



## НАУЧЕН ОБЗОР АНАПЛАЗМОЗА ПРИ ЖИВОТНИ И ХОРА

1. **Въведение**
2. **Вектори. Класификация. Кърлежи пренасящи *Anaplasma*. Видове кърлежи срещани в България.**
3. **Причинители на анаплазмозата**
4. **Инфекция при кучета, хора и други бозайници**
5. **Различни модели на протичане на заболяването Анаплазмоза**
6. **Лечение**
7. **Зоонозен потенциал**
8. **Профилактика**
9. **Анаплазмоза при хора в България**
10. **Анаплазмоза при кучета в България**
11. **Антибиотична резистентност при бактерии предавани от кърлежи (*Tick-borne bacterial pathogens - TBB*), резистентност към акарициди**
  - 11.1. **Антимикробната резистентност (AMR)**
  - 11.2. **Резистентността към акарициди**
  - 11.3. **Идентифициране на активни молекули и потенциални цели за контрол на кърлежи**
12. **Изводи**
13. **Заклучение**
14. **Литературни източници**

**1. Въведение.** Анаплазмозата е бактериална болест, пренасяна от кърлежи. *Anaplasma spp.* са грам-отрицателни облигатни вътреклетъчни бактерии, които развиват интрацитоплазмени включения в хематопоетичните клетки на гръбначни гостоприемници. Родът *Anaplasma* понастоящем включва шест вида, които са от голямо значение за здравето на хората и животните. Членовете на този род са отговорни за възникващите болести, пренасяни от кърлежи, които се разпространяват по целия свят и са наречени „анаплазмоза“. Въпреки че тези патогени се предават предимно чрез ухапване от иксодиден кърлеж, се съобщава и за други начини на предаване. *Anaplasma phagocytophilum* и *Anaplasma platys* са основните видове, причиняващи заболявания при кучета. Въпреки това, има данни и за други видове от *Anaplasma spp.*, които са докладвани наскоро при тези животни. Инфекциите с анаплазма обикновено са трудни за диагностициране и могат да бъдат животозастрашаващи както за кучета, така и за хора. Освен това, като се има предвид решаващата роля, която кучетата могат да играят при зоонозните инфекции, пренасяни от кърлежи, повишаването на знанията за тези бактерии е важно.

Заболяването е много актуално поради бързото му разпространение по света и способността му да засяга и хората (макар и не директно от кучета).

- В САЩ това е често срещано в горния Среден Запад, Изток и Североизток, както и в западните крайбрежни региони.

- В Европа Обединеното кралство, Норвегия, Швеция, Швейцария и Германия съобщават за инфекции при крави, кучета и хора. В България са правени проучвания при хора и кучета, и е доказано широкото разпространение на заболяването.

- Анаплазмозата е по-рядко срещана в Южна Америка и Азия.

Пролетта, ранното лято и есента са най-вероятните периоди от годината за заразяване на кучета и хора. Известно е, че няколко вида кърлежи носят тези бактерии. Както при лаймската болест, белоопашатите елени и дребните гризачи се считат за предпочитани резервоари на кърлежите в дивата природа. Използването на целогодишни превантивни средства срещу кърлежи е най-добрата стратегия за избягване на инфекцията.

Ние си поставихме за цел да предоставим преглед на текущите познания за епидемиологични и клинични данни за инфекции с *Anaplasma* при кучета и изразяваме загриженост относно нарастващото им въздействие върху общественото здраве.

## **2. Вектори. Класификация. Кърлежи, пренасящи *Anaplasma*. Видове кърлежи срещани в България.**

**2.1. Класификация на кърлежите.** Има 702 вида кърлежи, класифицирани в 14 рода (Guglielmone et al., 2010):

- *Africaniella* – 2 вида
- *Amblyomma* – 130 вида (включително някои от *Aponomma*)
- *Anomalohimalaya* – 3 вида
- *Archaeocroton* – 1 вид
- *Bothriocroton* – 7 вида
- *Cosmiomma* – 1 вид
- *Cornupalpatum* – 1 вид
- *Compluriscutula* – 1 вид
- *Dermacentor* – 34 вида (включително *Anocentor*)
- *Haemaphysalis* – 166 вида
- *Hyalomma* – 27 вида
- *Ixodes* – 246 вида
- *Margaropus* – 3 вида
- *Nosomma* – 2 вида
- *Rhipicentor* – 2 вида
- *Rhipicephalus* – 82 вида (включително подрод *Voophilus* - сини кърлежи)
- *Robertsicus* – 1 вид

### **2.2. Кърлежи, пренасящи *Anaplasma*.**

Кърлежите, които се срещат в България принадлежат към шест рода – *Ixodes*, *Hyalomma*, *Dermacentur*, *Haemophysalis*, *Rhipicephalus*, *Voophilus anulatus*. От тях *Anaplasma* пренасят *Ixodes*, *Dermacentur*, *Haemophysalis*, *Rhipicephalus*. В световен мащаб заболяването се пренася от кърлежи принадлежащи към същите родове, като най-честите вектори са:

**1. *Dermacentor variabilis* u *Dermacentor reticulatus*.** *Dermacentor variabilis*, известен още като американски кучешки кърлеж или дървен кърлеж, е вид кърлеж, за който е известно, че пренася бактерии, отговорни за няколко заболявания при хората, включително петниста треска на Скалистите планини (*Rickettsia rickettsii*) и туларемия (*Francisella tularensis*). Въпреки че *D. variabilis* може да бъде заразен и с *Borrelia burgdorferi*, причинителят на лаймската болест, тези кърлежи не са компетентни вектори за предаване на това заболяване. *D. variabilis* може също да носи *Anaplasma phagocytophilum*, причинителят на човешката гранулоцитна анаплазмоза и *Ehrlichia chaffeensis*, причинителят на човешката моноцитна ерлихиоза.

*Dermacentor reticulatus*, известен също като кравешки кърлеж, кучешки кърлеж, ливаден кърлеж и блатен кърлеж. Женската варира по размер от 3,8–4,2 mm (ненахранена) до 10 mm, когато е нагълтана след хранене. Неохраненият мъжки е дълъг 4,2–4,8 mm. *D. reticulatus* се среща в Европа и Западна Азия, а *Dermacentor variabilis* в САЩ и Канада. обикновено в гористи райони. Кърлежите *Dermacentor* могат също да предизвикат кърлежова парализа чрез изработване на невротоксин, който предизвиква бързо прогресираща

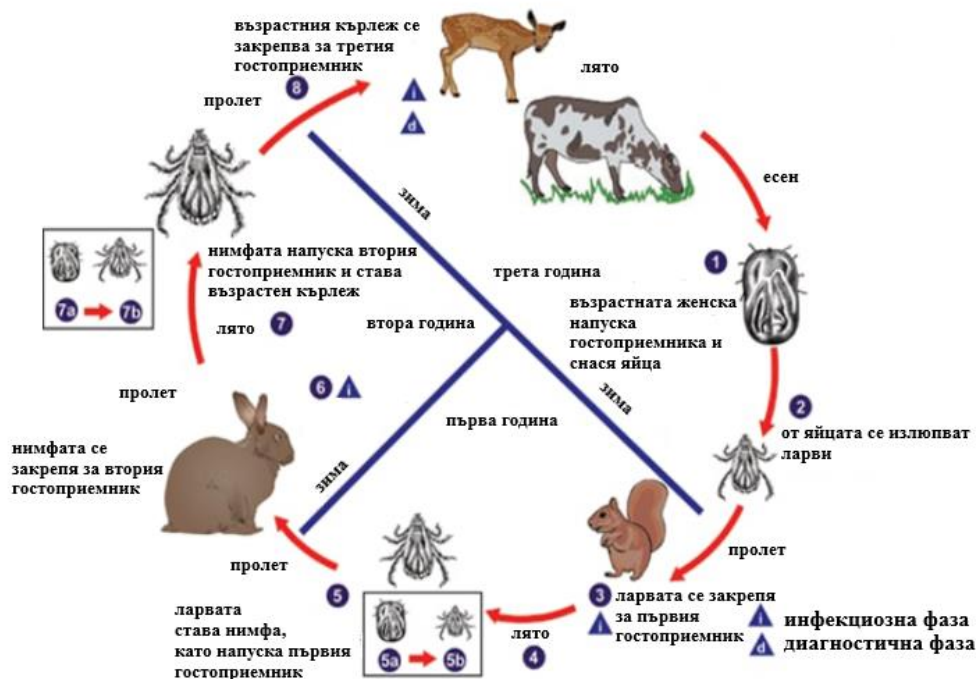
квадрипареза, подобна на синдрома на *Guillain-Barré*. Невротоксинът предотвратява пресинаптичното освобождаване на ацетилхолин от невромускулните връзки.



*Dermacentor* е кърлеж с три гостоприемника, като през всеки етап от жизнения цикъл (ларви, нимфи и възрастни) се храни с отделен гостоприемник. Жизненият цикъл следва основен модел, но той може да има големи вариации във времето, свързани с широкия му географски обхват. Възрастните кърлежи презимуват извън гостоприемниците и започват да излизат от хибернация в началото на пролетта (от април до май в зависимост от местоположението в рамките на географския обхват на кърлежа) и активно търсят гостоприемници, като се катерят по върховете на тревата и друга ниска растителност, чакайки подходящи животни да минат покрай тях. Много видове бозайници могат да служат като гостоприемници за възрастни *D. variabilis*. Те обикновено са по-големи животни, предимно кучета, но също и елени, лосове, койоти, коне, говеда, овце и хора.

Фигура 1. *Dermacentor variabilis* (U, Back, MD, Beltsville\_2013-07-08-19.15.11 ZS PMax)

Със затоплянето на времето по-голям брой от кърлежите стават активни, достигайки пик на активност в края на пролетта (от средата на май до края на юни). Тъй като дните стават по-горещи и по-сухи, броят на активните кърлежи бързо намалява, въпреки че някои кърлежи остават активни през цялото лято. Повечето възрастни кърлежи, които не са намерили гостоприемници до средата на лятото, търсят подслон и чакат следващата пролет, за да станат отново активни. Тези кърлежи могат да оцелеят най-малко две години, а вероятно и повече. Възрастните кърлежи, които са успели да намерят гостоприемник, се хранят около седмица, чифтосват се през това време и оставят гостоприемника. Женските снасят яйца около седем дни по-късно и след това умират. Яйцата се излюпват приблизително след месец. Малък процент от ларвите на *D. variabilis* започват активно да търсят гостоприемник, другата част се установят в земята до следващата пролет (май и началото на юни), когато ще се активират. Ако успеят да намерят гостоприемник, те ще се хранят в продължение на 2-14 дни и ще изпаднат в околната среда, където линейт и станат нимфи (Yunker et al., 1986).



Фигура 2. Жизнен цикъл на тригостоприемникови кърлежи (CDC).

Повечето нимфи на *Dermacentor* започват да търсят храна малко след линееене, като им е нужно хранене между 3 и 10 дни. Те падат от гостоприемника и линееят до възрастен стадий. Целият жизнен цикъл може да се случи за един сезон (54 дни при идеални лабораторни условия), но обикновено завършва за две години. Факторите, които влияят върху завършването на жизнения цикъл, включват температура, влажност и достъпност до гостоприемник. Условиата, благоприятстващи развитието на кърлежи, могат да ускорят цикъла и да увеличат изобилието на кърлежи. Продължаващото изменение на климата, по-ранни и топли пролети, могат да доведат до откриване на възрастни кърлежи по-рано през годината, но това може да се противопостави на по-горещите лета и регионалните различия във валежите.



**2. *Haemaphysalis longicornis***, Азиатският дългорог кърлеж или говеждият кърлеж е известен вредител по добитъка, особено в Нова Зеландия, и може да предаде заболяване, наречено тейлериоза по говедата (*Theileria orientalis*). Кърлежът обаче се свързва с Анаплазмозата, както и с няколко други заболявания, пренасяни от кърлежи при хората. Една нехранена женска обикновено е 2,0–2,6 mm дълга и 1,5–1,8 mm широка и нараства до 9,8 mm дължина и 8,2 mm широчина.

Фигура 3. *Haemaphysalis longicornis* (CDC)

Жизненият цикъл на тези кърлежи обикновено обхваща две години. Те преминават през четири жизнени етапа (яйце, ларва, нимфа и възрастен) през това време. След като яйцето се излюпи, всеки следващ етап от живота трябва да има кръв, за да оцелее. Всеки етап от живота намира нов гостоприемник, от който да получи храна (Horak et al., 2002).



3. *Haemaphysalis punctata* е широко разпространен в Европа, Южна Скандинавия, в Обединеното кралство - Югоизточна Англия и западното крайбрежие на Уелс. Той показва не малка екологична специфика в сравнение с други видове кърлежи, може да се намери от студени и влажни райони (напр. бреговете на Обединеното кралство) до полупустинни райони (напр. Централна Азия). Гостоприемници са говеда, овце, кози, коне, елени, зайци, хора (<https://www.gbif.org/occurrence/4018236504>).

Фигура 4. *Haemaphysalis punctata*  
(<https://www.esccpuk.org.uk/page/Haemaphysalis+punctata/60/>)



4. *Rhipicephalus sanguineus*, обикновено наричан кафяв кучешки кърлеж, е вид кърлеж, който се среща по целия свят, но по-често в места с потопъл климат. Кафявият кучешки кърлеж се разпознава лесно по червеникаво-кафявия си цвят, удължената форма на тялото и шестоъгълната основа на повърхността, където са прикрепени устните части. Възрастните са с дължина от 2,28 до 3,18 mm и ширина от 1,11 до 1,68 mm. Нямаат орнаменти на гърба си.

Фигура 5. *Rhipicephalus sanguineus*  
([https://entnemdept.ufl.edu/creatures/urban/medical/brown\\_dog\\_tick.htm](https://entnemdept.ufl.edu/creatures/urban/medical/brown_dog_tick.htm))

Кафявият кучешки кърлеж преминава през три гостоприемника, за всеки етап от жизнения си цикъл – ларва, нимфа и възрастен (*Sonenshine, 2018*). Чифтосването на кафявите кучешки кърлежи се случва на гостоприемника, стимулиран от нахранването с кръв. Възрастна женска се храни с кръв от гостоприемника за около една седмица, след което го оставя и намира уединено място за инкубация на яйцата за около една до две седмици. Пукнатини и цепнатини в къщи, гаражи и места, обитавани от кучета са идеални за целта. Женската може да започне да снася веднага, след като завърши храненето и остави гостоприемника, но може и да продължи да снася до 15 - 18 дни (*Sonenshine, 2018*). Напълно нахранени с кръв женски кафяви кучешки кърлежи могат да снасят над 7000 яйца, средно снасят 4000. Броят на снесените яйца зависи от размера на кърлежа и количеството кръв, което е погълнал. Женската умира, след като приключи снасянето на яйцата си (*Dantas-Torres, 2010*). Ларвите се излюпват 6 до 23 дни по-късно и започват да търсят гостоприемник.

Активността на търсенето на гостоприемника, която се случва във всички активни етапи, води до засилено движение на кърлежите към кучетата. Ларвите се хранят от 5 до 15 дни и отпадат от животното, след което им отнема около една до две седмици, за да се развият в нимфи. След това нимфите намират и се прикрепят към друг гостоприемник (вероятно същото куче), хранят се от 3 до 13 дни, падат от него и им отнема около две седмици, за да се развият във възрастни. Като възрастни, както мъжките, така и женските се прикрепят отново към гостоприемника и се хранят, въпреки че мъжките се хранят само за кратки периоди (*Dantas-Torres, 2010*).

*Rhipicephalus spp.* са вектори на много патогени при хора и животни, като треска от Източното крайбрежие, анаплазмоза, бабезиоза, рикетсиоза, треска от *Boutonneuse*, лаймска болест, Q треска, петниста треска на Скалистите планини и кримско-конгоанска хеморагична треска. В допълнение към инфекциозните агенти, разпространявани от кърлежи, ухапванията от кърлежи могат да доведат до алергични и токсични реакции. Токсична реакция възниква, когато по време на ухапването на гостоприемника, те инжектират невротоксин, което води до парализа.

5. *Rhipicephalus bursa*, има широк обхват на разпространение от района на Средиземно море, Швейцария, България, Румъния до Иран и Казахстан. Гостоприемници са всички бозайници: говеда, овце, коне, кучета, хора. Възрастните и незрелите екземпляри паразитират по крави, зайци, елени, диви овце и кози, хора и рядко по кучета. Те причиняват парализа на овцете и предават вируса на кримско-конгоанската хеморагична треска и други вируси по хората, както и множество микробни заболявания по добитъка, като различни видове *Babesia*, *Anaplasma* и *Theileria* (по-специално *Theileria parva*, агентът на треската на Източното крайбрежие, често фатална за говеда), *Ehrlichia (Cowdria) ruminantium* (причинител на сърдечната вода) и *Trypanosoma vivax* (възбудител на сънна болест) (<https://www.esccapuk.org.uk/page/Rhipicephalus+bursa/72/>).



Фигура 6. *Rhipicephalus bursa* (<https://www.esccapuk.org.uk/page/Rhipicephalus+bursa/72/>)

*Ixodes* кърлежите са вектори на болестни агенти в северното полукълбо: *I. ricinus* (рицинови кърлежи) в Европа; *Ixodes persulcatus* (тайговият кърлеж) в Източна Европа и Азия; *I. pacificus* в западна Северна Америка; и *I. scapularis* в източната част на Северна Америка (Horak et al., 2002).



6. *Ixodes ricinus* може да предава редица животински и/или човешки патогени, като *Babesia divergens* (бабезиоза), вирус на болестта на кърлежите, вирус на енцефалит, пренасян от кърлежи, *Borrelia burgdorferi* (лаймска болест) и *Anaplasma phagocytophila* (пренасяна от кърлежи треска по преживни животни; конска, кучешка или човешка гранулоцитозна анаплазмоза).

Фигура 7. *Ixodes ricinus* (<https://entomologytoday.org/2024/01/23/tick-predators-stable-isotope-labeling/ixodes-ricinus/>)

Възрастните мъжки са с дължина 2,4 – 2,8 mm, а нехранените нимфи са дълги 1,3 – 1,5 mm; женските са дълги 3,0 – 3,6 mm преди хранене и 11 mm след това. Гостоприемници на този кърлеж са бозайници, вариращи от гризачи и земеровки до големи копитни животни, както и птици и влечуги (гущери, змии). Този кърлеж е ендемичен в по-голямата част от Европа, но е оскъден или липсва в много части на Средиземно море, където климатът е топъл и сух. Той също така е открит в райони на Северна Африка и Близкия изток.

*I. ricinus* е кърлеж с три гостоприемника, може да бъде намерен на гостоприемника в продължение на няколко дни, докато се храни, преди да падне на земята, за да се развие до следващия етап. Възрастните *I. ricinus* се хранят главно с големи бозайници като говеда, овце и елени. Ларвите и нимфите често се срещат при по-малки бозайници, птици и влечуги, но могат да бъдат намерени и при по-големи видове, включително елени и овце. Кърлежите *I. ricinus* често се намират около устата, ушите и клепачите на овцете, кучетата и котките и около вимето и аксиларната област на говедата. Когато не търсят гостоприемник, те обикновено се намират в основата на растителността, където относителната влажност е по-висока. Жизненият цикъл на *I. ricinus* обикновено отнема от две до четири години. Храненето му обикновено достига пика си през пролетта и началото на лятото, с втори активен сезон през есента в някои райони (Walker, 2018).

7. *Ixodes scapularis* е известен като еленов кърлеж. Той е вектор за няколко болести по животни и хора (лаймска болест, бабезиоза, анаплазмоза, вирусна болест на Powassan и др.), и е известен като еленов кърлеж, поради навика си да паразитира върху белоопашатия елен. Известно е също, че паразитира при мишки, гущери, прелетни птици и т.н., особено докато кърлежът е в стадий на ларва или нимфа.



Нехранените женски *I. scapularis* имат червеникаво тяло и тъмнокафява гръбна плоча. Дължина на женския кърлеж от е около 3 до 3,7 mm (около 1/10 от инча). Мъжките *I. scapularis* са по-малки (2 – 2,7 mm) и са напълно тъмнокафяви. Нимфите са с дължина от 1,3 до 1,7 mm, докато ларвите са само 0,7 до 0,8 mm. Живненият цикъл на кърлежите *Ixodes scapularis* обикновено продължава две години.

Фигура 8. *Ixodes scapularis* (<https://entomologytoday.org/2024/01/23/tick-predators-stable-isotope-labeling/ixodes-ricinus/>)

През това време те преминават през четири жизнени етапа: яйце, ларва, нимфа и възрастен. Еленовия кърлеж може да се храни с бозайници, птици, влечуги и земноводни. Кърлежите се нуждаят от нов гостоприемник на всеки етап от живота си (*Thivierge et al., 2024*).



**8. *Ixodes persulcatus***, Тайговият кърлеж е вид кърлеж с твърдо тяло, разпространен от Европа през Централна и Северна Азия до Китайската народна република и Япония. Половият диморфизъм на вида е подчертан, мъжките са черни и са много по-малки. Женските са червеникави, 2/3 от тялото им е изградено от гънки, които се разтягат по време на хранене с кръв. Ларвата на кърлежа е с размер около 1 mm, има 3 чифта крака, след линееене се превръща в нимфа с 4 чифта крака.

Фигура 9. *Ixodes persulcatus* (<https://stock.adobe.com/bg/images/taiga-tick-ixodes-persulcatus-on-a-leaf/209770977>)

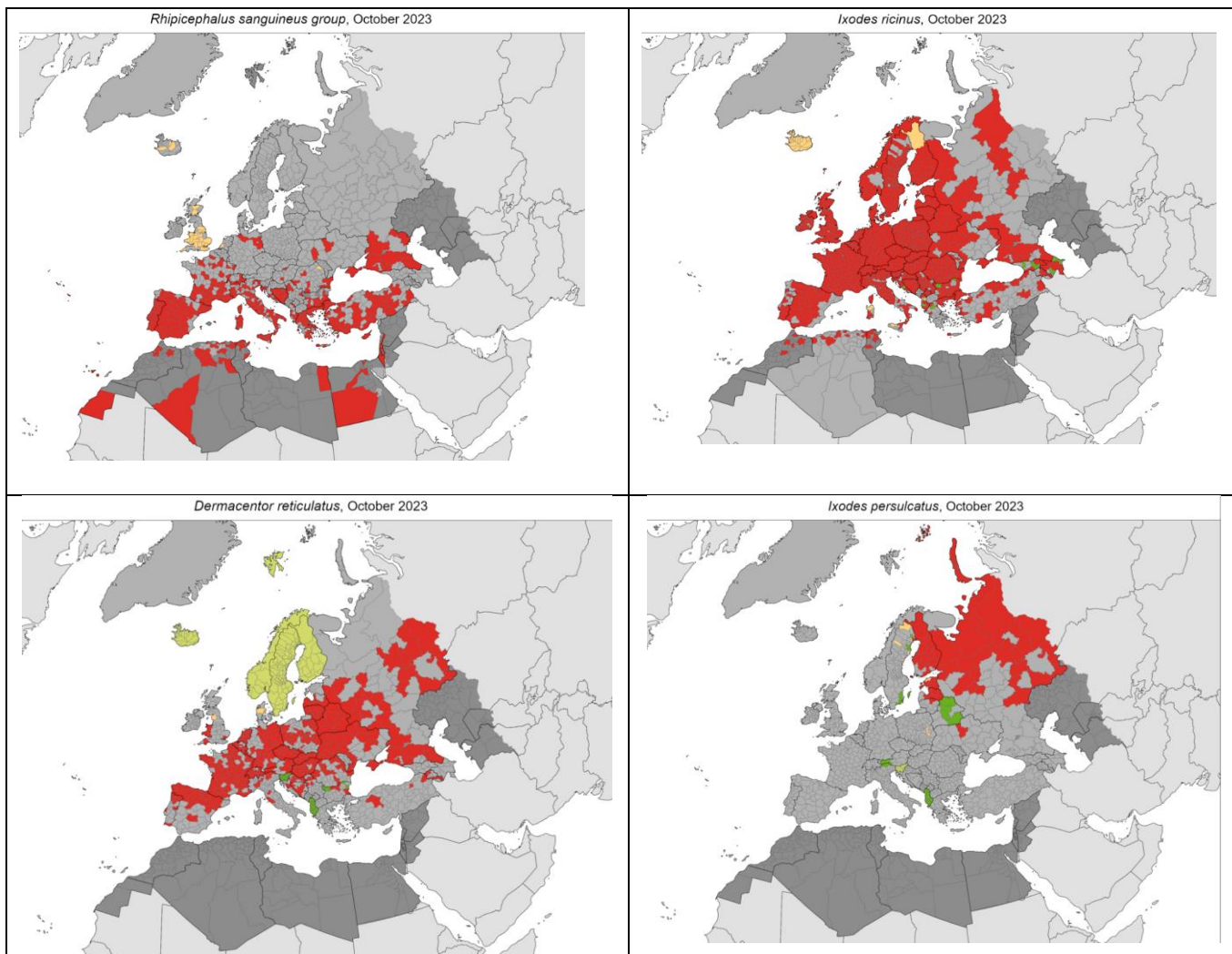
Размерът на тялото на нимфата е около 2 mm. След линееене нимфата става полово зрял индивид. Гостоприемници са диви и домашни копитни животни, човек, куче, заек и други дребни бозайници, включително сънливек, амурски таралеж и понякога птици (*Jääskeläinen et al., 2010*).



**9. *Ixodes pacificus***, западният чернокрак кърлеж е вид паразитен кърлеж, който се среща по западния бряг на Северна Америка. Това е основният вектор на лаймската болест в този регион. Ларвите и нимфите на *I. pacificus* обикновено се хранят с гущери и дребни бозайници, докато възрастните обикновено се хранят с елени. *I. pacificus* има четири етапен жизнен цикъл, който отнема около 3 години.

Фигура 10. *Ixodes pacificus* ([https://entomologytoday.org/2018/05/29/cold-season-temperature-rainfall-drive-climate-suitability-ticks-california/original-title-i-pacificus\\_94srgb/](https://entomologytoday.org/2018/05/29/cold-season-temperature-rainfall-drive-climate-suitability-ticks-california/original-title-i-pacificus_94srgb/))

Нехранените женски са дълги приблизително 3 mm, с тъмно червеникав корем и черна гръбна плоча. Докато се хранят с кръв от гостоприемника, възрастните женски разширяват размера си до над 9 mm. Мъжките западни чернокраки кърлежи са еднакво кафяво-черни на цвят и малко по-малки от женските. За разлика от женските, мъжките не се увеличават значително по време на хранене (*Padgett et al. 2001*).



#### ЛЕГЕНДА

- **Присъствие:** Видът е наблюдаван да в поне една община в рамките на административната единица.
- **Интродуциран:** Видът е интродуциран в административната единица без потвърдено установяване.
- **Очаквано отсъствие:** видът никога не е докладван и има голяма вероятност да отсъства.
- **Потвърдено отсъствие:** видът никога не е докладван в рамките на административната единица.
- **Няма данни:** Не са правени проби и няма налични данни за вида.
- **Неизвестно:** Състоянието е неизвестно

Фигура 11. Разпространение на *Rhipicephalus sanguineus*, *Ixodes ricinus*, *Dermacentor reticulatus* и *Ixodes persulcatus*. Първите три от тях се срещат и в България (<https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/ixodes-persulcatus-current-known-distribution-october-2023>).

### 3. Причинители на анаплазмозата

*Anaplasma phagocytophilum* и *Anaplasma platys* са основните видове, причиняващи заболявания при кучета.

*Anaplasma phagocytophilum* (*Ehrlichia phagocytophilum*) е Грам-отрицателна бактерия, с размери 0,2 – 1,0 µm. Има тропизъм към неутрофилите. Причинява анаплазмоза при овцете и говедата, известна също като треска, пренасяна от кърлежи или пасищна треска, а също така причинява гранулоцитна анаплазмоза при хората.

Бактерията първо пребивава в ендозома, където добива хранителни вещества за бинарно делене и след това се размножава в малки групи, наречени морули. Тази бактерия предпочита да расте в миелоидни или гранулоцитни клетки.



*Anaplasma platys* (*Ehrlichia platys*) е причинител на инфекциозна кучешка циклична тромбоцитопения (ICCT). Заболяването е описано за първи път от *Harvey et al.* в Съединените щати през 1978 г. и оттогава се съобщава по целия свят. *Anaplasma platys* е вътреклетъчен организъм, който има тропизъм към тромбоцитите.

Въпреки че заболяването е идентифицирано като заболяване при кучетата, има все повече доказателства, че *A. platys* може да зарази редица други животински видове. Молекулярни доказателства идентифицират възможността за заразяване на котки с *A. platys*, като животните показват тромбоцитопения. В Португалия *A. platys* е докладвана при кучета, червени лисици, благороден елен и диви свине. Други животни, за които се съобщава, че са заразени с *A. platys* включва камили в Xinjiang, Китай и в Тунис, говеда в Алжир. Способността на *A. platys* да причинява заболяване при тези видове гостоприемници не е установена (*Granick et al., 2021*).

**4. Инфекция при кучета, хора и други бозайници.** От гръцкия „an“, означава „без“, и „plasma“ „безформена плазма, „всичко образувано или формовано“, организмите, принадлежащи към рода *Anaplasma*, са грам-отрицателни, алфа-протобактерии, задължителни вътреклетъчни паразити на еукариотни клетки (*Dumler et al., 2001*).

Таблица 1. Класификация на рода *Anaplasma*, *Ehrlichia* и *Neorickettsia* в семейството *Anaplasmataceae* (*Dumler et al., 2001*).

<b>Anaplasma</b>	<b>Ehrlichia</b>	<b>Neorickettsia</b>
<i>A. marginale</i>	<i>E. canis</i>	<i>N. risticii</i>
<i>A. bovis</i>	<i>E. chaffeensis</i>	<i>N. sennetsu</i>
<i>A. ovis</i>	<i>E. ewingii</i>	
<i>A. phagocytophilum</i>	<i>E. muris</i>	
<i>A. platys</i>	<i>E. ruminantium</i>	

Родът *Anaplasma*, открит през 1910 г. от сър Арнолд Тейлър, принадлежи към семейство *Anaplasmataceae*, от род *Rickettsiales*, и включва шест вида: *Anaplasma marginale*, *Anaplasma centrale*, *Anaplasma ovis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma bovis* и *Anaplasma platys*. Тази класификация е валидна от 2001 г., когато *Dumler et al.* значително реорганизираха реда *Rickettsiales*, въз основа на филогенетични анализи на 16S рибозомна РНК (16S rRNA) и гена *groESL* (*Dumler et al., 2001*). В резултат на тази реорганизация, семейство *Anaplasmataceae* замени съществуващото преди това семейство *Ehrlichia* и род *Anaplasma*, който преди това съдържаеше само *A. marginale*, *A. centrale* и *A. ovis*, беше разширен чрез добавяне на бактерии, класифицирани преди това в род *Ehrlichia*: *Ehrlichia bovis* и *Ehrlichia platys* бяха съответно прекласифицирани като *A. bovis* и *A. platys*, докато *Ehrlichia phagocytophila*, *Ehrlichia equi* и агентът на човешката гранулоцитна ерлихиоза, поради генетичното им сходство, бяха обединени като вида *A. phagocytophilum*. Последващи проучвания, базирани на анализа на същите гени, показват, че *Aegyptinaella pullorum* е тясно свързана с *Anaplasma spp.*, но все още не е официално преназначена като член на рода *Anaplasma* (*Kocan et al., 2010*).

Първите съобщения за *Anaplasma phagocytophilum* идват от овце през 1951 г. (Шотландия). От гръцки „phagocytophilom“ - „обича фагоцити“, означава се като гранулоцитна анаплазма. Кучешка инфекция е докладвана за първи път в Съединените щати (Калифорния)

през 1982 г. *Anaplasma platys* е докладвана за първи път в Съединените щати (Флорида) през 1978 г. От гръцки „platys“ - „плосък“, и носи името тромбоцитотропна анаплазмоза

✓ **Гостоприемници.** *A. phagocytophilum* причинява заболяване при кучета, котки, хора, преживни животни, коне и камили. *A. platys* причинява тромбоцитопения при кучета.

✓ **Географско разпространение.** В Съединените щати, *A. phagocytophilum* е най-разпространен в горния Среден запад, североизточните и западните щати. Инфекцията се среща и в цяла континентална Европа и Обединеното кралство, Азия и Русия. Организмът е открит при кучета от Африка и Южна Америка. *A. platys* се среща в Америка, Европа, Азия, Австралия, Близкия изток и Африка.

✓ **Основни клинични признаци.** *A. phagocytophilum* се намира и размножава предимно в неутрофилите, преди да се разпространи в цялото тяло, а *A. platys* има тропизъм към тромбоцитите, от които след това попада в останалата част на организма. Основните клинични признаци на инфекция с *A. phagocytophilum* са треска, летаргия, липса на апетит и куцота, поради полиартрит, въпреки че могат да се появят повръщане, диария, кашлица и болка във врата. Тромбоцитопенията може да се наблюдава при >90% от пациентите. Субклиничните инфекции са чести, като до 60% от серопозитивните кучета не показват очевидни признаци на инфекция.

*A. platys* обикновено не предизвиква признаци, но са възможни треска и летаргия. Заболяването често е леко с рецидивираща тромбоцитопения на всеки 10 до 14 дни, което се дължи на фагоцитоза на заразени тромбоцити. Други признаци могат да включват склонност към кървене (напр. епистаксис). Анаплазмозата може да протече остро или да се развие хронична форма, която продължава с месеци.

Тъй като тези признаци са доста неспецифични и могат да бъдат причинени от различни заболявания, лабораторното изследване е най-правилния подход за диагностика. Осемдесет процента от остро инфектираните кучета развиват тромбоцитопения.

В САЩ и Австралия естествено заразените кучета обикновено развиват субклинично или асимптоматично заболяване, докато в Южна Америка, Южна Европа и Северна Африка клиничните симптоми са по-тежки и могат да включват летаргия, треска, анорексия и нарушения на кръвосъсирването (*Atif, 2016*). Изследване на естествено заразените кучета от средиземноморския регион показва, че анорексията, загубата на тегло и лимфаденомегалията са основните промени, като общите хематологични аномалии включват тромбоцитопения и анемия (>80%). По-специално, сред заразените кучета се наблюдава висока честота на тежки хеморагични нарушения (38%), висока смъртност (24%) и липса на отговор на лечението с доксициклин (62%). По този начин се предполага, че тежестта на инфекцията с *A. platys* в Средиземно море може да се обясни със съществуването на силно патогенни щамове (*Bouzouraa et al., 2016*).

След експериментална инфекция, агентът се появява в периферната кръв след 8-15 дни и максималната паразитемия (31%-63% от заразените тромбоцити) настъпва четири дни по-късно. Експериментално заразените кучета показват паразитемия и тромбоцитопения, които се появяват на цикли, на интервали от 10-14 дни. Нивото на тромбоцитопенията и процентът на паразитираните тромбоцити са максимални в първия цикъл.

Дълго време *A. platys* се смяташе само за кучешки патоген, но през последните десетилетия беше демонстриран по-широк тропизъм на гостоприемника за *A. platys*. Съобщени са случаи на инфекция с *A. platys* при котки, кози, говеда, двугърби камили (*Camelus bactrianus*), благороден елен и петнист елен (*Chochlakis et al., 2009*).

Инфекция с *Anaplasma platys* е докладвана в няколко случая при хора, които значително се различават по клинични признаци. Двама пациенти от Венецуела, които са били изложени на *R. sanguineus*, показват хронични, неспецифични клинични симптоми, включително главоболие и мускулни болки (*Arraga-Alvarado et al., 2014*). Едновременното съществуване на *A. platys*, *Ehrlichia chaffeensis* и *Ehrlichia ewingii* е документирано в необичаен фамилен клъстер от САЩ, включващ двама човека и тяхното куче. Членовете на семейството не са имали типични симптоми на анаплазмоза или ерлихиоза и не са докладвани прикачени кърлежи (*Breitschwerdt et al., 2014*). Още един случай на смесена инфекция с *A. platys*, *Bartonella henselae* и "*Candidatus Mycoplasma haematoparvum*" е описан за пациент, който е

имал контакт с кърлежи, диви и домашни животни в Европа и Южна Африка. Пациентът е получил мигрена и прогресивно тежки припадъци, включително епилептичен статус. Поради смесената инфекция, въздействието на всеки агент не може да бъде определено (Maggi et al., 2013).

Признаците и симптомите на анаплазмоза при хората, обикновено започват в рамките на 1-2 седмици след ухапване от заразен кърлеж, но много хора не си спомнят да са били ухапани.

Ранните признаци и симптоми (1-5 дни) обикновено са леки или умерени и могат да включват:

- Треска, втрисане
- Силно главоболие
- Мускулни болки
- Гадене, повръщане, диария, загуба на апетит
- Късно заболяване

Ако лечението се забави или ако има други медицински състояния, анаплазмозата може да причини тежко заболяване. Навременното лечение може да намали риска от развитие на тежко заболяване.

Признаците и симптомите на тежко (късен стадий) заболяване могат да включват:

- Дихателна недостатъчност
- Проблеми с кръвенето
- Органична недостатъчност
- Смърт

Рискови фактори за тежко заболяване:

- Забавено лечение
- 65 години или повече
- Отслабена имунна система (CDC, 2024)

✓ **Пренасяне.** Пренасянето на *A. platys* става с кърлежи, най-често кафявият кучешки кърлеж (*Rhipicephalus sanguineus*), (Ybañez and Inokuma, 2016) американският кучешки кърлеж (*Dermacentor variabilis*) и еленският кърлеж (*Ixodes scapularis*). Бактерията може да се открие в *H. longicornis* и *I. persulcatus* в Корея, *Rhipicephalus turanicus* в Изрел, and *Rhipicephalus spp.* в Китай (Guo et al., 2019).

Скорошни проучвания предполагат, че може да се случи вертикално предаване на *A. platys* от бременни кучки към тяхното потомство по време на първата половина на бременността. (Matei et al., 2016). Хората и животните могат да се заразят с *A. phagocytophilum*, която се пренася с чернокракия кърлеж (*Ixodes scapularis*) и западния чернокрак кърлеж (*Ixodes pacificus*).

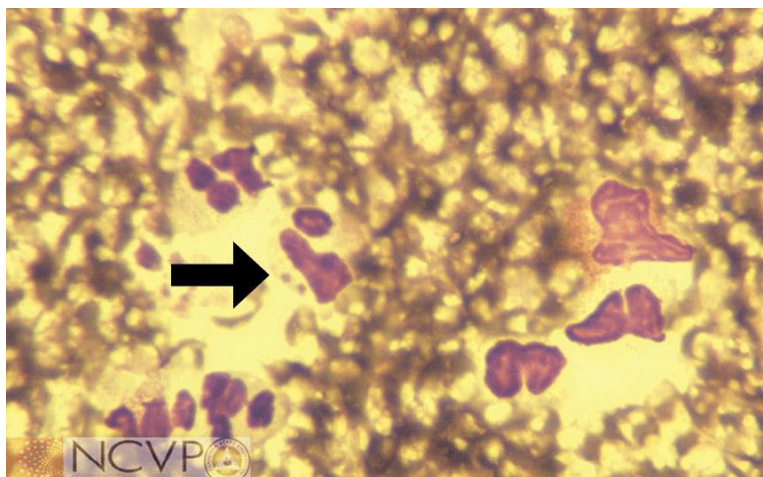
✓ **Диференциална диагноза.** Основните диференциални диагнози включват други заболявания, пренасяни от кърлежи (като ерлихиоза, рикетсиоза, лаймска борелиоза и бабезиоза), бартонелоза, лептоспироза, първично имуномедирано заболяване и лимфом.

✓ **Диагностика.** Анаплазмозата често се диагностицира с кръвен тест за откриване на антитела. Положителният тест за антитела не означава непременно активна инфекция, която се нуждае от лечение, а по-скоро предишна експозиция, която може да остане забележима в продължение на няколко месеца. Най-добрите методи за откриване на анаплазмоза са индиректен флуоресцентен тест за антитела (IFA) (във външна лаборатория), или ELISA, които откриват заболяването при повечето пациенти в рамките на дни след заразяването. ELISA отчита чувствителност и специфичност до 94,1% и съответно 98,4%.

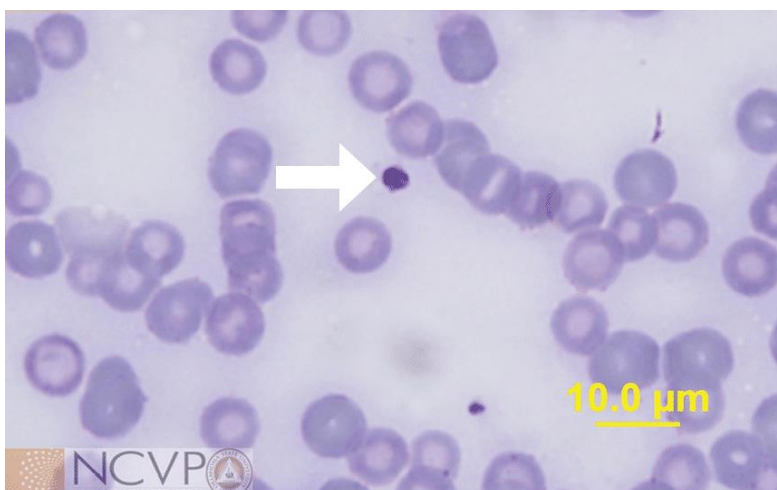
Серологията остава популярен метод за откриване на инфекции с *Anaplasma* видове. Обикновено са необходими 1 до 2 седмици след заразяването, преди да могат да бъдат открити антитела и тъй като има различни нива на кръстосана реактивност, положителен резултат се отчита на ниво род.

Друга диагностичен метод, който трябва да се има предвид, включва кръвни натривки за визуализация на морули в неутрофили (*A. phagocytophilum*) или тромбоцити (*A. platys*)

(фигури 12 и 13). Неутрофилите, заразени с *A. phagocytophilum*, е по-вероятно да се видят по време на острата фаза при болни кучета и оценката на кръвните натривки дава умерена до висока чувствителност в тези случаи. Въпреки това, липсата на морули върху кръвен филм не трябва да изключва инфекция, тъй като паразитемията може да бъде ниска в хронични фази.



Фигура 12. Неутрофили, заразени с *Anaplasma phagocytophilum* (черна стрелка) (ncvetp.org)



Фигура 13. Тромбоцити, заразени с *Anaplasma platys* (бяла стрелка) (ncvetp.org)

Кръвни и/или тъканни проби могат да се изследват с полимеразна верижна реакция (PCR). При хронични случаи, PCR тестването на биопсични проби от далак, лимфен възел или костен мозък може да има по-голяма чувствителност при периферна кръв; въпреки това, тестът върху цяла кръв, събрана по време на остро заболяване, има висока чувствителност. Отрицателният резултат от PCR не изключва инфекция с ниска паразитемия, особено при хронична случаи. Поради тези причини се препоръчва мултимодален подход за диагностициране на анаплазмоза и пробите трябва да се събират веднага щом се появи клинично заболяване.

#### 5. Различни модели на протичане на заболяването Анаплазмоза:

##### 1. Положителен резултат с клинични признаци

• Ако куче проявява клинични признаци на анаплазмоза и резултатът от серологичния тест е положителен, следващите **тестове** трябва да включват пълна кръвна картина (CBC). Ако е налице тромбоцитопения или анемия – със или без неутрофилия и моноцитоза – резултатите съответстват на диагнозата анаплазмоза. Подходящо лечение с доксициклин или друг

тетрациклин трябва да се обмисли сериозно, особено ако не е открита друга причина за тези аномалии. Диагнозата ще бъде подсилена, ако се открият морули в неутрофилите (*A. phagocytophilum*) или тромбоцитите (*A. platys*).

- При диагностицирани случаи трябва да се обмисли повторна проверка на СВС приблизително 7 дни по-късно, за да се оцени прогресията на заболяването или отговора на лечението. Алтернативно, ако не се открият морули и СВС е в нормални граници, положителният серологичен тест може да е случайна находка и забележимите клинични признаци може да се дължат на друга причина; следователно трябва да се обмисли друго изследване (напр. PCR). В тези ситуации е важно, че много кучета могат да бъдат серопозитивни без очевидни клинични признаци. Освен това признаците, предполагащи болести, пренасяни от кърлежи (напр. летаргия, треска), се припокриват с тези на много други инфекциозни заболявания.

## 2. Отрицателен резултат с клинични признаци

- Ако куче проявява клинични признаци, предполагащи анаплазмоза, но резултатът от серологичния тест е отрицателен, кучето може да проявява остро заболяване преди развитието на антитела. Когато заболяването се разпознае при кучета, веднага след заразяването, то може да предшества производството на антитела, които могат да бъдат открити 8 дни след заразяването. В тези случаи се прави втори серологичен тест, след 2 до 4 седмици и PCR, тъй като е по-вероятно да даде положителен резултат при остри инфекции.
- Тъй като прозорецът между клиничното заболяване и производството на антитела е малък, е добре извършването на допълнителни диагностични тестове, като СВС, биохимия, кръвна натривка, анализ на урината със съотношение протеин към креатинин в урината или PCR.

## 3. Положителен резултат без клинични признаци

- Ако кучето не проявява клинични признаци на анаплазмоза, но резултатът от серологичния тест е положителен, е необходимо да се направи СВС и кръвна натривка. Ако се видят морули на натривката или има тромбоцитопения в СВС, тогава кучето може да има анаплазмоза и трябва да се обмисли лечение, заедно с повторно изследване на СВС седмица по-късно.
- Ако клинично здраво, серопозитивно куче има СВС в нормални граници, положителният серологичен резултат вероятно показва предишна инфекция, която е останала недиагностицирана или субклинична. В тези случаи може да се извърши повторна проверка на СВС след 7 дни, за да се гарантира, че няма развитие на заболяването и лечението не е оправдано, ако СВС остане в нормални граници. Антителата срещу вида *Anaplasma* могат да бъдат дълготрайни (т.е. няколко месеца или години), а хронично заразените кучета могат да имат високи титри; обаче, ако патогенът активно избягва имунната система, хронично заразеното куче може да бъде серонегативно понякога.
- Собствениците на серопозитивни, но привидно здрави кучета трябва да бъдат информирани за признаците на анаплазмоза и обучени относно правилния контрол и премахване на кърлежите.

## 4. Отрицателен резултат без клинични признаци

- Ако няма клинични признаци на анаплазмоза и резултатът от серологичен тест е отрицателен, инфекцията с *Anaplasma* е малко вероятна. Въпреки това, превенцията срещу кърлежи и годишното изследване за често срещани заболявания, пренасяни от кърлежи са важни за превенцията от заболяването. Има достатъчно убедителни доказателства, които предполагат, че болестите, пренасяни от кърлежи, ще продължат да се разпространяват в нови райони; следователно оценката на риска от инфекция рядко е нула.

**6. Лечение.** Анаплазмозата обикновено се лекува с антибиотика *доксициклин*. След започване на лечението, кучетата след 1-2 дни започват да се чувстват по-добре, но се нуждаят от лечение поне две седмици. Може да е необходим удължен курс от четири седмици за пациенти, заразени с лаймска болест по същото време. Пациент с положителен тест за

антитела, но без клинични признаци или промени в кръвната картина, не се нуждае от антибиотично лечение.

В някои случаи може да възникне имуномедиран компонент, което налага лечение със стероиди и други поддържащи грижи, в зависимост от клиничните признаци на пациента.

**7. Зоонозен потенциал.** Анаплазмозата може да зарази множество видове бозайници, но не се предава директно между животни, включително, и между кучета, котки, коне, крави, овце, кози и хора.

По същия начин хората се заразяват с лаймска болест от директно ухапване от кърлежи, а не от взаимодействие с кучета, които имат лаймска болест. Въпреки това, кучетата могат да увеличат излагането на тези кърлежи, като неволно транспортират кърлежите в околната среда и местообитанията на хората.

**8. Профилактика.** Няма ваксинация за предотвратяване на анаплазмоза. Най-добрите начини за избягване на анаплазмоза и други заболявания, пренасяни от кърлежи при кучета, включват:

- Целогодишно превенция срещу кърлежи за всички домашни любимци
- Управление на задния двор
- Рутинни проверки за кърлежи
- Бързо отстраняване на кърлежи
- Избягване на зони с висок риск (гористи райони с гъста горска растителност, висока трева и листни отпадъци).

### 9. Анаплазмоза при хора в България

Сред инфекциозните заболявания, предавани от кърлежи, най-голямо практическо значение у нас за хората имат Лаймската борелиоза (Лаймската болест), Марсилската треска, Кримската-Конго хеморагична треска, Ку-треската, хеморагична треска с бъбречен синдром, кърлежов енцефалит. Според данни на Националния център по заразни и паразитни болести (НЦЗБП) за 2024 г. са установени 379 случая (с 190 повече от миналата година) на Лаймската болест, 81 – Марсилска треска, 1 – Кримската-Конго хеморагична треска, 44 – Ку-треска, 2 – хеморагична треска с бъбречен синдром, 1 – кърлежов енцефалит.

Първите проучвания в България на анаплазмозата са направени през 1999 г. от *Христова и сътр.* Те показват, че предимно *A. phagocytophilum* се открива в кърлежите *I. ricinus*. От събраните през 2000 г. кърлежи, те доказват че 38% от имаго формите и поне 7% от нимфите са носители на анаплазма, а през 2001 г. процентите на заразените кърлежи са били съответно 28% от имагото и 21% от нимфите. Те установяват, че видът *R. bursa* е на второ място по важност в предаването на анаплазмата, а на трето е видът *H. punctata* (*Христова и сътр.*, 2008). При проследяване динамиката на заразеността на кърлежите *I. ricinus* с *A. phagocytophilum* през 2003г. – 2006 г. *Христова и сътр.* установяват, че през 2003 г. е достигната максимална заразеност (10,17%) и след това има спад. При тестването на гризачи с ЕЛАЙЗА те установяват антитела при 26 (21,7%) от изследваните 120 животни, а с PCR доказват анаплазма в общо 9 (7,5%) от тях.



При тези тестове *Христова и сътр.* изказват предположението, че полските мишки (*A. agrarius*) са най-вероятният резервоар на човешката гранулоцитна анаплазмоза в България, т.к. *A. phagocytophilum* е единственият предаван с кърлежи патоген, който те доказват при тези гризачи.

Фигура 14. Полска мишка (*Apodemus agrarius*) (<https://antropocene.it/en/2023/02/07/apodemus-agrarius-2/>)

Христова и сътр. правят едно от първите в света серо-епидемиологични проучвания при хора. Те тестват с имунофлуоресцентен тест 200 пациенти. Те доказват, че **почти 10% от болните с Лаймска болест имат данни за коинфекция с *A. phagocytophilum***, като още по-висок е процентът на инфектираните сред болните с фебрилна реакция след ухапване от кърлеж. Има данни и за инфекция с *A. phagocytophilum* при хора без клинични симптоми след ухапването от кърлеж, а също и при здравите лица без ухапвания от кърлежи. Тяхното заключение е, че заболяването е широко разпространено в България и инфекцията е активна, но в повечето случаи тя остава неразпозната (Ива Христова, Дисертация, 2012).

### 10. Анаплазмоза при кучета в България

Цачев описва в дисертацията си пручване на *A. phagocytophilum* при кучета. Той тества 132 кръвни серума, но установява антитела само при животните от Пловдив и Стара Загора. Останалите проби от кучета от Варна, Бургас, Хасково, София, Ямбол, Русе, Свиленград, Севлиево са били отрицателни. Получените резултати за показателя серопревалентност са 3.50% за района на Пловдив и 17.24% за района на Стара Загора (Цачев, 2009).

Клиничните симптоми при кучета заразени с *A. phagocytophilum*, най-често са куцота, болки в ставите, треска, летаргия и анорексия (липса на апетит). Някои животни, обаче имат само незначителни симптоми или никакви. По-рядко срещаните клинични признаци включват повръщане, диария, кашлица и затруднено дишане. Рядко се съобщава за неврологични признаци като гърчове.

Инфекцията с *A. platys* може да причини циклична тромбоцитопения, състояние, при което има периодично намаляване на тромбоцитите. Клинично заболяването често е леко, но някои кучета могат да развият синини или кървене (включително кървене от носа), особено по време на ранните етапи на инфекцията, когато броят на тромбоцитите може да е много нисък.

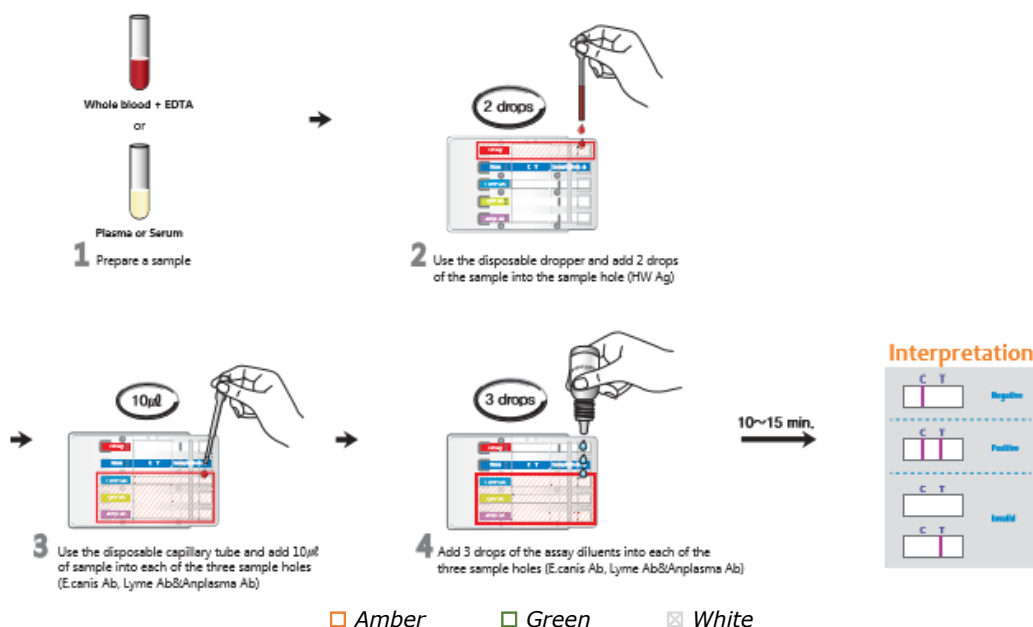
Кучетата с анаплазмоза много често имат същите симптоми, като тези при лаймска болест, както и коинфекция. **Лаймската болест и анаплазмозата обикновено се срещат в едно и също географско местоположение и се предават от едни и същи видове кърлежи.**

Във ветеринарните клиники, при съмнение за векторно предавани болести, най-често се използва комбиниран хроматографски имуноанализ за качествено откриване на антиген на *Dirofilaria immitis*, антитяло срещу *Anaplasma phagocytophilum* / *Anaplasma platys*, антитяло срещу *Borrelia burgdorferi* и антитяло срещу *Ehrlichia canis* в кучешки серум, плазма или цяла кръв. Тестът е с висока чувствителност и специфичност:

**Чувствителност** – Heartworm 100%, *E. canis* 98,2%, Lyme 93%, Anaplasma 96,1%

**Специфичност** – Heartworm 100%, *E. canis* 100%, Lyme 93%, Anaplasma 99,3%

Промените в хематологичните показатели при анаплазмоза са много характерни и обикновено включват еритропения, намаление на хемоглобина, хематокрита, тромбоцитопения и неутрофилия.



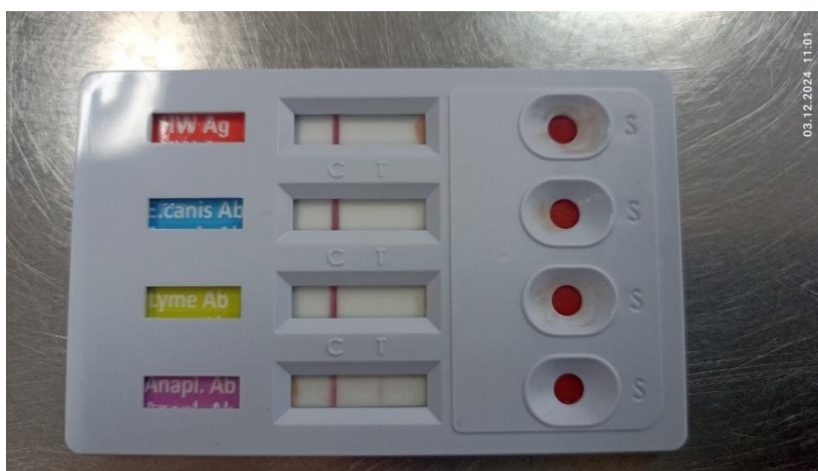
Фигура 15. 4DX / Caniv 4 хроматографски имуноанализ за качествено откриване на антиген на *Dirofilaria immitis*, антитяло срещу *Anaplasma phagocytophilum* / *Anaplasma platys*, антитяло срещу *Borrelia burgdorferi* и антитяло срещу *Ehrlichia canis* в кучешки серум, плазма или цяла кръв.

### Клиничен случай при куче, 02.12.2024 г.

Касае се за куче от мъжки пол, на 10 години от гр. София. При клиничен преглед се установява висока температура, анемични лигавици и закрепен за кожата кърлеж. Кучето от известно време няма апетит и стене.

При тестването на кръвта с 4DX / Caniv 4 се установява положителен резултат за Анаплазма (Фигура 6).

При изследването на кръвта се установяват левкоцитоза, лимфопения, увеличени неутрофили, намалени еритроцити, тромбоцити, хемоглобин и хематокрит. При биохимичните изследвания се наблюдава намалена глюкоза и увеличен АсАТ (Таблица 2).



Фигура 16. 4DX / Caniv 4 при куче заразено с анаплазмоза.

Таблица 2. Кръвни показатели на куче с анаплазмоза

Показател	Флаг	Резултат	Референтна стойност
ПКК			
WBC (Левкоцити - бр.)	↑	30.24 x10 <sup>9</sup> /L	5.50 - 19.50
Ly% (Лимфоцити)	↓	6.5 %	12.0 - 30.0
MID% (Мо+Ео+Ва)		2.6 %	2.0- 10.0
Neu% (Неутрофили)	↑	91.0 %	60.0 - 85.0
Ly# (Лимфоцити)		1.950 x10 <sup>9</sup> /L	0.800 - 5.100
MID# (Мо+Ео+Ва)		0.8 x10 <sup>9</sup> /L	0.0 - 3.0
Neu# (неутрофили)	↑	27.510 x10 <sup>9</sup> /L	4.000 - 13.000
RBC (Еритроцити - бр.)	↓	3.17 x10 <sup>12</sup> /L	4.60 - 10.00



Hgb (Хемоглобин)	↓	59 g/L	110 - 190
Hct (Хематокрит)	↓	0.172 L/L	0.380 - 0.580
MCV (ср. обем на еритроцита)	↓	54.0 fL	61.0 - 73.0
MCH (ср. Hgb съдърж. в еритр.)	↓	18.6 pg	19.0 - 26.0
MCHC (ср. Hgb конц. в еритр.)		342 g/L	300 - 380
RDW (вариация на ерит. p-ие)	↑	21.3 %	11.0 - 16.0
Plt (Тромбоцити)	↓	64 x10 <sup>9</sup> /L	100 - 470
MPV (ср. обем на тромбоцита)		9.2 fL	
Pct (Тромбокрит)		0.00 ml/L	
PDW (ширина на тр p-ие)		CV 38.6 %	
<b>Биохимия</b>			
Глюкоза (Glucose)	↓	3.57 mmol/l	4.10 - 6.60
<b>Белтък и Албумин Профил</b>			
Общ белтък (Total protein)		55.60 g/l	54.00 - 75.00
Албумин (Albumin)		30.10 g/l	23.00 - 31.00
<b>Урея и Креатинин Профил</b>			
Креатинин (Creatinine)		51.00 µmol/l	
Урея (Urea)		3.80 mmol/l	
<b>Билирубин - общ и директен Профил</b>			
Билирубин - общ (Total Bilirubin)		3.30 µmol/l	0.00 - 5.10
Билирубин - директен (Direct Bilirubin)		<1.50 µmol/l	0.00 - 1.70
<b>Чернодробни ензими (Hepatic function) Профил</b>			
АсАТ (GOT; AST)	↑	65.60 U/l	11.00 - 18.00
АлАт (GPT; ALT)		14.60 U/l	10.00 - 109.00
Гама ГТ (GGT)		<3.00 U/l	
Алкална фосфатаза (Alkaline Phosphatase)		70.00 U/l	1.00 - 114.00

Забележка: На кръвната картина се наблюдават тромбоцитни агрегати.

## **11. Антибиотична резистентност при бактерии предавани от кърлежи (Tick-borne bacterial pathogens - ТВВ), резистентност към акарициди.**

**11.1. Антимикробната резистентност (AMR)** Антимикробната резистентност описва способността на микроорганизмите като гъбички, бактерии, паразити и вируси да избягват действието на антимикробните средства чрез различни механизми. Едно от основните опасения, свързани с AMR е, че антибиотичното лечение може да стане неефективно в противодействието на общи и тежки инфекции, като по този начин увеличава риска от разпространение на резистентни към лекарства патогени.

Бързото разпространение на мултирезистентни (резистентни към най-малко три групи антибиотици), разширено резистентни (резистентни към всички освен една група антибиотици) и пан-резистентни (резистентни към всички групи антибиотици) бактерии предизвиква тревога в световен мащаб, тъй като са трудни за лечение с настоящите антибиотици (CDC, 2022).

AMR се счита за заплаха за глобалното обществено здраве. Ако не се предприемат своевременни действия, се изчислява, че броят на смъртните случаи от инфекции, свързани с резистентност към антибиотици, може да се увеличи до 10 милиона годишно до 2050 г. (O'Neill, 2016). Липсата на ефективни инструменти за адекватно лечение на резистентни към лекарства инфекции, превенция и подобрен достъп до настоящи и нови антимикробни средства с гарантирано качество ще увеличи броя на хората, при които лечението е неуспешно или които умират от инфекции. В най-лошия сценарий медицински процедури, като хирургия, цезарово сечение, протезиране на тазобедрена става, химиотерапия на рак и трансплантация на органи, ще станат по-рискови (WHO, 2022).

Бактериите и другите микроорганизми претърпяват еволюционни промени и генетични модификации, които водят до резистентност към антимикробни лекарства. Някои бактериални видове са имали тези гени за антимикробна резистентност в продължение на милиони години, много преди началото на употребата на антибиотична терапия от хората.

Въпреки че увеличаването на броя на антимикробно резистентните бактерии (ARB) може да бъде свързано с естествения подбор, трябва да се вземе предвид ефектът от различните условия на околната среда, които могат да увеличат присъствието на ARB в околната среда. Селективният натиск на антибиотиците, произвеждан от гъбички и други бактерии от околната среда, доведе до коеволюция на микроорганизми с механизми за резистентност към тези антибиотици. С течение на времето различни патогени придобиват или развиват нови механизми на резистентност, включително вертикално предавано наследство към потомци или хоризонтално предаване на AMR към други бактерии в местообитанието. Прекомерната употреба на антибиотици е създавала значителен селективен натиск, водещ до размножаване и разпространение на адаптираните резистентни бактерии в популацията. В допълнение, антибиотиците също намаляват броя на чувствителните бактерии, намалявайки конкуренцията за местообитанието и улеснявайки разширяването на ARB.

Идеално място за процеса на хоризонтален трансфер на гени е храносмилателната система на хора, животни и вектори като членестоноги. Като цяло, червата се състоят от голямо разнообразие от съвместно съществуващи микробни общности, идентифицирани като микробиоми, които са от полза за своя гостоприемник. Все пак това също е благоприятна среда за разпространение на AMR, когато ARB се въвеждат в чревната система. По същия начин храносмилателният тракт може да служи като резервоар за различни бактериални патогени, взаимодействайки с останалата част от микробиома и придобивайки AMR, циркулираща в общността.

Както е описано в преглед на Brinkac et al. (2017), хоризонталният трансфер на гени играе роля в разпространението на AMR между микробиома на червата и други микроорганизми от различни среди, като тези, открити в селскостопански животни и в храна за консумация от човека. Често срещаните пътища, по които антимикробно резистентните бактерии могат да достигнат до микробиома на хора, домашни и диви животни и дори векторни членестоноги са:

1) безразборна употреба на антибиотици в здравния сектор, като болници, отделения за интензивни грижи, амбулаторни клиники и дори в домовете;

2) прилагането на антибиотици при добитък и птици като добавки за стимулиране на растежа, използвани във ферми и фуражни обекти, които достигат до хората чрез консумация на месо и други животински продукти;

3) изхвърляне на битови, болнични, селскостопански и промишлени отпадъци, съдържащи антибиотици, в дренажната система с последващо присъствие в почвата и водата, които по-късно се използват в селскостопанското производство.

По отношение на тези резистентни патогени, Световната здравна организация публикува списък с резистентни на антибиотици „приоритетни патогени“, известни като групата „ESKAPE“ (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и други *Enterobacteriaceae*, включително *Klebsiella*, *Escherichia coli*, *Serratia* и *Proteus*), които са широко изследвани за определяне на резистентността и патогенните механизми, които причиняват животозастрашаващи инфекции. Въпреки това, в допълнение към групата ESKAPE, много други микроорганизми с медицинско значение могат да придобият резистентност към клинично използвани антибиотици. Наличието на антимикробно резистентните бактерии в околната среда е един от водещите проблеми за общественото здраве според подхода *One Health*. Следователно антибиотичната резистентност трябва да бъде изследвана в няколко области, включително патогенни и непатогенни бактерии в микробиотата на хора и животни и микроорганизми от околната среда.

**Зоонозните заболявания, пренасяни от вектори, включително от кърлежи (tick-borne disease - TBD), са съотносими инфекции, включени в приоритетния списък с проблеми, разглеждани в принципите на *One Health*, заедно с антимикробната резистентност.** Поради глобалното затопляне проблемът дори се увеличава от наличието на бактерии, предавани от кърлежи (Tick-borne bacterial pathogens - TBV) в местообитания, където тези инфекции не са ендемични. Информацията за антимикробно резистентните бактерии при TBV е минимална поради естеството на инфекциите (т.к. са вътреклетъчни инфекции).

Доксициклинът остава първи избор за лечение на анаплазмоза и досега не е докладвана антимикробна резистентност на *A. phagocytophilum* към доксициклин. В проучване на *Dumic et al. (2022)*, се установява, че в 80% от случаите на анаплазмоза, които се представят с респираторни симптоми и рентгенографски находки на пневмония, емпиричното лечение не включва доксициклин. В някои случаи левофлоксацин се оказва ефикасен; въпреки че този антибиотик изглежда има активност срещу *A. phagocytophilum in vitro*, той не е оценен за лечение на анаплазмоза в нито едно от клиничните изпитвания до момента (*Dumic et al., 2023*).

Наблюдение на резистентни към лекарства щамове TBV може да доведе до ранен отговор в случаи на огнища на TBD и до промени в политиките за обществено здраве, когато TBD стане ендемичен в даден регион. В крайна сметка TBV може да бъде друг източник на AMR, който може да допринесе за увеличаване на антибиотичната резистентност при хора, животни и растителни патогени (*Dumic et al., 2023*).

**11.2. Резистентността към акарициди** е глобален проблем, който има въздействие по целия свят. Докладвани са популации от кърлежи с широка резистентност към всички налични в търговската мрежа акарициди. Тъй като селекцията на резистентност при кърлежите и тяхната роля в предаването на патогени на животни и хора води до важна икономическа и здравна тежест, от съществено значение е да се разработят нови стратегии за техния контрол (т.е. нови химични съединения, ваксини, биологичен контрол).

Третирането на животните гостоприемници със синтетични химически пестициди (акарициди) е основният подход за намаляване на заразяването с кърлежи и предотвратяване на предаването на патогени, пренасяни от кърлежи. Има седем химични класа, продавани в световен мащаб за контрол на кърлежи при домашни животни, а именно: органофосфати (*diazinon*), синтетични пиретроиди (*permethrin*, *flumethrin*), макроциклични лактони (*avermectin*), формаминади, бензоилфенил уреа (*N-benzoyl-N-phenylurea*), фенилпиразоли и изоксазолини (*Waldman et al., 2023*). Въпреки това, използването на тези химически съединения през годините доведе до селекцията на популации от кърлежи, устойчиви на повечето от тези лекарства. *R. microplus* е видът кърлежи с най-голям брой доклади за

резистентност в световен мащаб, като е развил резистентност към всички основни класове акарициди, предлагани на пазара.

Понастоящем основна грижа по отношение на методите за контрол на кърлежите е идентифицирането на стратегии, които са както ефективни, така и щадящи околната среда. В този контекст са проучени **методи за биологичен контрол**. Въвеждането на конкурентен вид в същото местообитание на видовете вредители е класически метод за контрол. Този инструмент обаче има недостатъци, когато и двата вида не са местни за засегнатия район или ако хищникът атакува нецелеви видове. Ентомопатогенните гъби, като *Metarhizium brunneum* (*Metarhizium anisopliae*), са се доказали като ефективна алтернатива за намаляване на популацията на *I. scapularis*, като същевременно показват, че са безопасен подход, тъй като не засягат общностите на нецелеви членестоноги. От друга страна, за получаване на положителни резултати е необходимо повече от едно приложение. Доказано е, че приложението на *M. brunneum* заедно с акарициди повишава ефективността на лечението при контрола на резистентни щамове *R. microplus*, което предполага методи за биоконтрол в комбинация с други стратегии като алтернатива на контрола на кърлежите.

Устойчив, екологичен и икономически благоприятен подход за контрол на кърлежите е **използването на ваксини**. Поради това са положени много усилия за разработване на ефективна ваксина, която предоставя защита срещу различни популации от кърлежи. На базата на рекомбинантен Vm86 (гликопротеинов антиген на средното черво) бяха разработени две ваксини срещу *R. microplus* в Австралия и Куба (съответно *TickGARD* и *GAVAC*). Ваксината *TickGARD* понастоящем не е налична за употреба, докато *GAVAC* е налична в търговската мрежа. И двете ваксини обаче не успяха да покажат ефективност в световен мащаб. От друга страна, различни проучвания показват, че Vm86 и неговите хомолози предизвикват защита срещу *Rhipicephalus annulatus*, *Rhipicephalus australis* и *Rhipicephalus decoloratus*, което може да бъде много полезно, поради евентуалното съвместно съществуване на *Rhipicephalus microplus* и други видове кърлежи в същата област. Въпреки това, към днешна дата не е представена ефективна ваксина срещу *R. microplus* и други кърлежи. По този начин контролът на опаразитяването с кърлежи и болестите, пренасяни от кърлежи, при хора и животни все още зависи от прилагането на акарициди. Сериозните ограничения, свързани с прилагането на акарициди, засилиха търсенето на нови методи за контрол на кърлежите.

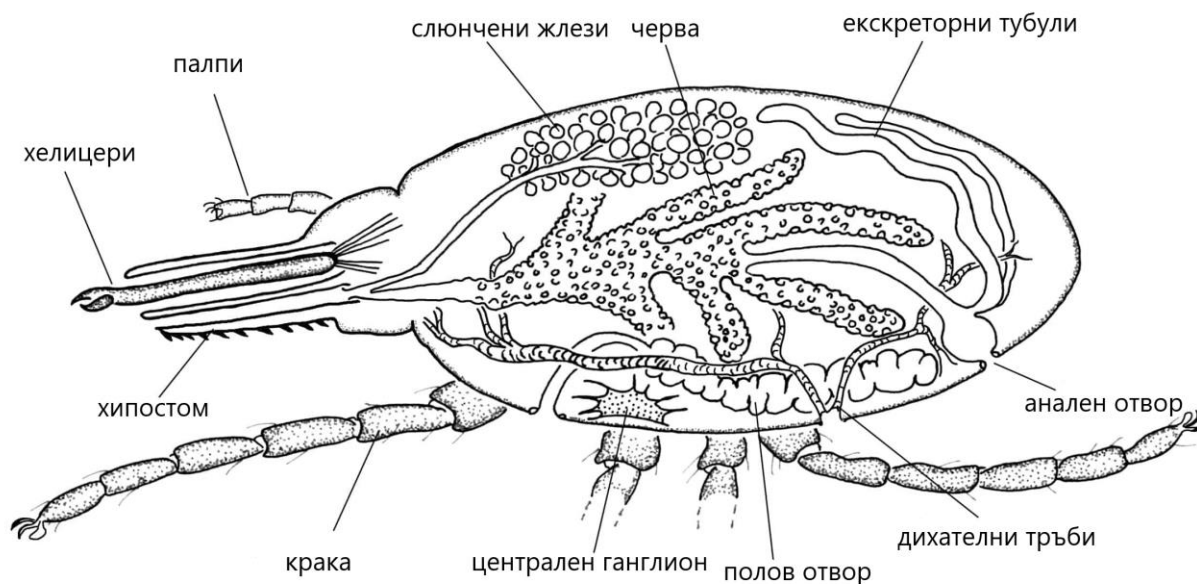
**Резистентността към акарициди** се определя като намаляване на чувствителността на паразитна популация към лекарство, което е глобален проблем. Беше демонстрирано, че 79% от *R. microplus* от щата Рио Гранде до Сул (Бразилия) представя множествена резистентност към три или повече тествани акарициди (циперметрин, амитраз, хлорпирифос, ивермектин и фипронил). Известни са три основни механизма на резистентност към акарициди/инсектициди: удебеляване на кожичката на кърлежа (намаляване на проникването на химикали), нечувствителност на целевото място и метаболизъм на детоксикация, като повечето проучвания се фокусират върху последните две (Waldman et al., 2023).

При членестоногите, подобно на други животни, йонните канали са важни компоненти на нервната система, позволяващи разпространението и обработката на клетъчната сигнализация. Най-често резистентност се появява след точкова мутация, причиняваща модификации на аминокиселинната последователност в йонните канали.

Невротоксичните пестициди, които обикновено се използват за контрол на кърлежите, като синтетичните пиретроиди, действат върху чувствителните към напрежение натриеви канали на членестоноги (Na<sup>+</sup> канали) (Kumar et al., 2020). Зависимите от напрежение йонни канали играят съществена роля в нервната система, тъй като участват в откриването и предаването на вътреклетъчни химични сигнали. Интересното е, че централната нервна система на кърлежите, наречена централен ганглион е основната цел на няколко акарицида. Въпреки това, нечувствителност на тези канали към лекарства е описана при различни видове членестоноги. По-конкретно, мутациите в йонните канали са един от факторите в механизма на резистентност към акарициди (Waldman et al., 2023) и са описани за първи път при домашни мухи.

Тези канали са съставени от четири хомоложни домейна (DI, DII, DIII и DIV) и шест трансмембранни спирали (S1–S6), докато S1 до S4 съставляват волтаж-чувствителния домейн,

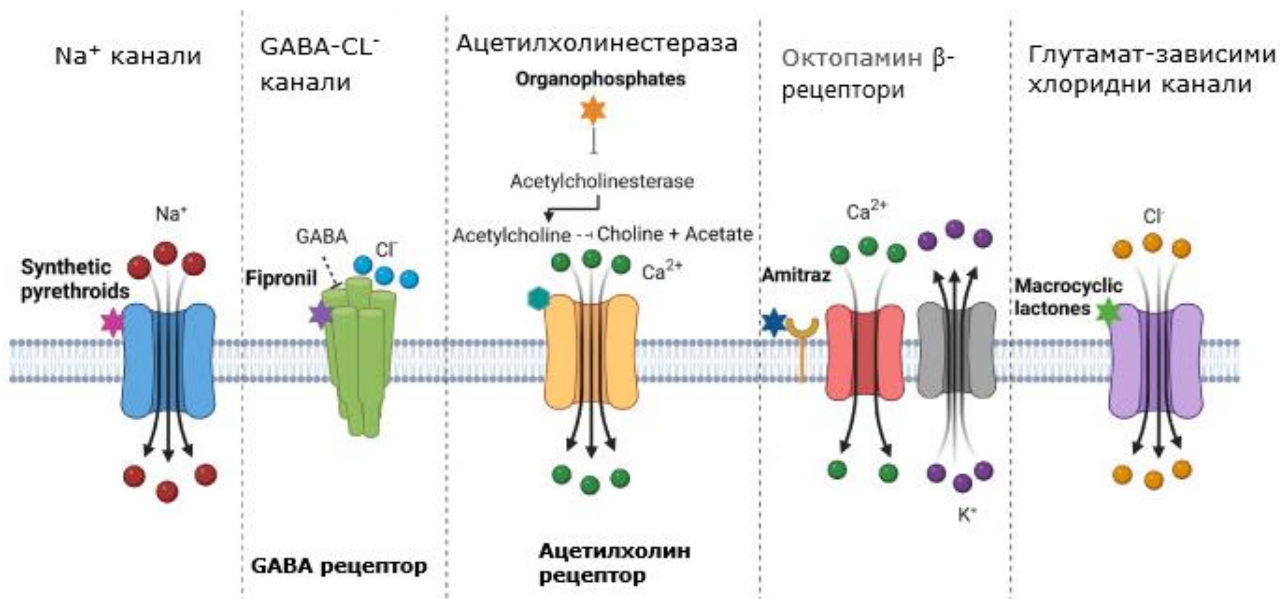
примката, свързваща S5 и S6, образува пора и в отговор на деполяризацията на мембраната се получава отваряне на каналите. Съобщава се също за мутации в аминокиселинната последователност на Na<sup>+</sup> канали, известни като нокдаун резистентност (kdr) и супер-kdr резистентност. Мутациите на kdr в аминокиселинната последователност от DII вече са свързани с повишаване на резистентността към пиретроиди при *Aedes aegypti*. Замествания от левцин (Leu) в фенилаланин (Phe) в DII на канала, свързани с резистентност, също бяха открити при *Anopheles gambiae*. Този домейн е силно запазен сред кърлежите от *Rhipicephalus spp.* и kdr мутации, водещи до промяна в аминокиселинната последователност от левцин (Leu) към изолевцин (Ile), в DIIS4-5 от Na<sup>+</sup> канали, вече са идентифицирани в *R. microplus*, резистентен на циперметрин. Също така подобни мутации бяха открити при този вид кърлежи от Индия и в *Rhipicephalus appendiculatus* от Уганда, докато супер-kdr заместванията бяха описани в *R. decoloratus*. Освен това, други проучвания анализират *R. microplus* резистентни на пиретроид шамове от Мексико и Съединените щати и идентифицират нечувствителност на целевото място поради появата на kdr и super-kdr мутации в DII и DIII на аминокиселинната последователност на Na<sup>+</sup> каналите, както и точкова мутация в нуклеотидната последователност DIIS6, причиняващи заместване от Phe в Leu в аминокиселинна последователност, също са идентифицирани в *R. sanguineus s.l.* резистентен към пиретроиди (Kumar et al., 2020; Waldman et al., 2023).



Фигура 17. Устройство на иксовид кърлеж (<https://ticksafety.com/about-ticks/tick-anatomy/>)

Хлоридните канали свързани с невротрансмитерната гама-аминобутирова киселина (GABA) са описани като целево място за няколко инсектицида (т.е. циклодиени, линдан и фипронил). Те действат като антагонисти, блокирайки GABA и причинявайки свръхвъзбуждане на централната нервна система (ЦНС). Освен активността си върху GABA-Cl, фипронил (както и фипронил сулфон, основен метаболит, получен от метаболизма на окисление на фипронил) играе роля в инхибирането на глутамат-зависими хлоридни канали (Glu-Cl) при хлебарки. При *R. australis* едно аминокиселинно заместване от Thr в Leu на позиция 290 на GABA-Cl се свързва с резистентност към диелдрин. При устойчиви на фипронил и на линдан *R. microplus* от Бразилия и Уругвай бяха открити две различни замествания на GABA-Cl, A286S и A286L (Waldman et al., 2023).

Друго целево място, за което е известно, че участва в резистентността към пестициди, е ацетилхолинестеразата, която разгражда ацетилхолин (Ach), насърчавайки повторното поемане на невротрансмитера, нарушавайки невротрансмисията. Въпреки това, когато органофосфатните акарициди се свържат с този ензим, те инхибират активността на ацетилхолинестеразата и следователно хидролизата на ацетилхолин, което води до натрупване на този невротрансмитер в ЦНС на насекомите (Waldman et al., 2023).

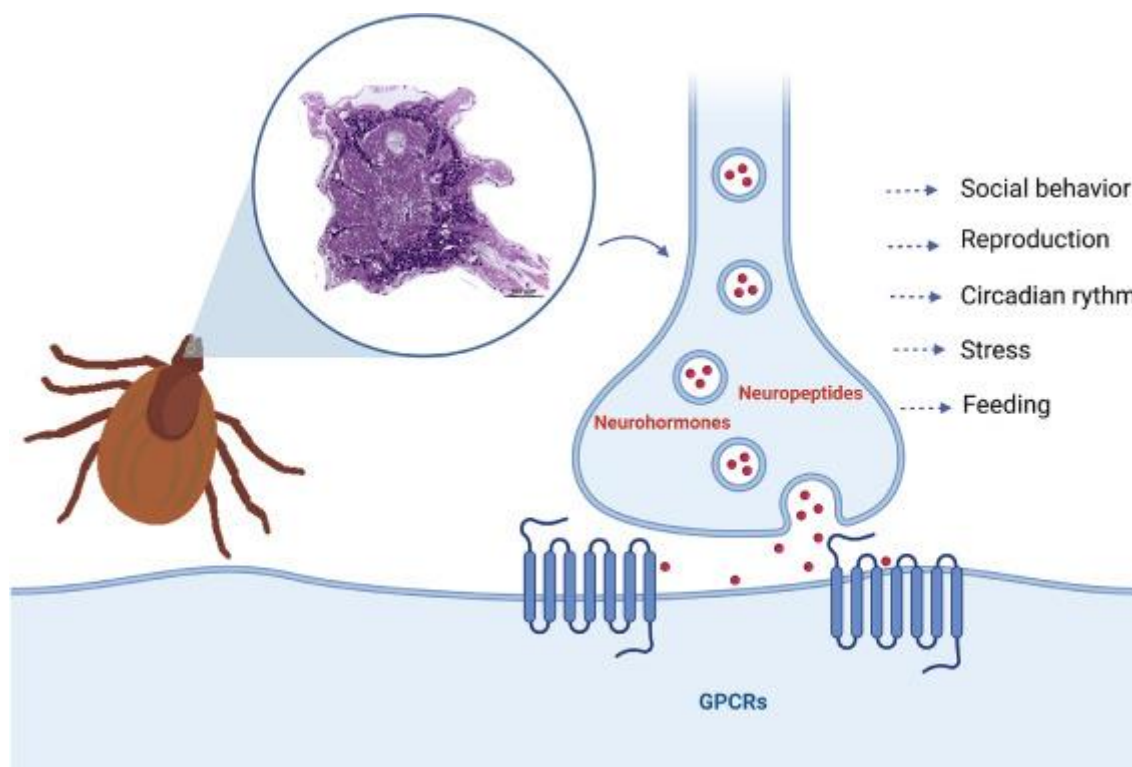


Фигура 18. Мишени в клетките на кърлежите, към които са насочени търговските акарициди. Основните търговски акарициди имат невротоксично действие, намесвайки се във функциите на различни канали или рецептори в клетките на централната нервна система (Waldman et al., 2023)

Частичен транскрипт на ацетилхолинестераза-кодиращ ген (AChE) е описан в синганглион от *R. sanguineus s.l.* (Furutani et al., 2018), докато три AChE са идентифицирани в *R. microplus* (а именно VmAChE1, VmAChE2 и VmAChE3). Интересното е, че има слабо сходство между тези последователности, също така не са открити точкови мутации в нуклеотидната последователност от чувствителни и резистентни изолати към органофосфати, което предполага, че може да бъде включен друг локус или механизъм. Въпреки това, в последните публикувани проучвания, единични нуклеотидни полиморфизми вече са описани най-малко в два (AChE1 и AChE3) от трите AChE от *R. microplus* и свързани с резистентност към органофосфати. Заместване от глутамин (Glu) на аргинин (Arg) в последователността на VmAChE3 придава целева нечувствителност към органофосфати, в допълнение беше открита висока честота на тази мутация в *R. microplus* резистентни щамове, освен че присъства и в див тип кърлежи, като по този начин могат да действат различни механизми синергично за осигуряване на устойчивост на кърлежи. Наистина, при насекомите се предполага, че няколко мутации могат да се появят едновременно в AChE последователности, насърчавайки увеличаване на съотношението на резистентност. Съответно, появата на пет мутации в AChE, идентифицирани в *D. melanogaster*, са свързани с повишаване на нечувствителността към органофосфата. В комбинация, тези замествания показват по-силен потенциал за резистентност към този клас пестициди, отколкото когато са тествани самостоятелно, с изключение на мутацията Glu към Val (позиция G262V), което води до високо съотношение на резистентност (Waldman et al., 2023).

Понастоящем са описани три класа октопаминови рецептори на членестоноги (AOR):  $\alpha$ -адренергични подобни октопаминови рецептори ( $\alpha$ AOR), октопамин/тираминови рецептори (OCT/TYR) и  $\beta$ -адренергични подобни октопаминови рецептори ( $\beta$ AOR). Формамидините (като амитраз) действат като агонисти, стимулират AOR и причиняват токсичност и смърт на ЦНС. Предполага се също, че този пестицид играе роля в активирането на тираминовите рецептори. Мутации на OCT/TYR, треонин към пролин (T8P) и левцин към серин (L22S), са свързани с резистентност на *R. microplus* към амитраз в Бразилия, Филипините, Индия, Зимбабве и Южна Африка. Въпреки това, мутации на  $\beta$ AOR (а именно треонин към пролин -

T60P; изолевцин към фенилаланин - I61F; изолевцин към треонин - I61T и тирозин към серин - Y88S) с резистентност към амитраз при кърлежи. Следователно може да се предположи, че резистентността към амитраз при говежди кърлежи може да е резултат от мутации в различни октопаминови рецептори (Waldman *et al.*, 2023).



Фигура 19. Схематичен изглед на синганглионните функции на кърлеж. Невропептидите и/или неврохормоните, произведени и освободени от синганглиона, се свързват главно с G протеин-свързани рецептори (GPCR) и имат няколко биологични активности, които контролират физиологията на кърлежите (Waldman *et al.*, 2023)..

**11.3. Идентифициране на активни молекули и потенциални цели за контрол на кърлежи.** Прилагането на акарициди е най-разпространеният метод за контролиране на заразяването с кърлежи, но продължителната употреба на тези съединения увеличава селективния натиск, благоприятствайки появата на резистентни популации от кърлежи. Тъй като употребата на акарициди води до увеличаване на популациите от резистентни кърлежи, съществува непрекъсната необходимост от разработване и въвеждане на нови търговски продукти за контрол. По този начин има различни стратегии за откриване на нови предполагаеми активни съставки, като се фокусират най-вече върху идентифицирането на молекули на базата на естествени продукти и подбор на сложни синтетични химически съединения. И двата подхода имат няколко предимства и недостатъци. Освен това е необходимо търсене на нови молекули като потенциални мишени за акарицидите и по-доброто разбиране на физиологията на кърлежите, което е от решаващо значение за постигането на тази цел, което може да доведе до идентифициране на нови съединения с потенциална ектопаразитицидна активност (Rufener *et al.*, 2017).

Като се има предвид, че синганглионът представлява важен орган в контрола на физиологичните процеси на кърлежите, метаболитните промени, причинени от невротоксични агенти, могат да доведат до важни ефекти, включително функционална дисрегулация, водеща до смърт.

**Нов клас пестициди, наречени изоксазолини,** действат като неконкурентен антагонист на GABA-C1 канали, по-специално върху членестоноги с резистентност към

Диелдрин (*Dieldrin*) - RDL (resistant-to-dieldrin) c-aminobutyric-acid-gated chloride channel (GABA<sub>A</sub>Cl)) (*Waldman et al., 2023*).

Изоксазолините инхибират по-силно GABA-Cl, отколкото пикротоксинин и диелдрин и имат по-добра инхибиторна и инсектицидна/акарицидна активност от фипронила. Подобни резултати са наблюдавани при кърлежи, мухи и бълхи и не е наблюдавана кръстосана резистентност между диелдрин, фипронил и изоксазолин при тези членестоноги, което показва, че този пестицид има различни места на свързване в сравнение с други известни блокери на GABA-Cl (*Rufener et al., 2017*). Също така, флураланер (*Bravecto, Exzolt*), молекула от класа на изоксазолините, показва мощна акарицидна активност срещу всички жизнени стадии на *R. sanguineus s.l.* и *O. moubata*, когато се използват съответно чрез контактни пътища или пътища на експозиция при хранене.

Фипронила може да блокира както GABA<sub>A</sub>Cl, така и L-глутамат-зависим хлориден канал (L-glutamate-gated chloride channel (GluCl)) на безгръбначни. GABA<sub>A</sub>Cl и GluCl са главните лиганд-зависими хлоридни канали, експресирани в нервната система на насекомите. GABA<sub>A</sub>Cl играят централна роля в бързата инхибиторна невротрансмисия и RDL субединицата е основен компонент на естествените GABA<sub>A</sub>Cl<sub>15</sub>. GluCl се генерират от един ген и са в основата на контрола на движението, храненето и сензорния вход при насекомите.

Алкалоида окарамин, получен от изолирани от ферментационните продукти на *Penicillium simplicissimum*, показва токсичен ефект при ларвите на копринената буба *Bombyx mori*, като влияе на L-глутамат-зависим хлориден канал на копринена буба. Окарамин В активира GluCl, но не и резистентния към Диалдрин GABA-Cl канал, което корелира с неговата инсектицидна активност, предлагайки решение на дългогодишна енигма относно техните инсектицидни действия. Освен това, за разлика от ивермектина, окарамин В е неактивен при човешките  $\alpha 1\beta 2\gamma 2$  GABA<sub>A</sub>Cl и  $\alpha 1\beta$  глицин-зависими хлоридни канали и осигурява нова предпоставка за разработването на безопасни химикали за контрол на насекомите. Интересното е, че тази молекула действа върху места на свързване, които са различни от тези на ивермектина, което предполага, че резистентните мутации, които засягат активността на ивермектина, могат да бъдат неефективни срещу действието на окарамин. В допълнение към тяхната роля при насекоми, акарицидната активност също беше тествана за окарамин срещу *I. scapularis*, показвайки, че за разлика от други блокери на Glu-Cl като пикротоксин и фипронил, окараминът активира този канал по дозозависим начин. Наблюдава се също инхибиране на реакцията на ивермектин върху Glu-Cl канала от гъбичния алкалоид, което потвърждава, че и двете молекули действат върху различни целеви места (*Furutani et al., 2018*).

Тираминът (Tyramine) и октопаминът (Octopamine) присъстват в ЦНС и действат като невротрансмитери, които регулират различни поведенчески и физиологични процеси в членестоногите, позволявайки им да реагират на околната среда според получените външни стимули. Използването на агонисти и антагонисти на октопамин и тирамин рецептори, съответно, води до възбуждане на ЦНС. Показано е, че при женски кърлежи инжектирането на октопамин блокира яйцепологането, въпреки че други  $\beta$ -адренергични агонисти, като синефрин и апормофин, показват различни ефекти и нямат инхибиращо действие върху яйцепологането. От друга страна, промяна в тираминергичния път ( $\alpha$ -адренергичен) инхибира яйцепологането в *R. microplus* по-силно от октопамина. Тези резултати показват, че използваните чувствителни щамове могат да бъдат резистентни към амитраз, който действа като агонист на октопамина, и следователно са по-толерантни към това невротрансмитерно действие и не показват същия ефект върху яйцепологането (*Waldman et al., 2023*).

Кинините на насекомите са важни пептиди, които изпълняват различни функции, включително в отделителната система на насекомите. Поради наличието на места, податливи на пептидазно действие, е проучено използването на аналози на кинин, които са по-стабилни и следователно устойчиви на разграждане. По този начин, биостабилни молекули, като  $\alpha$ -аминоизомаслен аналог на кинин или конюгиран с полимер на полиетилен гликол кинин, е доказано, че действат върху рецептори на комари и кърлежи, както и неконюгиран пептид, и могат да бъдат полезен инструмент за изследване на ролята на кинина в физиологията на членестоноги и последващо приложение в борбата с кърлежите (*Waldman et al., 2023*).



Поради трудността при идентифицирането на нови акарициди с невротоксичен потенциал, които биха могли да служат за контрол на ектопаразити, са тествани молекули с различни физиологични цели. Триозофосфат изомерата (TIM) е ензим, който участва в метаболизма на гликолизата и глюконеогенезата, като катализира взаимното преобразуване на глицералдехид 3-фосфат и дихидроксиацетон фосфат. Структурните промени на TIM в *Plasmodium falciparum*, дължащи се на модификация в цистеинов остатък, доведоха до загуба на ензимна активност. При кърлежи, TIM инхибиторите бяха оценени за тяхната акарицидна ефикасност, разкривайки, че от 227 тествани съединения, четири са били в състояние да инхибират ензимната активност, като също се съобщава за намаляване на процента на жизнеспособни клетки и намаляване на скоростта на излюпване на ларвите на *R. microplus*. **Инхибитори, които предотвратяват разграждането на тирозин, аминокиселина, получена от кръвното брашно, могат да бъдат добра и безопасна алтернатива за контрол на паразитите.**

Други проучвания показват, че **излагането на анонаин, алкалоид**, изолиран от растение *Annona crassiflora* или синтетични молекули, намалява активността на глутатион-S-трансферазата и увеличава смъртността при кърлежи, което предполага *glutathion-s-transferase* (GST) като потенциална цел за разработване на нови акарициди

Освен инхибиторите, естествените съединения също са тествани за тяхната пестицидна активност и представляват голям интерес за контрол на паразити, главно поради намаленото въздействие върху околната среда в сравнение с химическите акарициди. В този контекст, **етеричните масла**, извлечени от риган (*Lippia graveolens*), розмарин (*Rosmarinus officinalis*) и чесън (*Allium sativum*) показват висока токсичност при тестове върху ларви на *R. microplus*, достигайки 100% смъртност при най-високо оценени концентрации (Waldman et al., 2023).

**Етерично масло от *Bulnesia sarmientoi*** също показват ларвицидна активност срещу *R. microplus*, *Rhipicephalus evertsi*, *Rhipicephalus pulchellus*, *R. appendiculatus*. Интересно е, че толерантност към тези компоненти се наблюдава при популациите на *R. microplus*, устойчиви на акарициди, в сравнение с податливите кърлежи. В същото време фито-формулите, които комбинират екстракти от различни растителни видове, като кимион (*Cuminum cyminum*), канела (*Cinnamotum zeylanicum*) и бахар (*Pimenta dioica*), също показват мощна акарицидна активност, в подкрепа на това, че приложението на растителни екстракти и етерични масла или техни компоненти би могло да бъде допълнение към наличния арсенал против кърлежи, за контрол на ектопаразити, със значително по-малък остатъчен ефект от химическите акарициди (Waldman et al., 2023).

Интересна алтернатива на химическия контрол на кърлежите може да бъде използването на РНК интерференция (RNAi) или редактиране на генома с помощта на CRISPR/Cas9 система за заглушаване на гени, свързани с основни физиологични функции, включително синганглионен метаболизъм. През последните години тези методологии се очертаха като важни биологични инструменти за изследване, но няколко предварителни проучвания показаха потенциалните приложения в контрола на вредителите. Инструментите за генно инженерство предизвикаха противоречия, но методологиите RNAi и CRISPR са полесни за използване и по-прецизни от други инструменти за редактиране на ДНК (Waldman et al., 2023).

## 12. Изводи:

- Поради затопляне на климата през последните години, кърлежите продължават да са активни дори и през по-студените месеци. Доказателство за това е установяването на кърлеж върху козината на куче в началото на декември месец.
- Повишаващите се температури водят до промяна в разпространението на векторите, които пренасят болести. Векторно-преносимите инфекциозни заболявания, характерни в миналото само за тропичните климатични области, започват да навлизат в райони с умерен климат и да имат по-дълъг сезон на трансмисия.
- Резистентността към акарициди и антибиотици е глобален проблем, който има въздействие по целия свят. Докладвани са популации от кърлежи с широка резистентност към

всички налични в търговската мрежа акарициди, което от своя страна води до повишен риск от предаване на инфекции от тях към животните и хората.

- Проучването на акарицидното действие на алкалоидите, етеричните масла и други нови химически съединения е наложително. Резистентността на кърлежите, може да доведе до глобално разпространение на векторно-преносимите инфекциозни заболявания сред популациите на хората и животните.

### **13. Заключение.**

Настоящите тенденции в болестите, пренасяни от кърлежи при кучетата, показват, че анаплазмозата е нарастваща заплаха за кучетата. С подобряването на диагностиката и нарастването на осведомеността за рутинните тестове за болести, пренасяни от кърлежи, повече кучета ще бъдат идентифицирани като серопозитивни за вида *Anaplasma*. Не всички серопозитивни кучета ще проявят клинични признаци и необходимостта от лечение вероятно е ненужна в повечето случаи. Въпреки това, извършването на кръвен анализ за оценка на броя на тромбоцитите при серопозитивни кучета е необходимо предвид потенциалната тежест на заболяването; когато е налице тромбоцитопения, трябва да се обмисли лечение. Освен това PCR тестовете могат да осигурят повече диагностични доказателства, но резултатите трябва да се комбинират със серология и клиничната анамнеза. Доказателството за инфекция чрез откриване на антитела предоставя възможност за обучение на клиентите относно необходимостта от ежегоден скрининг за болести, пренасяни от кърлежи, и строг контрол на кърлежите.

Нарастващите знания за метаболизма на кърлежите осигуряват съществена основа за търговското развитие на акарицидите и алтернативни методологии за контрола им. Независимо от това, има нужда от допълнителни изследвания и непрекъснати усилия за разбиране на физиологията на кърлежите, което вероятно ще доведе до нови стратегии за контрол, способни да заобиколят настоящите механизми за резистентност към акарициди.

Основните рискови фактори за инфекция с Анаплазми при кучета са: липсата на ветеринарни грижи, липсата на третиране против кърлежи и инфектираните кърлежи. Единственият начин да се предпазят животните и хората, доколкото е възможно, е да се провежда редовна профилактика срещу векторите и външни паразити.

### **14. Литературни източници:**

1. Ива Стефанова Христова. Дисертация, 2012. Проучвания върху етиологичната диагностика и разпространението на Предаваните с кърлежи и сродни инфекции в България; <https://www.ncipd.org/images/UserFiles/File/Iva%20Hristova/Avtoferatnew.pdf>
2. Илия Цачев Цачев. Дисертация, 2009. Екзотични зоонози по кучетата в България (Моноцитна Ерлихиоза, Гранулоцитна Анаплазмоза, Висцерална Лайшманиоза). Tsachev, Iliia. (2009). EXOTIC ZOONOSES AMONG DOGS IN BULGARIA (monocytic ehrlichiosis, granulocytic anaplasmosis, visceral leishmaniasis), DSc Thesis, Trakia University, Stara Zagora Bulgaria, 2009. 10.13140/RG.2.2.24129.66402. ; <https://plus.cobiss.net/cobiss/bg/bg/bib/1249158884>
3. Atif FA. Alpha proteobacteria of genus *Anaplasma* (Rickettsiales: Anaplasmataceae): Epidemiology and characteristics of *Anaplasma* species related to veterinary and public health importance. Parasitology. 2016 May;143(6):659-85. doi: 10.1017/S0031182016000238. Epub 2016 Mar 2. PMID: 26932580.
4. Alleman AR, Chandrashekar R, Beall MJ, et al. 2006. Experimental inoculation of dogs with a human isolate (NY18) of *Anaplasma phagocytophilum* and demonstration of persistent infection following doxycycline therapy. J Vet Intern Med 20:763.
5. Anu E. Jääskeläinen; Elina Tonteri; Tarja Sironen; Laura Pakarinen; Antti Vaheri; Olli Vapalahti (2011). European subtype tick-borne encephalitis virus in *Ixodes persulcatus* ticks. Emerging Infectious Diseases. 17 (2): 323–325.

6. Arraga-Alvarado CM, Quorollo BA, Parra OC, Berrueta MA, Hegarty BC, Breitschwerdt EB, 2014. Case report: Molecular evidence of *Anaplasma platys* infection in two women from Venezuela. *Am. J. Trop. Med. Hyg* 91, 1161–1165. doi:10.4269/ajtmh.14-0372.
7. Beall MJ, Chandrashekar R, Eberts MD, et al. 2008 Serological and molecular prevalence of *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*, and *Ehrlichia* species in dogs from Minnesota. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2008 Aug;8(4):455-64. doi: 10.1089/vbz.2007.0236. PMID: 18302532.
8. Beall MJ, Mainville CA, Arguello-Marin A, et al. An improved point-of-care ELISA for the diagnosis of anaplasmosis and ehrlichiosis during the acute phase of tick-borne infections in dogs. *Top Companion Anim Med.* 2022;51:100735. doi:10.1016/j.tcam.2022.100735
9. Bethesda, MD. "Ixodidae". NCBI taxonomy: National Center for Biotechnology Information. 2018. Lineage( full ) cellular organisms; Eukaryota; Opisthokonta; Metazoa; Eumetazoa; Bilateria; Protostomia; Ecdysozoa; Panarthropoda; Arthropoda; Chelicerata; Arachnida; Acari; Parasitiformes; Ixodida; Ixodoidea.
10. Brinkac L, Voorhies A, Gomez A, Nelson K. The threat of antimicrobial resistance on the human microbiome. *Micro Ecol* 2017;176:139–48. <https://doi.org/10.1007/s00248-017-0985-z>
11. Breitschwerdt EB, Hegarty BC, Hancock SI. Sequential evaluation of dogs naturally infected with *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichia equi*, *Ehrlichia ewingii*, or *Bartonella vinsonii*. *J Clin Microbiol* 1998;36(9):2645-2651.
12. Companion Animal Parasite Council. Parasite prevalence maps: anaplasmosis. 2021. <https://capcvet.org/maps/#/2021/all-year/anaplasmosis/dog/united-states>
13. Companion Animal Parasite Council. Parasite prevalence maps: anaplasmosis. 2022. <https://capcvet.org/maps/#/2022/all-year/anaplasmosis/dog/united-states>
14. CDC(Centers for Diseases Control and Prevention). 2024. Geographic distribution of ticks. [https://www.cdc.gov/ticks/about/where-ticks-live.html?CDC\\_AAref\\_Val=https://www.cdc.gov/ticks/geographic\\_distribution.html](https://www.cdc.gov/ticks/about/where-ticks-live.html?CDC_AAref_Val=https://www.cdc.gov/ticks/geographic_distribution.html)
15. CDC(Centers for Diseases Control and Prevention). 2022. About Antibiotic Resistance- CDC. 2022 <https://www.cdc.gov/drugresistance/index.html>.
16. Chavarría-Bencomo Inés Valeria, Guadalupe Virginia Nevárez-Moorillón, Gerardo Pavel Espino-Solis, Jaime Raúl Adame-Gallegos. 2023. Antibiotic resistance in tick-borne bacteria: A One Health approach perspective. *Journal of Infection and Public Health.* 16, 1, 153-162, <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2023.10.027>
17. Chochlakis D, Ioannou I, Sharif L, Kokkini S, Hristophi N, Dimitriou T, Tselentis Y, Psaroulaki A. Prevalence of *Anaplasma* sp. in goats and sheep in Cyprus. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2009 Oct;9(5):457-63. doi: 10.1089/vbz.2008.0019. PMID: 18945185.
18. Dantas-Torres F. Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Parasit Vectors.* 2010 Apr 8;3:26. doi: 10.1186/1756-3305-3-26. PMID: 20377860; PMCID: PMC2857863.
19. Diniz PPVP, Moura de Aguiar D. Ehrlichiosis and anaplasmosis: an update. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2022;52(6):1225-1266. doi:10.1016/j.cvsm.2022.07.002
20. des Vignes F, Piesman J, Heffernan R, et al. Effect of tick removal on transmission of *Borrelia burgdorferi* and *Ehrlichia phagocytophila* by *Ixodes scapularis* nymphs. *J Infect Dis* 2001;183(5):773-778.
21. Dumic, I.; Person, E.; Igandan, O.; Adetimehin, O.; Nordstrom, C.W.; Williams, C.; Shweta, F. *Anaplasma phagocytophilum* Community-Acquired Pneumonia: Case Report and Literature Review. *Microorganisms.* 2023, 11, 1483. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11061483>
22. Dumler JS, Barbet AF, Bekker CP, Dasch GA, Palmer GH, Ray SC, Rikihisa Y, Rurangirwa FR. Reorganization of genera in the 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*. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2001 Nov;51(Pt 6):2145-2165. doi: 10.1099/00207713-51-6-2145. PMID: 11760958

23. Egenvall AE, Hedhammar AA, Bjöersdorff AI. Clinical features and serology of 14 dogs affected by granulocytic ehrlichiosis in Sweden. *Vet Rec* 1997;140(9):222-226.
24. Furutani, S., Ihara, M., Lees, K., Buckingham, S.D., Partridge, F.A., David, J.A., Patel, R., Warchal, S., Mellor, I.R., Matsuda, K., Sattelle, D.B., 2018. The fungal alkaloid Okaramine-B activates an L-glutamate-gated chloride channel from *Ixodes scapularis*, a tick vector of Lyme disease. *Int. J. Parasitol. Drugs Drug Resist.* 8, 350–360. <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2018.06.001>.
25. Greig B, Armstrong PJ. Canine granulocytotropic anaplasmosis (A. phagocytophilum infection). In: Greene CE, ed. *Infectious diseases of the dog and cat*. 3rd ed. St. Louis, Mo: Saunders, 2006;219-224.
26. Greig B, Asanovich KM, Armstrong PJ, et al. Geographic, clinical, serologic, and molecular evidence of granulocytic ehrlichiosis, a likely zoonotic disease, in Minnesota and Wisconsin dogs. *J Clin Microbiol* 1996;34(1):44-48.
27. Guglielmone A.A. et al. 2010. The Argasidae Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid names. *Zootaxa*. 2528.1-28
28. Guo Wen-Ping, Xiaoquan Wang, Ya-Ning Li, Gang Xu, Yi-Han Wang, En-Min Zhou. 2019. GroEL gene typing and genetic diversity of *Anaplasma bovis* in ticks in Shaanxi, China, *Infection, Genetics and Evolution*. Volume 74. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.103927>.
1. Harvey JW, Simpson CF, Gaskin JM, 1978. Cyclic thrombocytopenia induced by a *Rickettsia*-like agent in dogs. *J. Infect. Dis* 137, 182–188. [10.1093/infdis/137.2.182](https://doi.org/10.1093/infdis/137.2.182).
2. Horak Ivan G., Jean-Louis Camicas & James E. Keirans (2002). "The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida): a world list of valid tick names". *Experimental and Applied Acarology*. 28 (1–4): 27–5
3. Jennifer Granick, Michael R. Lappin, Trevor Waner, Shimon Harrus, Mathios E. Mylonakis. 2021. Anaplasmosis. *Greene's Infectious Diseases of the Dog and Cat (Fifth Edition)*, W.B. Saunders, Pages 542-554, <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-50934-3.00045-8>.
4. Jääskeläinen AE, Sironen T, Murueva GB, Subbotina N, Alekseev AN, Castrén J, Alitalo I, Vaheri A, Vapalahti O. Tick-borne encephalitis virus in ticks in Finland, Russian Karelia and Buryatia. *J Gen Virol*. 2010 Nov;91(Pt 11):2706-12. doi: 10.1099/vir.0.023663-0. Epub 2010 Jul 21. PMID: 20660147.
5. Jennifer Granick, Mathios E. Mylonakis. 2021. Anaplasmosis. *Greene's Infectious Diseases of the Dog and Cat (Fifth Edition)*.
6. Kocan KM, de la Fuente J, Blouin EF, Coetzee JF, Ewing SA. The natural history of *Anaplasma marginale*. *Vet Parasitol*. 2010 Feb 10;167(2-4):95-107. doi: 10.1016/j.vetpar.2009.09.012. Epub 2009 Sep 19. PMID: 19811876.
7. Kumar, R., Klafke, G.M., Miller, R.J., 2020. Voltage-gated sodium channel gene mutations and pyrethroid resistance in *Rhipicephalus microplus*. *Ticks Tick Borne Dis*. 11, 101404 <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101404>.
8. Lermينياux NA, Cameron ADS. Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in clinical environments. *Can J Microbiol* 2019;65:34–44. <https://doi.org/10.1139/cjm-2018-0275>
9. Little SE. Ehrlichiosis and anaplasmosis in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 2010;40(6):1121-1140. doi:10.1016/j.cvsm.2010.07.004
10. Little S, Braff J, Place J, et al. Canine infection with *Dirofilaria immitis*, *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma* spp., and *Ehrlichia* spp. in the United States, 2013-2019. *Parasit Vectors*. 2021;14(1):10. doi:10.1186/s13071-020-04514-3
11. Maggi RG, Mascarelli PE, Havenga LN, Naidoo V, Breitschwerdt EB, 2013. Co-infection with *Anaplasma platys*, *Bartonella henselae* and *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* in a veterinarian. *Parasit. Vectors* 6, 103. [10.1186/1756-3305-6-103](https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-103).
12. Matei IA, D'Amico G, Yao PK, Ionică AM, Kanyari PWN, Daskalaki AA, Dumitrache MO, Sándor AD, Gherman CM, Qablan M, Modrý D, Mihalca AD, 2016. Molecular detection of *Anaplasma platys* infection in free-roaming dogs and ticks from Kenya and Ivory Coast. *Parasit. Vectors* 9, 157. [10.1186/s13071-016-1443-3](https://doi.org/10.1186/s13071-016-1443-3).
13. O'Neill J. Book review: tackling drug-resistant infections globally. *Arch Pharm Pr* 2016;7:110. <https://doi.org/10.4103/2045-080x.186181>

14. Padgett KA, Lane RS. Life cycle of *Ixodes pacificus* (Acari: Ixodidae): timing of developmental processes under field and laboratory conditions. *J Med Entomol.* 2001 Sep;38(5):684-93. doi: 10.1603/0022-2585-38.5.684. PMID: 11580041.
15. Rufener, L., Danelli, V., Bertrand, D. *et al.* The novel isoxazoline ectoparasiticide lotilaner (Credelio™): a non-competitive antagonist specific to invertebrates  $\gamma$ -aminobutyric acid-gated chloride channels (GABA<sub>A</sub>Rs). *Parasites Vectors* 10, 530 (2017). <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2470-4>
16. Saleh MN, Allen KE, Lineberry MW, Little SE, Reichard MV. Ticks infesting dogs and cats in North America: biology, geographic distribution, and pathogen transmission. *Vet Parasitol.* 2021;294:109392. doi:10.1016/j.vetpar.2021.109392
17. Sainz Á, Roura X, Miró G, et al. Guideline for veterinary practitioners on canine ehrlichiosis and anaplasmosis in Europe. *Parasit Vectors.* 2015;8:75. doi:10.1186/s13071-015-0649-0
18. Sonenshine DE. Range expansion of tick disease vectors in North America: implications for spread of tick-borne disease. *Int J Environ Res Public Health.* 2018;15(3):478. doi:10.3390/ijerph15030478
19. Thivierge, Karine; Cekan, Alexandra; Saint-Pierre, Dominique; Bertrand, Vicky; Germain, Geneviève (2024). "Detailed description of the *Ixodes scapularis*, or black-legged tick or deer tick". Institut national de santé publique du Québec. Government du Québec. Retrieved 11 April 2024
20. Walker, M.D. (2018). "The Biology and Ecology of the Sheep Tick *Ixodes ricinus*" (PDF). *Antenna: Royal Entomological Society.* 42 (2): 61–65
21. Waldman Jéssica, Guilherme Marcondes Klafke, Lucas Tirloni, Carlos Logullo, Itabajara da Silva Vaz. 2023. Putative target sites in synganglion for novel ixodid tick control strategies. *Ticks and Tick-borne Diseases.* 14, 3, <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2023.102123>.
22. WHO (Organization World Health). Antimicrobial resistance 2022. <https://www.who.int/health-topics/antimicrobial-resistance>.
23. Ybañez AP, Inokuma H. *Anaplasma* species of veterinary importance in Japan. *Vet World.* 2016 Nov;9(11):1190-1196. doi: 10.14202/vetworld.2016.1190-1196. Epub 2016 Nov 4. PMID: 27956767; PMCID: PMC5146296.
24. Yunker C. E.; J. E. Keirans; C. M. Clifford; E. R. Easton (1986). "Dermacentor ticks (Acari: Ixodoidea: Ixodidae) of the New World: a scanning electron microscope atlas". *Proceedings of the Entomological Society of Washington.* 88 (4): 609–627.



*Други научни становища и актуална информация от областта на здравето, хуманното отношение и благосъстоянието на животните, антимикробната резистентност, африканка чума по свинете, както и оценка на риска по цялата хранителна верига може да намерите на сайта на Центъра за оценка на риска по хранителната верига:*

<https://corhv.government.bg/>

<https://corhv.government.bg/?cat=27>

<https://corhv.government.bg/?cat=71>

## ИЗГОТВИЛ:

Доц. Д-р Габриела Гужгулова,

Дирекция „Оценка на риска по хранителната верига“, ЦОРХВ

11.03.2025 г.