

## НЕКОТОРЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ РАЗМНОЖЕНИЯ И ПЕРЕЖИВАНИЯ РИККЕТСИЙ ПРОВАЧЕКА В АРГАСОВЫХ КЛЕЩАХ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИХ ЗАРАЖЕНИИ

В. Ф. Игнатович и И. М. Гроховская

Институт эпидемиологии и микробиологии  
им. Н. Ф. Гамалеи, Москва

Получены количественные характеристики размножения и переживания риккетсий Провачека в некоторых видах аргасовых клещей (срок наблюдения до 31 мес.) при содержании их в различных температурных условиях (20 и 30°) без кормления и при повторном кормлении инфицированных клещей на животных.

За последние годы накопился экспериментальный материал, свидетельствующий о возможности инфицирования клещей *Ixodoidea* риккетсиями Провачека (Климентова и Перфильев, 1935; Weyer, 1948; Пионтовская и Коршунова, 1953; Reiss-Gutfreund, 1956, 1961; Kordova a. Reháček, 1964; Гроховская с соавторами, 1966, 1967; Burgdorfer a. Ormsbee, 1968; Игнатович с соавторами, 1968; Игнатович и Гроховская, 1970; Ormsbee a. oth., 1968). Однако многие закономерности накопления и гибели возбудителя сыпного тифа в клещах до сих пор не ясны. В развитие ранее опубликованных данных были проведены исследования по выявлению особенностей размножения и переживания риккетсий в аргасовых клещах, содержащихся в различных условиях; при этом был использован метод количественного анализа изменений риккетсионной популяции в клещах при длительном сроке наблюдения.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В опыты были взяты клещи *O. papillipes* N<sub>2</sub>—N<sub>3</sub>, *Alv. lahorensis* Im. и *O. moubata* N<sub>2</sub>—N<sub>4</sub>. Клещей заражали риккетсиями на кожной мембране цыпленка кровью морской свинки, искусственно инфицированной яичной культурой риккетсий Провачека (штамм Брейнль) в разведении 10<sup>-1</sup>—10<sup>-2</sup>. Клещей после заражения хранили при 30°, в отдельных опытах — при 20°. Количество риккетсий, содержащихся в клещах, выражали в инфекционных титрах для морских свинок. Исходное разведение готовили из расчета: содержимое одного клеща — в 1 мл снятого молока. В каждом определении исследовали 2—4 клеща. В опытах выявления предельной выживаемости риккетсий Провачека в клещах последних периодически кормили на свежих животных.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На рис. 1 показаны кривые количественного содержания риккетсий Провачека в клещах *O. papillipes* N<sub>2</sub> и *Alv. lahorensis* Im. в течение первого месяца после их инфицирования. При насыщении кровью в пищеварительный тракт клеща попадает значительное количество риккетсий (10<sup>4</sup>—

$10^5$   $ID_{50}$ /мл). В течение первых трех суток количество риккетсий уменьшалось. По-видимому, такое изменение связано с бактерицидным действием веществ, содержащихся в кишечнике клеща. Затем можно отметить увеличение количества риккетсий в клещах. Максимальные инфекционные титры ( $10^5$ — $10^6$   $ID_{50}$ /мл) были определены на 5—6-й день после инфицирующего кормления. До 8—13-го дня количество риккетсий оставалось постоянным с небольшими колебаниями в пределах ошибки биологического опыта. После указанного срока наступало постепенное снижение инфекционных титров. К концу месяца (28—32-й день) инфекционные титры падали до цифр порядка  $10^{2.0}$ — $10^3$   $ID_{50}$ /мл. Таким образом, цикл размножения риккетсий Провачека в клещах проходил все стадии, присущие микроорганизмам при их развитии, т. е. в размножении риккетсий Провачека отмечены стадия логарифмического роста, стационарная фаза и фаза снижения интенсивности размножения. Однако процесс размножения риккетсий Провачека в клещах отличался от процесса размножения этого вида риккетсий в других системах. Отличие заключалось в замедленной смене фаз размножения и пониженной интенсивности процесса размножения.

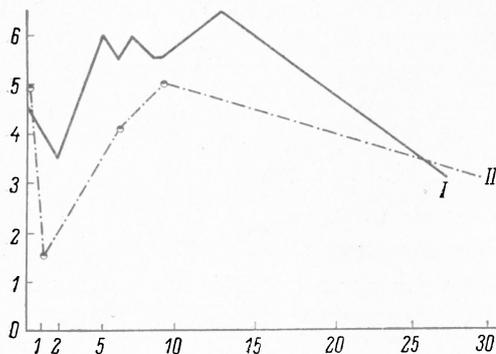


Рис. 1. Динамика количественного содержания риккетсий Провачека в *O. papillipes* N<sub>2</sub> и *Alv. lahorensis* Im. после инфицирующего кормления (30°).

По оси абсцисс — логарифмы  $ID_{50}$ /мл; по оси ординат — время после заражения клещей (в днях). I — *O. papillipes*; II — *Alv. lahorensis*.

Характерной особенностью взаимоотношений риккетсий Провачека и аргасовых клещей является длительное пребывание возбудителя сыпного тифа в организме клеща по сравнению с переживанием его в организме различных экспериментальных животных. Но с другой стороны, без соблюдения определенных условий клещи относительно быстро освобождаются от риккетсий Провачека в отличие, например, от риккетсий клещевой группы.

К настоящему моменту мы располагаем следующими данными о сроках сохранения риккетсий Провачека в аргасовых клещах (см. таблицу).

Сроки определения риккетсий Провачека в инфицированных клещах, содержащихся в различных условиях

Виды клещей	20°		30°	
	без кормления	с добавочным кормлением	без кормления	с добавочным кормлением
<i>O. moubata</i> . . . . .	13 дней	13 дней	5 мес.	14 мес.
<i>Alv. lahorensis</i> . . . . .	—	—	9 »	17 »
<i>O. papillipes</i> . . . . .	13 дней	13 дней	14 »	31 »

Как следует из представленных в таблице данных, сроки определения жизнеспособных риккетсий в клещах зависели от ряда факторов. Так, при хранении клещей при температуре 20° в исследованных *O. moubata* и *O. papillipes* сроки обнаружения риккетсий не превышали двух недель. Подкормка таких клещей на свежих животных не увеличивала продолжительности определения жизнеспособных риккетсий. Иные результаты были получены при содержании инфицированных клещей при 30°. В этих экспериментах риккетсии выявлялись через 5 (*O. moubata*), 9 (*Alv. laho-*

rensis) и 14 мес. (*O. papillipes*). Значительное увеличение сроков обнаружения риккетсий отмечено при многократном кормлении инфицированных клещей. Так, у *O. moubata* риккетсии были выявлены через 14 мес., у *Alv. lahorensis* и *O. papillipes* — через 17 и 31 мес. соответственно. Полученные данные свидетельствуют о наличии у клещей видовых отличий при сохранении возбудителя. Наименьшие сроки ( $30^{\circ}$ ) обнаружения риккетсий получены у *O. moubata*, наибольшие — у *O. papillipes*.

Количественная характеристика риккетсий Провачека в *O. papillipes*  $N_3$ —Im. при содержании клещей при повышенной температуре ( $30^{\circ}$ ) и при повторном кормлении на свежих животных дана на рис. 2. Кривая, отражающая количество жизнеспособных риккетсий в клещах (за период наблюдения до 31 мес.), имеет вид падающей ломаной линии. Вслед за значительными титрами риккетсий,  $10^4$ — $10^5$   $JD_{50}$ /мл, отмеченными в первые два месяца эксперимента, в последующем (до 8 мес.) риккетсии определялись в пределах  $10^2$ — $10^3$   $JD_{50}$ /мл.

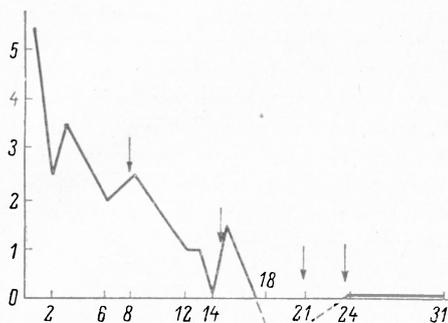


Рис. 2. Динамика количественного содержания риккетсий Провачека в *O. papillipes* при содержании клещей при  $30^{\circ}$  с повторным кормлением на животных.

По оси абсцисс — логарифмы  $ID_{50}$ /мл; по оси ординат — время после заражения клещей (в мес.). Стрелкой показано время кормления клещей на животных, отрезок, параллельный оси абсцисс — отрицательные результаты биопроб.

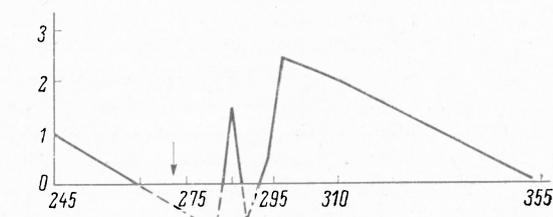


Рис. 3. Динамика количественного содержания риккетсий Провачека в *O. papillipes*  $N_3$  после кормления голодных инфицированных клещей на животном ( $30^{\circ}$ ).

Обозначения те же, что и на рис. 2.

В отдаленные сроки исследования (18—31 мес.) в клещах определяли минимальные количества риккетсий,  $10^{\circ}$   $JD_{50}$ /мл, вплоть до отрицательных результатов в биопробах. Хотя

после каждого кровососания в клещах отмечалось увеличение возбудителя, оно не изменяло общей тенденции к уменьшению риккетсий в их организме. После нового кормления увеличение риккетсий никогда не достигало уровня, отмеченного при заражающем кормлении клещей. На рис. 3 дан пример количественных изменений риккетсиозной популяции после кормления голодных инфицированных клещей на животном. *O. papillipes*  $N_3$  на 272-й день после заражения<sup>1</sup> были накормлены на свежей морской свинке. В последующие 30 дней было сделано несколько определений, которые показали, что количество риккетсий увеличилось вслед за насыщением клещей свежей кровью. Пик накопления риккетсий зафиксирован на 25-й день после кормления (297-й день после заражения клещей) с максимальным титром  $10^{2.5}$   $JD_{50}$ /мл. Затем было отмечено постепенное снижение жизнеспособных риккетсий. Через 80 дней наблюдения риккетсии выявились в клещах лишь в пределах  $10^{\circ}$   $JD_{50}$ /мл. Таким образом, несмотря на то что при насыщении клещей свежей кровью отмечалось размножение риккетсий, клещи постепенно освобождались от возбудителя, так как интенсивность размножения была очень слабой. Однако в отдельных клещах *O. papillipes* риккетсии Провачека в минимальных количествах ( $10^{\circ}$   $JD_{50}$ /мл) были определены через 24 и 31 мес., поэтому партию клещей в целом нельзя считать свободной от возбудителя.

<sup>1</sup> Динамика размножения риккетсий Провачека в этой партии клещей после инфицирующего кормления показана на рис. 1.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Анализируя полученные результаты, следует сказать, что риккетсии Провачека не адаптированы к изученным видам клещей в той степени, как это отмечается у риккетсий клещевой группы (Гроховская и Сидоров, 1967; Крючечников, 1969). Длительные сроки сохранения риккетсий Провачека в клещах обусловлены определенными условиями (повышенной температурой содержания клещей и повторным подкармливанием инфицированных клещей на свежих животных). При отсутствии этих условий наступало освобождение клещей от возбудителя сыпного тифа. В то же время в отдельных особях из партии инфицированных клещей риккетсии Провачека переживали длительный срок. Риккетсии Провачека были выделены от *O. papillipes* через 24 и 31 мес. после заражения клещей. Логично предположить, что в популяции риккетсий имеются особо устойчивые формы, которые способны в течение многих месяцев переживать в организме клеща. Имеется и другое объяснение длительного сохранения риккетсий Провачека только в отдельных клещах. Согласно данным Крючечникова (1969), риккетсии Провачека лишь в некоторых случаях проникают через кишечный барьер и проходят в полость тела клеща. Основная же их часть «оседает» в эпителии средней кишки, клетки которой обновляются. Возможно, остаются инфицированными в течение значительного времени только те особи, у которых возбудитель сыпного тифа находится в полости тела.

Участие клещей в эпидемиологии сыпного тифа, по-видимому, мало вероятно. Об этом свидетельствуют результаты наших экспериментов (Гроховская с соавторами, 1967; Игнатович и Гроховская, 1968, 1970) и результаты других исследователей (Крючечников, 1969; Philip a. oth., 1967; Burgdorfer a. Ormsbee, 1968; Ormsbee a. oth., 1971). Однако модель — инфицированные риккетсиями Провачека клещи — заслуживает внимания в плане изучения биологии возбудителя сыпного тифа. Эта модель может быть использована для изучения закономерностей внутриклеточного паразитизма (эндосимбиоза) на уровне организма.

## ВЫВОДЫ

1. Размножение риккетсий Провачека в аргасовых клещах характеризуется замедленной сменой фаз размножения и слабой интенсивностью процесса.

2. Вслед за первоначальным накоплением риккетсий в клещах происходит постепенное снижение количества возбудителя, вплоть до освобождения клещей от риккетсий Провачека.

3. Повторное кормление инфицированных клещей приводит к небольшому увеличению количества риккетсий (на 0.5—1.0 логарифм), но не изменяет общей тенденции к снижению количества жизнеспособных риккетсий в организме клеща.

4. При определенных условиях (температура содержания клеща 30° и повторное кормление инфицированных клещей на животных) риккетсии Провачека длительно переживают в клещах. Зафиксированы следующие сроки обнаружения риккетсий: в *O. moubata* — 14, *Alv. lahorensis* — 17 и *O. papillipes* — 31 мес.

## Л и т е р а т у р а

- Г р о х о в с к а я И. М., И г н а т о в и ч В. Ф. и С и д о р о в В. Е. 1966. Восприимчивость клещей надсемейства Ixodoidea к риккетсиям Провачека. Мед. паразитол., 3 : 299—304.
- Г р о х о в с к а я И. М. и С и д о р о в В. Е. 1967. Клещи Ixodoidea и Dermacentorhenus sibiricus. В кн.: Биологические взаимоотношения кровососущих членистоногих с возбудителями болезней человека : 104—125.
- Г р о х о в с к а я И. М., И г н а т о в и ч В. Ф. и С и д о р о в В. Е. 1967. Клещи Ixodoidea и Rickettsia prowazeki. В кн.: Биологические взаимоотношения между переносчиками и возбудителями болезни : 126—142.

- Игнатович В. Ф. и Гроховская И. М. 1968. Изучение возможных путей передачи клещами надсемейства Ixodoidea риккетсий Провачека. Мед. паразитол., 6 : 708—710.
- Игнатович В. Ф., Гроховская И. М. и Сидоров В. Е. 1968. Изучение размножения риккетсий Провачека в клещах Ixodoidea с применением количественного метода. В кн.: Вопросы инфекционной патологии и иммунологии, 4 : 184—192.
- Игнатович В. Ф. и Гроховская И. М. 1970. Экспериментальные предпосылки к обоснованию возможной роли клещей в эпидемиологии сыпного тифа. Вестник АМН СССР, 2 : 22—30.
- Игнатович В. Ф. и Гроховская И. М. 1970. Некоторые закономерности размножения риккетсий Провачека в аргасовых клещах (Argasidae, Ixodoidea). Второе акарол. совещ., Тез. докл. : 232—234.
- Климентова А. А. и Перфильев П. П. 1935. Клещи, блохи и клещи как переносчики сыпнотифозного вируса в экспериментальных условиях. В сб.: Паразиты, переносчики и ядовитые животные. М.—Л. : 71.
- Крючков В. Н. 1969. Взаимоотношения клещей надсемейства Ixodoidea с риккетсиями *Dermacentor sibiricus* и *Rickettsia prowazeki*. Дисс. канд.
- Пионтковская С. П. и Коршунова О. С. 1953. Опыты инфицирования клещей *Dermacentor marginatus* Sulz. и *Dermacentor pictus* Herm. риккетсиями Провачека. В кн.: Вопросы краевой, общей и экспериментальной паразитологии и медицинской зоологии, 8 : 29—33.
- Burgdorfer W. and Ormsbee R. A. 1968. Развитие *Rickettsia prowazeki* в организме некоторых видов иксодовых клещей. Acta virologica (русское издание), 12 (1) : 36—40.
- Kordova N. and Reháček J. 1964. Microscopic examination of the organs of ticks infected with *Rickettsia prowazeki*. Acta virologica, 8 (5) : 465—469.
- Ormsbee R. A., Hoogstraal H., Labib B. Y., Hilderbrandt P. and Wagih Atalla. 1968. Evidence for extra-human epidemic typhus in the wild animals of Egypt. J. Hyg., Epid., Microb., Immun., 12 (1) : 1—6.
- Ormsbee R. A., Burgdorfer W., Peacock M. and Hilderbrandt P. 1971. Experimental infections of *Rickettsia prowazeki* among domestic livestock and ticks. Am. J. Trop. Med. a. Hyg., 20 (1) : 117—124.
- Philip C. B., Hughes L. E., Lackman D. B. and Bell E. Y. 1967. Susceptibility of certain domestic animals to experimental infection with *Rickettsia prowazeki*. Am. J. Trop. Med. a. Hyg., 16 (6) : 758—761.
- Reiss-Gutfreund R. Y. 1956. Un nouveau reservoir de virus pour *Rickettsia prowazeki* les animaux domestiques et murs tiques. Bull. Soc. Pathol. Exot., 49 (5) : 946—1021.
- Reiss-Gutfreund R. Y. 1961. Nouveau isolements de *R. prowazeki* a partir d'animaux domestiques et de tiques. Bull. Soc. Path. Exot., 54 (2) : 284—297.
- Weyer F. 1948. Die künstliche Infektion von Zecken mit Rickettsien und anderen Krankheitserregern. Zentr. Blatt. Parasit., Orig., 152 : 449—457.

SOME REGULARITIES OF REPRODUCTION  
AND MAINTENANCE OF RICKETTSIA PROWAZEKI  
IN ARGASID TICKS DURING EXPERIMENTAL INFECTION

V. F. Ignatovich and I. M. Grokhovskaya

S U M M A R Y

Reproduction of *R. prowazeki* in argasid ticks after their infection on bird's membrane is characterized by slow changes in reproduction phases and low intensity. Following the primary accumulation of *R. prowazeki* in ticks rickettsiae gradually decreased in number up to complete liberation of ticks from them. Maintenance at a raised temperature (30°) and repeated feeding of infected ticks on animals prolonged the survival period of viable rickettsiae in ticks.