

УДК 619:636.294:576.89
DOI 10.52419/issn2072-2419.2022.4.77

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ АНАПЛАЗМОЗА И ЭРЛИХИОЗА У СЕВЕРНЫХ ОЛЕНЕЙ НЕНЕЦКОГО АВТОНОМНОГО ОКРУГА

Бессолицына Е.А.1 – к.б.н., научный сотрудник (ORCID 0000-0002-5582-1709); Николаев С.В.2 – к.в.н., научный сотрудник (ORCID 0000-0001-5485-4616); Романенко Т.М.2 – к.б.н., ведущий научный сотрудник (ORCID 0000-0003-0034-7453) 1 ФАНЦ Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого; 2 Институт агробиотехнологий им. А.В. Журавского Коми научного центра УрО РАН

Ключевые слова: северный олень, полимеразная цепная реакция, трансмиссивные заболевания, анаплазмоз, эрлихиоз.

Keywords: reindeer, polymerase chain reaction, vector-borne diseases, anaplasmosis, ehrlichiosis.

РЕФЕРАТ

Трансмиссивные заболевания представляют серьезную угрозу санитарно-эпидемиологическому благополучию человека. Как правило, источником возбудителей данной группы болезней, принято считать животных-носителей, которые могут сохранять патогена в своем организме пожизненно. Меняющиеся условия климата приводят к изменению ареала обитания насекомых-переносчиков, что неизбежно влечет к расширению географических границ трансмиссивных инфекций. Цель работы – изучить распространенность анаплазмоза и эрлихиоза среди северных оленей Ненецкого автономного округа. Материалом для исследований служила стабилизированная ЭДТА венозная кровь от северных оленей (*Rangifer tarandus*) ненецкой породы. Наличие возбудителя в образце определяли методом ПЦР. Доказано, что зараженность северных оленей анаплазмозом в среднем составляет 14,3%, при этом важеньки имеют наибольшую экстенсивность инвазии – 21,4%, тогда как самцы и телята в меньшей степени поражены возбудителем (9,1% и 12,5% соответственно). Инфицированность животных эрлихиозом оказалась более значительной: ДНК эрлихий присутствовало в 44,9% проб, при этом зараженность важенок составила 57,1%, телят – 37,5%, хоров – 45,5%. Морфологический состав крови здоровых и инфицированных северных оленей по ряду показателей не имел достоверных отличий, что указывает на скрытое хроническое течение заболевания. Таким образом, результаты работы свидетельствуют, что анаплазмоз и эрлихиоз имеет широкое распространение среди северных оленей, обитающих в Малоземельской тундре, которые служат естественным резервуаром для данных возбудителей.

ВВЕДЕНИЕ

Инвазионные и инфекционные болезни являются наиболее актуальной проблемой развития оленеводства [1,5]. Вопросы распространенности гельминтозов и энтомозов среди северных оленей на территории РФ достаточно хорошо изучены, тогда как сведения о встречаемости

трансмиссивных заболеваний у данного вида животных в отдельных субъектах страны представлены недостаточно, что главным образом связано со спецификой отрасли [6,8]. Также стоит отметить трудности проведения диагностических исследований на носительство возбудителей данной группы болезней с использовани-

ем традиционных лабораторных методов [2,7].

Источниками трансмиссивных болезней, как правило, являются больные животные, которые могут сохранять возбудителя в своем организме пожизненно. Основными переносчиками возбудителей принято считать кровососущих насекомых, в частности иксодовых клещей, поэтому максимальное количество животных с острым течением болезни регистрируют обычно в июне-июле, что связано с высокой активностью имаго [2,4]. Стоит отметить, что ареал клещей ограничен Арктической зоной, однако меняющиеся условия климата и повышение среднегодовой температуры на Земле приводят к изменению ареала клещей, что ухудшает эпизоотологическую обстановку по данной группе болезней [3,4]. Также присутствуют предположения о существовании природных очагов за пределами северных границ [9]. Поэтому изучение заболеваемости северных оленей в Арктической зоне может расширить представления о эпизоотологии возбудителей трансмиссивных болезней.

Цель работы – изучить распространенность анаплазмоза и эрлихиоза среди северных оленей Ненецкого автономного округа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа проведена в 2022 году в лаборатории сельскохозяйственной геномики (Институт агробиотехнологий им. А.В. Журавского Коми НЦ УрО РАН, г. Сыктывкар), лаборатории молекулярной генетики и селекции (ФАНЦ Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого, г. Киров) и лаборатории иммунобиологического анализа

биологических объектов (центр коллективного пользования ВятГАТУ, г. Киров). Материалом для исследований служила стабилизированная ЭДТА венозная кровь от разных половозрастных групп северных оленей (*Rangifer tarandus*) ненецкой породы, полученная во время планового убоя. Животные принадлежали двум семейно-родовым общинам Ненецкого автономного округа: «Опседа» и «Вы Ту» (Малоземельская тундра).

На первом этапе исследований проводили молекулярную диагностику на носительство анаплазмоза и эрлихиоза. ПЦР осуществляли на амплификаторе ТП4-ПЦР-01 «Терцик». Выделение ДНК осуществляли гуанидин-изотиоцианатным методом по стандартной процедуре. Продукты ПЦР разделяли с использованием метода вертикального электрофореза в 6,0 % полиакриламидном геле [10]. Для подбора нуклеотидной последовательности праймеров (табл. 1) использовали биоинформационную базу данных ncbi.nlm.nih.gov и программу AliBee-Multiple alignment Release 3.0.

На втором этапе у здоровых и инфицированных животных на автоматическом анализаторе URIT-3020 изучали гематологический состав крови. Достоверность различий сравниваемых величин оценивали с использованием критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

На рисунке 1 и в таблице 2 показаны результаты ПЦР исследований северных оленей на анаплазмоз.

Полученные лабораторные данные свидетельствуют, что зараженность северных оленей анаплазмозом в среднем

Таблица 1

Олигонуклеотидная последовательность праймеров для постановки ПЦР

Возбудитель	Название праймера	Олигонуклеотидная последовательность	Размер ампликона
Ehrlichia spp.	Erl dif F	5'-AAATTGGTACAACACAAGCACAAAG-3'	145 п.н
	Erl dif R	5'-TCTACTTCTTGTTCAGAAGTTGAAC-3'	
Anaplasma spp.	Ana F	5'-GTGAGAGACTATCACGTTGATAGG-3'	204 п.н.
	Ana R	5'-AATGTTACCGGGTGTTCCTACTCC-3'	

составляет 14,3%, при этом важенки имеют наибольшую экстенсивность инвазии – 21,4%, тогда как у самцов и телят показатель ниже на 12,3% и 8,8% соответственно.

Результаты анализа крови северных оленей на наличие в ней генетического материала возбудителя эрлихиоза показан на рисунке 2 и в таблице 3. Согласно полученным результатам, можно утверждать, что инфицированность животных эрлихиозом оказалась более значительной, по сравнению с анаплазмозом. Так, ДНК возбудителя было обнаружено в 44,9% проб. Наиболее часто были заражены важенки – 57,1% и реже телята – 37,5%. Хоры являлись носителями *Ehrlichia* spp. в 45,5% случаев. Стоит отметить и тот факт, что у 6 животных наблюдалась совместное протекание анаплазмоза и эрлихиоза.

Морфологический состав крови здоровых и инфицированных анаплазмозом и эрлихиозом северных оленей (табл. 4) по ряду показателей не имел достоверных отличий, исключением можно считать только среднее содержание гемоглобина в эритроците. Так, у инфицированных животных показатель был выше на 4,5% ($P \leq 0,05$), по сравнению с здоровыми.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Молекулярно-генетические исследования крови свидетельствуют, что зараженность северных оленей обитающих в Ма-

лоземельской тундре анаплазмозом составляет 14,3%, а эрлихиозом – 44,9%. При этом, анаплазмоз в 85,7% случаев протекал сочетано с эрлихиозом. Указанные трансмиссивные болезни главным образом регистрируются у важенок, и реже встречаются у телят и хоров. Морфологический состав крови инфицированных животных не имеет выраженных различий с показателями крови здоровых животных, что указывает на скрытое течение инфекций в виде носительства. Таким образом, северные олени являются природным резервуаром данных возбудителей в Малоземельской тундре.

Исследования выполнены в рамках государственного задания Минобрнауки России № FGMW 2019-0051 и проекта межрегионального научно-образовательного центра мирового уровня «Российская Арктика: новые материалы, технологии и методы исследования».

PREVALENCE OF ANAPLASMOSIS AND EHRLICHIOSIS IN REINDEER OF THE NENETS AUTONOMOUS OKRUG

Bessolitsyna E.A. 1 – Candidate of Biological Sciences, researcher; Nikolaev S.V. 2 – Candidate of Veterinary Sciences, researcher; Romanenko T.M. 2 – Candidate of Biological Sciences, leading researcher 1 N. V. Rudnitsky North-East Research Center; 2 Institute of Agro-Biotechnologies named after A.V. Zhurav-

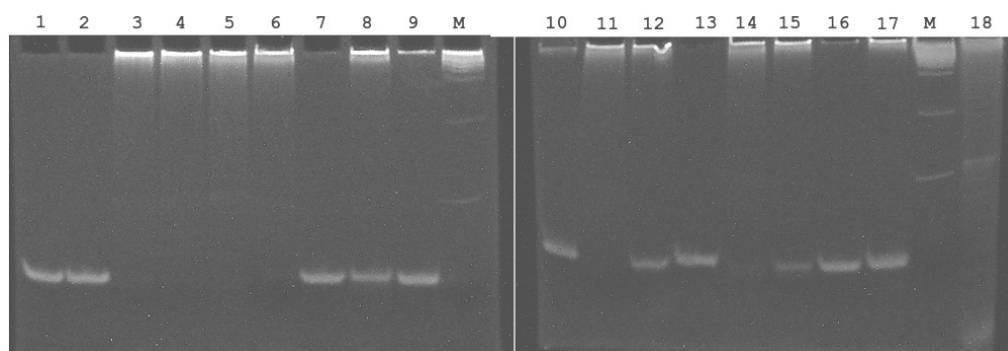


Рисунок 1. Гель-электрофорез в нативном ПААГ 6% ПЦР ДНК на выявление *Anaplasma* spp. Дорожки 1 – 17 образцы крови, дорожка 18 – отрицательный контроль, М – маркер длин фрагментов ДНК Сибэнзим. Ожидаемый размер фрагмента – 204 п. н.

Таблица 2

Результаты исследований крови северных оленей на анаплазмоз

Половозрастная группа	Обследовано животных	Выявлено носителей	
		n	%
Телята	24	3	12,5
Важенки	14	3	21,4
Хоры	11	1	9,1
Всего	49	7	14,3

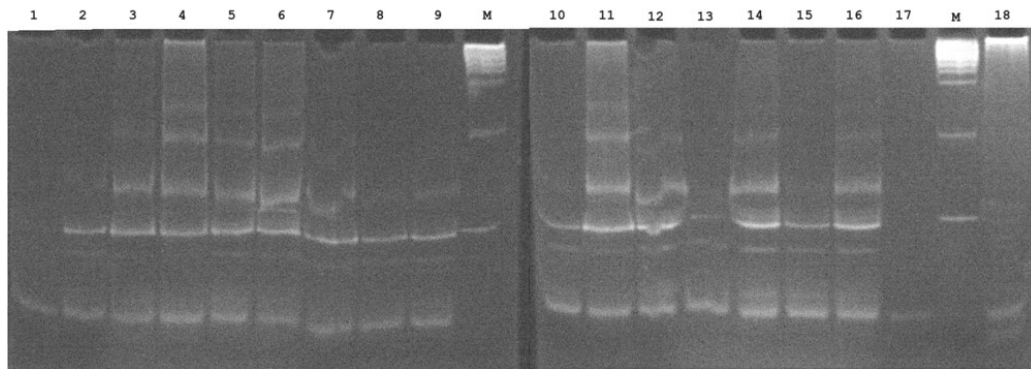


Рисунок 2. Гель-электрофорез в нативном ПААГ 6% ПЦР ДНК на выявление *Ehrlichia* spp. Дорожки 1 – 17: образцы крови, дорожка 18 – отрицательный контроль, М – маркер длин фрагментов ДНК Сибэнзим. Ожидаемый размер фрагмента – 124...130 п. н.

Таблица 3

Результаты исследований крови северных оленей на эрлихиоз

Половозрастная группа	Обследовано животных	Выявлено носителей	
		n	%
Телята	24	9	37,5
Важенки	14	8	57,1
Хоры	11	5	45,5
Всего	49	22	44,9

sky Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences

ABSTRACT

Vector-borne diseases pose a serious threat to the sanitary and epidemiological well-being of a person. As a rule, the source of pathogens of this group of diseases is considered to be carrier animals that can keep the pathogen in their body for life. Changing climate conditions lead to changes in the habitat of insect vectors, which inevitably

leads to the expansion of the geographical boundaries of vector-borne infections. The aim of the work is to study the prevalence of anaplasmosis and ehrlichiosis among reindeer of the Nenets Autonomous Okrug. The material for the research was stabilized EDTA venous blood from reindeer (*Rangifer tarandus*) of the Nenets breed. The diagnosis was established by PCR. It has been proved that the infection of reindeer with anaplasmosis averages 14.3%, while vazhenki have the greatest extent of invasion – 21.4%,

Таблица 4

Сравнительная характеристика морфологического состава крови у здоровых и инфицированных анаплазмозом и эрлихиозом животных

Показатель	Здоровые n=26	Инфицированные n=23
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	$3,3 \pm 0,4$	$2,9 \pm 0,5$
Эритроциты, $\times 10^{12}/\text{л}$	$10,6 \pm 0,6$	$10,1 \pm 0,6$
Гемоглобин, г/л	$166,4 \pm 8,8$	$164,6 \pm 9,0$
Гематокрит, %	$51,4 \pm 2,7$	$51,5 \pm 2,9$
Средний объем эритроцита, фл	$48,4 \pm 0,4$	$51,2 \pm 0,7$
Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг/мл	$15,7 \pm 0,2$	$16,4 \pm 0,2^*$
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	$166,4 \pm 36,2$	$120,2 \pm 20,8$
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците, г/л	$323,8 \pm 2,2$	$320,3 \pm 2,2$
Показатель анизоцитоза эритроцитов, %	$24,0 \pm 1,0$	$22,1 \pm 1,0$
Средний объем тромбоцита, фл	$3,3 \pm 0,4$	$2,9 \pm 0,5$
Лейкограмма		
Нейтрофилы, %	$55,3 \pm 4,3$	$59,7 \pm 4,9$
Эозинофилы, %	$0,0 \pm 0,0$	$0,1 \pm 0,1$
Базофилы, %	$1,0 \pm 0,3$	$0,6 \pm 0,1$
Лимфоциты, %	$42,0 \pm 4,1$	$38 \pm 4,8$
Моноциты, %	$1,6 \pm 0,4$	$1,6 \pm 0,3$
Абсолютное содержание лейкоцитов		
Нейтрофилы, $\times 10^9/\text{л}$	$1,81 \pm 0,28$	$1,78 \pm 0,35$
Эозинофилы, $\times 10^9/\text{л}$	$0,00 \pm 0,00$	$0,01 \pm 0,00$
Моноциты, $\times 10^9/\text{л}$	$0,05 \pm 0,01$	$0,05 \pm 0,01$
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	$1,39 \pm 0,22$	$1,05 \pm 0,23$
Базофилы, $\times 10^9/\text{л}$	$0,03 \pm 0,01$	$0,02 \pm 0,01$

* Достоверно $P \leq 0,05$ по отношению к здоровым животным

while males and calves are less affected by the pathogen (9.1% and 12.5%, respectively). Infection of animals with ehrlichiosis turned out to be more significant: DNA of ehrlichiae was present in 44.9% of samples, while the infection of vazhenok was 57.1%, calves – 37.5%, choirs – 45.5%. The morphological composition of the blood of healthy and infected reindeer had no significant differences in a number of indicators, which indicates a latent chronic course of the disease. Thus, the results of the work indicate that anaplasmosis and ehrlichiosis are widespread among reindeer living on the territory of the Low-Earth tundra, which serve as a natural reservoir for these pathogens.

ЛИТЕРАТУРА

1. Nikolaev S. Pharmacological evaluation of a complex drug against anthrax and parasitosis of Rangifer tarandus. FASEB Journal. 2022. Т. 36. № S1. P. 04412. <https://doi.org/10.1096/fasebj.2022.36.S1.R4412>
2. Бурсаков С.А. Молекулярная диагностика тейлериоза крупного рогатого скота// Паразитология. 2021. Т. 55. № 1. С. 32-47.
3. Бурсаков С.А. Тейлериоз крупного рогатого скота// Ветеринария. 2021. № 3. С. 34-36.
4. Волков С.А., Бессолицына Е.А., Столбова Ф.С., Дармов И.В. Анализ инфицированности клещей видов Ixodes persulcatus и Dermacentor reticulatus возбудителя-

- ми трансмиссивных заболеваний на территории Кировской области//Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6. № 2. С. 173-178.
5. Казановский Е.С. Ветеринарные проблемы северного оленеводства и совершенствование проведения массовых лечебно-профилактических мероприятий//Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2017. № 4 (59). С. 44-47.
6. Казановский Е.С., Карабанов В.П., Клебenson К.А. Энтомозы северных оленей и методы борьбы с ними // Ветеринария. 2018. № 11. С. 31-33.
7. Либерман Е.Л., Силиванова Е.А., Георгиу Х. Эпизоотология анаплазмоза и babesиоза северного оленя в Тюменской области// Вестник Тюменского государственного университета. Экология и природопользование. 2012. № 6. С. 25-30.
8. Самойловская Н.А., Успенский А.В., Новосад Е.В., Гулюкин Е.А., Малышева Н.С., Буренок А.С., Орлова И.И., Белоусова И.Н. Гемоспориозы сельскохозяйственных, домашних и диких животных на территории Российской Федерации // Российский паразитологический журнал. 2015. № 3. С. 37-44.
9. Степанова Т.Ф., Брагина Е.А., Катин А.А., Нечепуренко Л.А., Харьков В.В., Леонтьева С.А., Шуман В.А. О возможности существования природных очагов клещевых инфекций за пределами северных границ обитания таежных клещей // Здоровье населения и среда обитания. 2017. № 10 (295). С. 50-56.
10. Sambrook J., Fritsch T., Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual. NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, 1626 p.
- REFERENCES**
1. Nikolaev S. Pharmacological evaluation of a complex drug against ulcers and parasitosis Rangifer tarandus. Magazine FASEB. 2022. Vol. 36. No. S1. P. 04412. <https://doi.org/10.1096/fasebj.2022.36.S1.R4412>
2. Bursakov S.A. Molecular diagnostics of bovine泰勒iosis// Parasitology. 2021. Vol. 55. No. 1. pp. 32-47. (In Russ.)
3. Bursakov S.A. Teyleriosis of cattle// Veterinary medicine. 2021. No. 3. pp. 34-36. (In Russ.)
4. Volkov S.A., Bessolitsyna E.A., Stolbova F.S., And Darmov.B. Analysis of infection of ixode mites of taiga mite species and Dermacentor reticulatus by pathogens of vector-borne diseases in the territory of the Kirov region//Infection and immunity. 2016. Vol. 6. No. 2. pp. 173-178. (In Russ.)
5. Kazanovsky E.S. Veterinary problems of reindeer husbandry and improvement of mass therapeutic and preventive measures// Agrarian science of the Euro-North-East. 2017. No. 4 (59). pp. 44-47. (In Russ.)
6. Kazanovsky E.S., Karabanov V.P., Klebenson K.A. Entomoses of reindeer and methods of combating them // Veterinary medicine. 2018. No. 11. pp. 31-33. (In Russ.)
7. Lieberman E.L., Silivanova E.A., Georgiu H. Epizootology of anaplasmosis and babesiosis of reindeer in the Tyumen region// Bulletin of the Tyumen State University. Ecology and nature management. 2012. No. 6. pp. 25-30. (In Russ.)
8. Samoilovskaya N.A., Uspensky A.V., Novosad E.V., Gulyukin E.A., Malysheva N.S., Burenok A.S., Orlova I.I., Belousova I.N. Hemosporidiosis of agricultural, domestic and wild animals in the territory of the Russian Federation // Russian Parasitological Journal. 2015. No. 3. pp. 37-44. (In Russ.)
9. Stepanova T.F., Bragina E.A., Katin A.A., Nechipurenko L.A., Kharkiv V.V., Leontieva S.A., Shuman V.A. On the possibility of the existence of natural foci of tick-borne infections outside the northern borders of the taiga mite habitat // Public health and habitat. 2017. No. 10 (295). pp. 50-56. (In Russ.)
10. Sambrook J., Fritsch T., Maniatis T. Molecular cloning: Laboratory manual. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, 1626 p.