

Новые подходы к микробиологическому мониторингу природных очагов клещевых риккетсиозов

И.Е.Самойленко¹, Н.В.Рудаков^{1,2}

¹ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, Омск, Российская Федерация;

²ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, Омск, Российская Федерация

Выявление и описание значительного количества новых видов и кандидатов в новые виды риккетсий, часть из которых не культивируются при использовании моделей, традиционных в риккетсиологической практике, а также климатические изменения, ведущие к трансформации биоценозов и нозоареала, диктуют необходимость изменения тактики микробиологического мониторинга. Нами предложен новый подход к мониторингу природных очагов клещевых риккетсиозов, использующий комплекс классических риккетсиологических, молекулярно-биологических и экспериментальных методов. Предлагаемый алгоритм микробиологического мониторинга природных очагов клещевых риккетсиозов включает четыре этапа: скрининг ДНК риккетсий в клещах и мелких диких млекопитающих; изучение видового разнообразия риккетсий, циркулирующих в очаге, в т.ч. в материале от больных; изучение биологических свойств риккетсий в популяции конкретного очага; изучение механизмов сохранения популяции риккетсий в очаге.

Ключевые слова: риккетсии, микробиологический мониторинг

Для цитирования: Самойленко И.Е., Рудаков Н.В. Новые подходы к микробиологическому мониторингу природных очагов клещевых риккетсиозов. Бактериология. 2024; 9(4): 139–142. DOI: 10.20953/2500-1027-2024-4-139-142

New approaches to microbiological monitoring of natural foci of tick-borne rickettsiosis

I.E.Samoylenko¹, N.V.Rudakov^{1,2}

¹Omsk Research Institute of natural focal infections, Omsk, Russian Federation;

²Omsk State Medical University, Omsk, Russian Federation

The identification and characterization of a significant number of new species and candidates for new rickettsiae species, some of which cannot be cultivated using the models traditionally used in rickettsiological practice, as well as climatic changes leading to the transformation of biocenoses and nosoareas, require to change the strategy of microbiological monitoring. We have proposed a new approach to monitoring of natural foci of tick-borne rickettsioses using a complex of classical rickettsiological, molecular-biological and experimental methods. The proposed algorithm for microbiological monitoring of natural foci of tick-borne rickettsioses includes four steps: screening of rickettsial DNA in ticks and small wild mammals; study of the diversity of rickettsial species circulating in the foci, including material from patients; study of the biological properties of rickettsiae in the population of a particular foci; study of the mechanisms of rickettsiae population preservation in the foci.

Key words: rickettsiae, microbiological monitoring

For citation: Samoylenko I.E., Rudakov N.V. New approaches to microbiological monitoring of natural foci of tick-borne rickettsiosis. Bacteriology. 2024; 9(4): 139–142. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2024-4-139-142

Являясь важнейшим компонентом информационной подсистемы эпидемиологического надзора, микробиологический мониторинг включает в себя сбор информации о циркулирующих в очаге возбудителях, их вирулентных, культуральных, биохимических, иммунологических и генетических характеристиках. Также он позволяет отслеживать

изменения свойств возбудителей, определять характер эпидемического распространения новых и завозных вариантов возбудителей. По мнению В.В.Шкарина, микробиологический мониторинг – это динамическая оценка циркуляции и биологических свойств возбудителя инфекционного заболевания [1].

Для корреспонденции:

Самойленко Ирина Евгеньевна, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории зоонозных инфекций отдела ПОБЗ ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора

Адрес: 644080, Омск, пр-т Мира, 7

Телефон: (3812) 65-14-77

Статья поступила 20.11.2024, принята к печати 25.12.2024

For correspondence:

Irina E. Samoylenko, PhD, Leading Researcher of the Zoonotic Infections Laboratory of the Department POBZ Omsk Research Institute of Natural Focal Infections

Address: 7 Mira ave., Omsk, 644080, Russian Federation

Phone: (3812) 65-14-77

The article was received 20.11.2024, accepted for publication 25.12.2024

С конца прошлого столетия наблюдается выявление и описание большого количества новых видов и кандидатов в новые виды риккетсий, что связано с развитием методов молекулярно-биологического анализа. Некоторые из «новых» риккетсий не культивируются при использовании моделей, традиционных в риккетсиологической практике. Также с заметными климатическими изменениями связаны наблюдающиеся в последние годы изменения в сложившихся биоценозах, что может приводить к изменению численности и поведенческих характеристик переносчиков, трансформации нозоареала [2]. Это диктует необходимость изменения тактики микробиологического мониторинга.

Мы предлагаем новый подход к мониторингу природных очагов клещевых риккетсиозов, использующий комплекс классических риккетсиологических, молекулярно-биологических и экспериментальных методов (рисунок), защищенный патентом на промышленный образец (№134323 от 01.12.2022).

На первом этапе, в первую очередь это касается не исследованных ранее территорий, мы рекомендуем скрининг ДНК риккетсий в клещах и мелких диких млекопитающих с

применением полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени с использованием тест-системы «РеалБест ДНК *Rickettsia species*» либо ПЦР с детекцией в электрофоретическом геле с использованием праймеров к гену *gltA*.

При выявлении ДНК риккетсий на втором этапе мониторинга проводится изучение видового разнообразия риккетсий, циркулирующих в очаге. Объектами исследования на данном этапе являются также образцы крови и биоптаты от больных с клиническими проявлениями клещевых риккетсиозов. С этой целью необходимо проводить ПЦР с праймерами, амплифицирующими 5 house-keeping генов: *gltA*, *ompA*, *ompB*, *16S rRNA*, *sca4* с последующим секвенированием по Сэнгеру. В то же время опыт работы нашей лаборатории свидетельствует о том, что при молекулярно-биологическом мониторинге риккетсий на эндемичных территориях выявление *Rickettsia raoultii* часто «маскирует» присутствие этиологического агента сибирского клещевого тифа (СКТ) – *Rickettsia sibirica* [3]. Этот феномен позволяет объяснить высокий уровень заболеваемости СКТ на изучаемых территориях при редкой выявляемости ДНК *R. sibirica* при молекулярно-биологическом скрининге в исходных

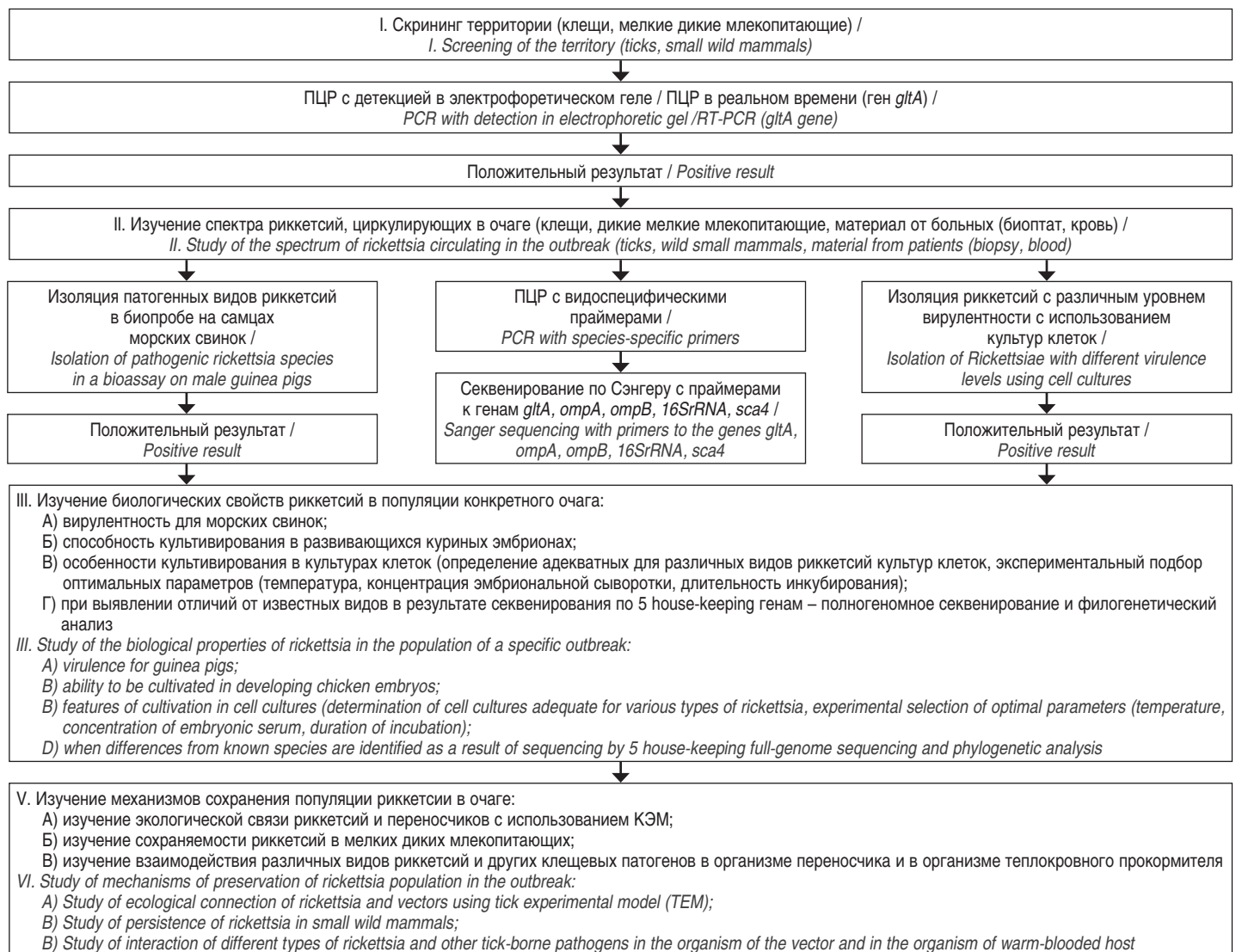


Рисунок. Алгоритм микробиологического мониторинга природных очагов клещевых риккетсиозов.
 Figure. Algorithm of microbiological monitoring of natural foci of tick-borne rickettsioses.

клещах. Избежать этого позволяет применение метода двухраундовой ПЦР с использованием видоспецифических праймеров генов *gltA* и *ompA* с последующим секвенированием или применение ПЦР-наборов реагентов «РеалБест ДНК *R. sibirica* / *R. heilongjiangensis*» (ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск).

Всестороннее изучение очага невозможно без изоляции штаммов риккетсий. Для изоляции патогенных видов риккетсий оптимально использовать классический для риккетсиологии метод биопробы на самцах морских свинок. При наличии клинических проявлений (лихорадки, гиперемии, отека мошонки и увеличения яичек, которые перестают вправляться в брюшную полость) проводится вскрытие животных с изъятием органов для дальнейшего пассирования на других биологических моделях. Наибольший интерес представляют паховые лимфатические узлы, яички, селезенка и мозг, наличие риккетсий в которых выявляют молекулярно-биологическими методами и микроскопией. Для изоляции штаммов патогенных риккетсий с низкой вирулентностью или видов (кандидатов в новые виды) с неустановленной патогенностью целесообразно использовать культуры клеток [4, 5]. Идентификацию выделенных штаммов следует проводить по вышеупомянутым house-keeping генам.

Следующим этапом мы предлагаем проводить изучение биологических свойств риккетсий в популяции конкретного очага. Исследование вирулентности изолированных штаммов для морских свинок включает определение максимальной температурной реакции и ее продолжительности, выраженности скротального феномена, минимальной инфицирующей дозы, а также патологоанатомической картины. Мы также считаем обоснованным включение исследования данного биологического свойства в алгоритм мониторинга очагов клещевого риккетсиоза, поскольку с открытием значительного количества новых видов риккетсий в последние годы выяснилось, что не все из них способны культивироваться в куриных эмбрионах. Изучение особенностей культивирования изолированных в очаге штаммов включает определение адекватных для различных видов риккетсий культур клеток, так как известно, что некоторые виды риккетсий, например *Rickettsia peacockii*, требуют определенных видов культур клеток. Кроме того, для каждого нового вида риккетсий необходимо проводить экспериментальный подбор параметров культивирования: оптимальная температура и длительность инкубации, оптимальная концентрация эмбриональной сыворотки [5]. При выявлении в результате секвенирования по 5 house-keeping генам отличий от известных видов целесообразно выполнять полногеномное секвенирование и филогенетический анализ.

Определение фенотипических свойств штаммов риккетсий, циркулирующих в конкретном очаге, помогает правильно оценить характер клинических проявлений и уровень сероконверсии у людей. Необходимо учитывать, что преобладание на периферии нозоареала СКТ штаммов риккетсий, отличающихся низкой иммуногенностью и вирулентностью, проявляется в превалировании заболеваний средней и легкой степени тяжести, а также преобладании у пациентов сероконверсии в невысоких титрах [6]. Эта информация позволяет адекватно проводить диагностику и лечение пациентов с присасыванием клещей в анамнезе.

И, наконец, последним этапом мониторинга мы предлагаем проводить изучение механизмов сохранения популяции риккетсий в очаге.

Для определения того, является ли конкретный вид иксодид транзитным или экологически специфическим вектором, мы предлагаем проводить изучение экологической связи риккетсий и переносчиков с использованием клещевой экспериментальной модели (КЭМ), а именно: определение уровня трансвариальной и трансфазовой передачи в голодном состоянии и после кормления на лабораторных животных, как амплифицирующих, так и неамплифицирующих риккетсий [7–10]. Высокая эффективность трансвариальной и трансфазовой передачи при использовании неамплифицирующих теплокровных прокормителей позволяет сделать вывод о возможности сохранения в очаге популяции определенного вида риккетсий только за счет вертикальной передачи.

Роль мелких диких млекопитающих в сохранении популяции риккетсий в очаге напрямую зависит от длительности риккетсемии в их организмах. Оптимально изучать этот процесс с использованием КЭМ, подсаживая на животное зараженных клещей для кормления. При отсутствии такой возможности допустимо парентеральное заражение животных. Нами отработана методика кормления преимагинальных форм клещей рода *Dermacentor* на трех видах полевок.

КЭМ также позволяет изучать взаимодействие различных видов риккетсий и других клещевых патогенов в организме переносчика и в организме теплокровного прокормителя. Изучение межмикробных взаимодействий на разных стадиях развития клещей позволяет выявлять потенциальные синергетические и антагонистические взаимодействия между бактериальными сообществами. Нами в эксперименте показано наличие конкурентных отношений между *R. raoultii* и *R. sibirica* в клещах *Dermacentor marginatus*.

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests.

Литература

1. Шкарин ВВ, Благоданова АС. Термины и определения в эпидемиологии. Нижний Новгород: Издательство НГМА, 2015.
2. Тарасевич ИВ, Фетисова НФ, Ковтунов АИ. Клещевые риккетсиозы и климат. Изменение климата и здоровье населения России в XXI веке: сб. материалов междунар. семинара. Под ред. Измерова НФ и др. М., 2004;138-143.
3. Штрек СВ, Рудаков НВ, Шпынов СН, Санников АВ, Самойленко ИЕ, Щучинова ЛД, и др. Генотипирование риккетсий, циркулирующих на территориях Республики Алтай и Хабаровского края. Инфекция и иммунитет. 2023;13(1):100-106. DOI: 10.15789/2220-7619-GOR-2014
4. Кумпан ЛВ, Самойленко ИЕ, Шпынов СН, Рудаков НВ. Использование культур клеток для изоляции и культивирования риккетсий новых генотипов. Омский научный вестник. 2006;1(35):135-140.

5. Кумпан ЛВ, Самойленко ИЕ, Решетникова ТА, Шпынов СН, Рудаков НВ. Особенности культивирования нового генотипа *Candidatus Rickettsia tarasevichae* на биологических моделях (культуры клеток, морские свинки). Уральский медицинский журнал. 2011;13(91):67-69.
6. Рудаков НВ, Шпынов СН, Самойленко ИЕ, Оберт АС. Клещевой риккетсиоз и риккетсии группы клещевой пятнистой лихорадки в России. Омск: ИЦ «Омский научный вестник», 2011.
7. Самойленко ИЕ, Шпынов СН, Рудаков НВ. Оптимизация метода экспериментального моделирования естественного цикла метаморфоза переносчиков для изоляции, культивирования и изучения риккетсий новых генотипов. Омский научный вестник. 2006;прил. 1(35):93-95.
8. Samoylenko IE, Rudakov NV, Shpynov SN, Tankibaev MA, Yakimenko VV, Kumpan LV. Study of biological characteristics of spotted fever group rickettsial genotypes RpA4, DnS14, and DnS28. Ann N Y Acad Sci. 2003 Jun;990:612-6. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2003.tb07435.x
9. Samoylenko IE, Kumpan LV, Shpynov SN, Obert AS, Butakov OV, Rudakov NV. Methods of isolation and cultivation of new *Rickettsiae* from the Nosoarea of the north Asian tick typhus in Siberia. Ann N Y Acad Sci. 2006 Oct;1078:613-6. DOI: 10.1196/annals.1374.035
10. Боброва ОА, Самойленко ИЕ, Якименко ВВ, Штрек СВ, Пар ВА, Иголкина ЯП. Изучение уровня трансвариальной передачи *Candidatus R. tarasevichae* в лабораторных линиях клещей *Ixodes persulcatus*. Материалы IV Нац. конгресса бактериологов и Междунар. симпозиума «Микроорганизмы и биосфера «Microbios-2018». Омск, 2018;14-15.
4. Kumpan LV, Samoylenko IE, Shpynov SN, Rudakov NV. Using of cell cultures for isolation and cultivation of rickettsiae of new genotypes. Omsk Scientific Bulletin. 2006;1(35):135-140. (In Russian).
5. Kumpan LV, Samoylenko IE, Reshetnikova TA, Shpynov SN, Rudakov NV. Peculiarities of cultivation of a new genotype of *Candidatus Rickettsia tarasevichae* on biological models (cell cultures, guinea pigs). Ural Medical Journal. 2011;13(91):67-69. (In Russian).
6. Rudakov NV, Shpynov SN, Samoylenko IE, Obert AS. Tick-borne rickettsiosis and rickettsia of the tick-borne spotted fever group in Russia. Omsk: IC "Omsk Scientific Bulletin" 2011. (In Russian).
7. Samoylenko IE, Shpynov SN, Rudakov NV. Optimization of the method of experimental modeling of the natural cycle of metamorphosis of carriers for the isolation, cultivation and study of rickettsia of new genotypes. Omsk Scientific Bulletin. 2006; прил. 1(35):93-95. (In Russian).
8. Samoylenko IE, Rudakov NV, Shpynov SN, Tankibaev MA, Yakimenko VV, Kumpan LV. Study of biological characteristics of spotted fever group rickettsial genotypes RpA4, DnS14, and DnS28. Ann N Y Acad Sci. 2003 Jun;990:612-6. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2003.tb07435.x
9. Samoylenko IE, Kumpan LV, Shpynov SN, Obert AS, Butakov OV, Rudakov NV. Methods of isolation and cultivation of new *Rickettsiae* from the Nosoarea of the north Asian tick typhus in Siberia. Ann N Y Acad Sci. 2006 Oct;1078:613-6. DOI: 10.1196/annals.1374.035
10. Bobrova OA, Samoylenko IE, Yakimenko VV, Shtrek SV, Rar VA, Igolkina YaP. Study of the level of transovarial transmission of *Candidatus R. tarasevichae* in laboratory lines of *Ixodes persulcatus* ticks. Proceedings of the 1V National Congress of Bacteriologists and the International Symposium "Microorganisms and the Biosphere "Microbios-2018". Omsk, 2018;14-15. (In Russian).

References

Информация о соавторе:

Рудаков Николай Викторович, доктор медицинских наук, профессор, директор Омского НИИ природно-очаговых инфекций Роспотребнадзора, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России

Information about co-author:

Nikolay V. Rudakov, MD, PhD, DSc, Professor, Director of the Omsk Research Institute of Natural Focal Infections of Rospotrebnadzor, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology of Omsk State Medical University

НОВОСТИ НАУКИ

Нематоды против бактерий

Центральная нервная система координирует периферические клеточные реакции на стресс, включая развернутый белковый ответ митохондрий (UPRMT); однако контексты, для которых развилась эта регуляторная способность, неизвестны. UPRMT повышается при патогенной инфекции и в метаболическом потоке, и было показано, что обонятельная нервная система регулирует устойчивость к патогенам и периферическую метаболическую активность. Поэтому мы задались вопросом, контролирует ли обонятельная нервная система у *Caenorhabditis elegans* клетку UPRMT неавтономно. Мы обнаружили, что подавление одной пары ингибирующих обонятельных нейронов, AWC, привело к устойчивой индукции UPRMT и снижению окислительного фосфорилирования, зависящего от сигнализации серотонина и опосредованной паркином митофагии. Кроме того, абляция AWC придает устойчивость к патогенным бактериям *Pseudomonas aeruginosa*, частично зависящую от фактора транскрипции UPRMT *atfs-1* и полностью зависящую от механизма митофагии. Эти данные иллюстрируют роль обонятельной нервной системы в регуляции динамики митохондрий всего организма, возможно, в подготовке к постпрандиальному метаболическому стрессу или патогенной инфекции.

Dishart JG, Pender CL, Shen K, Zhang H, Ly M, Webb MB, et al.
Olfaction regulates peripheral mitophagy and mitochondrial function.
Sci Adv. 2024 Jun 21;10(25):eadn0014. DOI: 10.1126/sciadv.adn0014