

УДК 616.993

Н.В. Рудаков, С.Н. Шпынов, И.Е. Самойленко, Л.В. Кумпан,  
Т.А. Решетникова, Н.А. Абрамова, А.Н. Коломеец

Омский НИИ природно-очаговых инфекций Роспотребнадзора, Россия  
e-mail: rickettsia@mail.ru

### Актуальные аспекты изучения биоразнообразия риккетсий

Представлен анализ развития и современного состояния изучения биоразнообразия риккетсий. Прогресс в изучении риккетсий связан с совершенствованием методов их выявления и изоляции – использованием биотехнологических систем (культивированием в чувствительных линиях эукариотических клеток и экспериментальных линиях клещей) в сочетании с методами генотипирования и классическими риккетсиологическими методами. Разработка новых методологических подходов к изучению клещевых альфа-протеобактерий привело к существенному пересмотру представлений о генетическом разнообразии, гетерогенности антигенных и биологических свойств, экологии и вкладе в инфекционную патологию различных представителей порядка Rickettsiales в России и в мире.

**Ключевые слова:** риккетсии, риккетсиозы, альфа-протеобактерии, иксодовые клещи, природные очаги, биологическое разнообразие.

Н.В. Рудаков, С.Н. Шпынов, И.Е. Самойленко, Л.В. Кумпан,  
Т.А. Решетникова, Н.А. Абрамова, А.Н. Коломеец  
**Риккетсияның биоалуантүрлілігін зерттеудегі негізгі аспектілер**

Дамудың және ілімнің қазіргі күйінің анализі туралы риккетсияде және риккетсиоздарда ұсынылды. Озықтық риккетсияның байқауында мен оның басын аш- және оқшаудың әдісінің жетілдірілуі – биотехнологиялық жүйенің (баулумен арада эукариотических тордың сезімтал сызықтарында және тістеуіктің эксперименталді сызықтарында) игерушілігімен ара тіркес мен генотипирования және классикалық риккетсиологическими әдістің әдістерімен тоқулы. жаңа методологиялық тіл табудың зерттемесі к кененің альфа-протеобактерий байқауына к туралы генетикалық түрлілікте тамашаның, антиген және биологиялық ұрғашылықтың гетерогендікінің байыпты пересмотру деген келтірді, экологияда және үлесте в Rickettsiales тәртібінің түрлі өкілінің инфекцияның паталогия ара Ресей және ара әлем.

**Түйін сөздер:** риккетсия және риккетсиоздар, альфа-протеобактерии, кененің риккетсиозының, табиғи отандар, биологиялық түрлілік.

N.V. Rudakov, S.N. Shpynov, I.E. Samoylenko, L.V. Kumpan, T.  
.A. Reshetnikova, N.V. Abramova, A.N. Kolomeetz  
**Actual aspects of rickettsial biodiversity's study**

The paper presents an analysis of development and current status of the doctrine about biodiversity of rickettsiae. Progress in the study of Rickettsia is associated with improved methods for their detection and isolation – using of biotechnological systems (cultivation in the experimental lines of ticks-sensitive lines of eukaryotic cells) in combination with methods of genotyping and classical rickettsial methods. The development of new methodological approaches to the study of tick-borne rickettsiae and other alpha-proteobacteria led to an important revision of ideas about genetic diversity, heterogeneity of antigenic and biological characteristics, ecology and contribution to the infectious pathology of various representatives of the order Rickettsiales in Russia and Kazakhstan.

**Key words:** rickettsiae, rickettsioses,  $\alpha$ -Proteobacteria, ticks, natural foci, biodiversity.

Термин "риккетсия", введенный Н. da Rocha-Lima (1916) [1], объединяет обширную группу альфа-протеобактерий, тесно связанных с чле-

нистоногими (клещи, вши, блохи). В соответствии с критериями идентификации новых риккетсий [2], List of Prokaryotic names with Standing

in Nomenclature – Genus *Rickettsia* включает 27 видов (<http://www.bacterio.cict.fr/qr/rickettsia.html>).

Целью работы была оптимизация подходов к изоляции и изучению представителей порядка *Rickettsiales* и выявление биоразнообразия клещевых альфа1-протеобактерий в России и Казахстане.

Прогресс в изучении видового состава риккетсий группы КПЛ, который отмечается в последние десятилетия, меняет представление о клещевых риккетсиозах (КР). Новые данные получены нами в результате комплексного применения классических риккетсиологических и дополнительных методов с использованием живых биотехнологических систем (культур клеток, экспериментальных линий переносчиков) в сочетании с молекулярно – биологическими методами идентификации риккетсий.

До начала наших исследований считалось, что в России и Казахстане имеется один передаваемый клещами риккетсиальный патоген – *Rickettsia sibirica*, вызывающий «клещевой риккетсиоз» («сибирский клещевой тиф») в официальной регистрации в РФ). К настоящему времени нами выделено еще 6 видов патогенных для человека риккетсий, экологически связанных с иксодовыми клещами.

Название вызываемой *Rickettsia sibirica* инфекции («сибирский клещевой тиф») не отражает территориального распространения заболевания, т.к. ее регистрируют в Сибири, на Дальнем Востоке, в Зауралье, за пределами РФ – в Казахстане, Монголии, Китае. В Астраханской области и смежных территориях России и Казахстана выявляют заболевания Астраханской пятнистой лихорадкой (АПЛ), возбудитель – *R. conorii* subsp. *caspiensis*. К новым риккетсиям, вызывающим клещевые риккетсиозы, относятся также *R. heilongjiangensis*, *R. helvetica*, *R. aeschlimannii*, *R. slovaca*, *R. raoultii*.

Наряду с классическим генотипом – *R. sibirica sensu stricto*, наиболее распространенном в нозоареале КР, на Дальнем Востоке РФ и в Китае в клещах *Dermacentor silvarum* выявлен генотип *R. sibirica* BJ-90. [3]. Не исключается существование в южных регионах Казахстана *R. sibirica* subsp. *mongolitimonae*.

*R. heilongjiangensis* описан как новый вид в 2003г. [2]. Случаи инфекции, вызванные *R. heilongjiangensis*, выявлены ретроспектив-

но в Хабаровском крае [4]. Реликтовый (последствие оледенений) характер распространения *H. concinna* в послеледниковой Евразии определяет ареал этих переносчиков в виде «пятен» в различных частях нозоареала КР [5]. *R. heilongjiangensis* выявлена в «пятнах» *H. concinna* в Приморском и Алтайском краях, а также в Красноярском крае (*H. concinna*, *D. nuttalli*) [6]. Штаммы *R. heilongjiangensis* изолированы в Омском НИИ природноочаговых инфекций раньше первых «китайских» штаммов, однако идентифицированы в последние годы [7].

*R. helvetica* выявлена в странах Европы в клещах *Ixodes ricinus*. Риккетсии, генетически близкие *R. helvetica*, выявлены нами в клещах *Ixodes persulcatus* в Омской области [8]. Получены данные, свидетельствующие об этиологической роли *R. helvetica* в развитии острых лихорадочных заболеваний после присасывания клещей в Пермском крае [9]. *R. helvetica* и близкие к *R. helvetica* виды риккетсий – *R. asiatica* sp. nov. и *R. tamurae* sp. nov. выявлены в клещах родов *Ixodes* и *Amblyomma* в Японии [10,11 и др.]. Полученные данные свидетельствуют о вероятности распространения *R. helvetica* – подобных риккетсий в ареале клещей *I. persulcatus* – комплекса.

На ряде территорий Европы в клещах рода *Dermacentor* установлено распространение *R. slovaca*. *R. slovaca* генотипирована нами в иксодовых клещах на двух административных территориях Европейской части России – в Воронежской области и Ставропольском крае [12]. Идентифицирован штамм *R. slovaca*, выделенный в Курганской области (Зауралье) в 1969 г. д.м.н. М.С.Шайманом из клещей *D. marginatus* [7]. *R. slovaca* рассматривают как агент лимфоаденопатии от присасывания клеща – синдрома TIBOLA: от «tick-borne lymphadenopathy».

Патогенная для человека *R. aeschlimannii* генотипирована нами в клещах *Haemaphysalis punctata* из Алма-Атинской области Казахстана, где в предыдущие десятилетия зарегистрированы случаи «КР» [6]. Эта риккетсия выявлена в Ставропольском крае в клещах *Hyalomma marginatum marginatum*.

Три новых, тесно генетически связанных генотипа риккетсий (*R. sp. RpA4*, *R. sp. DnS14*, *R. sp. DnS28*) впервые описанных в Астраханской области (*R. sp. RpA4*) и в республике Алтай (*R. sp. DnS14*, *R. sp. DnS28*) Е.Б.Рыдкиной с нашим

участием [13], выявлены нами в клещах рода *Dermacentor* на территориях России и Казахстана. Выяснено не только широкое распространение этих риккетсий в Европе, но и их вероятная роль в возникновении синдрома TIBOLA. Девять штаммов этих генотипов риккетсий, описанных как новый вид риккетсий группы КПЛ *Rickettsia raoultii* sp.nov. [14], депонировано нами во Всероссийском музее риккетсиальных культур [7].

Впервые описана *R.tarasevichiae*, отнесенная нами к группе предшественников и выявлена высокая инфицированность клещей *I.persulcatus* этой риккетсией в России [15]. Изолированы на культурах клеток Vero штаммы депонированы во Всероссийском музее риккетсиальных культур [7].

Показано распространение в клещах *I.persulcatus* в РФ *Ehrlichia muris*, *Anaplasma phagocytophilum*, “Schotti variant”, в *H.concinna* на Дальнем Востоке – *A.bovis*, с использованием культур клеток изолирован штамм возбудителя анаплазмоза крупного рогатого скота – *Anaplasma* sp.Omsk. Наиболее распространенным заболеванием, вызываемым представителями семейства *Anaplasmataceae* (*Anaplasma phagocytophilum*), оказался ГАЧ, серологически верифицируемый в России в ареалах распространения клещей *Ixodes ricinus*- *Ixodes persulcatus* с помощью ИФА [6, 12 и др.].

Разработаны новые диагностические подходы, основанные на применении ИФА – и ПЦР – технологий. Разработанная нами методика ПЦР-рестрикционного анализа может быть использована для дифференциации основных видов риккетсий, выявляемых в природных очагах. Применение рестрикционного анализа с использованием эндонуклеаз (*RsaI* и *PstI*) позволило четко дифференцировать две группы риккетсий: *R. sibirica* и *R. sibirica* subsp. BJ-90 от геновариантов *R.raoultii*.

#### Литература

- 1 da Rocha-Lima H. Zur Aetiologie des Fleckfiebers// Zbl.allg.Path., 1916. 27. 45-50.
- 2 Fournier P.-E. et al. Gene Sequence-Based Criteria for Identification of New *Rickettsia* Isolates and Description of *Rickettsia heilongjiangensis* sp.nov.// J.Clin.Microbiol., 2003. vol. 41. 12. 5456-65.
- 3 Shpyunov S.N., Fournier P.-E., Rudakov N.V. etc. Short report: Molecular identification of a collection of spotted fever group rickettsiae obtained from patients and ticks from Russia// Am.J.Trop.Med.Hyg., 2006. 74(3). 440-3.
- 4 Mediannikov O., Sidelnikov Y., Ivanov E. etc. Acute tick-borne rickettsiosis caused by *Rickettsia heilongjiangensis* in Russian Far East. Emerg Infect Dis. 2004. 10(5). 810-7.
- 5 Рудаков Н.В., Оберт А.С. Клещевой риккетсиоз. - Омск: ОмГМА, 2001. 120 с.

Использование иммуноферментного анализа на основе коммерческого диагностикума риккетсиозного Сибирика сухого для РСК позволяет почти вдвое, в сравнении с РСК, повысить эффективность верификации диагноза «КР» за счет чувствительности предложенного теста. Применение ИФА с двумя различными конъюгатами позволяет выявлять антитела классов М и G.

На основе использования указанных методов был разработан алгоритм детекции и идентификации риккетсий группы КПЛ в клиническом и полевом материале, что способствует более ранней и эффективной верификации диагнозов и более раннему и целенаправленному лечению больных инфекциями, передающимися иксодовыми клещами.

Заключение: в результате проведенных исследований получены новые научные данные, свидетельствующие о широком распространении в Сибири и на Дальнем Востоке новых видов риккетсий, экологически связанных с иксодовыми клещами. Установлено, что наряду с традиционно известным видом риккетсий группы КПЛ – *Rickettsia sibirica* – возбудителем КР, в России и Казахстане с иксодовыми клещами связаны новые для науки виды риккетсий: *Rickettsia tarasevichiae*, *R.raoultii*, новые для России Казахстана виды: *R.slovaca*, *R.heilonjiangensis*, *R.helvetica*, *R.aeschlimanii*, а также новые представители порядка *Rickettsiales* – *Anaplasma phagocytophila* (возбудитель гранулоцитарного анаплазмоза – ГАЧ), *Ehrlichia muris* (предполагаемый агент моноцитарного эрлихиоза человека – МЭЧ), *Anaplasma* sp.Omsk и *Anaplasma bovis* (агенты анаплазмоза крупного рогатого скота).

Полученные результаты являются обоснованием необходимости организации дифференциальной лабораторной диагностики инфекций, передающихся иксодовыми клещами в условиях сочетанности природных очагов.

6 Shpynov S., Fournier P.-E., Rudakov N. etc. Detection of Rickettsia Closely Related to Rickettsia aeschlimannii, "Rickettsia heilongjiangensis", Rickettsia sp. Strain RpA4, and Ehrlichia muris in Ticks Collected in Russia and Kazakhstan// Journal of Clinical microbiology. 2004. v.42. 5. 2221-3.

7 Rudakov N.V., Schpynov S.N., Samoylenko I.E., Fournier P.-E., Reschetnikova T.A., Kumpan L.V. and D. Raoult Characterization of the Omsk collection of rickettsial strains// Clin. Microbiol. Infect., 2009. v.15, issue s2: Advances in Rickettsiology.-P.298-9.

8 Шпынов С.Н., Рудаков Н.В., Ястребов В.К. и др. Выявление новых генотипов риккетсий группы клещевой пятнистой лихорадки на юге Урала, в Сибири, на Дальнем Востоке и в Казахстане// Эпидемиология и инфекционные болезни. 2005. №1. С.23-7.

9 Нефедова В.В., Коренберг Э.И., Ковалевский Ю.В. и др. Микроорганизмы порядка Rickettsiales у таежного клеща (*Ixodes persulcatus* sch.) в Предуралье// Вестник РАМН, 2008. - №7. С.47-50.

10 Fournier PE, Takada N, Fujita H, Raoult D. Rickettsia tamurae sp. nov., isolated from Amblyomma testudinarium ticks. Int J Syst Evol Microbiol. 2006 Jul;56(Pt 7):1673-5.

11 Fujita H, Fournier PE, Takada N, Saito T, Raoult D. Rickettsia asiatica sp. nov., isolated in Japan. Int J Syst Evol Microbiol. 2006 Oct;56(Pt 10):2365-8.

12 Shpynov S., Fournier P.-E., Rudakov N. etc. Detection of members of the genera Rickettsia, Anaplasma, and Ehrlichia in ticks collected in the Asiatic part of Russia // Ann. N.Y. Acad. Sci., 2006. v.1078: century of rickettsiology (emerging, reemerging rickettsioses, molecular diagnostics, and emerging veterinary rickettsioses). 378-383.

13 Rydkina E., V. Roux, N. Fetisova. etc. New Rickettsiae in ticks collected in territories of the former Soviet Union. Emerg. Infect. Dis. 1999. 5. 811-4.

14 Mediannikov O., Matsumoto K., Samoylenko I. etc. Rickettsia raoultii sp. nov., a spotted fever group rickettsia associated with Dermacentor ticks in Europe and Russia // Intern. J. Syst. Evol. Microbiol., 2008. v.58. 1635-9.

15 Shpynov S., Fournier P.-E., Rudakov N. and Raoult D. "Candidatus Rickettsia tarasevichiae" in Ixodes persulcatus ticks collected in Russia // Ann. NY Acad. Sci., 2003. vol.990. Rickettsiology: present and future directions. 162-172.