

О РОЛИ КЛЕЩЕЙ *ORNITHONYSSUS BACOTI* HIRST В ХРАНЕНИИ И ПЕРЕДАЧЕ ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУЛЯРЕМИИ БЕЛЫМ МЫШАМ

В. Г. Петров

Лаборатория туляремии отдела инфекций с природной очаговостью
Института эпидемиологии и микробиологии Академии медицинских наук СССР,
Москва

На основании экспериментальных данных автор отрицает слюнно-ротовой механизм передачи, а также трансвариальную передачу туляремийного микроба у клещей *Ornithonyssus bacoti* Hirst. Передача инфекции животным осуществляется алиментарным путем или путем граттажа в результате заглатывания клещей или раздавливания их на коже хозяина. В инфицированных клещах в процессе метаморфоза отмечается размножение туляремийных бактерий.

Экспериментируя с клещами *Ornithonyssus bacoti* Hirst (*Bdellonyssus bacoti*), Хопла (Hopla, 1951) сообщил, что клещ хранит возбудителя туляремии до 18 мес., в отдельных случаях передает инфекцию своему потомству, но не может укусом инфицировать здоровую мышь. Заражение зверьков происходит в результате поедания инфицированных клещей. В целях уточнения роли клещей *O. bacoti* в передаче туляремийной инфекции как восприимчивым животным, так и своему потомству, по предложению Н. Г. Олсуфьева, нами были проведены нижеследующие исследования.

Культура *O. bacoti* была любезно предоставлена нам А. А. Земской. Культивирование их производили по методу Земской (1954). Садок с клещами содержали при температуре 20—24°. Кормление их осуществляли на белых мышах. В таких условиях из небольшой партии, около 200 экз., за 30 дней размножилось огромное количество клещей. За это время 4 мышы, которых поочередно подсаживали в садок, погибли от анемии в результате массового нападения клещей.

По примеру предшествующих исследований (Петров, 1962, 1963) для исключения загрязнения анализов эксперименты проводили в отдельном помещении. Инфицирование клещей производили на 8 агонирующих белых мышах, которым предварительно под кожу был введен возбудитель туляремии вполне вирулентного штамма 503. Характеристика этого штамма описана нами ранее (Петров, 1963). Одна белая мышь была заражена одной микробной клеткой, 2—10 микробными клетками *F. tularensis* (по стандарту ГКИ), 2— суспензией инфицированных *O. bacoti* и 3 — суспензией инфицированных *Dermacentor marginatus*.

Время пуска клещей на больную мышь определяли по наличию бактерии, оцениваемой в III—IV балла. Для этого готовили мазки из капли крови отсеченного кончика хвоста мышы. Мазок окрашивали по Романовскому-Гимза скоростным методом. На фиксированный мазок крови наливали краску, разбавленную дистиллированной водой (1 : 1), и подогревали над пламенем спиртовой горелки до появления паров. Затем мазок промывали, высушивали и под микроскопом определяли бактериемию.

Для удобства оценки инфицирования *O. bacoti* каждую группу клещей, собранных с больной мыши, при последующем изложении будем называть серией. Соответственно числу мышей было инфицировано 8 серий клещей в количестве более 1000 экз., их них 250 протонимф и более 750 взрослых клещей. Инфицированных клещей содержали в пробирках с дифференцированной влажностью (Щуренкова, 1936; Нельзина, 1945).

Методом титрования клещей, подробно описанным ранее (Петров и Олсуфьев, 1953), мы установили, что каждый взрослый клещ 1-й, 3-й и 4-й серий содержал в среднем 1 млн туляремийных бактерий. Протонимфа 4-й серии содержала 10000 бактерий. Клещи 8-й серии были предельно инфицированы возбудителем туляремии: взрослая особь содержала 10 млн, а протонимфа — 1 млн микробных клеток. Инфицированность 5-й серии оценивалась в IV балла по мазкам, приготовленным из клещей. 2-я, 6-я и 7-я серии характеризовались бактериемией агонирующих мышей, оцениваемой нами в III—IV балла.

Для выяснения механизма передачи туляремийной инфекции восприимчивым животным, сохранения и трансвариальной передачи туляремийных бактерий клещами *O. bacoti* было поставлено 5 опытов.

В первом опыте под наклейку на спину 28 белым мышам было пущено 268 взрослых клещей 1-й, 2-й и 3-й серий, инфицированных во взрослой фазе. На каждую мышь было пущено от 5 до 10 клещей через 7—29 суток после их инфицирования. В первом опыте клещи различались очередностью кормления. На 16 мышах клещи имели первое кормление после инфицирования, на 7 — второе, на 4 — третье и на 1 мышь — четвертое кормление (табл. 1). Пущенные клещи были оставлены под наклейкой до следующего дня. В результате кормления был собран 201 насосавшийся клещ. 67 клещей не присосались и были мертвыми. Все выборочные индивидуальные бактериологические исследования 14 насосавшихся клещей (14 биопроб) и групповые исследования 67 неприсосавшихся мертвых (5 биопроб) оказались положительными на туляремию (всего 19 биопроб). Кроме того, 5 биопроб из 24 насосавшихся, но вскоре погибших клещей 3-й серии, также оказались положительными на туляремию (в таблицу не вошли). Биопробы были поставлены нами через 7—30 суток после инфицирования клещей. Белые мыши пали от туляремии через 2—6 суток после подкожного введения суспензий из клещей. Однако все 28 мышей,

Т а б л и ц а 1

Кормление взрослых особей *O. bacoti* на белых мышах

Серия	Степень инфицированности клещей	Число мышей в опыте	Посажено клещей на 1 мышь	Очередность кормления	Через сколько суток после инфицирования клещей	Насосалось клещей	Пало мышей от туляремии	Поставлено биопроб из клещей				Через сколько суток после инфицирования клещей
								индивидуальных		групповых		
								всего	пало от туляремии	всего	пало от туляремии	
1-я	1 млн микробных клеток в 1 клеще	1	9	I	13	1	0	1	1	—	—	19
2-я	Бактериemia донора III балла	1	8	I	11	5	0	—	—	1	1	22
3-я	1 млн микробных клеток в 1 клеще	14	10	I	7	114	0	2	2	1	1	7
		7	10	II	17	47	0	—	—	2	2	24
		4	5—10	III	24	30	0	11	8	—	—	30
		1	6	IV	29	—	0	—	—	1	1	25
Всего . .		28	5—10		7—29	201	0	14	11	5	5	7—30

на которых насосался 201 инфицированный клещ, остались здоровыми и через 20 дней были сняты с опыта.

Во втором опыте мы пытались осуществить передачу инфекции укусом того же вида клеща при условии инфицирования протонимфы. Так же как и в первом опыте, под наклейку на спину 10 мышам было пущено 112 клещей. Из них на 8 мышей было пущено 80 протонимф 4-й серии, по 10 на каждую мышь. На 1 мышь пущено 14 протонимф и взрослых той же серии. На последнюю мышь было пущено 18 взрослых клещей 3-й серии. Во втором опыте 98 клещей через 9 суток и 14 клещей через 20 суток после инфицирования получили первое кормление на здоровых мышах (табл. 2). Как указывалось выше, протонимфа 3-й серии в среднем содержала 10 000 микробных клеток, а взрослый клещ 4-й серии — 1 млн микробных клеток возбудителя туляремии.

Т а б л и ц а 2

Кормление протонимф и взрослых клещей *O. bacoti* под наклейкой на белых мышах при условии инфицирования протонимф туляремиными бактериями

Серия	Степень инфицированности нимф	Количество белых мышей	Подсажено клещей на 1 мышь	Через сколько суток после инфицирования протонимф	Всего насосалось клещей			Пало мышей от туляремии
					протонимф	самцов	самок	
4-я	10 000 микробных клеток в 1 клеще	8	10 нимф	9	45	—	—	0
		1	14 клещей без учета нимф и взрослых	20	5	4	5	0
3-я	Бактериемия донора IV балла	1	18 взрослых	9	—	—	15	0
	Всего	10	10—18	9—20	50	4	20	0

Через сутки с 10 мышей было собрано 50 насосавшихся протонимф и 24 взрослых клеща. Остальные 38 клещей не присосались — они были мертвыми. Так же как и в первом опыте, ни одна из 10 мышей не заразилась, и через 20 дней все они были сняты с опыта.

В третьем опыте инфицированные клещи свободно кормились на белых мышах. Для ограничения счесывания клещей на мышей надевали воротнички. В специальный садок (Петров, 1965а) была помещена мышь, на которую пущено 80 взрослых клещей 4-й серии и 200 клещей 6-й серии. Через 9 суток мышь пала от туляремии. Садок имел два отсека, и клещи из одного отсека, где погибла мышь от туляремии, переползли во второй, куда была помещена здоровая мышь. Вторая мышь пала от туляремии тоже через 9 суток, а в первый отсек после дезинфекции была помещена третья мышь. Последняя пала от туляремии через 18 суток. Следующая помещенная в садок мышь не заразилась и через 30 дней была снята с опыта. В общей сложности инфекция в садке существовала немного более месяца, что не расценивается нами как предельный срок поддержания возбудителя туляремии клещами *O. bacoti*. Дополнительно к этому опыту на трех мышей был осуществлен свободный пуск инфицированных клещей 4-й, 6-й и 7-й серий. Каждая из этих мышей на несколько минут помещалась в садок с инфицированными клещами. Какое-то их количество заползло на мышей. Затем мышей отсаживали в отдельные банки. Через 7 суток от туляремии погибла одна мышь и через 8 суток — две другие.

В результате третьего опыта все 6 мышей, к которым инфицированные клещи имели свободный доступ, пали от туляремии в сроки от 7 до 18 суток.

Подводя итоги трем опытам, мы отмечаем, что в первых двух опытах, где исключался алиментарный путь заражения, гибели мышей от туляремии не было. В третьем опыте, где инфицированные клещи при свободном пуске могли быть съедены или раздавлены на коже животного, все мыши погибли от туляремии. Эти данные свидетельствуют о том, что инфицированные клещи *O. bacoti* укусом не передают бактерий туляремии (первые два опыта). Заражение мышей от инфицированных клещей происходит, по-видимому, алиментарным путем или путем граттажа (третий опыт). О возможности алиментарного пути заражения белых мышей при заглатывании инфицированных туляремиными бактериями клещей *Hirstionyssus musculi* сообщалось нами ранее (Петров, 1965б).

В четвертом опыте мы изучали потомство самок *O. bacoti*, инфицированных туляремиными бактериями. В опыт было взято потомство первого отрождения 60 самок 1-й серии, 20 самок 2-й серии, 125 самок 3-й серии и потомство второго отрождения 49 самок клещей той же 3-й серии. Суспензия из 279 протонимф была введена под кожу 28 белым мышам. Каждой мыши вводили, как правило, по 10 протонимф. Исключение составляют лишь 3 биопробы. Одной мыши была введена 1 протонимфа, другой — 16 (1-я серия) и третьей — 12 (2-я серия). Потомство клещей было исследовано через 10—27 суток после инфицирования материнских особей. Все 28 белых мышей остались живыми и через 20 дней были сняты с опыта. Выше нами сообщалось, что клещи 1-й и 3-й серий содержали в среднем 1 млн микробных клеток *F. tularensis*. Клещи 2-й серии не титровались нами, но они были инфицированы на агонирующей белой мышью с бактериемией III—IV балла. Дополнительно к этим данным об инфицированности гамазид в различные сроки в пределах до 17 суток после инфицирования было исследовано 108 самок клещей, от которых было получено потомство. Все 13 биопроб из 108 клещей (9 индивидуальных анализов и 4 групповых) оказались положительными на туляремию. Кроме того, из 7 белых мышей, которым была введена суспензия из смывов экскрементов самок клещей, 4 мыши пали от туляремии в сроки от 4 до 8 суток. Этим мышам суспензия из экскрементов была введена через 5 и 14 суток после инфицирования клещей. Суспензия экскрементов, введенная остальным 3 мышам через 12 и 19 суток после инфицирования клещей, не вызвала их гибели. Следовательно, туляреминый микроб при комнатной температуре в экскрементах может сохраняться до 14 суток, считая с момента инфицирования клещей (табл. 3).

Четвертый опыт показал, что инфицированные *F. tularensis* взрослые клещи *O. bacoti* не передают своему потомству возбудителя инфекции ни первого, ни второго отрождения. Поэтому наши данные четвертого опыта не подтверждают трансвариальную передачу туляреминых бактерий у крысиного клеща, полученную в экспериментах Хопла (Hopla, 1951).

В пятом опыте мы проследили изменение количества туляреминых бактерий в *O. bacoti* при содержании их в комнатной температуре и при условии периодического подкармливания на белых мышях. В опыт были взяты клещи 3-й и 4-й серий. Клещи 3-й серии в течение 30 суток четыре раза кормились на здоровых белых мышях и периодически подвергались шестикратному титрованию. Каждый раз для титрования брали 10 клещей. Исключением было четвертое и шестое титрование, когда ввиду небольшого количества клещей было взято их соответственно 3 и 4 экз. Этими исследованиями было показано, что на протяжении 30 суток ни в голодных, ни в насосавшихся клещах существенного изменения количества бактерий не произошло. Количество бактерий изменилось лишь в пределах одного разведения и крайними вариантами их были 1 и 10 млн микробных клеток (см. рисунок). Не изменились и качественные свойства туляреминых бактерий. Хранение *F. tularensis* в *O. bacoti* 3-й серии в продолжение 30 суток не повлекло за собой изменения вирулентности. 1 и 10 микроб-

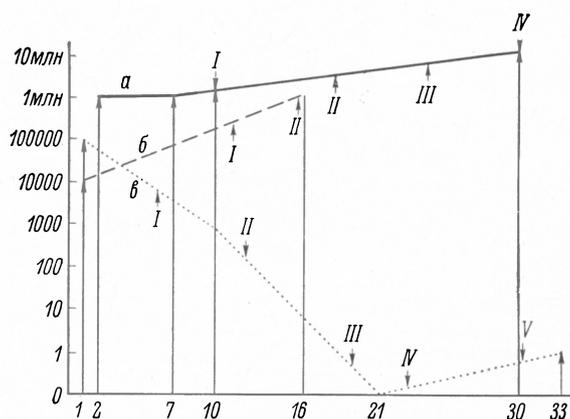
Т а б л и ц а 3

Результат подкожного введения белым мышам суспензий потомства клещей *O. bacoti*, инфицированных туляремиными бактериями во взрослой фазе

Серия	Опыт (исследовано протонимф — потомство инфицированных клещей)						Контроль (материнские особи инфицированных клещей)									
	степень инфицированности клещей	очередность отрождения	поставлено биопроб из нимф	число исследованных нимф	через сколько суток после инфицирования	пало мышей от туляремии	поставлено биопроб из взрослых клещей				через сколько суток после инфицирования	поставлено биопроб из смывов экскрементов		через сколько суток после инфицирования клещей		
							индивидуальных		групповых			всего	из них пало от туляремии		всего	из них пало от туляремии
							всего	из них пало от туляремии	всего	из них пало от туляремии						
1-я	1 млн микробных клеток в 1 клеще	I I	3	36	12	0	1	1	—	—	6	1	1	5		
			1	1	19	0	—	—	2	2	13	1	0	12		
2-я	Бактериемия донора IV балла	I	2	22	10	0	1	1	—	—	1	—	—	—		
3-я	1 млн микробных клеток в 1 клеще	I — II	10	100	13	0	7	7	—	—	15	2	2	14		
			—	—	—	—	—	—	1	1	8	2	0	19		
			12	120	27	0	—	—	1	1	14	1	1	5		
Всего			28	279	10—27	0	9	9	4	4	1—15	7	4	5—19		

ных клеток являлись полной смертельной дозой для всех 6 белых мышей и 6 морских свинок (по 3 животных на разведение). Белые мыши гибли в сроки через 6—9 суток, морские свинки — через 9—12 суток после заражения. От дозы в 0.1 микробных клеток из 3 пала 1 белая мышь на 9-е сутки, а 2 мыши остались живыми и через 20 суток были сняты с опыта.

Протонимфы 4-й серии содержали в среднем 10 000 микробных клеток. Через 10 суток после инфицирующего кормления протонимфы были пущены для кормления на здоровую белую мышь. Вскоре после кормления протонимфы перелиняли на взрослых особей и через 15 суток, считая с момента их инфицирования, вторично были пущены на здоровую мышь. На следующий день после второго кормления (через 16 суток после инфицирующего кормления протонимф) взрослые клещи в количестве 5 самцов и 5 самок подверглись титрованию. В результате титрования было установлено увеличение микробных клеток в гамазовых клещах до 1 млн. Из соотношения количества бактерий в протонимфе (10 000) и в последую-



Изменение количества туляремийных бактерий в клещах *Ornithonyssus bacoti* Hirst и *Hirstionyssus musculi* Johnst., содержащихся при комнатной температуре и периодически подкармливавшихся на белых мышах.

а — сохранение туляремийных бактерий во взрослых клещах *O. bacoti* серии 3; б — размножение туляремийных бактерий в клещах *O. bacoti* серии 4 по ходу их метаморфоза; в — уменьшение количества туляремийных бактерий в клещах *H. musculi* (Петров, 1963). I—V — очередность кормления на мышах; по оси абсцисс — интервалы между инфицированием клещей и их исследованием (в сутках); по оси ординат — среднее количество туляремийных бактерий в клеще.

щем взрослому клещу (1 млн) видно, что вследствие размножения возбудителя туляремии произошло увеличение количества их в 100 раз.

Аналогичные исследования были повторены нами *O. bacoti* 8-й серии. Одна протонимфа этой серии в среднем содержала 100 000 микробных клеток. После двукратного кормления соответственно через 6 и 12 суток после инфицирования протонимфы слиняли во взрослых. Через 18 суток (после инфицирования протонимф) взрослые были накормлены на здоровой мыши. По истечении 4 дней после кормления клещи подверглись титрованию, показавшему, что каждый из них в среднем содержит 1 млн микробных клеток. Эти данные подтверждают размножение туляремийных бактерий в гамазовых клещах, хотя оно было менее выражено, чем в первом варианте аналогичного исследования. Увеличение количества микробных клеток произошло только в 10 раз.

Параллельно титрованию на белых мышах мы провели определение количества микробных клеток в клещах 8-й серии путем посевов суспензий из них на кровяной агар (без пенициллина). В чашки Петри с кровяным агаром наносили по 0.1 мл суспензии из 1/10 000, 1/100 000 и 1/1 млн части протонимфы или взрослого клеща, слинявшего из инфицированной протонимфы. Разведение суспензий готовили раздельно из каждого клеща. Всего было приготовлено 10 разведений из протонимф и 10 из взрослых клещей. Путем подсчета колоний туляремийных бактерий на кровяном агаре было определено количество микробных клеток в каждом клеще (минимум 20 000, максимум 71 000). В среднем в протонимфе было 273 000 микробных клеток, а через 22 суток после трехкратного кормления во взрослом клеще их было 5 350 000. Как видно из этих данных, увеличение количества микробных клеток произошло почти в 20 раз.

Таким образом, в процессе метаморфоза от инфицированных протонимф до взрослых особей происходит увеличение количества туляремий-

ных бактерий, что было подтверждено различными методами титрования: количество бактерий в суспензии из клещей различного разведения определялось нами методом биологических проб на белых мышах и методом посевов. Результаты этих исследований оказались тождественными. Оба метода титрования свидетельствовали об увеличении количества туляремийных бактерий, а потому наше заключение о размножении *F. tularensis* в клещах *O. bacoti* от протонимфы до взрослой особи основано на достоверных экспериментальных данных.

В предыдущей статье (Петров, 1963) мы сообщали, что в течение месячного срока наблюдения количество туляремийных бактерий во взрослых *Hirstionyssus musculi* уменьшается. Наоборот, во взрослых *O. bacoti*, содержащихся при комнатной температуре в продолжение того же срока (30 суток), количество туляремийных бактерий не уменьшилось. Более того, в *O. bacoti* по ходу метаморфоза при условии периодического подкармливания их на здоровых белых мышах происходит размножение *F. tularensis* (см. рисунок). Феномен размножения туляремийных бактерий в *O. bacoti* свидетельствует о том, что этот вид является биологическим хозяином возбудителя туляремии.

O. bacoti, кроме синантропных грызунов, нередко нападает и на человека. Во время эпизоотии *O. bacoti* могут заражаться возбудителем туляремии на домашних мышах. Поэтому у человека не исключена возможность инфицирования туляремией при расчесывании и втирании в кожу содержащего зараженных крысиных клещей.

По предложению Т. Н. Дунаевой, мы поставили небольшой опыт по выявлению сохранения *F. tularensis* в *O. bacoti* 8-й серии, которые были залиты стерильной вазелино-парафиновой смесью (100 г вазелина + 10 г парафина с температурой плавления 45°). Все 5 белых мышей, каждой из которых была введена суспензия из 1 инфицированного клеща после хранения его в холодильнике в продолжение 22 дней, погибли от туляремии через 3—5 суток. В те же сроки погибли все 5 мышей после введения им суспензий из клещей, хранившихся в продолжение 33 дней. Введение суспензий из клещей через 22 и 33 дня после хранения их в вазелино-парафиновой смеси при комнатной температуре (20—24°) ни в одном случае из 10 не вызвало гибели мышей от туляремии. Из этого опыта видно, что в случаях длительного хранения клещей, залитых вазелино-парафиновой смесью, следует содержать на льду или в холодильнике.

Литература

- Земская А. А. 1954. Сбор и лабораторное разведение крысиного клеща *Deltionyssus bacoti*. Зоол. журн., 33 (2): 350—355.
- Нельзина Е. Н. 1945. Сезонный ход заклещевения домашних животных в эндемическом очаге весенне-летнего энцефалита в Приморском крае. Мед. паразитол. и паразитарн. бол., 6: 55—60.
- Петров В. Г. и Олсуфьев Н. Г. 1953. О размножении *Bacterium tularensis* в клещах *Dermacentor pictus* Herm. в процессе их метаморфоза. В сб.: Вопросы краевой, общей, экспериментальной паразитологии и медицинской зоологии, 8: 149—156.
- Петров В. Г. 1962. О трансвариальной передаче возбудителя туляремии у клещей *Dermacentor marginatus* Sulz. Мед. паразитол. и паразитарн. бол., 1: 62—66.
- Петров В. Г. 1963. О роли клещей *Hirstionyssus musculi* Johnst. в передаче и хранении туляремийной инфекции. Зоол. журн., 42 (7): 1031—1040.
- Петров В. Г. 1965а. Передача туляремийной инфекции клещами *Hirstionyssus musculi* Johnst. обыкновенным полевкам и белым мышам в искусственном гнезде. В кн.: Туляремия и сопутствующие инфекции. Омск: 162—165.
- Петров В. Г. 1965б. Механизм передачи туляремийной инфекции гамазовыми клещами *Hirstionyssus musculi* Johnst. В кн.: Туляремия и сопутствующие инфекции. Омск: 159—162.
- Щуренкова А. И. 1936. Простая методика экспериментального выпаживания флеботомусов. Узб. паразитол. сб., 1: 212—221.
- Норла С. Е. 1951. Experimental Transmission of tularemia by the Tropical Rat Mite. Amer. J. Trop. Med., 31(6): 768—682.

ON THE ROLE OF THE MITE ORNITHONYSSUS
BACOTI HIRST AS A RESERVOIR AND VECTOR
OF THE AGENT OF TULAREMIA

V. G. Petrov

SUMMARY

On the basis of experimental data the author denies the salivary-oral mechanism and transovarial transmission of tularemia microbe in the mite *Ornithonyssus bacoti* Hirst. The transmission of infection to animals proceeds by alimentary way or by swallowing mites or by their crushing on the skin of the host. The reproduction of tularemial bacteria proceeds in infected mites during their metamorphosis.
