

Идентификация и генетическая характеристика этиологического агента пироплазмидоза лошадей на территории Западной и Восточной Сибири

В.А. Рар¹✉, В.А. Марченко², Е.А. Ефремова³, О.В. Сунцова⁴, О.В. Лисак⁴, А.Ю. Тикун¹, И.В. Мельцов⁵, Н.В. Тикун¹

¹ Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

² Горно-Алтайский научно-исследовательский институт сельского хозяйства, Республика Алтай, с. Майма, Россия

³ Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока, Новосибирская область, пос. Краснообск, Россия

⁴ Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека, Иркутск, Россия

⁵ Иркутский государственный аграрный университет им. А.А. Ежевского, Иркутская область, пос. Молодежный, Россия

Пироплазмидоз лошадей – природно-очаговая инфекция, вызываемая простейшими гемопаразитами отряда Piroplasmida *Babesia caballi* и *Theileria equi*. Животные, выздоровевшие после пироплазмидоза, остаются в течение длительного времени резервуарами инфекции и могут передавать патогены клещам-переносчикам. Случаи пироплазмидоза лошадей периодически отмечают в различных регионах Сибири, но до настоящего времени возбудители пироплазмидозов лошадей в России не были генетически охарактеризованы. Цель данной работы – изучение инфицированности лошадей из Новосибирской и Иркутской областей и из Республики Алтай возбудителями пироплазмидоза; установление видовой принадлежности выявленных возбудителей и их генетическая характеристика. Исследованы образцы крови от 155 лошадей на наличие ДНК бабезий и тейлерий методом двухраундовой ПЦР с последующим секвенированием положительных образцов. ДНК *T. equi* обнаружена в образцах крови у 57.9, 38.5 и 65.0 % лошадей из Новосибирской, Иркутской областей и Республики Алтай соответственно. Инфицированные животные были зарегистрированы практически во всех населенных пунктах, включенных в настоящую работу, что свидетельствует о том, что большинство исследованных мест являются эндемичными по тейлериизу лошадей. Следует отметить, что ДНК *B. caballi* не обнаружена ни в одном из исследованных образцов, несмотря на то, что раньше данный возбудитель детектировался во многих районах России, в том числе и на Алтае. На основании анализа нуклеотидных последовательностей гена 18S рРНК образцы *T. equi* относились к двум из четырех известных генетических групп, существенно различающихся между собой по последовательностям варибельной (V4) области гена. Все последовательности *T. equi* группы В были идентичны между собой и соответствовали последовательностям, выявленным в крови лошадей из Китая и Кореи, а последовательности *T. equi* группы А различались между собой одной-пятью заменами и соответствовали последовательностям, обнаруженным в крови лошадей из Индии и Бразилии, или отличались от них единичными заменами. Следует отметить, что в настоящем исследовании впервые подтверждено генетически наличие этиологического агента пироплазмидоза в образцах крови лошадей на территории России.

Ключевые слова: пироплазмидоз лошадей; *Theileria equi*; филогенетический анализ; ген 18S рРНК; Сибирь.

Identification of the etiological agent of equine piroplasmidosis in Western and Eastern Siberia

V.A. Rar¹✉, V.A. Marchenko², E.A. Efremova³, O.V. Suntsova⁴, O.V. Lisak⁴, A.Y. Tikunov¹, I.V. Meltsov⁵, N.V. Tikunova¹

¹ Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Gorno-Altay Research Institute of Agriculture, Republic of Altay, Mayma, Russia

³ Institute of Experimental Veterinary Science of Siberia and the Far East, Novosibirsk region, Krasnoobsk, Russia

⁴ Scientific Center of Family Health Problems and Human Reproduction, Irkutsk, Russia

⁵ Irkutsk State Agrarian University named after A.A. Ezhevsky, Irkutsk region, Molodezhny settlement, Russia

Equine piroplasmidosis is a natural tick-borne infection caused by hemoprotozoan parasites of the order Piroplasmida, *Babesia caballi* and *Theileria equi*. Animals that recover from piroplasmidosis remain persistently infected carriers and can transmit pathogens to vector ticks. Cases of equine piroplasmidosis are periodically observed in Siberia, however, no agent of equine piroplasmidosis has yet been genetically characterized in Russia. The aim of this work was studying the prevalence of the infectious agents of piroplasmidosis in horses from Siberia and genotyping the detected agents. Blood samples from 155 horses were examined for the presence of *Babesia* and *Theileria* DNA by nested PCR with the subsequent sequencing of positive samples. DNA of *T. equi* was found in blood samples from 57.9 %, 38.5 % and 65.0 % of horses from Novosibirsk province, Irkutsk province, and the Republic of Altai, respectively. *T. equi* DNA was found in the samples from almost all sampling sites included in this study, indicating that most of the studied sites are endemic for equine theileriosis. Surprisingly, DNA of *B. caballi* was not found in any of the samples examined, even though this agent had previously been detected in many regions in Russia, including Altai. The analysis of the determined 18S rRNA gene sequences demonstrated that *T. equi* samples belonged to two genetic groups, which differed significantly by the sequences of the variable (V4) region of the gene. All *T. equi* sequences from group B were identical and corresponded to *T. equi* sequences found in the blood of

horses from China and Korea, while *T. equi* sequences from group A differed by 1–5 nucleotide substitutions and were identical to the sequences from the blood of horses from India and Brazil or differed from them by single mismatches. Notably, in this study the presence of etiological agent of piroplasmosis in blood samples from horses in Russia was genetically confirmed for the first time.

Key words: equine piroplasmosis; *Theileria equi*; phylogenetic analysis; 18S rRNA gene; Siberia.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Рар В.А., Марченко В.А., Ефремова Е.А., Сунцова О.В., Лисак О.В., Тикунов А.Ю., Мельцов И.В., Тикунова Н.В. Идентификация и генетическая характеристика этиологического агента пироплазмидоза лошадей на территории Западной и Восточной Сибири. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(2):224–229. DOI 10.18699/VJ18.351

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Rar V.A., Marchenko V.A., Efremova E.A., Suntsova O.V., Lisak O.V., Tikunov A.Y., Meltsov I.V., Tikunova N.V. Identification of the etiological agent of equine piroplasmosis in Western and Eastern Siberia. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(2):224–229. DOI 10.18699/VJ18.351 (in Russian)

Пироплазмидоз лошадей – природно-очаговая инфекция, которую вызывают простейшие гемопаразиты отряда Piroplasmida – *Babesia caballi* и *Theileria equi*. Жизненные циклы обоих инфекционных агентов включают чередование бесполого размножения в эритроцитах позвоночных хозяев, полового процесса в кишечнике клещей и спорогонии (образование спорозоидов) в слюнных железах клеща (Homer et al., 2000), однако имеют свои характерные особенности. Так, *B. caballi* непосредственно инфицируют эритроциты, в то время как *T. equi* первоначально размножаются в лимфоцитах и лишь потом в эритроцитах. Кроме того, *B. caballi*, относящиеся к группе истинных бабезий *Babesia sensu stricto*, передаются трансвариально следующему поколению клещей, в то время как для тейлерий данный способ передачи отсутствует (Scoles, Ueti, 2015). Возбудители пироплазмидозов лошадей также существенно различаются морфологически: у *B. caballi* размер внутриэритроцитарных форм составляет 2.5–5.0 мкм, а у *T. equi* – 1.0–2.5 мкм. До появления молекулярных методов морфологические особенности пироплазмид были основным признаком для дифференциальной диагностики разных видов.

Клинические проявления пироплазмидозов лошадей, вызванных как *B. caballi*, так и *T. equi*, схожи между собой. Заболевание может протекать в острой, подострой и хронической формах. При острой форме наблюдаются лихорадка до 40 °С, потеря аппетита, слабость, потеря веса, отек слизистых оболочек, спленомегалия, тромбоцитопения, а также гемолитическая анемия, приводящая к гемоглобинурии и желтухе (Wise et al., 2013). У животных, выздоровевших после острой инфекции, отмечена длительная персистенция возбудителя при отсутствии каких-либо клинических проявлений; при этом они остаются резервуарами инфекции и способны передавать патогены клещам-переносчикам. Уровень длительной паразитемии обычно бывает низким, поэтому инфицированные животные могут быть выявлены преимущественно серологическими или молекулярно-генетическими методами, но не на основании анализа мазков крови (Scoles, Ueti, 2015).

Показано, что природные очаги пироплазмидозов лошадей не могут поддерживаться в отсутствие специфических переносчиков, которыми являются клещи различных видов, относящихся к родам *Dermacentor*, *Hyalomma* и *Rhipi-*

cephalus. Пироплазмидоз лошадей широко распространен в мире, и только несколько стран (Австралия, Канада, Новая Зеландия, Великобритания, Ирландия и Япония) считаются свободными от этой инфекции (Bhoora et al., 2009; Salim et al., 2010; Wise et al., 2013). В эндемичных районах доля инфицированных животных часто бывает высокой и превышает 60 % (Zhang et al., 2017); однако у большинства животных гемопаразиты персистируют без видимых признаков инфекции. В большинстве случаев вспышки заболевания происходят, когда неинфицированные лошади оказываются в эндемичных районах или если животные с персистирующей инфекцией попадают в районы, в которых пироплазмидоз лошадей отсутствует, но имеются специфические клещи-переносчики (Scoles, Ueti, 2015).

Протозойные паразиты, вызывающие пироплазмидоз лошадей, впервые описаны в начале 20-го века и названы *Piroplasma caballi* и *Piroplasma equi*. Позднее *P. caballi* были переименованы в *Babesia caballi*, а *Piroplasma equi* – сначала в *Nuttallia equi*, затем в *Babesia equi*, и только в 1998 г. таксономическое положение данного возбудителя было окончательно установлено. На основании результатов ультрамикроскопического исследования и молекулярно-генетического анализа *B. equi* в настоящее время отнесены к тейлериям и названы *T. equi* (Mehlhorn, Schein, 1998; Uilenberg, 2006).

В России пироплазмидозы лошадей и их возбудители впервые выявлены в 1906–1908 гг. в Рязанской губернии, в последующие годы пироплазмидозы обнаружены в различных губерниях России. В 1930–1950-х гг. эпизоотическая обстановка по пироплазмидозу резко ухудшилась из-за перемещений большого количества лошадей в эндемичные районы; наблюдался массовый падеж животных. Это послужило причиной для проведения масштабных исследований, посвященных изучению данного заболевания в СССР. В крови лошадей из неблагополучных по пироплазмидозу районов идентифицированы оба возбудителя инфекции, доказана роль клещей *Hyalomma plumbeum*, *H. scupense*, *Rhipicephalus bursa*, *Dermacentor silvarum*, *D. nuttalli* и *D. marginatus* как переносчиков исследуемых гемопаразитов (Марков и др., 1940; Петунин, 1948; Абрамов, 1955; Будник, 1955). В работах советских ученых показано также, что *B. caballi* способны передаваться трансвариально в течение не менее 11 поколений клещей

и что *T. equi* могут передаваться от инфицированных к неинфицированным животным клещами половозрелых стадий в результате прерывистого питания самцов и частой смены хозяев (Будник, 1955). Следует отметить, что в отечественной литературе 1930–1960-х гг. сохранялась старая терминология: инфекционные агенты назывались *P. caballii* и *N. equi*, а вызываемые ими заболевания – пироплазмозом и нутталлиозом.

В 1960-х гг. в связи с уменьшением поголовья лошадей и распашкой целинных земель, приведшими к уменьшению численности клещей, заболеваемость пироплазмидозами существенно снизилась (Христиановский, Беличенко, 2009). Кроме того, для лечения и профилактики пироплазмидозов в эндемичных районах стали широко применять современные противопротозойные препараты, такие как азидин, верибен, гемоспоридин, бартизин, бабезан и другие, что позволило снизить заболеваемость этой инфекцией. Тем не менее случаи пироплазмидоза лошадей периодически наблюдали в различных регионах Сибири. В частности, в 2008 г. в Усть-Удинском районе Иркутской области была отмечена вспышка инфекции, которая привела к падежу животных (Федулина и др., 2014). Новосибирская область и Республика Алтай остаются неблагоприятными по пироплазмидозу лошадей территориями. В Республике Алтай отмечено увеличение заболеваемости с середины 1990-х гг., при этом случаи пироплазмидоза наблюдались во всех районах региона (Южаков, 2002).

К сожалению, в последние десятилетия исследования пироплазмидозов лошадей в России практически не проводились. Имеются лишь фрагментарные сведения о выявлении данного заболевания, при этом диагноз в большинстве случаев основан только на клинической картине. Информация по генетической идентификации возбудителя пироплазмидоза лошадей из каких-либо регионов России также отсутствует. В предварительных исследованиях нами генотипирован возбудитель пироплазмидоза в шести образцах крови лошадей из г. Иркутска; во всех случаях обнаружена ДНК *T. equi* (Федулина и др., 2014).

Цель настоящей работы – изучение инфицированности лошадей возбудителями пироплазмидоза в отдельных районах Западной и Восточной Сибири; установление видовой принадлежности выявленных возбудителей пироплазмидоза и проведение молекулярно-генетического анализа инфекционных агентов.

Материалы и методы

Собраны образцы крови от 155 лошадей из различных районов Новосибирской, Иркутской областей и Республики Алтай. В Новосибирской области исследуемые лошади содержались в школе верховой езды, конном клубе и частной конюшне; в Иркутской области – в частных конюшнях, фермерских хозяйствах и на ипподроме; в Республике Алтай – в конно-спортивной школе и фермерском хозяйстве (таблица). Образцы крови (по 400 мкл от каждого животного) собирали в стерильные пробирки с этилендиаминтетрауксусной кислотой (по 40 мкл 0.5 М раствора ЭДТА) и выделяли ДНК с использованием наборов «Проба НК» (ДНК-технология, Москва), как описано ранее (Рар и др., 2014).

Выделенные образцы ДНК исследованы методом гнездовой двухраундовой ПЦР в присутствии праймеров из области гена 18S рРНК на наличие ДНК бабезий и тейлерий, как описано ранее (Rar et al., 2014). Все реакции амплификации проводили в 20 мкл реакционной смеси, содержащей 67 мМ Tris-HCl (pH 8.9), 16.6 мМ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 2 мМ MgCl_2 , 0.01 % Tween-20, 5 % глицерин, 0.02 % крезоловый красный, 200 мкМ дНТФ, 0.5 мкМ праймеров, 2 ед. акт. Таq-ДНК полимеразы и 2 мкл ДНК (для постановки 1-го раунда ПЦР) или 2 мкл ампликона (для постановки 2-го раунда ПЦР). В качестве отрицательного контроля использована бидистиллированная вода, положительным контролем служила ДНК *Babesia microti*, выделенная из собранных в природе клещей *Ixodes persulcatus* (Rar et al., 2014). Для того чтобы исключить возможную контаминацию, выделение ДНК, постановку ПЦР и анализ полученных ампликонов проводили в отдельных комнатах; на всех стадиях использовали одноразовые наконечники с фильтрами. Протокол проведения ПЦР состоял из 35 циклов амплификации, каждый из которых включал стадии денатурации (94 °C, 1 мин), отжига (60 °C, 1 мин) и элонгации (72 °C, 1.5 мин). Для проведения первого раунда ПЦР использовали прямой праймер BS1 (5'-GACGGTAGGGTATTGGCCT-3') и обратный праймер BS2 (5'-ATTCACCGGATCACTCGATC-3'). Второй раунд проводили в виде мультиплексной реакции в присутствии двух прямых праймеров: BS3 (5'-TACCGGGGCGACGACGGGTG-3') и BS5 (5'-CGAGGCAGCAACGGGTAACG-3') и обратного праймера BS4 (5'-AGGGACGTAGTCGGCACGAG-3'). Праймер BS3 специфичен для тейлерий и бабезий из генетической группы *Babesia microti*, а праймер BS5 – для истинных бабезий *Babesia sensu stricto*.

Полученные продукты ПЦР очищали на колонках GFX Columns (Amersham Biosciences, США). Секвенирующие реакции проводили с использованием набора реагентов BigDye Terminator v. 3.1 Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems Inc., США) в присутствии праймеров BS3, BS4, а также праймера PiroC (5'-CCAACAATAAGAA CCAARGTCCTAC-3') из внутренней области ампликонов. Продукты секвенирующих реакций анализировали на ABI 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США). Для сравнения определенных нуклеотидных последовательностей с известными последовательностями использовали программу BLASTN (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>). Филогенетический анализ выполняли методом минимальной эволюции (ME) модель Tamura-Nei в пакете программ MEGA 7.0 (<http://www.megasoftware.net/manual.html>). Для анализа статистической значимости проведен bootstrap анализ с 1000 повторов.

Нуклеотидные последовательности фрагмента гена 18S рРНК *T. equi* зарегистрированы в базе данных GenBank под номерами MG551915–MG551921.

Результаты и обсуждение

ДНК *Babesia* spp./*Theileria* spp. обнаружена в образцах крови у 57.9, 38.5 и 65.0 % лошадей из Новосибирской, Иркутской областей и Республики Алтай соответственно (см. таблицу). Нуклеотидные последовательности фрагмента гена 18S рРНК длиной от 329 до 1249 н.п.,

Detection of *Theileria equi* DNA in equine blood samples

Sampling sites		Date of sampling	Number of samples	Number (%) of samples containing DNA of <i>T. equi</i>
Site	Location			
N1	Nov, Krasnoobsk, Riding school	11.2012	9	6 (67)
N2	Nov, Iskitim, Horse Club	04.2014	4	3 (75)
N3	Nov, Razdol'noe, private stable	04.2014	6	2 (33)
Subtotal N1–N3			19	11 (57.9)
Ir1	Irk, Ust'-Udin district, Mol'ka Village, private farm	10.2013	30	5 (17)
Ir2	Irk, Bohan district, Tikhonovka Village, private stable	10.2013	8	6 (75)
Ir3	Irk, Bohan district, Vershina Village, private stable	10.2013	8	4 (50)
Ir4	Irk, Bohan district, Dunkai Village, private stable	10.2013	2	1 (50)
Ir5	Irk, Bohan district, Novaya Ida Village, private stable	10.2013	2	0
Ir6	Irk, Osin district, Ulei Village, private stable	10.2013	20	5 (25)
Ir7	Irk, Irkutsk, Hippodrome	05.2014	26	16 (62)
Subtotal Ir1–Ir7			96	37 (38.6)
A1	Alt, Gorno-Altaysk, Equestrian School	09.2016	20	9 (45)
A2	Alt, Ulagan district, Kara-Kudyur Village, private farm	09.2016	20	17 (85)
Subtotal A1–A2			40	26 (65.0)
Total			155	74 (47.7)

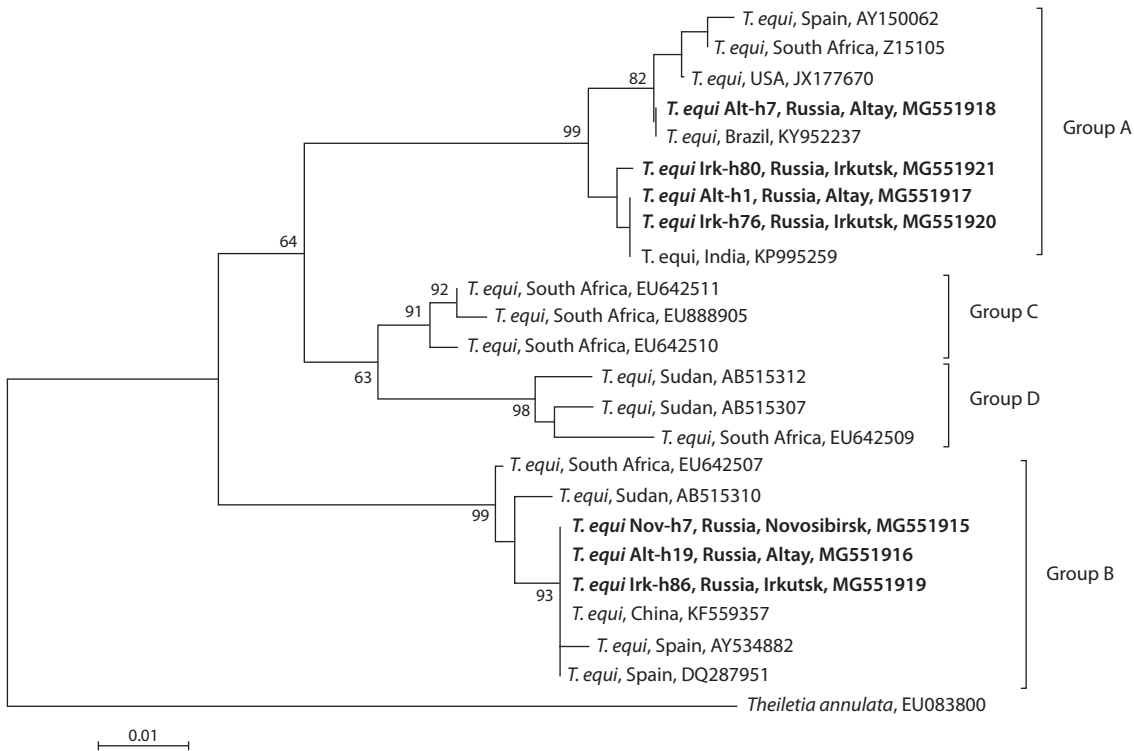
Abbreviations: Nov, Novosibirsk Oblast; Irk, Irkutsk Oblast; Alt, Republic of Altay.

определенные для всех положительных образцов, соответствовали последовательностям *T. equi*. Следует отметить, что ДНК *T. equi* обнаружена в образцах крови из практически всех населенных пунктов, включенных в нашу работу, что свидетельствует о том, что большинство исследованных мест эндемичны по тейлериозу лошадей. В весенне-летний период значительная часть лошадей находилась на выпасах, расположенных в ареале различных видов клещей. В Новосибирской области предполагаемые места выпасов лошадей представляют собой лесные и лесостепные биотопы, в которых обитают клещи *Ixodes persulcatus* и *Dermacentor reticulatus*. В Иркутской области участки И1 и И2 – луговые и степные биотопы, в которых доминируют клещи *D. nuttalli*, а окрестности участков И3–И6 находятся в зоне таежных и подтаежных лесов, в которых преобладают *I. persulcatus*, но также встречаются *D. nuttalli* и *D. silvarum*. Лошади из участка И7 (ипподром) выезжали на соревнования в разные районы области, где также имели контакты с клещами. В Республике Алтай окрестности г. Горно-Алтайска (участок А1) представлены лесными и луговыми биотопами, в которых обитают клещи *I. persulcatus* и *D. reticulatus*, а в Улаганском районе (участок А2) выпасы проводят в межгорных степных котловинах, расположенных в ареале клещей *D. nuttalli*. Таким образом, во всех исследованных участках лошади могли во время выпаса иметь контакты с клещами рода *Dermacentor* – специфичными переносчиками *T. equi*. Интересно, что восемь лошадей из конно-спортивной школы г. Горно-Алтайска не были на выпасах в 2016 г., и ни у одной из них в крови не выявлены тейлери, в то время как среди остальных лошадей тейлери обнаружены у 75 %.

Следует отметить, что *B. caballi* не обнаружена ни в одном из исследованных образцов, несмотря на то что в 1930–1950-х гг. данный возбудитель выявлялся в большинстве неблагополучных по пироплазмидозу районов, в том числе на Алтае и в Забайкалье (Овчинников и др., 1941; Семенов, 1955). Причина исчезновения *B. caballi* остается непонятной, поскольку *B. caballi* с высокой эффективностью передаются трансвариально и должны сохраняться в популяции клещей даже при отсутствии инфицированных животных. Более широкие исследования необходимы для выяснения эпизоотической обстановки по бабезиозу на территории Западной и Восточной Сибири.

По сравнению с другими представителями рода *Theileria*, *T. equi* является наиболее варибельным видом. На основании анализа гена 18S рРНК известные изоляты *T. equi* отнесены к четырем генетическим группам (А–D), существенно различающимся между собой по последовательностям варибельной (V4) области гена (Bhoora et al., 2009; Salim et al., 2010). Анализ определенных в настоящей работе нуклеотидных последовательностей показал, что большинство (65 из 74) образцов *T. equi* относится к группе В, а девять образцов – к группе А (рисунок). Следует отметить, что *T. equi* группы В обнаружены во всех исследованных участках, а *T. equi* группы А – только в окрестностях г. Горно-Алтайска (участок А1) и в Боханском районе Иркутской области (участки И2–И4).

Все определенные последовательности *T. equi* группы В идентичны между собой и соответствовали таковым, выявленным в крови лошадей из различных стран: Китая (KF559357), Кореи (HM229407), Монголии (AB733379), Швейцарии (KM046918) и Испании (DQ287951). Тейлери этой генетической группы обнаружены также на



Dendrogram of the similarity between nucleotide sequences (329 bp) of the 18S rRNA fragment of *T. equi* constructed by the ME method. The scale bar corresponds to 1% divergence. Sequences obtained in this study are shown in boldface.

территории Африки (AB515310, EU642507 и др.). Последовательности *T. equi* группы А более вариабельны и различались между собой одной-пятью нуклеотидными заменами. Последовательность одного образца из Горно-Алтайска (Alt-h7) была идентична последовательности *T. equi* из Бразилии (KY952237), остальные последовательности группы А (Irk-h80, Alt-h1, Irk-h-76) соответствовали последовательности, выявленной в крови лошади из Индии (KP995259), или отличались от нее единичными заменами (см. рисунок). Следует отметить, что тейлерии, относящиеся к генетической группе А, обнаружены также в других регионах: Европе (AY150062), США (JX177670) и Южной Африке (Z15105).

Таким образом, в настоящем исследовании впервые генетически подтверждено наличие этиологического агента пироплазмидоза в образцах крови лошадей на территории России. ДНК *T. equi* обнаружена в образцах крови лошадей из всех исследованных участков Новосибирской и Иркутской областей, а также Республики Алтай. Доля инфицированных лошадей в разных областях составляла 42.6–65.0%. Выявленные образцы *T. equi* на основании анализа гена 18S рРНК относились к двум из четырех известных генетических групп *T. equi* – группам А и В, обнаруживаемым на различных континентах.

Acknowledgments

Analysis of samples from the Novosibirsk oblast was supported by the Russian Science Foundation, project 15-14-20020. Analysis of samples from Altay was supported by the Russian Foundation for Basic Research, project 16-

44-040043. Analysis of samples from the Irkutsk oblast was supported by the Program of Academic Research in State Academies of Sciences, project 0309-2016-0002.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Abramov I.V. On the longevity of the causative agent of equine piroplasmiasis (*Piroplasma caballi*) in ticks *Hyalomma plumbeum* Panzer, 1795. Veterinariya = Veterinary. 1955;3:42-46. (in Russian)
- Bhoora R., Franssen L., Oosthuizen M.C., Guthrie A.J., Zweygarth E., Penzhorn B.L., Jongejan F., Collins N.E. Sequence heterogeneity in the 18S rRNA gene within *Theileria equi* and *Babesia caballi* from horses in South Africa. Vet. Parasitol. 2009;159(2):112-120. DOI 10.1016/j.vetpar.2008.10.004.
- Budnik V.S. New data on the mechanism of transmission of the causative agent of equine nuttalliosis by pasture ticks (*Dermacentor marginatus* Sulz). Veterinariya = Veterinary. 1955;8:36-43. (in Russian)
- Fedulina O.O., Rar V.A., Suntsova O.V., Kozlova I.V. Identification of *Theileria equi* in horse blood in Irkutsk oblast. Byulleten VSNTs SO RAMN = Bulletin of the East Siberian Scientific Center SBRAMS. 2014;6:101-104. (in Russian)
- Homer M.J., Aguilar-Delfin I., Telford III S.R., Krause P.J., Persing D.H. Babesiosis. Clin. Microbiol. Rev. 2000;13(3):451-469.
- Khristianovsky P.I., Belichenko V.V. Piroplasmoses of animals on Southern Ural. Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Parasitological Journal. 2009;2:70-74. (in Russian)
- Markov A.A., Kurchatov V.N., Dzasokhov G.S. The role of *Rhipicephalus bursa* ticks in the spreading of equine nuttalliosis. Veterinariya = Veterinary. 1940;1:33. (in Russian)
- Mehlhorn H., Schein E. Redescription of *Babesia equi* Laveran, 1901 as *Theileria equi*. Parasitol. Res. 1998;84(6):467-475.

- Ovchinnikov P.A., Nikitenko G.I., Zhiltsov P.A., Zabelin V.A. *Derma-centor nuttalli* ticks as a vector of equine piroplasmosis and nuttalliosis. Veterinariya = Veterinary. 1941;2:15-16. (in Russian)
- Petunin F.A. *Hyalomma scupense* P. Sch. tick is a vector of equine nuttalliosis. Veterinariya = Veterinary. 1948;9:14. (in Russian)
- Rar V.A., Epikhina T.I., Sunsova O.V., Kozlova I.V., Lisak O.V., Pukhovskaya N.M., Vysochina N.P., Ivanov L.I., Tikunova N.V. Genetic variability of *Babesia* parasites in *Haemaphysalis* spp. and *Ixodes persulcatus* ticks in the Baikal region and Far East of Russia. Infect. Genet. Evol. 2014;28:270-275. DOI 10.1016/j.meegid.2014.10.010.
- Rar V.A., Epikhina T.I., Tikunova N.V., Bondarenko E.I., Ivanov M.K., Yakimenko V.V., Malkova M.G., Tantsev A.K. DNA detection of pathogens transmitted by Ixodidae ticks in blood of small mammals inhabiting the forest biotopes in the Middle Irtysh region (Omsk oblast, West Siberia). Parazitologiya = Parasitology. 2014;48(1):37-53. (in Russian)
- Salim B., Bakheit M.A., Kamau J., Nakamura I., Sugimoto C. Nucleotide sequence heterogeneity in the small subunit ribosomal RNA gene within *Theileria equi* from horses in Sudan. Parasitol. Res. 2010;106(2):493-498. DOI 10.1007/s00436-009-1691-7.
- Scoles G.A., Ueti M.W. Vector ecology of equine piroplasmosis. Annu. Rev. Entomol. 2015;60:561-580. DOI 10.1146/annurev-ento-010814-021110.
- Semenov P.V. Distribution of ixodid ticks and equine hemosporodioses in Altai kray. Sbornik nauchnykh rabot Altayskoy nauchno-issledovatel'skoy veterinarnoy stantsii [Collection of scientific works of the Altai SRVS]. 1955;1:245-262. (in Russian)
- Uilenberg G. *Babesia* – a historical overview. Vet. Parasitol. 2006;138:3-10.
- Wise L.N., Kappmeyer L.S., Mealey R.H., Knowles D.P. Review of equine piroplasmosis. J. Vet. Intern. Med. 2013;27(6):1334-1346.
- Yuzhakov A.Yu. Epizootology of equine piroplasmosis in the Republic of Altai. Tezisy dokladov nauchnoy konferentsii "Aktualnye voprosy biologii, ekologii i veterinarnoy meditsiny domashnikh zhivotnykh" [Abstracts from the scientific conference "Current problems in biology, ecology and veterinary medicine of domestic animals"]. Tyumen, 2012;142-144 (in Russian)
- Zhang Y., Chahan B., Liu S., Song R., Li Y., Huercha, Guo Q., Wu H., Zhu Y. Epidemiologic studies on *Theileria equi* infections for grazing horses in Ili of Xinjiang province. Vet. Parasitol. 2017;244:111-113.