Новые подходы в систематике представителей порядка Rickettsiales

С.Н. Шпынов (stan63@inbox.ru)

ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрав России, Москва

Резюме

Систематика и номенклатура представителей порядка Rickettsiales всегда основывалась на ограниченном количестве доступных фенотипических характеристик, что связано с их облигатной внутриклеточной локализацией. Интенсивное применение «молекулярных» технологий привело к описанию значительного количества новых видов в этой таксономической группе, а также к реклассификации некоторых её представителей. Другим символом эпохи «молекулярных» технологий стало появление видов, родов и семейств имеющих статус кандидатов («Candidatus») вследствие невозможности культивирования и изучения биологических свойств, что требуется при описании нового валидного вида. Необходимо разрешение этой проблемы, основанное на развитии и применении новых наукоёмких технологий.

В обзоре представлены современные данные по систематике, номенклатуре и эволюции представителей порядка Rickettsiales, новых технологиях, подходах и методах изучения некоторых групп прокариот. Публикуемые материалы были получены при анализе зарубежных и отечественных научных публикаций, а также на основании собственных опубликованных данных.

Дано новое представление о классификации и таксономии внутри рода Rickettsia.

Ключевые слова: *риккетсии, порядок Rickettsiales, систематика, номенклатура, эволюция*

New Approaches in Taxonomy Representatives of Rickettsiales Order

S.N. Shpynov (stan63@inbox.ru)

N.F. Gamaleya Centre of Epidemiology and Microbiology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Abstract

Systematics and nomenclature of representatives Rickettsiales order has always been based on a limited number of available phenotypic characteristics, due to their obligate intracellular localization. Intensive use of «molecular» technology has led to the description of a large number of new species of this taxonomic group, as well as to the reclassification of some of its representatives. Another symbol of the era of «molecular» technology is the emergence of species, genera and families with candidate status («Candidatus») due to the inability of cultivation and studying of biological properties that is required for a valid description of the new species. It should be a legitimate solution to this problem, based on the development and application of new high technologies.

This review summarizes recent data on the taxonomy, nomenclature and evolution of representatives order Rickettsiales, new technologies, approaches and methods for the study of certain groups of prokaryotes. Published materials were obtained in the analysis of foreign and Russian scientific publications, as well as on the basis of its own published data.

The paper contains a new understanding of the classification within the genus Rickettsia.

Key words: *Rickettsia, order Rickettsiales, taxonomy nomenclature, evolution*

Введение

Риккетсии представляют группу облигатных внутриклеточных прокариот из порядка Rickettsiales (Домен Bacteria, тип Proteobacteria, класс Alphaproteobacteria), которые передаются членистоногими и вызывают заболевания человека. Среди риккетсий около 20 патогенных видов, включая возбудителей эпидемического сыпного тифа (ЭСТ) и пятнистой лихорадки Скалистых гор (ПЛСГ), вызывающих летальные исходы. Знание систематики риккетсий необходимо для выяснения их положения среди бактерий и представления о фенотипических и генотипических характеристиках определяющих диагностику и этиотропное лечение вызываемых ими заболеваний.

В 1909 году H. T. Ricketts обнаружил в крови больных и клещах неизвестные микроорганизмы, впоследствии получившими название возбудителя ПЛСГ [1]. В 1916 году da Rocha-Lima выделил группу близкородственных бактерий, дав им название «риккетсии» [2]. Возбудитель ЭСТ *Rickettsia prowazekii* была названа им в честь H. T. Ricketts и S. Prowazek, погибших при изучении этой инфекции. Термин «риккетсии» был распространён на группу бактерий, обладающих общими свойствами и передающихся членистоногими (клещи, вши, блохи), а также вызывающими лихорадочные заболевания человека с характерной сыпью. В настоящее время название риккетсии (*Rickettsia* spp.) закреплено за представителя-

ми рода *Rickettsia* порядка Rickettsiales, при этом представители семейства Anaplasmataceae называются риккетсиальные организмы, а семейства Holosporaceae – бактерии [3]. Кроме ПЛСГ большое значение имеют другие эндемические риккетсиозы: средиземноморская пятнистая лихорадка, клещевой сыпной тиф Северной Азии (сибирский клещевой тиф) и эндемический (крысиный) сыпной тиф. В настоящее время вместе с типовым видом *R. prowazekii* валидными считаются 27 видов риккетсий данные, об описании которых должны быть опубликованы в International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology и в Validation list of Int. J. Syst. Evol. Microbiol [4]. Кроме этого, к настоящему времени в клещах выявлено более 50 риккетсий с неизученной патогенностью, которые могут проявить себя патогенами спустя десятилетия как *R. slovaca* [5], а также невалидных, неполно описанных или некультивируемых видов имеющих статус кандидатов (*Candidatus* spp. – *Ca*. spp.) [6]. В настоящее время на сайте List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN) по адресу http://www.bacterio.net/-candidatus.html расположена информация о 15 кандидатах в новые виды риккетсий.

Систематика этой своеобразной группы бактерий, учитывая их облигатную внутриклеточную локализацию и связанные с этим трудности в выделении и изучении, всегда основывалась на ограниченном количестве фенотипических характеристик. В конце XX века в систематике и номенклатуре риккетсий произошли значительные изменения, чему способствовало появление и развитие технологий, подходов и методов, позволивших выработать новые стратегии в изучении прокариот.

Объективное представление о систематике и номенклатуре риккетсий в отечественной научной литературе было дано более 35 лет назад [7]. За этот период претерпела изменения иерархия таксономических рангов порядка Rickettsiales, были описаны новые виды и вызываемые ими заболевания, появились виды, рода и семейства в статусе кандидатов (проблема, требующая решения), предложены новые подходы в систематике риккетсий, сформировалось современное научное представление об эволюции представителей порядка Rickettsiales и роли их предка в эукариогенезе.

Цель обзора – отразить современное представление по этим разделам, полученное при анализе современных зарубежных и отечественных научных публикаций и на основании результатов собственных исследований.

Порядок Rickettsiales Gieszczykiewicz 1939 (класс Alphaproteobacteria)

В настоящее время на основании филогенетического анализа гена 16S рРНК класс Alphaproteobacteria включает 7 порядков: Caulobacterales, Parvularculales, Rhizobiales, Rhodobacterales, Rhodospirillales, Rickettsiales и Sphingomonadales [8, 9].

Представители порядка Rickettsiales палочковидные, кокковидные или неправильной формы бактерии, не имеющие жгутиков, с типичной для грамотрицательных бактерий клеточной стенкой. Они делятся только внутри клетки хозяина [10].

Внедрение молекулярно-биологических методов основанных на изучении гена 16S рРНК [11] привело к реклассификации риккетсий основанной на ограниченном количестве фенотипических характеристик. Реклассификация затронула некоторые рода порядка Rickettsiales и она коснулась отдельных видов бактерий – *Rickettsiella grilli* и *Coxiella burnetii* были перемещены в класс Gammaproteobacteria [11, 12]. *C. burnetii* образовала род *Coxiella* в семействе Coxiellaceae порядка Legionellales в классе Gammaproteobacteria [11]. К этому роду можно отнести невалидный пока вид *C. cheraxi* [13]. Представители родов *Rochalimaea* и *Grahamella* были помещены в род *Bartonella*, перемещённый из порядка Rickettsiales в порядок Rhizobiales [14, 15].

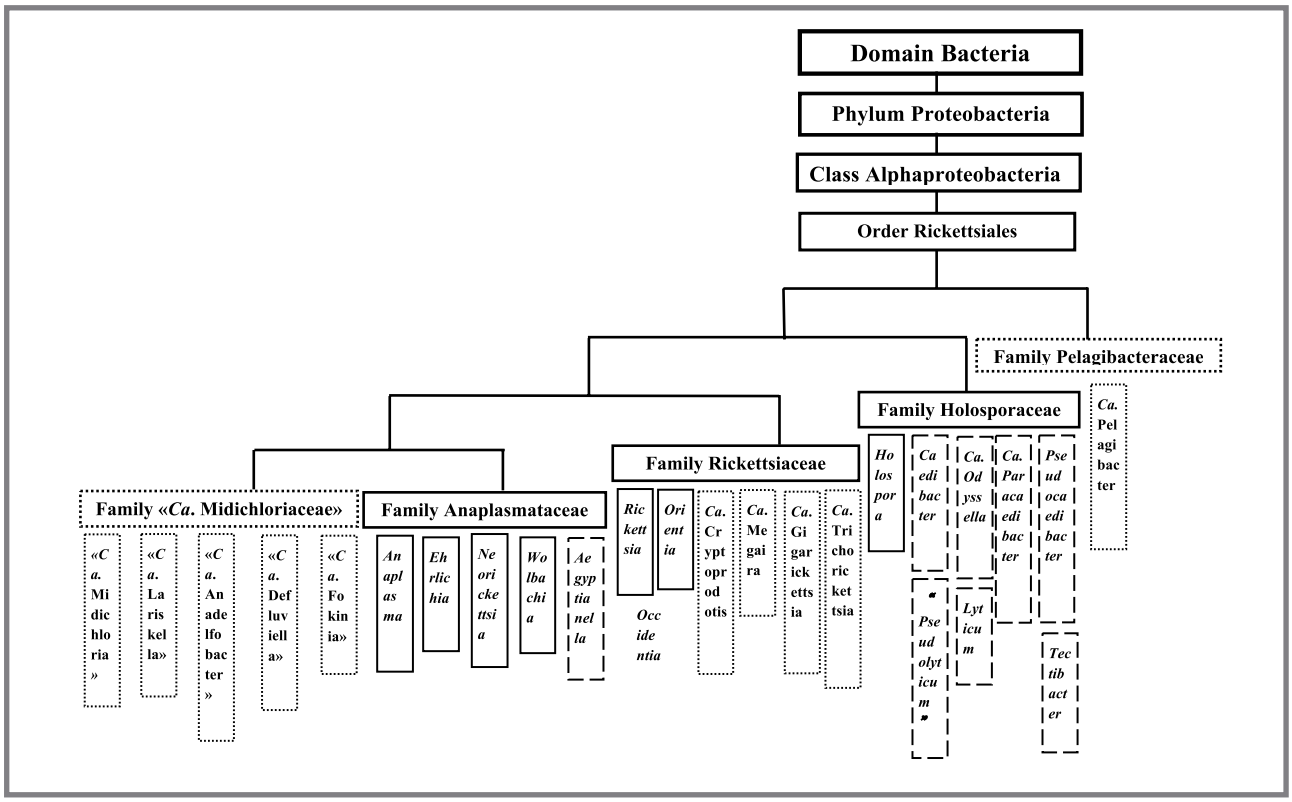
В порядок Rickettsiales входят 3 семейства: Rickettsiaceae (рода *Rickettsia* и *Orientia*); Anaplasmataceae (*Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Neorickettsia, Wolbachia* и род с неопределённым местоположением (Incertae Sedis) – *Aegyptianella*) и Holosporaceae (*Holospora* и 7 родов с неопределённым местоположением) [10].

Семейство Anaplasmataceae объединяет внутриклеточные бактерии, которые размножаются внутри специализированных вакуолей в цитоплазме эукариотических клеток [16].

Бактерии, входящие в род *Holospora* семейства Holosporaceae [17, 18] являются обитателями ядра парамеций.

Применение молекулярно-биологических методов поспособствовало описанию множества новых видов бактерий среди представителей класса Alphaproteobacteria. Открытие некоторых уникальных некультивируемых в лабораторных условиях микроорганизмов кандидатов в новые виды и установление их филогенетических позиций среди прокариот содействовало выделению трёх кандидатов в новые семейства в порядке Rickettsiales (рис. 1). Семейство *Candidatus* Pelagibacteraceae образовано группой бактерий SAR11 (Саргассово море) [19] представляющих пикопланктон, средой обитания которого является океан [20]. Среди них *Ca.* Pelagibacter ubique относится к наиболее многочисленным бактериям на планете (2×10^{28}) и является наименьшей из самореплицирующихся клеток (длина 0,37 – 0,89 мкм; диаметр 0,12 – 0,20 мкм), её геном составляет 30% от объёма клетки [21]. Предполагается, что *Ca.* Pelagibacter ubique вместе с бактериофагом HTVC010P (Podoviridae) играет важную роль в круговороте углерода на планете (CO_2-шунт). В настоящее время в отношении позиции семейства *Ca.* Pelagibacteraceae представлено два мнения: I – семейство отнесёно к порядку Rickettsiales [22], II – предлагается выделить его в отдельный порядок Pelagibacterales [23]. Отсут-

Рисунок 1.
Реконструкция таксономической схемы представителей порядка Rickettsiales, основанной на данных «Bergey's manual of systematic bacteriology, 2nd ed., 2 vol., 2005» и филогенетического древа, полученного Montagna et al. [22]



Примечание: таксоны, обрамлённые пунктирными линиями являются кандидатными и изучены преимущественно молекулярно-биологическими методами; таксоны, обрамлённые штрих-пунктирными линиями относятся к родам с неопределённым местоположением.

ствие облигатной внутриклеточной локализации у *Ca.* Pelagibacter ubique может сделать второе мнение более предпочтительным.

Другое семейство *Ca.* Midichloriaceae образовала группа бактерий MALOs (midichloria and like organisms), продемонстрировавших связь с широким кругом хозяев, от членистоногих (клещи, блохи, клопы и др.) до инфузорий, амёб, губок, рыб, различных животных и человека, вместе с филогенетически близкой *Ca.* Midichloria mitochondrii [22], экологически связанной с иксодовыми клещами *Ixodes ricinus* [24]. *Ca.* Midichloria mitochondrii уникальный представитель прокариот, обитающий внутри митохондрий [24] и единственный из порядка Rickettsiales имеющий жгутик [25]. К настоящему времени в семействе *Ca.* Midichloriaceae выделяют несколько родов *Ca.* Midichloria, *Ca.* Lariskella, *Ca.* Anadelfobacter, *Ca.* Defluviella и недавно описанный вид *Ca.* Fokinia solitaria претендующий на статус рода [26].

Совсем недавно в порядок Rickettsiales предложено включить семейство *Ca.* Paracaedibacteraceae объединяющее риккетсиальные эндосимбионты простейших [27].

Порядок Rickettsiales отличает от других таксонов прокариот, включая более высокие ранги, выраженное разнообразие представителей, обладающих широким диапазоном фенотипических и генотипических признаков, что проявляется:

- *экологической мульти-пластичностью связанной с облигатным обитанием в органеллах эукариотической клетки (цитоплазма, ядро и др.) широкого круга хозяев от простейших до высших млекопитающих, и наличием свободноживущих форм (пикопланктон);*
- *уникальностью обитания в митохондриях (Ca.* Midichloria mitochondrii*);*
- *доминированием среди прокариот (Ca.* Pelagibacter ubique*);*
- *геопланетарной экологической значимостью – круговорот CO_2 (Ca.* Pelagibacter ubique*);*
- *увеличением массовой доли генетического аппарата (Ca.* Pelagibacter ubique*) и высоким процентом некодирующей ДНК (R. prowazekii) и др.*

Семейство Rickettsiaceae [Pinkerton, 1936]

Семейство Rickettsiaceae включает представителей двух родов – *Rickettsia* [da Rocha-Lima, 1916] и *Orientia* [Tamura et al., 1995] [2, 3, 28]. Все микроорганизмы включённые в семейство Rickettsiaceae филогенетически близки. По морфологии они являются диплококками, но могут иметь форму палочек или кокков. Грамотрицательные. Облигатные внутриклеточные бактерии. Имеют тесную связь с хозяевами-членистоногими. Отсутствуют жгутики, не образуют эндоспор. Не культивируются в бесклеточных средах.

Представителей рода *Rickettsia* отличает от *Orientia* наличие в клеточной стенке липополисахарида,

пептидогликана, белков OmpB и 17 kDa, кроме того у них отсутствует белок 56 kDa. Отличаются соотношением гуанин/цитозин [3].

Применение филогенетического анализа при изучении нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК позволило выделить шесть отдельных основных кладов риккетсий [29]: первый представлен группой *Hydra*, содержащий риккетсии, экологически связанные с протистами и ряд ассоциированных с неидентифицированными хозяевами риккетсий, последовательности которых были амплифицированы из образцов окружающей среды; второй клад – *Torix*, содержащий риккетсии, выявленные у амёб, пиявок и членистоногих; третий – *Rrhizobius* и четвертый – *Melloidae* содержат риккетсии, имеющие экологическую связь с жуками; пятый – *R. bellii*, включает 11 штаммов риккетсий, связанных с членистоногими; шестой клад объединяет разнообразные виды риккетсий, выявленных у членистоногих и позвоночных. Последний клад можно дополнительно разделить на группы: *Onychiurus*, *Adalia*, *R. canadensis*, группу клещевой пятнистой лихорадки (КПЛ), сыпного тифа (СТ) и переходную группу. Результаты молекулярной филогении риккетсий, основанные на изучении конкатенации полных нуклеотидных последовательностей четырёх генов (*atpA*, *coxA, gltA* и 16S рРНК) позволили выделить тринадцать групп:

1) *Orientia*,
2) *Hydra*,
3) *Tundra*,
4) *Torix*,
5) *Rhizobius*,
6) *Meloidae*,
7) *Bellii*,
8) *Onychiurus*,
9) *Adalia*,
10) *Canadensis*,
11) клещевой пятнистой лихорадки,
12) сыпного тифа,
13) переходную [29].

Недавно в семейство Rickettsiaceae в дополнение к существующим родам, имеющим медицинское значение, предложено включить четыре новых рода имеющих статус кандидатов, экологической нишей представителей которых являются органеллы протист: *Ca*. Cryptoprodotis [30], *Ca*. Megaira polyxenophila [31], *Ca*. Gigarickettsia и *Ca*. Trichorickettsia [32] (см. рис. 1).

Штамм OS118T *Occidentia massiliensis* был выделен из аргасовых клещей *Ornithodoros sonrai*, собранных в Сенегале, изучены фенотипические характеристики этого микроорганизма и сиквенирован геном [33], что является достаточным для дальнейшего прохождения процедуры валидации нового вида микроорганизма. При построении филогенетического дерева основаного на анализе гена 16S rRNA эта бактерия образовала сестринскую ветвь с *Orientia tsutsugamushi* в семействе Rickettsiaceae, что послужило поводом для описания нового рода – *Occidentia.*

Род Rickettsia [da Rocha-Lima, 1916]

Представители рода *Rickettsia* (риккетсии) – короткие, часто располагающиеся попарно палочковидные формы – 0,3 – 0,5 x 0,8 – 2,0 мкм. Клеточная стенка имеет типичную для грамотрицательных бактерий структуру с двухслойной внутренней мембраной, слоем пептидогликана и двуслойной наружной мембраной. Клетки часто окружены белковым слоем микрокапсулы. Риккетсии окрашиваются основным фуксином по методу Gimenez (1964), Романовскому-Гимзе, Здродовскому [34]. Это облигатные внутриклеточные организмы, обитающие в цитоплазме эукариотической клетки-хозяина, где они размножаются путём бинарного деления. Риккетсии группы КПЛ могут размножаться в ядре клетки. Риккетсии тесно связаны с членистоногими (клещами, блохами, вшами и др.) [3].

Риккетсии дифференцируют от свободноживущих бактерий за счёт их облигатного внутриклеточного размножения. Представителей рода *Rickettsia* отличает от родов *Anaplasma*, *Ehrlichia* и *Coxiella* внутриклеточная локализация. Риккетсии размножаются в цитоплазме или ядре клетки, в то время как представители родов *Anaplasma*, *Ehrlichia* и *Coxiella* размножаются только в цитоплазме внутри вакуоли [3].

Для удобства классификации в таксономической структуре рода *Rickettsia* отказались от выделения подродов и ввели субтаксономическую категорию группа (биотип) [35]. Род *Rickettsia* на основании данных филогенетического анализа подразделяется на три группы: СТ (*R. prowazekii* и *R. typhi*), КПЛ (*R. rickettsii, R. conorii, R. sibirica* и др.) и «предковую» (*R. bellii* и *R. canadensis*) [3]. В соответствии со «Списком видов рода *Rickettsia*» («List of species of the genus *Rickettsia*») в род вошёл 21 вид риккетсий [3]. В номенклатуру могут быть включены только названия бактерий, утвержденные в «Approved Lists of Names» и «Validation Lists», регулярно обновляемого в «International Journal of Systematic Bacteriology» [4]. С 2006 года за счёт публикаций в International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology и в Validation list of Int. J. Syst. Evol. Microbiol род *Rickettsia* пополнился 6 валидными видами, отнесёнными к группе КПЛ: *R. asiatica* [36], *R. heilongjiangensis* [37], *R. hoogstraalii* [38], *R. raoultii* [39], *R. tamurae* [40], *R. buchneri* [41], может включать 27 видов, состоящих в «List of species of the genus Rickettsia». Для того чтобы быть включённым в этот список виды с неопределённым местоположением [3] такие как *R. monacensis* [42] должны пройти процедуру валидации своего названия в Validation list of Int. J. Syst. Evol. Microbiol [4].

Группа КПЛ имеет более сложную таксономическую структуру. Внутри группы на основании результатов сравнения последовательностей гена 16S рРНК (*rrs*) и четырёх белок-кодирующих генов

(*glt*A, *omp*A, *omp*B и Gene D) риккетсий было предложено выделить четыре подгруппы: *R. rickettsii*, *R. massiliae*, *R. helvetica* и *R. akari* [43, 44]. У двух видов риккетсий подгруппы *R. rickettsii* имеется ранг подвид. Внутри вида *R. conorii* выделяют подвиды *R. conorii* subsp. *conorii* (type strain = Malish, ATCC VR-613), *R. conorii* subsp. *indica* (type strain = ATCC VR-597), *R. conorii* subsp. *caspia* (type strain = A-167) и *R. conorii* subsp. *israelensis* (type strain = ISTT CDC1) [45], внутри вида *R. sibirica* дифференцируют *R. sibirica* subsp. *sibirica* (type strain = 2-4-6, ATCC VR-541(T)) и *R. sibirica* subsp. *mongolitimonae* (type strain = HA-91, ATCC VR-1526(T)) [46].

Представление о таксономии риккетсий меняется по мере совершенствования арсенала применяемых подходов и методов их исследования. Традиционно изучение связано с определением фенотипических характеристик, включающих морфологические и тинкториальные свойства, внутриклеточную локализацию, температурный оптимум культивирования, восприимчивость экспериментальных животных, антигенные характеристики, специфические связи с переносчиками-членистоногими и географическое распространение.

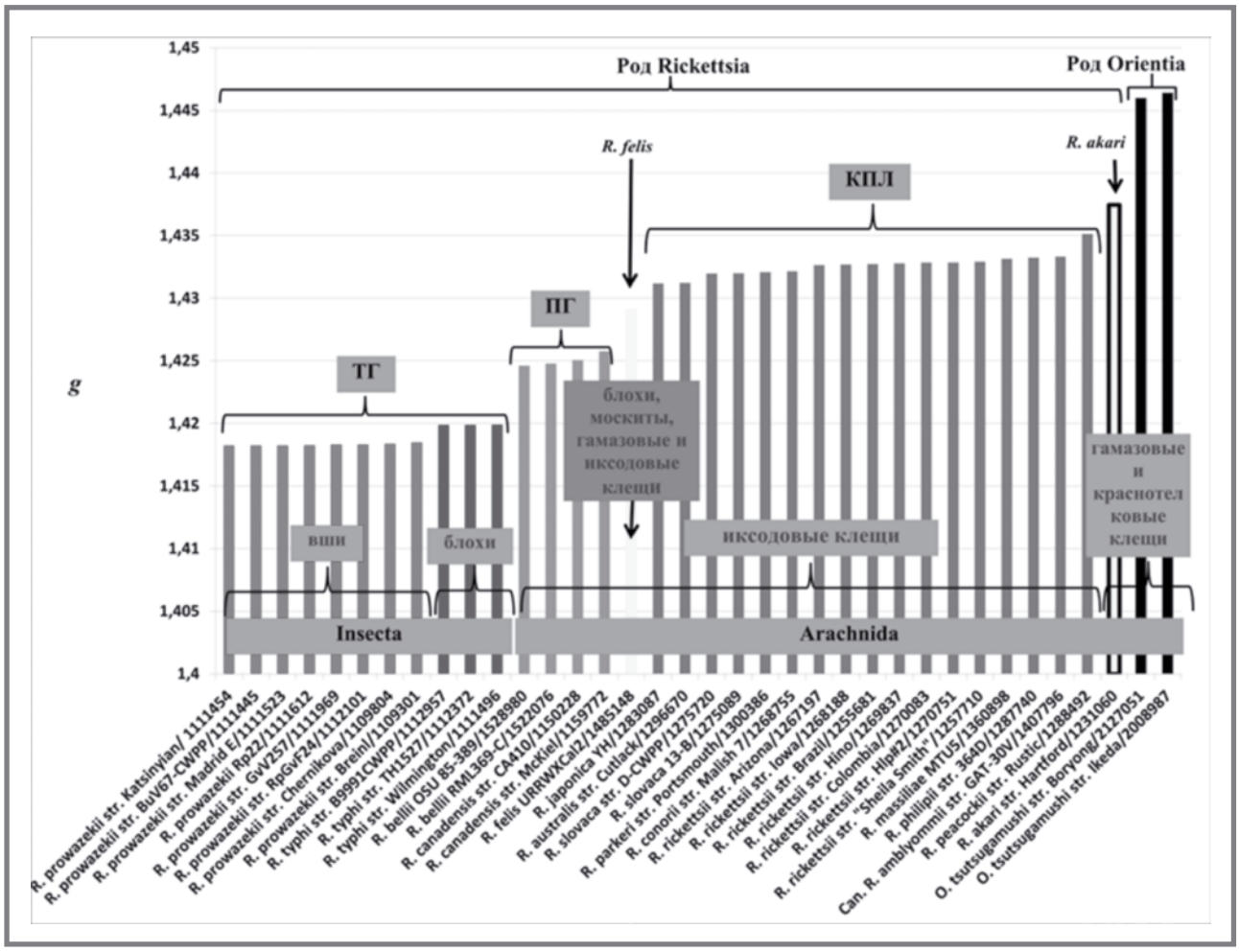
Молекулярно-биологические и филогенетические методы играют важную роль, так как у облигатных внутриклеточных бактерий систематика базируется на изучении ограниченного количества фенотипических характеристик. Рекомендованы руководящие принципы для классификации риккетсиальных изолятов на таксономических уровнях род, группа и вид, основанные на различие последовательностей гена 16S рРНК и четырёх белок-кодирующих генов риккетсий [43]. Любой изолят может быть классифицирован как член рода *Rickettsia*, если он имеет степень гомологии по генам 16S рРНК и *glt*A с любым из 20 изученных видов риккетсий ≥ 98,1 и ≥ 86,5% соответственно. Члену группы СТ должны соответствовать по крайней мере два из четырёх критериев: 16S рРНК *glt*A, *omp*B и Gene D, гомология по которым с любым членом этой группы должна быть > 98,8, > 92,7, > 85,8 и > 82,2% соответственно. Существование «предковой» группы остаётся под вопросом. Чтобы быть классифицированным как новый, изолят не должен иметь более чем одно соответствие с большинством валидных видов: > 99,8 и > 99,9% 16S рРНК и *glt*A соответственно, и > 98,8, > 99,2, > 99,3% при амплификации генов *omp*A, *omp*B и Gene D соответственно. Эти критерии также рекомендованы при валидации нового вида риккетсий с условием обязательного наличия изученных изолятов и соблюдением процедуры описания [47]. В соответствии с рекомендациями International Committee of Systematic Bacteriology допускается, что некультивируемые в лабораторных условиях виды прокариот (риккетсий) могут быть классифицированы как *Candidatus* Rickettsia sp. [48].

На основании фенотипических характеристик в роде *Rickettsia* было выделено три группы: СТ, КПЛ и группа кустарникового тифа (КТ) [49]. Проведённый анализ гена 16S рРНК риккетсий подтвердил наличие групп СТ, КПЛ и установил существование «предковой» группы, образовавшейся до дивергенции этих групп в роде *Rickettsia* [50]. При изучении этого гена единственный представитель группы КТ – *R. tsutsugamushi* была помещена в новый род *Orientia* как *O. tsutsugamushi* [28]. Предложение о создании «переходной» группы в составе *R. felis* и *R. akari*, сделанное на основании изучения геномов риккетсий и плазмиды *R. felis* (pRF) [51], не получило широкой поддержки [52].

Несмотря на создание «предковой» группы [50] таксономическое положение *R. canadensis* и *R. bellii остаётся дискуссионным* [53]. Филогенетические исследования подтвердили существование внутри рода *Rickettsia* групп СТ и КПЛ, и показали обособленное положение видов *R. bellii* и *R. canadensis* (*группа R. bellii* и группа *R. canadensis*), при этом *R. canadensis* представляет сестринский таксон по отношению к риккетсиям всех групп кроме *R. bellii*, которая является сестринским таксоном для всех риккетсий, связанных с членистоногими [52, 54]. *R. canadensis* сформировала группу вместе с другими недавно описанными в иксодовых клещах из Нового Света риккетсиями *Ca.* Rickettsia monteiroi, *Ca.* Rickettsia kingi и *Ca.* Rickettsia angustus, образовавшими сестринскую группу по отношению к представителю из Старого Света *Ca.* Rickettsia tarasevichiae [55]. С описания в 2003 году *Ca.* Rickettsia tarasevichiae [56] до описания *Ca.* Rickettsia mendelii (Старый Свет) [57] в апреле 2016 пополнилось число видов риккетсий филогенетически близких *R. canadensis*, что позволяет выделить их в отдельную подгруппу *Ca.* Rickettsia tarasevichiae (Старый Свет) – *R. canadensis* (Новый Свет) в пределах «предковой» группы.

Применение метода математического анализа – формального анализа строя [58], непосредственно учитывающего расположение нуклеотидов в полноразмерном геноме с помощью показателя средней удалённости нуклеотидов (*g*), позволило по-новому представить систематику представителей семейства Rickettsiaceae [59]. С помощью анализа тридцати шести полноразмерных геномов представителей родов *Rickettsia* (34) и *Orientia* (2), загруженных из NCBI GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genome), было верифицировало существование трёх групп в роде *Rickettsia*: СТ, «предковой» и КПЛ (рис. 2). Оба штамма *O. tsutsugamushi* Ikeda и Boryong были помещены за пределы рода *Rickettsia*, что поддерживает создание отдельного рода *Orientia* внутри семейства Rickettsiaceae [28]. Группа СТ включает изоляты *R. prowazekii* (8) и *R. typhi* (3), «предковая» группа содержит *R. bellii* (2) и *R. canadensis* (2), и группа КПЛ включает все изоляты (16), связанные с иксодовыми клещами в том числе *R. peacockii* штамм Rustic (1), которая *расположилась на расстоянии от ядра «классической» группы КПЛ рядом*

Рисунок 2.
Результаты применения формального анализа строя для изучения классификации и таксономии представителей семейства Rickettsiaceae



Примечание: ТГ – группа сыпного тифа, ПГ – «предковая» группа КПЛ – группа клещевой пятнистой лихорадки. По оси «Y» - величина показателя средней удалённости – g, по оси «X» – названия риккетсий и ориентий/размер генома.

с *R. akari* (1) *граничащей с родом Orientia*. Позицию *R. peacockii* можно *объяснить отсутствием синтении с геномом близкородственного патогенного вида R. rickettsii*, вследствие больших геномных реорганизаций, связанных с наличием 42 копий транспозонов ISRpe1 и делеций, в результате приведших к потере вирулентности [60, 61].

Результаты исследований, выполненных с применением формального анализа строя не поддержали предложение о выделении *R. felis* и *R. akari* в «переходную» группу [51]. Так как *R. felis* штамм URRWXCal2 (1) заняла обособленную позицию между «предковой» группой и группой КПЛ, на значительном удалении от *R. akari*, которая разместилась между группой КПЛ и родом *Orientia* (см. рис. 2).

R. felis выделяет из всех видов риккетсий космополитизм (распространенность на всех континентах) [6] и выраженная экологическая пластичность, обусловленная связями с широким кругом хозяев-членистоногих: блохами, москитами, аргасовыми и иксодовыми клещами [62]. Конъюгативная плазмида *R. felis* имеет тесное филогенетическое родство с хромосомными генами риккетсий «предковой» группы (*R. bellii*) [63]. Анализ показателя средней удалённости полноразмерных геномов риккетсий показал, что *R. felis* имеет значение близкое с риккетсиями *R. bellii* и *R. canadensis* и располагается рядом с «предковой» группой (см. рис. 2) [59]. Считается, что вид *R. felis* обосновался ранее, чем произошла дивергенция групп СТ (*R. typhi*, *R. prowazekii*) и КПЛ (*R. conorii*), и потому не должен включаться в состав последней группы [64]. Всё это подтверждает близость *R. felis* с «предковой» группой и её происхождение до дивергенции групп СТ и КПЛ. Предложено выделить внутри рода *Rickettsia* группу *R. felis* вместе с филогенетически близкими *Ca.* Rickettsia senegalensis и *Ca.* R. asemboensis, также экологически связанными с кошачьей блохой – *Ctenocephalides felis* [59].

Достоверность полученной классификации представителей семейства *Rickettsiaceae* верифицирована с учётом таксономии их хозяев-членистоногих (*Arthropoda*). Членистоногие класса насекомых (*Insecta*) вши и блохи являются хозяевами видов риккетсий группы СТ, а класса паукообразных (*Arachnida*) хозяевами видов риккетсий «пред-

ковой» группы (иксодовые клещи), группы КПЛ (иксодовые клещи), *R. akari* (гамазовые клещи) и *O. tsutsugamushi* (краснотелковые клещи). Данные полученные при изучении характеристики *g* (показатель средней удалённости) ранжируют виды риккетсий группы СТ (*g* 1,418232 – 1,419908) (см. рис. 2), экологически связанные с насекомыми (вши, блохи), отдельно от видов риккетсий «предковой» группы (*g* 1,424610 – 1,425761) и группы КПЛ (*g* 1,431179 – 1,433345), связанных с иксодовыми клещами, включая *R. peacockii* str. Rustic (1,435146) [59]. Полученная классификационная схема не конфликтует с дендрограммой семейства Rickettsiaceae, построенной при изучении гена 16S рРНК [43], за исключением позиции *R. akari* (*g* 1,437473), экологически связанной с гамазовыми клещами и расположившейся между группой КПЛ и *O. tsutsugamushi* (*g* 1,445994 – 1,446423), экологически связанной с филогенетически близкими краснотелковыми клещами. Учитывая это можно рекомендовать выделить *R. akari* в отдельную группу внутри рода *Rickettsia* на основании значения показателя средней удалённости и таксономического положения хозяев – краснотелковых клещей.

Результаты анализа генома *R. felis* заставляют представить более разнообразные сценарии формирования представителей рода *Rickettsia*, чем ранее. В геноме *R. felis* было идентифицировано 165 генов, которые могли быть приобретены от *R. bellii, R. typhi* и других бактерий, включая *Legionella* sp. и *Francisella* sp. и даже эукариот [65]. Некоторые гены были перенесены блоками. Также были идентифицированы 13 химерных генов у *R. felis*, которые явились результатом рекомбинации с генами *R. typhi*, что демонстрирует более разнообразную генетическую картину риккетсий.

Полученные данные подтверждают существование в роде *Rickettsia* групп: СТ, «предковой» и КПЛ.

На основании анализа показателя средней удалённости нуклеотидов в полноразмерных геномах и экологических связей риккетсий с членистоногими можно выделить группу *R. felis,* которая вместе *Ca.* Rickettsia senegalensis и *Ca.* Rickettsia asemboensis, располагающуюся между «предковой» группой и группой КПЛ, и обособленную позицию *R. akari* на границе между группой КПЛ и родом *Orientia*.

Эволюция представителей порядка *Rickettsiales*

К настоящему времени существует несколько гипотез о происхождении, эволюции и формировании таксонов представителей порядка *Rickettsiales* [22, 29, 50 – 52, 64, 66, 67].

Бесспорный вклад в развитие представления о происхождении риккетсий и связанного с ним эукариогенеза сыграли труды научной школы профессора Дидье Рауля (Марсель, Франция).

Предполагается, что общий предок представителей типа Proteobacteria появился 4 млрд лет назад, спустя 2 млрд лет после этого произошёл общий предок представителей класса Alphaproteobacteria [66]. Дивергенция предков представителей порядков Rickettsiales и Rhizobiales датируется 1,5 млрд лет назад, позже 1,0 млрд лет назад их представители приняли участие в процессе эукариогенеза, когда в результате их слияния появилась первая митохондрия, с этой же эпохой связывают происхождение единственного свободноживущего представителя порядка Rickettsiales – *Ca.* Pelagibacter ubique. Считается, что в результате описанных выше событий 500 – 600 млн лет назад уже существовали прото-Rickettsiae, прото-Ehrlichia, прото-Wolbachia, прото-Rhodobiaceae и прото-Bradyrhizobiaceae. Дивергенция на рода *Orientia*, *Rickettsia*, *Ehrlichia*, *Wolbachia* и *Anaplasma* произошла 500 млн лет назад. Виды, представляющие современный порядок Rickettsiales: *O. tsutsugamushi*, *Ehrlichia ruminantum*, *E. canis* и *Anaplasma* spp. появились 50 млн лет назад. Несколько позже этих событий датируется появление первых видов риккетсий *R. felis*, *R. prowazekii* и *R. bellii*.

Эволюция представителей порядка *Rickettsiales* сопутствовала эукариогенезу. Филогенетические исследования показали, что митохондрия простейшего *Reclinomonas americana* является сестринским таксоном по отношению к *Ca*. Pelagibacter ubique с которой они сформировали клад имеющий глубокие корни в порядке Rickettsiales.

Таким образом, 1,0 млрд лет назад предки представителей порядка Rickettsiales сформировали три ветви (эволюционные линии), представители двух из которых являются облигатными внутриклеточными обитателями (бактерии и митохондрии) и третья, представлена свободноживущим видом – пикопланктоном *Ca*. Pelagibacter ubique [67].

Симбиотические взаимоотношения с беспозвоночными и членистоногими появились ранее у таких членов порядка Rickettsiales как *Anaplasma, Ehrlichia, Wolbachia, Neorickettsia* и *Orientia*. *Rickettsia* spp., по-видимому, впервые появились в качестве симбионтов одноклеточных – протист [52]. Предполагается, что риккетсии, вошедшие в симбиотические отношения с видами водных беспозвоночных (*Hydra*), появились ранее, чем *R. bellii*. Амёбаподобные простейшие стали первыми хозяевами предка риккетсий, который позже создал механизм для проникновения в клетку высших эукариот (*Torix*-группа). Переход к облигатному внутриклеточному стилю жизни среди различного круга хозяев был связан с потерей, дупликацией генов и функциональной перестройкой. Конъюгативная плазмида могла присутствовать у риккетсиального предка и впоследствии быть утрачена некоторыми линиями [52].

В соответствие с другой гипотезой происхождение представителей рода *Rickettsia* датируется около 150 млн лет назад [29], когда общий предок риккетсий инфицировал членистоногих, и в последующем микроорганизмы из групп *Hydra* и *Torix* заражали другие эукариоты, такие как протисты, пиявки и многочисленных неизвестных хозяев.

При этом наличие в последовательности генома *R. bellii* множества генов в значительно большей степени связанных с симбионтами амёб, чем с другими риккетсиями позволило предположить, что предок *R. bellii* инфицировал амёб и в дальнейшем продолжил обмен генами с другими симбионтами амёб.

Более обоснованным является предположение, что риккетсии, вошедшие в симбиотические отношения с видами водных беспозвоночных (*Hydra*), появились ранее, чем *R. bellii,* экология, которой связана с иксодовыми клещами.

Изучение представленной схемы (см. рис. 1) позволяет выдвинуть гипотезу, о том, что 1,5 млрд лет назад от общего предка представителей порядка Rickettsiales началась дивергенция по нескольким линиям, связанная с эволюцией специализации бактерий к экологическим нишам по мере их появления. Наиболее ранней ветвью явились представители предка пикопланктона из семейства *Ca.* Pelagibacteraceae», (среда обитания до сих пор мировой океан), с доминирующим в нём видом прокариот *Ca*. Pelagibacter ubique – единственным свободноживущим представителем порядка Rickettsiales. В дальнейшем в результате развития в реликтовых водных экосистемах простейших эта экологическая ниша была оккупирована представителями семейства Holosporaceae, которые стали облигатными обитателями ядра предков парамеций.

Ключевым звеном в эволюции представителей порядка Rickettsiales явилось появление семейства Rickettsiaceae, когда от общего предка в процессе формирования этого семейства произошло разделение *Rickettsia* spp. на симбионты одноклеточных – протист и произошедшие от них патогенные риккетсии. Представители части родов семейства Rickettsiaceae *Ca*. Cryptoprodotis, *Ca*. Megaira polyxenophila, *Ca.* Gigarickettsia и *Ca.* Trichorickettsia сохранили за собой в качестве экологической ниши органеллы протист. Другая группа, представленная родами *Rickettsia* и *Orientia*, освоила в качестве экологической ниши наземных членистоногих (*Arachnida* и *Insecta*), имеющих тесные филогенетические связи с древней формой жизни из подтипа ракообразных (*Crustacea*) типа членистоногих, в которых также были генотипированы различные риккетсиоподобные бактерии из порядка Rickettsiales [68, 69]. Дальнейшая эволюция представителей порядка Rickettsiales могла быть связана с бактериями из семейств Anaplasmataceae и Midichloriaceae, которые вступили во взаимодействие с митохондриями эукариот, и имеющими с ними общее происхождение. Характер их взаимоотношений может быть представлен от блокировки митохондрий *E. chaffeensis* [70] до колонизации этих органелл *Ca*. Midichloria mitochondrii и другими представителями MALOs [22] от реликтовых форм жизни – простейших, членистоногих и рыб до более современных – млекопитающих. С позиции биологической науки важно объяснить эволюцию внутри митохондриальной ассоциации представителей MALO на основании изучения и сравнения их генетических и фенотипических характеристик. Эволюционный сценарий дивергенции микроорганизмов этой группы связан с высокой степенью дивергенции их эукариотических хозяев. Учитывая, что предшественники риккетсий приняли участие в эволюции эукариотической клетки, вызвав формирование митохондрий [71], нельзя не предположить, что предшественники MALO могли принять участие в дивергенции своих эукариотических хозяев. С позиции медицинской науки эти бактерии могут представлять новую группу трансмиссивных агентов, с потенциалом заражения хозяев - млекопитающих, в том числе человека.

Полученные в последние годы данные расширили наше представление об экологии и эволюции прокариот на примере представителей порядка Rickettsiales. С одной стороны, в древности, предшественники риккетсий приняли участие в эукариогенезе, вызвав формирование митохондрий [71], с другой стороны, «новый» представитель порядка Rickettsiales – *Ca*. Midichloria mitochondrii их колонизировал. Это демонстрирует экологическую пластичность и эволюционную значимость представителей порядка Rickettsiales, диапазон взаимодействия которых в системе «прокариотическая клетка – эукариотическая клетка» проявляется на клеточном и субклеточных уровнях. Необходимо дать объективную оценку представителям порядка Rickettsiales в отношении их роли в эволюции (ко-эволюции) паразитарных систем на клеточном уровне.

К настоящему времени среди представителей порядка Rickettsiales наиболее полно изучены фенотипические и генотипические характеристики патогенных представителей рода *Rickettsia*, которые можно выделить и культивировать на традиционных биологических моделях, применяемых в риккетсиологии: морские свинки-самцы, развивающиеся куриные эмбрионы и культура клеток. Для изучения некоторых биологических характеристик трудно культивируемых видов риккетсий, которые были генотипированы в иксодовых клещах, оказалось оправданно применение нового метода «клещевой экспериментальной модели» (КЭМ) [72, 73]. В лабораторных условиях был воспроизведён естественный цикл метаморфоза иксодовых клещей, с помощью КЭМ и молекулярно-биологических методов были изучены новые виды риккетсий *R. raoultii* (генотипы RpA4, DnS14, DnS28) и *Ca*. Rickettsia tarasevichae [39, 56, 72, 73]. Продемонстрирована их высокая адаптация к иксодовым клещам, близкая к 100% трансовариальная передача, некультивируемость на традиционных риккетсиологических моделях, отличия морфологических и антигенных свойств, слабая иммуногенность [74].

Для более полного и комплексного изучения характеристик представителей порядка Rickettsiales имеющих статус кандидатов необходимо расширить арсенал методов применяемых для их культивирования и позволяющих получить наибольшее

количество информации для их систематики.

Новые подходы в систематике риккетсий (прокариот)

Можно выделить несколько этапов в формировании и развитии систематики и классификации прокариот, базирующихся на изучении фенотипических и генотипических характеристик.

С самого начала развития микробиологии как науки изучение фенотипических признаков микроорганизмов применялось для идентификации, систематики и классификации, как в прикладном, так и фундаментальном аспектах.

Первая попытка построения классификации бактерий, основанной на фенотипических характеристиках, главным образом на морфологии бактериальной клетки, была предпринята в конце 19 века Фердинандом Коном [75, 76]. В 1947 году на 4-м Международном конгрессе по микробиологии был утверждён «Code of Bacteriological Nomenclature» [77]. В настоящее время задача быстрой идентификации прокариот на базе изучения фенотипических характеристик решается с помощью «Bergey's Manual of Determinative Bacteriology». Вопросы систематики наиболее полно отражены в «Bergey's Manual of Systematic Bacteriology».

Со второй половины XX века после открытия ДНК Дж. Уотсоном и Ф. Криком (1953) и полимеразной цепной реакции К. Муллисом (1983) в микробиологии наступила эра молекулярно-биологических исследований. Изучение структуры генов 16S и 18S рРНК позволило К. Вёзе провести разделение клеточных форм жизни на три царства – *Archaea*, *Eukaria* и *Bacteria* [78]. С 2002 года применение комплекса молекулярно-биологических и филогенетических методов было рекомендовано в качестве руководящего подхода в классификации и таксономии прокариот [79, 80].

С этого года и по настоящее время систематика бактерий базируется на полифазном подходе, основанном на комплексе фенотипических и генотипических характеристик.

Для описания некультивируемых в лабораторных условиях видов бактерий рекомендован полифазный подход, опирающийся на расширенную стратегию культивирования («culturomics»), позволяющий изолировать новые виды бактерий и изучить их фенотипические характеристики [81]. Выделенные изоляты анализируют методом матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации (MALDI-TOF – Matrix Assisted Laser Desorbtion/Ionization) масс-спектрометрии [82]. Идентифицируют, сравнивая с депонированными в GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/) последовательностями гена 16S рРНК валидных видов и/или родов из «List of Prokaryotic Names» размещённых в Номенклатуре на вебсайте (http://www.bacterio.net/index.html), имеющих с ними ближайшую филогенетическую позицию.

Однако применяемые генотипические характеристики, базирующиеся на методе ДНК-ДНК гибридизации, соотношении G + C и филогении, основанной на изучении гомологии нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК, имеют существенные ограничения. При этом нуклеотидные последовательности геномов, содержащие полную генетическую информацию о штаммах бактерий, до недавнего времени не использовались для целей таксономии, несмотря на доступность сиквенирования [83], и суммарное количество депонированных геномов бактерий, достигшее 50 тыс. на 1 октября 2015 года [84]. Для оптимизации применения полифазного подхода в классификации и таксономии бактерий была предложена стратегия таксоно-геномики (taxono-genomics), опирающаяся на изучение геномных критериев (характеристики генома, сходство последовательностей геномов) [33, 83, 84].

В соответствии с этим рекомендовано проводить полногеномное сиквенирование изолятов бактерий, имеющих оригинальные характеристиками с установлением их филогенетической позиции по отношению к ближайшим соседям. При изучении генотипических характеристик сравнивают размеры генома, соотношение G+C, процент кодирующих последовательностей, общее количество генов, распределение генов в COGs (Clusters of Orthologous Groups of proteins – кластеры ортологичных групп белков) [85], наличие мобильных генетических элементов, количество генов РНК и другие. Для генома изучаемого штамма определяются показатели AGIOS (Average of Genomic Identity of Orthologous Gene Sequences – средняя величина геномной идентичности последовательностей ортологичных генов) и ANI (Average Nucleotide Identity – средняя величина нуклеотидной идентичности), которые сравниваются с показателями его ближайших филогенетических соседей и членами интересующего рода [83].

Однако используемые в настоящее время биоинформационные программы семейств BLAST [86], MEGA [87] и другие основаны на применении математических и статистических методов для сравнения только гомологичных фрагментов последовательностей геномов или их конкатенаций. Указанные программы не позволяют учитывать оригинальное расположение нуклеотидов в каждом геноме. Таким образом, эти методы недостаточны для анализа и сравнения полных данных, присутствующих в последовательностях полноразмерных геномов [59].

Как было показано выше, применение метода формального анализа строя непосредственно учитывающего расположение всех нуклеотидов в полноразмерном геноме позволило по-новому представить систематику представителей семейства Rickettsiaceae [59]. Таким образом, этот метод может быть рекомендован для применения на финальном этапе стратегии таксоно-геномики для систематики микроорганизмов.

Всего этого недостаточно для представителей

порядка Rickettsiales, часть из которых не культивируется в лабораторных условиях и поэтому в соответствии с рекомендациями ICSB (International Committee of Systematic Bacteriology) были классифицированы как *Candidatus* sp. [48].

Имеется прецедент, когда полноразмерный геном некультивируемой бактерии *Candidatus* Midichloria mitochondrii IricVA (GenBank: RefSeq NC_015722.1) был сиквенирован из тканей яичника самки иксодового клеща *Ixodes ricinus*, собранной в природе (Варез, Италия) [88]. Применение биоинформационного анализа при изучении полноразмерного генома *Ca*. Midichloria mitochondrii позволило моделировать фенотипические характеристики (биохимические, антигенные и другие свойства) этого некультивируемого вида прокариот, обитающего внутри митохондрий животных. Таким образом, были изучены фенотипические и генотипические характеристики этого некультивируемого микроорганизма. При этом на ресурсах NCBI (National Center for Biotechnology Information) (GenBank: RefSeq NC_015722.1) и PATRIC (Pathosystems Resource Integration Center) (Genome ID 696127.4) был депонирован как сам аннотированный геном *Ca*. Midichloria mitochondrii, содержащий характеристики кодирующих и некодирующих последовательностей, так и размещена информация о кодируемых его генами белках, их структуре и предполагаемых функциях, которые можно изучать и сравнить с аналогичными депонированными структурами хорошо изученных на различных биологических моделях видах бактерий.

Мобилизация традиционных методов изучения риккетсий и эффективное внедрение новых подходов, базирующихся на использовании информации, которая содержится в доступных международных базах данных, могут позволить наметить пути решения проблем накопившихся в систематике бактерий в последние десятилетия.

Заключение

Новые данные, полученные в результате применения молекулярно-биологических и филогенетических подходов и методов, при отсутствии естественных моделей для культивирования некоторых групп облигатных внутриклеточных бактерий требуют продолжения дальнейшего изучения с перспективой создания новых инструментов для подтверждения их таксономической принадлежности. В ближайшее время важнейшей проблемой систематики прокариот будет являться валидация описанных видов, родов и семейств, имеющих статус кандидатов. Отсутствие решения этой проблемы в дальнейшем может вызвать прецедент появления таксономических рангов – порядок, класс, тип и домен, имеющих статус кандидатов.

Для возможного решения проблемы у некоторых представителей порядка Rickettsiales предлагается сиквенировать полноразмерный геном некультивируемого в лабораторных условиях микроорганизма из органов или тканей особи (самки) иксодового клеща «инфицированного» естественным путём в природе или полученного с помощью применения клещевой экспериментальной модели. С последующим аннотированием, изучением генотипических и моделирования фенотипических характеристик с помощью биоинформационного анализа. Для определения места в классификации бактерий на уровне высоких таксонов можно использовать методы таксоно-геномики, основанные на анализе 16S рРНК и характеристиках полноразмерного генома. При этом для определения более точной позиции на таксономических уровнях семейство, род и вид в систематике близкородственных бактерий можно рекомендовать применение метода формального анализа строя, позволяющего учитывать расположение нуклеотидов в анализируемом геноме. Применение этого подхода может послужить основанием для International Committee of Systematic Bacteriology для осуществления процедуры признания статуса нового вида для некультивируемых в лабораторных условиях бактерий.

Автор выражает искреннюю благодарность академику РАН, профессору, д.б.н., главному научному сотруднику ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» МЗ РФ Ирине Владимировне Тарасевич за оказанную в процессе написания статьи поддержку.

Литература

1. Ricketts H.A. microorganism which apparently has a specific relationship to Rocky Mountain spotted fever. A preliminary report. JAMA, 1909; 52: 379.
2. La Rocha-Lima H. Zur Antiologie des Fleckfebers. Berlin. Klin. Wsch., 1916; 53: 567.
3. Yu X.J., Walker D.H. Family I. rickettsiaceae pinkerton 1936, 186AL in Bergey's manual of systematic bacteriology, third edition. Springer. New York, 2005: 96 – 116.
4. Truper H. G. Etymology in Nomenclature of Procaryotes. In: Bergey's Manual of Sytematic Bacteriology, second edition. Vol. 2 (The Proteobacteria), part A (Introductory Essays), Springer. New York; 2005: 89 – 99.
5. Raoult D., Berbis .P, Roux V., Xu W., Maurin M. A new tick-transmitted disease due to *Rickettsia slovaca*. Lancet. 1997; 350 (9071): 112 – 113.
6. Parola P., Paddock C.D., Socolovschi C., Labruna M.B., Mediannikov O., Kernif T. et al. Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. Clin. Microbiol. Rev. 2013; 26 (4): 657 – 702.
7. Тарасевич И.В. О систематике и номенклатуре риккетсий. ЖМЭИ. 1979; 1: 39 – 42.
8. Garrity G.M., Bell J.A., Lilburn T. The Revised Road Map to the Manual. In: Bergey's Manual of Sytematic Bacteriology, second edition. Vol. 2 (The Proteobacteria), part A (Introductory Essays), Springer. New York; 2005: 159 – 187.
9. Garrity G.M., Bell J.A., Lilburn G.V. Class I. *Alphaproteobacteria* class. nov. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd edn, vol. 2 (The Proteobacteria), part C (The Alpha-, Beta-, Delta-, and Epsilonproteobacteria), Springer. New York. 2005; 1 – 574.

10. Dumler S., Walker D.H. Class I. Order II. *Rickettsiales gieszczykiewicz* 1939, 25AL. In: Bergey's Manual of Sytematic Bacteriology, second edition. Vol. 2 (The Proteobacteria), part C (The Alpha-, Beta-, Delta-, and Epsilonproteobacteria), Springer. New York. 2005; 96 – 160.
11. Weisburg W.G., Dobson M.E., Samuel J.E., et al. Phylogenetic diversity of rickettsiae. J. Bacteriol. 1989; 171: 4202 – 4206.
12. Roux V., Bergoin M., Lamaze N., Raoult D. Reassessment of the taxonomic position of *Rickettsiella grylli*. Int. J. Syst. Bacteriol. 1997; 47 (4): 1255 – 1257.
13. Tan C.K., Owens L. Infectivity, transmission and 16S rRNA sequencing of a rickettsia, *Coxiella cheraxi* sp. nov., from the freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus*. Dis. Aquat. Organ. 2000; 41 (2): 115 – 122.
14. Brenner D.J., Connor S.P., Winkler H.H., Steigerwalt A.G. Proposals to unify the genera Bartonella and Rochalimaea, with descriptions of *Bartonella Quintana* comb. nov., *Bartonella henselae* comb. nov., *Bartonella elizabethae* comb; nov., and to remove family Bartonellaceae from the order Rickettsiales. Int J. Syst. Bacteriol. 1993; 43: 777 – 786.
15. Birtles R.J., Harrison T.G., Saunders N.A., Molyneux D.H. Proposals to unify the genera Grahamella and Bartonella, with descriptions of *Bartonella talpae* comb. nov., *Bartonella peromissci* comb. nov., and three new species, *Bartonella grahamii* sp. nov., *Bartonella taylorii* sp. nov., and *Bartonella doshiae* sp. Nov. Int J. Syst. Bacteriol. 1995; 45: 1 – 8.
16. Rikihisa Y., The tribe *Ehrlichieae* and ehrlichial diseases. Clin. Microbiol. Rev. 1991; 4: 286 – 308.
17. Gromov B.V., Ossipov D.V. Holospora (ex Hafkine 1890) nom. rev., a genus of bacteria inhabiting the nuclei of paramecia. Int. J. Syst. Bacteriol. 1981; 31: 348 – 352.
18. Gortz H.D., Schmidt H.J.. Family III. Holosporaceae fam. nov. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd edn, vol. 2 (The Proteobacteria), part C (The Alpha-, Beta-, Delta-, and Epsilonproteobacteria). Springer. New York. 2005: 146 – 149.
19. Thrash J.C., Boyd A., Huggett M.J., Grote J., Carini P., Yoder R.J. et al. Phylogenomic evidence for a common ancestor of mitochondria and the SAR11 clade. Sci Rep. 2011; 1: 13. doi: 10.1038/srep00013.
20. Morris R.M., Rapp M.S., Connon S.A., Vergin K.L., Siebold W.A., Carlson C.A., Giovannoni S.J. SAR11 clade dominates ocean surface bacterioplankton communities. Nature. 2002; 420 (6917): 806 – 810.
21. Giovannoni S.J., Tripp H.J., Givan S., Podar M., Vergin K.L., Baptista D. et al. Genome streamlining in a cosmopolitan oceanic bacterium. Science. 2005; 309 (5738): 1242 – 1245.
22. Montagna M., Sassera D., Epis S., Bazzocchi C., Vannini C., Lo N. et al. *Candidatus Midichloriaceae* fam. nov. (*Rickettsiales*), an ecologically widespread clade of intracellular *Alphaproteobacteria*. Appl. Environ. Microbiol. 2013; 79: 3241 – 3248.
23. Zhao X., Wan X., He R.L., Yau S.S. A new method for studying the evolutionary origin of the SAR11 clade marine bacteria. Mol. Phylogenet. Evol. 2016; 98: 271 – 279. doi: 10.1016/j.ympev.2016.02.015.
24. Sassera D., Beninati T., Bandi C., Bouman E.A., Sacchi L., Fabbi M., Lo N. *Candidatus Midichloria mitochondrii*, an endosymbiont of the tick *Ixodes ricinus* with a unique intramitochondrial lifestyle. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2006; 56: 2535 – 2540.
25. Mariconti M., Epis S., Sacchi L., Biggiogera M., Sassera D., Genchi M. et al. A study on the presence of flagella in the order Rickettsiales: the case of *Candidatus* Midichloria mitochondrii. Microbiology. 2012; 158: 1677 – 1683.
26. Szokoli F., Sabaneyeva E., Castelli M., Krenek S., Schrallhammer M., Soares C.A. et al. Candidatus Fokinia solitaria', a novel 'stand-alone' symbiotic lineage of Midichloriaceae (Rickettsiales). PLoS ONE. 2016; 11: e0145743.
27. Hess S., Suthaus A., Melkonian M. Candidatus Finniella (Rickettsiales, *Alphaproteobacteria*), Novel Endosymbionts of Viridiraptorid Amoeboflagellates (Cercozoa, Rhizaria). Appl. Environ. Microbiol. 2015; 82 (2): 659 – 670. doi: 10.1128/AEM.02680-15.
28. Tamura A., Ohashi N., Urakami H., Miyamura S. Classification of *Rickettsia tsutsugamushi* in a new genus, *Orientia* gen. nov., as *Orientia tsutsugamushi* comb. nov. Int. J. Syst. Bacteriol. 1995; 45: 589 – 591.
29. Weinert L.A., Werren J.H., Aebi A., Stone G.N., Jiggins F.M. Evolution and diversity of *Rickettsia bacteria*. BMC Biol. 2009; 7: 6. doi: 10.1186/1741-7007-7-6.
30. Ferrantini F., Fokin S.I., Modeo L., Andreoli I., Dini F., G rtz H.D., Verni F., Petroni G. *Candidatus* Cryptoprodotis polytropus, a novel Rickettsia-like organism in the ciliated protist *Pseudomicrothorax dubius* (*Ciliophora*, *Nassophorea*). Eukaryot Microbiol. 2009; 56 (2): 119 – 129.
31. Schrallhammer M., Ferrantini F., Vannini C., Galati S., Schweikert M., G rtz H.D. et al. *Candidatus Megaira polyxenophila'* gen. nov., sp. nov.: considerations on evolutionary history, host range and shift of early divergent rickettsiae. PLoS One. 2013; 8 (8): e72581. doi: 10.1371/journal.pone.0072581.
32. Vannini C., Boscaro V., Ferrantini F., Benken K.A., Mironov T.I., Schweikert M. et al. Flagellar movement in two bacteria of the family *Rickettsiaceae*: a re-evaluation of motility in an evolutionary perspective. PLoS One. 2014; 9: e87718.
33. Mediannikov O., Nguyen T.-T., Bell-Sakyi L., Padmanabhan R., Fournier P.-E., Raoult D. High quality draft genome sequence and description of *Occidentia massiliensis* gen. nov., sp. nov., a new member of the family Rickettsiaceae. Standards in Genomic Sciences 2014, 9:9. Доступно на: http://www.standardsingenomics.com/content/9/1/9
34. Здродовский П.Ф., Голиневич Е.М. Учение о риккетсиях и риккетсиозах. 3-е изд., перераб. и доп. Москва. Медицина. 1972: 496.
35. Weiss E., Moulder J. In: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 8th. Baltimore. 1974: 883 – 893.
36. Fujita H., Fournier P.E., Takada N., Saito T., Raoult D. *Rickettsia asiatica* sp. nov., isolated in Japan. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2006; 56: 2365 – 2368.
37. Euz by J. Validation list no. 108. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2006; 56: 499 – 500.
38. Duh D., Punda-Polic V., Avsic-Zupanc T., Bouyer D., Walker D.H., Popov V.L. et al. *Rickettsia hoogstraalii* sp. nov., isolated from hard- and soft-bodied ticks. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2010; 60: 977 – 984.
39. Mediannikov O., Matsumoto K., Samoylenko I., Drancourt M., Roux V., Rydkina E. et al. *Rickettsia raoultii* sp. nov., a spotted fever group rickettsia associated with *Dermacentor* ticks in Europe and Russia. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2008; 58: 1635 – 1639.
40. Fournier P.E., Takada N., Fujita H., Raoult D. *Rickettsia tamurae* sp. nov., isolated from *Amblyomma testudinarium* ticks. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2006; 56: 1673 – 1675.
41. Kurtti T.J., Felsheim R.F., Burkhardt N.Y., Oliver J.D., Heu C.C., Munderloh U.G. *Rickettsia buchneri* sp. nov., a rickettsial endosymbiont of the blacklegged tick *Ixodes scapularis*. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2015; 65 (Pt 3): 965 – 970.
42. Simser J.A., Palmer A.T., Fingerle V., Wilske B., Kurtti T.J., Munderloh U.G. *Rickettsia monacensis* sp. nov., a spotted fever group rickettsia, from ticks (*Ixodes ricinus*) collected in European city park. Appl. Environ. Microbiol. 2002; 68 (9): 4559 – 4566.
43. Fournier P.E., Dumler J.S., Greub G., Zhang J., Wu Y., Raoult D. Gene sequence-based criteria for identification of new rickettsia isolates and description of *Rickettsia heilongjiangensis* sp. nov. J Clin Microbiol. 2003; 41: 5456 – 5465.
44. Roux V., Raoult D. Phylogenetic analysis and taxonomic relationships among the genus *Rickettsia*. *Rickettsiae* and *Rickettsial* diseases at the turn of the third millinium, Marseille, Elsevier production. 1999; 52 – 66.
45. Zhu Y., Fournier P.-E., Eremeeva, M., Raoult D. Proposal to create subspecies of *Rickettsia conorii* based on multi-locus sequence typing and an emended description of *Rickettsia conorii*. BMC Microbiology. 2005; 5: 11. doi:10.1186/1471-2180-5-11
46. Fournier P.E., Zhu Y., Yu X., Raoult D. Proposal to create subspecies of *Rickettsia sibirica* and an emended description of *Rickettsia sibirica*. Ann. NY Acad. Sci. 2006; 1078: 597 – 606.
47. Raoult D., Fournier P.-E., Eremeeva M., Graves S., Kelly P.J., Oteo J.A. et al. Naming of *Rickettsiae* and rickettsial diseases. Ann N. Y. Acad. Sci. 2005; 1063: 1 – 12.
48. Murray R.G., Stackebrandt E. Taxonomic note: implementation of the provisional status *Candidatus* for incompletely described procaryotes. Int. J Syst Bacteriol. 1995; 45 (1): 186 – 187.
49. Weiss E., Moulder J.W. Order I. *Rickettsiales*, *Gieszczkiewicz* 1939, In Bergey's manual of systematic bacteriology, vol. 1. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, Md. 1984; 687 – 703.
50. Stothard D.R., Clark J.B., Fuerst P.A. Ancestral divergence of *Rickettsia bellii* from the spotted fever and typhus groups of *Rickettsia* and antiquity of the genus *Rickettsia*. Int. J. Syst. Bacteriol. 1994; 44: 798 – 804.
51. Gillespie J.J., Beier M.S., Rahman M.S., Ammerman N.C., Shallom J.M., Purkayastha A. et al. Plasmids and rickettsial evolution: insight from *Rickettsia felis*. PLoS One. 2007; 2: e266.
52. Merhej V. Raoult D. Rickettsial evolution in the light of comparative genomics. Biol. Rev. Camb. Philos. Soc. 2011; 86: 379 – 405.
53. Raoult D., Roux V. *Rickettsioses* as paradigms of new or emerging infectious diseases. Clin. Microbiol. Rev. 1997; 10 (4): 694 – 719.
54. Fournier P.-E., Raoult D. Current knowledge on phylogeny and taxonomy of *Rickettsia* spp. Ann. N. Y. Acad. Sci. 2009; 1166: 1 – 11.
55. Anstead C.A., Chilton N.B. A Novel *Rickettsia species* detected in vole ticks (*Ixodes angustus*) from Western Canada. Appl. Environ. Microbiol. 2013; 79(24): 7583.
56. Shpynov S., Fournier P.-E., Rudakov N., Raoult D. Candidatus *Rickettsia tarasevichiae* in *Ixodes persulcatus* ticks collected in Russia. Ann. NY Acad. Sci. Rickettsiology: present and future directions. 2003; 990: 162 – 172.
57. Hajduskova E., Literak I., Papousek I., Costa F.B., Novakova M., Labruna M.B., Zdrazilova-Dubska L. *'Candidatus Rickettsia mendelii'*, a novel basal group rickettsia detected in *Ixodes ricinus* ticks in the Czech Republic. Ticks Tick Borne Dis. 2016; 7 (3): 482 – 486.
58. Гуменюк А. С., Поздниченко Н. Н., Родионов И. Н., Шпынов С.Н. О средствах формального анализа строя нуклеотидных цепей. Математическая биология и биоинформатика. 2013; 8 (1): 373 – 397.
59. Shpynov S., Pozdnichenko N., Gumenuk A. Approach for classification and taxonomy within family Rickettsiaceae based on the Formal Order Analysis. Microbes Infect. 2015; 17 (11 – 12): 839 – 844.

60. Simser J.A., Rahman M.S., Dreher-Lesnick S.M., Azad A.F. A novel and naturally occurring transposon, ISRpe1 in the *Rickettsia peacockii* genome disrupting the rickA gene involved in actin-based motility. Mol. Microbiol. 2005; 58 (1): 71 – 79.
61. Felsheim R.F., Kurtti T.J., Munderloh U.G. Genome sequence of the endosymbiont *Rickettsia peacockii* and comparison with virulent *Rickettsia rickettsii*: identification of virulence factors. PLoS One. 2009; 4 (12): e8361. doi: 10.1371/journal.pone.0008361.
62. Merhej V., Angelakis E., Socolovschi C., Raoult D. Genotyping, evolution and epidemiological findings of *Rickettsia species*. Infect Genet Evol. 2014; :122 – 137. doi: 10.1016/j.meegid.2014.03.014.
63. Ogata H., Renesto P., Audic S., Robert C., Blanc G., et al. The genome sequence of *Rickettsia felis* identifies the first putative conjugative plasmid in an obligate intracellular parasite. PLoS Biol; 2005; 3: e248.
64. Марков А.В., Захаров И.А. Использование количественных мер сходства генных порядков для построения филогенетических реконструкций на примере бактерий рода *Rickettsia*. Генетика. 2008; 44 (4): 456 – 466.
65. Merhej V., Notredame C., Royer-Carenzi M., Pontarotti P., Raoult D. The rhizome of life: the sympatric *Rickettsia felis* paradigm demonstrates the random transfer of DNA sequences. Mol. Biol. Evol. 2011; 28: 3213 – 3223.
66. Georgiades K., Raoult D. The rhizome of *Reclinomonas americana*, *Homo sapiens*, Pediculus humanus and *Saccharomyces cerevisiae* mitochondria. Biology Direct. 2011; 6: 55. http://www.biology-direct.com/content/6/1/55.
67. Georgiades K., Madoui M-A, Le P, Robert C, Raoult D. Phylogenomic Analysis of *Odyssella thessalonicensis* fortifies the common origin of Rickettsiales, *Pelagibacter ubique* and *Reclimonas americana* mitochondrion. PLoS One. 2011; 6(9): e24857. doi: 10.1371/journal.pone.0024857.
68. Eddy F., Powell A., Gregory S., Nunan L.M., Lightner D.V., Dyson P.J., Rowley A.F., Shields R.J. A novel bacterial disease of the European shore crab, Carcinus maenas molecular pathology and epidemiology. Microbiology. 2007; 153 (Pt 9): 2839 – 2849.
69. Nunan L.M., Poulos B.T., Navarro S., Redman R.M., Lightner D.V. Milky hemolymph syndrome (MHS) in spiny lobsters, penaeid shrimp and crabs. Dis Aquat Organ. 2010; 91 (2): 105 – 112. doi: 10.3354/dao02270.
70. Liu Y., Zhang Z., Jiang Y., Zhang L., Popov V.L., Zhang J., Walker D.H., Yu X.J. Obligate intracellular bacterium Ehrlichia inhibiting mitochondrial activity. Microbes Infect. 2011; 13 (3): 232 – 238. doi: 10.1016/j.micinf.2010.10.021.
71. Gray M.W. Rickettsia, typhus and the mitochondrial connection. Nature. 1998; 396 (6707): 109 – 110.
72. Samoilenko I.E., Rudakov N.V., Shpynov S.N., Tankibaev M.A., Yakimenko V.V., Kumpan L.V. Study of biological characteristics of spotted fever group rickettsial genotypes RpA4, DnS14, and DnS28. Ann N Y Acad Sci. 2003; 990: 612 – 616.
73. Samoilenko I.E., Kumpan L.V., Shpynov S.N., Obert A.S., Butakov O.V., Rudakov N.V. 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; 1078: 613 – 616.
74. Рудаков Н.В., Шпынов С.Н., Самойленко И.Е., Ястребов В.К., Оберт А.С., Курепина Н.Ю. Риккетсии и риккетсиозы группы клещевой пятнистой лихорадки в Сибири. Омск, 2012. 288.
75. Cohn F. Grundzu ge einerneuennatu rlichen Anordnung der kryptogamischen Pflanzen, Jahresb. Schles. Ges. Vaterl. Kultur. 1872; 49: 83–89.
76. Schleifer K.H. Classification of Bacteria and Archaea: past, present and future. Syst. Appl. Microbiol. 2009; 32: 533 – 542.
77. Stackebrandt E. Forces shaping bacterial systematics. Microbe. 2007; 2: 283–288.
78. Woese C.R., Kandler O., Wheelis M. Towards a natural system of or-ganisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eukaria. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1990; 87: 4576 – 4579.
79. Stackebrandt E., Frederiksen W., Garrity G.M. Report of the ad hoc committee for the re-evaluation of the species definition in bacteriology. Int J Syst Evol Microbiol. 2002; 52: 1043–1047.
80. Rossello-Mora R. Updating prokaryotic taxonomy. J Bacteriol 2005; 187: 6255 – 6257.
81. Lagier J.C., Armougom F., Million M., Hugon P., Pagnier I., Robert C et al. Microbial culturomics: paradigm shift in the human gut microbiome study. Clin Microbiol Infect. 2012; 18 (12): 1185 – 1193. doi: 10.1111/1469-0691.12023.
82. Seng P., Drancourt M., Gouriet F., La Scola B., Fournier P. E., Rolain J. M., Raoult D. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. Clin Infect Dis. 2009; 49: 543 – 551.
83. Ramasamy D., Mishra A.K., Lagier J.C., Padhmanabhan R., Rossi M., Sentausa E. et al. A polyphasic strategy incorporating genomic data for the taxonomic description of novel bacterial species. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2014; 64 (Pt 2): 384 – 391.
84. Fournier P.E., Lagier J.C., Dubourg G., Raoult D. From culturomics to taxonomogenomics: A need to change the taxonomy of prokaryotes in clinical microbiology. Anaerobe. 2015; 36: 73-78. doi: 10.1016/j.anaerobe.2015.10.011.
85. Tatusov R.L., Natale D.A., Garkavtsev I.V., Tatusova T.A., Shankavaram U.T., Rao B.S. et al. The COG database: new developments in phylogenetic classification of proteins from complete genomes. Nucleic Acids Res. 2001; 29 (1): 22 – 28.
86. Altschul S.F., Gish W., Miller W., Myers E.W., Lipman D.J. Basic local alignment search tool. J. Mol. Biol. 1990; 215 (3): 403 – 410.
87. Kumar S., Tamura K., Nei M. MEGA: molecular evolutionary genetics analysis, version 1 .O 1. Pennsylvania State University, University Park. 1993.
88. Sassera D., Lo N., Epis S., D'Auria G., Montagna M., Comandatore F. et al. Phylogenomic evidence for the presence of a flagellum and cbb(3) oxidase in the free-living mitochondrial ancestor. Mol. Biol. Evol. 2011; 28: 3285 – 3296.

References

1. Ricketts H.A. microorganism which apparently has a specific relationship to Rocky Mountain spotted fever. A preliminary report. JAMA, 1909; 52: 379.
2. La Rocha-Lima H. Zur Antiologie des Fleckfebers. Berlin. Klin. Wsch., 1916; 53: 567.
3. Yu X.J., Walker D.H. Family I. rickettsiaceae pinkerton 1936, 186AL in Bergey's manual of systematic bacteriology, third edition. Springer. New York, 2005: 96 – 116.
4. Truper H. G. Etymology in Nomenclature of Procaryotes. In: Bergey's Manual of Sytematic Bacteriology, second edition. Vol. 2 (The Proteobacteria), part A (Introductory Essays), Springer. New York; 2005: 89 – 99.
5. Raoult D., Berbis .P, Roux V., Xu W., Maurin M. A new tick-transmitted disease due to *Rickettsia slovaca*. Lancet. 1997; 350 (9071): 112 – 113.
6. Parola P., Paddock C.D., Socolovschi C., Labruna M.B., Mediannikov O., Kernif T. et al. Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. Clin. Microbiol. Rev. 2013; 26 (4): 657 – 702.
7. Тарасевич И.В. О систематике и номенклатуре риккетсий. ЖМЭИ. 1979; 1: 39 – 42.
8. Garrity G.M., Bell J.A., Lilburn T. The Revised Road Map to the Manual. In: Bergey's Manual of Sytematic Bacteriology, second edition. Vol. 2 (The Proteobacteria), part A (Introductory Essays), Springer. New York; 2005: 159 – 187.
9. Garrity G.M., Bell J.A., Lilburn G.V. Class I. *Alphaproteobacteria* class. nov. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd edn, vol. 2 (The Proteobacteria), part C (The Alpha-, Beta-, Delta-, and Epsilonproteobacteria), Springer. New York. 2005; 1 – 574.
10. Dumler S., Walker D.H. Class I. Order II. *Rickettsiales gieszczykiewicz* 1939, 25AL. In: Bergey's Manual of Sytematic Bacteriology, second edition. Vol. 2 (The Proteobacteria), part C (The Alpha-, Beta-, Delta-, and Epsilonproteobacteria), Springer. New York. 2005; 96 – 160.
11. Weisburg W.G., Dobson M.E., Samuel J.E., et al. Phylogenetic diversity of rickettsiae. J. Bacteriol. 1989; 171: 4202 – 4206.
12. Roux V., Bergoin M., Lamaze N., Raoult D. Reassessment of the taxonomic position of *Rickettsiella grylli*. Int. J. Syst. Bacteriol. 1997; 47 (4): 1255 – 1257.
13. Tan C.K., Owens L. Infectivity, transmission and 16S rRNA sequencing of a rickettsia, *Coxiella cheraxi* sp. nov., from the freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus*. Dis. Aquat. Organ. 2000; 41 (2): 115 – 122.
14. Brenner D.J., Connor S.P., Winkler H.H., Steigerwalt A.G. Proposals to unify the genera *Bartonella* and *Rochalimaea*, with descriptions of *Bartonella Quintana* comb. nov., *Bartonella henselae* comb. nov., *Bartonella elizabethae* comb; nov., and to remove family *Bartonellaceae* from the order *Rickettsiales*. Int J. Syst. Bacteriol. 1993; 43: 777 – 786.
15. Birtles R.J., Harrison T.G., Saunders N.A., Molyneux D.H. Proposals to unify the genera *Grahamella* and *Bartonella*, with descriptions of *Bartonella talpae* comb. nov., *Bartonella peromissci* comb. nov., and three new species, *Bartonella grahamii* sp. nov., *Bartonella taylorii* sp. nov., and *Bartonella doshiae* sp. Nov. Int J. Syst. Bacteriol. 1995; 45: 1 – 8.
16. Rikihisa Y., The tribe *Ehrlichieae* and ehrlichial diseases. Clin. Microbiol. Rev. 1991; 4: 286 – 308.
17. Gromov B.V., Ossipov D.V. Holospora (ex Hafkine 1890) nom. rev., a genus of bacteria inhabiting the nuclei of paramecia. Int. J. Syst. Bacteriol. 1981; 31: 348 – 352.
18. Gortz H.D., Schmidt H.J.. Family III. Holosporaceae fam. nov. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd edn, vol. 2 (The Proteobacteria), part C (The Alpha-, Beta-, Delta-, and Epsilonproteobacteria). Springer. New York. 2005: 146 – 149.
19. Thrash J.C., Boyd A., Huggett M.J., Grote J., Carini P., Yoder R.J. et al. Phylogenomic evidence for a common ancestor of mitochondria and the SAR11 clade. Sci Rep. 2011; 1: 13. doi: 10.1038/srep00013.
20. Morris R.M., Rapp M.S., Connon S.A., Vergin K.L., Siebold W.A., Carlson C.A., Giovannoni S.J. SAR11 clade dominates ocean surface bacterioplankton communities. Nature. 2002; 420 (6917): 806 – 810.
21. Giovannoni S.J., Tripp H.J., Givan S., Podar M., Vergin K.L., Baptista D. et al. Genome streamlining in a cosmopolitan oceanic bacterium. Science. 2005; 309 (5738): 1242 – 1245.

22. Montagna M., Sassera D., Epis S., Bazzocchi C., Vannini C., Lo N. et al. *Candidatus Midichloriaceae* fam. nov. (*Rickettsiales*), an ecologically widespread clade of intracellular *Alphaproteobacteria*. Appl. Environ. Microbiol. 2013; 79: 3241 – 3248.
23. Zhao X., Wan X., He R.L., Yau S.S. A new method for studying the evolutionary origin of the SAR11 clade marine bacteria. Mol. Phylogenet. Evol. 2016; 98: 271 – 279. doi: 10.1016/j.ympev.2016.02.015.
24. Sassera D., Beninati T., Bandi C., Bouman E.A., Sacchi L., Fabbi M., Lo N. *Candidatus Midichloria mitochondrii*, an endosymbiont of the tick *Ixodes ricinus* with a unique intramitochondrial lifestyle. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2006; 56: 2535 – 2540.
25. Mariconti M., Epis S., Sacchi L., Biggiogera M., Sassera D., Genchi M. et al. A study on the presence of flagella in the order Rickettsiales: the case of *Candidatus* Midichloria mitochondrii. Microbiology. 2012; 158: 1677 – 1683.
26. Szokoli F., Sabaneyeva E., Castelli M., Krenek S., Schrallhammer M., Soares C.A. et al. Candidatus Fokinia solitaria', a novel 'stand-alone' symbiotic lineage of *Midichloriaceae* (*Rickettsiales*). PLoS ONE. 2016; 11: e0145743.
27. Hess S., Suthaus A., Melkonian M. Candidatus Finniella (*Rickettsiales*, *Alphaproteobacteria*), Novel Endosymbionts of Viridiraptorid Amoeboflagellates (Cercozoa, Rhizaria). Appl. Environ. Microbiol. 2015; 82 (2): 659 – 670. doi: 10.1128/AEM.02680-15.
28. Tamura A., Ohashi N., Urakami H., Miyamura S. Classification of *Rickettsia tsutsugamushi* in a new genus, *Orientia* gen. nov., as *Orientia tsutsugamushi* comb. nov. Int. J. Syst. Bacteriol. 1995; 45: 589 – 591.
29. Weinert L.A., Werren J.H., Aebi A., Stone G.N., Jiggins F.M. Evolution and diversity of *Rickettsia bacteria*. BMC Biol. 2009; 7: 6. doi: 10.1186/1741-7007-7-6.
30. Ferrantini F., Fokin S.I., Modeo L., Andreoli I., Dini F., G rtz H.D., Verni F., Petroni G. *Candidatus Cryptoprodotis polytropus*, a novel Rickettsia-like organism in the ciliated protist *Pseudomicrothorax dubius* (*Ciliophora*, *Nassophorea*). Eukaryot Microbiol. 2009; 56 (2): 119 – 129.
31. Schrallhammer M., Ferrantini F., Vannini C., Galati S., Schweikert M., G rtz H.D. et al. *Candidatus Megaira polyxenophila'* gen. nov., sp. nov.: considerations on evolutionary history, host range and shift of early divergent rickettsiae. PLoS One. 2013; 8 (8): e72581. doi: 10.1371/journal.pone.0072581.
32. Vannini C., Boscaro V., Ferrantini F., Benken K.A., Mironov T.I., Schweikert M. et al. Flagellar movement in two bacteria of the family *Rickettsiaceae*: a re-evaluation of motility in an evolutionary perspective. PLoS One. 2014; 9: e87718.
33. Mediannikov O., Nguyen T.-T., Bell-Sakyi L., Padmanabhan R., Fournier P.-E., Raoult D. High quality draft genome sequence and description of *Occidentia massiliensis* gen. nov., sp. nov., a new member of the family Rickettsiaceae. Standards in Genomic Sciences 2014, 9:9. Доступно на: http://www.standardsingenomics.com/content/9/1/9
34. Zdrodovsky P.F., Golinevich E.M. The doctrine of *Ricketts* and rikketsiozes. 3rd ed., 3rd edition, revised. and enlarged. Moscow. Medicina. [Medicine] (in Russian).
35. Weiss E., Moulder J. In: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 8th. Baltimore. 1974: 883 – 893.
36. Fujita H., Fournier P.E., Takada N., Saito T., Raoult D. *Rickettsia asiatica* sp. nov., isolated in Japan. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2006; 56: 2365 – 2368.
37. Euz by J. Validation list no. 108. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2006; 56: 499 – 500.
38. Duh D., Punda-Polic V., Avsic-Zupanc T., Bouyer D., Walker D.H., Popov V.L. et al. *Rickettsia hoogstraalii* sp. nov., isolated from hard- and soft-bodied ticks. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2010; 60: 977 – 984.
39. Mediannikov O., Matsumoto K., Samoylenko I., Drancourt M., Roux V., Rydkina E. et al. *Rickettsia raoultii* sp. nov., a spotted fever group rickettsia associated with *Dermacentor* ticks in Europe and Russia. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2008; 58: 1635 – 1639.
40. Fournier P.E., Takada N., Fujita H., Raoult D. *Rickettsia tamurae* sp. nov., isolated from *Amblyomma testudinarium* ticks. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2006; 56: 1673 – 1675.
41. Kurtti T.J., Felsheim R.F., Burkhardt N.Y., Oliver J.D., Heu C.C., Munderloh U.G. *Rickettsia buchneri* sp. nov., a rickettsial endosymbiont of the blacklegged tick *Ixodes scapularis*. Int J. Syst. Evol. Microbiol. 2015; 65 (Pt 3): 965 – 970.
42. Simser J.A., Palmer A.T., Fingerle V., Wilske B., Kurtti T.J., Munderloh U.G. *Rickettsia monacensis* sp. nov., a spotted fever group rickettsia, from ticks (*Ixodes ricinus*) collected in European city park. Appl. Environ. Microbiol. 2002; 68 (9): 4559 – 4566.
43. Fournier P.E., Dumler J.S., Greub G., Zhang J., Wu Y., Raoult D. Gene sequence-based criteria for identification of new rickettsia isolates and description of *Rickettsia heilongjiangensis* sp. nov. J Clin Microbiol. 2003; 41: 5456 – 5465.
44. Roux V., Raoult D. Phylogenetic analysis and taxonomic relationships among the genus Rickettsia. Rickettsiae and Rickettsial diseases at the turn of the third millinium, Marseille, Elsevier production. 1999; 52 – 66.
45. Zhu Y., Fournier P.-E., Eremeeva, M., Raoult D. Proposal to create subspecies of *Rickettsia conorii* based on multi-locus sequence typing and an emended description of Rickettsia conorii. BMC Microbiology. 2005; 5: 11. doi:10.1186/1471-2180-5-11
46. Fournier P.E., Zhu Y., Yu X., and Raoult D. Proposal to create subspecies of *Rickettsia sibirica* and an emended description of *Rickettsia sibirica*. Ann. NY Acad. Sci. 2006; 1078: 597 – 606.
47. Raoult D., Fournier P.-E., Eremeeva M., Graves S., Kelly P.J., Oteo J.A., Sekeyova Z., Tamura A., Tarasevich I., Zhang L. Naming of Rickettsiae and rickettsial diseases. Ann N Y Acad Sci. 2005; 1063: 1 – 12.
48. Murray R.G., Stackebrandt E. Taxonomic note: implementation of the provisional status *Candidatus* for incompletely described procaryotes. Int J Syst Bacteriol. 1995; 45 (1): 186 – 187.
49. Weiss E., Moulder J.W. Order I. *Rickettsiales*, *Gieszczkiewicz* 1939, In N. R. Krieg and J. G. Holt (Eds), Bergey's manual of systematic bacteriology, vol. 1. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, Md. 1984; 687–703.
50. Stothard D.R., Clark J.B., Fuerst P.A. Ancestral divergence of *Rickettsia bellii* from the spotted fever and typhus groups of Rickettsia and antiquity of the genus *Rickettsia*. Int J. Syst. Bacteriol. 1994; 44: 798 – 804.
51. Gillespie J.J., Beier M.S., Rahman M.S., Ammerman N.C., Shallom J.M., Purkayastha A. et al. Plasmids and rickettsial evolution: insight from *Rickettsia felis*. PLoS One. 2007; 2: e266.
52. Merhej V. Raoult D. Rickettsial evolution in the light of comparative genomics. Biol. Rev. Camb. Philos. Soc. 2011; 86: 379 – 405.
53. Raoult D., Roux V. Rickettsioses as paradigms of new or emerging infectious diseases. Clin. Microbiol. Rev. 1997; 10 (4): 694 – 719.
54. Fournier P.-E., Raoult D. Current knowledge on phylogeny and taxonomy of *Rickettsia* spp. Ann. N. Y. Acad. Sci. 2009; 1166: 1 – 11.
55. Anstead C.A., Chilton N.B. A Novel Rickettsia Species Detected in Vole Ticks (*Ixodes angustus*) from Western Canada. Appl. Environ. Microbiol. 2013; 79(24): 7583.
56. Shpynov S., Fournier P.-E., Rudakov N., Raoult D. Candidatus *Rickettsia tarasevichiae* in *Ixodes persulcatus* ticks collected in Russia. Ann. NY Acad. Sci. Rickettsiology: present and future directions. 2003; 990: 162 – 172.
57. Hajduskova E., Literak I., Papousek I., Costa F.B., Novakova M., Labruna M.B., Zdrazilova-Dubska L. *'Candidatus* Rickettsia mendelii', a novel basal group rickettsia detected in *Ixodes ricinus* ticks in the Czech Republic. Ticks Tick Borne Dis. 2016; 7 (3): 482 – 486.
58. Gumenyuk A.S., Pozdnichenko N., Rodionov I., Shpynov S.N. About the means of formal analysis system of nucleotide chains. Matematicheskaya biologia i Bioinformatica. [Mathematical Biology and Bioinformatics]. 2013; 8 (1): 373 – 397 (in Russian).
59. Shpynov S., Pozdnichenko N., Gumenuk A. Approach for classification and taxonomy within family Rickettsiaceae based on the Formal Order Analysis. Microbes Infect. 2015; 17 (11 – 12): 839 – 844.
60. Simser J.A., Rahman M.S., Dreher-Lesnick S.M., Azad A.F. A novel and naturally occurring transposon, ISRpe1 in the *Rickettsia peacockii* genome disrupting the rickA gene involved in actin-based motility. Mol. Microbiol. 2005; 58 (1): 71 – 79.
61. Felsheim R.F., Kurtti T.J., Munderloh U.G. Genome sequence of the endosymbiont *Rickettsia peacockii* and comparison with virulent *Rickettsia rickettsii*: identification of virulence factors. PLoS One. 2009; 4 (12): e8361. doi: 10.1371/journal.pone.0008361.
62. Merhej V., Angelakis E., Socolovschi C., Raoult D. Genotyping, evolution and epidemiological findings of Rickettsia species. Infect Genet Evol. 2014; :122 – 137. doi: 10.1016/j.meegid.2014.03.014.
63. Ogata H., Renesto P., Audic S., Robert C., Blanc G., et al. The genome sequence of *Rickettsia felis* identifies the first putative conjugative plasmid in an obligate intracellular parasite. PLoS Biol; 2005; 3: e248.
64. Markov A.V., Zakharov I.A. The use of quantitative measures of similarity of gene orders for phylogenetic reconstructions build on the example of the genus *Rickettsia* bacteria. Genetica. [Genetics]. 2008; 44 (4): 456 – 466 (in Russian).
65. Merhej V., Notredame C., Royer-Carenzi M., Pontarotti P., Raoult D. The rhizome of life: the sympatric *Rickettsia felis* paradigm demonstrates the random transfer of DNA sequences. Mol. Biol. Evol. 2011; 28: 3213–3223.
66. Georgiades K., Raoult D. The rhizome of Reclinomonas americana, Homo sapiens, Pediculus humanus and Sac*charomyces cere*visiae mitochondria. Biology Direct. 2011; 6: 55. http://www.biology-direct.com/content/6/1/55.
67. Georgiades K., Madoui M.-A., Le P, Robert C., Raoult D. Phylogenomic Analysis of *Odyssella thessalonicensis* fortifies the common origin of *Rickettsiales*, *Pelagibacter ubique* and *Reclimonas americana* mitochondrion. PLoS One. 2011; 6(9): e24857. doi: 10.1371/journal.pone.0024857.
68. Eddy F., Powell A., Gregory S., Nunan L.M., Lightner D.V., Dyson P.J. et al. A novel bacterial disease of the European shore crab, Carcinus maenas molecular pathology and epidemiology. Microbiology. 2007; 153 (Pt 9): 2839 – 2849.
69. Nunan L.M., Poulos B.T., Navarro S., Redman R.M., Lightner D.V. Milky hemolymph syndrome (MHS) in spiny lobsters, penaeid shrimp and crabs. Dis Aquat Organ. 2010; 91(2): 105-12. doi: 10.3354/dao02270.
70. Liu Y., Zhang Z., Jiang Y., Zhang L., Popov V.L., Zhang J. et al. Obligate intracellular bacterium Ehrlichia inhibiting mitochondrial activity. Microbes Infect. 2011;

13(3): 232-238. doi: 10.1016/j.micinf.2010.10.021.
71. Gray M.W. Rickettsia, typhus and the mitochondrial connection. Nature. 1998; 396(6707): 109 – 110.
72. Samoilenko I.E., Rudakov N.V., Shpynov S.N., Tankibaev M.A., Yakimenko V.V., Kumpan L.V. Study of biological characteristics of spotted fever group rickettsial genotypes RpA4, DnS14, and DnS28. Ann N Y Acad Sci. 2003; 990: 612 – 616.
73. Samoilenko I.E., Kumpan L.V., Shpynov S.N., Obert A.S., Butakov O.V., Rudakov N.V. 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; 1078: 613 – 616.
74. Rudakov N.V., Shpynov S.N., Samojlenko I.E., Yastrebov V.K., Obert A.S., Kurepina N.Y. *Rickettsia* and rickettsioses tick spotted fever group in Siberia. Omsk, 2012: 288 (in Russian).
75. Cohn F. Grundzu ge einerneuennatu rlichen Anordnung der kryptogamischen Pflanzen, Jahresb. Schles. Ges. Vaterl. Kultur. 1872; 49: 83 – 89.
76. Schleifer K.H. Classification of Bacteria and Archaea: past, present and future. Syst Appl Microbiol. 2009; 32: 533 – 542.
77. Stackebrandt E. Forces shaping bacterial systematics. Microbe. 2007; 2: 283 – 288.
78. Woese C.R., Kandler O., Wheelis M. Towards a natural system of or-ganisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eukaria. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1990; 87: 4576 – 4579.
79. Stackebrandt E., Frederiksen W., Garrity G.M. Report of the ad hoc committee for the re-evaluation of the species definition in bacteriology. Int J Syst Evol Microbiol. 2002; 52: 1043 – 1047.
80. Rossello-Mora R. Updating prokaryotic taxonomy. J Bacteriol 2005; 187: 6255–6257.
81. Lagier J.C., Armougom F., Million M., Hugon P., Pagnier I., Robert C. et al. Microbial culturomics: paradigm shift in the human gut microbiome study. Clin Microbiol Infect. 2012; 18 (12): 1185 – 1193. doi: 10.1111/1469-0691.12023.
82. Seng P., Drancourt M., Gouriet F., La Scola B., Fournier P. E., Rolain J. M., Raoult D. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. Clin Infect Dis. 2009; 49: 543 – 551.
83. Ramasamy D., Mishra A.K., Lagier J.C., Padhmanabhan R., Rossi M., Sentausa E. et al. A polyphasic strategy incorporating genomic data for the taxonomic description of novel bacterial species. Int J Syst Evol Microbiol. 2014; 64(Pt 2): 384 – 391.
84. Fournier P.E., Lagier J.C., Dubourg G., Raoult D. From culturomics to taxonomogenomics: A need to change the taxonomy of prokaryotes in clinical microbiology. Anaerobe. 2015; 36: 73 – 78. doi: 10.1016/j.anaerobe.2015.10.011.
85. Tatusov R.L., Natale D.A., Garkavtsev I.V., Tatusova T.A., Shankavaram U.T., Rao B.S. et al. The COG database: new developments in phylogenetic classification of proteins from complete genomes. Nucleic Acids Res. 2001; 29 (1): 22 – 28.
86. Altschul S.F., Gish W., Miller W., Myers E.W., Lipman D.J. Basic local alignment search tool. J. Mol. Biol. 1990; 215 (3): 403 – 410.
87. Kumar S., Tamura K., Nei M. MEGA: molecular evolutionary genetics analysis, version 1 .O 1. Pennsylvania State University, University Park. 1993.
88. Sassera D., Lo N., Epis S., D'Auria G., Montagna M., Comandatore F et al. Phylogenomic evidence for the presence of a flagellum and cbb(3) oxidase in the free-living mitochondrial ancestor. Mol. Biol. Evol. 2011; 28: 3285 – 3296.

ИНФОРМАЦИЯ ВОЗ

Прививки от кори сохраняют жизнь более 20 миллионов детей до 15 лет

Несмотря на то, что с 2000 по 2015 год смерность от кори в мире снизилась на 79%, около 400 детей каждый день продолжают умирать от этой болезни, говорится в докладе ведущих экспертов международных организаций здравоохранения.

«Сделать корь достоянием истории, не значит – миссия невыполнима. – сказал Робин Нанди, (Robin Nandy), главный специалист ЮНИСЕФ по вопросам иммунизации – У нас есть инструменты и знания для выполнения этой миссии, но нам не хватает политической воли, чтобы каждый ребенок независимо от его местонахождения мог быть защищен. Без выполнения миссии дети будут продолжать умирать от болезни, которую можно легко и экономично предотвратить».

По оценкам ЮНИСЕФ, ВОЗ, ГАВИ и Центра по контролю и профилактике заболеваний (CDC), с 2000 по 2015 год массовые кампании вакцинации и глобальное увеличение охвата рутинными прививками против кори сохранили 20,3 млн молодых жизней.

Но прогресс сокращения заболеваемости не был равномерным. В 2015 году около 20 млн детей не были привиты против кори и, по оценочным данным, 134 тыс. детей умерли от этой болезни. Половина не привитых детей и 75% случаев смерти от кори приходились на Демократическую Республику Конго, Эфиопию, Индию, Индонезию, Нигерию и Пакистан.

«Недопустимо, чтобы миллионы детей каждый год были лишены прививок. У нас есть безопасная и очень эффективная вакцина, чтобы остановить распространение кори и спасти жизни людей. – заявил д-р Жан-Мари Окво-Беле (Jean-Marie Okwo-Bele), директор Департамента ВОЗ по иммунизации, вакцинам и биологическим препаратам – В этом году Американский регион был объявлен свободным от кори –это доказательство того, что элиминация кори возможна».

«Корь является ключевым показателем успешности иммунизации той или иной страны и, часто эта инфекция играет роль канарейки в угольной шахте. Вспышки кори служат первым предупреждением более глубоких проблем» – сказал доктор Сет Беркли (Seth Berkley), главный исполнительный директор ГАВИ.

Ликвидации кори в четырех из шести регионов ВОЗ является глобальной целью, находящейся на середине пути к реализации Глобальныого плана действий в отношении вакцин на 2011 – 2020 годы. «Мир не достиг элиминации кори к 2015 году, но мы можем достичь ее, подтверждение этому Американский регион. – сказала д-р Ребекка Мартин (Rebecca Martin), директор Центра глобального здравоохранения CDC (CDC's Center for Global Health). – К 2015 году не каждый ребенок был привит не была достигнута цель элиминации кори в 4-х из 6-и регионов ВОЗ, потому что существовали пробелы.. Нам нужно закрыть эти пробелы, убедиться, что для выполнения обязательств достаточно людских и финансовых ресурсов для полного охвата прививками, выявления и реагирования на каждый случай кори с целью предотвращения распространения инфекции. Эти усилия будут защищать всех детей, чтобы они могли стать следующим поколением лидеров. Это будет также свидетельствовать, что каждая страна обладает системой безопасности, способной предотвратить угрозу развития заболеваний и защитить мир от глобальных угроз здоровью».

Источник: http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2016/measles-children-death/en/