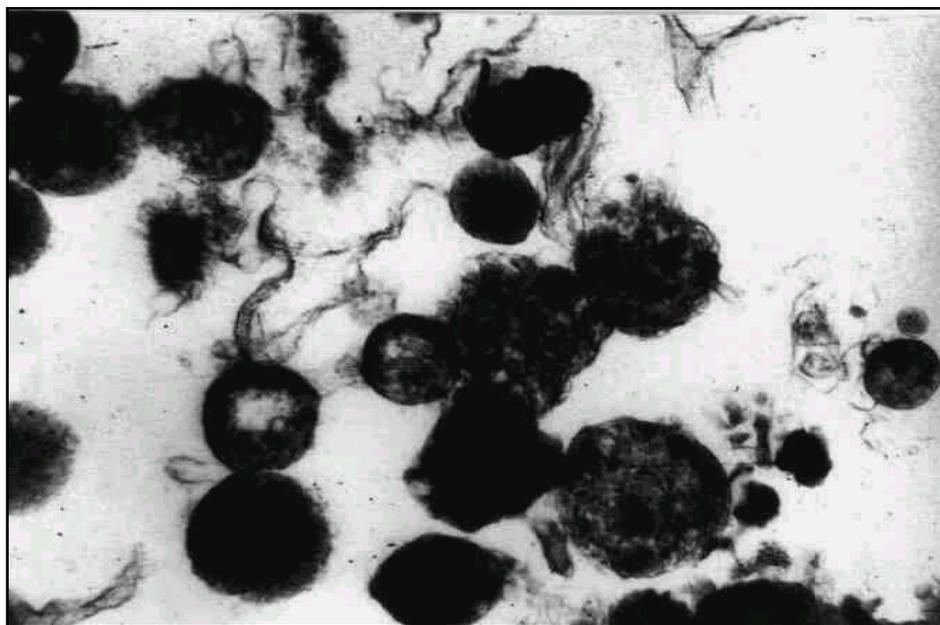


Рис. 2.1. Анаплазмы в культуре клеток Vero

Опыты по сравнительному изучению химиотерапевтической эффективности некоторых препаратов тетрациклинового и фторхинолонового ряда, а также лекарственной смеси спирта с риванолом и азидина с нилвермом проводили в хозяйствах Омской области: ЗАО «Колос», СПК «Большевик», АОЗТ «Новороссийское» на спонтанно инфицированном крупном рогатом скоте. При эпизоотологическом обследовании хозяйств на анаплазмоз крупного рогатого скота учитывали клинические признаки болезни.

Производственные испытания проводили на 300 головах крупного рогатого скота, спонтанно инфицированного возбудителем

анаплазмоза, в двух хозяйствах Челябинской области и одном хозяйстве Республики Башкортостан.

Расчёт экономической эффективности применения схем лечения при анаплазмозе крупного рогатого скота осуществляли в соответствии с методикой определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий, утверждённой Министерством сельского хозяйства и продовольствия РФ, департаментом ветеринарии, Московской государственной академией ветеринарной медицины и биотехнологии им. К. И. Скрябина (1997).

Статистическую обработку материалов проводили согласно общепринятым методикам (Мерков А. М., Поляков Л. Е., 1974).

Часть исследований была проведена совместно с сотрудниками ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора (И. Е. Самойленко, Л. В. Кумпан, В. В. Якименко), а также аспирантами ИВМ ФГОУ ВПО ОмГАУ К. К. Бейсембаевым и Н. П. Козловой. В качестве биологической модели для культивирования и изучения анаплазм использовали культуру клеток Vero.

2.5. Распространение анаплазмоза крупного рогатого скота и его ассоциаций с другими инфекциями в зоне Южного Урала и Западной Сибири

Исследования по изучению эпизоотической ситуации по анаплазмозу крупного рогатого скота в зоне Южного Урала (Челябинская область и Белорецкий район Республики Башкортостан, находящийся в угрожаемой по анаплазмозу зоне) и Западной Сибири (Омская область) проводили с применением эпизоотологического, клинического, микроскопического и серологического методов.

Работа по выяснению распространения, сезонности проявления, степени восприимчивости разных возрастных групп крупного рогатого скота и основных путей распространения анаплазмоза, а также вопроса о возможности ассоциативных форм течения анаплазмоза, проведена на 500 головах крупного рогатого скота из 20 хозяйств, спонтанно инфицированных возбудителем анаплазмоза крупного рогатого скота.

Для этого, было выборочно исследовано 400 коров в возрасте 3–7 лет, 100 телят 4–6-месячного возраста, принадлежащие девяти хозяйствам Челябинской области и одному хозяйству Республики Башкортостан, десяти хозяйствам Омской области. При этом в ООО «Верхнебельский» Белорецкого района Республики Башкортостан анаплазмоз обнаружен у 45 % животных, в Челябинской области: в СПК «Малиновское» Агаповского района, СПК «Выбор», ООО «Искра», ООО «Приморское» — у 20 %; в ЗАО «Первомайское» — у 40 %; в ЗАО «Зингейское», ЗАО «Наравчатское», СП «Буранное», ОП «Горный» — у 30 %.

В Омской области анаплазмоз выявлен в ЗАО «Курнасово» (90 % животных), в СПК «Красный Яр» и СПК «Кольтюгино» (50 %), в СПК «Такмык» (20 %), СПК «Большевик» Полтавского района (70 %), в АО «Колос» Павлоградского района (30 % коров и 60 % телят), в АОЗТ «Новороссийское» Нововаршавского района (60 % коров и 30 % телят), в СПК «Семёновка» (40 %), в СПК «Тевриз» (20 % животных). По данным табл. 2.2 и 2.3 видно, что наибольшее число случаев анаплазмозности (90 %) среди крупного рогатого скота 3–5-летнего возраста приходится на Большереченский район Омской области.

В зоне Южного Урала наибольший процент выявления приходится на Белорецкий район Республики Башкортостан — до 45 %. Возможно, это связано с тем, что хозяйство данного района расположено в горно-лесной части Южного Урала, где поражённость животных иксодовыми клещами бывает высокой и наиболее благоприятные условия для развития последних — основных переносчиков анаплазмоза. Большереченский район расположен на севере Омской области, где поражённость животных иксодовыми клещами также очень высокая.

При эпизоотологическом обследовании хозяйств Омской области и Южного Урала регистрировали острое и подострое течение анаплазмоза крупного рогатого скота, главным образом с апреля по октябрь, когда на животных паразитирует сравнительно большое количество иксодовых клещей.

При проведении комплексных исследований по выявлению больных анаплазмозом животных было отмечено, что инфекцион-

ный процесс у некоторых животных осложнялся ассоциациями других инфекций.

Установлено (табл. 2.2), что в ООО «Верхнебельский» из 45 % реагирующих на анаплазмоз коров 30 % приходилось на ассоциативную форму его проявления с лептоспирозом, ИРТ–ПВ, хламидиозом. В СПК «Малиновское» моноинфекция зарегистрирована у 20 % животных, в ЗАО «Первомайское» — у 30 % в ассоциативной форме (хламидиоз, лептоспироз, сальмонеллёз), в ЗАО «Зингейское» — у 20 % (хламидиоз), в ООО «Искра» — у 40 % (хламидиоз, лептоспироз, сальмонеллёз, ИРТ–ПВ), в ЗАО «Наравчатское» — у 20 % (хламидиоз, лептоспироз), в ООО «Приморское» — у 10 % (лептоспироз), в СП «Буранное» — у 10 % (лептоспироз), в СПК «Выбор» — у 10 % (ИРТ–ПВ), в ОП «Горный» — у 20 % (хламидиоз, лептоспироз).

По данным табл. 2.3 видно, что в ЗАО «Курнасово» из 90 % реагирующих на анаплазмоз коров 30 % приходилось на ассоциативную форму его проявления с лептоспирозом и сальмонеллёзом. В СПК «Красный Яр» моноинфекция зарегистрирована у 50 % животных, в СПК «Такмык» — у 10 % и 10 % — в ассоциативной форме (хламидиоз, лептоспироз, сальмонеллёз). В СПК «Большевик» из 70 % коров и телят, инфицированных анаплазмами, 10 % приходилось на долю животных, инфицированных в ассоциации с хламидиями, лептоспирами, листериями, сальмонеллами, вирусами ИРТ–ПВ и ПГ–3. В ЗАО «Колос» у 20 % взрослого скота анаплазмоз регистрировали как моноинфекцию и у 10 % в ассоциации с сальмонеллёзом, у 50 % телят в ассоциативной форме (с хламидиозом, лептоспирозом, диплококкозом, сальмонеллёзом и ПГ–3) и у 10 % телят как моноинфекцию. В СПК «Новороссийском» из числа исследованных животных у 30 % взрослого скота инфекционный процесс проявлялся в виде моно- и у 30 % в виде ассоциативной инфекции с хламидиозом, лептоспирозом, сальмонеллёзом, листериозом, а у молодняка в той же ассоциации, за исключением замены возбудителя сальмонеллёза на ИРТ–ПВ, в СПК «Семеновка» 40 % — в виде ассоциативной инфекции с хламидиями, лептоспирами, вирусом ИРТ–ПВ и листериями. В СПК «Кольтюгино» —

Таблица 2.2

Формы проявления инфекционного процесса у коров и телят в хозяйствах Южного Урала

№ п/п	Название хозяйства	Всего инфицировано животных, %		Долевая структура ассоциантов возбудителей инфекционных болезней, %															
		Анаплазмоз		Хламидии		Лептоспиры		Диплококки		Сальмонеллы		Вирус ИРТ-ПВ		Вирус ПП-3		Листерии			
		К	Т	К	Т	К	Т	К	Т	К	Т	К	Т	К	Т	К	Т		
1.	ООО «Верхнебельский»	45	-	15	-	30	-	10	-	10	-	-	-	-	-	10	-	-	-
2.	СПК «Малиновское»	20	-	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.	ЗАО «Первомайское»	40	-	10	-	30	-	10	-	10	-	-	-	10	-	-	-	-	-
4.	ЗАО «Зингейское»	30	-	10	-	20	-	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5.	ООО «Искра»	20	20	-	-	20	20	10	-	10	-	-	-	-	10	-	-	-	-
6.	ЗАО «Наровчатское»	30	-	10	-	20	-	10	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7.	ООО «Приморское»	20	-	10	-	10	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8.	СП «Буранное»	30	-	20	-	10	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9.	СПК «Выбор»	20	20	20	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-	-
10.	ОП «Горный»	30	-	10	-	20	-	10	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Примечание: К — коровы, Т — телята, % от числа исследованных и инфицированных анаплазмами в ассоциации с другими возбудителями.

Таблица 2.3

Формы проявления инфекционного процесса у коров и телят в хозяйствах Омской области

№ п/п	Название хозяйства	Всего инфицировано животных, %		Долевая структура инфекционных болезней, %															
		К	Т	Анаплазмоз		Хламидиоз		Лептоспироз		Диплококкоз		Сальмонеллёз		ИРТ-ПВВ		ПГ-3		Листериоз	
				К	Т	К	Т	К	Т	К	Т	К	Т	К	Т	К	Т	К	Т
1	ЗАО «Курнасово»	90	-	60	-	30	-	-	10	-	-	30	-	-	-	-	-	-	-
2	СПК «Красный Яр»	50	-	50	-	-	-	-	10	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-
3	СПК «Такмык»	20	-	10	-	10	-	10	-	-	-	30	-	-	-	-	-	-	-
4	СПК «Большевик»	70	70	60	60	10	10	-	10	-	-	20	-	-	20	-	20	-	20
5	АО «Колос»	30	60	20	10	10	50	-	40	-	50	30	60	-	-	-	10	-	-
6	АОЗТ «Новороссийское»	60	30	30	-	30	30	40	40	40	50	10	-	-	10	-	-	10	10
7	СПК «Дружба»	30	-	30	-	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	СПК «Руспол»	0	-	0	-	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	СПК «Семеновка»	40	-	40	-	40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	СПК «Кольтогино»	50	-	50	-	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	СПК «Гевриз»	20	-	20	-	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	ОПХ «Боевое»	60	-	30	-	30	-	-	-	-	-	20	-	20	-	-	-	-	-

Примечание: % от числа исследованных голов; К — коровы; Т — телята.

у 50 % из числа обследованных животных инфекционный процесс протекал в ассоциации с хламидиями, сальмонеллами, вирусом ИРТ–ПВ, в СПК «Тевриз» у 20 % животных анаплазмоз зарегистрирован в виде моноинфекции.

У взрослого скота и телят число сочленов ассоциации достигало до 4–5. Таким образом, анаплазмоз крупного рогатого скота протекает как моноинфекция и может принимать ассоциативную форму течения, при которой вызывает клиническое проявление болезни в более тяжёлой форме, а у беременных животных — аборт.

Наши исследования указывают на возможность ассоциативных форм проявления анаплазмоза в различных сочетаниях с хламидиозом, лептоспирозом, листериозом, ИРТ, сальмонеллёзом, а у молодняка ещё и с диплококкозом. Показано, что наибольший процент выявления случаев анаплазмонительства среди крупного рогатого скота 3–5-летнего возраста приходится на Большереченский район — до 90 %. Возможно, это связано с тем, что данный район расположен в лесостепной и подтаёжной зонах, где поражённость животных иксодовыми клещами бывает высокой и наиболее благоприятны условия для развития последних — основных переносчиков анаплазмоза.

Острое и подострое течение анаплазмоза крупного рогатого скота на территории Омской области регистрируется главным образом в июне–сентябре, когда на животных паразитирует сравнительно большое количество иксодовых клещей и нападает много двукрылых кровососущих насекомых. Зимой, весной и поздней осенью такое течение болезни за последние годы не констатировали.

Во время болезни животных резко снижается мясная и молочная производительность, гибель среди заболевшего скота может достигать 10–30 % и более.

Во многих случаях, выявленных нами, при проведении комплексных исследований коров репродуктивного стада в хозяйствах Омской области, наблюдались аборт у маточного поголовья, послеродовые осложнения (задержание последа, эндометриты), рождение слабых нежизнеспособных телят. Возможно, это связано с тем, что инфекционный процесс у некоторых животных осложнялся ассоциативной формой его проявления.

В исследовании иксодовых клещей решались следующие задачи:

– установить восприимчивость клещей *D.reticulatus* и *D.silvarum* к возбудителю анаплазмоза крупного рогатого скота (*Anaplasma sp. Omsk*) и сохраняемость анаплазм в теле беспозвоночного при итрацеломальном заражении;

– определить эффективность вертикальной (трансовариальная передача — ТОП, трансфазовая передача — ТФТ) *A.sp.Omsk*, в процессе метаморфоза клещей *D.reticulatus* и *D.silvarum*.

В работе были использованы лабораторные линии клещей *D.reticulatus* (во втором поколении) и *D.silvarum* (в четвёртом поколении).

Кормление пар клещей (самка и самец) проводили на взрослых лабораторных животных (белые мыши). Клещей помещали под колпак из полистирола, наклеенный на животное. С целью предотвращения снятия наклеек и счёсывания клещей животным надевали жёсткие воротники, ограничивающие подвижность (рис. 1 на вкл., с. I).

Напитавшихся самок помещали в стеклянный контейнер (рис. 2.2), который представляет собой стеклянную трубку диаметром 30–50 мм и длиной 300–400 мм; у концов трубки — отверстия с бортиками диаметром 10 мм, закрывающиеся ватно-марлевыми пробками; один конец цилиндра закрывали влажной пробкой, другой — сухой (рис. 2 на вкл., с. I). Контейнеры с клещами хранили в термостате при температуре +28 °С в горизонтальном положении. Оптимальные условия влажности клещи выбирали сами в диапазоне от влажной до сухой ватно-марлевой пробки.

Появившееся потомство (рис. 3, 4 на вкл., с. II) содержали в серийных кормлениях-линьках «личинка — нимфа — имаго». Для кормления личинок и нимф использовали сосунков белых мышей. Сосунка помещали в стеклянный контейнер (рис. 5 на вкл., с. III) и с помощью тонкой кисточки наносили на них клещей (по одной особи или пулами — до 25 личинок и до 5 нимф) (рис. 4 на вкл., с. II; 6–8, с. III–IV).

Через 14 суток после заражения число инфицированных особей возбудителем анаплазмоза крупного рогатого скота (*A.sp.Omsk*), составило $53,3 \pm 9,1$ % у клещей *D.reticulatus* и $43,3 \pm 9,0$ % у клещей

D.silvarum. Через 60 суток, она составила $63,3 \pm 8,8$ % у клещей *D.reticulatus* и $56,6 \pm 9,0$ % у клещей *D.silvarum* (рис. 2.3).

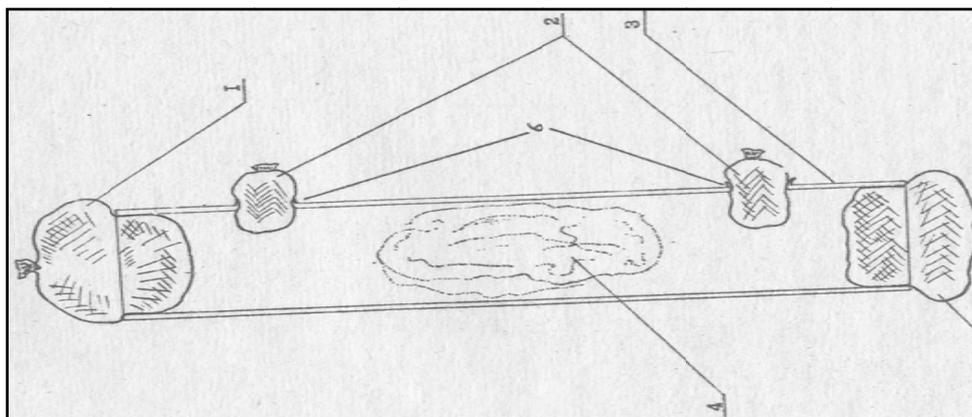


Рис. 2.2. Стеклоный контейнер для разведения и содержания иксодовых клещей в лаборатории:

1 — большая сухая ватно-марлевая пробка; 2 — малые сухие ватно-марлевые пробки; 3 — стеклянный цилиндрический корпус; 4 — фильтровальная бумага; 5 — влажный спрессованный ватный тампон; 6 — боковые отверстия с бортиками

Наряду с изучением восприимчивости экспериментальных линий клещей *D.reticulatus* и *D.silvarum* возбудителем анаплазмоза крупного рогатого скота и сохраняемости последнего изучалась трансвариальная и трансфазовая передача возбудителя.

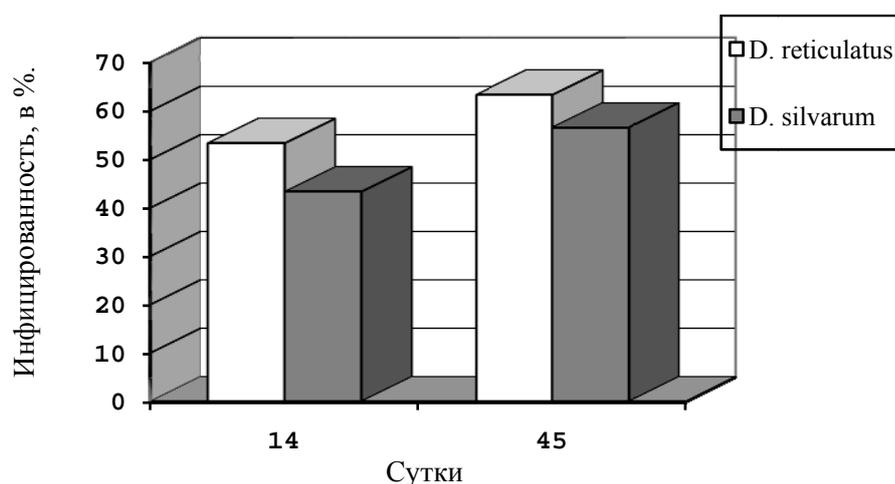


Рис. 2.3. Уровень инфицированности клещей *D.reticulatus* и *D.silvarum* при интрацеломальном заражении

Для этого из числа заражённых особей было отобрано шесть пар (самец + самка) голодных половозрелых клещей *D.reticulatus* и

четыре пары клещей *D.silvarum*. Для полного напитывания клещей было необходимо от 7 до 12 суток. Успешно удалось накормить девять пар (самец + самка) половозрелых клещей, из них шесть пар *D.reticulatus* и 3 пары *D.silvarum*. Яйцекладка (рис. 2.4) осуществлялась на 4–8-е сутки после кормления. Выход личинок (рис. 8 на вкл., с. IV) приходился на 11–14-е сутки после начала яйцекладки (рис. 9 на вкл., с. V). Потомство удалось получить от четырёх пар половозрелых клещей *D. reticulatus* и одной пары *D. silvarum*.

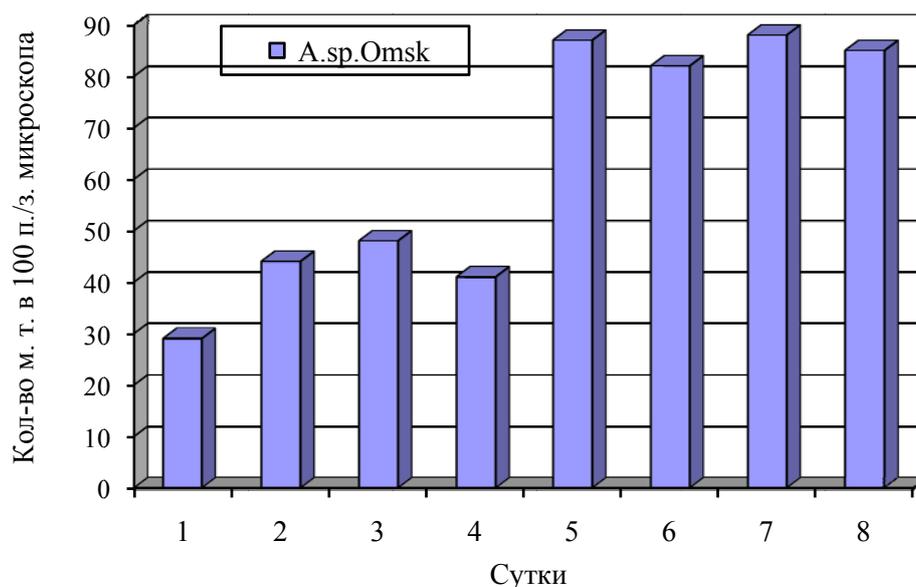


Рис. 2.4. Уровень накопления анаплазм в культуре клеток Vero

Для дальнейшей работы, нами было отобрано три экспериментально заражённые линии клещей (две — *D.reticulatus* и одна — *D.silvarum*), самки которых дали хорошую яйцекладку с наилучшим выходом личинок. Образцы личинок и нимф от этих экспериментальных линий исследовали как в голодном состоянии, так и после напитывания. При этом в голодном состоянии количество исследованных экземпляров у клещей *D.reticulatus* составляло по 100 личинок и по 50 нимф, после напитывания — не менее 50 личинок и по 50 нимф. У клещей *D.silvarum* количество исследованных экземпляров в голодном состоянии составляло по 100 личинок и по 50 нимф, после напитывания — по 50 личинок и по 50 нимф. Результаты исследований приведены в табл. 2.4.

Анализ результатов показывает, что у клещей *D.reticulatus* выход личинок составил от 1458 до 1897 экземпляров, а у клещей

Таблица 2.4

**Эффективность трансвариальной и трансфазовой передачи анаплазм
(*A.sp. Omsk*) в экспериментальных линиях клещей**

Экспериментальная линия клещей	Кол-во жизнеспособных личинок в кладке	Личинки						Нимфы		
		до кровососания			после			до кровососания		после
		Кол-во иссл. экз.	Уров. ТОП, %	Кол-во иссл. экз.	Уров. ТОП, %	Кол-во иссл. экз.	Уров. ТОП, %	Кол-во иссл. экз.	Уров. ТФП, %	Кол-во иссл. экз.
<i>D. reticulatus</i>	1897	100	24,0 ±4,3	70	37,1 ±5,8	50	30,0 ±6,5	50	58,0 ±7,0	
<i>D. reticulatus</i>	1458	100	18,0 ±3,8	50	36,0 ±6,8	50	42,0 ±7,0	50	50,0 ±7,1	
<i>D. silvarum</i>	367	100	20,0 ±4,0	50	62,0 ±6,9	50	36,0 ±6,8	50	40,0 ±7,0	

Примечание: ТОП — трансвариальная передача, ТФП — трансфазовая передача.

D.silvarum — 367. При этом инфицированность анаплазмами после кровососания личинками клещей *D.reticulatus* составляла $36,6 \pm 6,3$ %, а уровень инфицированности до кровососания сосунков — $21,0 \pm 4,1$ %. Уровень инфицированности анаплазмами в нимфальной стадии развития клещей *D.reticulatus* после кровососания сосунков голодными формами составлял $54,0 \pm 7,1$ %, а до кровососания — $36,0 \pm 6,8$ %. Инфицированность анаплазмами в личиночной стадии развития клещей *D.silvarum* в напитавшемся состоянии была $62,0 \pm 6,9$ %, а в голодных формах развития личинок — $20,0 \pm 0,4$ %. Уровень инфицированности анаплазмами нимф клещей *D.silvarum* после кровососания сосунков составил $40,0 \pm 7,0$ %, а в голодном состоянии — $36,0 \pm 6,8$ %.

В мазках-отпечатках из слюнных желёз напитавшихся взрослых самок клещей *D.reticulatus* и *D.silvarum* были обнаружены анаплазмозные включения в клетках слюнных желёз (рис. 10 на вкл., с. V). В мазках-отпечатках из селезёнок мышей-сосунков, на которых кормились личинки и нимфы клещей *D.reticulatus* и *D.silvarum*, из 15 исследованных 14 положительных проб, в которых были обнаружены анаплазмозные включения, причём как в эритроцитах, так и в лейкоцитах.

Таким образом, показана не только восприимчивость клещей *D.reticulatus* и *D.silvarum* к *A.sp. Omsk* при интрацеломальном заражении, но и сохраняемость возбудителя до двух месяцев (срок наблюдения). У *D.reticulatus* и *D.silvarum* определена возможность трансвариальной и трансфазовой передачи в пределах одной генерации (срок наблюдения). Эксперименты с классическими переносчиками *D.reticulatus* и *D.silvarum* демонстрируют наряду с наличием трансмиссивного пути передачи возбудителя (о чём свидетельствует наличие анаплазм в селезёнках контактных животных), эффективность медиаторного пути передачи. Об этом свидетельствует повышение числа инфицированных голодных нимф из потомства инфицированных самок. Обращает на себя внимание интенсивность накопления анаплазм в организме личинок (нимф): низкий уровень выявления анаплазм при индивидуальном исследовании голодных форм и резкое повышение инфицированности после кормления. Подобный механизм «реактивации», был описан применительно к *R.rickettsii* и клещам *D.andersoni* (Hayes S. F.,

Burgdorfer W., 1982; Gramman C. C., Mc Donald G. A., 1994). Вероятно, феномен реактивации анаплазм аналогичен феномену реактивации риккетсий.

2.6. Морфологические, ультраструктурные и молекулярно-генетические свойства возбудителя и его локализация в клетках крови

В окрашенных по Романовскому-Гимза мазках из периферической крови от больного крупного рогатого скота анаплазмы обнаруживали в виде одного, двух, реже трёх в одном эритроците розовато-фиолетовых точкоподобных включений округлой, овальной формы. Расположение в эритроците — преимущественно периферическое, иногда эксцентричное (рис. 11 на вкл., с. VI).

Анаплазмы в период носительства и в начале заболевания были округлой формы и одинаковой величины. В период клинического переболевания анаплазмы приобретали разнообразные формы: угловатую, мельчайших точек и делящихся форм. В качестве биологической модели для культивирования и изучения анаплазм нами была использована культура клеток Vero (рис. 12 на вкл., с. VI). На 2–3 сутки выращивания отмечали дегенеративные изменения клеток (рис. 13 на вкл., с. VII). Показано, что с каждым пассажем происходит накопление количества анаплазм в культуре клеток Vero с 30 м.т. в 100 п./з. в первые сутки до 90 м.т. на седьмые сутки с незначительным уменьшением на восьмые сутки (рис. 2.4).

Изучение субмикроскопической структуры анаплазмозных клеток проводили в ультратонких срезах. При просмотре срезов обращали внимание на форму анаплазм, которая обычно была округлой или овальной.

На рис. 13 (вкл., с. VII) изображена клетка культуры Vero, поражённая возбудителем анаплазмоза крупного рогатого скота (*A.sp. Omsk*). Клеточная структура нарушена, а цитоплазма содержит большое количество анаплазмозных «морул» различной величины и формы. Цитоплазматическая мембрана клетки Vero истончена и местами разорвана. Морулы, содержащие *A.sp. Omsk*,

располагаются как в цитоплазме клеток, так и за её пределами (рис. 2.5). Возбудитель поражает не только цитоплазматическое пространство, но и проникает в ядро клетки, разрушая ядерную оболочку.

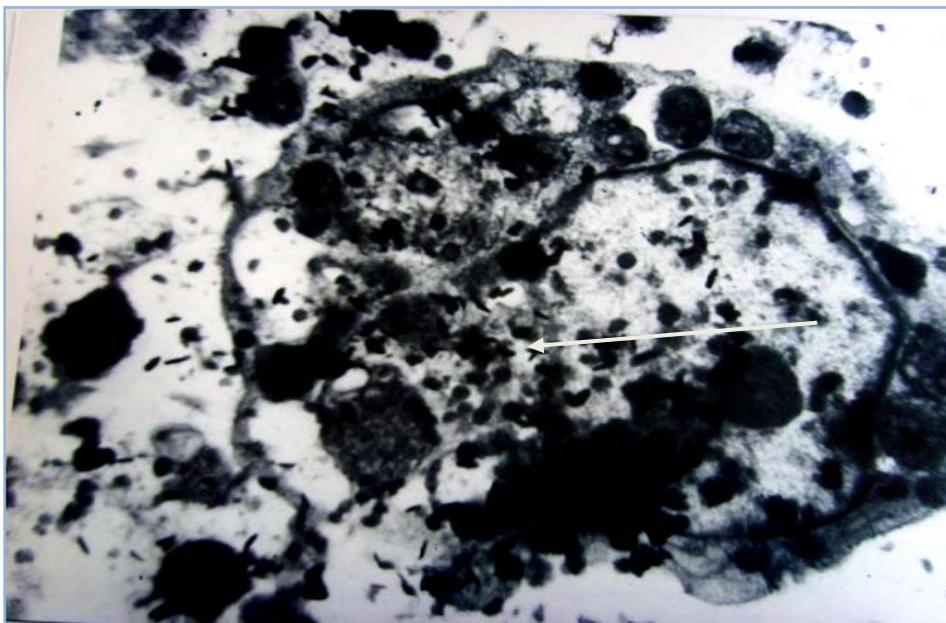


Рис. 2.5. Анаплазмозные включения внутри цитоплазмы и ядра



Рис. 2.6. Микроколонии (морулы), содержащие *A.sp.Omsk* (x 15000)

Установлено, что анаплазмы окружены плотной непроницаемой морулой (двухслойная цитоплазматическая мембрана), внутри которой находятся «инициальные тельца», каждая из которых окружена тонкой наружной и внутренней мембраной (рис. 2.6). Мелкие микроколонии состояли из одной–двух особей, а более крупные — из нескольких. При наличии двух паразитов колонии имели вытянутую форму, трёх — треугольную, четырёх — четырёхугольную, свыше четырёх — округлую.

Анаплазмы размножаются простым делением и почкованием, формируя колонии из 2–8 особей. Рис. 2.7 демонстрирует формирование поперечных трубчатых структур и перетяжек, что указывает на деление анаплазмозных клеток. Ультраструктура анаплазмозных клеток представлена протопластическими пучками в периплазматическом пространстве, скоплениями рибосом (тёмные свободные пространства), тонкими нитями ДНК (светлое свободное пространство), трубчатыми и везикулярными образованиями (рис. 2.8). Конец 90-х годов ознаменовался широким использованием новых методических подходов в диагностике заболеваний человека и животных. Среди них ведущее место заняли молекулярно-генетические методы исследования.

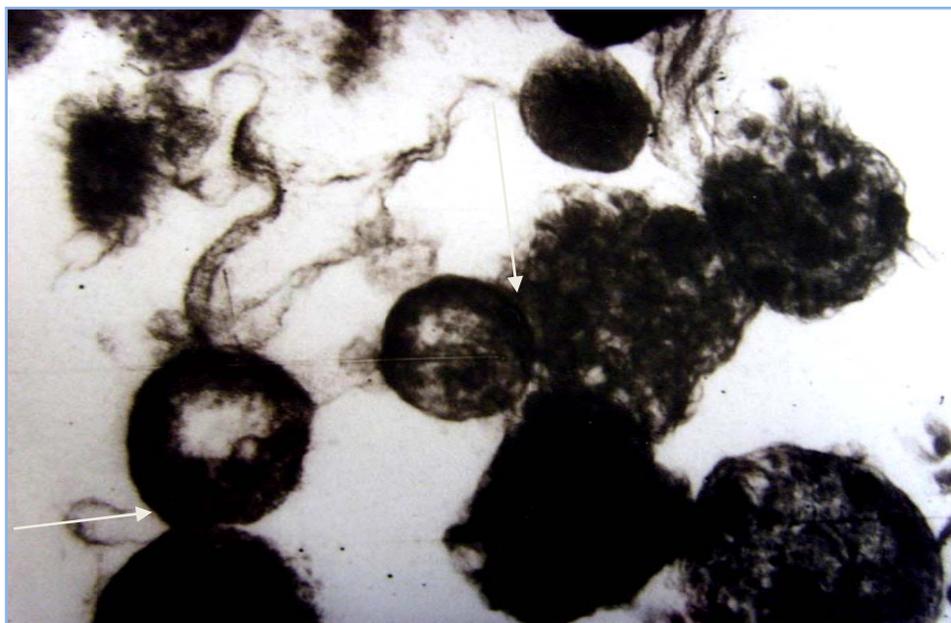


Рис. 2.7. Деление анаплазмозных клеток (x 10000)

Они позволили по новому подойти к решению ряда основных вопросов инфекционной и инвазионной патологии, и даже

предложить новые подходы для контроля лечения заболеваний. Принципиальный шаг в диагностике, который уже сделан и который получает своё дальнейшее развитие, как в прикладном, так и в фундаментальном аспекте, связан с амплификационными методами выявления генетического материала инфекционных и инвазионных агентов, а именно методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).



Рис. 2.8. Ультраструктура анаплазмозных клеток (x 30000)

В настоящее время более широкое применение в риккетсиологии находит метод сравнения нуклеотидных последовательностей продуктов ПЦР-амплификации. Первоначально в риккетсиальном геноме был секвенирован ген 16S rRNA и использован для проведения филогенетического анализа рода *Rickettsia* (Stochard, Fuerst, 1995; Roux, Raoult, 1995).

При проведении двухраундовой полимеразной цепной реакции (ПЦР) в присутствии родоспецифичных праймеров среди образцов ДНК из селезёнок клинически больных анаплазмозом коров (СПК «Такмык» Большереченский район) и телят (ЗАО «Колос» Павлоградского района) в хозяйствах Омской области анаплазмы были обнаружены нами во всех образцах. В образцах от телят положительный сигнал был только после второго раунда ПЦР, а в образцах от крупного рогатого скота был сильный положительный сигнал и

после первого раунда ПЦР. Положительные образцы ДНК из селезёнок телят и коров были подвергнуты секвенированию (сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей). Данные образцы содержали ДНК *Anaplasma sp.* Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей фрагмента гена 16s рРНК выявил нуклеотидную замену в ДНК *Anaplasma sp.*, отличающую данный вид от *Anaplasma centrale* и *Anaplasma marginale*.

Таким образом, результаты молекулярно-генетического анализа образцов ДНК из селезёнок клинически больных анаплазмозом животных показали, что возбудитель (*Anaplasma sp. Omsk*), изолированный на территории Омской области, имеющий ряд биологических особенностей (описанных выше в 2.9), должен быть отнесён к порядку *Rickettsiales* класса α *Proteobacteria* домена *Bacteria*, к $\alpha 1$ -протеобактериям рода *Anaplasma*, семейства *Anaplasmataceae*. Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей фрагмента гена 16s рРНК, показал, что данные образцы ДНК отличались от ДНК *Anaplasma marginale* и *Anaplasma centrale* (рис. 2.9).

ORIGIN

```

1 ttaacacatg caagtcgaac ggaccataca cgcagcttgc tgcgtgtatg gttagtggca
61 gacgggtgag taatgcatag gaatctacct agtagtatgg gatagccact agaaatggtg
121 ggtaatactg tataatecct gcgggggaaa gatttategc tattagatga gcctatgtca
181 gattagctag ttggtgggt aatggcctac caaggcgggt atctgtagct ggtctgagag
241 gatgatcagc cacactggaa ctgagacacg gtccagactc ctacgggagg cagcagtggg
301 gaatattgga caatgggcgc aagcctgac cagctatgcc gcgtgagtga ggaaggcctt
361 agggttgtaa aactettca gtagggaaga taatgacggt acctacagaa gaagtcccgg
421 caaactccgt gccagcagcc gcgtaatac ggagggggca agccttcttc ggaattattg
481 ggcgtaaagg gcatgtagc gttttgtaa gttaaaggc aaataccagg gcttaacct
541 gggctgctt ttaactatgc aggactagag tccggaagag gatagcggaa ttctagtgt
601 agaggtgaaa ttc

```

Рис. 2.9. Нуклеотидная последовательность фрагмента гена 16s рРНК (AY649325) *Anaplasma sp. Omsk*

Примечание: полужирным шрифтом и чертой выделены участки ДНК, отличающие данную нуклеотидную последовательность от ДНК *Anaplasma marginale* и *Anaplasma centrale*.

Данная нуклеотидная последовательность фрагмента гена 16S рРНК (AY649325) *Anaplasma sp. Omsk* депонирована в Международном компьютерном банке данных GenBank (AUTHORS: Rar V. A., Bejsembaev K. K., Rudakov N. V., Krasikov A. P., Morozova O. V.) и получен патент № 2393211 «Штамм анаплазм *Anaplasma Sp. Omsk* нового генотипа, используемый для идентификации анаплазм и получения диагностических препаратов», 2010.

2.7. Клинико-морфологические изменения у спонтанно и экспериментально инфицированных *A.sp.Omsk* животных

У больных анаплазмозом животных, наблюдали повышение температуры тела до 40,5 °С, расстройство сердечной деятельности, анемию (иногда со слабо выраженной желтушностью) слизистых оболочек, исхудание животных. При тяжёлом течении болезни наступает угнетение, общая слабость, отказ от корма, атония желудочно-кишечного тракта, усиленная жажда, учащённое дыхание до 65 движений в минуту, отёки век, подгрудка, слизистое истечение из ноздрей.

При осмотре подозреваемых в заболевании телят выявляли следующие клинические признаки: очаговые поражения кожного покрова с характерными признаками для стригущего лишая, серозно-катаральный и гнойный конъюнктивиты, бледность слизистых оболочек ротовой и носовой полостей, серозно-катаральные бронхиты и бронхопневмонии.

Гематологическими исследованиями установлено наличие анаплазм в эритроцитах у 60 % телят и у 90 % коров. Картина красной крови характеризуется глубокими нарушениями костно-мозгового кровообращения, которое проявляется анизо-пойкилоцитозом, включениями типа ретикулярной сетчатости и анемией. Также отмечены реологические нарушения крови, проявляющиеся образованием «монетных» столбиков в результате потери заряда эритроцитами. Картина белой крови свидетельствует о дистрофических и литических процессах в лимфоцитах и нейтрофилах, характери-

зующихся ворсинчатостью ядер и набуханием внутриклеточных структур. В каждом мазке от больных животных регистрировали клетки (лимфоциты и моноциты) с признаками недостаточной зрелости. Изменения лейкоцитарного профиля проявлялись нейтрофилией и эозинофилией у больных телят и коров. Результаты гематологических исследований представлены в табл. 2.5.

Таблица 2.5

Морфологический состав крови у животных с клиническими признаками анаплазмоза

№ п./п.	Показатели	% положительно реагирующих животных	
		Телята	Коровы
1	Лимфоцитоз+незрелые лимфоциты и моноциты	100	100
2	Зернистость цитоплазмы и ворсинчатость ядер нейтрофилов	70	50
3	Тромбоцитоз	20	-
4	Анизоцитоз	40	-
5	Пойкилоцитоз	30	-
6	Анаплазмы в эритроцитах	60	90
7	Нейтрофилия	10	10
8	Эозинофилия	20	10
9	Увеличение количества сегментоядерных клеток	10	-
10	Эритроцитарные монетные столбики	-	10

Примечание: 10 голов телят в возрасте 5 месяцев, 10 голов коров в возрасте от 3 до 8 лет.

Как показали наблюдения, после клинического проявления болезни (острого, чаще подострого) она переходит в анаплазмоносительство, сопровождаемое периодическими рецидивами. Всем стадиям болезненного процесса, особенно в клинический период при рецидивах, присуще гиперактивное состояние костного мозга, заканчивающееся в итоге его аплазией, т. е. неспособностью к кроветворению, приводящее нередко к гибели животных. Паразитемия колебалась в широких пределах от 1–3 до 26–30 % заражённых клеток (в 100 полях зрения микроскопа). Однако у большинства инфицированных животных она не превышала 10 %.

Изучение возможности пассирования анаплазм в организме лабораторных животных имеет как теоретическое, так и практическое значение. А. М. Ганиев (1971) показал, что при пассажировании на кроликах *A. marginale* переживают в первом и во втором пассажах, а затем не обнаруживаются. Материалом от пассажей не удаётся вызвать заболевание крупного рогатого скота анаплазмозом.

Для изучения приживаемости и пассирования анаплазм в организме лабораторных животных поставили два опыта. В опыт по заражению возбудителем анаплазмоза взяли двух кроликов весом 2–2,5 кг, которых спленэктомировали и через двое суток после операции заразили культурой *A.sp.Omsk*, выращенной на культуре клеток Vero. Заражение проводили внутривенно по 1 мл на голову.

На основании результатов исследования (рис. 2.10) установлено, что на вторые сутки после заражения кролика № 1 число инфицированных клеток составило 18 %, а у кролика № 2 — 12 (в 100 п./з. микроскопа). На седьмые сутки интенсивность паразитемии у кролика № 1 достигла 21, а у кролика № 2 — 23 %. На двенадцатые сутки у кролика № 1 она составила 23, а у кролика № 2 — 30 %, с проявлением клинических признаков: вялость, угнетение, отсутствие аппетита, повышение температуры тела на 0,4 °С (39,9 °С), внутриушные наложения, исхудание. На четырнадцатые сутки произошла гибель кролика № 2, а паразитемия за шесть часов до гибели животного снизилась до 13 % инфицированных клеток.

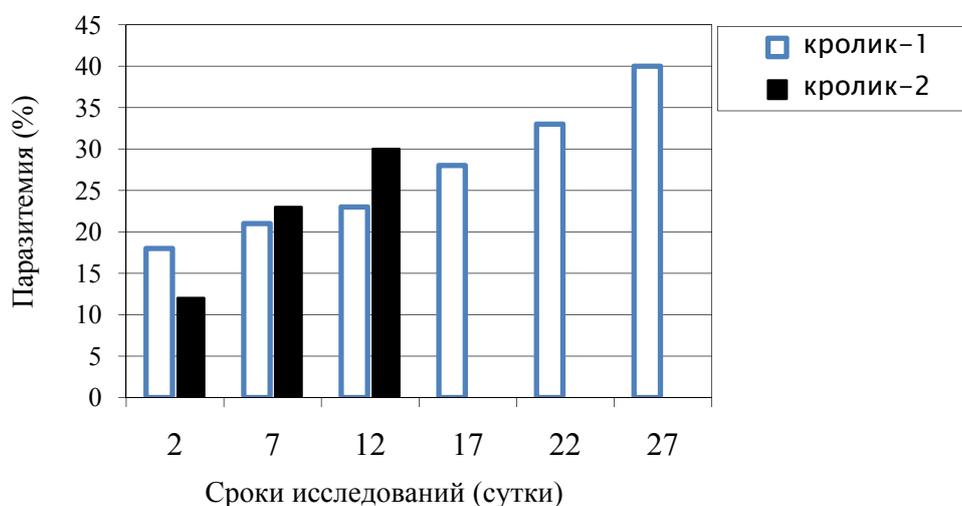


Рис. 2.10. Интенсивность паразитарной реакции у подопытных животных

На семнадцатые сутки после заражения паразитемия у кролика № 1 составила 28 % инфицированных клеток, на двадцать вторые сутки — 33 %, температура повысилась до 39,7 °С. На двадцать седьмые сутки кролик № 1 с проявлением вышеописанных клинических признаков, с паразитемией 40 % и температурной реакцией – 39,9 °С был вынужденно убит.

От обоих кроликов взяли мазки-отпечатки из паренхиматозных органов (печень, сердце, почки, лимфоузлы), в которых также были обнаружены анаплазмы.

При проведении опытов на белых мышках использовали клинически здоровых животных в возрасте 1–1,5 месяцев, весом 12–14 г (по 5 голов в каждой группе), которых заражали восьмисуточной культурой полевого штамма *A.sp. Omsk* внутрибрюшинно по 1 мл на голову. Анаплазмы выращивали на культуре клеток Vero.

После первого заражения через десять суток в крови мышей были обнаружены единичные анаплазмы в эритроцитах расположенные по периферии клетки. Ещё через двадцать суток погибла одна из пяти заражённых белых мышей, в крови которой были обнаружены анаплазмы. В этот же день у мышей взяли кровь и сделали мазки, а от погибшего мышонка — мазки-отпечатки из паренхиматозных органов. После исследования в мазках были обнаружены анаплазмы, причём паразитемия составляла 8–10 %.

Для изучения возможности увеличения паразитемии путём пассажа в организме белых мышей взяли ещё две группы белых мышей по 5 голов и заразили одну группу кровью от больных белых мышей, а другую — суспензией из паренхиматозных органов погибшего мышонка. На следующие сутки у первой группы наблюдались клинические признаки: взъерошенность, угнетение, воспаление конъюнктивы, анемичность. Через 10 суток во всех мазках крови мышей первой группы были обнаружены анаплазмы, но паразитемия не превышала 10 % заражённых клеток. Во второй группе мышей, заражённых суспензией анаплазм, на следующие сутки произошла гибель 4-х голов. В мазках-отпечатках из паренхиматозных органов у них были обнаружены анаплазмы, но концентрация их в клетках крови также не превышала 10 %.

При повторном заражении животных кровью от больных анаплазмозом мышей и суспензией из паренхиматозных органов погибших животных, гибель у мышей, заражённых инфицированной кровью, наступила через десять суток, а в крови были обнаружены анаплазмы. У мышей, заражённых суспензией, гибель наступила на следующие сутки после заражения, а в мазках-отпечатках в эритроцитах были обнаружены анаплазмы.

При вскрытии лабораторных животных после повторного заражения обнаружили резкую реакцию паренхиматозных органов. Селезёнка, печень, сердце, почки были увеличены. Селезёнка в состоянии гипертрофии, края разреза не сходятся, имели темно-вишневый цвет, пульпа сглажена. Края печени округлые, с пятнами глинистого цвета, в области пятен тестоватой консистенции, края разреза не сходятся. Сердечная сумка напряжена, плотно прилегала к сердцу, почечная капсула напряжена, края разреза не сходятся. Причём у мышей, заражённых кровью, в основном реагировала селезёнка, а у заражённых суспензией — селезёнка, печень и сердце.

Для исключения сопутствующих ассоциативных инфекций, таких как хламидиоз, ИРТ, лептоспироз, сальмонеллёз, пастерелёз, провели исследование патологического материала (селезёнка, печень, сердце, почки) в РНИФ от погибших мышей с отрицательными результатами на данные инфекции.

2.8. Усовершенствование методов диагностики анаплазмоза

Из известных в настоящее время и широкодоступных для ветеринарных лабораторий серологических тестов остаётся реакция иммунофлуоресценции. Для её постановки необходим набор специфических антигенов и антисывороток, получаемых различными способами и методами. С целью получения гипериммунных сывороток используют только антиген или антиген в сочетании с адьювантом, многократно вводя его различными способами: внутривенно, внутримышечно, подкожно, внутрикожно, а также сочетая несколько способов.

Перед нами стояла задача получить анаплазмозный антиген и диагностическую анаплазмозную сыворотку и изучить их специфичность и активность в РНИФ.

Для гипериммунизации использовали восьмисуточную культуру полевого штамма *A.sp. Omsk*, полученную на культуре клеток Vero. Заражение культур клеток Vero проводили приготовленной суспензией из селезёнки от больной анаплазмозом коровы. Культу-

ру клеток Vero выращивали в стеклянных флаконах в концентрации 150 тыс. на 1 мл. В качестве питательной среды использовали среду Игла MEM с двойным набором аминокислот, с добавлением 10 %-ной эмбриональной сыворотки и антибиотиков (пенициллин в дозе 1млн ЕД. и стрептомицин в дозе 500 тыс. ЕД. на 1 мл). На следующие сутки после образования монослоя проводили замену среды роста на среду поддержки (игла MEM с добавлением 1 %-ной эмбриональной сыворотки). Подготовленные флаконы заражали суспензией, полученной из селезёнки, в дозе 0,5 мл на флакон. Флаконы с заражёнными клетками Vero центрифугировали при 800 g при температуре 22 °С в течение одного часа, после центрифугирования среду меняли на свежую среду поддержки. Флаконы помещали при анаэробных условиях и 36 °С на восемь суток. После завершения инкубации все флаконы промораживали при -20 °С в течение 30 мин, а затем оттаивали при +18 °С. После оттаивания, клеточную взвесь центрифугировали при 3000 g в течение 15 мин и для дальнейшей работы отбирали супернатант. Для накопления антигенной биомассы анаплазмы пассировались до восьми раз. Культуру клеток с анаплазмами после каждого пассажа просматривали при помощи световой и люминесцентной микроскопии.

Для выделения анаплазм из клеток использовали указанный выше способ попеременного замораживания и размораживания и центрифугирования клеточной взвеси. Для дальнейшей работы использовали супернатант, который дополнительно центрифугировали при 6000 g в течение часа. Полученный осадок трижды отмывали стерильным физиологическим раствором, центрифугируя в том же режиме, и доводили до концентрации $1,7 \times 10^9$ микробных тел в 1 мл по ОСМ ГИСК им. Л. А. Тарасевича. Гипериммунизацию проводили на трёх кроликах породы шиншилла весом 2,5–3 кг по схеме, указанной в табл. 2.6.

Титры антител учитывали на седьмые, четырнадцатые, двадцать вторые и тридцатые сутки после введения *A.sp. Omsk* в РНИФ, антиген для которой готовили из этого же штамма и использовали после инактивации в водяной бане при 70 °С в течение 30 мин в концентрации 1 млрд м.т. Из полученной гипериммунной сыворотки готовили ряд последовательных двукратных разведений

на физиологическом растворе, начиная с 1:5. Разведения делали микродозатором в пластиковых планшетах.

Таблица 2.6

Схема гипериммунизации кроликов культурами анаплазм

Время введения, сутки	1	4	7	10	14	18	22	30
Доза антигена, млрд м.т.	0,85	1,7	1,7	1,7	3,4	3,4	3,4	полное обескров- ливание
Левамизол, мл	1	1	–	–	–	–	–	

Ход определения

Реакцию непрямой иммунофлуоресценции проверяли по следующей методике. На чистые тщательно обезжиренные без царапин предметные стёкла наносили параллельно друг другу несколько капель антигена. Антигены высушивали и фиксировали над пламенем спиртовки. Затем на каждую каплю антигена наносили равную по объёму каплю сыворотки из каждого разведения, начиная с последнего. Одновременно ставили на контроль:

- 1) антиген + сыворотка положительная;
- 2) антиген + сыворотка отрицательная;
- 3) антиген + физиологический раствор.

Стёкла выдерживали во влажной камере при 37–38 °С, в течение 50–60 мин для образования комплекса антиген — антитело. После чего их промывали дистиллированной водой от не связавшихся антител, подсушивали и наносили в красящем титре (подобранном опытным путём) ослиный антикроличий глобулин, меченый ФИТЦ. Затем стёкла помещали на 15–20 мин во влажную камеру при температуре 37–38 °С. Далее мазки промывали дистиллированной водой, просушивали и просматривали в люминесцентном микроскопе.

Интенсивность свечения оценивали в крестах:

- очень яркая люминесценция по периферии микробной клетки, чётко контрастирующая с телом клетки — ++++;
- яркая люминесцирующая периферия клетки — +++;
- слабое свечение периферии клетки — ++;
- при отсутствии свечения контуров клетки — +;



Рис. 1. Мышь, подготовленная к кормлению имаго клещей



Рис. 2. Напивавшаяся кровью самка иксодид

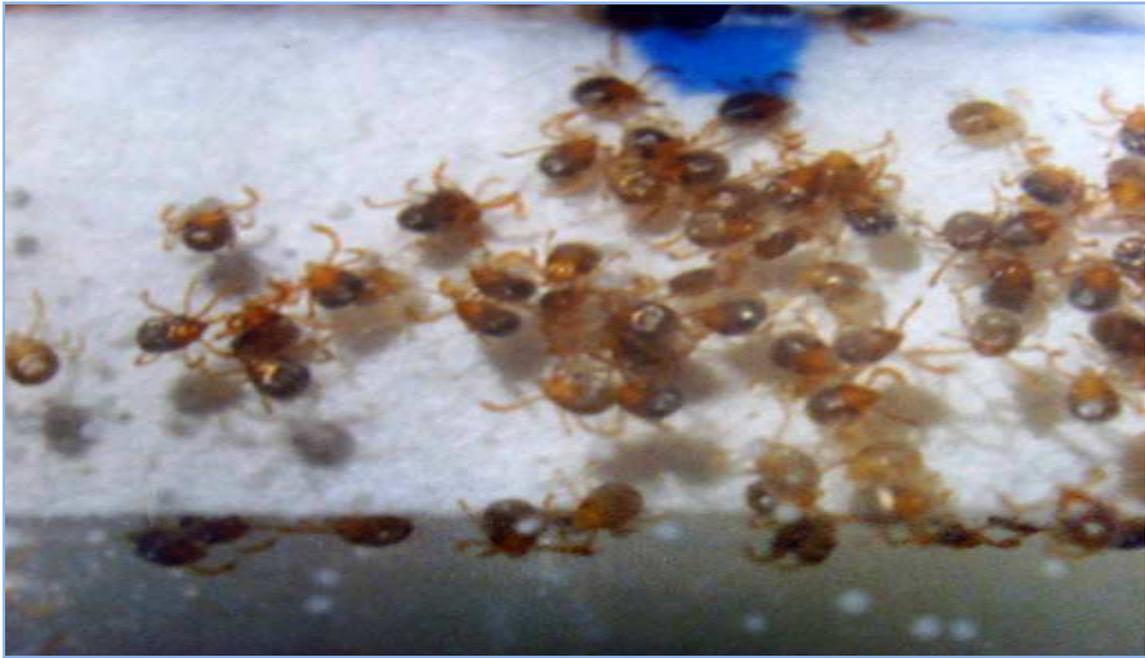


Рис. 3. Личинки (голодные) иксодовых клещей



Рис. 4. Нимфы (голодные) иксодовых клещей

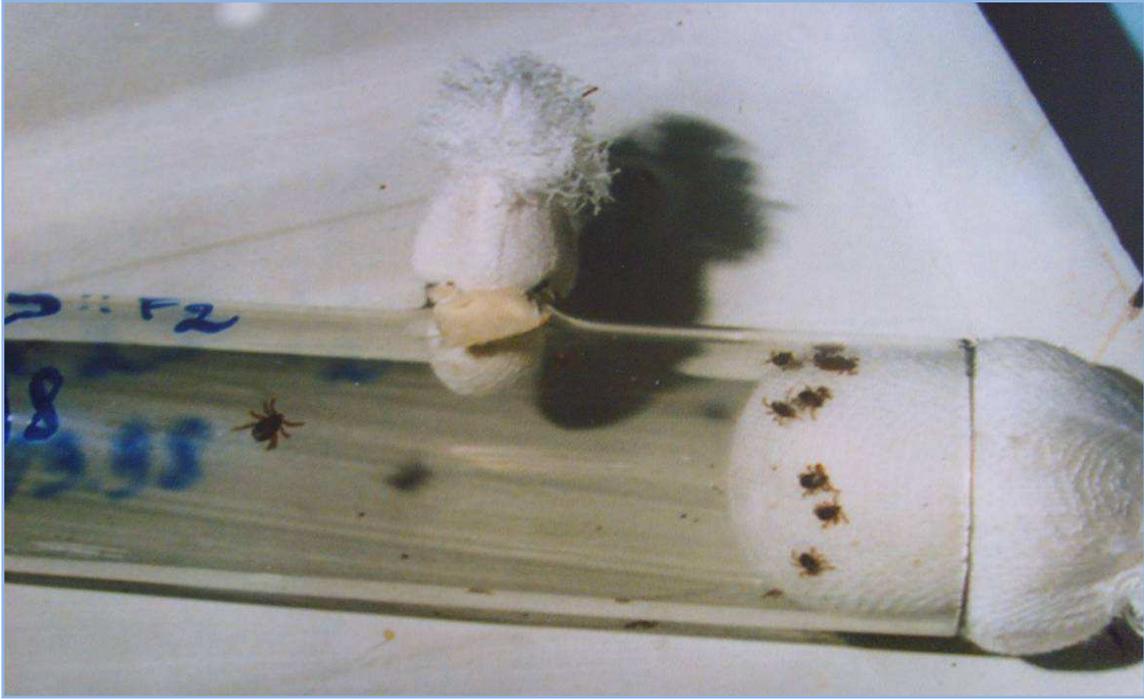


Рис. 5. Вид контейнера для содержания иксодовых клещей



Рис. 6. Кормление преимагинальных стадий на сосунках белых мышей



Рис. 7. Нимфы иксодовых клещей после кровопитания



Рис. 8. Имаго иксодовых клещей после линьки (с чешуйками)

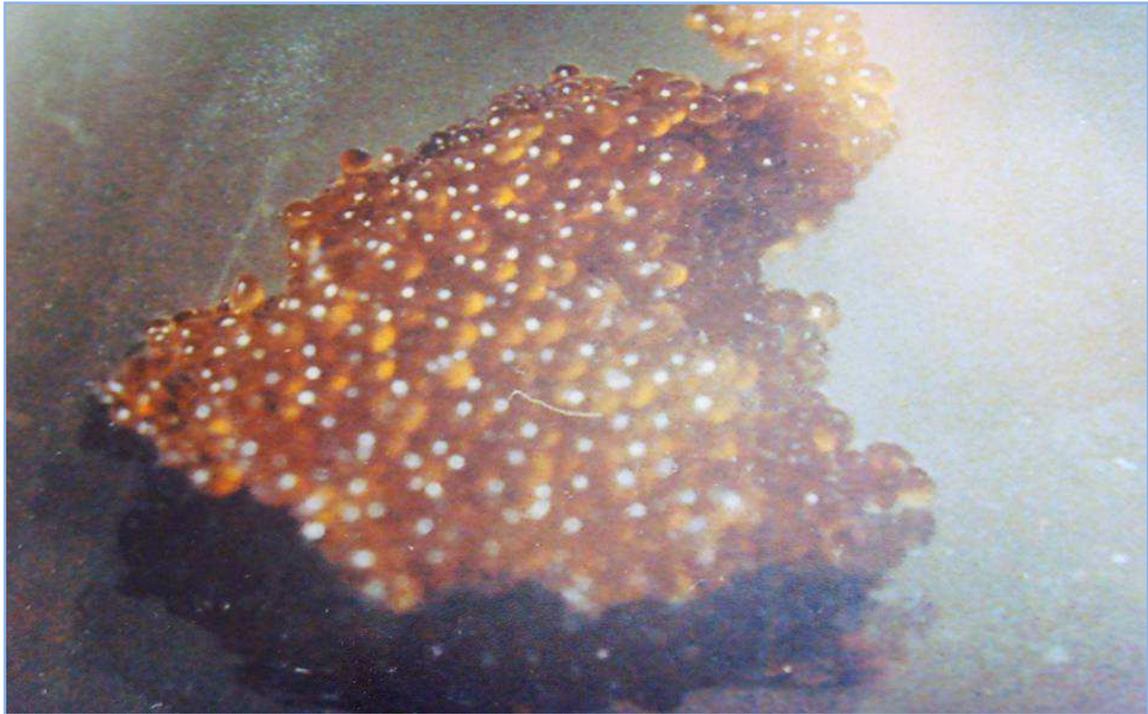


Рис. 9. Яйцекладка клещей

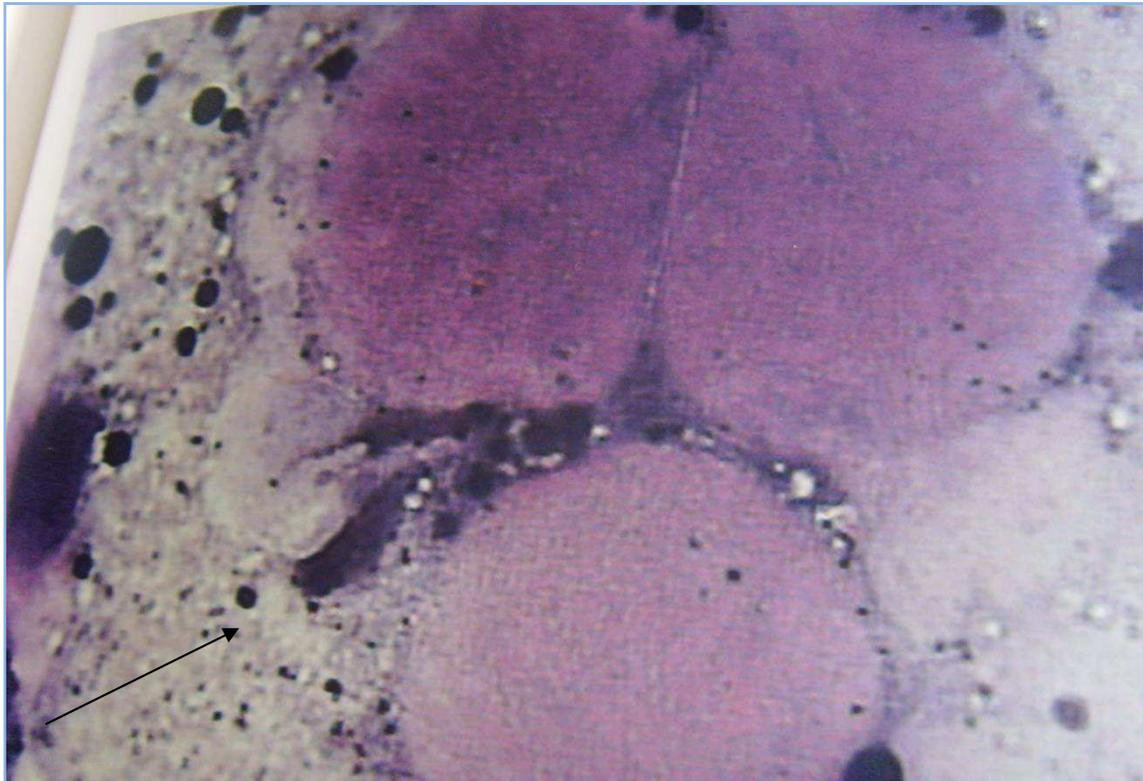


Рис. 10. Инфицированные анаплазмами клетки слюнной железы иксодовых клещей

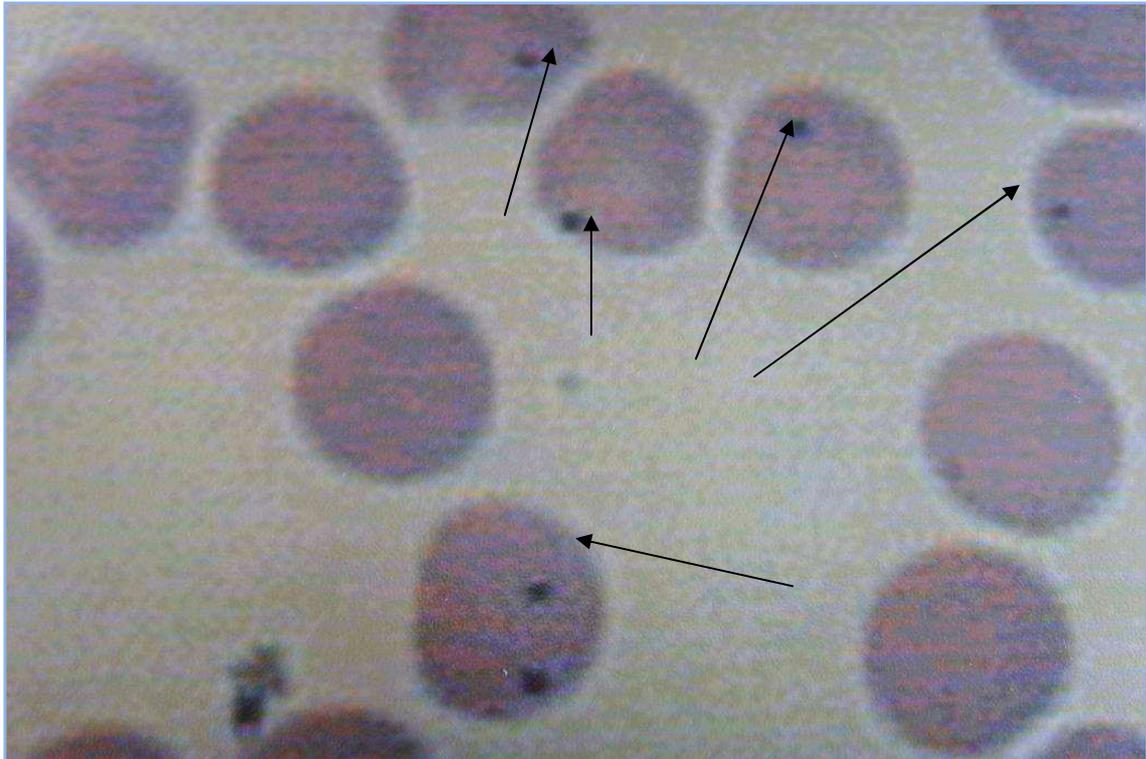


Рис. 11. Эритроциты крупного рогатого скота, инфицированные анаплазмами

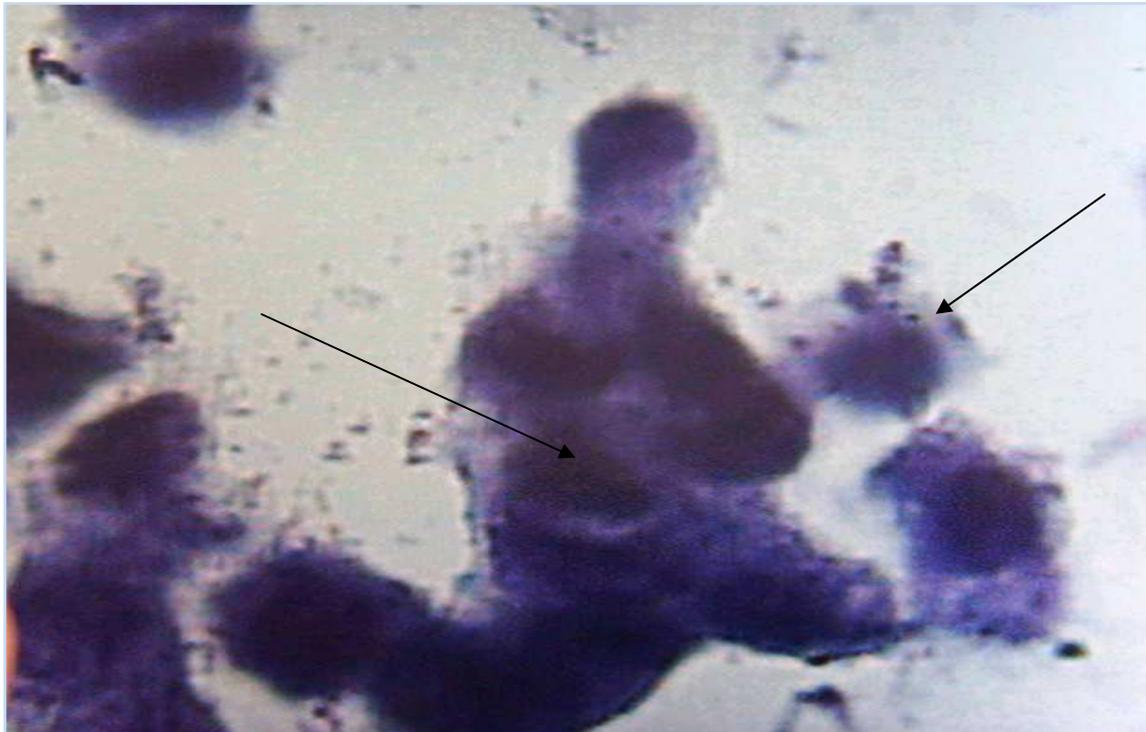


Рис. 12. Клетки Vero до заражения анаплазмами

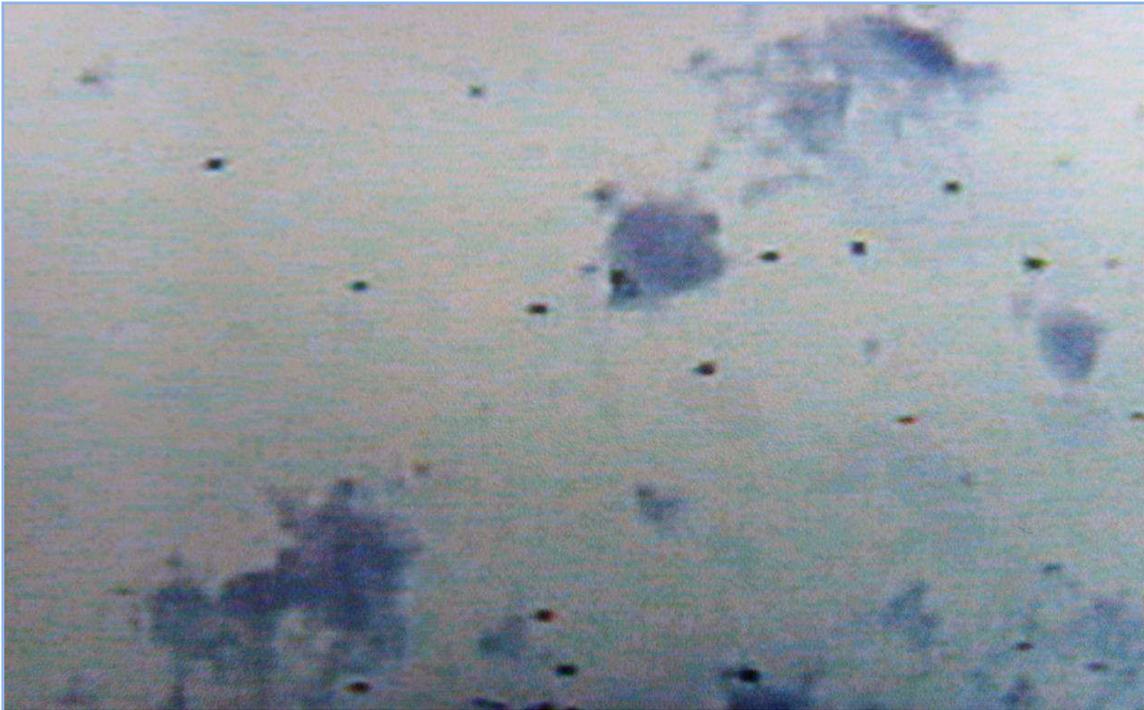


Рис. 13. Дегенеративные изменения в клетках Vero после заражения анаплазмами

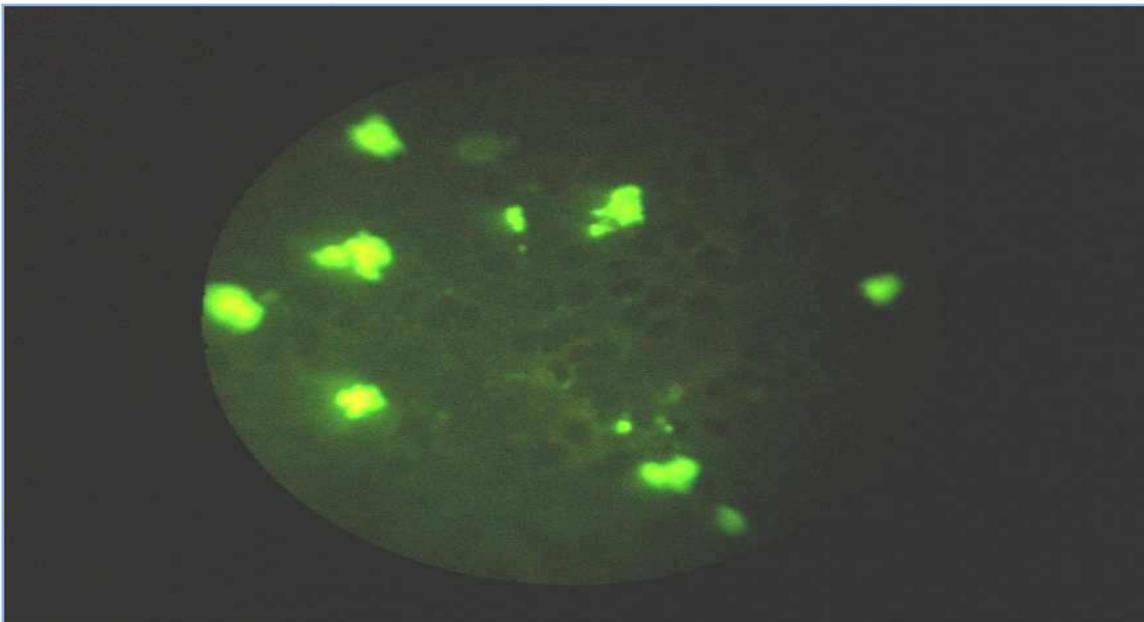


Рис. 14. Анаплазмы в РНИФ



Рис. 15. Взятие крови из яремной вены



Рис. 16. Взятие препуциальных смывов от быков



Рис. 17. Взятие бронхоальвеолярных смывов от телят



Рис. 18. Взятие молока от коров



Рис. 19. Взятие цервико-вагинальной слизи от коров



Рис. 20. Взятие фекалий от телят

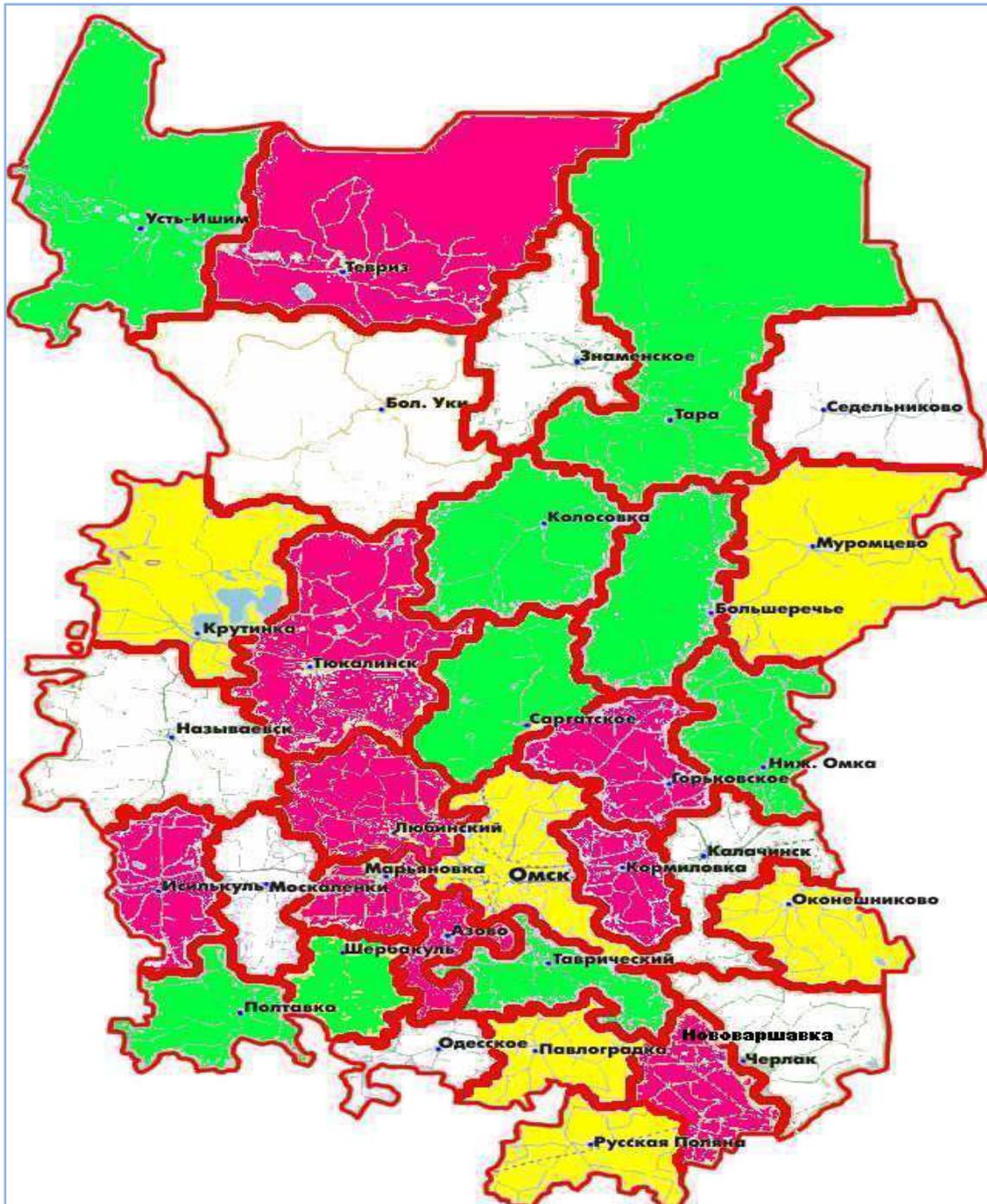


Рис. 21. Мониторинг инфицированности скота коксиеллёзом по районам Омской области за 1997-2009 гг.:

1 – районы не исследовались; 2 – инфицированный скот не выявлен; 3 – инфицированность 1-9%; 4 – инфицированность 10% и более



Рис. 22. Отлов грызунов



Рис. 23 Определение вида и генеративного состояния



Рис. 24. Взятие пробы селезенки



Рис. 25. Сбор иксодовых клещей волокушей



Рис. 26. *Dermacentor reticulatus*



Рис. 27. *Ixodes persulcatus*

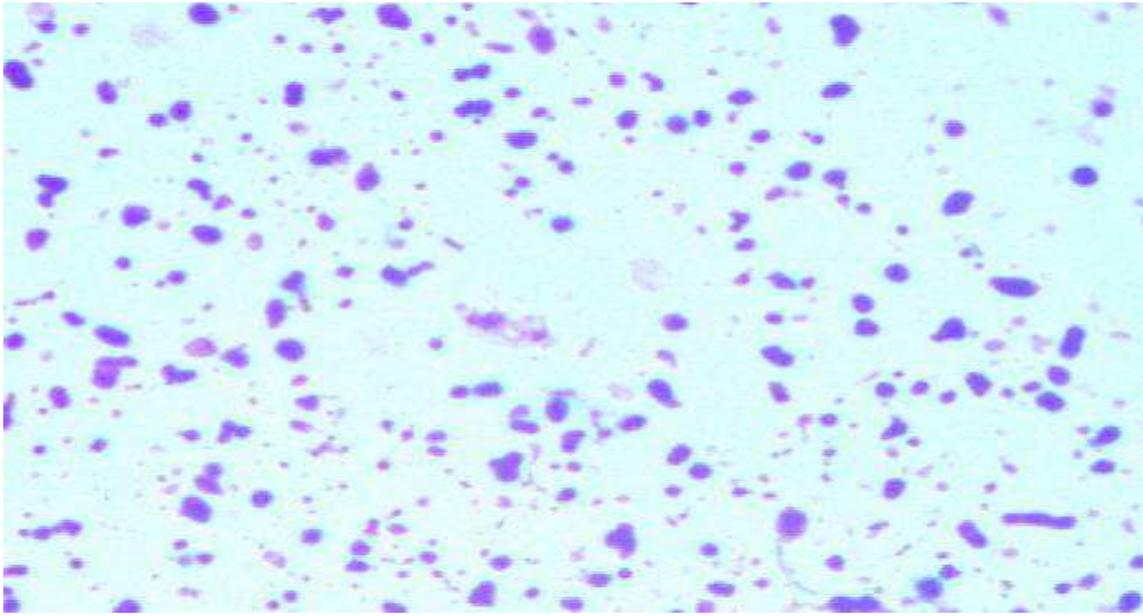


Рис. 28. Окраска кокциелл по Романовскому-Гимзе (x 1000)

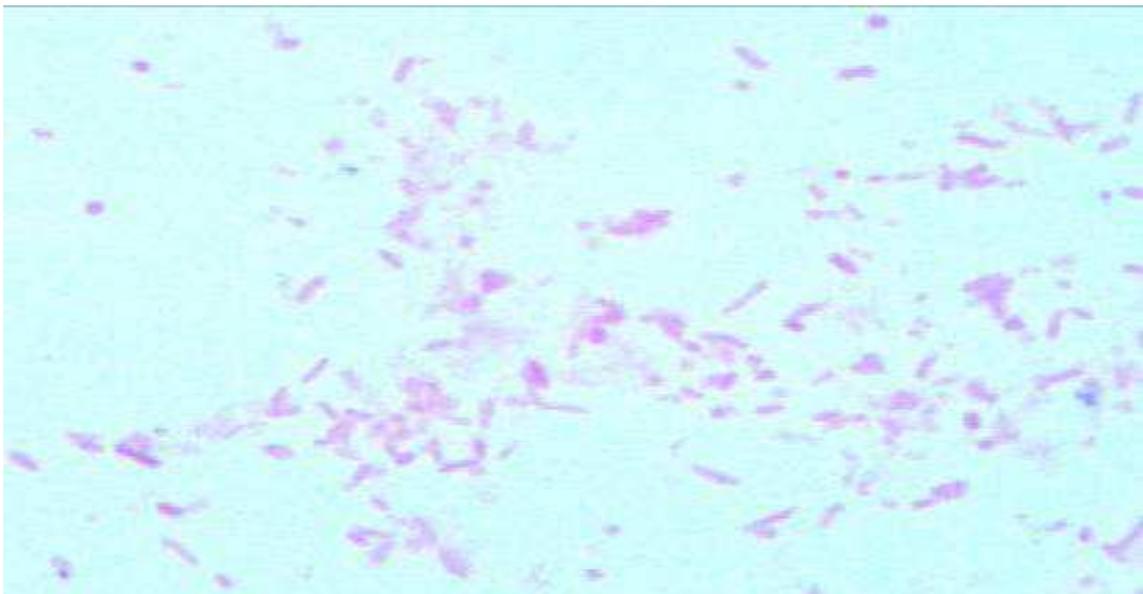
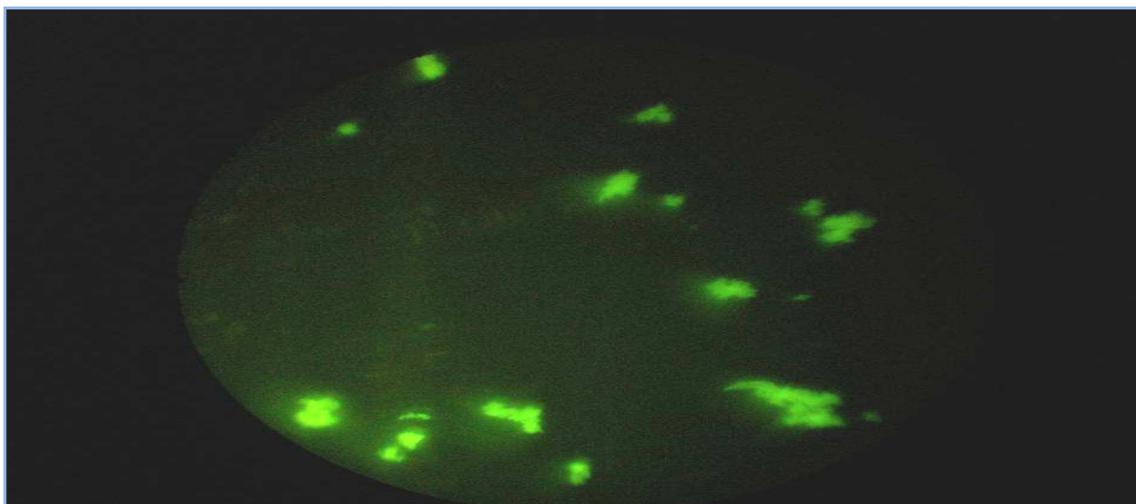


Рис. 29. Окраска кокциелл по Граму (x 1000)



**Рис. 30. Люминесценция кокциелл в РНИФ
(разведение антигена 850 млн м.г. в 1 мл.)**

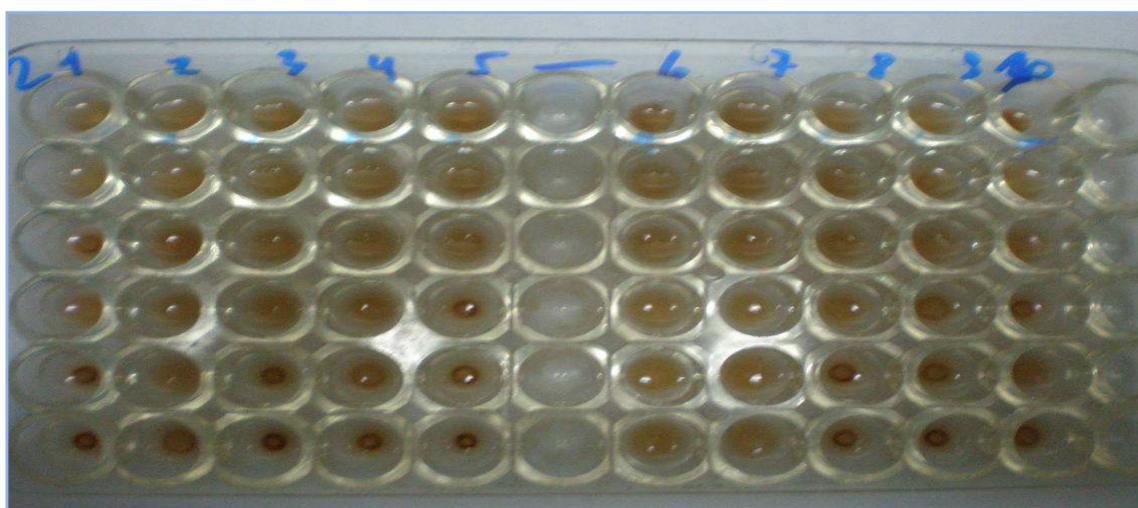


Рис. 31. Постановка РНГА (положительная 2,6,7 проба)

- при отрицательной реакции люминесценция клеток отсутствует.

За положительный результат принимали яркое специфическое свечение контуров микробов в виде ободков с оценкой в 3 и 4 креста; сомнительные результаты оценивали в 2 креста при наличии слабого свечения контуров клеток.

Полученная при гипериммунизации антисыворотка была изучена на специфичность и активность в РНИФ. Установлено, что антисыворотка, строго специфична к антигену, против которого она получена. Сыворотка, полученная путём гипериммунизации кроликов анаплазмами, выделенными от больного крупного рогатого скота, в разведении 1:5 давала перекрёстную реакцию с микоплазмами, бруцеллами, хламидиями и вирусом ИРТ–ПВ, а в разведениях 1:10, 1:20 и 1:320 была строго специфична к анаплазмам (табл. 2.7). При этом высокий уровень антител в пределах от $160 \pm 56,6$ до $320 \pm 153,2$ регистрировали на двадцать вторые-тридцатые сутки после начала гипериммунизации (рис. 2.11).

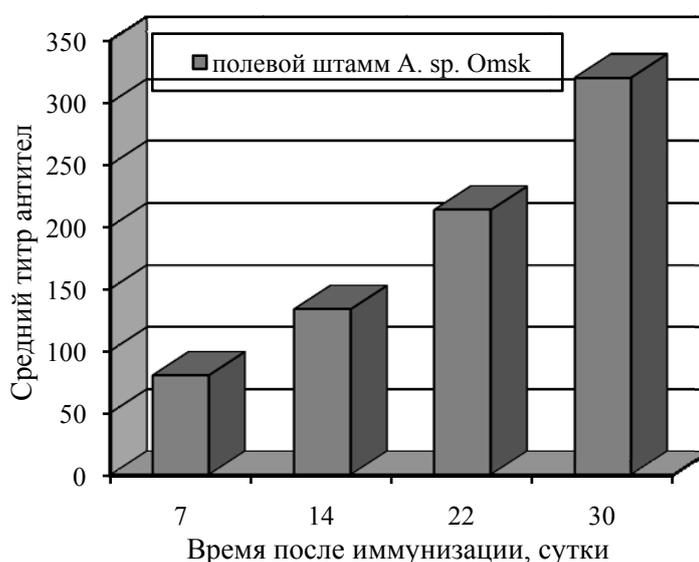


Рис. 2.11. Динамика синтеза антител у кроликов, иммунизированных культурой анаплазм

Сыворотка, полученная при гипериммунизации кроликов, обладала специфичностью к гомологичному возбудителю в титре 1:10 и выше (табл. 2.7).

Полученная диагностическая сыворотка может использоваться в РНИФ для индикации и идентификации возбудителя анаплазмоза крупного рогатого скота, изучения его антигенных свойств и родства, патогенеза болезни.

Таблица 2.7

**Специфичность и активность анаплазмозных:
антигена и кроличьей сыворотки в РНИФ**

Антигены	АНАПЛАЗМОЗНАЯ СЫВОРОТКА						
	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320
<i>A.sp.Omsk</i>	+	+	+	+	+	+	+
Микоплазмы	+	-	-	-	-	-	-
Бруцеллы	+	-	-	-	-	-	-
Хламидии	+	-	-	-	-	-	-
ИРТ	+	-	-	-	-	-	-
Листерии	-	-	-	-	-	-	-
Лептоспиры	-	-	-	-	-	-	-
Антиген	СЫВОРОТКИ 1/10						
	Ана-плаз-мозная	Мико-плаз-мозная	Бруцел-лёзная	Хлами-диозная	ИРТ	Листе-риоз-ная	Лепто-спироз-ная
<i>A.sp. Omsk</i>	+	-	-	-	-	-	-

Анаплазмозный антиген может применяться в РНИФ и других серологических методах диагностики для выявления антител.

2.9. Материалы экспериментального и производственного испытания реакции непрямой иммунофлуоресценции для диагностики анаплазмоза

Для выявления антител в сыворотке крови больного и подозреваемого в заражении возбудителем анаплазмоза крупного рогатого скота, использовали антиген, полученный на культуре клеток Vero (уровень накопления его показан на рис. 2.12), а также сыворотку крови крупного рогатого скота с наличием анаплазм в мазках крови из краевой ушной вены.

Для обнаружения антигена у экспериментально инфицированных *A.sp.Omsk* клещевых линий *D.reticulatus* и *D.silvarum* (имаго —

первого поколения, личинки и нимфы — второго поколения) применяли полученную кроличью сыворотку. При этом от каждой экспериментальной линии исследовали по 10 экземпляров имагинальных форм и по 20 экземпляров преимагинальных форм клещей. У имагинальных форм исследовали гемолимфу. Преимагинальные формы исследовали путём тотального приготовления мазков-отпечатков. Образцы имаго, личинок и нимф от этих экспериментальных линий исследовали в голодном состоянии. При наличии антигена отмечали интенсивное специфическое свечение.

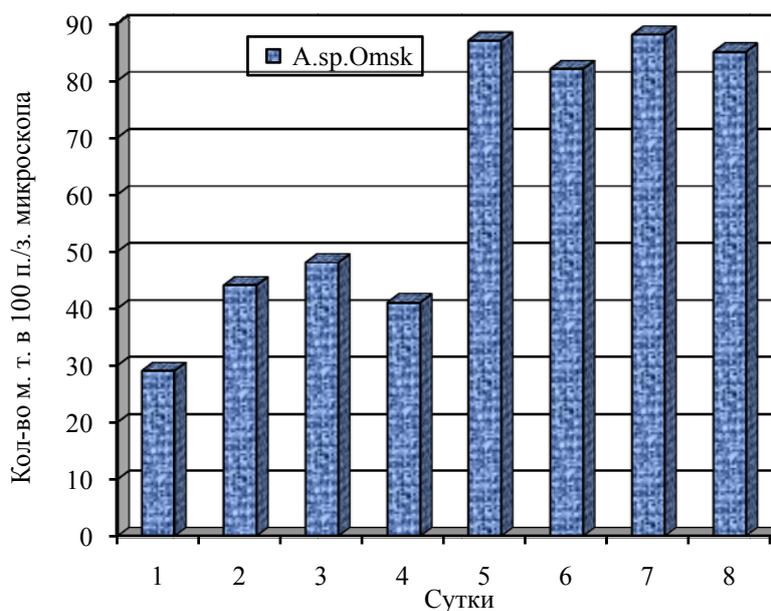


Рис. 2.12. Уровень накопления анаплазм в культуре клеток Vero

Исследования экспериментально заражённых клещей *D. reticulatus* и *D. silvarum* на обнаружение возбудителя анаплазмоза крупного рогатого скота с помощью реакции непрямой иммунофлуоресценции, показали, что у $40 \pm 15,2$ % взрослых особей (имаго) клещей *D. reticulatus* первого поколения F-1 (из числа исследованных) выявляли антиген возбудителя анаплазмоза крупного рогатого скота. В личинках и нимфах второго поколения F-2 этих же клещей — в $42,5 \pm 15,6$ и $40 \pm 15,2$ % случаев соответственно. В клещах *D. silvarum* (имаго) антиген возбудителя анаплазмоза крупного рогатого скота был обнаружен в $40 \pm 15,2$ % случаев (табл. 2.8).

При исследовании сыворотки крови у 20 голов крупного рогатого скота, в 100 % случаев установлено совпадение положительных результатов световой и люминесцентной микроскопии, что

указывает на высокую специфичность РНИФ. При этом предельное значение среднего титра антител, при котором отмечалось яркое интенсивное свечение в исследованных пробах сыворотки крови инфицированных животных, составило 30 ± 10 %, что свидетельствует о достаточном уровне активности антигена в РНИФ.

Таблица 2.8

Определение антигенов возбудителя анаплазмоза в клещевом материале с помощью РНИФ

Экспериментальные линии клещей	Имаго F-1		Личинки F-2		Нимфы F-2	
	Голодные формы					
	Кол-во иссл. экз.	Уровень инфициро- ванности, %	Кол-во иссл. экз.	Уровень инфициро- ванности, %	Кол-во иссл. экз.	Уровень инфициро- ванности, %
<i>D. reticulatus</i>	10	$30,0 \pm 14,5$	20	$40,0 \pm 10,9$	20	$45,0 \pm 11,1$
<i>D. reticulatus</i>	10	$50,0 \pm 15,8$	20	$45,0 \pm 11,1$	20	$35,0 \pm 10,7$
<i>D. silvarum</i>	10	$40,0 \pm 15,2$	—	—	—	—

Примечание: F-1 — клещи первого поколения; F-2 — клещи второго поколения; «—» — не исследовали.

Экспериментальные исследования по изучению возможности применения РНИФ в качестве диагностического теста при анаплазмозе крупного рогатого скота позволило установить принципиальную возможность использования данной серологической реакции для обнаружения антител в крови инфицированных и подозреваемых в заражении возбудителем анаплазмоза животных.

Анализ результатов проведённых исследований (табл. 2.8) показал, что реакция непрямой иммунофлуоресценции является эффективным диагностическим тестом для обнаружения возбудителя анаплазмоза крупного рогатого скота в клещевом материале, выявляя при этом до $45 \pm 11,1$ – $50 \pm 15,8$ % заражённых особей.

Кроме того, выявление возбудителя анаплазмоза крупного рогатого скота в гемолимфе половозрелых клещей (гемолимфо-тест), позволяет предположить персистенцию возбудителя в клеще. Гемолимфо-тест, является лёгким, наиболее доступным и достоверным методом исследования клещей-переносчиков на анаплазмонсительство.

Диагностическая ценность РНИФ в производственных условиях

Серологическая диагностика в настоящее время – наиболее распространенный подход для подтверждения диагноза ГАЧ и МЭЧ. Методы включают реакцию непрямой иммунофлуоресценции (РНИФ), иммуноферментный анализ (ELISA), иммуноблоттинг, основанный на рекомбинантных белках (ELISA/иммуноблоттинг). В целом эти методы высокочувствительны и достаточно специфичны. Уже на первом этапе изучения было установлено отсутствие общих антигенных детерминант с риккетсиями сыпнотифозной и клещевой групп, коксииеллами Бернета и боррелиями Бургдорфера, что имеет существенное практическое значение в условиях наличия сочетанных природных очагов и общих переносчиков. Сероконверсия — лучший метод подтверждения на первой (25 % больных) – второй (75 %) неделях заболевания. Серологический экспресс-метод диагностики (РНИФ) по простоте и скорости постановки диагноза, а также возможности прижизненной диагностики и изучения микропаразитоценозов превосходит бактериологический метод, а для диагностики вирусных болезней РИФ является одним из перспективных методов.

Для выявления антител в сыворотках крови больного и подозреваемого в заражении возбудителем анаплазмоза крупного рогатого скота использовали антиген, полученный на культуре клеток Ve-go. Специфическое свечение комплексов антиген + антитело показано на рис. 14 (на вкл., с. VII).

Предельное значение среднего титра антител, при котором отмечалось яркое интенсивное свечение в исследованных пробах сыворотки крови инфицированных животных, составило 30 ± 10 , что свидетельствует о достаточной для антигена небактериальной природы такого уровня активности в РНИФ.

При исследовании сыворотки крови 300 животных, больных и анаплазмоносителей (по клиническим признакам и микроскопическим результатам исследования), в 10 хозяйствах Омской области, Челябинской области и Республики Башкортостан в РНИФ дополнительно к световой микроскопии было выявлено в 5 хозяйствах 5–10 % анаплазмоносителей. При этом в 100 % случаев установлено соответствие положительных результатов световой и люминес-

центной микроскопии, что указывает на высокую чувствительность РНИФ (табл. 2.9).

Таблица 2.9

Изучение диагностической ценности РНИФ

№ п/п	Хозяйства	Количество животных	Реагировало, %	
			световая микроскопия	РНИФ
1	ЗАО «Наровчатское»	30	100	100
2	ЗАО «Первомайское»	30	100	100
3	СПК «Большевик»	20	100	100
4	ООО «Верхнебельский»	20	80	90
5	АО «Колос»	40	100	100
6	АОЗТ «Новороссийское»	30	60	65
7	ЗАО «Курнасово»	30	80	90
8	ЗАО «Зингейское»	40	100	100
9	СПК «Семеновка»	30	50	60
10	СПК «Кольтюгино»	30	90	100
	Итого:	300	86	90,5

Определение с помощью РНИФ роли клещей, основных переносчиков анаплазмоза крупного рогатого скота, в передаче возбудителя инфекции

В зоне Омской области изучением вопроса о передаче анаплазматическими клещами занимался К. К. Бейсембаев (17). В экспериментальных условиях им была доказана восприимчивость клещей *D. reticulatus* и *D. silvarum* к *Anaplasma sp. Omsk* при интрацеломальном заражении и сохраняемость возбудителя в них до двух месяцев. При этом автором установлена возможность не только трансвариальной, но и трансфазовой передачи в пределах одной генерации (сроки наблюдения), а также трансмиссивный путь передачи возбудителя данными клещами. А повышение числа инфицированных нимф из потомства инфицированных самок — на медиаторный путь передачи.

Для обнаружения антигена у экспериментально инфицированных *A. sp. Omsk* клещевых линий *D. reticulatus* и *D. silvarum* (имаго — первого поколения, личинки и нимфы — второго поколения) были продолжены исследования в Омской и Челябинской областях. Использовали полученную нами кроличью сыворотку. При этом от каждой экспериментальной линии исследовали по 20 экземпляров

имагинальных форм и по 30 экземпляров преимагинальных форм клещей. У имагинальных форм исследовали гемолимфу. Преимагинальные формы исследовали путём тотального приготовления мазков-отпечатков. Образцы имаго, личинок и нимф от этих экспериментальных линий исследовали в голодном состоянии. При наличии антигена отмечали интенсивное специфическое свечение.

Анализ результатов проведённых исследований (табл. 2.10) показал, что реакция непрямой иммунофлюоресценции является эффективным диагностическим тестом для обнаружения возбудителя анаплазмоза крупного рогатого скота в материале из клещей, выявления при этом до $55,0 \pm 15,0 - 60 \pm 10,0$ % заражённых особей. Кроме того, выделения возбудителя анаплазмоза крупного рогатого скота в гемолимфе половозрелых клещей (гемолимфотест), позволяет предположить персистенцию возбудителя во всех органах и тканях клеща.

Таблица 2.10

Определение антигенов возбудителя анаплазмоза в клещевом материале с помощью РНИФ

Экспериментальные линии клещей	Имаго F-1		Личинки F-2		Нимфы F-2	
	Голодные формы					
	Кол-во иссл. экз.	Уровень инфицированности, %	Кол-во иссл. экз.	Уровень инфицированности, %	Кол-во иссл. экз.	Уровень инфицированности, %
<i>D. reticulatus</i>	20	$35,0 \pm 15,0$	30	$50,0 \pm 10,0$	30	$45,0 \pm 11,1$
<i>D. reticulatus</i>	20	$60,0 \pm 10,0$	30	$55,0 \pm 15,0$	30	$40,0 \pm 10,0$
<i>D. silvarum</i>	20	$50,0 \pm 15,0$	—	—	—	—

Примечание: F-1 — клещи первого поколения; F-2 — клещи второго поколения; «—» — не исследовали.

На втором этапе работы, после получения положительных результатов РНИФ при экспериментальном анаплазмозе клещей, данный метод по обнаружению анаплазм в клещах, был испытан в производственных условиях. Целью данных исследований являлось изучение роли клещей в передаче возбудителя анаплазмоза в различных нозоареалах РФ. В зоне Южного Урала распространены клещи рода *Ixodes*, которые служат средой обитания для многих видов микроорганизмов, принадлежащих к разным таксономическим и экологическим группам (Балашов Ю. С., 1995).

Возбудители трансмиссивных инфекций, клещи-переносчики и позвоночные животные, являются нормальными компонентами природных экосистем, внутри которых они образуют сложные трёхчленные паразитарные системы «иксодовый клещ — возбудитель — позвоночное животное». Реально иксодовые клещи внутри одной экосистемы могут входить в состав нескольких разных природных очагов, как, например, клещевого энцефалита, болезни Лайма, риккетсиозов и бабезиозов (Балашов Ю. С., 1991).

Основной путь инфицирования клещей — алиментарный. Заражение клещей осуществляется при питании одной из фаз жизненного цикла, а последующее развитие и передача возбудителей возможны только на следующей фазе или фазах развития.

Длительное или даже пожизненное носительство возбудителей, охватывающее несколько фаз развития клеща, по-видимому, характерно для некоторых арбовирусов, риккетсий, боррелий и пироплазмид. Наиболее известно пожизненное носительство клещами риккетсий (Балашов Ю. С., 1995). Иксодовые клещи передают анаплазмы трансфазно, трансовариально, при прерывистом питании.

Изучение экологии переносчиков не только требует знания мест обитания клещей, но и выяснения характера распределения их по участкам, сезонного хода численности клещей в каждой фазе развития, определения горизонтального перемещения по поверхности почвы, вертикального передвижения по растительности и ряда других вопросов, связанных с жизнедеятельностью клещей (Петрищева П. А., 1964).

В последние годы численность и активность клещей резко возросли. Важным фактором в этом является уменьшение площадей пахотных земель, вследствие чего необрабатываемые площади зарастают сорняками, заселяются дикими животными, и создаются условия для увеличения численности иксодовых клещей (Кербабаев Э. Б., 2000).

В ходе проведённых исследований выяснена связь между численностью клещей и заболеванием анаплазмозом животных. Так, на юге Челябинской области и юго-востоке Республики Башкортостан (Белорецкий район) так же, как и в Омской области, заболевание анаплазмозом наблюдается на протяжении всего лета и начала осени, когда иксодовые клещи проявляют максимальную активность.

Наибольшее количество иксодовых клещей наблюдали в лесостепной (Челябинская область), подтаёжной (Омская область) и горно-лесной (Белорецкий район Республики Башкортостан) зонах. В ходе выполнения данной работы было собрано 200 клещей в зоне Южного Урала и Западной Сибири. Производственные испытания РНИФ проводили на материале от клещей, собранном в вышеуказанных зонах на территории хозяйств, в которых периодически наблюдали заболевание анаплазмозом животных (табл. 2.11). При этом инфицированность клещей в Западной Сибири и на Южном Урале составила $40\pm 10,9\%$ и $55\pm 10,7\%$ соответственно.

Таблица 2.11

Исследование гемолимфы клещей в РНИФ

Название зоны исследования	Кол-во исследованных экземпляров клещей	Уровень инфицированности
Западная Сибирь	100	$40\pm 10,9$
Южный Урал	100	$35\pm 10,7$

Следовательно, гемолимфотест по обнаружению возбудителя в клещах с помощью РНИФ позволит выяснить быстро (до появления первых случаев заболевания животных) эпизоотическую ситуацию по анаплазмозу крупного рогатого скота в конкретной местности (область, район, хозяйство, пастбище).

Данные наших исследований показывают, что необходимо проводить профилактические мероприятия, направленные поиск путей и механизмов передачи возбудителя, т. е. на уничтожение клещей — переносчиков анаплазмоза, а также своевременно проводить лечебно-профилактические мероприятия.

С помощью гемолимфотеста можно проводить эпизоотологический мониторинг циркуляции возбудителя анаплазмоза в популяции клещей на разных стадиях их развития, контроль благополучия стад и прогнозировать эпизоотическую ситуацию по анаплазмозу крупного рогатого скота.

2.10. Анаплазмозный эритроцитарный диагностикум (активность, специфичность, диагностическая ценность)

В качестве клеточной основы для приготовления диагностикума были выбраны эритроциты барана, а для стабилизации 20 %-ный формалин. При формализации эритроцитов использовали свежую дефибрированную кровь барана-донора, которую разводили 1:1 буферным физраствором рН-7,2 (0,137 М NaCl, 0,001 М двузамещённый фосфорнокислый калий на 1 л дистиллированной воды). Фиксацию эритроцитов проводили по методу Фили в нашей модификации, которая заключалась в более щадящем способе воздействия формалина на эритроциты и одновременно обеспечивала хорошую их фиксацию. При данном способе фиксации эритроциты сохраняют свои сорбционные свойства в течение пяти лет.

Для нагрузки формализированных 2,5–3 % эритроцитов делали различные разведения инактивированного при 70 °С в течение 30 мин антигена на буферном физрастворе рН-6,4. Данными дозами антигена сенсibilизировали эритроциты в соотношении 2:1 (2 объёма антигена:1 объём эритроцитов).

При определении активности полученного эритроцитарного диагностикума проводили постановку РНГА. Реакцию ставили макрометодом в объёме 0,5 мл в полистироловых пластинках, положительную анаплазмозную сыворотку разводили 1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1:160. В качестве разбавителя применяли фосфатный буфер рН-6,4. При этом результаты реакции были более демонстративны, чем при применении физраствора, что согласуется с данными, полученными нами ранее при других инфекциях (Красиков А. П., 1981).

Наиболее показательным является эритроцитарный диагностикум, сенсibilизированный анаплазмозным антигеном в разведении 1:4, который выявлял антитела в сыворотке кролика в титре 1:80 на ++, аналогичная полученная нами сыворотка в РНИФ реагировала в титре 1:320 (табл. 2.12). Полученный диагностикум обладал высокой специфичностью и не давал перекрёстных реакций с сыворотками крови против таких распространённых в Западно-

Сибирском и Южно-Уральском регионах инфекционных болезней, как лептоспироз, листериоз, хламидиоз.

Таблица 2.12

Активность и специфичность эритроцитарного диагностикума

Разведение полож. сыворотки	Разведение эритроцитарного диагностикума				
	1:1	1:2	1:4	1:8	
1:10	–	–	+++	+	
1:20	–	–	+++	+	
1:40	–	–	++	+	
1:80	–	–	++	–	
1:160	–	–	–	–	
Разведение эритроцитарного диагностикума	СЫВОРОТКИ				
	Анаплазмозная	Бруцеллёзная	Лептоспирозная	Листериязная	Хламидиозная
1:4	+	–	–	–	–

РНГА в производственных условиях испытывали с сывороткой крови от крупного рогатого скота из 10 неблагополучных по анаплазмозу хозяйств. Реакцию ставили макрометодом в объёме 0,5 мл в полистироловых пластинках. Разводили сыворотку крупного рогатого скота с 1:10 до 1:160, разведение антигена для приготовления диагностикума было 1:4.

РНГА по чувствительности не уступает и даже превосходит результаты световой микроскопии (табл. 2.13), в данной реакции дополнительно к световой микроскопии в четырёх хозяйствах выявлено 10 % реагирующих на анаплазмоз животных.

Для изучения сравнительной оценки РНИФ (патент № 2368393), РНГА (патент № 2366453) и световой микроскопии были отобраны пробы крови из 10 хозяйств, неблагополучных по анаплазмозу, принадлежащих Челябинской области, Республике Башкортостан и Омской области. При этом от одних и тех же животных проводили исследования крови в световой микроскопии и сыворотки крови в РНГА и РНИФ. Во всех случаях положительные результаты световой микроскопии подтверждались в РНИФ и РНГА.

Однако в РНИФ дополнительно к световой микроскопии в 5 хозяйствах выявлено 5–10 % реагирующих животных, а в РНГА — 10 %. При сравнении РНГА и РНИФ более чувствительным ме-

тодом оказалась РНИФ, с помощью её в одном хозяйстве дополнительно к РНГА выявлено 5 % реагирующих на анаплазмоз животных.

Таблица 2.13

**РНГА с сыворотками крови крупного рогатого скота
из неблагополучных по анаплазмозу хозяйств**

№п/п	Хозяйства	Количество животных	Реагировало в %	
			световая микроскопия	РНГА
1	ЗАО «Наровчатское»	30	100	100
2	ЗАО «Первомайское»	30	100	100
3	СПК «Большевик»	20	100	100
4	ООО «Верхнебельский»	20	80	90
5	АО «Колос»	40	100	100
6	АОЗТ «Новороссийское»	30	60	60
7	ЗАО «Курнасово»	30	80	90
8	ЗАО «Зингейское»	40	100	100
9	СПК «Семеновка»	30	50	60
10	СПК «Кольтюгино»	30	90	100
	Итого:	300	86	90

Таблица 2.14

Сравнительная оценка чувствительности методов диагностики анаплазмоза

№ п/п	Хозяйства	Количество животных	Реагировало, %		
			Свет. микроскопия	РНИФ	РНГА
1	ЗАО «Наровчатское»	30	100	100	100
2	ЗАО «Первомайское»	30	100	100	100
3	СПК «Большевик»	20	100	100	100
4	ООО «Верхнебельский»	20	80	90	90
5	АО «Колос»	40	100	100	100
6	АОЗТ «Новороссийское»	30	60	65	60
7	ЗАО «Курнасово»	30	80	90	90
8	ЗАО «Зингейское»	40	100	100	100
9	СПК «Семеновка»	30	50	60	60
10	СПК «Кольтюгино»	30	90	100	100
	Итого:	300	86	90,5	90

При сравнительной оценке РНИФ (90,5 %), РНГА (90 %) и световой микроскопии (86 %) преимущество имеют первые две реакции (табл. 2.14). Кроме того, они являются более технологичными по отношению к световой микроскопии и могут применяться одновременно с проведением массовых серологических исследований

крупного рогатого скота на бруцеллёз, лейкоз и другие инфекционные болезни.

2.11. Лечение крупного рогатого скота при анаплазмозе, в том числе ассоциированном с другими инфекциями, и его экономическое обоснование

В организме переболевшего анаплазмозом крупного рогатого скота возбудитель сохраняется практически всю жизнь. После клинического проявления болезни она переходит в анаплазмонительство, сопровождаемое периодическими рецидивами. Всем стадиям болезненного процесса, особенно в клинический период при рецидивах, присуще гиперактивное состояние костного мозга, заканчивающееся в итоге его аплазией, т. е. неспособностью к кроветворению, приводящее нередко животное к гибели (Казиков Н. А., 2003).

Лечение не является идеальным методом борьбы с анаплазмозом, однако при отсутствии адекватных эффективных средств профилактики оно приобретает особую актуальность.

Терапия применительно к анаплазмозу бывает лечебной, позволяющей снизить паразитемию возбудителя и восстановить клинико-гематологические показатели у заболевшего животного, а также стерилизующей, дающей возможность полностью освободить организм от возбудителя. Стерилизующая терапия даёт возможность, например, формировать стада, отары в благополучных местностях племенными животными из неблагополучных хозяйств.

Схемы лечения при анаплазмозе крупного рогатого скота

В Омской области опыты по сравнительному изучению терапевтической эффективности комплексных препаратов проводили в трёх базовых хозяйствах на 116 головах крупного рогатого скота: ЗАО «Колос», СПК «Большевик» и АОЗТ «Новороссийское» на спонтанно инфицированном крупном рогатом скоте.

Для формирования опытных групп в данных хозяйствах провели обследование на анаплазмоз 116 голов крупного рогатого скота разных возрастных групп. По клиническим признакам (анемия, гипотония преджелудков, истощение), а также по положительным результатам гематологических исследований (микроскопия мазков крови из краевой вены уха) по принципу аналогов было сформировано 9 опытных групп по 5 голов и три контрольных группы по 5 и 10 животных (табл. 2.15).

Таблица 2.15

Схемы опытов и эффективность лечебных свойств некоторых препаратов при анаплазмозе крупного рогатого скота в Омской области

№ схемы	Кол-во гол.	Схемы лечения коров и нетелей 1,5–3,5 лет (опыт 1) и телят 6 мес. возрастов (опыт 2, 3)	Интенсивность паразитемии, %	
			До	После
Опыт 1. ЗАО «Колос»				
1	5	Тетрациклин-ПВП 0,1 мл/кг внутримышечно один раз в день с интервалом в 24 час. в течение трёх дней	8±2,7	0,6±0,2
2	5	Тетраэритросульфид-ПЭГ 1 мл/10кг внутримышечно с интервалом в 24 час. один раз в день в течение трёх дней	5,2±1,3	0,4±0,2
3	5	Силовет 0,1 мл/кг подкожно один раз в день с интервалом в 24 час. в течение трёх дней	6,8±1,5	1±0,4
4	5	Спирт+риванол 180 мл/гол внутривенно однократно	4,6±1,5	0±0
5	5	Азидин+нилверм 15 мл/гол подкожно трёхкратно с интервалом десять дней	6±2	0±0
	10	Контрольная группа нелеченных животных	2,8±0,9	12,4±0,9
Опыт 2. СПК «Большевик»				
6	5	Левотетрасульфид-ПЭГ 1 мл/10кг внутримышечно двукратно с интервалом четыре дня	13±1,3	0±0
7	5	Тилоциклин-ПЭГ 2 мл/10кг внутримышечно пятикратно ежедневно по одному разу	10,2±1,5	0,8±0,3
	5	Контрольная группа нелеченных животных	2,8±0,9	12,4±0,9
Опыт 3. АОЗТ «Новороссийское»				
8	5	Левозитроциклин-ПЭГ 1 мл/10кг внутримышечно трёхкратно с интервалом пять дней	10,4±1,7	0,6±0,2
9	5	Тилоциклин-ПЭГ 2 мл/10кг внутримышечно пятикратно ежедневно по одному разу	9,8±2,2	0,4±0,2
	10	Контрольная группа нелеченных животных	4,8±1,2	14±0,9

Материалом для исследований служили мазки крови, химиотерапевтические вещества: тетрациклин-ПВП (тетрациклин+ антиокислитель+анестезирующее вещество+полимер наполнитель (поливинилпирролидон), тетраэритросульфид-ПЭГ (тетрациклин+сульфадимезин+эритромицин+антиокислитель+анестезирующее вещество+полимер наполнитель; суммарная активность в 1 мл 100 тыс. ЕД.), силовет (энрофлоксацин), спирт+риванол (риванола 0,2 г + спирта-ректификата 60 мл + воды дистиллированной 120 мл), азидин+нилверм (азидин 3,5 мг/кг+нилверм 5 мг/кг +дистиллированная вода Т + 50–60 °С).

В ЗАО «Колос» испытали тетрациклин–ПВП, тетраэритросульфид–ПЭГ, силовет, спирт с риванолом и азидин с нилвермом на крупном рогатом скоте в возрасте 1,5–3,5 лет.

В первой группе до применения тетрациклина–ПВП в мазках крови обнаруживали $8 \pm 2,7$ % анаплазм в 100 п./з. микроскопа. После окончания курса лечения установлено снижение паразитемии до $0,6 \pm 0,2$ %.

У животных второй группы с паразитемией $5,2 \pm 1,3$ %, через четверо–пятеро суток после проведённого курса лечения тетраэритросульфидом–ПЭГ, паразитемия снизилась до $0,4 \pm 0,2$ %. В третьей группе животных, леченных силоветом, количество анаплазм в эритроцитах снизилось с $6,8 \pm 1,5$ до $1 \pm 0,4$ % инфицированных клеток. На десятые–двадцатые сутки после проведённого курса лечения в мазках крови опытных животных первой, второй и третьей группы обнаруживали единичные анаплазмы.

У животных четвёртой группы до применения спирта с риванолом в мазках крови обнаруживали от 3 до 9 % заражённых клеток. Через 24–48 часов после применения данной лекарственной смеси количество поражённых анаплазмами эритроцитов уменьшилось. На десятые и двадцатые сутки после проведённого курса лечения анаплазмы в мазках из периферической крови не обнаружены. В пятой группе для изучения лечебных свойств смеси азидина с нилвермом, её вводили подкожно с обеих сторон шеи, трёхкратно с интервалом десять дней. Перед лечением у подопытных животных в мазках крови обнаруживали от 3 до 12 % поражённых анаплазмами эритроцитов. Через 48–72 часа после введения препарата в мазках крови выявляли единичные анаплазмы. На десятые и

двадцатые сутки после проведённого курса лечения анаплазмы в мазках из периферической крови не обнаружены.

В СПК «Большевик» применяли левотетрасульфид–ПЭГ на 6-месячных телятах и тилоциклин–ПЭГ на глубокостельных коровах (6–7-я схемы). Исследования проводили с помощью микроскопии мазков крови до лечения больных животных, сенсibilизированных анаплазмами, и через двадцать суток после лечения. У животных 6-й группы до проведения лечения левотетрасульфидом–ПЭГ в мазках крови обнаруживали $13 \pm 1,3$ % инфицированных клеток. После оказанного лечения в крови больных животных анаплазмы отсутствовали. У животных 7-й группы с паразитемией $10,2 \pm 1,5$ % инфицированных клеток через двадцать суток после проведённого курса лечения паразитемия снизилась до $0,8 \pm 0,3$ % инфицированных клеток.

В АОЗТ «Новороссийское» испытали комплексные препараты: левоэритроциклин–ПЭГ на глубокостельных коровах (схема 8) и тилоциклин–ПЭГ на 6-месячных телятах (схема 9). Исследования проводили с помощью микроскопии мазков крови до лечения больных животных, сенсibilизированных анаплазмами, и через двадцать суток после лечения. В 8-й группе до применения левоэритроциклина–ПЭГ на глубокостельных коровах в мазках крови обнаруживали $11,2 \pm 1,6$ % анаплазм в 100 п.з. микроскопа. После окончания курса лечения установлено снижение паразитемии до $0,6 \pm 0,2$ %. В 9-й группе животных, леченных тилоциклином–ПЭГ, количество анаплазм в эритроцитах снизилось с $9,8 \pm 2,2$ до $0,8 \pm 0,3$ % инфицированных клеток.

Отсутствие клинических признаков, а также отсутствие анаплазм или снижение паразитемии до единичных анаплазм в крови больных животных через двадцать суток после лечения, указывает на эффективность данных схем лечения. Тогда как в контрольных группах (опыт 1, 2) через двадцать суток число анаплазм в эритроцитах увеличилось до $12,4 \pm 0,9$ – $14 \pm 0,9$ %, у животных поднялась температура тела до 40 – 41 °С, наблюдалась выраженная анемия, угнетение, отказ от корма.

После проведения опыта, по результатам клинических, гематологических исследований, было установлено, что бактериостатическое действие на анаплазмы оказывают тетрациклин–ПВП, тетра-

эритросульфин–ПЭГ, силовет, тилоциклин–ПЭГ, левозэритроциклин–ПЭГ, а схемы лечения с применением спирта с риванолом, азидина с нилвермом и левотетрасульфина–ПЭГ оказывают бактерицидное действие. В то время как экономически эффективными и технологичными являются схемы использования азидина с нилвермом и препарата левотетрасульфина–ПЭГ.

В производственных опытах, проведённых в хозяйствах Омской области, были определены наиболее эффективные схемы лечения при анаплазмозе животных (5, 6). Данные схемы были применены в производственных условиях на 300 головах крупного рогатого скота, больного анаплазмозом, двух хозяйств Челябинской области и одном Республики Башкортостан в возрасте от 1,5 до 3,5 лет, лечение проводили с осуществлением контроля эффективности действия препаратов не только по отсутствию анаплазм, но и других ассоциантов микроорганизмов участвующих в инфекционном процессе (табл. 2.16).

Для производственного испытания были подобраны хозяйства: ООО «Верхнебельский», ЗАО «Наровчатское», СПК «Выбор», в которых регистрировали анаплазмоз в ассоциации с возбудителями других инфекционных болезней (хламидиоз, лептоспироз, ИРТ–ПВ) в различных сочетаниях, при этом в последнем анаплазмоз протекал в виде моноинфекции.

После применения азидина с нилвермом анаплазмы в крови и сыворотке не регистрировали, при лечении животных левотетра сульфидом–ПЭГ анаплазмы в крови отсутствовали, не были выявлены также возбудители хламидиоза, лептоспироза, ИРТ–ПВ в секрете молочной железы и цервикавагинальной слизи. В то время как у нелеченных животных наблюдали клинические признаки анаплазмоза, в крови были обнаружены анаплазмы (10–15 %), РНГА и РНИФ с сывороткой крови дали положительный результат, РНИФ с секретом молочной железы и цервикавагинальной слизью показала наличие возбудителей хламидиоза, лептоспироза, ИТР–ПВ.

Отсутствие клинических признаков, а также отсутствие анаплазм или снижение паразитемии до единичных анаплазм в крови больных животных через двадцать суток после лечения указывает на эффективность данных схем лечения (рис. 2.13). В отличие от этого в контрольных группах через двадцать суток число анаплазм

Схемы и результаты лечения анаплазмоза крупного рогатого скота в производственных условиях в Челябинской области и Республике Башкорстан

Кол-во животных	Схемы лечения коров и нетелей 1,5–3,5 лет	Интенсивность паразитемии в 100 п.з., % до/после	Результаты исследований (-отр., + полож.) на анаплазмоз до/после			Результаты исследований в РНИФ (-отр., + полож.) до/после		
			Свет. микр.	РНИФ	РНГА	Хламид	Легтосп.	ИРТ-ПВ
Схема 6. ООО «Верхнебельский»								
90	Левотетрасульфид-ПЭГ 1мл/10кг внутримышечно двукратно с интервалом четыре дня	6±2/0±0,0	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
10	Контрольная группа нелеченных животных	6±2/12,4±0,9	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/-
Схема 5. СПК «Выбор»								
90	Азидин+нилверм 15 мл/гол подкожно трёхкратно с интервалом десять дней	6,8±1,5/0±0,0	+/-	+/-	+/-	-	-	-
10	Контрольная группа нелеченных животных	6,8±1,5/12,4±0,9	+/+	+/+	+/+	-	-	-
Схема 6. ЗАО «Наровчатское»								
90	Левотетрасульфид-ПЭГ 1 мл/10кг внутримышечно двукратно с интервалом четыре дня	10,2±1,5/0±0,0	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
10	Контрольная группа нелеченных животных	10,2±1,5/14±0,9	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+

в эритроцитах увеличилось до $12,4 \pm 0,9$ – $14 \pm 0,9$ %, у животных поднялась температура тела до $40-41$ °С, выраженная анемия, угнетение, отказ от корма.

По результатам клинических, гематологических исследований применение 1, 2, 3, 8, 10, 11-й схем лечения на спонтанно инфицированном крупном рогатом скоте оказывает бактериостатическое действие на анаплазмы. В то время как 4, 5, 7-я схемы лечения оказывают бактерицидное действие, на что указывает отсутствие в крови опытных животных возбудителя анаплазмоза. Вместе с тем экономически эффективными и технологичными являются следующие схемы: 5 (азидин с нилвермом подкожно, трёхкратно с интервалом десять дней); 7 (левотетрасульфидин–ПЭГ внутримышечно, двукратно с интервалом четыре дня).

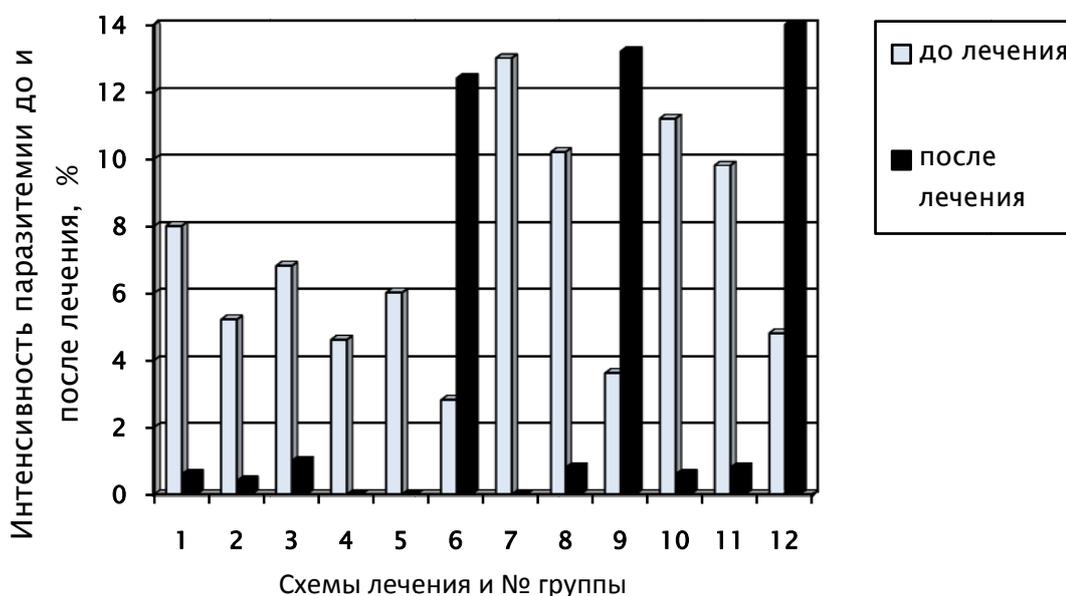


Рис. 2.13. Эффективность лечения больных анаплазмозом животных разных возрастных групп (опыт 1, 2, 3)

Экономическое обоснование схем лечения

Анаплазмоз крупного рогатого скота наносит значительный ущерб животноводству. При этом экономические потери складываются из падежа и вынужденного убоя заболевших (10–30 % и более), значительного снижения мясной, молочной продуктивности, абортос в второй половине беременности, рождения слабого

молодняка, особенно тяжело переболевшего анаплазмозом в первые 1–2 месяца жизни. Нами был определён экономический ущерб и экономический эффект от применения 5-й и 6-й схем лечения (табл. 2.17) при анаплазмозе крупного рогатого скота в ЗАО «Колос» Омской области за 2004 год и в ЗАО «Наровчатское» Челябинской области за 2005 год.

Таблица 2.17

Расчётные данные для экономического обоснования при анаплазмозе КРС в Омской («Колос») и Челябинской («Наровчатское») областях

Показатели	Единицы измерения	Кол-во ЗАО Колос	Кол-во ЗАО Наровчатское
1. Среднегодовое поголовье животных	голов	2541	2000
2. Заболело животных	голов	114	95
3. Из них коров дойных	голов	34	25
4. Молодняка	голов	80	70
5. Вынуждено убито	голов	11	9
6. Из них коров дойных	голов	3	2
7. Средняя масса одной головы	ц	3,5	3,5
8. Среднесуточный удой здоровой коровы	кг	9,7	9,5
9. Среднесуточный удой больной коровы	кг	8,7	8,5
10. Среднесуточный прирост массы молодняка здоровой группы	кг	0,402	0,400
11. Среднесуточный прирост массы молодняка заболевшей группы	кг	0,381	0,350
12. Средняя продолжительность сервисного периода	дни	65	65
13. Коэффициент возможной заболеваемости	число	0,42	0,42
14. Недополученное молоко в пересчёте на кормодни от одной заболевшей коровы	ц	3	3
15. Закупочная цена 1ц живой массы	руб.	2050	2070
16. Закупочная цена 1ц молока	руб.	800	820
17. Денежная выручка от сдачи одной головы на убой	руб.	1400	1500
18. Ветеринарные затраты:			
– серологические исследования	руб.	15,4	16
– гематологические исследования	руб.	8,3	9
– лечебно-профилактические мероприятия	руб.	10000	12000
19. Прочие расходы	руб.	9500	11000

Расчёт экономической эффективности схем лечения

Расчёт экономической эффективности данных схем лечения осуществляли в соответствии с методикой определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий, утверждённой департаментом ветеринарии Министерства сельского хозяйства и продовольствия РФ, Московской государственной академией ветеринарной медицины и биотехнологии им. К. И. Скрябина (1997).

1. Определение экономического ущерба в хозяйствах — У1 (ЗАО «Колос-1», ЗАО «Наровчатское-2»)

а) от вынужденного убоя животных по формуле:

$$У_1 = М * Ж * Ц - С_ф,$$

где М — количество убитых животных /голов/;

Ж — средняя живая масса одного животного /ц/;

Ц — закупочная цена 1 ц живой массы /руб./;

С_ф — выручка от реализации продуктов убоя /руб./.

Расчёт $У_{1.1} = 11 * 3,5 * 2050 - 15400 = 63525$ руб.

Расчёт $У_{1.2} = 9 * 3,5 * 2070 - 13500 = 51705$ руб.;

б) от недополучения молока, вследствие сдачи на убой дойных коров — У2:

$$У_2 = Мс * Нм * Ц,$$

где Мс — количество убитых дойных коров /голов/;

Нм — количество недополученного молока от убитой коровы /1ц/;

Ц — цена 1ц молока /руб./

Расчёт $У_{2.1} = 3 * 3 * 800 = 7200$ руб.

Расчёт $У_{2.2} = 2 * 3 * 820 = 4920$ руб.;

в) общий фактический ущерб — У₀:

$$У_0 = У_1 + У_2,$$

где У₁, У₂ — виды экономического ущерба в рублях от убоя животных, не дополучения молока.

Расчёт $У_{0.1} = 63525 + 7200 = 70725$ руб.

Расчёт $У_{0.2} = 51705 + 4920 = 56625$ руб.;

г) ущерб на одно заболевшее животное — Ку 1:

$$Ку_1 = У_0 : 3,$$

где У₀ — фактический экономический ущерб /руб./;

З — количество заболевших животных /голов/.

Расчёт $Ky_{1.1.} = 70725 : 114 = 620,4$ руб.

Расчёт $Ky_{1.2.} = 56625 : 95 = 596,1$ руб.;

д) ущерб на одно животное стада — Ky_2 :

$$Ky_2 = Y_0 : M_0,$$

где Y_0 — фактический экономический ущерб /руб./;

M_0 — количество животных в стаде /голов/.

Расчёт $Ky_{2.1.} = 70725 : 2541 = 27,8$.

Расчёт $Ky_{2.2.} = 56625 : 2000 = 28,31$.

2. Ветеринарные затраты — Зв.

а) общие ветеринарные затраты /руб./:

ЗАО «Колос-1» ЗАО «Наровчатское-2»

Серологические исследования	15,1	16
Гематологические исследования	8,3	9
Лечебно-профилактические мероприятия	10000	12000
Прочие расходы	9500	11000

Зв.1 = 19523,4 руб.

Зв.2. = 23025 руб.;

б) ветеринарные затраты на одно заболевшее животное — Ky_3 :

$$Ky_3 = Зв : З,$$

где $Зв$ — ветеринарные затраты /руб./;

$З$ — количество заболевших /голова/.

Расчёт $Ky_{3.1.} = 19523,4 : 114 = 171,3$ руб.

Расчёт $Ky_{3.2.} = 23025 : 95 = 242,4$ руб.;

в) ветеринарные затраты на одно животное стада — $Kyc.$:

$$Kyc. = Зв : M_0,$$

где $Зв$ — ветеринарные затраты /руб./;

M_0 — количество животных в стаде /голов/.

Расчёт $Kyc.1. = 19523,4 : 2541 = 7,68$ руб.

Расчёт $Kyc.2. = 23025 : 2000 = 11,51$ руб.

3. Предотвращенный экономический ущерб — Py_1

$$Py_1 = (M_0 * Ky_1 * Kз_1) - Y_0,$$

где M_0 — количество животных в стаде /голов/;

Ky_1 — ущерб на одно заболевшее животное /руб./;

$Kз_1$ — коэффициент возможной заболеваемости;

$У_0$ — фактический экономический ущерб /руб./.
Расчёт $Пу_{1.1} = (2541 * 620,4 * 0,42) - 70725 = 591378,3$ руб.
Расчёт $Пу_{1.2} = (2000 * 596,1 * 0,42) - 56625 = 444099$ руб.

4. Экономический эффект — Эв

$$Эв = Пу_1 - Зв,$$

где $Пу_1$ — предотвращённый экономический ущерб /руб./;
 $Зв$ — ветеринарные затраты /руб./.
Расчёт Эв.1. = $591378,3 - 19523,4 = 571854,9$ руб.
Расчёт Эв.2. = $444099 - 23025 = 421074$ руб.

5. Экономический эффект на один рубль ветеринарных затрат — Эр

$$Эр = Эв : Зв,$$

где $Эв$ — экономический эффект /руб./;
 $Зв$ — ветеринарные затраты /руб./.
Расчёт Эр.1. = $571854,9 : 19523,4 = 29,29$ руб.
Расчёт Эр.2. = $421074 : 23025 = 18,3$ руб.

Таким образом, экономический ущерб от анаплазмоза крупного рогатого скота в ЗАО «Колос» составил 70 725 руб., в ЗАО «Наровчатское» — 56 625 руб. (за 2004–2005 гг. соответственно). Применяя 5-ю и 6-ю схемы лечения в хозяйствах при анаплазмозе крупного рогатого скота сумма предотвращённого экономического ущерба составила 591 378,3 и 444 099 руб., экономический эффект от проведённых лечебно-профилактических мероприятий равен 571 854,9 руб. и 421 074 руб., а экономический эффект на один рубль затрат составил 29,29 руб. и 18,3 руб. в ценах 2004–2005 гг. соответственно.

3. ЛИХОРАДКА КУ (КОКСИЕЛЛЕЗ) КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

На протяжении всего времени существования человечества остаётся серьёзной проблема борьбы с опасными инфекционными заболеваниями. Даже при условии их успешной профилактики угроза вспышек не теряет актуальности. Это, в первую очередь, связано с тем, что ряд инфекций относится к убиквитарным, их возбудители в традиционных условиях существования закономерно переживают в организме животных. При концентрации на ограниченных площадях и ухудшении окружающих условий, способствующих снижению резистентности организма, эти животные могут тяжело переболеть соответствующими болезнями (Тимченко Л. Д. и др., 2008).

Факторы, являющиеся в этих случаях пусковыми механизмами, могут быть различны. По сообщению С. И. Джупина (2002) это: перевод животноводства на промышленную основу, концентрация большого числа животных на ограниченных площадях без выполнения традиционно сложившихся требований по обеспечению их подстилкой, прогулками, ежедневной чисткой и другими гигиеническими мерами. Такие действия активизируют патогенные свойства возбудителей, что приводит к клиническому проявлению болезни.

Одной из таких инфекций является широко распространенная во всех странах мира зооантропонозная природно-очаговая болезнь коксиеллез (лихорадка Ку). Она выявлена на территории бывшего СССР и более чем в 50 субъектах Российской Федерации (Тарасевич И. В., 2003; Лобан К. М. и др., 2002 и др.). Значение данной проблемы становится особенно явным, если принять во внимание высокую устойчивость возбудителя коксиеллёза к различным факторам внешней среды, многообразие путей выделения и передачи, наличие обширных природных очагов инфекции, включающих млекопитающих, птиц, многих видов эктопаразитов, а также возможность возникновения вторичных антропоургических очагов (Федорова Н. И., 1968; Рудаков Н. В. и др., 1983, 1984, 1985; Токаревич К. Н., 1979; Лобан К. М., 1980; 1987; Коршун А. И. и др., 1983; Госманов Р. Г. и др., 1986; 1984; Дайтер А. Б. и др., 1989; Ситдиков Р. И., 1989; Тарасевич И. В. и др., 1990; Юсупов Р. Х., 1987;

1994; Юсупов Р. Р., 1995 и др.). У сельскохозяйственных животных болезнь протекает энзоотически, преимущественно бессимптомно с накоплением специфических антител в крови и аллергизацией организма (Госманов Р. Г. и др., 1985; Юсупов Р. Х., 1987; Ситди-ков Р. И. и др., 1989).

Крупный рогатый скот весьма восприимчив к куриккетсиальной инфекции (Башалов Ю. С., 1973). Во время болезни и после неё длительное время животные выделяют коксииеллы Бернета с мочой, калом, слюной, секретом молочных желёз и отделяемых слизистых оболочек верхних дыхательных путей (Федорова Н. И., 1968; А. М. Коршун и др., 1983). У выздоровевших животных наблюдается длительное носительство возбудителя болезни (до 8 месяцев и более), при этом его можно выделить из крови, почек, селезёнки и печени. Выделение коксииелл с молоком от больных коров может продолжаться до 60 дней, а при хроническом процессе – до 2 лет (Каракулов И. К., Борисов В. Д., 1966).

Болезнь развивается медленно, часто латентно с накоплением специфических антител в сыворотке крови животных. В первые двадцать дней возбудитель обнаруживается в крови. Обладая выраженной избирательностью, он чаще размножается в лёгких, лимфоузлах, молочной железе, селезёнке и семенниках. Накапливаясь в них в значительном количестве, образует микронекротические фокусы с замещением их затем соединительной тканью, происходит аллергическая сенсibilизация организма. На третий день инкубационного периода при экспериментальном заражении у крупного рогатого скота повышается температура тела до 41–41,8 °С и удерживается 3–5 дней. Отмечаются угнетение, отказ от корма, серозные ринит и конъюнктивит, значительное и на длительный период (до нескольких месяцев) снижение удоя молока. У стельных коров нередки аборт, рождение нежизнеспособного плода, плацентиты. В течение 3–8 месяцев регистрируют повторные нерегулярные подъёмы температуры тела (Зотов А. П., 1959).

В естественных условиях заражения болезнь у коров протекает чаще скрыто, выявляют её лишь серологическими исследованиями и биопробой. Однако иногда отмечаются приступы лихорадочного состояния, аборт на втором периоде стельности и длительное выделение риккетсий с молоком, мочой и испражнениями. Кроме

того, наблюдаются бронхопневмония, конъюнктивиты, поражения половых органов, маститы, у быков — орхиты (Зотов А. П. и др., 1956; Блинов П. Н., Шесточенко М. А., 1973).

Одним из серьёзных пробелов в изучении лихорадки Ку является отсутствие подробных данных по её краевой эпизоотологии. Значительным тормозом в профилактике и ликвидации этой болезни становится недостаточно высокая ценность диагностических методов и диагностикумов. Например, РСК с антигеном из возбудителя фазы I, которая в настоящее время получила наибольшее признание в качестве лабораторного теста для диагностики лихорадки Ку сельскохозяйственных животных, не всегда даёт возможность выявлять все случаи заболевания (Юсупов Р. Р., 1995).

3.1. Этиологические и эпизоотологические особенности коксиеллеза

Лихорадка Ку — это название нозологической формы, используемое в Международной классификации болезней МКБ-10. Однако ввиду того, что за последние десятилетия этиология, эпидемиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика болезни во многом расшифрованы, её называют также коксиеллёзом по роду возбудителя, как это предложил в 1953 году болгарский учёный С. Ангелов (Жаркова В. В., 2007).

Возбудитель лихорадки Ку — *Coxiella burnetii* — принадлежит к группе гамма-протеобактерий, в которую входят и легионеллы. До 90-х годов коксиеллы были номинированы как риккетсии из-за своего исключительно внутриклеточного размножения в чувствительных клетках и связи с членистоногими переносчиками. Являются уникальными бактериями по своим биологическим свойствам, сочетая облигатный внутриклеточный паразитизм с адаптацией к кислому значению рН в фагосомах чувствительных клеток-мишеней и развитием популяции путём поперечного бинарного деления (Лобан К. М. и др., 2002).

Coxiella burnetii — экологически высокопластичный паразит, адаптированный к многочисленным видам позвоночных и беспо-

звоночных хозяев. Коксиеллы имеют сходство с представителями рода *Rickettsia*, но в отличие от них размножаются в вакуолях (фагосомах) клеток хозяина, а не цитоплазме или ядре, как виды *Rickettsia* (Nauck E. G. et al, 1948; Гудима О. С., 1961; Кокорин И. Н. и др., 1961; Хавкин Т. Н. и др., 1963, 1970). В данный род включен только один вид *Coxiella burnetii* Philip, 1943 (*Rickettsia burnetii* Derrick, 1939). Это грамтрицательные мелкие кокковидные и палочковидные или биполярные образования. Причём палочковидные риккетсии по данным изучения очищенных препаратов при электронной микроскопии, характеризуются размерами от 0,25x 0,5 мкм до 0,25x1,5 мкм (Сох Н. Р., 1938; Гудима О. С., 1961), а коккообразные и палочковидные формы, выращенные в тканевой культуре клеток HeLa, — 0,3–0,4x0,3–0,7 мкм (Гудима О. С., 1961). При окраске ультратонких срезов, а также путём изучения способности коксиелл Бернета проходить через ультрафильтры с определёнными размерами пор удаётся установить размеры их даже в пределах 30 нм (Кордова Н., 1959). Эти частицы, по мнению чешских исследователей, основанному на наблюдениях за размножением в различных клеточных культурах с помощью световой, фазоконтрастной и электронной микроскопии, представляют собой материал ранних стадий развития возбудителя, которые сходны с образцом «вирусной репликации» (Kordova N. et al, 1962, 1971; Розенберг М. и др., 1960, 1962; Кордова Н. и др., 1968). Определяются также нитевидные формы или формы в виде цепочек, достигающие размера в 20 мкм и больше. Коксиеллы не имеют капсулы, неподвижны. Сравнительная оценка морфологии коксиелл австралийских, американских, западноевропейских и отечественных штаммов *C. burnetii* показала, что они могут отличаться по своей величине.

Морфологически выделяют так называемые покоящиеся и вегетативные формы коксиелл (Гудима О. С. и др. 1968; Кокорин И. Н., 1968; Гулевская С. А., 1970). При электронной микроскопии у вегетативных форм, т. е. форм активного роста и размножения коксиелл Бернета, выявляется выраженная трёхслойная оболочка толщиной в пределах 5–10 нм, к которой изнутри прилежит слой гранулярной риккетсиоплазмы, ограниченный осмофильной плазматической мембраной. При дальнейшем развитии инфекционного процесса, с истощением возможностей для дальнейшего

роста и размножения инфицированной клеточной культуры, коксии переходят в стадию покоящихся форм, которые характеризуются уплотнением всех элементов возбудителя, утолщением оболочки его, свёртыванием генетического материала. Покоящиеся формы обычно оказываются вне разрушенных клеток хозяина, т. е. в окружающей среде. В последующем они могут быть вновь фагоцитированы другими клетками и вновь начать свой цикл внутриклеточного развития.

У коксии антигенными свойствами обладают оболочка, цитоплазма и цельные риккетсии. Однако антигенная активность риккетсий Бернета не является величиной стабильной, как у всех других риккетсий. М. Stoker и Р. Fiset (1956) обратили внимание на изменение антигенной активности американских штаммов коксии Бернета в реакции связывания комплемента, которое они назвали фазовой вариацией, или фазовой изменчивостью, что в настоящее время предполагается наличием у коксии антигенов фазы I и II. Культура риккетсий, антиген из которых в реакции связывания комплемента выявлял антитела в сыворотках лишь в позднем периоде реконвалесценции, была отнесена к фазе I, а культуры риккетсий, антиген из которых в РСК выявлял антитела в сыворотках как раннего, так и позднего периода реконвалесценции, получил название фазы II (Паутов В. Н. и др., 1968). В организме людей и животных коксии встречаются в фазе I. Под влиянием последовательных пассажей на куриных эмбрионах она превращается в фазу II. В этом случае для возбудителя Ку-лихорадки характерна склонность к спонтанной агглютинации в нормальной сыворотке (Ormsbee R. A. et al, 1964). Возбудитель фазы II хорошо фагоцитируется и при отсутствии антител обладает меньшей вирулентностью по сравнению с фазой I, в которой образует стойкую суспензию, не даёт спонтанной агглютинации и не фагоцитируется в отсутствие специфических антител. Обусловлено это тем, что коксия Бернета в фазе I имеет поверхностный антиген полисахаридной природы, ответственный за активность. У инфицированных вирулентным возбудителем Ку-лихорадки морских свинок комплементсвязывающие антитела к антигену фазы II появляются через 7–10 дней, к антигену фазы I — значительно позднее (спустя 30–60 суток).

У людей лихорадка Ку развивается после инфицирования несколькими коксииеллами фазы I, а риккетсии фазы II (штамм М-44) даже в $1:10^6$ большей дозе не вызывают каких-либо симптомов заболевания (Паутов В. Н. и др., 1968). Итоги применения в 60–80-е годы живой вакцины на основе штамма М-44 свидетельствуют о её высокой иммунологической эффективности и безвредности, в том числе и при иммунизации людей, в сыворотке которых содержатся специфические антитела (Михайлов В. В. и др., 1996). Другие изоляты чистой фазы II, полученные, в частности, клонированием на культуре клеток, также не переходят в фазу I при выращивании в организме животных. Однако, обладая антигенной структурой фазы II, штамм М-44 содержит в «замаскированном» виде компоненты поверхностного антигена, которые удаётся выявить при его повторном введении морским свинкам (Паутов В. Н., 1989).

Коксииеллы обладают поразительной резистентностью во внешней среде, а также к различным физическим и химическим агентам. Они длительно сохраняются в сухом виде и во влажных субстратах, выдерживают солнечный свет, высушивание и относительно высокие температуры. Так, нагревание жидких субстратов, содержащих коксииеллы Бернета, до 60–80 °С вызывало гибель возбудителя лишь через 30–60 минут (Ransom S. E. et al, 1951; Зубкова Р. И., 1957; Игнатович В. Ф., 1961). Показана возможность выживания коксииелл Бернета в лиофильно высушенных культурах не менее 8–10 лет. На сухой поверхности они сохраняются в течение 15 суток, в высохшей моче и крови заражённых животных — от нескольких недель до полугода, в сухих фекалиях клещей — 586 дней. В водопроводной воде риккетсии выживают свыше 160-ти дней, причём одинаково в условиях низкой и комнатной температур, в коровьем молоке при комнатной температуре — 125 дней, а при 44 °С — 273 дня (Зубкова Р. И., 1957). Коксииеллы Бернета выживают даже при длительном воздействии дезинфицирующих растворов: в течение суток — при воздействии 1 %-ного раствора карболовой кислоты; в течение 4 суток — 0,5 %-ного раствора формалина; в течение 30 минут — 10 %-ного раствора фенола и 0,5 %-ного раствора хлорамина; в течение 15 минут — 1 %-ного раствора формальдегида и 5 %-ного раствора уксусной кислоты. В 70 %-ном спирте они гибнут через 1 минуту; эфир, толуол и хлороформ при 36 °С убивают риккетсии

в течение суток. Как видно, обезвреживание кокциелл требует более высоких концентраций дезосредств и значительно большей экспозиции, а, соответственно, и особых средств и методик профилактики, отличных от обычно применяемых при риккетсиозах.

Большую резистентность кокциелл по сравнению с риккетсиями связывают с разносторонней биохимической их активностью, которая в свою очередь, по предположительному мнению И. Ф. Игнатович (1961), может зависеть от менее выраженной избирательности паразитизма этих микроорганизмов по сравнению с другими возбудителями риккетсиозов. Резервуаром кокциелл могут быть более 60 видов млекопитающих, около 50 видов птиц, свыше 77 видов различных клещей.

В эпизоотологическом и эпидемиологическом отношении лихорадка Ку – это зоонозная инфекция с природной очаговостью. Различают два типа очагов болезни: первичные природные и вторичные внутривидовые (антропургические). Внутривидовые очаги Ку-риккетсиоза на многих территориях не утратили связи с природными очагами, что определяет их «смешанный» характер (Рудаков Н. В., 1985; Карулин Б. Е., 1961; Lucto L., 1960).

В антропургических и природно-антропургических очагах резервуаром и источником инфекции являются домашние животные, особенно крупный рогатый скот, козы и овцы, меньше — лошади, свиньи, олени и др. Восприимчивые животные заражаются трансмиссивно через укусы инфицированных клещей, а также алиментарно — через загрязнённые экскретами больных животных, грызунов и клещей корма и воду, животное сырьё (кожа, шерсть, мясо, молоко и др.). При совместном содержании больных и здоровых животных возбудитель лихорадки Ку может передаваться через прямой контакт, однако основной путь передачи, по мнению большинства авторов, аэрогенный. Выделение кокциелл происходит со всеми секретами и экскретами. Особенно инфицированы плодные оболочки и околоплодные воды. Заражение людей чаще всего происходит во время отёлов и окотов скота, когда инфекция активизируется (Самуйленко А. Я. и др., 2006; Лобан К. М. и др., 2002; Федорова Н. И., 1968).

При исследовании случаев аборта у коров (Schweighardt H. et al., 1984) установлено, что Ку-риккетсиоз выявляется в 52 % случа-

ев. Диагноз лихорадки Ку устанавливается на основе выявления в тканях плода кокциелл и положительной РСК с сывороткой крови в титрах 1:160. Однако Ку-рикетсиоз чаще протекает бессимптомно.

Серьёзную народнохозяйственную проблему лихорадка Ку приобретает в связи с высокой частотой поражённых сельскохозяйственных животных — основного источника заражения людей. По данным Л. П. Другановой (1999), несмотря на широкое распространение возбудителя в природе, подавляющее большинство заболеваний людей лихорадкой Ку возникает в антропургических очагах, как правило, на фоне значительной инфицированности сельскохозяйственных животных, главным образом, скота. Наибольшая заболеваемость наблюдается, в основном, среди лиц, профессионально связанных с источником инфекции.

Проявляемость антропургических очагов лихорадки Ку и эпидемиологические связи с сельскохозяйственными животными во многом определяют основные параметры эпидемического процесса при этой инфекции: сезонность, социально-бытовой фактор, возрастная структура заболеваемости. В системе эпиднадзора за лихорадкой Ку необходимо учитывать данные серологического обследования людей и крупного рогатого скота (особенно в хозяйствах, где отмечаются аборт, бесплодие). Такой серологический мониторинг позволяет контролировать эпизоотологическую и эпидемиологическую ситуацию, определять состояние иммунитета у населения, своевременно выявлять источник инфекции и направленно проводить мероприятия.

Следовательно, действенная система эпидемиологического надзора возможна при проведении комплексных плановых эпизоотологических и эпидемиологических мероприятий с серологическими исследованиями и последующим детальным анализом.

Аналогичного мнения придерживаются Б. Т. Стегний (2003); М. Т. Гафарова (1997), акцентируя внимание на доминирующей роли эпидемиологических, эпизоотологических показателей при определении первичных и вторичных источников возбудителя и эпизоотических очагов лихорадки Ку в природе, а также среди домашних животных. В то же время эпидемиологический контроль в отношении лихорадки Ку должен осуществляться совместными

усилиями лечебно-профилактических учреждений медицинской и ветеринарной службы.

О значении эпизоотологического фактора в распространении лихорадки Ку среди людей сообщают К. Кунев (1984), М. Moffat (1990); К. Hirai (1993); М. Р. Durand et al. (1993); I. Literak et al. (1996); Л. Д.Тимченко и др. (1999).

Несмотря на использование традиционных методов борьбы с инфекцией: обеззараживание помещений; убой животных, положительно реагирующих на коксиеллёз; вскармливание телят молоком, полученным из хозяйства благополучного по лихорадке Ку и др., окончательного выздоровления животных удавалось добиться только после проведения вакцинации.

В настоящее время мероприятия в отношении лихорадки Ку регламентируются санитарно-эпидемиологическими правилами СП 3.1.7.2811-10 «Профилактика коксиеллёза (лихорадка Ку)» (2011), разработанными при нашем участии.

И. Л. Касаткина (1963) приводит данные по инфицированности коксиеллёзом сельскохозяйственных животных в мире (табл. 3.1).

Позднее изучением эпизоотической ситуации по лихорадке Ку крупного рогатого скота занимались в Австрии Н. Schweighardt et al. (1984); во Франции — С. Limouzin et al. (1985), L. Doumalin (1989); в Германии — С. Roth et al. (1986), М. Wittenbrink et al. (1994); в Чехословакии — J. Vosta (1989), I. Literak (1995); в Италии — Е. Andreani et al. (1992), G. Galiero et al. (1996).

Украинским исследователем В. Э. Федоровым (1989), в результате исследования сыворотки крови от крупного рогатого скота, установлено, что в 42 (72,4 %) из 58 обследованных хозяйств обнаружены серопозитивные животные, при средней инфицированности 3,1 %. Позднее М. В. Косенко (2003) в результате серологических исследований 285-ти сывороток крупного рогатого скота на Куриккетсиоз из хозяйств Ровенской, Волынской и Львовской областей обнаружил антитела к антигенам *S. burnetii* в 18,6, 8, 6,7 % случаев соответственно.

Н. В. Гачечиладзе (1972) приводит следующие данные по инфицированности крупного рогатого скота в Грузинской ССР: в неблагополучных хозяйствах лихорадка Ку носит характер энзоотии, охватывая от 3,2 до 20 % поголовья; положительную реакцию по

РСК чаще даёт молодняк, чем взрослые животные, что можно объяснить разными условиями содержания.

Таблица 3.1

**Заражённость сельскохозяйственного скота Ку-лихорадкой
в различных странах**

Страна	Год исследования	% положительных находок			Авторы
		коровы	овцы	козы	
Австралия	1944	1,4	—	—	Derrick
США	1950	2,6	37,9	43,6	Lenette a. oth.
Португалия	1951	23	27	20	Fonseca a. oth.
Италия	1953	4,1	42,3	—	Monaci
Марокко	1953	44,1	38,1	44,7	Garin
Эфиопия	1953	—	9,27	15,27	Gudfreund
Турция	1953	16,0	16,5	13,0	Payzin
Словакия	1956	9,5	8,6	—	Pospisie
Италия	1957	10,3	50,0	40,3	Gioglia a. oth.
СССР					
Краснодарский край	1955	12,4	—	—	Р. И. Зубкова и др.
Средняя Азия	1955	1,8	24	27,1	И. А. Шифрин и др.
Средняя Азия	1955	4,5	—	25	П. И. Набатов
Таджикистан	1955	42,2	—	—	Ш. М. Островская и
Казахстан	1955	—	—	25–30	Н. Г. Костев
Азербайджан	1956	9,7	—	—	А. Н. Стерхова
Узбекистан	1956	23,2	—	—	В. А. Лысункина
Казахстан	1957	14–62	—	—	Е. Н. Бартошевич
Киргизия	1958	27	—	28	В. Л. Лашкевич
Казахстан	1959	7,1	2	—	М. М. Махметов

Р. Г. Госманов, Р. Х. Юсупов (1987) в РДСК исследовали более 13 тыс. проб сывороток крови крупного рогатого скота и овец из хозяйств Республики Татарстан, Самарской, Саратовской, Оренбургской, Семипалатинской, Новосибирской областей и Краснодарского края. Установлено, что среди крупного рогатого скота число положительно реагирующих по РДСК наблюдалось в среднем у 6,5 % от числа обследованного поголовья. Титры антител в сыворотках крови составляли 1:10–1:80. Среди мелкого рогатого скота количество положительно реагирующих в РДСК составляло

в среднем 7,01 %. Следует отметить, что число положительно реагирующих животных в отдельных областях было неодинаковым и колебалось в пределах от 1,5 до 15 %. Полученные данные свидетельствуют, по мнению авторов, о циркуляции возбудителя лихорадки Ку.

Их мнение было подтверждено в условиях совхоза «Любомирский» Вологодской области. При исследовании 500 проб сывороток крови овец и 371 пробы сывороток крови крупного рогатого скота установлено наличие антител (в титрах 1:10–1:40) к возбудителю лихорадки Ку в сыворотках крови от 2,3 до 3,0 % случаев. Авторами был проведён диагностический убой двух овец, положительно реагирующих в РДСК. При этом из патологического материала овец выделен возбудитель лихорадки Ку. Исходя из вышеизложенного, авторы делают заключение о необходимости широких серологических исследований для определения эпизоотической ситуации с применением РДСК и других иммунологических методов (Р. Р. Юсупов, 1995).

По данным Л. Д. Тимченко и Е. Л. Тиньковой (2008) в настоящее время поражённость крупного рогатого скота в Ставропольском крае в среднем составляет 19,2 %, достигая в некоторых хозяйствах в отдельные периоды изучения заболевания до 35 %. У мелкого рогатого скота установлены колебания поражённости коксиеллёзом по отдельным хозяйствам от 18,3 до 40 %. Получены сведения о неблагополучии по коксиеллёзу 19 из 26 административных районов Ставропольского края.

При ретроспективном анализе поражённости данным заболеванием животных по краю за последние 15 лет установлено примерно такое же процентное соотношение, что напрямую доказывает не только наличие очагов на данной территории, но передачу возбудителя от одного поколения животных другому (Тимченко Л. Д. и др., 2008).

Изучением эпидемиолого-эпизоотологических особенностей коксиеллёза крупного рогатого скота в Омской области занимался Н. В. Рудаков (1985). Им установлено, что комплексы крупного рогатого скота молочного направления представляют наибольшую эпидемическую опасность в начале формирования очагов Ку-риккетсиоза. Так, при серологическом обследовании животных

совхоза «Правда» показано, что положительные результаты в диагностических титрах выявлены во всех звеньях «технологической цепочки»: комплексах «Правда» (1,4 %), «Кольцовский» (11,5 %), ферме-репродукторе (4,3 %), отделении № 1 совхоза «Правда», примыкающем к молочному комплексу (9,9 %), что свидетельствует о взаимосвязи внутривидовых очагов Ку-рикетсиоза в условиях промышленной технологии молочного животноводства (рис. 3.2).

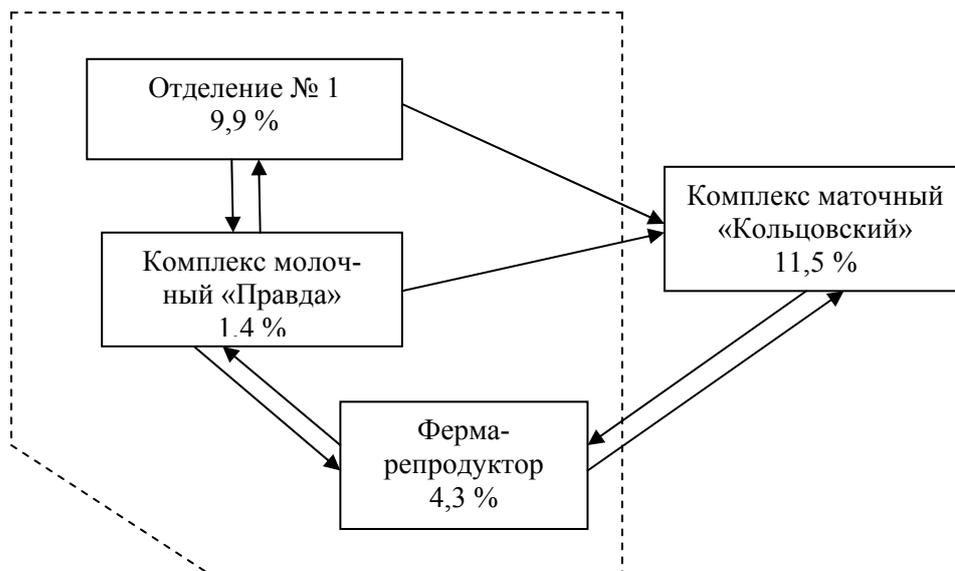


Рис. 3.2. Технологические связи и результаты серологического обследования скота совхоза «Правда» и хозяйств-поставщиков на лихорадку Ку в 1981–1982 гг.

Занос коксии Бернета на комплексы связан с завозом новых партий скота, в том числе инфицированного, что определяется неблагоприятием в отношении этой инфекции хозяйств-поставщиков, что подтверждается соответствием эпизоотической обстановки на комплексах и в районах их расположения. Технологические и ветеринарно-санитарные особенности молочных комплексов оказывают существенное влияние на внутривидовые очаги коксии, определяя длительность их существования. При этом ряд факторов (вялое течение эпизоотий, постоянный завоз животных из неблагополучных хозяйств, круглогодичные отёлы, длительное содержание животных на комплексах) способствует формированию очагов инфекции на молочных комплексах и их более длительному существованию.

3.2. Роль грызунов и клещей как резервуара коксииелл в природе

Вторым типом очагов лихорадки Ку являются природные очаги. Многие виды диких грызунов, а также паразитирующие на них клещи могут образовывать собственные резервуары возбудителя лихорадки Ку, в биоценозе которых происходит циркуляция возбудителя по замкнутому циклу. В энзоотических зонах в эпизоотический процесс могут вовлекаться многие виды диких млекопитающих и птиц (Самуйленко А. Я., 2006).

Дикие млекопитающие являются основными хозяевами коксииелл Бернета в природных стациях. Широкие адаптационные способности коксииелл позволяют им приспособиться к существованию в организме теплокровных, что было выявлено при экспериментальном заражении многих видов диких животных. Лихорадка Ку у диких млекопитающих возникает при введении им коксииелл подкожно, перорально и путём кормления на них инфицированных клещей. На 3–5-й день после заражения у некоторых зверьков повышается температура тела и снижается их активность, хотя гибели не отмечается. Заражение ведёт к длительной коксииеллемии. Наибольшая концентрация возбудителя в крови наблюдается на 5–17-й день после заражения (Яблонская В. А. и др., 1958; Евдошенко В. Г. и др., 1961).

В органах животных коксииеллы могут сохраняться более 6 месяцев после заражения и выделяться с мочой и калом. Это указывает на возможность заражения грызунов в природе не только через клещей, но и иными путями.

В Омской области в 50–60-х годах XX века были проведены исследования заражённости коксииеллами диких млекопитающих. В. И. Алифановым (1958), В. П. Костюковым (1963) серологически выявлено носительство у многих видов грызунов (краснощёкий суслик, серая крыса, лесная мышь, ондатра, узкочерепная полёвка, бурозубка).

Серологические обследования диких грызунов выявили значительные колебания поражённости отдельных популяций, что зависит в первую очередь от плотности заселения очага теплокровными и от численности на них клещей. В природных очагах наличие ин-

фекции определяется постоянным обменом возбудителя между клещами и их мелкими млекопитающими при кровопитании различных фаз развития переносчиков (личинки, нимфы, имаго).

Биологической основой природных очагов Ку-рикетсиоза является биоценоз диких теплокровных и их эктопаразитов, сложившийся в процессе эволюции и связанный с определёнными ландшафтными условиями среды (Дайтер А. Б., 1979, Карулин Б. Е., 1961). Наиболее совершенны формы взаимоадаптации между *S.burnetii* и иксодовыми клещами (Дайтер А. Б., 1978, 1980, 1970, Пчёлкина А. А., 1971, Тарасевич И. В., 1957).

Существование возбудителя Ку-рикетсиоза как вида обеспечивается жизненной схемой, включающей чередование типов хозяев. При этом экологические связи *S.burnetii* с клещами как средой обитания обязательны (Дайтер А. Б., 1979). Указанный вид протобактерий обладает значительной экологической пластичностью, что и обуславливает его широкое распространение в природе: в числе хозяев кокциелл Бернета выявлены животные, весьма далекие друг от друга в систематическом отношении, а, следовательно, эволюционно, и разнящиеся зоогеографически и экологически (Павловский Е. Н. и др., 1966).

Носительство кокциелл установлено у 77 видов клещей (в основном иксодовых и в меньшей степени — аргасовых, гамазовых и краснотелковых), большинство из которых обитают на территории нашей страны. Инфекция у них протекает бессимптомно и длительно, причем примерно у 25 видов клещей установлена трансфазовая и трансвариальная (и даже транспермальная) передача возбудителя, что, естественно, способствует сохранению его в природе и свидетельствует о высокой степени адаптации к членистоногим. Присутствие кокциелл Бернета в организме клещей не оказывает вредного влияния на их жизнедеятельность и не влияет на продолжительность развития отдельных фаз.

Все указанные носители выделяют кокциелл во внешнюю среду с мочой и фекалиями. В результате, кроме трансмиссивного пути, возбудитель может передаваться аэрогенно (от контаминированных возбудителем объектов внешней среды). Аэрогенной передаче кокциелл Бернета способствует длительная сохранность их во внешней среде, в том числе и в высохших фекалиях, где они

сохраняются от 2 до 6 месяцев и даже до 1,5 лет при низкой температуре, до 6 месяцев — при комнатной температуре; столько же возбудитель сохраняется и в тканях высохших клещей.

Также интересен тот факт, что в естественных условиях фекалии клещей чаще всего находятся на поверхности тела теплокровных животных, так как акт дефекации у иксодовых клещей происходит во время кровососания. Поэтому коксииеллы Бернета, находящиеся в фекалиях и тканях клещей, могут свободно проникать в организм теплокровных через мельчайшие кожные повреждения, оставляемые самими клещами или другими кровососущими эктопаразитами (Федорова Н. И., 1968).

По количеству клещей, вовлекаемых в циркуляцию возбудителя в природе, лихорадка Ку занимает первое место как среди риккетсиозов, так и среди многих других трансмиссивных инфекционных болезней (Thomas S. et al., 1996). Так, наличие природных очагов лихорадки Ку установлено в таких странах, как Югославия (Raseta V. et al., 1983); Болгария (Кунев Ж. et al., 1984; Пандъров С., et al., 1985); Канада (Marrie T. J., 1990); Германия (Schlisser T., 1991; Fritz E., 1994); Япония (Hiwe K. K., 1992; Hirai K., 1999); Словакия (Karitancik B., 1997). На территории Российской Федерации природные очаги выявлены в Волгоградской области (Рыбкина Р. А., 1997); Ставропольском крае (Тимченко Л. Д. и др., 1999); Краснодарском крае (Никитин В. Я., 1997); Вологодской области (Рыбакова Н. А., 1998); Нижегородской области (Могилевский Д. П., 2001); Омской и Новосибирской областей, Хакасской автономной области, Красноярском крае (Рудаков Н. В. и др. 1983).

3.3. Методы лабораторной диагностики коксииеллёза у животных

Диагноз лихорадки Ку устанавливают на основании анализа эпизоотической обстановки, клинических признаков болезни и результатов лабораторных исследований (Сидорчук А. А., Глушков А. А., 2001). Клинические обследования больных, вскрытие выну-

жденно убитых животных, отбор патологического материала проводят по стандартным методикам.

Для обнаружения коксии из патологического материала готовят мазки-отпечатки для световой микроскопии или иммунофлуоресценции. При исследовании материала с помощью световой микроскопии мазки-отпечатки окрашивают чаще по Романовскому-Гимзе, а также по Зотову-Блинову или Муромцеву. В окрашенных мазках при световой микроскопии риккетсий обнаруживаются в цитоплазме эпителиальных клеток, реже вне их, в виде кокковидных, эллиптических, иногда палочковидных включений. При окраске по Романовскому-Гимзе они имеют фиолетовый, по Зотову-Блинову — ярко-красный, по Муромцеву — ярко-синий цвет.

В специализированных лабораториях используют также и электронную микроскопию. G. V. Popov, S. P. Martinov (1986) показали, что методы негативного контрастирования и ультратонких срезов при электронно-микроскопических исследованиях плаценты abortировавшей овцы, желточных мешков, инфицированных риккетсиями куриных эмбрионов, а также патологического материала от заражённых риккетсиями мышей и морских свинок позволяют сократить затраты времени на диагностику инфекции с нескольких недель до 2–3 часов и 3 дней, соответственно, избежать артефактов, наблюдавшихся при световой микроскопии. Кроме того, электронная микроскопия даёт возможность по характерным ультраструктурным признакам дифференцировать риккетсии, хламидии и другие бактерии.

При диагностике лихорадки Ку С. Puakovic, H. Kovacic, A. Neujestic, (1987) рекомендуют микроскопию окрашенных мазков из органов, секретов и экскретов, выделение культур из заражённых эмбрионов кур и обнаружение антител методами РСК, РДСК, иммунофлуоресценции, микроагглютинации, ELISA, ПЦР.

Серологическая диагностика

Серологическая диагностика при лихорадке Ку основывается на обнаружении антигенов и антител к коксии. Серологические методы, благодаря своей высокой чувствительности и специфичности, считаются предпочтительными методами диагностики риккетсиозов.

Для серологической диагностики используют следующие методы: реакцию агглютинации (РА), реакцию связывания компонента (РСК), реакцию длительного связывания компонента (РДСК), реакцию иммунофлуоресценции в прямом варианте (РПИФ), иммуноферментный анализ (ИФА) и др.

Для микроорганизмов *C.burnetii* характерно наличие фаз, аналогичных гладким и шероховатым формам бактерий. Риккетсии в фазе I имеют 2 основных антигена, один из которых расположен на поверхности возбудителя, а другой — более глубоко. При наличии у коксиелл фазы I поверхностного антигена в серологических реакциях реагирует лишь он, так как глубинный антиген оказывается «замаскированным» и не реагирует со специфическими к нему антителами. Риккетсии фазы II, лишённые поверхностного антигена, содержат на поверхности глубинный антиген, который может реагировать со специфическими к нему антителами (Schramek S. et al., 1978). Практически любая популяция *C.burnetii* содержит риккетсии в фазах I и II, причём в зависимости от условий развития пропорциональное соотношение обеих фаз значительно варьирует (Паутов В. И. и др., 1969; Здродовский П. Ф. и др., 1972).

Реакция связывания компонента

В настоящее время, согласно санитарным правилам СП 3.1. 095-96 и ветеринарным правилам ВП 13.3. 1221-96 «Коксиеллёз (Лихорадка Ку)» серологические исследования на лихорадку Ку проводят в реакции длительного связывания компонента (РДСК) с использованием антигена из возбудителя фазы I лихорадки Ку. Диагностический титр антител в разведении 1:10 и выше.

В основе реакции лежит явление связывания компонента специфическим комплексом антиген-антитело. Об отсутствии свободного компонента в этой системе судят по задержке гемолиза эритроцитов в индикаторной системе.

РСК применяют для обнаружения и идентификации антигена в исследуемом материале, а также для выявления антител в сыворотке крови и определения их титра. Серьёзную трудность при использовании этой реакции для диагностики инфекционных болезней животных представляет неравномерное накопление антигена и антител в разные периоды их развития (Юсупов Р. Р., 1995).

Лихорадка Ку, как правило, характеризуется невысокими титрами антител в РСК. Реакция специфична при титрах 1:8–1:10 (Токаревич К. Н. и др., 1970; Здродовский П. Ф. и др., 1972; Токаревич Н. К., 1979 и др.).

Сроки выявления антител с помощью РСК могут колебаться в значительных пределах. Так, по данным E. Cracea et al. (1976), РСК была положительна уже на 1-й неделе у 36,4 % больных, а к концу второй — у 88,6 %. По мнению ряда других исследователей, она была специфична на 2-й неделе болезни и даже в течение первых 10 дней (Барташевич Е. Н., 1957). Однако есть сообщения, что в некоторых случаях с помощью РСК не удаётся установить присутствие антител и на значительно более поздних сроках от начала заболевания — на 26-е сутки (Gramasch U., 1952), даже на 30-й день (Касаткина И. Л., 1963). По её данным у 85 % больных из 118 обследованных антитела обнаружены только в период реконвалесценции.

Многие авторы отмечают, что титры антител в РСК достигают наивысшего значения (1:256–1:2048) на 3–4-й неделе болезни (Busila V. T. et al., 1972; Spiser A. J. et al., 1977; Pallosuo T., 1974).

Обнаружение комплементфиксирующих антител в РСК зависит и от фазового состояния корпускулярного антигена кокциелл Бернета, используемого в реакции. Изучение динамики антител к фазе I кокциелл у экспериментально заражённых лабораторных животных доказало, что они обнаруживаются с помощью РСК значительно позже, чем к фазе II (Федорова Н. И. и др., 1962; Федорова Н. И., 1967; Камбаратов П. И. и др., 1970). Характерно, что антитела к фазе I кокциелл у морских свинок регистрируются даже при бессимптомном течении инфекции (Рудаков Н. В. и др., 1983). Имеются также указания на то, что наличие антител к антигену фазы I не зависит от возраста больных и длительности лихорадочного периода (Камбаратов П. И. и др., 1970).

Антитела к антигену фазы II появляются с 9-го дня болезни и сохраняются даже до 11–23 лет, а антитела к антигену фазы I — с 30-го дня болезни и сохраняются не более 2–3 лет. Положительную реакцию только с антигеном из фазы II все исследователи рассматривают как свидетельство острого, «свежего» патологического процесса. Обнаружение же антител к обоим фазовым вариантам

кокциелл обычно свидетельствует об анамнестическом характере реакций, а не о болезни в данный период. Высокая концентрация антител к I фазе свидетельствует о хронической инфекции и характерна для больных с подострым или хроническим кокциеллёзным эндокардитом. Опыт показывает, что нарастание в течение болезни титра антител в 2–4 раза и более при соответствующем клиническом симптомокомплексе свидетельствует о наличии болезни. Неизменные же титры, скорее всего, говорят об анамнестической природе комплементсвязывающих антител, т. е. о ранее перенесённой лихорадке Ку (Токаревич Н. К., Чайка Н. А., 1979).

Реакция непрямой гемагглютинации

РНГА может быть использована для определения фазы заболевания, поскольку гемагглютинирующие антитела накапливаются в высоком титре в ходе инфекционного процесса, титр их быстро падает в период реконвалесценции, а через 6 месяцев после выздоровления они исчезают. В 1980 г. в Ленинградском НИИЭМ им. Пастера впервые разработан Ку-рикетсиальный иммуноглобулиновый эритроцитарный диагностикум для реакции непрямой гемагглютинации (РНГА). Пороговая чувствительность этого метода составляет 5997500 ± 1693700 кокциелл на 1 мл, что приближается к чувствительности РИФ — 3793600 ± 1073000 кокциелл (Токаревич Н. К., 1980). В эксперименте на морских свинках антиген *S.burnetii* выявлялся в селезёнках заражённых животных при наличии, по данным МФА, до 8 риккетсиальных клеток в поле зрения, а при титровании антигена 1-й фазы в РНГА положительные ответы выявлены до разведения 1:64 от рабочей дозы для РСК, что соответствует 10–20 микробных клеток в поле зрения МФА (Токаревич Н. К. и др., 1981).

В последующие годы Н. В. Рудаков (1985) при полевых испытаниях эритроцитарного диагностикума в комплексе с биологическим методом и МФА установил, что РНГА превосходит эти методы по информативности и простоте и не уступает по чувствительности классическому методу биопроб на морских свинках, то есть может применяться для индикации кокциелл наряду с МФА. Проведённые исследования свидетельствуют о сопоставимости данных трёх методов при индикации природных очагов инфекции

на юге Западной и Средней Сибири. В южной тайге, северной лесостепи и степной зоне *C.burnetii* не были выявлены ни одним из применённых методов. В южной лесостепи инфицированность основного экологического звена природных очагов — иксодовых клещей — выявлена как классическим методом биопроб, так и индикационными методами (РНГА, МФА). Техническая простота РНГА и сопоставимость её результатов с методом биопроб послужили основанием для предварительного исследования полевого материала этим методом при решении эпидемиологических задач и предварительного отбора проб на выделение *C.burnetii*. Применение РНГА позволило в короткие сроки расшифровать основные источники и факторы передачи инфекции во время вспышки Кулихорадки в Барабинском районе Новосибирской области в 1984 г. Инфицированность козьего пуха и овечьей шерсти установлена предварительно в РНГА. При исследовании 46 проб пуха коз и 29 проб шерсти овец антиген возбудителя Ку-риккетсиоза выявлен соответственно в 8 и 15 пробах. В последующих исследованиях методом биопроб подтверждена инфицированность проб пуха и шерсти (у морских свинок через 30 дней после заражения в крови определяли комплементсвязывающие антитела к *C.burnetii* 2-й фазы в титрах до 1:1280. Применение РНГА позволило установить инфицированность проб пуха и шерсти почти на месяц раньше, чем методом биопроб.

Установлена эффективность предварительного отбора проб на выделение коксиелл с помощью РНГА. При исследовании полевого материала в одной пробе селезёнок домашних мышей в РНГА получен положительный результат в титре 1:40. При исследовании этой пробы в пассажах на морских свинках был выделен штамм *C.burnetii*. При исследовании в РНГА с Ку-риккетсиональным иммуноглобулиновым диагностикумом 46 проб (смывов) пуха коз антиген этого возбудителя обнаружен в 8 пробах (титры антигена — 1:10-1:80). Инфицированность шерсти овец *C.burnetii* установлена в двух пробах из четырёх. Титры антител в РСК с антигеном 2-й фазы были значительно ниже, чем при исследовании пуха (до 1:40), в РНГА антиген коксиелл выявлен в 15 из 29, то есть более чем в половине проб (Рудаков Н. В., 1985).

Реакция иммунофлуоресценции

При диагностике риккетсиозов наиболее целесообразно использовать метод флуоресцирующих антител как для выявления и идентификации риккетсий, так и для выявления и титрования противориккетсиозных антител в сыворотках людей и животных (Левина Е. Н., 1977). Иммунолюминесцентную окраску мазков, содержащих кокциелл, осуществляют с помощью прямых и непрямых модификаций РИФ.

При использовании прямого метода применяют контрастное окрашивание, основанное на обработке исследуемых мазков специфическими глобулинами, конъюгированными с ФИТЦ, и альбуминами, меченными производными родамина.

В практических условиях наряду с прямым методом используют и непрямые модификации РИФ. При этом способе связанные с антигеном специфические антитела (немеченные) выявляются с помощью флуоресцирующих антиглобулиновых антител против иммуноглобулинов того вида, которому принадлежат антигенспецифические антитела (Тец В. В., 2002). Просмотр препаратов проводят с помощью люминесцентной микроскопии, определяя интенсивность (яркость) специфической флуоресценции.

В РНИФ в качестве антигена используют корпускулярный диагностикум из кокциелл Бернета фазы II и I. Как и РА, РНИФ позволяет выявлять антитела в более ранние сроки болезни, чем в РСК. Например, на 3-й неделе они выявляются в 95 и 59 % соответственно (Токаревич Н. К. и др. 1979).

Проведённые Н. П. Петровой и др. (1982) параллельные исследования антител в РСК и РНИФ у 90 больных позволяли чаще (более чем в 2 раза) выявлять Ку-лихорадку в первые 2 недели и в подавляющем большинстве случаев — до 4-й недели болезни. Обследование больных только с помощью РСК дало возможность подтвердить диагноз в 70 % случаев, а при сочетанном их применении — в 100 % случаев. Преимуществом РНИФ является возможность обнаружения антител различных по классу иммуноглобулинов, что важно для дифференциации острого и хронического процесса (Лобзин Ю. В., 2000).

Проведённые Р. Р. Юсуповым и Р. И. Ситдиковым (2002) специальные исследования по применению МФА для выявления анти-

гена возбудителя лихорадки Ку в органах заражённых животных показали, что при иммунофлуоресцентном исследовании органов и тканей животных (овец), заражённых *Coxiella burnetii*, положительная реакция отмечается в лимфоузлах, селезёнке, печени, лёгких, почках, надпочечниках, в тонком и толстом отделах кишечника. Специфическое свечение антигена во всех исследованных лимфоузлах и селезёнке наблюдается на третий день и в последующие сроки исследования после заражения.

Прямым и непрямыми методами установлено наличие коксиелл Бернета в цитоплазме клеток системы мононуклеарных фагоцитов, а также в межклеточной среде. В лимфоузлах отмечается, в основном, свечение цитоплазмы синусных макрофагов, а в селезёнке — ретикулярных клеток красной пульпы. При наличии в лимфоузлах гранул иммунофлуоресценция их носила равномерно-диффузный характер и имела слабое зеленовато-жёлтое свечение эпителиоидных клеток. В начальные сроки исследования в макрофагах указанных органов отмечалось выраженное диффузное зеленовато-жёлтое свечение антигенного материала, а, начиная с пятого дня и в более поздние сроки, клетки были загружены интенсивно светящейся зеленовато-жёлтого цвета зернистой массой.

В лимфоузлах эпителиальные клетки имели интенсивное изумрудно-зеленоватое диффузное свечение. В иммунокомпетентных органах максимальное количество светящихся клеток отмечалось на 40–45-е сутки исследования, причём в селезёнке они выявлялись в виде очаговых скоплений. В целом в лимфоидных органах происходило увеличение общего числа светящихся нейтрофильных гранулоцитов.

С пятого дня исследований специфическое свечение антигена риккетсий Бернета выявляли в печени, лёгких, почках и надпочечниках, интенсивность флуоресценции которых с увеличением срока заражения возрастала. В печени на пятый день болезни в просвете синусоидных капилляров обнаружены единичные слабофлуоресцирующие звездчатые ретикулоэндотелиоциты. Кроме того, в этом органе выявлены единичные клетки с выраженной диффузной зеленовато-жёлтой флуоресценцией цитоплазмы, а также мононуклеары со специфическим желтовато-зеленоватым свечением по периферии самих клеток в виде опоясывающего ободка.

В лёгких антиген *C.burnetii* выявлялся в альвеолярных макрофагах с пятого дня заражения. Клетки носили выраженное диффузное желтовато-зеленоватое свечение, а по мере развития инфекционного процесса отдельные альвеолярные клетки округлялись, приобретали некоторую зернистость и достигали максимума в интенсивности флуоресценции к 15 и 20-му дню. К 45-му дню флуоресценция указанных клеток несколько снижалась, на 113-й день в легочной ткани специфической флуоресценции не наблюдалось.

Антиген коксии Бернета в почках животных обнаруживался в очаговых пролифератах, в основном, в виде слабого диффузного свечения различного контура эпителиальных клеток и мононуклеаров.

В надпочечниках специфическое свечение антигена обнаруживали в эндотелиальных клетках капилляров мозгового вещества.

При исследовании срезов тонкого и толстого отделов кишечника в их лимфоидных образованиях выявлялись отдельные клетки типа нейтрофильных гранулоцитов, имеющих диффузную желтовато-зелёную флуоресценцию.

Следовательно, исследуя иммунофлуоресцентным методом органы и ткани естественно и экспериментально зараженных животных, антиген коксии Бернета был выявлен в лимфоузлах, селезёнке, печени, лёгких, почках, надпочечниках и кишечнике. Количество и интенсивность флуоресцирующих клеток с развитием инфекционного процесса в органах и тканях нарастает и максимально выявляется на 30–40-й день (Юсупов Р. Р. и др., 2002; Хисматуллина Н. А. и др., 2000).

3.4. Экспериментальные данные

Исследования проводились в период с 1997 по 2009 гг. на кафедре эпизоотологии, паразитологии, инфекционных и инвазионных болезней ИВМ ОмГАУ, в лаборатории зоонозных инфекций НИИ природно-очаговых инфекций Роспотребнадзора, в Омской областной ветеринарной лаборатории и хозяйствах Омской области.

Объектом исследований являлся крупный рогатый скот различных половозрастных групп с выраженными клиническими признаками бронхитов, маститов, эндометритов, абортот, а также мышевидные грызуны и иксодовые клещи.

Материалом для исследований служили сыворотка крови, секрет вымени, цервико-вагинальная слизь от коров и нетелей, сыворотка крови, бронхоальвеолярные смывы, фекалии от телят, сыворотка крови, сперма и препуциальные смывы от быков-производителей, патологический материал от погибших животных и абортированных плодов.

В экспериментальных условиях использовали: четырёх кроликов (двух — для получения коксиеллёзной, двух — для получения кампилобактериозной сыворотки) и трёх морских свинок для постановки биопробы.

Для диагностики применяли эпизоотологический, клинический, патологоанатомический и лабораторные методы. При изучении эпизоотических особенностей коксиеллёза крупного рогатого скота в Омской области использованы материалы собственных наблюдений, полученные в период выездов в хозяйства и лабораторные данные об инфицированности скота за 9 лет (1997–2006 гг.), а также результаты исследований аспиранта кафедры эпизоотологии, паразитологии инфекционных и инвазионных болезней О. И. Наконечного за 2007–2009 гг. Для изучения природных очагов лихорадки Ку было проведено исследование мышевидных грызунов и иксодовых клещей, собранных на территории Омской области. Данный раздел работы выполнялся при участии научных сотрудников лаборатории зоонозных инфекций НИИ природно-очаговых инфекций Роспотребнадзора А. К. Танцева и кандидата медицинских наук Г. В. Березкиной. Сбор иксодовых клещей проводился при учёте на волокушу маршрутным методом, а отлов грызунов — при помощи ловушек Геро.

Для серологических исследований применяли реакцию непрямой гемагглютинации (РНГА) с целью обнаружения антител в сыворотке крови; реакцию непрямой и прямой иммунофлуоресценции (РНИФ и РПИФ) для обнаружения антител и антигенов в пробах био- и патологического материала, полученного от больных, погибших и вынужденно убитых животных. Фиксацию мазков

проводили по методу Моды с соавт. (1958), а постановку РНИФ по методике, предложенной Уэллером и Кунсом (1945).

Для люминесцентной микроскопии использовали микроскоп ЛЮМАМ Р-8 с увеличением в 900 раз, а степень флуоресценции оценивали по 4-крестной системе.

Для постановки серологических тестов использовали стандартные антигены, применяемые для постановки РА и РСК, и полученный нами коксиеллёзный антиген, а в качестве антител — гомологичные антигенам кроличьи и бычьи антисыворотки, антивидовые для РНИФ и специфические: сальмонеллезную, коксиеллёзную для РПИФ люминесцентные сыворотки, меченные ФИТЦ (ИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи), а также полученные нами кроличьи сыворотки против антигенов возбудителя лихорадки Ку, кампилобактериоза и ранее полученные в лаборатории микстинфекций: хламидиоза, пастереллеза, диплококкоза (Лобанова Н. В., 2004).

Коксиеллёзный антиген для постановки РНИФ и РНГА получали из вакцинного штамма *C.burnetii* М-44. Коксиеллёзную антисыворотку получали путём гипериммунизации кроликов вышеуказанным антигеном по схеме D. Schimmel, в нашей модификации (Рудаков Н. В., Николаева Н. Н., А.П. Красиков, 2000).

Для изготовления эритроцитарного диагностикума для РНГА в качестве клеточной основы использовали эритроциты барана, а для стабилизации 20 %-ный раствор формальдегида. Фиксацию эритроцитов проводили по методу Фили в нашей модификации (А. П. Красиков, 1982).

Постановку биопробы на морских свинках проводили, пользуясь методикой, предложенной А. Б. Дайтером (1980).

3.5. Эпизоотическая ситуация по коксиеллёзу, а также ассоциативным формам его проявления в хозяйствах Омской области

Проведено комплексное обследование животноводческих хозяйств. Для этого использовали эпизоотологический, клинический и серологические методы (РПИФ, РНИФ, РНГА). Материалом для

лабораторных исследований служили цервико-вагинальная слизь, молоко, молозиво, секрет вымени и сыворотка крови от коров в различном генеративном состоянии; препуциальные смывы, сперма и сыворотка крови быков-производителей; бронхоальвеолярные смывы, сыворотка крови и фекалии от телят, а также патологический материал от абортированных плодов, погибших или вынужденно убитых животных (рис. 15–20 на вкл., с. VIII–X).

В предварительных исследованиях биоматериала от коров, телят и быков (цервиковагинальная слизь, молоко (молозиво) бронхоальвеолярные и препуциальные смывы) в РПИФ с использованием люминесцирующей сыворотки к риккетсиям Бернета производства НИИЭМ им. Гамалеи, было установлено, что в настоящее время лихорадка Ку крупного рогатого скота имеет довольно широкое распространение в Омской области. Так, из 34 обследованных хозяйств лихорадка Ку выявлена в 15 (44 %), при этом в большинстве случаев наряду с коксииеллами выделялись лептоспиры, листерии и хламидии, т. е. инфекционный процесс носит ассоциативный характер. Инфицированность скота в среднем составила 9,3 % (табл. 3.2).

Наиболее тяжёлая эпизоотическая ситуация по коксииеллёзу наблюдалась в хозяйстве «Россия» Любинского района, где процент инфицированных животных составил 63 %, а по лептоспирозу, листериозу и хламидиозу — 32,37 и 24 % соответственно. В другом хозяйстве этого же района — ЗАО им. Розы Люксембург — риккетсии, листерии и хламидии выявили у 25 % коров и тёлочек, а лептоспиры — у 40 %.

Не менее тяжёлая ситуация в эти годы сложилась в Кормиловском, Иссилькульском, Павлоградском и некоторых других районах. Так, в колхозе «Украинский» Иссилькульского района 50 % от количества исследуемых животных было инфицировано коксииеллами; такие же показатели по поражённости возбудителями лептоспирами и листериями. В Кормиловском районе хозяйства Ермолаевское и Алексеевское также мало, чем отличаются по эпизоотологическим показателям: 30 % животных там было инфицировано коксииеллами (табл. 3.2).

В 2007–2009 гг. нами были продолжены комплексные исследования хозяйств на ряд инфекционных болезней. Было подтверж-

дено, что лихорадка Ку крупного рогатого скота имеет место в хозяйствах Омской области наряду с другими патологиями (табл. 3.3).

Таблица 3.2

Инфицированность скота в хозяйствах Омской области 1997–2006 гг.

№ п.п.	Хозяйства	К-во голов	Инфицировано, %			
			Коксиеллы	Лептоспиры	Листерии	Хламидии
1	«Знамя»	12	-	-	-	17
2	Им. Карбышева	20	10	-	-	60
3	Им. Розы Люксембург	20	25	40	25	25
4	«Боевое»	180	5	5	-	30
5	«Лесное»	7	-	-	-	-
6	«Заря свободы»	10	20	10	20	70
7	«Россия»	75	63	32	37	24
8	«Искра»	10	-	-	-	40
9	«Русский хлеб»	10	-	-	-	-
10	«Сосновское»	10	20	-	10	-
11	«Колос»	10	-	-	-	-
12	«Нива»	10	-	10	20	60
13	«Украинский»	10	50	50	50	60
14	«Ачаирский-1»	10	10	10	-	30
15	«Новороссийское»	20	10	20	20	20
16	Агрофирма «Кормиловская»	21	14	10	5	24
17	Молзавод «Кормиловский»	10	-	40	30	40
18	«Ермолаевское»	15	30	-	10	20
19	«Алексеевское»	12	30	-	-	20
20	«Большевик»	20	-	-	-	-
21	«Новоазовское»	20	5	-	-	5
22	«Цветочное»	10	20	20	-	90
23	«Береговое»	20	-	-	-	80
24	«Евгацинское»	10	-	-	-	10
25	«Новорождественское»	20	5	20	-	5
26	«Дружба»	10	-	-	-	40
27	«Чистовское»	40	-	-	-	-
28	«Добровольское»	12	-	-	-	67
29	«Руспол»	6	-	-	-	60
30	«Екатеринославское»	10	-	-	-	-
31	«Рагозинское»	96	-	-	-	-
32	«Любимовское»	40	-	-	-	33
33	«Кам-Курское»	24	-	-	-	40
34	Им. Кирова	3	-	33	-	33
Всего:		813	9,3±1,0	8,8±1,0	6,7±0,9	29,5±1,6

Проводились исследования биоматериала из хозяйств Таврического, Муромцевского, Любинского, Омского, Кормиловского, Марьяновского, Оконешниковского, Горьковского, Крутинского, Исилькульского, Тюкалинского, Щербакульского, Павлоградского, Тарского, Тевризского, Усть-Ишимского, Саргатского и Азовского районов.

Таблица 3.3

Инфицированность скота в хозяйствах Омской области 2007–2009 гг.

№ п.п.	Хозяйства (Район)	К-во голов	Инфицировано, %								
			Кок.	Леп.	Лис.	Хлам.	Ирт.	Сал.	Кам.	Энт.	Мик.
1	«Боевое» (Исилькульский)	85	9	80	30	30	30	10	10	10	
2	«Нива» (Павлоградский)	182	5								
3	«Солнцево» (Щербакульский)	9	11								
4	Кормиловский молзавод (Кормиловский)	20	0	40	20	20	10	40	0	0	
5	«Алексеевское» (Горьковский)	44	5								
6	«Соколовка» (Тюкалинский)	11	0	0	0	0	0	18		0	0
7	«Кольчугинский» (Тарский)	10	0								
8	«Сосновское» (Таврический)	6	0	0	0	67	50	0			100
9	КФХ Зайцева (Тевризский)	20	30								
10	«Кам-Курское» (Муромцевский)	10	10	60	20	20	60	40	20	20	60
11	«Ярковское» (Усть-Ишимский)	20	0								
12	«Ударный» (Горьковский)	7	29	0	0	33	0	0	0		66
13	«Кирова» (Крутинский)	30	3								
14	«Некрасовский» (Кормиловский)	10	20	60	60	30	80	10		10	
15	КП-13 (Омский)	50	4								

№ п.п.	Хозяйства (Район)	К-во голов	Инфицировано, %									
			Кок.	Леп.	Лис.	Хлам.	Ирт.	Сал.	Кам.	Энт.	Мик.	
16	«Россия» (Любинский)	75	65									
17	«Овцевод» (Марьяновский)	70	12	10	10	80	70	10				
18	«Шанс» (Саргатский)	40	0									
19	«Лузинское молоко» (Омский)	50	0									
20	«Любимовский» (Оконешниковский)	10	10	10	10	80	30	10				90
21	«Новоазовское» (Азовский)	12	17									
22	«Красноярский» (Щербакульский)	15	0									
23	«Таврическое» (Таврический)	12	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0
24	«Нагорный» (Тарский)	10	0									
25	«Креванполе» (Тарский)	10	0									
26	с. Красноусово (Тюкалинский)	30	37									
27	Агрофирма «Кормиловская» (Кормиловский)	19	0	0	0	0	0	0		0	0	
27	«Пушкино» (Омский)	15	20									
28	«Прометей» (Муромцевский)	25	0	0	10	40	50	60	50	50	70	
29	Розы Люксембург (Любинский)	150	20									
Всего:		1057	10,6± 0,9	23,6± 2,5	13,3± 2,0	32,5± 2,8	32,3± 2,8	16,5± 2,2	13,3± 2,8	11,3±2, 3	48,3± 5,0	

Примечание: пустые графы — не исследовалось; кок. — коксииеллы, леп. — лептоспиры, лис. — листерии, хлам. — хламидии, ирт — вирус ИРТ-ПВ, сал. — сальмонеллы, кам. — кампилобактерии, энт. — энтерококки, мик. — микоплазмы.

Так, из 29 обследованных хозяйств лихорадка Ку выявлена в 17 (59 %), при этом инфицированность скота составляла от 3 до 65 % (в среднем 10,6 %). Ретроспективный анализ инфицированности коксииеллами крупного рогатого скота по области за предыдущие 9 лет (1997–2006) показывает примерно такое же процентное соотношение: заражённость скота была в среднем 9,3 %.

В результате исследований установлено, что во многих хозяйствах области обнаруживаются разные инфекционные патологии, в различных сочетаниях. Так, яркий микробный пейзаж отмечен в ОПХ «Боевое» Исилькульского района, где помимо кокциелл, выявляли лептоспиры (80 %), листерии, хламидии, вирус ИРТ (в 30 % случаев). В СПК «Некрасовский» Кормиловского района обнаружены лептоспиры и листерии в 60 %, вирус ИРТ в 80 %, хламидии в 30 %, кокциеллы в 20 % случаев; в СПК «Любимовском» показано наличие микоплазм у 90 % обследованных животных, хламидий — у 80 %, вируса ИРТ — у 30 %. В КФХ «Прометей» в 50 % случаев обнаруживали энтерококки, кампилобактерии и вирус ИРТ, у 70 % отмечены микоплазмы, у 60 % — сальмонеллы, у 40 % — хламидии.

Для изучения ассоциированного течения кокциеллёза крупного рогатого скота нами проведены исследования биоматериала от коров, телят и быков, а также патологического материала на несколько инфекционных болезней. Исследования показывают возможность ассоциативных форм проявления кокциеллёза в различных сочетаниях с хламидиями, лептоспирами, листериями, вирусом ИРТ-ПВ, сальмонеллами, диплококками, кампилобактериями, микоплазмами. Число сочленов ассоциации микроорганизмов, участвующих в инфекционном процессе может достигать 5–7 (табл. 3.4).

При этом наиболее часто кокциеллы регистрируется с микоплазмами (33 %), лептоспирами (44 %), листериями (48 %), а наибольший процент в ассоциации принадлежит хламидиям — 59 %. По всей видимости, такой высокий процент в ассоциации говорит о том, что кокциеллы, как и хламидии, будучи внутриклеточными паразитами, являются симбионтами и синнергируют своё патогенное действие на организм животного.

При проведении мониторинга по изучению распространенности лихорадки Ку крупного рогатого скота в районах Омской области за последние 12 лет (1997–2009) установлено, что за данный период исследований охвачено 24 района области из 32. Кокциеллёз выявлен в 15 районах. При этом в 9 из них средний процент инфицированности кокциеллами составляет более 10 % (табл. 3.5).

В большинстве центральных и южных районов области довольно высок процент инфицированных животных, что,

по-видимому, является следствием того, что в этих районах сосредоточено основное поголовье крупного рогатого скота и более крупные животноводческие хозяйства. Отсутствие же болезни или низкая инфицированность во многих северных районах, вероятно, объясняется малочисленностью сельскохозяйственных животных и низкой их инфицированностью. Но, тем не менее, не исключена возможность заболеваемости и в этих местах при завозе возбудителя болезни с сельскохозяйственным сырьём или животными. Картографически ретроспективный анализ представлен на рис. 21 (вкл., с. XI).

Таблица 3.4

Ассоциативные формы проявления лихорадки Ку крупного рогатого скота

№ п. п.	Хозяйства	К-во проб	Общий % инфици. коксиеллами	% от числа исследованных и инфицированных коксиеллами в ассоциации с другими возбудителями							
				лепт	лист	хлам	ирт	саль	кам	энт	мик
<i>Телята</i>											
1	Им. Кирова	10	20	–	50	–	50	–	–	–	100
<i>Патологический материал</i>											
2	«Кам-Курское»	14	7	–	100	100	–	–	100	–	–
<i>Коровы</i>											
3	«Овцевод»	10	20	50	50	50	–	50	–	50	–
4	«Некрасовский»	10	20	50	50	100	50	–	–	–	–
5	«Любимовский»	10	10	–	–	100	–	–	–	–	–
6	«Ударный»	3	33	–	–	–	–	–	–	–	100
7	Им. Кирова	30	3	100	100	100	–	100	–	–	100
8	«Кам-Курское»	5	20	100	–	–	100	100	–	–	–
9	«Боевое»	29*	34	100	80	80	60	20	60	40	–
Всего:		121	18,6 ±3,5	44 ±4,5	48 ±4,5	59 ±4,5	29 ±4,1	30 ±4,2	18 ±3,5	10 ±2,7	33 ±4,3

Примечание: * — 2 быка-производителя; кокс. — коксиеллы, лепт. — лептоспиры, лист. — листерии, хлам. — хламидидии, ирт — вирус ИРТ-ПВ, саль. — сальмонеллы, кам. — кампилобактерии, энт. — энтерококки, мик. — микоплазмы.

Таблица 3.5

**Мониторинг инфицированности коксиейлами скота
по районам Омской области за 1997–2009 гг.**

№ п.п.	Районы	Количество проб	Средний процент инфицированности коксиейлами
1	Любинский	320	43
2	Исилькульский	282	16
3	Марьяновский	90	11
4	Тюкалинский	41	19
5	Кормиловский	169	11
6	Павлоградский	202	2
7	Полтавский	20	0
8	Нововаршавский	20	10
9	Русско-полянский	28	7
10	Нижнеомский	20	0
11	Азовский	32	11
12	Омский	155	5
13	Большереченский	10	0
14	Оконешниковский	50	5
15	Колосовский	136	0
16	Муромцевский	59	3
17	Крутинский	33	2
18	Таврический	18	0
19	Горьковский	51	17
20	Тевризский	20	30
21	Тарский	30	0
22	Усть-Ишимский	20	0
23	Щербакульский	24	0
24	Саргатский	40	0

3.6. Инфицированность основных переносчиков коксиейллёза в Омской области

Природные очаги лихорадки Ку возникли значительно раньше внутривидовых. На древность происхождения риккетсий, которые стали паразитами членистоногих, по-видимому, ещё в эоценовом периоде, когда появились представители членистоногих, указывает

П. Ф. Здродовский и Е. М. Голиневич (1972), Ю. С. Балашов и А. Б. Дайтер (1973), В. Phillip (1961) и др. С переходом клещей к паразитическому образу жизни и питанию кровью позвоночных создались новые возможности эволюции риккетсиозов — адаптации их возбудителей к организму теплокровных животных, прежде всего грызунов (Жданов В. М. и др., 1984; Burnet F., 1942; Krieg A., 1963; Morel P., 1971; Rehacek I., 1965).

В последние годы численность и активность клещей резко возросли. Важным фактором в этом является уменьшение площадей пахотных земель, вследствие чего необрабатываемые площади зарастают сорняками, заселяются дикими животными, вследствие чего создаются условия для увеличения численности иксодовых клещей.

На животноводческих комплексах при определённых условиях происходит интенсивное размножение грызунов, которые могут обеспечить связи природных и внутривидовых очагов ряда инфекций (Рудаков Н. В., 1985; Зацепин В. Г. и др., 1978; Райхлин М. И., 1979; Мирзаев Ш., 1978; Малышев Ф. Ф., 1978).

Поэтому целью нашего исследования было изучить инфицированность кокциеллами Бернета мышеобразных грызунов и иксодовых клещей в Омской области.

Были проведены производственные испытания РПИФ на материале от мышеобразных грызунов и иксодовых клещей, собранных в Омском, Муромцевском и Любинском районах Омской области. Для ловли грызунов применяли ловушки Геро (рис. 22 на вкл., с. XII).

Инфицированность кокциеллами мышевидных грызунов

В лаборатории после определения вида и генеративного состояния для исследования на инфицированность кокциеллами использовали селезёнку, так как в её ретикулярных клетках кокциеллы сохраняются в течение длительного периода (рис. 23 на вкл., с. XII). При необходимости длительного сохранения материала или его перевозки использовали замораживание или 50 %-ный стерильный глицерин, в который погружали селезёнку. Из селезёнок готовили мазки-отпечатки, которые фиксировали и обрабатывали так

же, как при исследовании биоматериала от крупного рогатого скота (рис. 24 на вкл., с. XIII).

При исследовании 109 проб селезёнок мышеобразных грызунов на Ку-лихорадку коксииеллы и их антигены в РПИФ были выделены в 17 случаях, что соответствует 15,5 % (табл. 3.6).

Таблица 3.6

Инфицированность коксииеллами Бернета мышеобразных грызунов в Омской области

№ п.п.	Вид животного	Исследовано особей			Положительно в РПИФ		
		Самцы	Самки	Всего	Самцы	Самки	Всего
1	<i>Clethrionomys rutilus</i> (красная полёвка)	39	43	82	5	9	14
2	<i>Microtus oeconomus</i> (полёвка-экономка)	8	9	17	1	1	2
3	<i>Apodemus agrarius</i> (полевая мышь)	3	5	8	0	1	1
4	<i>Sicista Betulina</i> (лесная мышовка)	0	2	2	0	0	0
Всего грызунов:		109			17 (15,5±3,5 %)		

Инфицированность коксииеллами клещей

Сбор иксодовых клещей проводили с помощью волокуши в различных биотопах и экотопах (рис. 25 на вкл., с. XIII).

В лаборатории после определения вида клещей (рис. 26, 27 на вкл., с. XIV), их промывали стерильным физиологическим раствором, отсекали конечности и из выделяющихся капель гемолимфы готовили мазки отпечатки на предметных стеклах. С этой же целью использовали извлечённый из клеща кишечник.

В результате исследований установлен довольно высокий процент инфицированных иксодовых клещей (20,4 %), из 304 проб гемолимфы положительными на коксииеллёз оказались 62 (табл. 3.7).

Таблица 3.7

Инфицированность коксииеллами Бернета иксодовых клещей в Омской области

№ п.п.	Вид животного	Исследовано особей			Положительно в РПИФ		
		Самцы	Самки	Всего	Самцы	Самки	Всего
1	<i>Dermacentor reticulatus</i>	131	171	302	23	39	62
2	<i>Ixodes persulcatus</i>	1	1	2	0	0	0
Всего клещей:		304			62 (20,4±2,3 %)		

Таким образом, основным резервуаром и переносчиками инфекции в природных станциях являются мышеобразные грызуны и иксодовые клещи, доля инфицированности которых составляет 15,5 и 20,4 %, соответственно. РПИФ является простым, наиболее доступным тестом для определения инфицированности переносчиков и диких теплокровных хозяев. Метод позволяет выяснить эпизоотическую ситуацию по лихорадке Ку в конкретной местности (область, район, хозяйство, пастбище).

Данные наших исследований показывают необходимость проведения исследований, направленных на выявление путей и механизмов передачи возбудителя, т. е. на уничтожение клещей и грызунов, значение и своевременность проведения профилактических и оздоровительных мероприятий в поголовье крупного рогатого скота. Своевременное определение возбудителя в клещах и грызунах — необходимое условие для проведения эпизоотологического контроля за благополучием территории по лихорадке Ку.

Морфологические и тинкториальные свойства коксиелл

Для изготовления диагностикумов нами были использованы коксиеллы из штамма М-44. В связи с этим были изучены его тинкториальные и морфологические свойства.

На предметных стеклах готовили мазки, высушивали их на воздухе, фиксировали в спирт-эфире в течение 10 минут и окрашивали краской Романовского-Гимзе (разведённой буферным раствором рН-7,2 в соотношении 7:3) в течение 24 часов. Затем мазок промывали и просматривали под иммерсионной системой микроскопа. Окраску по Граму проводили согласно классической методике. Коксиеллы представляли собой грамотрицательные кокковидные и палочковидные или биполярные образования размерами от 0,25x0,5 мкм до 0,25x1,5 мкм розово-фиолетового оттенка (рис. 28, 29 на вкл., с. XV).

3.7. Лабораторные методы диагностики кокциеллёза и их значение для практики

Получение кокциеллёзного антигена и диагностической кокциеллёзной антисыворотки для РНИФ

В настоящее время одной из широкодоступных для ветеринарных лабораторий серологических реакций является реакция иммунофлуоресценции. Для постановки серологических реакций необходимо наличие набора специфических антигенов и антисывороток, получаемых различными способами и методами.

Для постановки РНИФ как экспресс-метода диагностики лихорадки Ку крупного рогатого скота необходимо было получить кокциеллёзный антиген и диагностическую кокциеллёзную антисыворотку с высоким титром антител.

Для гипериммунизации использовали антиген, полученный из вакцинного штамма *C.burnetii* М-44. Вакцину разводили стандартным разбавителем до объёма 1 мл. Затем стерильным физиологическим раствором доводили до концентрации $1,7 \times 10^9$ микробных тел в 1 мл по ОСМ ГИСК им. Л. А. Тарасевича. Гипериммунизацию проводили на двух кроликах породы шиншилла весом 2,5–3 кг.

Суть данной схемы гипериммунизации состоит в последовательном дробном внутривенном введении антигена кроликам каждые 3–4 дня в нарастающих дозах с применением иммуностимулятора левамизола подкожно при первых двух введениях антигена (табл. 3.8).

Титры антител учитывали на 7, 14, 21 и 30-е сутки после введения кокциелл в РНИФ, антиген для которой готовили из этого же штамма и использовали после прогревания в водяной бане при 70 °С в течение 30 мин в концентрации 850 млн м.т. в 1 мл, так как было установлено, что при данной концентрации антигена реакция более демонстративна (рис. 30 на вкл., с. XVI).

Из полученной гипериммунной сыворотки готовили ряд последовательных двукратных разведений на физиологическом растворе, начиная с 1:10. Разведения делали микродозатором в пластиковых планшетах.

Реакцию непрямой иммунофлуоресценции проводили по следующей методике: на тщательно обезжиренные предметные стекла

параллельно друг другу наносили несколько капель антигена (850 млн м.т. в 1 мл взвеси). Капли высушивали на воздухе и фиксировали над пламенем спиртовки. Далее на каждую каплю антигена наносили равную по объёму каплю сыворотки из каждого разведения, начиная с наибольшего.

Таблица 3.8

Схема гипериммунизации кроликов коксиеллёзным антигеном

Время введения, сут.	1	4	7	10	13	14	16	20	21	24	30
Доза антигена, млрд м.т.	0,85	1,7	1,7	1,7	3,4	–	3,4	3,4	–	3,4	–
Левамизол, мл	1	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–
			Взятие крови			Взятие крови			Взятие крови		Тотальное обескровливание

Стёкла выдерживали во влажных камерах при 37 °С, в течение 50–60 минут для образования комплекса антиген – антитело. После этого мазки промывали от несвязавшихся антител дистиллированной водой, подсушивали и наносили в красящем титре ослиный антикроличий глобулин, меченный ФИТЦ (флуоресцеин изотиоционатом натрия), изготовленный НИИЭМ им. Гамалеи. Далее стёкла вновь помещали во влажных камерах в термостат на 15–20 минут. По истечении этого времени мазки промывали дистиллированной водой, просушивали и просматривали под люминесцентным микроскопом ЛЮМАМ Р-8 (х900) с обязательными контролями:

1. Антиген + сыворотка положительная + люмсыворотка;
2. Антиген + сыворотка отрицательная + люмсыворотка;
3. Антиген + физиологический раствор + люмсыворотка.

Интенсивность свечения оценивали по четырёхкrestной системе:

- 1) очень яркая люминесценция по периферии микробной клетки, чётко контрастирующая с телом клетки - ++++;
- 2) яркая люминесцирующая периферия клетки — +++;
- 3) слабое свечение периферии клетки — ++ или +;
- 4) при отрицательной реакции люминесценция клеток отсутствует.

Реакцию считали положительной, если наблюдали яркое специфическое свечение контуров микробов в виде ободков с оценкой

в +++ и ++++; сомнительные результаты оценивали в ++ при наличии слабого свечения контуров клеток (табл. 3.9).

Таблица 3.9

**Динамика синтеза антител у кроликов,
гипериммунизированных коксиеллезным антигеном**

Сроки взятия крови (дни)	Титр антител	
	1 кролик	2 кролик
7-й день	1:40	1:40
14-й день	1:160	1:320
21-й день	1:320	1:640
30-й день	1:1280	1:1280

Установлено, что на 7-й день после первого введения антигена антитела в РНИФ выявлялись в низких титрах 1:40. На 14-й день положительная реакция в РНИФ была при более высоких разведениях в пределах 1:160–1:320, на 21-е сутки – 1:320–1:640, а к 30-му дню синтез антител достиг максимального уровня 1:1280.

Контроль на чувствительность, специфичность и активность коксиеллезной сыворотки в РНИФ

Для изучения чувствительности, видовой специфичности и активности использовали кроличьи коксиеллезные сыворотки в разведениях: с 1:10 до 1:5120, коксиеллезный антиген, полученный вышеописанным способом, и гетерологичные антигены. Сыворотка, полученная путём гипериммунизации кроликов коксиеллезным антигеном, с разведения 1:10 была строго специфична к коксиеллезному антигену с высоким уровнем активности антител в титре 1:1280 (табл. 3.10).

Преимущество данного способа в получении в короткие сроки противококсиеллезной сыворотки с высоким диагностическим титром антител. Кроличьи сыворотки могут использоваться для индикации коксиелл из биоматериала от крупного рогатого скота, клещей, мышеобразных грызунов и патологического материала от погибших и вынужденно убитых животных, а полученный антиген — для обнаружения коксиеллезных антител в сыворотке крови больных и реконвалесцентов.

**Чувствительность, специфичность и активность
кокциеллезной кроличьей сыворотки в РНИФ**

Антигены	Разведение кокциеллезной сыворотки									
	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	1:5120
Кокциеллезный М-44	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Микоплазмозный	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Бруцеллезный	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Хламидиозный	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Листерииозный	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Лептоспирозный	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ИРТ-ПВ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**Чувствительность РНИФ и РПИФ при кокциеллезе
крупного рогатого скота в производственных условиях**

С целью испытания полученной нами кроличьей кокциеллезной сыворотки для РНИФ и стандартной люминесцентной кокциеллезной сывороткой института им. Гамалеи для РПИФ в сравнительном аспекте были проведены исследования проб молока и цервика-вагинальной слизи от коров дойного стада, принадлежащих хозяйствам Омской области: ЗАО им. Розы Люксембург Любинского района и ОПХ «Боевое» Исилькульского района. Постановку реакций проводили согласно общепринятым методикам. С целью определения чувствительности сывороток исследуемый материал (молоко и слизь) разводили физраствором, начиная с 1:2.

В результате исследования 50 проб молока из ОПХ «Боевое» и в РНИФ и в РПИФ реагировало 5 проб (10 %). Однако чувствительность РНИФ в большинстве случаев была в 2 и 4 раз выше, чем в РПИФ. РНИФ выявляла антигены кокциелл в молоке в разведениях 1:4–1:64, а РПИФ 1:2–1:16 (табл. 3.11).

При проведении исследований материала из ЗАО «им. Розы Люксембург» установлено, что полученная нами сыворотка не только не уступает стандартной люминесцентной кокциеллезной сыворотке, но и позволяет выявлять больше животных в непрямом варианте флуоресцирующих антител с низкой концентрацией кокциелл в разведении 1:64 (табл. 3.12, 3.13).

Таким образом, в сравнительном аспекте нами установлено, что полученная диагностическая кокциеллезная сыворотка (патент № 2413533 от 10.03.2011 г.) обладает специфичностью, высокой чувствительностью и активностью в РНИФ и не только не уступает стандартной люминесцентной кокциеллезной сыворотке, но и позволяет больше выявлять реагирующих животных в непрямом варианте флуоресцирующих антител с низкой концентрацией антигена в разведениях молока 1:32–1:64. При этом в РНИФ дополнительно к РПИФ выявляется на 5 % больше реагирующих животных (табл. 3.14).

Таблица 3.11

Чувствительность РНИФ и РПИФ по результатам исследования на кокциеллез молока от пятидесяти коров из ОПХ «Боевое»

№№ реагирующих животных	Молоко	
	РНИФ	РПИФ
8	1:4	1:2
10	1:64	1:16
30	1:16	1:2
35	1:32	1:8
42	1:64	1:16
Всего из 50 проб:	10 %	10 %

Примечание: в РНИФ и РПИФ указаны конечные разведения проб молока, реагирующие на три креста.

Таблица 3.12

Чувствительность РНИФ и РПИФ по результатам исследования на кокциеллез цервико-вагинальной слизи от двадцати коров из ЗАО им. Розы Люксембург

№№ реагирующих животных	Слизь	
	РНИФ	РПИФ
4	1:8	1:4
5	1:8	–
10	1:16	1:2
11	–	–
12	1:16	1:16
13	1:8	1:8
Всего из 20 проб:	5 (25 %)	4 (20 %)

Таблица 3.13

**Чувствительность РНИФ и РПИФ по результатам исследования
на коксиеллёз молока от девяности коров из ЗАО «им. Розы Люксембург»**

№№ реагирующих животных	Молоко	
	РНИФ	РПИФ
10	1:4	–
22	1:32	–
23	1:8	–
25	1:32	–
26	1:8	–
31	1:32	1:8
32	1:2	1:2
34	ц.м. +	–
38	1:16	1:8
40	1:16	1:8
41	1:4	–
45	1:32	1:32
46	1:32	1:16
47	1:32	1:8
48	1:32	1:16
49	1:2	1:2
51	ц.м. +	–
52	1:8	1:2
53	1:32	ц.м. +
54	ц.м. +	–
55	1:4	–
56	1:2	ц.м. +
57	1:32	1:8
58	1:16	1:4
61	ц.м. +	–
62	–	–
63	1:16	1:4
64	1:2	1:2
65	ц.м. +	–
69	1:32	1:16
70	1:32	1:16
71	1:64	1:64
72	–	1:4
81	1:8	ц.м.
82	1:16	ц.м.
83	ц.м.	–
84	1:4	–
Всего из 90 проб:	36 (29 %)	22 (19 %)

Примечание: ц.м. + положительный результат с цельным молоком.

Таблица 3.14

**Чувствительность РНИФ и РПИФ
по результатам исследования на коксиеллёз
молока и цервико-вагинальной слизи от коров**

№ п.п.	Биоматериал, количество проб	Положительно, %	
		РНИФ	РПИФ
1	Молоко, 140	19,5	14,5
2	Слизь, 20	25	20
3	Всего, 160	21,3±3,2	16,3±2,9

**Изготовление коксиеллёзного эритроцитарного
диагностикума для РНГА**

Для получения диагностикума в качестве клеточной основы были выбраны эритроциты барана, а для стабилизации 20 %-ный раствор формальдегида. Фиксацию эритроцитов проводили по методу Фили в нашей модификации (Красиков А. П., 1981), которая заключалась в более щадящем способе воздействия формалина на эритроциты и одновременном обеспечении хорошей их фиксации.

Конструирование коксиеллёзного эритроцитарного диагностикума (КЭД) проводили в несколько этапов:

- 1) дробная формализация эритроцитов барана;
- 2) получение антигена из вакцинного штамма *S.burnetii* М-44;
- 3) сенсбилизация формализированных эритроцитов барана коксиеллёзным антигеном, при 70 °С в течение 30 минут, с последующим трёхкратным отмыванием эритроцитарного диагностикума буферным раствором с рН-7,2.

На первом этапе для формализации эритроцитов брали свежую дефибринированную кровь барана-донора, которую разводили буферным физиологическим раствором в соотношении 1:1, рН-7,2 (0,137 М NaCl и 0,001 М двузамещённый фосфорнокислый калий на 1 л дистиллированной воды).

Затем к 100 мл 50 % взвеси эритроцитов барана добавляли 20 %-ный раствор формальдегида небольшими порциями в возрастающих объёмах каждые 15 минут: 6, 7, 8, 9 и 10 мл. После каждого добавления раствора формальдегида смесь перемешивали на водяной бане при 70 °С до получения тёмно-коричневого цвета. Взвесь

эритроцитов четырёхкратно отмывали фосфатно-буферным солевым раствором pH-7,2 путём центрифугирования при 3000 об/мин. в течение 5 минут, а затем ресуспензировали в 400 мл того же буфера. Из полученного осадка готовили 10 %-ную рабочую взвесь на буферном физиологическом растворе, содержащем 0,3 % двадцатипроцентного раствора формальдегида. При данном способе фиксации эритроциты в течение 5 лет сохраняют свои сорбционные свойства.

На следующем этапе получали коксиелллезный антиген из вакцинного штамма *C.burnetii* М-44, который разводили стерильным физиологическим раствором до концентрации 1,7 млрд микробных тел в 1 мл по бактериальному стандарту мутности (ГИСК им. Л. А. Тарасевича) и прогревали на водяной бане при температуре 70 °С в течение 30 минут. В качестве рабочего использовали разведение 850 млн микробных клеток в 1 мл. Полученный антиген использовали для сенсibilизации формализированных эритроцитов.

На третьем этапе 3 %-ную взвесь формализированных эритроцитов (предварительно трёхкратно отмытых ФБР pH-7,2 от формальдегида при 3000 об/мин) сенсibilизировали в соотношении 2:1 (2V антигена: IV эритроцитов). Сенсibilизацию проводили на водяной бане при температуре 70 °С в течение 30 минут с перемешиванием взвеси каждые 5 минут. За 10 минут до конца сенсibilизации добавляли 1 % сорокапроцентного раствора формальдегида для закрепления сенситина на эритроцитах.

Эритроциты, нагруженные антигеном трёхкратно отмывали от несвязавшегося сенситина фосфатно-буферным солевым раствором с pH-7,2 путём центрифугирования при 3000 об/мин., затем ресуспендировали в этом же растворе, доводя до первоначальной 3 %-ной концентрации и использовали для постановки РНГА макрометодом в объёме 0,5 мл на полистироловых планшетах (рис. 31 на вкл., с. XVI).

Постановку РНГА проводили по следующей методике: испытуемые сыворотки, после освобождения от неспецифических геммагглютининов путем инактивации в течение 20 минут при 56 °С, разводили в двукратной последовательности фосфатно-буферным раствором (pH-7,2), начиная с 1:10. К каждому разведению добав-

ляли по одной капле (0,05 мл) коксиеллёзного эритроцитарного диагностикума, тщательно перемешивали встряхиванием и оставляли при комнатной температуре на 1,5–2 часа. Реакцию оценивали по 4-крёстной системе. Конечным титром считали последнее разведение сыворотки, дающее гемагглютинацию на три креста.

Специфичность и активность КЭД в РНГА

Для контроля чувствительности и активности полученного эритроцитарного диагностикума проводили постановку РНГА. Реакцию ставили макрометодом в объёме 0,5 мл в полистироловых планшетах с коксиеллёзными сыворотками кроличьей и крупного рогатого скота, начиная с разведений 1:10 и 1:50 соответственно. В качестве разбавителя применяли фосфатный буфер с pH-7,2. В качестве контроля использовали этот же буфер и заведомо отрицательные на коксиеллёз сыворотки кролика и крупного рогатого скота.

С коксиеллёзными антисыворотками полученный диагностикум реагировал на три креста до разведения 1:1280 с кроличьей и 1:800 с сывороткой крупного рогатого скота. С отрицательными сыворотками отмечалась положительная реакция до разведений 1:20 и 1:200 соответственно. В контроле с фосфатнобуферным раствором (ФБР) чётко выраженная отрицательная реакция наблюдалась во всех разведениях (табл. 3.15).

Таблица 3.15

Активность КЭД в РНГА

Титр сыворотки	Сыворотка кроличья		ФБР	Титр сыворотки	Сыворотка КРС		ФБР
	негативная	коксиеллёзная			негативная	коксиеллёзная	
1:10	++++	++++	–	1:50	++++	++++	–
1:20	+++	++++	–	1:100	+++	++++	–
1:40	–	++++	–	1:200	+++	++++	–
1:80	–	++++	–	1:400	–	++++	–
1:160	–	++++	–	1:800	–	++++	–
1:320	–	++++	–	1:1600	–	++	–
1:640	–	++++	–	1:3200	–	+	–
1:1280	–	+++	–	1:6400	–	–	–
1:2560	–	++	–	1:12800	–	–	–

Для контроля специфичности полученных серий коксиеллёзно-го эритроцитарного диагностикума ставили РНГА с гетерологичными сыворотками. КЭД в РНГА не вызывает перекрестных реакций с бруцеллёзной, пастереллёзной, лептоспирозной, листериозной, сальмонеллёзной и хламидиозной гетерологичными сыворотками, во всех разведениях РНГА была отрицательная при чётко выраженных положительных реакциях с гомологичными коксиеллёзными сыворотками. Поэтому за диагностический (патологический) титр принимали разведение 1:40 и выше для кроличьей сыворотки и 1:400 для крупного рогатого скота (табл. 3.16).

Таблица 3.16

Специфичность КЭД в РНГА

КЭД	Стандартные диагностические сыворотки						Сыворотка кроличья	Сыворотка КРС
	Бруц.	Паст.	Лепт.	Лист.	Сальм.	Хлам.	1:40	1:400
С-1	–	–	–	–	–	–	++++	++++
С-2	–	–	–	–	–	–	++++	++++
С-3	–	–	–	–	–	–	++++	++++
С-4	–	–	–	–	–	–	++++	++++

Примечание: Бруц. — бруцеллёзная; Паст. — пастереллезная, Лепт. — лептоспирозная; Лист. — листериозная; Сальм. — сальмонеллёзная; Хлам. — хламидиозная.

Таким образом, полученный нами коксиеллёзный эритроцитарный диагностикум (патент № 2410698 от 27.01.2011 г.) специфичен и обладает достаточной активностью в РНГА при коксиеллёзе крупного рогатого скота. Его можно использовать для обнаружения антител к коксиеллам в сыворотке крови больных и носителей. За диагностический титр в РНГА нами было принято разведение испытуемой сыворотки 1:400 (рис. 31 на вкл., с. XVI).

Диагностическая ценность РНИФ и РНГА в производственных условиях

Для изучения чувствительности серологических методов: РНИФ с полученным коксиеллёзным антигеном (КА) и РНГА с коксиеллёзным эритроцитарным диагностикумом (КЭД) были проведены исследования сыворотки крови (поступающей в Омскую

областную ветеринарную лабораторию, а также взятые нами пробы) из ряда хозяйств Омской области (табл. 3.17–3.24).

Таблица 3.17

Чувствительность РНГА и РНИФ по результатам исследования сыворотки крови от 182 тёлочек из ЗАО «Нива» Павлоградского района на коксиделлэз

№№ реагирующих животных	№ животного	РНИФ	РНГА
16	6605	1:800	1:400
48	2547	1:400	1:400
49	2550	1:800	1:400
58	2566	1:200	–
91	2604	–	1:400
148	631	1:800	1:400
149	0384	1:400	1:400
150	449	1:800	1:400
161	7421	1:800	1:400
175	6424	1:800	1:400
Всего из 182 проб:		9 (5 %)	9 (5 %)
РНИФ + РНГА – 5,5 %, дополнительно на 0,5 % >			

Таблица 3.18

Чувствительность РНГА и РНИФ по результатам исследования сыворотки крови от 44 тёлочек из ООО «Алексеевское» Горьковского района на коксиделлэз

№№ реагирующих животных	№ животного	РНИФ	РНГА
6	481	–	1:400
15	589	–	1:400
Всего из 44 проб:		0	2 (5%)

Таблица 3.19

Чувствительность РНГА и РНИФ по результатам исследования сыворотки крови от 60 коров из СПК «Овцевод» Марьяновского района на коксиделлэз

№№ реагирующих животных	№ животного	РНИФ	РНГА
47	539	1:400	1:400
55	504	1:400	1:400
Всего из 44 проб:		2 (3 %)	2 (3 %)

**Чувствительность РНГА и РНИФ по результатам исследования
сыворотки крови от 75 коров из ЗАО «Россия»
Любинского района на коксиделлез**

№.№ реагирующих животных	№ животного	РНИФ	РНГА
2	221	1:800	1:800
3	790	1:400	1:400
5	832	1:400	–
6	687	1:400	1:400
7	229	–	1:400
9	268	1:800	1:400
10	598	1:200	1:400
12	611	1:200	1:400
13	844	1:100	1:400
16	605	1:800	1:800
17	500	1:800	1:400
18	533	1:400	1:400
20	514	1:200	1:400
21	548	1:200	1:400
26	834	1:200	1:400
27	579	1:400	1:400
29	508	1:400	1:400
30	2546	1:400	1:400
32	614	1:800	1:400
33	2826	1:400	1:400
35	812	1:400	1:400
36	659	1:400	1:400
37	512	1:800	1:400
38	522	1:800	–
39	504	1:400	–
41	213	1:400	1:400
42	2625	1:800	1:400
43	676	1:800	1:800
44	662	1:800	1:400
45	814	1:400	1:400
46	249	1:400	1:400
47	75	1:400	1:400
48	491	1:800	1:800
50	776	–	1:400
53	552	1:800	1:400
54	683	1:800	1:800
55	670	1:800	1:400
56	291	1:400	1:400
57	553	–	–
58	555	1:400	1:400

Окончание табл. 3.20

№№ реагирующих животных	№ животного	РНИФ	РНГА
59	585	1:800	1:800
61	627	–	1:400
62	787	1:800	1:400
63	675	1:400	1:400
64	902	-	–
65	535	1:800	1:800
66	573	1:800	–
70	2409	1:200	1:400
71	2605	1:100	1:400
72	280	1:400	1:400
73	524	-	1:400
74	697	1:400	1:400
75	895	1:400	1:400
Всего из 75 проб:		47 (63 %)	47 (63 %)
РНИФ + РНГА – 53 (70%), дополнительно на 6 (8%) >			

Таблица 3.21

Чувствительность РНГА и РНИФ по результатам исследования сыворотки крови от 30 коров из с. Красноусово Тюкалинского района на коксиделёз

№	Клички реагирующих животных	РНИФ	РНГА
2	Марта (Мел.)	1:800	1:400
4	Марта (Каш.)	1:400	1:400
5	Доча (Рах.)	1:400	1:400
6	Марго (Филим.)	1:50	–
7	Марта (Филим.)	–	1:400
9	Дочка (Сал.)	1:50	–
10	Ночка (Сет.)	1:800	1:400
13	Веснушка (Алеш.)	1:50	1:400
17	Доча (Пес.)	1:200	–
20	Мотя (Каз.)	1:800	1:400
28	Малышка (Чер.)	1:400	1:400
29	Рябина (Шаш.)	1:800	1:400
Всего из 30 проб:		11 (37 %)	9 (30 %)
РНИФ + РНГА – 12 (40 %), дополнительно на 1 (3 %) >			

Таблица 3.22

Чувствительность РНГА и РНИФ по результатам исследования сыворотки крови от 20 коров из КФХ «Зайцева» с. Екатеринославка Тевризского района на коксиеллэз

№№ реагирующих животных	РНИФ	РНГА
3	1:50	–
7	1:800	1:400
8	1:800	1:400
9	1:400	1:400
11	1:50	–
13	–	1:400
18	1:400	1:400
Всего из 20 проб:	6 (30 %)	5 (25 %)
РНИФ + РНГА – 7 (35 %), дополнительно на 1 (5 %) >		

Таблица 3.23

Чувствительность РНГА и РНИФ по результатам исследования сыворотки крови от 50 коров из подсобного хозяйства КП-13 Омского района и от 20 коров ЗАО «им. Розы Люксембург» Любинского района на коксиеллэз

№№ реагирующих животных	РНИФ	РНГА
2	1:50	–
34	1:50	–
Всего из 50 проб:	2 (4 %)	0
270	1:400	1:400
Всего из 20 проб:	1 (5 %)	1 (5 %)

Как видно из табл. 3.17–3.24, в ряде хозяйств не были обнаружены инфицированные животные, в то время как в таких хозяйствах, как ЗАО «Россия» Любинского района, КФХ Зайцева Тевризского района, в селе Красноедово Тюкалинского района выявлен высокий процент животных, содержащих антитела к коксиеллам.

В целом при исследовании сыворотки крови от коров и тёлочек из 16 хозяйств области на лихорадку Ку с помощью РНИФ было выявлено 9,8 %, а в РНГА 8,6 %.

Диагностическая ценность комплекса серологических методов (РНИФ и РНГА) исследований на коксиеллёз в производственных условиях

№ п.п	Хозяйства	Кол-во проб	Реагировало положительно, %	
			РНИФ	РНГА
1	«Шанс»	40	–	–
2	«Лузинское молоко»	50	–	–
3	«Алексеевское»	44	–	5
4	«Нива»	182	5	5
5	«Овцевод»	60	3	3
6	Мол. з-д «Кормиловский»	50	–	–
7	«Россия»	75	63	65
8	«Кольчугинский»	10	–	–
9	«Нагорный»	10	–	–
10	«Креванполе»	10	–	–
11	КФХ Зайцева	20	30	25
12	гражд. с. Красноусово	30	37	30
13	«Ярковское»	20	–	–
14	Розы Люксембург	20	5	5
15	«Боевое»	10	–	–
16	КП-13	50	4	–
Всего:		681	8,6±1,1	9,8±1,1

В некоторых случаях РНИФ выявляет больше больных и риккетсионосителей, а иногда наоборот, что, скорее всего, связано с индивидуальными особенностями животных и синтезом у них различных антител: гемагглютининов преимущественно улавливаемых в РНГА и неполных антител, дополнительно обнаруживаемых в РНИФ. Эти методы равнозначны по чувствительности, дополняют друг друга и позволяют выявлять больше инфицированных животных.

Биологический метод диагностики

Для постановки биопробы в качестве модели использовали трёх морских свинок весом 250–300 граммов. Материалом при заражении служила суспензия из селезёнки от вынужденно убитой коровы 4,5 лет, реагировавшей на коксиеллёз, принадлежащей ОПХ «Боевое» Исилькульского района.

Селезёнку растирали, добавляли стерильный физиологический раствор, тщательно эмульгировали, центрифугировали на малых оборотах и вводили внутрибрюшинно подопытным морским

свинкам в дозе 3 мл однократно. Кожу обрабатывали 70-градусным спиртом, иглу вводили не слишком глубоко и под углом 45°, чтобы исключить прокол кишечника. Ежедневно проводили термометрию.

У морских свинок через 6 дней после заражения отмечали лихорадку (39–40 °С), которая продолжалась в течение 5 дней. На 12-й день эксперимента морские свинки были девитализированы, а их кровь и внутренние органы исследованы в РПИФ со стандартной люминесцирующей сывороткой к риккетсиям Бернета производства НИИЭМ им. Гамалеи и в РНИФ (с полученными нами коксиеллёзным антигеном и коксиеллёзной сывороткой). Антитела и антигены к коксиеллам в большом количестве обнаружены в сыворотке крови, селезёнке, печени и лёгких у всех подопытных животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анаплазмоз крупного рогатого скота распространён во многих регионах России. На территории Западной Сибири анаплазмоз крупного рогатого скота ранее официально не регистрировался. По данным сотрудников ОмГАУ (Стрельчик В. А. и др., 2000), за последние 15 лет в ряде хозяйств Омской, Новосибирской и Тюменской областях отмечались периодические вспышки заболевания крупного рогатого скота с клиническими признаками анаплазмоза. В мазках крови от больных животных обнаруживали поражение эритроцитов анаплазмами.

В большинстве случаев анаплазмоз протекает в ассоциации с возбудителями протозойных, бактериальных, вирусных инфекций, гельминтозов; инкубационный период при этом значительно сокращается, клинически болезнь проявляется в более тяжёлой форме. Отмечены тяжёлые проявления анаплазмоза у молодняка крупного рогатого скота в ассоциации с лептоспирозом и бабезиозом на фоне неблагополучия хозяйств по лейкозу (Казаков Н. А., 2003). В крови животных, больных анаплазмозом, часто обнаруживались антитела против возбудителей лептоспироза, Ку-лихорадки, и хламидийных инфекций.

Результаты комплексных исследований хозяйств показали широкое распространение анаплазмоза крупного рогатого скота на территории Омской области. При этом из 12 хозяйств различных географических зон (степная, лесостепная, подтаёжная, таёжная) Омской области, анаплазмоносительство выявлено в 11-ти. Анаплазмоносители, как известно, являются основным источником инфекции в природе в течение последующих нескольких лет, а иногда на протяжении всей жизни (Загородный М. В., 1973). Значит, они представляют эпизоотическую опасность заражения благополучных стад, что должны учитывать ветеринарные специалисты.

Анализ результатов гематологических и серологических исследований показал, что в хозяйствах Омской области инфекционный процесс при анаплазмозе крупного рогатого скота может протекать в виде моноинфекции или принимать ассоциативную форму течения, вызывая клиническое проявление болезни в более тяжёлой форме, а у взрослого скота вызывать аборт. При этом число

сочленов ассоциации достигало у них до трёх, а у молодняка до пяти, в различных сочетаниях с хламидиозом, лептоспирозом, а у телят ещё и с диплококкозом, ИРТ, ПГ-3, листериозом и особенно часто с сальмонеллёзом.

Многие исследователи (Л. П. Артёменко, 1974; А. А. Рашидов, 1975; Е. И. Теплова и др., 1983; А.А. Агаев и Н.М. Ширинов, 1988; M.L. Levin, D. Fish, 2001; E. A. Belongia, 2002; A. Hildebrandt и др., 2003) отмечают, что заболевание анаплазмозом регистрируется преимущественно там, где на животных паразитируют клещи.

Наибольшая частота выявления анаплазмонительства среди крупного рогатого скота 3–5-летнего возраста приходилась на хозяйства, расположенные в северной части Омской области, до 90 %. Возможно, это связано с тем, что северные районы расположены в лесостепной и подтаёжной зонах, где поражённость животных иксодовыми клещами — основными переносчиками возбудителя анаплазмоза — бывает наиболее высокой.

Одним из важнейших моментов в борьбе с инфекционными болезнями является установление фактора передачи возбудителя инфекции — одного из звеньев в эпизоотической цепи. Изучение связей членистоногих и возбудителей природно-очаговых инфекций сопряжено с большими трудностями по причине разнообразия жизненных форм и схем, определяющих характер их взаимоотношений с позвоночными хозяевами. От правильной экологической оценки того или иного вида клеща зависит определение характера их связей с позвоночными хозяевами и возбудителями инфекций.

При изучении того или иного вида переносчика следует в первую очередь обращать внимание на те особенности, которые обуславливают роль изучаемого вида в переносе или резервации возбудителей. Первоочередное внимание уделяется массовым видам переносчиков, исходя из принципа соответствия роли вида в биоценозе числу его особей (Беклемишев В. Н., 1951; Кузякин А. П., 1951; Shelford V. E. and Towler E. D., 1925). Клещи *D. reticulatus* встречаются как в южных, так и северных районах Омской области, кроме того за весь весенне-летне-осенний сезон они успевают пройти свой цикл развития, им присущ двойной пик активности. При наличии достаточно многосторонних связей этих массовых видов переносчиков с наиболее широко распространёнными хозяева-

ми возбудителя такие виды должны в первую очередь стать объектами как экологических, так и микробиологических исследований.

Учитывая роль иксодовых клещей как среды обитания многих альфа-протеобактерий, экспериментальное изучение их взаимоотношений имеет существенное значение для познания закономерностей существования природных очагов.

В экспериментах на лабораторных линиях клещей *D.reticulatus* и *D.silvarum* изучены восприимчивость и сохраняемость возбудителя анаплазмоза крупного рогатого скота (*A.sp. Omsk*) при интрацелломальном заражении. При этом установлено, что через 14 дней после их заражения число инфицированных особей возбудителем анаплазмоза крупного рогатого скота (*A.sp. Omsk*), составило $53,3 \pm 9,1$ % у клещей *D.reticulatus* и $43,3 \pm 9,0$ % — у клещей *D.silvarum*. Через 45 дней инфицированность составила $63,3 \pm 8,8$ % у клещей *D.reticulatus* и $56,6 \pm 9,0$ % — у клещей *D.silvarum*.

Результаты проведённых нами исследований показали не только восприимчивость *A.sp. Omsk* клещами *D.reticulatus* и *D.silvarum* при интрацелломальном заражении, но и сохраняемость возбудителя до двух месяцев (срок наблюдения). У *D.reticulatus* и *D.silvarum* показана возможность не только трансвариальной, но и трансфазовой передачи в пределах одной генерации (срок наблюдения). Возможно, в условиях эксперимента, при интрацелломальном заражении возбудитель анаплазмоза крупного рогатого скота (*A.sp. Omsk*) подавляет репродуктивные свойства клещей, что в свою очередь повлияло на выход жизнеспособных личинок клещей *D.silvarum*. Эксперименты с классическим переносчиком (*D.reticulatus*) и *D.silvarum* демонстрируют, наряду с наличием трансмиссивного пути передачи возбудителя (о чём свидетельствует наличие анаплазм в селезёнках контактных животных), эффективность медиаторного пути передачи. Об этом свидетельствует повышение числа инфицированных голодных нимф из потомства инфицированных самок.

Обращает на себя внимание интенсивность накопления анаплазм в организме личинок (нимф): низкий уровень выявления анаплазм при индивидуальном исследовании голодных форм и резкое повышение инфицированности после кормления. Подобный механизм был описан применительно к *R.rickettsii* и клещам *D.andersoni*

(S. F. Hayes, W. Burgdorfer, 1982; C. C. Gramman, G. A. McDonald, 1994). Вероятно, феномен реактивации анаплазм, аналогичен феномену реактивации риккетсий.

Экспериментальное моделирование естественного цикла метаморфоза клещей даёт возможность изучать взаимоотношения возбудителей и переносчиков, так как позволяет наблюдать экспериментальную инфекцию и локализацию возбудителя в органах и тканях, определять его антигенную структуру при различных стадиях развития и метаморфоза переносчиков. Использование данного метода позволяет изучать гетерогенные популяции возбудителей на уровне вертикальной передачи. Метод может быть использован также при изучении феномена интерференции в переносчиках различных видов клещевых патогенов. Кроме того, он позволяет проводить как испытание спонтанной заражённости неполовозрелых иксодовых клещей, так и их культивирование в условиях лаборатории. Высокая степень точности методики проведения позволяет использовать её при генетических, экологических, молекулярно-биологических, вирусологических и других исследованиях.

В наших исследованиях у больных анаплазмозом животных наблюдали следующие клинические признаки: повышение температуры тела до 40,5 °С, расстройство сердечной деятельности, анемию (иногда со слабо выраженной желтушностью) слизистых оболочек, исхудание животных. При тяжёлом течении болезни наступало угнетение, общая слабость, отказ от корма, атония желудочно-кишечного тракта, усиленная жажда, учащённое дыхание до 65 движений в минуту, отёки век, подгрудка, слизистое истечение из ноздрей. В отдельных случаях (АОЗТ «Новороссийское», ОПХ «Боевое») наблюдали аборт в второй половине беременности при ассоциированном с лептоспирозом течении.

При осмотре подозреваемых на заболевание телят наблюдали следующие клинические признаки: очаговая поражённость кожного покрова с характерными признаками стригущего лишая, серозно-катаральный и гнойный конъюнктивиты, бледность слизистых оболочек ротовой и носовой полостей, серозно-катаральные бронхиты и бронхопневмонии.

Известно, что одним из ведущих гематологических показателей при анаплазмозе, помимо анемии, являются структурные изменения

эритроцитов — пойкилоцитоз и анизоцитоз. Эти изменения описаны многими исследователями: Д. Н. Заслухиным (1930), Н. И. Степановой (1960), И. В. Абрамовым и др. (1965), Е. И. Теплова и Л. К. Лиховозом (1984).

Результаты гематологических исследований, проведённых нами, показали наличие анаплазм в эритроцитах у 60 % телят и у 90 % коров. Картина красной крови характеризовалась глубокими нарушениями костно-мозгового кровообращения, которое проявляется анизо-пойкилоцитозом, включениями типа ретикулярной сетчатости и анемией. Отмечены также реологические нарушения крови, проявляющиеся образованием «монетных» столбиков в результате потери заряда эритроцитами. Картина белой крови свидетельствует о дистрофических и литических процессах в лимфоцитах и нейтрофилах, характеризующихся ворсинчатостью ядер и набуханием внутриклеточных структур. В каждом мазке от больных животных регистрировали клетки (лимфоциты и моноциты) с признаками недостаточной зрелости. Изменения лейкоцитарного профиля проявлялись нейтрофилией и эозинофилией у больных телят и коров. Подобные изменения в периферической крови также наблюдали А. А. Рашидов, 1975; В. А. Стрельчик и др., 2000.

Как показали наши наблюдения, после клинического проявления болезни (острого, чаще подострого) она переходит в анаплазмоносительство, сопровождаемое периодическими рецидивами. Всем стадиям болезненного процесса, особенно в клинический период при рецидивах, присуще гиперактивное состояние костного мозга, заканчивающееся в итоге его аплазией, т. е. неспособностью к кроветворению, приводящее нередко животное к гибели.

Изучение возможности пассирования анаплазм в организме лабораторных животных имеет как теоретическое, так и практическое значение.

В литературе есть ряд разноречивых сообщений относительно возможности пассирования анаплазм в организме кроликов, кошек и др. Так, С. Н. Никольский и другие (1969) сообщают о возможности инвазирования анаплазмами без проявления симптомов заболевания кроликов, кошек и собак при введении им крови, содержащей *A. ovis* и вызывающей заболевание анаплазмозом у спленэктомированных овец.

А. М. Ганиев (1971) показал, что при пассажировании на кроликах *A. marginale* переживают в первом и во втором пассажах, а затем не обнаруживаются. Материалом от пассажей не удаётся вызвать переболевание крупного рогатого скота анаплазмозом. В опытах Х. Георгиу и др. (1983) для увеличения паразитемии заражали спленэктомированный крупный рогатый скот. На первый и второй день после спленэктомии вводили кровь от анаплазмоносителей. Использовали также анаплазмоносителей, которых спленэктомировали с целью обострения болезни и получения высокой паразитемии. Удаление селезёнки у переболевших животных всегда приводило к резкому повышению анаплазм в крови. При высокой паразитемии животных обескровливали.

Результаты экспериментальных исследований по изучению возможности пассирования возбудителя анаплазмоза крупного рогатого скота (*A.sp. Omsk*) в организме кроликов показали, что они восприимчивы к возбудителю анаплазмоза и могут являться анаплазмоносителями в течение 50-ти дней (срок наблюдения). Инфекционный процесс у спленэктомированных кроликов протекает остро (с проявлением выраженных клинических признаков анаплазмоза). Кроме того, интенсивность паразитарной реакции у спленэктомированных кроликов, возрастает до 30–40 % заражённых клеток (в 100 п./з. микроскопа) уже на 12–27-й день после заражения.

Кроме того, в опытах по заражению белых мышей анаплазмами, установлено, что возбудитель анаплазмоза крупного рогатого скота не только вызывает клиническое проявление болезни и гибель у подопытных животных, но и сохраняется в течение последующих двух пассажей (срок наблюдения). При повторных пассажах в организме подопытных животных анаплазмы не увеличивают паразитемию. Она не превышала 8–10 %. Возможно, данный возбудитель в организме белых мышей проявляет свои вирулентные свойства, вызывая гибель при повторных пассажах.

В окрашенных по Романовскому-Гимза мазках из периферической крови, взятой нами от больного крупного рогатого скота, анаплазмы обнаруживали в виде одного-двух реже трёх в одном эритроците розовато-фиолетовых точкоподобных включений округлой,

овальной формы. Расположение в эритроците преимущественно периферическое, иногда эксцентричное.

Анаплазмы в период носительства и в начале заболевания были округлой формы и одинаковой величины. В период клинического переболевания анаплазмы приобретали разнообразные формы: угловатую, мельчайших точек и делящихся форм.

Электронно-микроскопические исследования позволили установить, что анаплазмы окружены плотной непроницаемой морулой (двухслойная цитоплазматическая окружность), внутри которой находятся «инициальные тельца», каждая из которых окружена тонкой наружной и внутренней мембраной. Такие скопления паразитов назвали колониями (Петешев В. М., 1969) или микроколониями (Дьяконов Л. П., Авакян А. А., 1970). Мелкие микроколонии состоят из одного-двух особей, а более крупные — из нескольких. При наличии двух паразитов колония имеет вытянутую форму, трёх — треугольную, четырёх — четырёхугольную, свыше четырёх — кругловатую.

Анаплазмы размножаются простым делением и почкованием, формируя колонии из 2–8 особей (Акбаев М. Ш., 1998). Анализ результатов электронно-микроскопических исследований показал, что анаплазмы формируют поперечные трубчатые структуры и перегородки, что указывает на деление анаплазмозных клеток.

Ультраструктура анаплазмозных клеток представлена протопластическими пучками в периплазматическом пространстве, скоплениями рибосом (тёмные свободные пространства), тонкими нитями ДНК (светлое свободное пространство), трубчатыми и везикулярными образованиями.

Применение иммунологических реакций при кровепаразитарных болезнях издавна интересовало исследователей, так как этими методами, помимо клинически выраженного заболевания, можно безошибочно выявить скрытое паразитоносительство, которое имеет довольно широкое распространение и препятствует оздоровлению и комплектованию благополучных хозяйств. Первые опыты по доказательству наличия антител при тейлериозе крупного рогатого скота осуществил D. Lechtenheld, (1911).

Серологические методы диагностики при анаплазмозе крупного рогатого скота использовали К. Е. Price, L. J. Poelma and J. Farber

(1952); L. O. Moot and D. W. Gates (1949–1953); James G. Milier (1954); M. Ristic (1962); K. Kuttler (1963). Показана практическая ценность и высокая специфичность серологических реакций для диагностики больных анаплазмозом животных и паразитоносителей.

Из более чувствительных сероиммунологических тестов, требующих меньшего расхода антигена, наиболее полно отвечает этим условиям реакция энзиммеченных антител, требующая в отличие от РСК, растворимого анаплазменного антигена (Bidwell G. F. et al., 1977).

Для постановки различных серологических реакций необходимо иметь набор активных специфических антисывороток и антигенов. В связи с этим предложено большое количество схем и способов их получения.

К. Е. Price, L. J. Poelma and J. E. Farber (1952), R. Schindler (1966) получали анаплазменный антиген путём отмывания эритроцитов крови от плазмы и лизиса их в дистиллированной воде. Освобождение анаплазм осуществлялось осаждением при длительном и многократном центрифугировании на суперцентрифуге.

В лаборатории протозоологии ВИЭВ антиген получали из крови заражённых животных (*A. marginale* и *A. ovis*) по усовершенствованной методике Н. И. Степановой (1961).

Учитывая высокую чувствительность тканевых клеток к агентам риккетсиозной природы, наряду с использованием этой модели в целях изучения морфологии, морфогенеза и биологических черт риккетсий тканевые культуры стали эффективно применяться для выращивания возбудителя (Г. П. Сомов, 1964; А. К. Голованова, Г. Я. Ценева, 1968).

Применение нами культуры клеток Vero, для культивирования возбудителя анаплазмоза крупного рогатого скота (*A.sp. Omsk*) позволило изолировать патоген и использовать его в качестве антигена в РНИФ. Анаплазмы удалось поддерживать в течение 8 пассажей, при этом с каждым последующим пассажем наблюдается увеличение числа анаплазмозных включений в культуре клеток Vero. На второй-третий день после заражения отмечались дегенеративные изменения клеток.

Анализ результатов электронно-микроскопических исследований показал, что структура клеток *Vero* нарушена, а цитоплазма содержит большое количество анаплазмозных «морул» различной величины и формы. Цитоплазматическая мембрана клеток истончена и местами разорвана. *A.sp. Omsk* поражают не только цитоплазму клеток, но и проникают в ядро клетки, разрушая ядерную оболочку.

Я. Р. Коваленко с соавт. (1972), для получения специфических гипериммунных сывороток использовал различные схемы гипериммунизации кроликов: по Klieneberger-Nobel, D. Schimmel, Th. Hubrig, J. Ali Aubadi, J. Fabricant. Наиболее активные сыворотки были получены при применении схемы J. Ali Aubadi, J. Fabricant с введением ещё одного дополнительного цикла, объясняя это тем, что малые дозы антигена в сравнении с массивными вызывают более быструю и интенсивную пролиферацию клеток памяти, которые при повторной встрече с гомологичным антигеном обуславливают длительный и напряжённый иммунный ответ организма, при этом перед введением супердозы необходимо делать определённый интервал (в несколько недель) с целью максимального накопления популяции клеток этого типа.

В наших опытах по изучению возможности получения активных гипериммунных сывороток, мы использовали схему D. Schimmel в нашей модификации, суть которой в дробном внутривенном введении антигена кроликам через каждые три-четыре дня с применением иммуностимулятора левамизола подкожно при первом и втором введении. Результаты РНИФ показали, что анаплазмозная сыворотка, полученная нами, обладает строгой специфичностью к гомологичному возбудителю в титре 1:10 и выше. Реакция иммунофлюоресценции является одной из высокочувствительных и специфических серологических тестов, с помощью которой можно проводить индикацию и идентификацию возбудителя анаплазмоза крупного рогатого скота, изучать его антигенные свойства и родство, эти значения необходимы для дальнейшего определения его роли в патологии сельскохозяйственных животных, а также для изучения патогенеза болезни.

Результаты проведённых исследований показали, что из 20 исследованных проб сыворотки крови больных и подозреваемых в заражении возбудителем анаплазмоза животных во всех были

обнаружены антитела к возбудителю анаплазмоза крупного рогатого скота. При этом средний титр антител, при котором отмечалось яркое интенсивное свечение, в исследованных пробах сыворотки крови инфицированных животных составлял $33 \pm 10,5$.

Исследования экспериментально заражённых клещей *D. reticulatus* и *D. silvarum* на выявление возбудителя анаплазмоза крупного рогатого скота с помощью реакции непрямой иммунофлуоресценции, показали, что у $40 \pm 15,2$ % взрослых особей (имаго) клещей *D. reticulatus* первого поколения (F-1) (из числа исследованных) обнаруживали антиген возбудителя анаплазмоза крупного рогатого скота. В личинках и нимфах второго поколения (F-2) этих же клещей положительные результаты выявлены в $42,5 \pm 15,6$ % и $40,0 \pm 15,2$ % соответственно. В клещах *D. silvarum* (имаго), антиген возбудителя анаплазмоза крупного рогатого скота был выделен в $40,0 \pm 15,2$ %.

Экспериментальные исследования по изучению возможности применения РНИФ в качестве диагностического теста при анаплазмозе крупного рогатого скота позволили установить принципиальную возможность использования данной серологической реакции для обнаружения антител в крови инфицированных и подозреваемых в заражении возбудителем анаплазмоза животных. Анализ результатов проведённых исследований показал, что РНИФ является эффективным диагностическим тестом для обнаружения возбудителя анаплазмоза крупного рогатого скота в клещевом материале, выявляя при этом до $45 \pm 11,1$ – $50 \pm 15,8$ % заражённых особей. Кроме того, выделение возбудителя анаплазмоза крупного рогатого скота из гемолимфы половозрелых клещей (гемолимфо-тест) позволяет предположить о персистенции возбудителя в органах и тканях клеща. Гемолимфо-тест является лёгким, наиболее доступным и достоверным методом исследования клещей-переносчиков на анаплазмонительство.

Реакция иммунофлуоресценции позволяет быстро обнаруживать и чётко дифференцировать болезнетворные агенты. Многими авторами доказана её высокая чувствительность и специфичность в сравнении с классическими методами исследований (А. Игнатъев, 1973; Х. Георгиу, Н. А. Казаков, С. Д. Родин, П. Э. Кердзая, 1983; Ю. Г. Зелютков, 1986; Х. Георгиу, 1997; В. Т. Заблоцкий,

1998–2001; Т. А. Гасанова, 2001; Н. А. Казаков, 2003). Иммунофлуоресценция является серологическим методом, при котором в реакцию с антигеном вступают антитела, меченные флуоресцирующим красителем. При наблюдении в видимом спектре флуоресцирующие красители не дают оптического эффекта, но при ультрафиолетовом облучении они обеспечивают сильное свечение, даже если содержатся в препарате в ничтожных количествах в виде следов. Именно это их свойство, а также способность вступать в связь с антителом без ущерба для присущей ему специфичности в связывании антигена дают преимущество данному методу диагностики. РНИФ позволяет определять локализацию антигена в различных секретах, экскретах, жидкостях и тканевых препаратах.

Конец 90-х годов ознаменовался широким использованием новых методических подходов в диагностике заболеваний человека и животных. Среди них ведущее место заняли молекулярно-генетические методы исследования. Они позволили по-новому подойти к решению ряда основных вопросов инфекционной и инвазионной патологии, и даже предложить новые подходы для контроля лечения заболеваний. Принципиальный шаг в диагностике, который уже сделан и который получает своё дальнейшее развитие как в прикладном, так и в фундаментальном аспекте, связан с амплификационными методами выявления генетического материала инфекционных и инвазионных агентов, а именно методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Этот метод позволяет с помощью определённой ферментативной реакции *in vitro* за два-три часа многократно мультиплицировать фрагмент ДНК любого возбудителя и на основании этого сделать заключение о возможности его нахождения в исследуемом образце.

В настоящее время более широкое применение в риккетсиологии находит метод сравнения нуклеотидных последовательностей продуктов ПЦР-амплификации. Первоначально в риккетсиальном геноме был секвенирован ген 16S rRNA и использован для проведения филогенетического анализа рода *Rickettsia* (Stochard, Fuerst, 1995; Roux, Raoult, 1995).

При проведении двухраундовой полимеразной цепной реакции (ПЦР) в присутствии родоспецифичных праймеров среди образцов ДНК из селезёнок клинически больных анаплазмозом коров (СПК

«Такмык» Большереченского района) и телят (ЗАО «Колос» Павлоградского района) в хозяйствах Омской области анаплазмы были обнаружены нами во всех образцах. При этом в пробах от телят положительный сигнал появился только после второго раунда ПЦР, а от крупного рогатого скота сильный положительный сигнал получен и после первого раунда ПЦР. Положительные образцы ДНК из селезёнок телят и коров были подвергнуты секвенированию (сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей). Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей фрагмента гена 16s рРНК выявил нуклеотидную замену в ДНК выявленных анаплазм, отличающую данный вид от *Anaplasma marginale* и *Anaplasma centrale*.

Результаты молекулярно-генетического анализа образцов ДНК из селезёнок клинически больных анаплазмозом животных показали, что возбудитель (*Anaplasma sp. Omsk*), изолированный на территории Омской области, имеет ряд биологических особенностей и должен быть отнесён к порядку Rickettsiales классу Proteobacteria домена Bacteria, к *α1-протеобактериям* семейству Anaplasmataceae роду Anaplasma.

В организме переболевшего анаплазмозом крупного рогатого скота возбудитель сохраняется практически всю жизнь. После клинического проявления болезни она переходит в анаплазмонительство, сопровождаемое периодическими рецидивами.

Лечение не является идеальным методом борьбы с анаплазмозом, однако при отсутствии адекватных эффективных средств профилактики оно приобретает особую актуальность. Терапия применительно к анаплазмозу бывает лечебной, позволяющей снизить паразитемию возбудителя и восстановить клинико-гематологические показатели у заболевшего животного, а также стерилизующей, дающей возможность полностью освободить организм от возбудителя. Стерилизующая терапия даёт возможность, к примеру, формировать стада, отары в благополучных местностях племенными животными из неблагополучных хозяйств.

По результатам клинических, гематологических исследований животных в хозяйствах Омской, Челябинской областей и республике Башкортостан применение различных схем лечения на спонтанно инфицированном крупном рогатом скоте оказывает как бактерио-

статическое, так и бактерицидное действие на анаплазмы. Вместе с тем экономически эффективными и технологичными являются схемы с применением азидина с нилвермом подкожно, трёхкратно с интервалом десять дней и левотетрасульфина–ПЭГ внутримышечно, двукратно с интервалом четыре дня.

Анаплазмоз крупного рогатого скота наносит значительный ущерб животноводству. При этом экономические потери складываются из падежа и вынужденного убоя (10–30 % и более) заболевших, значительного снижения мясной, молочной продуктивности, абортос в второй половине беременности, рождения слабого молодняка, особенно тяжело переболевшего анаплазмозом в первые 1–2 месяца жизни, стерильности производителей, снижения хозяйственной и племенной ценности животных. С помощью применения рациональных схем лечения животных в двух хозяйствах Омской и Челябинской областей нам удалось предотвратить экономический ущерб на сумму 591 378,3 и 444 099 руб. с общим экономическим эффектом 571 854,9 и 421 074 руб., при экономическом эффекте на один рубль затрат 29,29 и 18,3 руб. (в ценах 2004–2005 гг.) соответственно.

Лихорадка Ку выявлена на территории бывшего СССР и более чем в 50 субъектах Российской Федерации. Это природно-очаговая болезнь многих видов животных, а также человека, протекающая энзоотически, преимущественно в субклинической форме, однако может клинически проявляться повышением температуры тела, сопровождаться угнетением, конъюнктивитами, потерей аппетита, абортами, маститами, эндометритами и снижением продуктивности.

Коксиеллы, обладая выраженной избирательностью, размножаются в селезёнке, лёгких, лимфатических узлах, молочной железе, беременной матке. Накапливаясь в значительных количествах, они вызывают общие изменения септикотоксического характера, раздражение ретикулоэндотелиальной и лимфатической системы, гиперплазию фолликулов селезёнки, а также дегенеративные изменения в печени, почках, миокарде, центральной нервной системе, матке, молочных железах, семенниках и других органах; образование микронекротических фокусов, замещающихся в последующем соединительной тканью. В отдельных случаях образуются абсцессы

в паренхиме (молочная железа и региональные лимфатические узлы). В естественных условиях возбудитель кокциеллёза в максимальном количестве накапливается в органах ретикулоэндотелиальной системы. У больных животных обнаруживают также аллергическую сенсibilизацию организма.

Лихорадка Ку повышает восприимчивость скота к вторичным инфекциям, что делает её течение более тяжёлым, зачастую приводя к их гибели. Клинические особенности данной болезни в значительной мере определяют сложившуюся ситуацию, при которой кокциеллёзная инфекция выявляется далеко не в полной мере, оставаясь на большинстве административных территорий вне эпизоотологического контроля. В связи с этим, наряду с дальнейшим развитием лабораторно-диагностических тестов, важна оптимизация диагностики болезни.

Одним из серьёзных пробелов в изучении лихорадки Ку является отсутствие подробных данных по её краевой эпизоотологии (Юсупов Р. Р., 1995). Поэтому, принимая во внимание особенности течения и патогенез болезни, необходимо проводить своевременную диагностику лихорадки Ку крупного рогатого скота, в том числе и в ассоциации с другими инфекционными патологиями с помощью современных и рациональных методов.

Результаты комплексных обследований хозяйств выявили довольно широкое распространение кокциеллёза крупного рогатого скота на территории Омской области. Так, из 29 обследованных хозяйств лихорадка Ку выявлена в 17 (59 %), при этом инфицированность скота составляет от 3 до 65 % (в среднем 10,6 %). При ретроспективном анализе инфицированности кокциеллёзом крупного рогатого скота по области за предыдущие 9 лет (1997–2006) установлено примерно такое же процентное соотношение: заражённость скота составляла в среднем 9,3 %.

Исследования показывают, что кокциеллёз крупного рогатого скота носит ассоциативный характер, при этом число сочленов ассоциации микроорганизмов, участвующих в инфекционном процессе может достигать 5–7. Причём наиболее часто кокциеллы регистрируются с микоплазмами (33 %), лептоспирами (44 %), листериями (48 %), а наибольший процент в ассоциации принадлежит хламидиям — 59 %. По всей видимости, такой высокий процент

в ассоциации говорит о том, что коксииеллы, как и хламидии, будучи внутриклеточными паразитами, являются симбионтами и синергируют своё патогенное действие на организм животного.

Одним из важнейших моментов в борьбе с инфекционными болезнями является установление механизма передачи возбудителя инфекции — одного из звеньев в эпизоотической цепи.

В Омской области в 50–60-х годах были проведены исследования заражённости коксииеллами диких млекопитающих. В. И. Алифановым (1958), В. П. Костюковым (1963) серологически выявлено носительство у многих видов грызунов (краснощёкий суслик, серая крыса, лесная мышь, ондатра, узкочерепная полёвка, бурозубка).

На животноводческих комплексах при определённых условиях происходит интенсивное размножение грызунов, которые могут обеспечить связи природных и внутриводных очагов ряда инфекций (Рудаков Н. В., 1985; Зацепин В. Г. и др., 1978; Райхлин М. И., 1979; Мирзаев Ш., 1978; Малышев Ф. Ф., 1978).

При исследовании мазков-отпечатков из селезёнок 109 отловленных грызунов (красная полёвка, полёвка-экономка, полевая мышь, лесная мышовка), гемолимфы и кишечника от 304 собранных иксодовых клещей (*Dermacentor reticulatus*, *Ixodes persulcatus*) в РПИФ, подтверждено, что основным резервуаром и переносчиками Ку-лихорадки в природе являются мышеобразные грызуны и иксодовые клещи, доля инфицированности которых в Омской области составляет 15,5 и 20,4 %, соответственно. РИФ является наиболее простым и доступным тестом для определения инфицированности переносчиков. Метод позволяет выяснять эпизоотическую ситуацию по лихорадке Ку в конкретной местности (область, район, хозяйство, пастбище).

Данные наших исследований показывают необходимость проведения профилактических мероприятий, направленных на изучение путей и механизмов передачи возбудителя, т. е. на уничтожение клещей и мышеобразных грызунов-переносчиков коксииеллёза, а также на своевременность проведения профилактических и оздоровительных мероприятий на крупном рогатом скоте. Своевременное определение возбудителя в клещах и грызунах — необходимое условие для проведения эпизоотологического контроля за благополучием территории по коксииеллёзу.

Для диагностики коксиделлёза применяют различные риккетсиологические методы. В настоящее время в ветеринарной практике для серологической диагностики лихорадки Ку крупного рогатого скота рекомендована РДСК, которая, даёт положительные результаты только при наличии определённой концентрации антител в сыворотке крови подозрительных в заражении животных. Причём, по данным Б. П. Богомолова и др. (1980), Н. П. Петровой и др. (1982) с помощью РСК лихорадку Ку удается диагностировать лишь в 70 % случаев больных людей. Такой метод, как биологическая проба на белых мышах и морских свинках, требует продолжительного времени наблюдения за подопытными животными — до 12–24 суток. С другой стороны, такой тест, как ПЦР, является высокочувствительным, однако в силу необходимости специального оборудования, значительной стоимости исследованных проб его проводят в основном для научных целей, поэтому он пока недоступен для проведения массовых диагностических исследований в производственных условиях на базе районных и городских ветеринарных лабораторий.

Многими авторами показана высокая чувствительность и специфичность реакции иммунофлуоресценции (Р. Р. Юсупов, 1995, 1998; Р. Х. Юсупов и др., 1994; Н. А. Хисматуллина и др., 2000; В. А. Яблонская и др., 1989; Н. И. Амосенкова и др., 1965), которая позволяет быстро обнаруживать антитела и антигены коксиделлы в различном биоматериале от людей и животных, а также количественно оценить массивность инвазии возбудителя.

Для постановки различных серологических реакций необходимо иметь активные специфические антисыворотки и антигены. Предложено большое количество способов их приготовления. Рекомендованы различные схемы для гипериммунизации животных: метод Е. Клиенебергер-Нобель (1962); D. Taylor-Robinson et al. (1963); З. Т. Федоровой с соавт. (1969); E. Stanebring, L. Hayflick (1967); In Jen Pan, M. Ogata (1969); J. Al. Aubaidi, J. Fabricant (1971); L. Potgieter (1972). Наиболее известным и удобным является метод D. Shimmel, Th. Hubrig (1968), суть которого состоит в дробном внутривенном введении антигена кроликам. Достоинство данного метода состоит в том, что за короткий промежуток времени можно получить антисыворотки с высокими диагностическими титрами.

В нашей работе мы применяли способ получения кокциелллезной сыворотки с помощью кокциелллезного антигена из штамма *Coxiella burnetii* М-44, путём гипериммунизации кроликов по схеме D. Schimmel (1967) в нашей модификации (А. П. Красикова и Н. Н. Новиковой, 2000), с дополнительным подкожным введением иммуностимулятора левамизола при первых двух внутривенных инъекциях антигена. Гипериммунизация кроликов данным методом позволяет получить активную и специфичную в РНИФ антикокциеллезную сыворотку. Используя кокциелллезный антиген, можно исследовать сыворотку крови на наличие антител. С помощью кокциеллезной сыворотки в РНИФ можно изучать патогенез кокциеллеза, проводить прижизненные и посмертные исследования био- и патматериала от крупного рогатого скота, а также исследовать материал на наличие кокциеллезных антигенов, что затруднено осуществлять вирусологическим способом.

При сравнении диагностической ценности РПИФ (со стандартной люминесцентной кокциеллезной сывороткой института им. Н. Ф. Гамалеи) и РНИФ (с полученной кроличьей кокциеллезной сывороткой) проведено исследование проб молока и цервикальной слизи от коров дойного стада, принадлежащих хозяйствам Омской области: ЗАО им. Розы Люксембург Любинского района и ОПХ «Боевое» Исилькульского района. Показано, что полученная кокциеллезная сыворотка обладает специфичностью, высокой чувствительностью и активностью в РНИФ и не только не уступает стандартной люминесцентной кокциеллезной сыворотке для РПИФ, но и позволяет выявлять больше животных в непрямом варианте флуоресцирующих антител с низкой концентрацией антигена в титрах 1:32–1:64. При этом в РНИФ дополнительно к РПИФ выявляется на 5 % больше реагирующих животных.

Для серологической диагностики кокциеллеза помимо других применяется и реакция непрямой гемагглютинации (Н. К. Токаревич и др., 1981, 1980; В. В. Тец, 2002; Н. В. Рудаков, 1985). Нами был сконструирован кокциеллезный антигенный эритроцитарный диагностикум для реакции непрямой гемагглютинации. Диагностикум изготавливали по методу Фили в нашей модификации (А. П. Красиков, 1982), которая заключается в более щадящем способе воздействия формалина на эритроциты и одновременном

обеспечении хорошей фиксации их. В качестве сенситина использовали коксиеллёзный антиген из штамма *Coxiella burnetii* М-44. Полученный коксиеллёзный эритроцитарный диагностикум специфичен и обладает достаточной активностью в РНГА при лихорадке Ку крупного рогатого скота. Его можно применять для обнаружения антител к коксиеллам в сыворотке крови больного скота и носителей.

В производственных условиях при сравнении диагностической ценности РНИФ и РНГА проведено исследование 681-й пробы сыворотки крови от коров и тёлочек из шестнадцати хозяйств области на лихорадку Ку. С помощью РНИФ выявлено 9,8 %, а в РНГА — 8,6 %. Эти методы равнозначны по чувствительности, дополняют друг друга и позволяют обнаруживать больше инфицированных животных.

Только комплексные исследования скота позволяют своевременно выявлять больных, коксиеллоносителей и проводить лечебно-профилактические мероприятия при данной инфекционной патологии.

Разработанный коксиеллёзный эритроцитарный диагностикум для РНГА и коксиеллёзный антиген для РНИФ специфичны и высокочувствительны. РНГА и РНИФ дополняют друг друга и позволяют обнаруживать в среднем на 1,2 % больше реагирующих животных. Они являются технологичными и могут применяться одновременно с проведением массовых серологических исследований крупного рогатого скота на другие инфекционные болезни. Предложенные нами методы экспресс диагностики лихорадки Ку крупного рогатого скота являются доступными и экономичными, они чувствительны и специфичны и могут использоваться для проведения массовых исследований на коксиеллёз.

Универсальное изучение нуклеотидных последовательностей гена 16S рибосомальной РНК у клеточных форм жизни позволило выделить три домена: *Archaea*, *Bacteria* и *Eukaria*. Имеются отличающиеся от классических бактерий домена *Bacteria* (эубактерий) по экологии и биологическим характеристикам прокариоты — эндосимбионты эукариотических клеток. Результаты исследований свидетельствуют о генетических связях не только облигатных внутриклеточных протеобактерий из родов *Rickettsia*, *Coxiella*,

Anaplasma и *Ehrlichia*, но и представителей ряда других родов альфа-протеобактерий: *Brucella*, *Bartonella*, *Wolbachia*.

Несмотря на отличия эпизоотологических и эпидемиологических закономерностей вызываемых инфекций, эти возбудители имеют общие биологические и экологические характеристики. Среди них эндоцитобиоз (внутриклеточный паразитизм) в эукариотических клетках, отсутствие чётких критериев патогенности и классических эндотоксинов, преобладание мелких кокко-бациллярных форм, небольшой размер генома, зависимость от метаболизма клеток хозяина. Метаболическая зависимость является причиной отсутствия или слабого их роста на питательных средах даже сложного состава, оптимальной средой для культивирования бактерий-эндоцитобионтов является эукариотическая клетка (культуры клеток).

Генетические исследования свидетельствуют об эволюционном родстве риккетсий и митохондрий эукариотов, наличии у них общего предка — внутриклеточного эндосимбионта. Митохондрии и современные представители порядка *Rickettsiales* являются ближайшими родственниками, имеющими ряд общих свойств (структура генома, морфология, аэробный тип дыхания и особенности метаболизма).

Одновременно с эукариотами эволюционировали и прокариоты — симбионты эукариотических клеток. Редукция генома альфа-протеобактерий может быть связана с их специализацией и играть существенную роль в их облигатном внутриклеточном паразитизме.

Наиболее изучены эндоцитобионты-патогены человека и животных, многие из которых (риккетсии, эрлихии, анаплазмы) являются возбудителями природно-очаговых инфекций, имеют широкий круг клеток-мишеней. Бактерии-эндоцитобионты часто могут быть внутрифагоцитарными паразитами, имеют тропность к определённым клеткам кроветворного ряда и системы эндотелия, вступают в специфический лигандно-рецепторный контакт с мембранами эритроцитов, фагоцитов, эндотелиальных клеток сосудов.

Менее всего изучены эндоцитобионты, апатогенные для теплокровных. У многих более низко организованных хозяев (беспозво-

ночных) бактерии-эндосимбионты наделяют их полезными свойствами, способствуют увеличению биоразнообразия, влияют на процессы размножения, например представители рода *Wolbachia* у насекомых, нематод.

Экологической микронишей представителей рода *Rickettsia* служит цитоплазма, для ряда из них (риккетсии группы КПЛ) и ядро эукариотической клетки, где они размножаются свободно, без окружения паразитофорной вакуолью. Этим они отличаются от коксии Бернета, представителей семейства *Anaplasmataceae* и хламидий, микронишей для которых является фагосома и фаголизосома. Экологические особенности риккетсий обусловлены их облигатным внутриклеточным паразитизмом с широким кругом филогенетически далеко отстоящих друг от друга хозяев — кровососущих членистоногих (клещей, вшей, блох) и их теплокровных прокормителей — грызунов, насекомоядных, сумчатых, копытных и других млекопитающих и птиц.

Риккетсии и риккетсиоподобные микроорганизмы широко распространены среди различных представителей членистоногих, в том числе у вшей, блох, комаров, клопов, а также в большинстве видов иксодовых клещей. Принято считать эту группу микроорганизмов эндосимбионтами, находящимися в мутуа-листических отношениях с хозяевами-членистоногими. Высокая адаптация к организму членистоногих большинства видов риккетсий, в том числе патогенных для позвоночных животных, позволяет рассматривать их в качестве первичных хозяев риккетсий. Вместе с тем многие виды риккетсий патогенны для человека и животных, что определяет их медицинское и ветеринарное значение.

В результате проведённых исследований установлено широкое распространение ряда альфа-протеобактерий, имеющих медицинское и ветеринарное значение. Наибольшее значение из вызываемых ими заболеваний имеют коксииллез (лихорадка Ку) и анаплазмозы. Изучение осуществлено по однотипной схеме, включающей полевые и экспериментальные исследования, разработку новых подходов к лабораторной диагностике, лечению и профилактике указанных инфекций. Выявлено широкое распространение указанных инфекций в животноводческих хозяйствах Омской области и некоторых других административных территорий, их роль в пато-

логии животных, роль ассоциативных форм инфекций и наиболее частые сочетания патогенов.

Показана необходимость комплексного эпизоотического мониторинга на широкий круг патогенов с использованием, наряду с классическими лабораторными методами, методов экспресс-диагностики, в первую очередь, РНИФ и РНГА с антигенными эритроцитарными диагностикумами.

Обосновано применение противоклещевых мероприятий в предупреждении формирования в хозяйствах очагов лихорадки Ку и анаплазмозов крупного рогатого скота. Апробированы основные схемы лечения этих инфекций.

Проведённые исследования имеют существенное значение для оздоровления хозяйств от вышеуказанных инфекций и профилактики заражения коксииеллами и анаплазмами персонала животноводческих хозяйств и в целом населения соответствующих территорий. Роль различных альфа-протеобактерий в патологии человека и животных в различных регионах России требует дальнейшего изучения.

Библиографический список

К главе 1

1. Здродовский, П. Ф. Учение о риккетсиях и риккетсиозах / П. Ф. Здродовский, Е. М. Голиневич. – М.: Медицина, 1972. – 495 с.
2. Балашов, Ю. С. Взаимоотношения клещей надсемейства Ixodoidea и риккетсий рода *Wolbachia* / Ю. С. Балашов // Паразитологический сборник ЗИН АН СССР. – 1967. – Вып. 19. – С. 16–25.
3. Балашов, Ю. С. Кровососущие членистоногие и риккетсии / Ю. С. Балашов, А. Б. Дайтер. – Л.: Наука, Ленинград. отдел-е, 1973. – 250 с.
4. Григорян, Е. В. Первые данные о клиническом течении моноцитарного эрлихиоза в России / Е. В. Григорян, Н. Н. Воробьева, Э. И. Коренберг [и др.] // Эпидем. и инфекц. бол. – 2000. – № 6. – С. 20–23.
5. Гудима, О. С. Особенности структурной организации риккетсий / О. С. Гудима // Вестн. АМН СССР. – 1969. – № 10. – С. 35–40.
6. Гудима, О. С. Биология покоящихся и вегетативных форм риккетсий Бернета / О. С. Гудима // Вопросы инфекционной патологии и иммунологии. – М., 1976. – Вып. 5. – С. 214–217.
7. Гулевская, С. А. Электронномикроскопическое изучение риккетсий Провачека / С. А. Гулевская, Н. М. Балаева // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1970. – № 3. – С. 82–84.
8. Дубинина Е. В. Динамика биоразнообразия возбудителей болезней, переносимых клещами рода *Ixodes*: анализ многолетних данных / Е. В. Дубинина, А. Н. Алексеев // Мед. паразитол. – 1999. – № 2. – С. 13–19.
9. Колонин, Г. В. Распространение иксодовых клещей / Г. В. Колонин. – М.: Наука, 1984. – 95 с.
10. Коренберг, Э. И. Эрлихиозы — новая для России проблема инфекционной патологии / Э. И. Корнеберг // Мед. паразитол. – 1999. – № 4. – С. 10–14.
8. Кулагин, С. М. Лихорадка цуцугамуши / С. М. Кулагин, И. В. Тарасевич. – М., 1972. – 232 с.
11. Лысковцев, М. М. Клещевой риккетсиоз / М. М. Лысковцев. – М., 1963. – 275 с.
12. Лобан, К. М. Риккетсиозы человека: руководство для врачей / К. М. Лобан, Ю. В. Лобзин, Е. П. Лукин. – М.-СПб., 2002. – 475 с.
13. Медяников, О. Ю. К вопросу об этиологии гранулоцитарного эрлихиоза человека на Дальнем Востоке России / О. Ю. Медяников, Ю. Н. Сидельников, Л. И. Иванов, Н. И. Здановская // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2001. – № 2 (7). – С. 126.

14. Померанцев, Б. И. Географическое распространение клещей *Ixodoidea* и состав их фауны в Палеарктической области / Б. И. Померанцев // Тр. зоол. ин-та АН СССР. – М.-Л., 1948. – Т. 7. – С. 132–148.
15. Рудаков, Н. В. Очаги лихорадки Ку в условиях антропоического воздействия / Н. В. Рудаков // Природноочаговые болезни человека: Респ. сб. науч. работ. – Омск, 1990. – С. 84–92.
16. Рудаков, Н. В. Коксиеллез в Российской Федерации / Н. В. Рудаков, Н. Ф. Фетисова, Т. Г. Сыскова // Здоровье населения и среда обитания: ежемес. информ. бюл., 1994. – № 2. – С. 10–12.
17. Рудаков, Н. В. Клещевой риккетсиоз / Н. В. Рудаков, А. С. Оберт. – Омск, 2001. – 120 с.
18. Рудаков, Н. В., Новые и возвращающиеся природноочаговые инфекции и лабораторная верификация гранулоцитарного эрлихиоза в Алтайском крае / Н. В. Рудаков, А. С. Оберт, О. Б. Калмин, С. А. Рудакова, И. Е. Самойленко // Природные и антропогенные предпосылки состояния здоровья населения Сибири: матер. науч.-практ. конф. – Барнаул, 2001. – С. 47–50.
19. Рудаков, Н. В. Новые и возвращающиеся природноочаговые инфекции: концепция и некоторые результаты изучения / Н. В. Рудаков, А. А. Матущенко, С. Н. Шпынов, С. А. Рудакова, И. Е. Самойленко // Актуальные проблемы обеспечения сан.-эпид. благополучия населения: матер. второй регион. науч.-практ. конф., посвящ. 80-летию ОГМА. – Омск, 2001. – С. 265–269.
20. Рудаков, Н. В. Анаплазмозы и эрлихиозы человека — новая проблема инфекционной патологии в России: пособие для врачей / Н. В. Рудаков, А. С. Оберт, С. Н. Шпынов. – Омск, 2005. – 35с.
21. Рудаков, Н. В. Риккетсии и риккетсиозы группы клещевой пятнистой лихорадки в Сибири / Н. В. Рудаков, С. Н. Шпынов, И. Е., Самойленко, В. К. Ястребов [и др.]. – Омск: ИЦ «Омский научный вестник», 2012. – 288 с.
22. Тарасевич, И. В. Астраханская пятнистая лихорадка / И. В. Тарасевич. – М., 2002. – 171 с.
23. Федорова, Н. И. Эпидемиология и профилактика Ку-риккетсиоза / Н. И. Федорова. – М.: Медицина, 1968. – 252 с.
24. Шпынов, С. Н., Выявление эрлихий в клещах *Ixodes persulcatus* на Урале и в Азиатской части России / С. Н. Шпынов, Н. В. Рудаков, Р.-Е. Fournier, D. Raoult // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2002. – № 4, т. 2. – С. 139–141.
25. Шпынов, С. Н. Генотипирование риккетсий и эрлихий в иксодовых клещах в России и Казахстане / С. Н. Шпынов, Н. В. Рудаков, И. В. Тарасевич, М. А. Танкибаев // Генодиагностика инфекционных заболеваний: тез. докл. 4-й Всерос. науч.-практ. конф. – М., 2002. – С. 256–257.

26. Шпынов, С. Н. Новые данные о выявлении эрлихий и анаплазм в иксодовых клещах в России и Казахстане / С. Н. Шпынов, Н. В. Рудаков, В. К. Ястребов [и др.] // Мед. паразитол., 2004. – № 2. – С. 10–14.
27. Alekseev, A. N. Identification of *Ehrlichia* spp. and *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes* ticks in the Baltic regions of Russia / A. N. Alekseev, H. V. Dubinina, I. Van de Pol, L. M. Schouls // J. Clin. Microbiol., 2001. – N. 39. – P. 2237–2242.
28. Anacker, R. L. Reactivity of monoclonal antibodies to *Rickettsia rickettsii* with spotted and typhus group rickettsiae / R. L. Anacker, R. E. Mann, C. Gonzales // J. Clin. Microbiol. – 1987. – Vol. 25. – № 1. – P. 167–171.
29. Anderson, B. E. *Ehrlichia chaffeensis*, a new species associated with human ehrlichiosis / B. E. Anderson, J. E. Dawson., D. C. Jones, K. H. Wilson. // J. Clin. Microbiol. – 1991. – N 29. – P. 2838–2842.
30. Anderson, B. E., *Ehrlichia ewingii* sp.nov., the etiologic agent of canine granulocytic ehrlichiosis/ B. E. Anderson, C. E. Greene, D. A. Jones, J. E. Dawson // Int.J.Sys.Bacteriol. – 1992. – N. 42. – P. 299–302.
31. Bakken, J. S. Human granulocytic ehrlichiosis in the upper midwest United States: a new species emerging? / J. S. Bakken, J. S. Dumler, S. M. Chen [et al] // JAMA. – 1994. – N. 272. – P. 212–218.
32. Brouqui, P. Ehrlichiosis in Europe // Raoult D., Brouqui P. [ets.] Rickettsiae and rickettsial diseases at the turn of the third millennium. – Paris: Elsevier, 1999. – P. 220–232.
33. Cao, W.-C. Granulocytic ehrlichiae in *Ixodes persulcatus* ticks from an area in China where Lyme disease is endemic / W.-C. Cao, Q.-M. Zhao, P.-H. Zhang [et al.] // J. Clin.Microbiol. – 2000. – N. 38. – P. 4208–4210.
34. Chen, S.-M. Identification of a granulocytotropic *Ehrlichia* species as the etiologic agent of human disease / S.-M. Chen, J. S. Dumler, J. S. Bakken, D. H. Walker // J. Clin.Microbiol. – 1994. – N. 32. – P. 589–595.
35. Childs, J. E. Human monocytic ehrlichiosis due to *Ehrlichia chaffeensis*: how do we count the cases? / J. E. Childs, J. McQuiston, J. W. Sumner [et al.] // Raoult D, Brouqui P. [eds.] Rickettsiae and rickettsial diseases at the turn of the third millennium. Paris: Elsevier, 1999. – P. 220–232.
36. Cowdry, E. V. Studies on the aetiology of heartwater.1.Observation of a rickettsia, *Rickettsia ruminantium* (n.sp.) in the tissues of infected animals / E. V. Cowdry // J. Exp. Med. – 1925. – Vol. 42.– P. 231–252.
37. Dawson, J. E. Isolation and characterization of an *Ehrlichia* sp. from a patient diagnosed with human ehrlichiosis / J. E. Dawson, B.E. Anderson, D. B. Fishbein [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 1991. – N. 29. – P. 2741–2745.
38. Donatien ? A. and Lestoquard F. Existence en Algerie d'une Rickettsia du chien / A. Donatien // Bull. Soc. Path. Exot. – 1935. – Vol. 28. – P. 418–419.
39. Dumler, J. S., etc. Reorganization of genera in families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia*

with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia*, and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila* / J. S. Dumler, A. F. Barbet, C. P. Bekker // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* – 2001. – V. 51. – P. 2145–2165.

40. Dumler, J. S. Tick — borne ehrlichioses / J. S. Dumler, D. H. Walker // *Lancet Inf. Dis.* – 2001. April. – P. 21–28.

41. Eng, T. R. Epidemiologic, clinical, and laboratory findings of human ehrlichiosis in the United States / T. R. Eng, J. R. Harkess, D. B. Fishbein [et al.] // *JAMA.* –1988. – N 264.– P. 2251–2258.

42. Ewing, S. A., et al. Experimental transmission of *Ehrlichia chaffeensis* (*Rickettsiales: Ehrlichieae*) among white-tailed deer by *Amblyomma americanum* (*Acari: Ixodidae*) / S. A. Ewing, J. E. Dawson, A. A. Kokan // *J. Med. Entomol.* – 1995. – Vol. 32.– P. 368–374.

43. Fournier, P.-E. Gene Sequence-Based Criteria for Identification of New *Rickettsia* Isolates and Description of *Rickettsia heilongjiangensis* sp. nov. / P.-E. Fournier, [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2003. – Vol. 41.12. – P. 5456–5465.

44. Gordon, W. S. Studies in louping ill, tick-borne fever and scrapie / W. S. Gordon, A. Brownlee, D. R. Wilson // *Proc.3rd Int.Congr.Microbiol.* – NY., 1940. –P. 362–363.

45. Kawahara, M. Characterization of ehrlichial organisms isolated from a wild mouse / M. Kawahara, C. Suto, Y. Rikihisa // *J. Clin. Microbiol.*, 1993.– Vol. 31.– P. 89–96.

46. Maeda, K. Human infection with *Ehrlichia canis*, a leukocytic rickettsia / K. Maeda, N. Markowitz, R. C. Hawley [et al.] // *N. Engl. J. Med.*, 1987.– N. 316.– P. 853–856.

47. Mediannikov, O. Acute tick-borne rickettsiosis caused by *Rickettsia heilongjiangensis* in Russian Far East / O. Mediannikov, Y. Sidelnikov, E. Ivanov, [etc.] // *Emerg Infect Dis.* – 2004. – N. 10(5). – S. 810–7.

48. Misao, T. And Kobayashi Y. Studies on infectious mononucleosis (glandular fever).1. Isolation of etiologic agent from blood, bont marrow and lymph node of a patient with infectious mononucleosis by using mice / T. Misao // *Kyushu J. Med. Sci.* – 1955. – N. 6. – P.145–152.

49. Morozova, O. V., et al. PCR detection of *Borrelia burgdorferi* sensu lato, tick – borne encephalitis virus, and human granulocytic ehrlichiosis agent in *Ixodes persulcatus* ticks from Western Siberia, Russia / O. V. Morozova, A.K. Dobrotvorsky, N. N. Livanova // *J. Clin. Microbiol.* – 2002. Oct. – Vol. 40, N. 10.– P. 3802–3804.

50. Popov, V. L. Ultrastructural variation of cultured *Ehrlichia chaffeensis* / V. L. Popov, S.-M. Chen, H.-M. Feng, D. H. Walker // *J. Clin. Med.* –1995. – Vol. 43, N. 2. – P. 411–421.

51. Popov, V. L. Comparative ultrastructure of Ehrlichiae / V. L. Popov // Rickettsiae and rickettsial diseases: proceedings of the Vth International Symposium. – Bratislava: Veda, 1996. – P. 303–317.
52. Ravyn, M. D. Monocytic Ehrlichia in Ixodes persulcatus ticks from Perm, Russia / M. D. Ravyn, E. I. Korenberg, J. A. Oeding [et al.] // Lancet, 1999. – Vol. 353. – P. 722–723.
53. Řeháček, J. Acari-borne rickettsiae in Eurasia / J. Řeháček, I. V. Tarasevich // Veda publishing house of the Slovak Academy of Science. – Bratislava, 1988. – 344 p.
54. Rikihisa, Y. The tribe *Ehrlichieae* and ehrlichial diseases / Y. Rikihisa // Clin. Microbiol. Rev. – 1991. – N. 4. – P. 286–308.
55. Ristic, M. And Hussoll D. Tribe 11. *Ehrlichiae* / M. Ristic // Krieg, N. R. Bergey's manual of systematic bacteriology / N. R. Krieg, J. G. Holt [ets.]. – 1984. – Baltimore, MD: The Williams and Wilkins C^o. – Vol. 1. P. 704–711.
56. Stothard, D. R. Evolutionary analysis of spotted fever and typhus groups of Rickettsia using 16S rRNA gene sequences / D. R. Stothard, P. A. Fuerst // Syst. Appl. Microbiol. – 1998. – V. 18. – P. 52–61.
57. Schouls, L. M. Detection and identification of *Ehrlichia*, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, and *Bartonella* species in Dutch *Ixodes ricinus* ticks / L. M. Schouls, Van de Pol, S. G. T. Rijpkema, C. S. School // J. Clin. Microbiol. – 1999. – N. 37. – P. 2215–2222.
58. Shpynov, S. Detection of Rickettsia Closely Related to Rickettsia aeschlimannii, “Rickettsia heilongjiangensis”, Rickettsia sp. Strain RpA4, and Ehrlichia muris in Ticks Collected in Russia and Kazakhstan / S. Shpynov, P.-E. Fournier, N. Rudakov [etc.] // Journal of Clinical microbiology. – 2004. – V. 42. – S. 2221–2223.
59. Shpynov, S. N. Short report: Molecular identification of a collection of spotted fever group rickettsiae obtained from patients and ticks from Russia / S. N. Shpynov, P.-E. Fournier, N. Rudakov [etc.] // Am. J. Trop. Med. Hyg. – 2006 a. – N/ 74(3). – P. 440–443.
60. Shpynov, S. Detection of members of the genera Rickettsia, Anaplasma, and Ehrlichia in ticks collected in the Asiatic part of Russia / S. Shpynov, P.-E. Fournier, N. Rudakov [etc.] // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2006 b. – V. 1078: century of rickettsiology (emerging, reemerging rickettsioses, molecular diagnostics, and emerging veterinary rickettsioses). – S. 378–383.
61. Telford, Sam R. Perpetuation of the agent of human granulocytic ehrlichiosis in a deer tick – rodent cycle / Sam R. Telford, J. Dawson, P. Katavolos [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1996. June. – Vol. 93. – P. 6209–6214.
62. Telford, S. R. III. Выявление в России природных очагов бабезиоза и гранулоцитарного эрлихиоза / S. R. III Telford, Э. И. Коренберг, Н. К. Goethert [и др.] // Журн. микробиол. – 2002. – № 6. – С. 21–25.

63. Walker, D. H. Biology of rickettsial diseases. – Florida; Boca Raton: CRC Press, 1988. – 50 p.

64. Walker, D. H. Emergence of the ehrlichioses as human health problems / D. H. Walker, J. S. Dumler // *Emerg. Infect. Dis.* – 1996.– Vol. 2.– N 1. – P. 18–27.

65. Wen, B. *Ehrlichia muris* sp.nov., identified on the basis of 16S rRNA base sequence and serological, morphological, and biological characteristics / B. Wen, Y. Rikihisa, J. Mott [et al.] // *Int. J. Syst. Bacteriol.* –1995. – N. 45. – P. 250–254.

К главе 2

1. Акбаев, М. Ш. Паразитология и инвазионные болезни животных / М. Ш. Акбаев. – М.: Колос, 1998. – 472 с.

2. Артёменко, Л. П. Анаплазмоз крупного рогатого скота / Л. П. Артёменко // *Ветеринария.* – 1974. – № 12. – С. 57–58.

3. Артёменко, Л. П. Материалы к изучению анаплазмоза крупного рогатого скота в условиях Полесья Украины: автореф. дис. ... канд. вет. наук / Л. П. Артёменко; Моск. вет. акад. – М., 1967. – 23 с.

4. Агаев, А. А. Анаплазмоз крупного рогатого скота и меры борьбы с ним в Азербайджанской ССР (Эпизоотология, лечение и профилактика): автореф. дис. ... д-ра вет. наук / А. А. Агаев. – М., 1971.– 43 с.

5. Агаев А. А. Смешанная инвазия (пироплазмидозы и анаплазмоз) у крупного рогатого скота и меры борьбы с ней в Азербайджане / А. А. Агаев, Н. М. Ширинов // X конференция Украинского общества паразитологов (Одесса, 1986 г.): матер. конф. – Киев, 1988. – Ч. 3.– С. 7–8.

6. Ананьев, О. П. Получение растворимых антигенов *A. ovis* различными методами / О. П. Ананьев, Т. Т. Сулейменов // *Эпизоотология, иммунитет, диагностика и химиопрофилактика паразитов сельскохозяйственных животных в Казахстане.* – Алма-Ата, 1984. – С. 3–8.

7. Абдуллаев, У. А. Оценка эффективности лечения анаплазмоза крупного рогатого скота по биохимическим показателям / У. А. Абдуллаев, С. Т. Абдукаримова, Т. Н. Шевченко // *Гельминтозы и паразитарные болезни сельскохозяйственных животных в Узбекистане.* – Ташкент, 1984. – С. 3–6.

8. Анаплазмозы животных / И. А. Абрамов, Н. И. Степанова, Л. П. Дьяконов [и др.]. – М.: Колос, 1965. – 129 с.

9. Балашов, Ю. С. Взаимоотношения иксодовых клещей (Ixodidae) с возбудителями трансмиссивных инфекций позвоночных животных / Ю. С. Балашов // *Паразитология.* – М., 1995. –Т. 29. – С. 337.

10. Балашов, Ю. С. Взаимоотношения кровососущих членистоногих и риккетсий / Ю. С. Балашов // *Паразитология.* – М., 1971. – Т. 5. – С. 345–356.

11. Балашов, Ю. С. Значение идей В. Н. Беклемишева о паразитарных системах и жизненных схемах видов в развитии паразитологии / Ю.С. Балашов // Паразитология. – М., 1991. – Т. 25. – С. 185–195.
12. Балашов, Ю. С. Организм иксодоидных клещей как среда обитания возбудителей трансмиссивных инфекций / Ю. С. Балашов // Паразитология. – М., 1987. – Т. 34. – С. 48–69.
13. Балашов, Ю. С. Патогенность возбудителей трансмиссивных инфекций для членистоногих переносчиков / Ю. С. Балашов // Итоги развития учения о природной очаговости болезней человека и дальнейшие задачи. – М., 1972. – С. 162–179.
14. Балашов, Ю. С. Роль морфофизиологических особенностей кровососущих членистоногих в передаче возбудителей инфекций / Ю. С. Балашов // Паразитология. – М., 1984. – Т. 32. – С. 22–42.
15. Беклемишев, В. Н. Круг естественных переносчиков трансмиссивных болезней, поражающих человека / В. Н. Беклемишев // Зоол. журн. – 1955. – № 1. – С. 3–16.
16. Беклемишев, В. Н. Паразитизм членистоногих на наземных позвоночных / В. Н. Беклемишев // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – М., 1951. – Т. 20, вып. 2. – С. 151–160.
17. Бейсембаев, К. К. Эпизоотологические особенности анаплазмоза КРС и совершенствование методов его диагностики, профилактики и лечения: автореф. дис. ... канд. вет. наук / К. К. Бейсембаев. ИВМ ОмГАУ. – Омск, 2005. – 18 с.
18. Ганиев А. М. Экспериментальный анаплазмоз крупного рогатого скота, его лечение и профилактика: автореф. дис. ... канд. вет. наук / А. М. Ганиев; Ленингр. вет. ин-т. – Л., 1971. – 24 с.
19. Гасанов, Г. Г. Некоторые вопросы эпизоотологии и лечения анаплазмоза крупного рогатого скота в Азербайджанской республике: автореф. дис. ... канд. вет. наук / Г. Г. Гасанов. – Баку, 1968. – 18 с.
20. Гасанова Т. А. Лабораторная диагностика инфекций, передающихся половым путём при хронических воспалительных заболеваниях репродуктивной системы / Т. А. Гасанова // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2001. – № 3. – С. 60–65.
21. Георгиу, Х. Динамика антител и лечебные свойства сыворотки крови овец при экспериментальном анаплазмозе (*A. ovis*) / Х. Георгиу // Проблемы ветеринарной иммунологии: тр. ВИЭВ. – М., 1983. – Т. 57. – С. 35–42.
22. Георгиу, Х. Дисперсный анализ эритроцитов с помощью электронного счётчика при анаплазмозе овец / Х. Георгиу, Л. А. Зиневич // Инфекционная патология сельскохозяйственных животных: тр. ВИЭВ. – М., 1984. – Т. 61. – С. 96–98.

23. Георгиу, Х. Комплементсвязывающие антитела и паразитемия у овец при анаплазмозе / Х. Георгиу // Актуальные проблемы профилактики и борьбы с протозойными болезнями животных: тр. ВИЭВ. – М., 1982. – Т. 56. – С. 95–98.
24. Георгиу, Х. Сравнительная оценка серологических тестов (РДСК, РНГА и ИФА) для диагностики анаплазмоза рогатого скота и нутталиоза лошадей: дис. ... д-ра биол. наук / Х. Георгиу; ВИЭВ. – М., 1997. – 203 с.
25. Голованова, А. К. Опыт использования тканевой культуры для выделения возбудителя клещевого риккетсиоза Азии / А. К. Голованова, Г. Я. Ценева // Автореферат и краткие сообщения к итоговой конференции института им. Пастера с участием представителей санитарно-эпидемиологических станций северо-западных областей. – Л., 1968. – С. 153–155.
26. Гробов, О. Ф. К вопросу о природной очаговости анаплазмоза крупного рогатого скота / О. Ф. Гробов // Совещание по паразитарным проблемам республик Закавказья и Северного Кавказа. – Махачкала, 1961. – С. 39–41.
27. Громов, Б. В. Бактерии — внутриклеточные симбионты животных / Б. В. Громов // Успехи микробиологии. – М., 1978. – Т. 13. – С. 50–71.
28. Гроховская, И. М. Клещи *Ixodoidea* и *Dermacentroxenus sibiricus* (экспериментальные исследования) / И. М. Гроховская, В. Е. Сидоров // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1966. – № 6. – С. 104–125.
29. Гудима, О. С. Культивирование риккетсий Бернета в культурах клеточных штаммов и трипсинизированных тканей / О. С. Гудима // Риккетсиозы. – М., 1960 – С. 119.
30. Дзасохов, Г. С. Диагностика протозойных болезней животных / Г. С. Дзасохов. – М.: Сельхозгиз, 1959. – 245 с.
31. Дылько, Н. И. Кровепаразитозы и их возбудители у животных / Н. И. Дылько. – Минск: Ураджай, 1977. – 53 с.
32. Дьяконов, Л. П. Применение антибиотиков тетрациклинового ряда для лечения и профилактики анаплазмоза у животных / Л. П. Дьяконов, Н. А. Казаков: тр. ВИЭВ. – М., 1964. – Т. 31. – С. 43–45.
33. Емельянов, В. В. Эволюционное родство риккетсий и митохондрий эукариота / В. В. Емельянов // Вестник РАМН. – 2000. – № 3. – С. 3–7.
34. Заслухин, Д. Н. Кокцидиоз и анаплазмоз овец в Уральском округе / Д. Н. Заслухин // Вестник микробиологии. – 1930. – № 9. – С. 244–249.
35. Зелютков, Ю. Г. Использование РИФ в диагностике ротавирусных инфекций телят / Ю. Г. Зелютков // Современные проблемы иммунологии, ветеринарии и животноводства. – М., 1986. – С. 35–36.
36. Изучение протективных свойств различных антигенов анаплазм и определение возможности их использования в качестве биологических препаратов: отчёт о НИР (заключит.) / ВИЭВ; рук. Заблоцкий В. Т. – М., 2001. – 12 с. – № ГР 01200102150. – Инв. № 02200107354.

37. Изучение эпизоотологии анаплазмоза крупного рогатого скота и усовершенствование мер борьбы с ним в хозяйствах Калининградской области: отчёт о НИР (заключит.) / Калинингр. науч.-исслед. вет. ст. (НИВС); рук. Кремлёв Е. П. – Калининград, 1986. – 24 с. – № ГР 01810080295. – Инв. № 02860053738.

38. Игнатъев, А. Использование метода иммунофлюоресценции при диагностике ИРТ КРС / А. Игнатъев // Важнейшие исследования по изучению заболевания сельскохозяйственных животных: сб. науч. тр. – М., 1973. – С. 118–119.

39. Казаков Н. А. Анаплазмоз рогатого скота: диагностика, лечение, профилактика, меры борьбы / Н. А. Казаков // Ветинформ.– 2003.– № 1.– С. 6–8.

40. Казаков, Н. А. Изучение лечебного действия имидакарба дипропионата при анаплазмозе овец / Н. А. Казаков // Бюл. ВИЭВ. – М., 1977. – Вып. 31. – С. 38–40.

41. Казаков, Н. А. О патогенезе и лечении при анаплазмозе овец: автореф. дис. ... канд. вет. наук / Н. А. Казаков; Моск. вет. акад. – М., 1967. – 19 с.

42. Казаков, Н. А. Лечебная и стерилизующая эффективность ампицилина-тригидрата, левоветина (левомоцитина), левоциклина при анаплазмозе овец / Н. А. Казаков, И. С. Парфенов // Актуальные проблемы профилактики и борьбы с протозойными болезнями животных: тр. ВИЭВ.– М., 1982. – Т. 56. – С. 91–94.

43. Козлова, Н. П. Совершенствование методов диагностики и лечения при ассоциированном анаплазмозе КРС: автореф. дис. ... канд. вет. наук / Н. П. Козлова. – ИВМ ОмГАУ. – Омск, 2007. – 17 с.

44. Корниенко-Конева, З. П. Анаплазмоз крупного рогатого скота / З. П. Корниенко-Конева // Тр. ВИЭВ. – М., 1957. – Т. 21. – С. 112–122.

45. Коваленко, Я. Р. Микоплазмы и микоплазмозы животных / Я. Р. Коваленко, М. А. Сидоров // Бюл. ВИЭВ. – М., 1972. – Вып. 13.– С. 5–13.

46. Кокорин, И. Н. Выращивание риккетсий в культурах клеток / И. Н. Кокорин: рук-во по лабораторной диагностике вирусных и риккетсиозных болезней. – М., 1965 – С. 521.

47. Кокорин, И. Н. Размножение риккетсий в культурах клеток / И. Н. Кокорин, Н. Н. Рыбкина, М. Ю. Морозова // Вопросы инфекционной патологии и иммунологии. – М., 1963 – С. 108.

48. Красиков, А. П. Эритроцитарный бруцеллёзный R-диагностикум для РНГА. – Науч.-техн. бюлл / ИЭВСидВ, 1981. – Вып. 33. – С. 6–8.

49. Красиков, А. П. Изыскание новых методов серологической диагностики бруцеллёза КРС, сенсibilизированного изменёнными штаммами бруцелл: автореф. дис. ... канд. вет. наук / А. П. Красиков; ИЭВ СидВ СО ВАСХНИЛ. – Новосибирск, 1982. – 19 с.

50. Красиков, А. П. Профилактика, лечение и коррекция иммунной системы при микропаразитоценозах животных / А. П. Красиков, В. Э. Малошевич // Вестник ОмГАУ. – 2003. – № 4. – С. 101–104.
51. Кучерук, В. В. Учение о природной очаговости болезней человека на современном этапе / В. В. Кучерук // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1976. – Т. 45, вып. 3. – С. 262–269.
52. Кузякин, А. П. К вопросу о характере распространения наземных животных / А. П. Кузякин // Вопросы географии. – М., 1951. – С. 24–36.
53. Лобанова, Н. В. Микропаразитоценозы при ассоциативных инфекционных болезнях телят : дис. ... канд. вет. наук: 16.00.03 / Н. В. Лобанова. – Омск, 2004. – 143 с.
54. Малошевич, В. Э. Комплексная система мер борьбы и профилактики с ассоциативными инфекционными болезнями телят: дис. ... канд. вет. наук : 16.00.03 / В. Э. Малошевич. – Омск, 2005. – 148 с.
55. Мирутян Е. М. Эпизоотологические особенности анаплазмоза крупного рогатого скота / Е. М. Мирутян, А. А. Зацарян // Ветеринария. – 1986. – № 12. – С. 17–19.
56. Мордасов, П. М. Об анаплазмозах крупного рогатого скота в Белоруссии / П. М. Мордасов, П. А. Битюков // Тр. юбил. сессии отделения животноводства и ветеринарии АСХН Белорусской ССР, посвящ. 40-й годовщине Великой Октябрьской социалистической революции. – Минск, 1968. – С. 92.
57. Мотрич, Т. А. Терапия крупного рогатого скота при экспериментальном анаплазмозе / Мотрич Т. А.; Тр. Ленингр. вет. ин-т. – Ленинград, 1959. – Вып. 8. – С. 12–15.
58. Мерков, А. М. Санитарная статистика / А. М. Мерков, Л. Е. Поляков. – М.: Медицина, 1974. – 384 с.
59. Новикова, Н. Н. Схемы гипериммунизации кроликов для получения антимикоплазменных сывороток / Н. Н. Новикова // Проблемы инфекционной патологии в регионах Сибири, Дальнего Востока и Крайнего Севера: II науч. конф. с междунар. участием. – Новосибирск: ЦЭРИС, 2002. – С. 93.
60. Никольский, С. Н. К вопросу восприимчивости кроликов, кошек и собак к *A. ovis* / С. Н. Никольский, С. Н. Слипченко, Л. А. Шанина // Проблемы паразитологов: тр. VI науч. конф. паразитологов УССР. – Киев, 1969. – Ч. 2. – С. 35.
61. Об особенностях распространения возбудителя болезни Лайм и поведение заражённых ими клещей рода *Ixodes* / А. Н. Алексеев, Е. А. Арумова, Л. А. Буренкова [и др.] // Паразитология. – М., 1993. – Т. 27. – С. 389–398.
62. Овсянникова, Ю. П. Испытание имизола при анаплазмозе овец / Ю. П. Овсянникова // Диагностика, лечение, профилактика инфекционных и

паразитарных заболеваний сельскохозяйственных животных: сб. науч. тр. Ставроп. СХИ. – Ставрополь, 1988. – С. 14–15.

63. Овсянникова, Ю. П. Лечение и профилактика анаплазмоза овец сульфацинамом натрия / Ю. П. Овсянникова, В. Г. Прохорова // Диагностика, лечение, профилактика инфекционных и паразитарных заболеваний сельскохозяйственных животных: сб. науч. тр. Ставроп. СХИ. – Ставрополь, 1983. – С. 57.

64. Овсянникова, Ю. П. Морфологические и инвазионные свойства *Anaplasma ovis* / Ю. П. Овсянникова // Диагностика, лечение, профилактика инфекционных и паразитарных болезней сельскохозяйственных животных: сб. науч. тр. Ставроп. СХИ. – Ставрополь, 1990. – С. 15–17.

65. Овсянникова Ю. П. Сравнительная терапевтическая эффективность химиопрепаратов при анаплазмозе овец / Ю. П. Овсянникова // Диагностика, лечение, профилактика паразитарных заболеваний сельскохозяйственных животных: сб. науч. тр. Ставроп. СХИ. – Ставрополь, 1989. – С. 27.

66. Павловский, Е. Н. Микроорганизм, переносчик и внешняя среда в их соотношениях / Е. Н. Павловский // Зоол. журн. – 1947. – Т. 26. – С. 294–312.

67. Павловский, Е. Н. Природная очаговость трансмиссивных болезней / Е. Н. Павловский. – М.; Л., 1964. – 212 с.

68. Павловский, Е. Н. Руководство по паразитологии человека / Е. Н. Павловский. – М.; Л., 1948. – Т. 2. – С. 522–1022.

69. Паутов, В. Н. Биология риккетсий / В. Н. Паутов, А. И. Игумнов. – М., 1968. – С. 27.

70. Петешев, В. М. Анаплазмы и анаплазмоз овец / В. М. Петешев. – Алма-Ата: Наука, 1975. – 237 с.

71. Подолян, В. Я. Важнейшие этапы создания учения академика Е. Н. Павловского о природной очаговости болезней / В. Я. Подолян // Вестник АМН СССР. – 1980. – № 10. – С. 10–14.

72. Применение хлортетрацилина при анаплазмозе овец / Н. С. Акулова, Л. П. Дьяконов, А. Н. Куташова [и др.] // Ветеринария. – 1963. – № 9. – С. 40–44.

73. Рудаков, Н. В. Новые и возвращающиеся природно-очаговые инфекции и лабораторная верификация гранулоцитарного эрлихиоза в Алтайском крае / Н. В. Рудаков, А. С. Оберт, О. Б. Калмин, С. А. Рудакова, И. Е. Самойленко // Природные и антропогенные предпосылки состояния здоровья населения Сибири: матер. науч.-практ. конф. – Барнаул, 2001. – С. 47–50.

74. Рудаков, Н. В. Классификация и основные характеристики риккетсий / Н. В. Рудаков, С. Н. Шпынов, И. Е. Самойленко // Актуальные проблемы обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения : материалы IV межрегион. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 60-летию каф. эпидемиологии и 80-летию каф. микробиологии ОмГМА: сб. науч. тр. ОмГМА. – Омск, 2003. – С. 152–153.

75. Рашидов А. А. Эпизоотология анаплазмоза крупного рогатого скота в Дагестане и меры борьбы с ним: автореф. дис. ... канд. вет. наук: 030019 / А. А. Рашидов; Азербайдж. НИВИ. – Баку, 1975. – 15 с.

76. Рахимов, Т. Х. Исследования по анаплазмозу овец в Узбекистане (Уз. ССР): дис. ... канд. вет. наук / Т. Х. Рахимов. – М., 1965. – 131 с.

77. Рахимов, Т. Х. Применение имизола при анаплазмозе овец / Т. Х. Рахимов, Т. А. Фаткулина, К. Жортабаев // Гельминтозы и паразитарные болезни сельскохозяйственных животных в Узбекистане: тр. УзНИВИ. – Ташкент, 1984. – Вып. 36. – С. 60–62.

78. Рахимов, Т. Х. Клеточный иммунитет при экспериментальном анаплазмозе / Т. Х. Рахимов, Т. А. Фаткулина // Паразитарные болезни сельскохозяйственных животных в Узбекистане: тр. УзНИВИ. – Ташкент, 1983. – Т. 24. – С. 54–59.

79. Рахимов, Т. Х. Испытание некоторых антибиотиков при анаплазмозе крупного рогатого скота / Т. Х. Рахимов, Т. Н. Шевченко, М. Т. Турсунов // Болезни сельскохозяйственных животных: тр. УзНИВИ. – Ташкент, 1980. – Т. 30. Ч. 1. – С. 75–78.

80. Расулов, И. Х. Эффективность различных препаратов при анаплазмозе крупного рогатого скота: тез. докл. науч. конф. / И. Х. Расулов, У. Б. Базаров. – Самарканд, 1975. – С. 34–36.

81. Разработка и освоение производства наборов компонентов для иммуноферментной диагностики анаплазмоза рогатого скота, пироплазмидозов лошадей: отчёт о НИР (промежут.) / ВИЭВ; рук. Заблоцкий В. Т. – М., 1998. – 9 с. – № ГР 01980008894. – Инв. № 02980005464.

82. Ржегачек, И. Иксодовые клещи и риккетсии / И. Ржегачек, А. Б. Дайтер // Риккетсиозы: сб. науч. тр. ЛНИИЭМ им. Пастера. – Л., 1989. – Т. 66. – С. 68–88.

83. Рыбкина, Н. Н. Культивирование риккетсий в трипсинизированных клетках почечного эпителия морских свинок / Н. Н. Рыбкина // Вопросы вирусологии. – 1961. – № 4. – С. 476–479.

84. Салимов, Х. С. Дифференциально-диагностическое значение гемограммы при анаплазмозе и лейкозах крупного рогатого скота / Х. С. Салимов, А. Гафуров // Паразитарные болезни сельскохозяйственных животных в Узбекистане: тр. УзНИВИ. – Ташкент, 1983. – Т. 34. – С. 60–62.

85. Серологическая диагностика анаплазмоза рогатого скота / Х. Георгиу, Н. А. Казаков, С. Д. Родин [и др.] // Проблемы ветеринарной иммунологии: тр. ВИЭВ. – М., 1983. – Т. 57. – С. 77–81.

86. Сидорчук, А. А. Анаплазмоз крупного рогатого скота и овец / А. А. Сидорчук, А. А. Глушков // Ветеринария с.-х. животных: науч.-практ. ежемес. журн. – 2005. – № 3. – С. 22–27.

87. Сидельников, Ю. Н. Клинико-лабораторная характеристика гранулоцитарного эрлихиоза человека на юге Дальнего Востока России /

Ю. Н. Сидельников, О. Ю. Медяников, Л. И. Иванов, Н. И. Здановская // Инфекции человека в начале XXI века: эволюция, новые проблемы, перспективы контроля: матер. науч. конф. с междунар. участием, посвящ. 90-летию Института эпидемиологии и микробиологии НЦ МЭ ВСНЦ СО РАМН. – Иркутск, 2002. – № 4. – Т. 2. – С. 28–31.

88. Сомов, Г. П. Получение корпускулярного антигена из *D. Sibiricus* на культуре ткани почек эмбриона человека / Г. П. Сомов // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1964. – № 2. – С. 3–123.

89. Степанова, Н. И. ВИЭВ-ВАСНХНИЛ / Н. И. Степанова // Сборник рефератов. – 1960. – № 1. – С. 55.

90. Степанова, Н. И. Иммунитет к некоторым протозойным заболеваниям / Н. И. Степанова, Б. А. Тимофеев // Обзорная информация. – М., 1972. – С. 9.

91. Степанова, Н. И. Иммунологическое состояние организма животных при пироплазмидозах / Н. И. Степанова // Успехи протозоологии. – Л., 1973. – С. 299–300.

92. Степанова, Н. И. Исследования по анаплазмозам животных: тр. ВИЭВ. / Н. И. Степанова, Л. П. Дьяконов, Н. А. Казаков. – М., 1968. – Т. 36. – С. 128–129.

93. Степанова, Н. И. Методы приготовления антигенов для диагностики кровепаразитарных болезней и изучения иммунологического состояния организма больных и переболевших животных: тр. ВИЭВ / Н. И. Степанова. – М., 1970. – Т. 38. – С. 90–95.

94. Степанова, Н. И. Протозойные болезни сельскохозяйственных животных / Н. И. Степанова, Н. А. Казаков, В. Т. Заблоцкий. – М.: Колос, 1982. – С. 347–348.

95. Степанова, Н. И. РСК при анаплазмозе крупного рогатого скота / Н. И. Степанова // Ветеринария. – 1961. – № 4. – С. 45–48.

96. Стрельчик, В. А. Эпизоотологические и клинико-морфологические особенности анаплазмоза крупного рогатого скота в Омской области / В. А. Стрельчик, Ю. М. Гичев, В. И. Зайнчковский // Матер. Всерос. науч.-метод. конф. патологоанатомов ветеринарной медицины: сб. науч. тр. ИВМ ОмГАУ. – Омск, 2000. – С. 142–145.

97. Сулейманов, С. А. Смешанные инвазии овец (паразитоценозы) / С. А. Сулейманов // Актуальные проблемы профилактики и борьбы с протозойными болезнями животных: тр. ВИЭВ. – М., 1982. – Т. 56. – С. 63–73.

98. Тагильцев, А. А. Изучение членистоногих убежищного комплекса в природных очагах трансмиссивных вирусных инфекций : рук-во по работе в полевых и лаб. условиях / А. А. Тагильцев, Л. Н. Тарасевич, И. И. Богданов [и др.]. – Томск, 1990. – С. 61–72.

99. Теплова, Е. И. Вспышка анаплазмоза крупного рогатого скота в стойловый период / Е. И. Теплова, Л. К. Лиховоз // Ветеринария. – 1984. – № 12. – С. 40–41.

100. Теплова, Е. И. К вопросу о клинической картине анаплазмоза крупного рогатого скота / Е. И. Теплова // Диагностика, лечение, профилактика инфекционных и паразитарных болезней сельскохозяйственных животных: сб. науч. тр. Ставроп. СХИ. – Ставрополь, 1990. – С. 12–15.

101. Теплова, Е. И. Проявление анаплазмоза крупного рогатого скота в различных географических зонах / Е. И. Теплова, А. И. Русскова, Л. К. Лиховоз [и др.] // Диагностика, лечение, профилактика инфекционных и паразитарных заболеваний сельскохозяйственных животных: сб. науч. тр. СХИ. – Ставрополь, 1983. – С. 55.

102. Теплова, Е. И. Терапевтический эффект сульфамидазина-натрия при анаплазмозе крупного рогатого скота / Е. И. Теплова // Актуальные проблемы профилактики и борьбы с протозойными болезнями животных: тр. ВИЭВ. – М., 1982. – Т. 56. – С. 105–108.

103. Тимофеев, Б. А. Стерилизующие свойства диамида при некоторых пироплазмидозах сельскохозяйственных животных: тез. докл. науч. конф. / Б. А. Тимофеев, С. З. Дубовый, А. В. Хвальковская. – Самарканд, 1975. – С. 41.

104. Фаткулина, Т. А. Иммунные розеткообразующие лимфоциты в оценке активности анаплазмоза мелкого рогатого скота / Т. А. Фаткулина, Т. Х. Рахимов // Болезни сельскохозяйственных животных: тр. УзНИВИ. – Ташкент, 1981. – Т. 30. Ч. 2. – С. 95–98.

105. Шегидевич, Э. А. Влияние анаплазмоза на развитие и течение энзоотической пневмонии ягнят / Э. А. Шегидевич, Л. Ю. Сёмина, А. В. Ряснова // Актуальные проблемы профилактики и борьбы с протозойными болезнями животных: тр. ВИЭВ. – М., 1982. – Т. – С. 98–105.

106. Шпынов, С. Н. Выявление эрлихий в клещах *Ixodes persulcatus* на Урале и в Азиатской части России / С. Н. Шпынов, Н. В. Рудаков, Р. Е. Fourrier, D. Raoult // Инфекции человека в начале XXI века: эволюция, новые проблемы, перспективы контроля: матер. науч. конф. с междунар. участием, посвящ. 90-летию Института эпидемиологии и микробиологии НЦ МЭ ВСНЦ СО РАМН. – Иркутск, 2002. – № 4. – Т. 2. – С. 139–141.

107. Шмунк, Э. К. Лечение животных, больных тейлериозом и анаплазмозом (смешанная инвазия) / Э. К. Шмунк, Т. Н. Шевченко // Паразитарные болезни сельскохозяйственных животных в Узбекистане: тр. УзНИВИ. – Ташкент, 1983. – Т. 34. – С. 75–76.

108. Шмунк, Э. К. Экономическая эффективность методов лечения анаплазмоза крупного рогатого скота / Э. К. Шмунк, Т. Н. Шевченко, В. А. Середкин [и др.] // Паразитарные болезни сельскохозяйственных животных в Узбекистане: тр. УзНИВИ. – Ташкент, 1983. – Т. 34. – С. 70–74.

109. Шмунк, Э. К. Эффективность некоторых препаратов при анаплазмозе крупного рогатого скота / Э. К. Шмунк, Т. Н. Шевченко, Н. Шеркулов // *Болезни сельскохозяйственных животных*: тр. УзНИВИ. – Ташкент, 1980. – Т. 30. Ч. 1. – С. 127–129.
110. Эпизоотологические и иммунологические исследования анаплазмоза у жвачных животных: отчёт о НИР (заключит.) / НРБ // *Сборник рефератов НИР и ОКР. Сер. 25. Сельское и лесное хозяйство*. – М., 1991. – № 4. – 123 с.
111. Ятусевич, А. И. Анаплазмоз крупного рогатого скота / А. И. Ятусевич, Н. Н. Андросик // *Малоизученные инфекционные и инвазионные болезни домашних животных*. – Минск: Ураджай, 2001. – С. 197–202.
112. Anthony, D. W. In “Proceedings, 4th Natl. Anaplas. Res. Conf.” / D. W. Anthony, T. O. Roby. – Reno, Nevada, 1962. – P. 78–81.
113. Bidwell, G. F. Реакция энзиммеченых антител (РЭМА) / G. F. Bidwell // *Бюл. ВОЗ*. – М., 1977. – Т. 54, № 2. – С. 683–694.
114. Belongia, E. A. Epidemiology and impact of coinfections acquired from Ixodes ticks / E. A. Belongia // *Vector Borne Zoonotic Dis.* – 2002, winter; 2(4): 265–73.
115. Blouin, E. F. Applications of a cell culture system for studying the interaction of Anaplasma marginale with tick cells / E. F. Blouin, J. de la Fuente, J.C. Garcia-Garcia, J. T. Saliki, J. R. Sauer, K. M. Kocan // *Anim Health Res Rev.* – 2002, Dec. – 3(2) : 57–68.
116. Blouin, E. F. Evaluation of Anaplasma marginale from tick cell culture as an immunogen for cattle / E. F. Blouin, J. T. Saliki, K. M. Kocan, S. J. Rodgers // *Ann N Y Acad Sci.* – 1998, Jun. 29; 849 : 253–8.
117. Bourtzis, K. The many faces of Wolbachia / K. Bourtzis, H. R. Braig // *Rickettsiae and Rickettsial Diseases at the Turn of the Third Millenium*. – Marsielle, 1999. – P. 199–219.
118. Burgdorfer, W. Hemolymph test. A technique for detection of rickettsiae in ticks / W. Burgdorfer // *Am. J. Trop. Med. and Hyg.* – 1970. – Vol. 19. – P. 1010–1014.
119. Burgdorfer W. Nonpathogenic rickettsiae in Dermacentor andersoni: limiting factor for the distribution of Rickettsia rickettsii / W. Burgdorfer, S. F. Hayes, A. J. Mavros // *Rickettsiae and Rickettsial diseases*. – New York – London – Toronto – Sydney – San-Francisco, 1981. – P. 585–594.
120. De Kock, G. A. Splenectomy in domesticated animals and its sequellae with special referens to Anaplasmosis in shep: 11 & 12 reports of the director of veterin, educat. & research / G. A. De Kock, J. Quinlan. – Ptl., 1926. –S. 367.
121. De la Fuente J. Infection of tick cells and bovine erythrocytes with one genotype of the intracellular ehrlichia Anaplasma marginale excludes infection with other genotypes / J. De la Fuente, J. C. Garcia-Garcia, E. F Blouin., J. T. Saliki, K. M. Kocan // *Clin Diagn Lab Immunol.* – 2002, May. – 9 (3): 658–68.

122. De la Fuente, J. Vaccination of cattle with *Anaplasma marginale* derived from tick cell culture and bovine erythrocytes followed by challenge-exposure with infected ticks / J. De la Fuente, K. M. Kocan, J. C. Garcia-Garcia, E. F. Blouin, P. L. Claypool, J. T. Saliki // *Vet Microbiol.* – 2002, Oct 22; 89 (2–3): 239–251.
123. Dumler, J. S. Tick — born ehrlichiosis / J. S. Dumler, D. H. Walker // *The Lancet Infectious Diseases.* – 2001. – P. 21–28.
124. Euseiy, K. Eipedimentation des proprietes antipiroplasmiques de l'imidocarb sur *Babesia stielergens* et *Babesia canis*, agents de piroplasmose biline et canene en Europe / K. Euseiy // *Bull. Soc. Se. Veter. Med. Comp. Lyen.* – 1981. – V. 8, № 3. – P. 129–134.
125. Eremeeva, M. E. Differentiation among the spotted fever group rickettsiae species by analysis of restriction fragment length polymorphism of PCR – amplified DNA / M. E. Eremeeva, X. J. Yu, D. Raoult // *J. Clin. Microbiol.* – 1994. – Vol. 32. – P. 803–810.
126. Friedhoff, K. T. Interaction between parasites and tick vector / K. T. Friedhoff // *Intern. J. Parasitol.* – 1990. – Vol. 20. – P. 525–535.
127. Gramman, C. C. The reactivation phenomenon of *Rickettsia rickettsii* involves the expression of virulence factor proteins / C. C. Gramman., G. A. McDonald. // 11-th Sesqui-Annual Meeting, American Society for Rickettsiology and Rickettsial Diseases. – St. Simons Island, Georgia, USA, 1994. – P. 355–367.
128. Hildebrandt, A. Prevalence of four species of *Borrelia burgdorferi sensu lato* and coinfection with *Anaplasma phagocytophila* in *Ixodes ricinus* ticks in central Germany / A. Hildebrandt, K. H. Schmidt, B. Wilske, W. Dorn, E. Straube, V. Fingerle // *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* – 2003, Jun. – N. 22 (6) : 364–7.
129. Hayes, S. F. Reactivation of *Rickettsia rickettsii* in *Dermacentor andersoni* ticks: an ultrastructural analysis / S. F. Hayes, W. Burgdorfer // *Inf. Immunity.* – 1982. – Vol. 37. – P. 779–785.
130. Holland, L. E. Pyruvate metabolism by *Anaplasma marginale* in cell-free culture / L. E Holland, D. R. Caldwell // *Can J Microbiol.* – 1999, Feb; 45(2): 185–9.
131. Kuttler, K. Comparison of complement fixation and capillary tube agglutination tests for detection of bovine anaplasmosis / K. Kuttler // *I. Am. Vet. Med. Ass.* – 1963. – V. 143. N. 7.
132. Kocan, K. M. Adaptations of the tick-borne pathogen, *Anaplasma marginale*, for survival in cattle and ticks / K. M. Kocan, J. de la Fuente, E. F. Blouin, J. C. Garcia-Garcia // *Exp Appl Acarol.* – 2002; 28 (1–4): 9–25.
133. Kocan, K. M. Antigens and alternatives for control of *Anaplasma marginale* infection in cattle / K. M. Kocan, J. de la Fuente, A. A. Guglielmone, R. D. Melendez // *Clin Microbiol Rev.* – 2003, Oct; 16 (4) : 698–712.
134. Kocan, K. M. Immunization of cattle with *Anaplasma marginale* derived from tick cell culture / K. M. Kocan, T. Halbur, E. F. Blouin, V. Onet, J. de la Fuente, J. C. Garcia-Garcia, J. T. Saliki // *Vet Parasitol.* – 2001, Dec 3; 102 (1–2): 151–61.

135. Kocan, K. M., Hair J. A., Ewing S. A. and Stratton L. G. Am. J. Vet. Res. – 1981. – N 42. – P. 15–18.
136. Kocan, K. M. Morphology, Physiology and Behavioral Ecology of Ticks / K. M. Kocan, Sauer J. R., Hair J. A. [etc.]. – Chichester, England, Horwood, Inc., 1986. – P. 472–505.
137. Klieneberger-Nobel, E. Pleuropneumonia-like organisms in genital infections / E. Klieneberger-Nobel // Brit. Med. J. – 1959. – N 1. – S. 19.
138. Kiseleva, V. I. Detection of Chlamydia trachomatis and Ureaplasma urealyticum by hybridization analysis using DNA-Pt (dien)Cl)Cl-probes and PCR / V. I. Kiseleva, S. N. Shcherbo, S. P. Zaitseva, A. M. Poverennyi // Biokhimiia. – 1995. – V. 60, May. – S. 783–790.
139. Levin, B. R. Evolution parasites and hosts / B. R. Levin // Population biology of infectious diseases / Ed. Anderson R. M., May R. M. – Berlin, 1982. – P. 213–244.
140. Levin, M. L. Interference between the agents of Lyme disease and human granulocytic ehrlichiosis in a natural reservoir host / M. L. Levin, D. Fish // Vector Borne Zoonotic Dis. – 2001, summer; 1(2): 139–48.
141. Leal, M. Identification and characterization of corpuscular, soluble and secreted antigens of a Venezuelan isolate of Anaplasma marginale / M. Leal, A. Noda, A. Reyna-Bello, B. Casas, E. Precigout, P. M. Aso, A. Gorenflot, M. I. Gonzatti // Vet Parasitol. – 2000, Dec. 20; 94 (1–2): 1–15. Erratum in: Vet. Parasitol. – 2001, Apr. 19; 96(4): 329.
142. Lee, K. N. Characterization of the ftsZ gene from Ehrlichia chaffeensis, Anaplasma phagocytophilum, and Rickettsia rickettsii, and use as a differential PCR target / K. N. Lee, I. Padmalayam, B. Baumstark, S. L. Baker, R. F. Massung // DNA Cell Biol. – 2003. Mar. ; 22 (3) : 179–86.
143. Mather, T. N. Borrelia burgdorferi and Babesia microti: efficiency of transmission from reservoirs to vector ticks (Ixodes dammini) / T. N. Mather, S. R. Telford, S. I. Moore, A. Spielman // Exper. Parasitol. – 1990. – Vol. 70. – P. 55–61.
144. Me Hardy H, Berger I., Simbson H. АНГЛ. ПАТЕНТ. КЛ. А 5 В/А 61 К 27/00, С 07 49/34/. 1974, № 1358979, 11. ОВ 71/, 1974.
145. Morel, P. S. Modalites drempleide I' imidocarbe dans le troinecept et la prophylaxie des babesioses et des anaplasmoses / P. S. Morel // Bull acad. Veter. Fr., 1981. – 54. 21 – P. 205–212.
146. Miller, James G. The Prevention and Treatment of Anaplasmosis, Ann / James G. Miller. – N J. Acad. Sci., 1956. – t. 64. – P. 103–107.
147. Mazzola V. Electron microscope studies of Anaplasma marginale in an Aedes albopictus culture system / V. Mazzola, T. E. Amerault, K. Roby // Am J Vet Res. – 1979, Dec. ; 40 (12) : 1812–5.
148. Mazzola, V. Anaplasma marginale in bovine erythrocyte cultures / V. Mazzola, K. L. Kuttler // Am J Vet Res. – 1980. Dec; 41 (12): 2087–8.

149. Munderloh, U. G. Establishment of the tick (Acari : Ixodidae) — borne cattle pathogen *Anaplasma marginale* (Rickettsiales : Anaplasmataceae) in tick cell culture / U. G. Munderloh, E. F. Blouin, K. M. Kocan, N. L. Ge, W. L. Edwards, T. J. Kurtti // *Med Entomol.* – 1996. Jul; 33 (4): 656–64.
150. Ormsbee, R. A. Rickettsiae as organisms / R. A. Ormsbee // *Rickettsiae and Rickettsial Diseases* / Ed.S. Kazar.– Bratislava, 1985.– P. 15–37.
151. Price, K. Preparation of an improved antigen for Anaplasmosis complement — Fixation tests / K. Price, L. Poelma, J. Faber. *Amer. J., Vet. Res.*, 13, 1952.
152. Pearson, C. C. A study of Tetracycline Desage en cattle which are Anaplasmosis Carries / C. C. Pearson, W. E. Brook, I. O. Kliewer // *d. Amer. veterin. Med. Assoc.* – 1957. – V. 130, № 7. – P. 290–298.
153. Philip, R. N. Serotypes of spotted fever group rickettsiae from *Dermacentor andersoni* ticks in Western Montana / R. N. Philip, E. A. Casper // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* – 1981. – Vol. 30. – P. 230–238.
154. Ristic, M. Capillary tube — agglutination test for anaplasmosis / M. Ristic // *I. Am. Vet. Med. Ass.* – 1962. – V. 141, № 5.
155. Ristic, M. Infectious blood diseases of man and animals / M. Ristic // *I. Am. Vet. Med. Ass.* – 1960. – Vol. 2. – P. 5–8.
156. Ristic, M. In “Infectious Blood Diseases of Man and Animals.” / D. Weinman, M. Ristic, [etc.] – Academic Press, Inc., New York, 1968. – P. 478–542.
157. Rikihisa, Y. Rickettsiae and rickettsial diseases / J. Kazar, R. Toman. – Bratislava, 1996. – C. 15–19.
158. Rikihisa, Y. Mechanisms to create a safe haven by members of the family Anaplasmataceae / Y. Rikihisa // *Ann N Y Acad Sci.* – 2003. Jun.; 990: 548–55.
159. Rodgers, S. J. The development of a semi-automated latex agglutination test for the detection of antibodies to *Anaplasma marginale* using a cell culture-derived antigen / J. T. Saliki, E. F. Blouin, K. M. Kocan // *Ann N Y Acad Sci.* – 1998. Jun. 29; 849: 282–92.
160. Rydkina, E. New Rickettsiae in ticks collected in territories of the former Soviet Union / E. Rydkina, V. Roux, N. Fetisova, N. Rudakov [et al.] // *Emerging Inf. Dis.* – 1999. – V. 5, N. 6. – P. 811–814.
161. Roux, V. Phylogenetic analysis and taxonomic relationships among the genus Rickettsiae and Rickettsial Diseases at the Turn of the Third Millenium / V. Roux and D. Raoult. – Marsielle, 1999. – P. 52–66.
162. Roux, V. Phylogenetic analysis of the genus Rickettsia by 16S rDNA sequencing / V. Roux, D. Raoult // *Res. Microbiol.* – 1995. – Vol. 146. – P. 385–396.
163. Rehacek, J. Haemocyto-test, an easy, quick and reliable mrrthod for the detection of rickettsiae in ticks / J. Rehacek, R. Brezina, E. Kovacova, M. Zupancicova // *Acta vird.* – 1971 a. – Vol. 15. – P. 237–240.

164. Rehacek, J. Demonstration of rickettsiae in tick haemocytes / J. Rehacek, R. Brezina, M. Zupancicova, E. Kovacova // *J. hyg., epidemiol., microbiol., immunol.* – 1971 b. – Vol. 15. – P. 424–434.
165. Regnery, R. L. Genotypic identification of rickettsiae and estimation of intraspecies sequence divergence for portions of two rickettsial genes / R. L. Regnery, C. L. Spruill, B. D. Plikaytis // *J. Bacteriol.* – 1991. – Vol. 173. – P. 1576–1589.
166. Rosicky, B. Arthropods and natural foci of human and animal diseases / B. Rosicky // *Тр. XIII Междунар. энтомолог. конгресса.* – М.; Л., 1972. – Т. 3. – С. 237–238.
167. Splitter, E. I. Anaplasmosis in sheep in the United States (Manhattan Kansas) / E. I. Splitter, M. I. Twiehaus, E. R. Castro // *J. Amer. Vet. Med. Assoc.* – 1955. – Vol. 127, N. 42. – P. 244–245.
168. Schindler, R. Vergleichende Untersuchungen mit *Anaplasma marginale* and *Anaplasma central* / R. Schindler // *I. Tropenmed. Parasitol.* – 1966. – B. 17. – S. 337–360.
169. Schaechter, M. Study on the growth of Rickettsiae. II Morphologic observations of living Rickettsiae in tissue culture cells / M. Schaechter, F. M. Bozeman, J. E. Smadel // *Virologi*, 1957. – P. 3; 160.
170. Stochard, D. R. Evolutionary analysis of the spotted fever and typhus groups of Rickettsia using 16S rRNA gene sequences / D. R. Stochard, P. A. Fuerst // *System. Appl. Microbiol.* – 1995. – Vol. 18. – P. 52–61.
171. Shelford, V. E. Animal communities of the San Juan Channel and adjacent areas / V. E. Shelford and E. D. Towler // *Publ. Puget. Sound Biol. Station.* – 1925. – Vol. 5.
172. Simpson, C. Diagnosis of the carrier state of anaplasmosis under experimental conditions / C. Simpson and P. Sanders // *Vet. Med.* – 1953. 48, 5
173. Saliki, J. T. Use of tick cell culture-derived *Anaplasma marginale* antigen in a competitive ELISA for serodiagnosis of anaplasmosis / J. T. Saliki, E. F. Blouin, S. J. Rodgers, K. M. Kocan // *Ann N Y Acad Sci.* – 1998. Jun 29; 849: 273–81.
174. Samish, M., Cultivation of *Anaplasma marginale* from cattle in a Dermacentor cell line / M. Samish, E. Pipano, B. Hana // *Am J Vet Res.* – 1988. Feb; 49(2) : 254–6.
175. Tarasevich, I. V. Studies of the antigenic of the newly isolated strains of Rickettsiae and their relation to spotted fever group / I. V. Tarasevich, V. A. Makarova, L. F. Plotnikova // *Folia microbiol.* – 1976. – Vol. 21. – № 6. – P. 503–504.
176. Waghela, S. D. In vitro cultivation of *Anaplasma marginale* in bovine erythrocytes co-cultured with endothelial cells / G. G. Wagner, J. R. DeLoach, R. E. Droleskey, D. Cruz, S. D. Waghela // *Vet Parasitol.* – 1997. Dec. 15; 73 (1–2): 43–52.

177. Walker, A. R. Parasitic adaptations in the transmission of theileria by ticks: A review / A. R. Walker // Trop. Animal Health. Prod. – 1990. – Vol. 22. – P. 23–33.

178. Wayne, L. G. Report of the ad hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematic / L. G. Wayne, D. J. Brenner, R. R. Colwell [et al.] // Inf. J. Syst. Bacteriol. – 1987. – Vol. 37. – P. 463–464.

179. Woese, C. R. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eukaria / C. R. Woese, O. Kandler, M. Wheelis // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1990. – V. 87. – P. 4576–4579.

180. Weiss E. The family rickettsiaceae: human pathogens / E. Weiss // The Procariotes. A handbook on Habitats, Isolation and Identification of Bacteria / Mortimer R. et al. (Ed.). – Berlin – New York, 1981. – Vol. 2. – P. 2137–2160.

181. Weiss, E. Rickettsiales Gieszczkiewicz 1939, 25/ E. Weiss, J. W. Moulder, I. Order // Bergey's Manual of Systematic Bacteriology / N. R. Kreig, J. G. Holt [etc.]. – Baltimore: Williams & Wilkins, 1984. – P. 687–701.

182. Weisburg, W. G. Phylogenetic diversity of rickettsiae / W. G. Weisburg, M. E. Dobson, J. E. Samuel, G. A. Dach, L. P. Malavia, O. Baca, L. Mandelco, J. E. Sechrest, E. Weiss, C. R. Woese // J. Bacteriol, 1989.– V. 171.– P. 4202–4206.

К главе 3

1. Айдинов, Г. Т. Клещевые инфекции в Ростовской области / Г. Т. Айдинов // Арбовирусы и арбовирусные инфекции: матер. расш. пленума проблем, комис. «Арбовирусы» и науч.-практ. конф. – Астрахань, 17–20 окт. 2006 г. – М.; Тула, 2007. – С. 144–147.

2. Алифанов, В. И. Материалы к изучению лихорадки Ку в Омской области / В. И. Алифанов, Ю. В. Веселов, Н. В. Вошакина // Тр. Омского НИИ-ЭМГ. – Омск, 1958. – № 5. – С. 73–77.

3. Амосенкова, Н. И. Получение и испытание флуоресцирующего корпускулярного антигена из риккетсий Бернета / Н. И. Амосенкова, Т. А. Николаева // Тр. ин-та эпидемиол. и микробиол. им. Пастера. – 1965. – Т. 29, С. 206–211.

4. Балашов, Ю. С. Значение идей В. Н. Беклемишева о паразитарных системах и жизненных схемах видов в развитии паразитологии / Ю. С. Балашов // Паразитология. – М. – 1991. – Т. 25. – С. 185–195.

5. Балашов, Ю. С. Кровососущие членистоногие и риккетсии / Ю. С. Балашов, А. Б. Дайтер. – Л.: Наука, Ленинград. отд., 1973. – 250 с.

6. Барташевич, Е. Н. Ку-лихорадка// Клинич. медицина. – 1957. – Т. 2. – С. 137–141.

7. Богомолов, Б. П. Клиника и диагностика Ку-лихорадки / Б. П. Богомолов, З. П. Вострикова // Актуальные вопросы клинической и экспериментальной медицины. – М., 1980. – С. 113–114.

8. Воронцова, Т. А. Серологический метод в изучении эпидемического процесса при Ку-риккетсиозе : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Т. А. Воронцова. – М., 1968. – 21 с.

9. Гафарова, М. Т. Коксиеллез (лихорадка Ку) — медико-ветеринарная проблема / М. Т. Гафарова // Проблемы и перспективы паразитологии: матер. 5-й межсъездовской конф. паразитологов Украины. – Харьков–Луганск, 1997. – С. 49–50.

10. Гачечиладзе, Н. В. Эпизоотология Ку-риккетсиоза крупного рогатого скота в Грузинской ССР : автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук / Н. В. Гачечиладзе. – Баку, 1972. – 22 с.

11. Гильмутдинов, Р. Я. Динамика морфофункциональных изменений в организме животных, иммунизированных против лихорадки Ку / Р. Я. Гильмутдинов, Р. Х. Юсупов // Вопросы инфекционной патологии животных: Межвуз. сб. науч. тр. – Казань, 1994. – С. 45–47.

12. Гильмутдинов, Р. Я. Электрофоретическая подвижность и ультраструктура иммунокомпетентных клеток при Лихорадке Ку / Р. Я. Гильмутдинов, В. А. Можожкин // Актуальные вопросы эпидемиологии, диагностики, лечения и профилактики риккетсиозов: тез. докл. IV Всесоюзн. конф. – М., 1989. – С. 15–17.

13. Горбачев, Е. Н. Выявление антител к антигенам коксиелл Бернета в иммуноферментном анализе / Е. Н. Горбачев, Н. К. Токаревич // Риккетсиозы : сб. научн. тр. ин-та им. Пастера. – Л., 1989. – Т. 66, С. 127–136.

14. Горбачев, Е. Н. Обнаружение антигенов коксиелл Бернета иммуноферментным методом / Е. Н. Горбачев, Н. К. Токаревич // Твердофазный иммуноферментный анализ: тр. ин-та им. Пастера.– Л., 1988.– Т. 64.– С. 158–161.

15. Госманов, Р. Г. Аллергическая и серологическая диагностика инфекционных болезней животных (ящур, болезнь Ауески и лихорадка Ку) : дис. ... д-ра ветеринар. наук : 16.00.03 / Р. Г. Госманов. – Казань, 1986.

16. Госманов, Р. Г. Наставление по постановке реакции длительного связывания комплемента / Р. Г. Госманов, Р. Х. Юсупов. – М., 1984. – 26 с.

17. Госманов, Р. Г. Результаты испытаний специфической активности антигенов и сывороток при Ку-лихорадке животных в РДСК / Р. Г. Госманов, Р. Х. Юсупов // Ветеринария. – 1985. – № 6. – С. 67–68.

18. Госманов, Р. Г. Совершенствование диагностики лихорадки Ку сельскохозяйственных животных // Р. Г. Госманов, Р. Х. Юсупов // Диагностика, профилактика и методы борьбы с туберкулезом животных: научн. тр. КГВИ. – Казань, 1985. – С. 57–65.

18. Гранитов, В. М. К вопросу о диагностике лихорадки Ку / В. М. Гранитов, М. А. Никулина, Э. Д. Мазырко, Е. Ю. Николаева // Проблемы инфекционной патологии в регионах Сибири, Дальнего Востока и Крайнего Севера : тез. докл. 2-й науч. конф. – Новосибирск, 2002. – С. 112–113.
19. Грачева, Л. И. Совершенствование технологии изготовления иммуноферментной тест системы для выявления в сыворотке крови людей антител к *S. Burnetii* / Л. И. Грачева, Н. К. Токаревич, И. А. Бачинин, В. Н. Вербов // Идеи Пастера в борьбе с инфекциями: матер. конф. – СПб., 2003. – С. 131.
20. Громов, И. М. Млекопитающие фауны России и заповедных территорий: зайцеобразные и грызуны / И. М. Громов, М. А. Ербаева. – СПб, 1995. – 522 с.
21. Гудима, О. С. Внутриклеточное развитие риккетсий Бернета и Провачека. О. С. Гудима, В. Н. Милютин / Вопр. инфекц. патол. и иммунол. – М., 1968. – Т. 4. – С. 179–184.
22. Гудима, О. С. Культивирование риккетсий Бернета в культурах клеточных штаммов и трипсинизированных тканей / О. С. Гудима // Риккетсиозы. – М., 1961. – С. 119–129.
23. Гулевская, С. А. Материалы по субмикроскопическому строению и морфогенезу риккетсий Провачека и Бернета : автореф. дис. ... канд. мед. наук / С. А. Гулевская. – М., 1970. – 28 с.
24. Дайтер, А. Б. Влияние организма клещей *Nyalomma asiaticum* и *Ornithodoros papillipes* Vir. на биологическую активность риккетсий Бернета / А. Б. Дайтер, М. И. Громова // Тр. ин-та им. Пастера. – Л., 1970. – Т. 37. – С. 72–83.
25. Дайтер, А. Б. Проблема Ку-риккетсиональной инфекции с эколого-эпидемиологических позиций / А. Б. Дайтер // Тр. ин-та им. Пастера. – Л., 1980. – Т. 55. – С. 10–17.
26. Дайтер, А. Б. Эколого-эпидемиологические аспекты лихорадки Ку / А. Б. Дайтер, Я. Р. Вирин // Вопросы риккетсиологии: тр. ин-та НИИ эпид. и микробиол. им. Н. Ф. Гамалеи. – М., 1978. – С. 33–34.
27. Дайтер, А. Б. Эпидемиологические аспекты экологии риккетсий Бернета : автореф. дис. ... д-ра биол. наук / А. Б. Дайтер. – М., 1978. – 29 с.
28. Дайтер, А. Б. Эпидемиология лихорадки Ку / А. Б. Дайтер, И. В. Тарасевич // Риккетсиозы: тр. ин-та им. Пастера. – Л., 1989. – С. 5–36.
29. Джалилов, К. Д. Заболеваемость лихорадкой Ку в Узбекской ССР / К. Д. Джалилов // Современные проблемы зоонозных инфекций. – М., 1981. – С. 77–79.
30. Джупина, С. И. Эпизоотологический процесс и его контроль при факторных инфекционных болезнях / С. И. Джупина. – М., 2002. – 93 с.
31. Друганова, Л. П. Особенности эпидемиологии и эпизоотологии лихорадки Ку на территории Воронежской области / Л. П. Друганова // Актуаль-

ные проблемы ветеринарной хирургии: матер. междунар. науч.-практ. конф. – Воронеж, 1999. – С. 136–139.

32. Евдошенко, В. Г. Экспериментальное изучение возможных путей заражения сусликов и выделения ими во внешнюю среду возбудителя Ку-риккетсиоза / В. Г. Евдошенко, Э. А. Кичатов, Т. Л. Прорешная // *Вопр. вирусол.* – 1961. – № 3. – С. 353–356.

33. Евстигнеева, А. С. Выживаемость *Coxiella Burnetii* в почвах / А. С. Евстигнеева, Т. Ю. Ульянова, И. В. Тарасевич // *Почвоведение.* – 2007. – № 5, май. – С. 622–626.

34. Жаркова, В. В. Клинико-патогенетические особенности и оптимизация терапии коксиеллеза на современном этапе : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.10 / В. В. Жаркова. – М., 2007. – 23 с.

35. Жданов, В. М. Эволюция возбудителей инфекционных болезней / В. М. Жданов, Д. К. Львов. – М.: Медицина, 1984. – 257 с.

36. Зацепин, В. Г. Опыт борьбы с грызунами в крупных свиноводческих комплексах / В. Г. Зацепин, А. Ф. Кадиров // *Тр. ВНИИВС.* – М., 1978. – Т. 1. – С. 67–71.

37. Здродовский, П. Ф. Учение о риккетсиях и риккетсиозах / П. Ф. Здродовский, Е.М. Голинович. – М.: Медицина, 1972. – 496 с.

38. Зубкова, Р. И. Выживаемость риккетсий Бернета в молоке и молочных продуктах / Р. И. Зубкова // *ЖМЭИ.* – 1957. – №9. – С. 42-46.

39. Игнатович, В. Ф. Некоторые закономерности переживания риккетсий во внешней среде / В. Ф. Игнатович // *Риккетсиозы.* – М., 1961. – С. 155–168.

40. Камбаратов, П. И. Диагностическое значение реакции связывания комплемента с антигеном риккетсий Бернета фазы 1 и 2 при лихорадке Ку / П. И. Камбаратов, Р. И. Куделина // *ЖМЭИ.* – 1970. – № 9. – С. 87–91.

41. Карулин, Б. Е. Теплокровные животные и их роль в природных очагах лихорадки Ку Туркмении и Казахстана: автореф. дис. ... канд. биол. наук / Карулин Б. Е. – М., 1961. – 18 с.

42. Касаткина, И. Л. Ку-лихорадка / И. Л. Касаткина. – М. : Гос. изд. мед. лит., 1963. – 207 с.

43. Кекчеева, Н. Г. Иммунология и вакцинопрофилактика риккетсиозов / Н. Г. Кекчеева, В. А. Яблонская // *Риккетсии и риккетсиозы: тр. ин-та НИИ эпид. и микробиол. им. Н.Ф. Гамалеи.* – М., 1990. – С. 21–30.

44. Кокорин, И. Н. Биологические особенности развития риккетсий / И. Н. Кокорин // *Acta virol.* – 1968. – N 42 (1). – P. 31–35.

45. Кокорин, И. Н. О размножении риккетсий в изолированных мезотелиальных клетках (предв. сообщ.) / И. Н. Кокорин, В. Ф. Игнатович // *Вопр. вирусол.* – 1961. – № 2. – С. 232–234.

46. Коршун, А. И. Результаты серологической диагностики лихорадки Ку крупного рогатого скота и работников животноводства / А. И. Коршун,

Р. Х. Юсупов, Р. Г. Госманов // Актуальн. вопр. эпизоотологии : Всесоюзн. научн. конф. по пробл. эпизоот. – Казань, 1983. – С. 80–81.

47. Косенко, М. В. Ку-риккетсиоз сельскохозяйственных животных / М. В. Косенко // Ветеринарная медицина. – Харьков, 2003. – С. 315–317.

48. Костюков, В. П. Материалы к эпидемиологии лихорадки Ку в Омской области / В. П. Костюков // Природно-очаговые болезни : матер. науч. конф. – Тюмень, 1963. – С. 144–147.

49. Красиков, А. П. Изыскание новых методов серологической диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота, сенсibilизированного измененными штаммами бруцелл : автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук : 16.00.03 / А. П. Красиков. – Новосибирск, 1982. – 19 с.

50. Ку-лихорадка: Этиология, эпидемиология, клиника, лабораторная диагностика, лечение: Методические рекомендации / Т. П. Пашанина, Р. А. Рыбкина, В. П. Смелянский // Комитет по здравоохранению Волгоградской области, ВолгНИПЧИ. – Волгоград: Изд-во ВолГУ, 2004. – 28 с.

51. Лабораторная диагностика лихорадки Ку: метод. рекомендации / А. Б. Дайтер, Н. И. Амосенкова, Н. К. Токаревич // Министерство здравоохранения РСФСР. – Л., 1980. – 23 с.

52. Левина, Е. Н. Иммунолюминесценция в медицине / Е. Н. Левина. – М.: Медицина, 1977. – 144 с.

53. Леннет, Э. Лабораторная диагностика вирусных и риккетсиозных заболеваний / Э. Леннет, Н. Шмидт. – М.: Медицина, 1974. – 176 с.

54. Лобан, К. М. Важнейшие риккетсиозы человека / К. М. Лобан. – М.: Медицина, 1960. – 368 с.

55. Лобан, К. М. Лихорадка Ку (кокциеллез) / К. М. Лобан – М.: Медицина, 1987. – 128 с.

56. Лобан, К. М. О патогенезе лихорадки Ку / К. М. Лобан // Сов. мед. – 1974. – № 5. – С. 43–47.

57. Лобан, К. М. Риккетсиозы человека (руководство для врачей) / К. М. Лобан, Ю. В. Лобзин, Е. П. Лукин. – М.–СПб., 2002. – 475 с.

58. Лобзин, Ю. В. Риккетсиозы / Ю. В. Лобзин // Руководство по инфекционным болезням. – СПб., 2000 – С. 549–555.

59. Максимович, М. Б. Значимость серологических методов в диагностике лихорадки Ку в западном регионе Украины / М. Б. Максимович, Н. Д. Климчук, З. Г. Кушнir // ЖМЭИ. – 1994. – № 5. – С. 101–103.

60. Малышев, Ф. Ф. Ветеринарная служба комплекса / Ф. Ф. Малышев // Ветеринария. – 1978. – № 12. – С. 43–47.

61. Мирзаев, Ш. Дератизация в условиях животноводческих комплексов / Ш. Мирзаев // Ветеринария. – 1978. – № 10. – С. 36–38.

62. Михайлов, В. В. Экспериментальное изучение иммуногенных и проактивных свойств штамма М-44 *Coxiella burnetii* и живой энтеральной вакцины против лихорадки Ку / В. В. Михайлов, А. А. Воробьев, А. А. Махлай, Г. Г. Халтаева, Т. А. Суворова, В. П. Краснянский // ЖМЭИ. – 1996. – № 1. – С. 38–42.

63. Могилевский, Д. П. Особенности циркуляции возбудителя коксиеллеза (лихорадки Ку) в природных очагах на территории Нижегородской области / Д. П. Могилевский // Мед. паразитол. и паразит. болезни. – 2001. – № 3. – С. 54–55.

64. Никитин, В. Я. Характеристика очага коксиеллеза в ТОО «Николаевское» Краснодарского края / В. Я. Никитин // Диагностика, лечение и профилактика заболеваний сельскохозяйственных животных. – Ставрополь, 1997. – С. 8–10.

65. Новикова, Н. Н. Экспресс-методы диагностики ассоциативного урогенитального микоплазмоза плотоядных : автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук : 16.00.03 / Н. Н. Новикова. – Новосибирск, 2002. – 18 с.

66. Павловский, Е. Н. Птицы и инфекционная патология человека / Е. Н. Павловский, К.Н. Токаревич. – Л.: Медицина, Ленингр. отд., 1966. – 227 с.

67. Паутов, В. Н. Биология риккетсий (морфология, физиология, изменчивость) / В. Н. Паутов, А. И. Игумнов. – М.: Медицина, 1968. – 203 с.

68. Паутов, В. Н. Специфическая профилактика риккетсиозов / В. Н. Паутов, Е. П. Лукин, А. А. Воробьев. – М., 1969. – 205 с.

69. Паутов, В. Н. Фазовая вариация *Coxiella burnetii* (Теория и практика) / В. Н. Паутов // ЖМЭИ. – 1989. – № 9. – С. 97–103.

192. Перадзе, Т. В. Реакция непрямой гемагглютинации / Т. В. Перадзе // Л., 1981. – 125 с.

70. Петрова, Н. П. Состояние Т- и В-лимфоцитов при лихорадке Ку у людей / Н. П. Петрова, В. А. Семенова // Актуальные вопросы аллергологии и клинической иммунологии. – Алма-Ата, 1982. – С. 100–105.

71. По забору и транспортировке материала для диагностики лихорадки Ку : метод. указания / М. А. Мастеница // Министерство здравоохранения СССР. – Томск, 1956. – 7 с.

72. Применение реакции непрямой иммунофлуоресценции для диагностики лихорадки Ку: Инструкт.-метод. письмо / Н. П. Петрова // Мин-во здравоохранения КазССР. – Алма-Ата., 1981. – 5 с.

73. Профилактика и борьба с заразными болезнями, общими для человека и животных Коксиеллез (лихорадка Ку) : СП 3.1. 095-96: ВП 13.3. 1221-96 / ред. и сост. Г. Г. Онищенко, Б. Л. Черкасский // Противоэпидемические мероприятия: сб офиц. док. – М.: ИНТЕРСЭН, 2006. – Т. 1. – С. 462–465.

74. Профилактика коксиеллеза (лихорадка Ку): санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.7.2811-10 / Разраб. Е. Б. Ежлова, Ю. В. Демина, Н. Д. Пакскина, Н. В. Рудаков, А. Л. Гинцбург, И. В. Тарасе-

вич, А. Н. Пантюхина, Н. Ф. Соколова, М. Г. Шандала, М. Н. Костина, Н. К. Токаревич, О. А. Фрейлихман-М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011.–27 с.

74. Прохватилова, Е. В. Эффективность применения корпускулярных антигенных препаратов в иммунофлуоресцентном анализе / Е. В. Прохватилова, Н. П. Храпова, Н. А. Ерасова, В. П. Смелянский, Л. И. Белицкая // Современные технологии в диагностике особо опасных инфекционных болезней : матер. 4 межгос. науч.-практ. конф. гос. уч-в СНГ. – Саратов, 2003. – С. 150–153.

75. Путин, А. В. Клещи и блохи синантропных форм домового мыши и серой крысы из микропопуляций, населяющих разнопрофильные учебные заведения Омска / А. В. Путин, Г. Н. Сидоров // Естественные науки и экология: ежегодник ОмГПУ. – Омск, 2004. – Вып. 8, Кн. 2. – С. 120–122.

76. Пчёлкина, А. А. Экология возбудителей Ку-лихорадки, клещевого сыпного тифа и клещевого энцефалита в сочных природных очагах этих инфекций : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / А. А. Пчёлкина. – М., 1971. – 45 с.

77. Райхлин, М. И. Вопросы изучения зооантропонозов в животноводческих комплексах / М. И. Райхлин, А. Н. Гудошник, И. К. Чуловский // 10-я Всесоюзн. конф. по природ. очаг. болезней: тез. докл. – Алма-Ата, 1979. – Ч. 1, С. 78–79.

78. Реакция непрямой иммунофлуоресценции в диагностике Ку-риккетсиоза: метод. рекомендации / Н. И. Амосенкова // Мин-во здравоохранения РСФСР. – Л., 1979. – 7 с.

79. Рудаков, Н. В. Вспышка Ку-лихорадки в Новосибирской области / Н. В. Рудаков, Е. В. Трофанюк, В. Н. Михеев // Вопр. риккетсиол. – М., 1984. – С. 43–44.

80. Рудаков, Н. В. Выявление Ку-риккетсиоза в птицеводческих хозяйствах Западной Сибири / Н. В. Рудаков, М. С. Шайман, Р. А. Коломиец // Природно-очаговые инфекции и инвазии: республ. сб. н. работ. – Омск, 1984. – С. 141–145.

81. Рудаков, Н. В. Изучение Ку-риккетсиоза в животноводческих комплексах Сибири / Н. В. Рудаков, М. С. Шайман, В. Ф. Камышева // Болезни с природной очаговостью: тр. ин-та им. Пастера. – Л., 1983. – Т. 60. – С. 58–63.

82. Рудаков, Н. В. Ку-риккетсиоз в крупных овцеводческих хозяйствах Омской области / Н. В. Рудаков, В. Ф. Камышева, Н. П. Стрыгина // Природно-очаговые инфекции в районах народнохозяйственного освоения Сибири и Д. Востока. – Омск, 1983. – С. 139–147.

83. Рудаков, Н. В. Современные эпидемиологические особенности лихорадки Ку на юге Сибири / Н. В. Рудаков, М. С. Шайман, В. Ф. Камышева // Природно-очаговые болезни человека: республ. сб. – Омск, 1985. – С. 94–105.

84. Рудаков, Н. В. Характеристика эпидемического и эпизоотического процессов лептоспирозов и Ку-риккетсиоза на крупных животноводческих

комплексах Сибири / Н. В. Рудаков, А. А. Славное, А. С. Клейнерман // Инфекц. б-ни с/хоз. жив. – Новосибирск, 1983. – С. 142–144.

85. Рудаков, Н. В. Эпидемиологические особенности Ку-лихорадки в условиях промышленного ведения животноводства: дис. канд. ... мед. наук : 14.00.30 / Н. В. Рудаков. – Омск, 1985. – 204 с.

86. Рыбакова, Н. А. Зооантропонозные болезни на Европейском Севере России (Вологодская обл.) / Н. А. Рыбакова // Ветеринария. – 1998. – № 2. – С. 18–22.

87. Рыбкина, Р. А. Природные очаги лихорадки Ку и хламидиозов в Волгоградской области / Р. А. Рыбкина // Актуальные проблемы ветеринарии: мат-лы междунар. конф. – 1997. – С. 94.

88. Самитова, В. И. Антиген из кокцилл Бернета для реакции микроагглютинации / В. И. Самитова, Н. К. Токаревич // Природно-очаговые болезни человека: республ. сб. научн. тр. – Омск, 1985. – С. 112–115.

89. Серологические методы диагностики риккетсиозов: метод. рекомендации / И. В. Тарасевич, В. А. Яблонская. – М., 1988. – 24 с.

90. Сидорчук, А. А. Риккетсиозы животных / А. А. Сидорчук, А. А. Глушков. – М., 2001. – 83 с.

91. Ситдилов, Р. И. Патоморфология и некоторые вопросы патогенеза лихорадки Ку у животных : автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук / Р. И. Ситдилов. – Казань, 1989.

92. Ситдилов, Р. И. Патоморфология и патогенез лихорадки Ку у животных при заражении разными штаммами кокцилл Бернета и при совместном течении с лучевой болезнью : автореф. дис. ... д-ра ветеринар. наук : 16.00.02 / Р. И. Ситдилов. – Казань, 2000. – 35 с.

93. Ситдилов, Р. И. Состояние клеточного и гуморального иммунитета у овец, инфицированных кокциллами Бернета / Р. И. Ситдилов, Р. Х. Юсупов // Вопросы риккетсиологии : матер. Всесоюзн. конф. – М., 1989. – С. 126–127.

94. Способ получения вакцины против лихорадки Ку / И. В. Тарасевич, В. А. Яблонская, С. Ф. Фаталиева. – Патент № 2094087; опубл. 31.01.94. Бюл. № 30.

95. Стегний, Б. П. Экологические, эпизоотологические и эпидемиологические аспекты диагностики Ку-лихорадки / Б. П. Стегний // Ветеринарная медицина. – Харьков, 2003. – № 82. – С. 555–559.

96. Тарасевич, И. В. Изучение экспериментального Ку-риккетсиоза у *Hyalomma plumbeum* / И. В. Тарасевич // ЖМЭИ. – 1957. – № 6. – С. 45–61.

97. Тарасевич, И. В. Риккетсиозы / И. В. Тарасевич, Н. Ф. Фетисова, В. А. Макарова // Природная очаговость болезней: исследования Института Гамалеи РАМН. – 2003. – С. 64–98.

98. Тарасевич, И. В. Эпидемиология риккетсиозов и экология риккетсий / И. В. Тарасевич, Л. Ф. Плотникова // Риккетсии и риккетсиозы: Тр. НИИ эпид. и микробиол. им. Н.Ф. Гамалеи. – М., 1990. – С. 31–40.
99. Тец, В. В. Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии / В. В. Тец. – М.: Медицина, 2002. – 287 с.
100. Тимченко, Л. Д. Гистологические изменения в плаценте овец в условиях длительной персистенции коксииелл Бернета / Л. Д. Тимченко, Е. Л. Тинькова // Ветеринарная патология. – № 1. – 2008. – С. 103–105.
101. Тимченко, Л. Д. Эпизоотические особенности Ку-лихорадки / Л. Д. Тимченко, Е. Л. Тинькова // Актуальные вопросы диагностики, профилактики и борьбы с болезнями сельскохозяйственных животных. – Ставрополь, 1999. – С. 138–139.
102. Токаревич, К. Н. Второй природный очаг Ку-риккетсиоза на Северозападе РСФСР / К. Н. Токаревич, Л. Д. Васильева // Тр. ин-та эпидемиол. микробиол. им. Пастера. – Л., 1970. – № 7. – С. 41–45.
103. Токаревич, К. Н. Обострение латентной Ку-риккетсиозной инфекции в эксперименте / К. Н. Токаревич // Микробиол.– 1979.– № 7.– С. 100–104.
104. Токаревич, К. Н. Получение растворимого антигена из риккетсий Бернета с помощью автоклавирования / К. Н. Токаревич, Н. А. Чайка // Научные основы вакцинно-сывороточного дела. – Ташкент, 1979. – С. 89–99.
105. Токаревич, Н. К. Важнейшие инфекционные болезни, общие для животных и человека / Н. К. Токаревич. – Л.: Медицина, 1979. – 191 с.
106. Токаревич, Н. К. Изучение иммуногенных и иммуномодулирующих свойств фосфолипида коксииелл Бернета / Н. К. Токаревич, А. Б. Дайтер // Риккетсиозы: тр. ин-та им. Пастера. – Л., 1989. – С. 110–118.
107. Токаревич, Н. К. Испытание эритроцитарного антигенного диагностикума для выявления антител к коксииеллам Бернета / Н. К. Токаревич, С. Шрабек, Г. А. Баяр // ЖМЭИ. – 1985. – № 4. – С. 51–55.
108. Токаревич, Н. К. Показатели гуморального иммунитета при Ку-риккетсиозе: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Н. К. Токаревич.– Л., 1980.– 21 с.
109. Токаревич, Н. К. Применение иммуноферментного метода для обнаружения антигенов коксииелл Бернета в организме экспериментально зараженных мышей / Н. К. Токаревич, Н. А. Карцева // Актуальные вопросы эпидемиологии, диагностики, лечения и профилактики риккетсиозов: матер. 17-й Всесоюзн. конф. – М., 1989. – С. 130–133.
110. Токаревич, Н. К. Применение иммуноферментного метода для эпидемиологического надзора за лихорадкой Ку / Н. К. Токаревич, Н. А. Карцева, И. Р. Желтакова, Я. А. Рыбакова, Я. А. Евсюкова // тез. докл. 4-й Всерос. съезда микробиологов, эпидемиологов и паразитологов. – Нижний Новгород, 1991 г. – М., 1991. – Т. 2. – С. 20–21.

111. Токаревич, Н. К. Сочетанное применение серологических тестов с целью диагностики и изучения Ку-риккетсиоза / Н. К. Токаревич, Л. П. Драгунова // Микробиол. – 1979. – № 12. – С. 90–95.

112. Токаревич, Н. К. Эритроцитарный иммуноглобулиновый диагностический препарат для обнаружения *Coxiella burnetii* / Н. К. Токаревич, Г. А. Баяр, Ф. С. Носков, А. Б. Дайтер // Вопросы риккетсиологии: сб. науч. тр. – М., 1981. – Вып. 2. – С. 68.

113. Умнова, Н. С. Выявление антител к возбудителю коксиеллеза в сыворотках больных с диагнозом бруцеллеза / Н. С. Умнова, М. М. Желудков, В. Ф. Игнатович // Клин. перспективы в инфектологии: всерос. науч. конф. – СПб., 2001. – С. 196.

114. Федоров, Э. И. Ку-риккетсиоз в восточных областях Украинской ССР (лабораторно-эпидемиологическое исследование) : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.30 / Федоров Э. И. – Харьков, 1975. – 13 с.

115. Федоров, Э. И. Эколого-эпидемиологические закономерности природно-хозяйственных зоонозов (лептоспирозы, Ку-лихорадка) и пути оптимизации их контроля : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.30 / Э. И. Федоров. – М., 1989. – 34 с.

116. Федорова, Н. М. Зависимость антигенной активности риккетсий Бернета от фазовой изменчивости / Н. М. Федорова, Р. Г. Дюйсалиева // Микробиол. – 1962. – № 8. – С. 95–100.

117. Федорова, Н. М. Эпизоотология и профилактика Ку-риккетсиоза / Н. М. Федорова. – М.: Медицина, 1968. – 251 с.

118. Филиппова Н. А. Иксодовые клещи Подсемейство Ixodidae / Н. А. Филиппова // Фауна СССР: Паукообразные. – Т. 4, вып. 4. – Л.: Наука, 1977. – 396 с.

119. Фрейлихман, О. А. Результаты испытания новых праймеров для детекции *C. Burnetii* в организме диких мелких млекопитающих / О. А. Фрейлихман, Ю. А. Панферова, Н. К. Токаревич, К. А. Третьяков, С. Г. Медведев // Идеи Пастера в борьбе с инфекциями: матер. конф. – СПб., 2008. – С. 104.

120. Хавкин, Т. Н. О местной реакции брюшины при экспериментальном Ку-риккетсиозе белых мышей / Т. Н. Хавкин, Н. И. Амосенкова // Тр. Ин-та эпидемиол. и микробиол. им. Пастера. – Л., 1963. – Т. 25, С. 160–169.

121. Хавкин, Т. Н. Фагоцитоз риккетсии Бернета и реакция брюшины белых мышей при повторном внутрибрюшинном заражении / Т. Н. Хавкин, Н. И. Амосенкова // Тр. Ин-та эпидемиол. и микробиол. им. Пастера. – Л., 1970. – Т. 37. – С. 60–71.

122. Хисматуллина, Н. А. Иммуноферментный и иммунофлуоресцентный анализ органов животных, зараженных возбудителями лихорадки Ку / Н. А. Хисматуллина, Р. И. Ситдииков, И. А. Курбанова, Р. Х. Юсупов // Научные основы технологии промышленного производства вет. биол. препаратов: тез. докл. 5-й Всерос. науч.-практ. конф. – Щелково, 2000. – С. 238–239.

123. Хисматуллина, Н. А. Иммуноферментный метод в диагностике лихорадки Ку / Н. А. Хисматуллина, Э. А. Курбанова, Р. Р. Юсупов // Вопросы ветеринарной вирусологии, микробиологии и эпидемиологии: тр. Всерос. НИИ вет. вирус. и микробиол. – Покров, 1992. – ч. 4. – С. 274–275.
124. Черванев, В. А. Патогенез коксиеллеза у крупного рогатого скота / В. А. Черванев // Проблемы инфекционных и инвазионных болезней в животноводстве на современном этапе. – М., 1999. – С. 147–148.
125. Чумаков, М. П. Материалы по идентификации заболевания Ку-лихорадки / М. П. Чумаков, А. П. Беляева // Микробиол. – 1954. – № 5. – С. 40–48.
126. Чуркин, И. А. Получение и оценка секреторных свойств гибридом, продуцирующих моноклональные антитела к возбудителю Ку-лихорадки / И. А. Чуркин, С. А. Паныгина, В. Н. Лебедев, Т. М. Плеханова, В. А. Харченко, С. Н. Ионов // Идеи Пастера в борьбе с инфекциями: матер. конф.– СПб., 2003. – С. 146.
127. Штамм коксиелл *Coxiella burnetii*, используемый для получения инактивированной вакцины против Ку-лихорадки / Н.К. Токаревич, А. Б. Дайтер, Н. И. Амосенкова. / Патент № 2026342; опубл. 20.05.93, Бюл. № 1.
128. Эмдина, И. А. Сравнительное изучение некоторых методов лабораторной диагностики Ку-лихорадки: автореф. дис. ... канд. мед. наук / И. А. Эмдина. – Львов, 1969. – 20 с.
129. Эпидемиологический надзор за клещевым риккетсиозом. Иммунодиагностика заболевания и методы выявления возбудителя: метод. рекомендации / В. К. Ястребов, Т. А. Решетникова, Н. В. Рудаков, И. И. Богданов, И. В. Тарасевич, В. А. Макарова, Н. Ф.Фетисова, А. С. Оберт, В. П. Попов // Мин-во здравоохранения СССР. – Омск, 1992. – 39 с.
130. Эпидемиологический надзор за лихорадкой Ку: метод. рекомендации / Н. В. Рудаков, И. В. Тарасевич, А. Б. Дайтер, Н. К. Токаревич, Т. Г. Сыслова // Госкомсанэпиднадзором РФ. – Омск, 1997. – 23 с.
131. Юсупов, Р. Р. К вопросу лабораторной диагностики лихорадки Ку животных методом иммуноферментного анализа / Р. Р. Юсупов // Достижения Казанской ветеринарной школы — в практику животноводства : тез. докл. Респ. науч.-произв. конф. – Казань, 1991. – С. 11.
132. Юсупов, Р. Р. Лабораторная диагностика лихорадки Ку у овец / Р. Р. Юсупов, Р. И. Ситдинов // Ветер. врач. – 2002. – № 2. – С. 66–67.
134. Юсупов, Р. Р. Разработка и усовершенствование лабораторных методов диагностики лихорадки Ку животных: дис. канд. ... ветеринар. наук: 16.00.03 / Юсупов Р. Р. – Казань, 1995. – 137 с.
135. Юсупов, Р. Р. Электронно-микроскопический и люминесцентный методы в диагностике лихорадке Ку / Р. Р. Юсупов // Диагностика, профилактика и меры борьбы с особо опасными и экзотическими болезнями животных: матер. Междунар. научн.-практ. конф. – Покров, 1998. – С. 339–340.

136. Юсупов, Р. Х. Болезни, вызываемые риккетсиями / Р. Х. Юсупов // Риккетсиозы. – М.: Агропромиздат, 1987. – С. 151–153.
137. Юсупов, Р. Х. Диагностика лихорадки Ку методом ИФА / Р. Х. Юсупов, Н. А. Хисматуллина // Матер. науч.-произв. конф. по проблемам ветеринарии и животноводства. – Казань, 1994. – С. 34.
138. Юсупов, Р. Х. Иммунобиологические и биофизические показатели крови животных при иммунизации антигеном возбудителя лихорадки Ку / Р. Х. Юсупов, Р. Я. Гильмутдинов, Э. А. Курбанова, Р. Г. Госманов // Вопросы инфекционной патологии животных / Межвуз. Сб. науч. тр. – Казань, 1994. – С. 43–45.
139. Яблонская, В. А. Непрямой твердофазный иммуноферментный метод (нТИФМ) в диагностике риккетсиозов / В. А. Яблонская, А. В. Кузнецова // Сб. научн. трудов Ин-та им. Пастера. – Л., 1989. – С. 137–139.
140. Яблонская, В. А. Экспериментальный Ку-риккетсиоз у хлопковых крыс / В. А. Яблонская, И. Н. Кокорин // ЖМЭИ. – 1958. – № 12. – С. 113.
141. Andreani, E. Indagine sieroepidemiologica sulla diffusione della febbre Q in allevamenti bovini ed ovini della Toscana e del Lazio / E. Andreani [et al.] // Ann. Fac. Med. Veter. – Pisa, 1992. – N 44. – P. 41–46.
142. Behymer, D. E. Enzyme immunoassay for surveillance of Q-fever Amer. / D. E. Behymer, R. Ruppanner [et al.] // J. Vet. Res. – 1985. – V. 46. – P. 2413–2417.
143. Berri, M. The detection of *Coxiella burnetii* from ovine genital swabs, milk and fecal samples by the use of a single touchdown PCR / M. Berri, K. Laroucau, A. Rodolakis // Veter. Microbiol. – 2000. – N 72 (3/4). – P. 285–293.
144. Brezina, R. Химическая вакцина против лихорадки Ку для иммунизации человека / R. Brezina, S. Shramek [et al.] // Acta virol. – 1974. – T. 18. – С. 269.
145. Burnet, F. The rickettsial diseases in Australia / F. Burnet // Ned. G. Australia. – 1942. – V. 29 (1). – P. 129–134.
146. Busila, V. T. Dinamica anticarpilor fixator de complement in fibra Q / V. T. Busila, T. Vasilescu, [et al.] // Microbiol., Parasitol., Epidemiol. – 1972. – V. 1. – N. 6. – P. 491–496.
147. Cox, H. R. Use of yolk sac of developing chick embryo as medium for growing rickettsiae of Rocky Mountain spotted fever, and typhus groups / H. R. Cox // Publ. Health. Repts. – 1938. – N. 53. – P. 2241–2247.
148. Cracsa, E. Comparative study of some laboratory diagnosis in Q-fever / E. Cracsa, D. Botes // Arch. roim. Path. Exp. Microbiol. – 1976. – V. 35. – P. 67–72.
149. Cracea, E. Q-fever Serum Diagnosis by Immuno-enzymatic (ELISA) test / E. Cracea et al. // Arch. roum. Path. Exp. Microbiol. – 1983. – V. 42. – P. 283–288.

150. Cracea, E. Use of a *C. Burnetii* soluble antigen for skin test Diagnosis in Q-fever / E. Cracea // Arch. roum. Path. Exp. Microbiol. – 1978. – V. 37. – P. 291–294.
151. Doumalin, L. Enquete sur la fièvre Q en Loire-Atlantique / L. Doumalin // Product, lait. mod. – 1989. – N. 187. – P. 69–71.
152. Dovoust, B. Fievre Q ovine : Sondage serologique / B. Dovoust [et al.] // Rev. Med. Veter. – 1986. – N. 137 (7). – P. 521–524.
153. Durand, M. P. La Fievre Q epidemiologic et prophylaxie humaine et animale / M. P. Durand, J. L. Durand // Bull. Soc. Veter. Prat. Fr. – 1993. – N. 77. – N. 5. – P. 269–297.
154. Edingloh, M. Multiplex-PCR zum diagnostischen Nachweis von *Coxiella burnetii* aus Kuhmilch / M. Edingloh, C. C. Merck, E. Manz // Berl. u. Munch, tierarztl. Wschz. – 1999. – N. 112 (1). – P. 5–9.
155. Field, P. R. Detection and Persistence of Specific Ig M Antibody to *Coxiella Burnetii* by enzyme-linked Immunosorbent Assay : A comparison with immunofluorescence and Complement Fixation Tests / P. R. Field [et al.] // J. infect. Dis. – 1983. – P. 477–487.
156. Fiset, P. A microagglutination technique for detection and measurement of Rickettsial antibodies / P. Fiset, R. A.Ormsbee, R. Siberman, M. Peacock, S. H. Spielman // Acta virol. – 1969. – N. 13. – P. 213–215.
157. Fritz, E. Bedeutung einheimischer Schildzeckenarten als natuerliche Wirte in der Epizootiologie des Q- Fiebers. Qualitativer und quantitativer Nachweis des Q-Fieber Erregers, *Coxiella burnetii*, in Zecken. Inaug / Fritz E. – Diss... – Giessen., 1994. – 171 p.
158. Galiero, G. Epidemiologia della febbre Q : sieroprevalenza negli allevamenti bufalini della provincia di Salerno / G. Galiero [et al.] // Seler. Veter. – 1996. – N. 37 (6). – P. 407–412.
159. Goldhorn, W. Notizen aus der Praxis : Q Fieber - die 20 jährige Leidens — Geschiehte eines Herdbuch — und Vorzugsmilchbetriebes / W. Goldhorn // Tierarztl. Umsch. – 1985. – N. 40 (8). P. – 606–611.
160. Gramch, H. Liber ennen Fall fori Q-fever in Berlin / H. Gramch // Deutch. Med. J., Berlin. – 1952. – V. 3/11–12. – P. 258.
161. Hirai, K. Q fever / K. Hirai // J. Japan Veter. Med. Assn. – 1993. – N. 46 (7). – P. 541–547.
162. Hirai, K. Recent study of Q fever / K. Hirai // J. Japan Veter. Med. Assn. – 1999. – N. 5 (2). – P. 77–83.
163. Hiwe, K. K. Seroepidemiology of *Coxiella burnetii* in domestic and companion animals in Japan / K. K. Hiwe // Veter. Rec. – 1992. – 131 (21). – P. 490.
164. Jalld, I. Suitawiliti of different antigenic prepapations of *Coxiella Burnetii* for antibody detestion by Elisa / I. Jalld, S. Schramek et al. // In Rickettsiae and

rickettsial Diseases : Proc. 3-rd Intern. Symr. VEDA. – Bratislava, 1985. – P. 462–467.

165. Kapitancik, B. The history of Q fever in eastern Slovakia / B. Kapitancik // *Folia veter.* – Kosice, 1997. – N. 41. – P. 103–106.

166. Kazar, J. Отсутствие влияния корпускулярной вакцины против лихорадки Ку I фазы на персистенцию и реактивацию инфекции в тканях мышей и морских свинок / J. Kazar, E. Kovasova // *Acta virol.* – 1983. – P. 27.

167. Кордова, Н. / Исследование ранних стадий инфекции — клеток *Coxiella burnetii*, проведенное с помощью гистохимического метода флуоресцирующих антител / Н. Кордова, Е. Ковачева // *Acta virol.* – 1968. – N. 12 (1). – P. 23–30.

168. Kordova, N. *Coxiella burnetii* in tissue cultures, studied by the optic microscope and in phase contrast / N. Kordova, P. Kvicala // *Folia Microbiol.* – Praha, 1962. – N. 7 (2). – P. 89–92.

169. Kordova, N. What are rickettsiae? / N. Kordova // *Zbl. Bakt. I. Ref.* – 1971. – N. 226 (2). – P. 105–115.

170. Kovakova, E. *Coxiella Burnetii* antigens for detection of Q-fever Antibodies by ELISA in human sera / E. Kovakova, J. Gallo [et al.] // *Actavirol.* – 1987. – V. 31. – P. 254–259.

171. Krauss, H. Epidemiology and significance of Q-fever in the Federal Republic of Germany / H. Krauss, N. Schmeer [et al.] // *Zbl. Bakt. hyg.* – 1987. – N. 267. – P. 42–50.

172. Krieg, A. *Rickettsial and rickettsioses* / A. Krieg // *Incest Pathology An advanced treatise.* – New-York – London, 1963. – V. 1. – P. 577–617.

173. Кунев, Ж. Ку-треската и ветеринарно-санитарната експертиза на продуктите от животински произход / Ж. Кунев, Г. Павлов // *Ветер. сб.* – 1984. – N. 82 (8). – P. 31–32.

174. Lopes, A. La intradermorsassione uella febre Q dell huometog / A. Lopes // *Ann. San. Publice Rome.* – 1952. – V. 13. – P. 4.

175. Limouzin, C. Epidemiologic de la fievre Q bovine en France / C. Limouzin et al. // *Bull. Acad. Veter. Fr.* – 1985. – N. 58 (3). – P. 283–289.

176. Literak, I. Prevalence of antibodies to *Coxiella burnetii* in cattle, sheep and small mammals in the region of Western Bohemia / I. Literak // *Veter. Med., Praha.* – 1995. – N. 40 (3). – P. 77–80.

177. Lucto, L. Report on the nationwide occurence of Q-fever infection in cattle / L. Lucto // *Publ. Health. Rep.* – 1960. – P. 75.

178. Luoto, L. A capillary agglutination test for bovine Q fever / L. Luoto // *J. Immunol.* – 1952. – N. 71. – P. 226–231.

179. Luoto, L. A capillary tube test for antibody against *Coxiella burnetii* in human, guinea pig and sheep sera / L. Luoto // *J. Immunol.* – 1956. – N. 77. – P. 294–298.
180. Luoto, L. An agglutination test for bovine Q fever performed on milk samples / L. Luoto, D. M. Mason // *J. Immunol.* – 1955. – N. 74. – P. 222–227.
181. Marrie, T. J. Q fever. A review / T. J. Marrie // *Canad. veter. J.* – 1990. – N. 31 (8). – P. 555–563.
182. Mirri, A. La febbre Q negli animali in Sicilia e diagnosi allergica della febbre Q negli animali / A. Mirri // *Trop. Dis. Bull.* – 1951. – V. 48. – P. 348.
183. Moffat, M. Zoonotic implications of Q fever and chlamydia infections in animals and man / M. Moffat // *Irish veter. J.* – 1990. – N. 43 (5). – P. 115–117.
184. Morel, P. Relations des virus d' animaux et des Rickettsies avec leurs tiques vectrices / P. Morel // *Ann. Parasitol. Hum. et Comp.* – 1971. – V. 46 (3). – P. 179–196.
185. Nauck, E. G. Die Erreger der «Epidemischen Bronchopneumonie des Menschen» (Herzberg) und seine Beziehung zur *Rickettsia burnetii* (Q-Fieber) / E. G. Nauck, F. Z. Weyer // *Hyg. Infekt. Kr.* – 1948. – N. 128. – P. 529–550.
186. Ormsbee, R. A. An agglutination-resuspension test of Q fever antibodies / R. A. Ormsbee // *J. Immunol.* – 1964. – N. 92. – P. 159–166.
187. Ormsbee, R. A. The influence of Q-fever vaccine / R. A. Ormsbee, E. Bell et al. // *J. Immunol.* – 1964. – V. 92. – P. 409.
188. Pallosuo, T. Hazards of Expanding Tourism: Report of six cases of Q-fever in Finland / T. Pallosuo, P. Leinikki, T. Pettersson [et al.] // *Scand. J. Infect. Dis.* – 1974. – V. 6. – P. 173–176.
189. Пандъров, С. Ку-треска / С. Пандъров, К. Акабалиева. – София: Земиздат, 1985. – 129 р.
190. Пандъров, С. Серологические исследования при Ку-лихорадке крупного рогатого скота / С. Пандъров, С. Мартинов // *Ветеринария: реф. журн.* – 1982. – № 4. – С. 9.
191. Paukovic, C. Diagnostika i suzbijanje Q-groznice / C. Paukovic, H. Kovacic, A. Nevjestic // *Veter. Glasnik.* – 1987. – N. 41 (2). – P. 123–129.
192. Peter, O. Comparison of Enzyme-Linked immunosorbent Assay and Complement Fixation and Indirect Fluorescent Antibody Tests for Detection of *Coxiella burnetii* Antibody / O. Peter, G. Dupuis [et al.] // *J. Clin. Microbiology.* – 1987. – V. 25. – P. 1063–1067.
193. Peter, O. Evolution of Complement Fixation and Indirect Immunofluorescence Tests in the Early Diagnosis of Primary Q-fever / O. Peter, G. Dupuis [et al.] // *Eur. J. Clin. Microbiol.* – 1985. – V. 4. – P. 394–396.
194. Phillip, B. Arthropod vectors in relation to the reservoir mechanism of microbial agents of animal diseases / B. Phillip // *Acta trop.* – 1961. – V. 18 (2). – P. 256–262.

195. Popov, G. V. Electronmicroscopic diagnostics of Q-fever in sheep / G. V. Popov, S. P. Martinov // Abstracts Utrecht. – 1986. – P. 741–744.
196. Ransom, S. E. Studies on the resistance of *Coxiella burneti* to physical and chemical agents / S. E. Ransom, R. J. Huebner // Amer. J. Hyg. – 1951. – N. 53. – P. 110–119.
197. Raseta, B. Q-groznica kod domacih zivotinja u SAP Vojvodini / B. Raseta, B. Mihajlovic // Veter. Glasnik. – 1983. – N. 37 (9). – P. 695–703.
198. Rehacek, I. Development of animal viruses and rickettsiae in ticks and mites / I. Rehacek // Ann. Rev. Entomol. – 1965. – N. 10. – P. 7–24.
199. Rogers, J. Serodiagnosis of Q-fever by Immunoenzymatic Test / J. Rogers, E. A. Edlinger // In Rickettsial and Rickettsial Diseases : Proc. 3-rd. Intern. symp. VEDA. – Bratislava, 1985. – P. 473–482.
200. Розенберг, М. Изучение внутриклеточных форм *Coxiella burneti* в электронном микроскопе / М. Розенберг, Н. Кордова // Acta virol. – 1960. – N. 4 (1). – P. 73–75.
201. Розенберг, М. Размножение *Coxiella burneti* в клетках тканевой культуры Дейтрот-6. Электронно-микроскопические исследования / М. Розенберг, Н. Кордова // Acta virol. – 1962. – N. 6 (2). – P. 176.
202. Roth, C. Untersuchungen zur Verbeitung des Q-Fiebers bei Rindern in Nordbayern und zu Massnahmen zur Bekampfung unter besonderer Berücksichtigung der Impfung / C. Roth, K. Bauer // Tierarztl. Umsch. – 1986. – N. 41 (3). – P. 197–201.
203. Ruppaner, R. Infection with *Coxiella Burnetii* in Ewes : effect Vaccination on Shedding in Exposed Animals / R. Ruppaner, D. Brooks [et al.] // In Rickettsial and Rickettsial Disease : Proc. 3-rd intern. Symp. VEDA. – Bratislava, 1985. – P. 483–489.
204. Schliesser, T. Zur Epidemiologic und Bedeutung des Q-Fiebers bei Tieren / T. Schliesser // Wiener tierarztliche Monatsschrift. Wien. – 1991. – N. 78 (1). – P. 7–12.
205. Schmeer, N. Scrodiagnosis of Q-fever by Enzym-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) / N. Schmeer, H. Krauss [et al.] // Zbt. Bakt. Hyg. A. – 1987. – V. 267. – P. 57–63.
206. Schramek, S. Новый метод приготовления диагностического антигена из возбудителя лихорадки Ку / S. Schramek, R. Brezina [et al.] // Acta virol. – 1972. – V. 16. – P. 487–492.
207. Schramek, S. Study of the structure of *C. Burnetii* 2 Purification of phase 1 antigenic component obtained by means of trichloracetic acid / S. Schramek, R. Brezina, J. Kazar // Acta virol. – 1978. – V. 22, N. 4. – P. 302–308.
208. Schweighardt, H. Q-Fiebers und Haemophilus somnus-Infektionsvergleichs Weise seitene Verwerfensursachen beim Rind / H. Schweighardt, P. Pechan, E. Lauerma // Tierarztl. Umsch. – 1984. – N. 39 (8). – P. 581–584.

209. Serbesov, V. Rickettsia and rickettsial disease / V. Serbesov // Bratislava, 1978. – P. 383.
210. Spiser, A. J. Q-fever and animal abortion in Cyprus / A. J. Spiser, R.W. Growther et al. // Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. – 1977. – V. 71. – N. 1. – P. 16–20.
211. Stephen, S. Presence prevalence of human Q-fever. Coath Kanara Ni-striol Karnataka / S. Stephen, I. Chandrashekara et al. // Indian J. Med. Res. – 1980. – V. 71. – P. 510–515.
212. Stoker, M. Phase variation on the Nine-Mile and other strains of Rickettsia burneti / M. Stoker, P. Fiset // Canad. J. Microbiol. – 1956. – N. 3. – P. 310–321.
213. Thomas, S. Development of animal viruses and rickettsiae in ticks and mites / S. Thomas [et al.] // Ann. Rev. Entomol. – 1996. – N. 10. – P. 1–24.
214. Vosta, J. Q-horecka na Trebonsku. Sb. Agron. Fak. V Ceskych Budejovick. Zootechn. R. / J. Vosta [et al.] // Vysoka Skola Zemed. v Praze. – 1989. – N. 6 (1). – P. 109–117.
215. Willems, H. Detection of Coxiella burnetii in cow's milk using the polymerase chain reaction (PCR) / H. Willems, D. Thiele, R. Frolich-Ritter, H. Krauss // J. Veter. Med., Ser. B. – 1994. – N. 41 (9). – P. 580–587.
216. Williams, J. Monoclonal antibodies distinguish phase variants of Coxiella Burnetii / J. Williams, M. Johnston [et al.] // Infect. Immun. – 1984. – V. 43. – P. 789–794.
217. Wittenbrink, M. Einfluss von Bestands — und Tierfaktoren auf den Nachweis komplementbindender Antikörper gegen Coxiella burnetii beim Rind / M. Wittenbrink [et al.] // Berl. u. Munch. Tierarztl. Wschr. – 1994. – N. 107 (6). – P. 185–191.
218. Yanase, T. Detection of Coxiella burnetii from dust in barn housing dairy cattle / T. Yanase, Y. Muramatsu, I. Inouye, T. Okabayashi, H. Ueto, C. Morita // Microbiol. Immunol. – 1998. – N. 42 (1). – P. 51–53.

Содержание

Предисловие	5
Foreword	7
ВВЕДЕНИЕ	9
1. ПРЕДСТАВИТЕЛИ ПОРЯДКА <i>RICKETTSIALES</i>	14
1.1. Таксономия риккетсий, микроэкология, круг хозяев и среда естественного обитания	14
Семейство <i>Rickettsiaceae</i>	14
Микроэкология возбудителей	16
1.2. Биологические свойства риккетсий	22
Морфологические и тинкториальные свойства	22
Антигенное строение риккетсий, культуральные и физиологические особенности	24
Генетическая характеристика	26
Факторы патогенности	28
Устойчивость к факторам внешней среды	29
1.3. Клинические проявления, иммунитет и эпидемиология в связи с особенностями инфекционного процесса	30
Основные нозологические формы	31
Особенности клинического и эпидемиологического проявле- ния риккетсиозов	41
1.4. Лабораторная диагностика	45
Микробиологическая диагностика риккетсиозов	45
Серологическая диагностика	51
1.5. Определение чувствительности к антибактериальным препаратам, лечение и профилактика	55
1.6. Анаплазмозы человека	56
Этиология и таксономия	56
Микроэкология возбудителя, основные хозяева и среда естественного обитания	60
Морфологические и тинкториальные свойства	61
Физиологические особенности возбудителей	63
Устойчивость к факторам внешней среды	63
Антигенная структура	64
Генетическая характеристика	65
Факторы патогенности	66
1.7. Эпидемиология, патогенез, клинико-лабораторные, патоморфологические особенности проявления, иммунитет, профилактика и лечение анаплазмозов	66
Патогенез и патологоанатомическая картина	66
Определение чувствительности к антибиотикам	67

Моноцитарный эрлихиоз человека (МЭЧ). Эпидемиология, клиничко-лабораторные и патоморфологические особенности	68
Гранулоцитарный анаплазмоз человека (ГАЧ)	73
Лабораторная диагностика	75
Лечение и профилактика	77
1.8. Род Neorickettsia и Wolbachia	77
Лихорадка сеннетсу	78
Лихорадка Потомак	79
Другие инфекции, вызванные неориккетсиями	79
Род Wolbachia	80
2. АНАПЛАЗМОЗ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА	81
2.1. Этиологические и таксонометрические особенности	83
2.2. Диагностика анаплазмозов животных	85
Эпизоотологические данные	86
Клиническая картина и патогенез	90
Патологоанатомическая картина	98
Микроскопия	101
Серологическая диагностика	103
Генотипическая идентификация выделенных от больных животных культур и таксономическое положение полученных штаммов	107
2.3. Терапия и профилактика анаплазмозов	108
2.4. Роль клещей — основных переносчиков возбудителя анаплазмоза	115
2.5. Распространение анаплазмоза крупного рогатого скота и его ассоциаций с другими инфекциями в зоне Южного Урала и Западной Сибири	122
2.6. Морфологические, ультраструктурные и молекулярно-генетические свойства возбудителя и его локализация в клетках крови	133
2.7. Клиничко-морфологические изменения у спонтанно и экспериментально инфицированных <i>A.sp.Omsk</i> животных	138
2.8. Усовершенствование методов диагностики анаплазмоза	142
2.9. Материалы экспериментального и производственного испытания реакции непрямой иммунофлуоресценции для диагностики анаплазмоза	146
Диагностическая ценность РНИФ в производственных условиях	149
Определение с помощью РНИФ роли клещей, основных переносчиков анаплазмоза крупного рогатого скота, в передаче возбудителя инфекции	150

2.10. Анаплазмозный эритроцитарный диагностикум (активность, специфичность и диагностическая ценность)	154
2.11. Лечение крупного рогатого скота при анаплазмозе, в том числе ассоциированном с другими инфекциями, и их экономическое обоснование	157
Схемы лечения при анаплазмозе крупного рогатого скота	157
Экономическое обоснование схем лечения	163
Расчёт экономической эффективности схем лечения	165
3. ЛИХОРАДКА КУ (КОКСИЕЛЛЕЗ) КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА	168
3.1. Этиологические и эпизоотологические особенности коксиеллёза	170
3.2. Роль грызунов и клещей — основного резервуара коксиеллёза в природе	180
3.3. Методы лабораторной диагностики коксиеллёза у животных	182
Серологическая диагностика	183
Реакция связывания компонента.	184
Реакция непрямой гемагглютинации.	186
Реакция иммунофлуоресценции	188
3.4. Экспериментальные данные	190
3.5. Эпизоотическая ситуация по коксиеллёзу, а также ассоциативным формам его проявления в хозяйствах Омской области	192
3.6. Инфицированность основных переносчиков коксиеллёза в Омской области	199
Инфицированность коксиеллами мышевидных грызунов.	200
Инфицированность коксиеллами клещей	201
Морфологические и тинкториальные свойства коксиелл	202
3.7. Лабораторные методы диагностики коксиеллёза и их значение для практики	203
Получение коксиеллёзного антигена и диагностической коксиеллёзной сыворотки для РНИФ	203
Контроль на чувствительность, специфичность и активность коксиеллёзной сыворотки в РНИФ	205
Чувствительность РНИФ и РПИФ при коксиеллёзе крупного рогатого скота в производственных условиях	206
Изготовление коксиеллёзного эритроцитарного диагностикума для РНГА	209
Специфичность и активность КЭД в РНГА	211
Диагностическая ценность РНИФ и РНГА в производственных условиях	212
Биологический метод диагностики	217

ЗАКЛЮЧЕНИЕ	219
Библиографический список	240
<i>К главе 1</i>	240
<i>К главе 2</i>	245
<i>К главе 3</i>	259

Научное издание

Красиков, Александр Пантелеевич
Рудаков, Николай Викторович

РИККЕТСИОЗЫ, КОКСИЕЛЛЕЗ И АНАПЛАЗМОЗЫ ЧЕЛОВЕКА
И ЖИВОТНЫХ

Монография

Редактор Г. И. Евсева
Компьютерная вёрстка Н. Н. Кокин

Сдано в набор 15.03.13. Подписано к печати 24.04.13. Формат 60x84/16.
Бумага офисная. Гарнитура Times New Roman. Печать оперативная.
Усл.-печ. л. 17,2. Уч.-изд. л. 17,2. Тираж 300. Заказ 76.
Издательский центр «Омский научный вестник»
Тел.: 8-905-921-98-22. E-mail: evga-18@mail.ru
Отпечатано в ООО «Полиграфический центр «Кан»
г. Омск, ул. Красный Путь, 30а