

**ТУЛАРЕМИЯ ПРИ ЧАКАЛИ В БЪЛГАРИЯ – ВЪЗМОЖЕН ВЕКТОР ЗА ПРЕДАВАНЕ
НА ИНФЕКЦИЯТА**

Д. Илиева¹, Е. Илиев², М. Сталева¹ и Й. Петров¹

¹Национален диагностичен научноизследователски ветеринарномедицински институт – София

²Българска агенция по безопасност на храните

**TULAREMIA IN JACKALS IN BULGARIA – POSSIBLE VECTOR FOR TRANSMISSION
OF THE INFECTION**

D. Ilieva¹, E. Iliev², M. Staleva¹ and J. Petrov¹

¹National Diagnostic Research Institute – Sofia, Bulgaria

²Bulgarian Food Safety Agency

Резюме. Изследвани бяха 109 кръвни серума от чакали от 15 области в България. Единадесет кръвни проби бяха със сигнификантен титър 1:40 и 10 кръвни проби бяха с високи титри (1:80 и 1:160). Сигнификантният титър индикира, че заболяването е латентно, тъй като агентът е вътреклетъчна бактерия. Инфекциозните титри са указание за първоначална инфекция с туларемия или за повторно заразяване на чакалите и за възможността причинителят на туларемия да се разпространи чрез вектори.

Ключови думи: туларемия, чакали/вектор на предаване на инфекция

Summary. Blood serums of 109 jackals from 15 districts of Bulgaria were tested. 11 blood samples were with significant titer 1:40 and 10 blood samples – with high titers (1:80 and 1:160). Significant titer indicate that the disease is latent, as the agent is an intracellular bacteria. The infectious titers are an indication of initial infection with tularemia or recontamination of the jackals and the possibility for the agent of tularemia to be spread by vectors.

Key words: tularemia, jackals/vector for transmission of infection

Туларемията е природноогнищна зооноза. Причинява се от Gram(-), аерогенна бактерия *Francisella tularensis*, която е вирулентна за хора, гризачи, животни с ценни кожи, различни видове домашни животни, хищници, птици, риби и влечуги.

В исторически аспект Wormius (1653) за първи път описва туларемията като „болест на лемингите“. През 1912 г. *Fr. tularensis* е изолирана за първи път от McCoу и Chapin

от умрели лалугери в област Туларе, Калифорния, откъдето заболяването получава името си.

В литературата се срещат данни за изолиране на *Fr. tularensis* от над 250 вида диви животни, потенциални източници на инфекция. От тях основен източник и резервоар на зоонозата са диви и питомни зайци и по тези причини заболяването е известно още като „заешка треска“. Много често дивите зайци

са силно инвазирани от кърлежи, които трансмитират инфекцията към хората и към различни видове животни.

На базата на биохимичните си отнасяния – ферментирание на глицерол и вирулентност към зайци, *Fr. tularensis* се разделя на 4 подвида – *tularensis*, *holarctica*, *mediasiatica* и *novicida*. *Fr. mediasiatica* е характерна за Централна Азия и Русия, а *Fr. novicida* е по-малко проучена (Боновска, 2012).

За хората са патогенни 2 биовара, *Fr. tularensis*, биовар *tularensis* (тип А) и биовар *holarctica* (тип В). Тип А е основен биовар, разпространен в Северна Америка. Той се свързва със зайци, силно вирулентен е, причинява тежка клинична картина и без лечение леталитетът при хората възлиза на 8%. Тип В е биовар, който се среща в Евразия и най-често се асоциира с гризачи. Заболяването протича по-леко и в субклинична форма. Болестта не се предава от човек на човек. Хората се включват случайно в епидемичната верига (Комитова, 2012).

Заразяването на индивидите може да се осъществи по няколко начина: алиментарно – чрез прием на замърсена от болни гризачи вода, храна и фуражи, които директно или индиректно предават инфекцията; аерогенно – от прахова инфекция или проникване на агента чрез контактно-битов път през кожата и лигавиците – най-често при дране на кожи на зайци, лисици и пр. По тези причини често пъти заболяват селскостопански работници, ветеринари, еколози, ловци и др. Трансмисията на инфекцията при хората и домашните животни е възможна от артроподи – кърлежи от родовете *Haemophysalis*, *Rhipicephalus*, *Ixodes* и др. Кръвосмучещите инсекти – табаниди, оводи, бълхи, въшки и по-специално комарите в някои географски ареали, могат да бъдат значим фактор за трансфериране на заболяването (Eliasson et al., 2006; Боновска, 2012).

Начинът на въздействие на *Fr. tularensis* е с потенциал да причини висока смъртност, лесна дисеминация и заразяване на хората със съвсем малко количество от нея – 10-50 бактерии. По тези причини *Fr. tularensis* фи-

гурира в списъка на особено опасните инфекции с потенциален риск за биологично оръжие (Murray et al., 1998). Ето защо през последните години в България са разработени съвременни методи за диференциране и генотипизиране на щамове на *Fr. tularensis*, изолирани у нас (Marinov et al., 2009; Велинов, 2011).

За периода 2013-2014 г., в Европейския съюз няма регистрирани смъртни случаи от туларемия при хора (EFSA и ECDC, 2015). В България през последните няколко години са докладвани само по 1-2 случая на туларемия, а през 2014 г. липсват случаи на заболяване при хора. През същата година в Родопите, област Смолян, са забелязани зайци с некоординирани движения и умрели, които са диагностицирани с туларемия. През 2015 г. заболяването се появява спорадично в областите – София-област, Ямбол, Бургас, Пловдив и Стара Загора, като до март 2015 г. са отбелязани 16 случая с туларемия при хора (Anonymous, 2015).

Fr. tularensis е облигатен вътреклетъчен кокобацил *in vivo*, размножава се в мононуклеарни фагоцитиращи клетки и циркулирайки в кръвта, поражая лимфопоеичната система. Откриването на специфични антитела в серума на болни индивиди е най-често прилаганият лабораторен метод за диагностика на тази зооноза и границите на разпространение на инфекцията са определени предимно чрез серологични изследвания.

Проучванията за туларемия у нас при различни видове животни са малко и са докладвани предимно при едри и дребни преживни животни, коне, свине, кучета, диви зайци (Коруджийски и сътр., 2004; Иванова, 2009; Иванова и Илиев, 2010; Иванова, 2012; Иванова, 2016), както и при лисици (Иванова и Илиева, 2010; 2015).

До настоящия етап не е провеждан серологичен скрининг сред популацията от чакали като вектор за разпространение на туларемията. Във връзка с това си поставихме за цел да проведем изследване на кръвни серуми от чакали, получени от различни региони на страната.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

В скрининговите изследвания за туларемия бяха включени 109 кръвни серума от чакали, получени в НРЛ „Бяс и контрол на ефективността от ваксинирането“ през периода м. октомври 2015 – м. март 2016 г. от 15 области на страната във връзка с провеждане на орална ваксинация срещу бяс при дивите хищници. Преди провеждане на серологичния скрининг за туларемия пробите от мозъци на същите чакали бяха предварително изследвани по метод ФАТ и диагностицирани с негативен резултат за вируса на беса. Кръвните проби за установяване наличието на антитела за туларемия от Северозападна и Западна България бяха 30 бр., а от Северна и Североизточна България – 79 бр. В Северозападна и Западна България бяха изследвани 5 области (Враца, Монтана, Кюстендил, Перник и София-област). В Северна и Североизточна България – 10 области (Видин, В. Търново, Плевен, Ловеч, Търговище, Добрич, Силистра, Русе, Разград и Шумен).

Кръвните серуми от чакали престояваха в термостат 2 h, след което бяха центрофугирани при 1800 rpm/10 min с центрофуга MR23i и изследвани чрез реакция капкова аглутина-

ция. Антигенът представлява инактивирана бактериална суспензия на *Fr. tularensis* във фосфатен буфер, стабилизирана с 0,3% фенол (Bioveta, Р. Чехия). Антигенът е калибриран чрез стандартен положителен и отрицателен серум за лесно видима аглутинационна реакция. Диагностикумът съдържа положителен заешки серум на щам *Fr. tularensis*, който се използва за положителна контрола, и физиологичен разтвор – отрицателна контрола. Отчитането на аглутинацията е на стайна t° между 20-25°C за 1-3 min. Положително реагиралите кръвни серуми бяха диференцирани по трикръстната система с (1+; 2+ и 3+). Титърът на антителата беше определен съгласно упътването към търговския кит.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Анализът на данните от серологичния скрининг за туларемия на 79 кръвни серума от чакали, получени от 10 области в Северна и Североизточна България, показва, че в 11 кръвни серума (14%) се установяват антитела за туларемия, като при 5 броя (46%) титърът е сигнификантен 1:40; при 3 броя (27%) – 1:80, и при 3 броя (27%) титърът е 1:160 (табл. 1).

Таблица 1. Серологични изследвания за туларемия на кръвни проби от чакали от 14 ОДБХ в страната

Региони	Кръвни проби	Установяване на антитела в кръвни серуми	Титър на антитела		
			1:40	1:80	1:160
I. Северна и Североизточна България					
1. Видин	14	4	2	1	1
2. В. Търново	10	–	–	–	–
3. Плевен	2	–	–	–	–
4. Ловеч	2	–	–	–	–
5. Търговище	2	–	–	–	–
6. Добрич	8	–	–	–	–
7. Силистра	33	5	1	2	2
8. Русе	2	1	1	–	–
9. Разград	4	–	–	–	–
10. Шумен	2	1	1	–	–
	79	11 (14%)	5 (46%)	3 (27%)	3 (27%)
II. Северозападна и Западна България					
1. Враца	8	2	1	–	1
2. Монтана	4	–	–	–	–
3. Кюстендил	13	3	2	1	–
4. Перник	2	3	2	1	–
5. София-област	3	2	1	1	–
	30	10 (33%)	6 (60%)	3 (30%)	1 (10%)
ОБЩО: I + II (%)	109	21 (19,3%)	11 (52%)	6 (29%)	4 (19%)

Кръвните серуми от чакали от Северозападна и Западна България произхождаха от 5 области на страната. Проведените серологични изследвания са отразени в табл. 1. Нашите резултати показват, че 10 броя (33%) от изследваните 30 кръвни проби са с антитела за туларемия. При определяне на титъра им 6 броя (60%) са с показателен титър 1:40, 3 броя (30%) са с титър от 1:80 и 1 кръвна проба съдържа антитела с титър 1:160.

Причинителят на туларемията е сред причинителите на кръвни инфекции. От патогенезата на заболяването е известно, че проникнал в организма, най-често през кожата и лигавиците, той се локализира на входната врата и се установява в макрофагите, където се размножава в киселата среда на фагозомите. По лимфен път *Fr. tularensis* достига регионалните лимфни възли и причинява лимфаденит (туларемия бубон). Оттам хематогенно се разпространява из целия организъм (септицемия) и вторично се локализира в лимфни възли, далак, черен дроб и други органи и системи с възникване на милиарни абсцеси, некрози, пневмонии, менингити и пр.

При анализ на получените от нас данни, показани на табл. 1, при 11 чакала от 8 области бяха отчетени показателни титри 1:40, което според някои автори е указание, че причинителят циркулира в хемопоеичната система и е вътреклетъчна бактерия (Коруджийски и сътр., 2004). Животните със сигнификантни титри са природен резервоар за заразяване на кръвосмучещи артроподи и членестоноги. Установените високи титърни стойности в границите от 1:80 и 1:160 при 10 чакала от 6 области на страната (Видин, Враца, София-област, Кюстендил, Перник и Силистра) са показател за присъствието и разпространението на причинителите на туларемията инфекция, тъй като аглутинините персистират с години. През 2003 г. епидемия е имало в област Перник, 2005 г. – в област Русе, и 2006 г. – в област Шумен. Съобщени са множество спорадични случаи и в някои по-отдалечени от огнището райони – Видин, Враца и др.

(Kantardjiev et al., 2006; Маринов и сътр., 2011). През 2009 г. нови случаи възникват в областите: Перник, София-област, Видин и Враца (Маринов и сътр., 2011). Според Коруджийски и сътр. (2004) високите титри са доказателство, че животните са индикатор на туларемията при хората.

В изследванията на някои автори е доказано, че клинично изявяване на туларемията при дивите месоядни е рядкост (Morgan, 1949). В наши изследвания, проведени през 2010-2014 г., на общо 359 лисици от 15 ОДБХ обаче беше установен висок процент на антитела срещу туларемия, който се движи в границите от 53 до 83%. Тези данни индиректно, че лисиците са природен резервоар и вектор на трансмисия на *Fr. tularensis* (Иванова и Илиева, 2010; 2015).

Проведените скринингови изследвания на кръвни проби от чакали от 15 ОДБХ в страната показват, че причинителят на туларемия циркулира сред тях, заедно с други вектори (диви зайци, мишевидни гризачи и кръвосмучещи инсекти, кърлежи и др.). При извършените от нас серологични изследвания на чакали, сигнификантни и инфекциозни титри бяха открити в 8 области, където преди години са регистрирани случаи на туларемия при хора. При изследване на серуми от чакали, отстреляни през последните 1-2 години по оралната ваксинация срещу бяс в страната, произхождащи от споменатите по-горе области, установихме, че процентът на антитела срещу туларемия не е висок и възлиза средно на 19,3%. Това би могло да бъде предпоставка за възникване на нови огнища на туларемия с трансмисия на инфекцията към хора и към други видове животни.

В заключение може да се каже, че чакалите са природен резервоар и вектор за разпространение на туларемията, макар и с косвена индикация за това. По тези причини изследванията трябва да продължат със съвременни методи за изолация и идентификация на *Fr. tularensis* – PCR, RT-PCR и др.

Изводи

● При изследване на кръвни серуми от чакали, произхождащи от 7 области на страната, са установени сигнификантни титри, както и високи титри (1:80 и 1:160) със среден процент на антитела за туларемия – 19,3%.

● Откриването на антитела за туларемия в кръвни серуми от чакали показва, че инфекцията циркулира при тях и тези хищници са природен резервоар и вектор за разпространение на *Fr. tularensis*.

Библиография

1. Боновска, М. Туларемия при животните. – В: Зоонози при човека и животните. Под ред. на проф. Св. Мартинов и доц. Р. Комитова, 2012, 335-339.
2. Велинов, Ц. Туларемията в България – микробиологични проучвания. Автореферат. София, 2011.
3. Иванова, С. Серологични проучвания за туларемия при дребни преживни животни в някои региони на Западна България. Сборник доклади от научна конференция – Традиции и съвременност във ветеринарната медицина, 2009, 292-297.
4. Иванова, С. и Д. Илиева. Серологичен скрининг за туларемия сред популация от лисици в България. – Екология и бъдеще, 9, 2010, № 3, 27-29.
5. Иванова, С. и Ем. Илиев. Туларемия – мерки за контрол, предвидени в законодателството. Сборник доклади от научната конференция „Традиции и съвременност във ветеринарната медицина“, ЛТУ, София, 2010, 234 -240.
6. Иванова, С. Серопревалентност на туларемията при еднокопитни животни от отделни региони на страната. – Вет. сборка, 2012, № 3, 44-47.
7. Иванова, С. и Д. Илиева. Серологичен мониторинг за туларемия при лисици в някои региони на България. – Български мед. журнал, 9, № 1, 2015, 41-44.
8. Иванова С. Епизоотологични и серологични проучвания за туларемия при животните в Р. България. – Вет. сборка, № 1-2, 2016, 8-13.
9. Комитова, Р. Туларемия. – В: Зоонози при човека и животните. Под ред. на проф.Св. Мартинов и доц. Р. Комитова, 2012, 73-76.
10. Коруджийски, Н., М. Боновска, Д. Илиева, Ем. Илиев, А. Абас, С. Иванова, К. Младенов и Н. Готев. Серологични проучвания върху разпространението на туларемията при животните от рисковите региони на България. – Жив. науки, 41, 2004, № 1, 63-64.
11. Коруджийски, Н., С. Иванова, К. Маринов, Е. Цветкова, К. Младенов и В. Богатинов. Животните като индикатор на туларемия при човека. 10 години ВМФ при ЛТУ, научна сесия, 2004, 285-290.
12. Маринов, К., С. Иванова, М. Боновска, Т. Савова и Т. Кантарджиев. Туларемията в България. Сборник от доклади и постери от Юбилейната научна сесия по случай 110 години НДНВМИ, София, 2011.
13. Anonymous, 2015. http://www.standart.news.com/balgariya-zdraveopazvane/karlezhite_.
14. EFSA and ECDS, 2015. European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and control. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2013. EFSA Journal, 2015; 13 (1): 3991, p.162, doi:10.2903/j.efsa2015.3991.
15. Eliasson, H., Broman, T., Forsman, M., Bäck, E. Tularemia: Current epidemiology and disease management. Infectious Disease Clinics of North America, 2006, 20 (2), pp. 289-311. IF: 2.052
16. Kantardjiev, T, Ivanov I, Velinov T, Padeshki P, Popov B, Nenova R, Mincheff M. (2006). Tularemia outbreak, Bulgaria, 1997-2005. Emerg. Inf. Dis., 4: 678-80.
17. Marinov, K, Georgieva E., Kantardjiev T. Characterization and genotyping of strains of *Fr. tularensis* isolated in Bulgaria. J Med Microbiol 58 (2009), 82-5.
18. Morgan, B.B. 1949. Tularemia in Wisconsin. Transactions of the Wisconsin Academy of Sciences, Arts and Letters, 39, 1-19.
19. Murray, P., K.Rosenthal, G.Kobayashi, M.Pfaller. Medical microbiology. 1998, 265.

✉ Адрес за кореспонденция:

Доц. д-р Даринка Илиева, д-р

Ръководител на НРЛ

„Бяс и контрол на ефективността от ваксинирането“

Национален диагностичен научноизследователски

ветеринарномедицински институт

Бул. „Пенчо Славейков“ № 15 А

1606 София