

ОСОБЕННОСТИ ИЗОЛЯЦИИ РИККЕТСИЙ НА МОДЕЛИ РАЗВИВАЮЩИХСЯ КУРИНЫХ ЭМБРИОНОВ

Е.С. Пугачева^{1,2}, А.Л. Шутикова¹, Л.М. Сомова¹, М.Ю. Щелканов^{1,2}

¹НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора, Владивосток, Россия

²Дальневосточный федеральный университет, Школа медицины и наук о жизни, Владивосток, Россия

PECULIARITIES OF RICKETTSIA ISOLATION ON A MODEL OF DEVELOPING CHICKEN EMBRYOS

E.S. Pugacheva^{1,2}, A.L. Shutikova¹, L.M. Somova¹, M.Yu. Shchelkanov^{1,2}

¹ G.P. Somov Scientific research institute of epidemiology and microbiology of the Federal service for surveillance on consumers rights protection and human wellbeing (Rospotrebnadzor), Vladivostok, Russia

²Far Eastern Federal University, School of medicine and life sciences, Vladivostok, Russia

Клещевой риккетсиоз (КР) – группа острых трансмиссивных природно-очаговых заболеваний, этиологически связанные облигатно-внутриклеточными грамотрицательными бактериями *Rickettsia* sp. и *Orientia* sp. (Rickettsiales: Rickettsiaceae), для которых векторами являются иксодовые клещи (Parasitiformes: Ixodidae) и личинки краснотелковых клещей (Trombidiformes: Trombiculidae), соответственно [1, 2]. На территории российского Дальнего Востока, в настоящее время, описаны четыре КР: клещевой сыпной тиф Северной Азии, ассоциированный с *R. sibirica* (включающий геноварианты *R. sibirica sensu stricto* и *R. sibirica* BJ-90); дальневосточная пятнистая лихорадка – с *R. heilongjiangensis*; сахалинская пятнистая лихорадка – с *R. helvetica*; лихорадка Цуцугамуши, или японская речная лихорадка – с *O. tsutsugamushi* [3-6]. Клиническая картина КР проявляется лихорадкой, болью и ломотой в мышцах, суставах и пояснице, катаральными изменениями в верхних дыхательных путях (возможно поражение лёгких), увеличением регионарных лимфатических узлов, розеольно-папулезной сыпью [5-7].

Заболеваемость КР внесла свой вклад в усложнение клинико-эпидемической картины, связанной с клещевыми инфекциями, на юге российского Дальнего Востока в период работы Комплексная дальневосточная экспедиция особого назначения Наркомздрава СССР по изучению заболеваний неясной этиологии, в ходе которой были описаны возбудители клещевого и японского энцефалитов (Amarillovirales: Flaviviridae, *Orthoflavivirus*) [8, 9] – хотя возбудители КР тогда открыты не были: на Дальнем Востоке они были впервые подробно изучены позже, в 1940-1960 гг. [10]. Наиболее значимым комплексным исследованием дальневосточных риккетсиозов того периода стала докторская диссертация Г.П. Сомова (1966). С первой половины 1980-х гг. [11] экологические исследования риккетсиозов на Дальнем Востоке «застопорились», хотя молекулярно-генетические данные регулярно появляются в научных публикациях [4, 7, 12-15].

Наиболее универсальной и чувствительной моделью для изоляции риккетсий являются развивающиеся куриные эмбрионы при их инокуляции в полость желточного мешка. Эта модель была предложена в конце 1930-х гг. американским бактериологом Генри Ри Коксом (H.R. Cox) [16]: 6-7-мидневные эмбрионы заражают в желточную оболочку биологическим материалом, содержащим риккетсии, в дозе 0,4-0,5 мл на эмбрион. Для заражения отбирают нормально развивающиеся куриные эмбрионы с характерным сосудистым рисунком. Вся работа по заражению куриных эмбрионов и их вскрытию производится в боксах биологической защиты с соблюдением стерильности. После дезинфекции 50 % спиртом скорлупы тупого конца яйца в нём пробивают (или просверливают) отверстие над вершиной воздушной камеры. Заражение яиц производится с помощью стерильного шприца сиглой среднего размера или пастеровской пипеткой. Отверстие в скорлупе закрывается расплавленным стерильным парафином. Максимальное накопление риккетсии происходит от 6 до 8-10 сут.. Инокулированные эмбрионы культивируют при температуре +35 °С. Погибшие эмбрионы выявляют путём овоскопирования. Для вскрытия отбирают погибшие эмбрионы с отсутствием подвижности и утратой сосудистого узора. После вскрытия извлекают желточные оболочки и делают мазки с окраской по Романовскому-Гимзе, Хименесу или Здродовскому для контроля накопления риккетсий. При необходимости желточные оболочки с риккетсиями криоконсервируют для длительного хранения. Классическая бактериологическая схема изучения штаммов риккетсий включает анализ их морфологии, динамики размножения в желточных мешках куриных эмбрионов, экспериментальной инфекции на лабораторных животных и антигенной структуры [1, 3]. При этом молекулярно-генетические дан-

ные являются одной из важнейших, но далеко не исчерпывающей характеристикой биологических характеристик штамма.

Литература

1. Здродовский ПФ, Голиневич ЕМ. Учение о риккетсиях и риккетсиозах. М.: Медицина, 1972. 496 с.
2. Dumler JS, Barbet AF, Bekker CP, et al. Reorganization of genera in 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;51:2145-2165.
3. Сомов ГП. Клещевой риккетсиоз в Приморском крае (материалы по эпидемиологии и этиологии инфекции). Автореферат дис. на соискание ученой степени доктора медицинских наук. М., 1966. 40 с.
4. Злобин ВИ, Рудаков НВ, Малов ИВ. Клещевые трансмиссивные инфекции. Новосибирск: Наука, 2015. 224 с.
5. Решетникова ТА, Макарова ВА. Характеристика биологических свойств штаммов риккетсий, выделенных в Забайкалье и Приморье. Природно-очаговые инфекции человека: Республиканский сборник научных работ. Омск, 1989. 147-153.
6. Иголкина ЯП. Молекулярно-генетический анализ риккетсий, циркулирующих на территории Западной Сибири и Дальнего Востока. Дис. на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Новосибирск, 2019. 132 с.
7. Онухова МП, Литвинова ОС, Янковская ЯД и др. Случай клещевого риккетсиоза с поражением лёгких. Archive of Internal Medicine. 2016;(4):72-77.
8. Щелканов МЮ, Аристова ВА, Чумаков ВМ, Львов ДК. Историография термина «природный очаг». В сб.: Новые и возвращающиеся инфекции в системе биобезопасности Российской Федерации. М.: Изд-во Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, 2014. 21-32.
9. Щелканов МЮ, Леонова ГН, Галкина ИВ, Андрюков БГ. У истоков концепции природной очаговости. Здоровье населения и среда обитания. 2021;(5):16-25.
10. Запорожец ТС, Беседнова НН, Калинин АВ и др. 80 лет на страже биологической безопасности у восточных рубежей России. Здоровье населения и среда обитания. 2021;(5):5-15.
11. Ястребов ВК, Фоякова ТА, Шайман МС и др. Современное состояние очагов клещевого риккетсиоза Азии в Сибири и на Дальнем Востоке. Природно-очаговые болезни человека. Омск. 1981;151-156.
12. Shpynov SN, Fournier PE, Rudakov NV, et al. 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):440-443.
13. Красиков АП, Рудаков НВ. Риккетсиозы, кокциеллёз и анаплазмозы человека и животных. Омск: Омский научный вестник, 2013. 278 с.
14. Shpynov S., Fournier P. E., Rudakov N., et al. 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;1078:378-383.
15. Igolkina Y., Rar V., Vysochina N., et al. Genetic variability of Rickettsia spp. in Dermacentor and Haemaphysalis ticks from the Russian Far East. Ticks Tick Borne Dis. 2018;9(6):1594-1603.
16. Cox HR. Cultivation of Rickettsiae of the Rocky Mountains spotted fever, Typhus and Q-fever groups in the embryonic tissues of developing chicks. Science. 1941;94(2444):399-403.