

УДК 599.363 : 576.858.25

**ВЗАИМООТНОШЕНИЯ КЛЕЩЕЙ IXODES PERSULCATUS  
И ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА  
С КРАСНОЙ ПОЛЕВКОЙ (CLETHRIONOMYS RUTILUS)  
В ЗАПАДНОЙ СИБИРИ**

© **В. Н. Бахвалова, О. В. Морозова, В. А. Матвеева, В. В. Панов,  
Л. Э. Матвеев, А. К. Добротворский**

Приведены данные 12-летних наблюдений (1989—2001 гг.) за популяцией красной полевки на юго-востоке Западной Сибири, включающие оценку относительной численности хозяев, обилия преимагинальных фаз таежного клеща и величины прослойки зверьков с антигемагглютинидами к вирусу клещевого энцефалита (КЭ). Обсуждается роль демографических групп полевков в прокормлении клещей и их участие в поддержании популяции возбудителя КЭ. Оценка частоты спонтанного носительства вируса в летний и зимне-весенний периоды, проведенная с использованием комплекса молекулярно-биологических, серологических и вирусологических методов, показала, что значительная часть красных полевков длительно сохраняет непатогенный возбудитель КЭ, вероятно, в виде персистентной инфекции.

Красная полевка — один из доминирующих видов мелких млекопитающих, прокармливающих преимагинальные фазы таежного клеща в лесных ландшафтах Западной Сибири (Равкин, Лукьянова, 1976; Лабзин, 1985; Шубин, 1991). Этот вид является резервуарным хозяином возбудителей многих природно-очаговых инфекций, в частности клещевого энцефалита (КЭ) (Окулова, Мясников, 1979).

Несмотря на интенсивное изучение роли мелких млекопитающих в поддержании природных очагов КЭ, многое во взаимоотношениях компонентов его паразитарной системы остается пока неясным. С одной стороны, роль мелких лесных грызунов и насекомых в поддержании циркуляции возбудителя считается весьма ограниченной, поскольку уровень вирусемии, достаточный для заражения паразитирующих на них клещей, формируется далеко не у всех зверьков и лишь на короткое время (Чунихин, Леонова, 1985). С другой стороны, полагают, что различные виды селективируют штаммы возбудителя с определенными свойствами, внося тем самым вклад в региональные различия популяций вируса по таким признакам, как нейровирулентность (Кисленко и др., 1993).

Цель настоящей работы — на основе многолетнего слежения за популяцией охарактеризовать различные демографические группы красной полевки как прокормителей преимагинальных фаз таежного клеща, а также оценить роль этого вида как резервуарного хозяина вируса КЭ в природных очагах на юго-востоке Западной Сибири.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

**Район исследований.** Исследования проводили на участке, расположенном на стыке подзон подтаежных лесов и северной лесостепи в 30 км к югу от г. Новосибирск. Описание растительности ключевого участка, видовой состав мелких млеко-

питающих и иксодовых клещей подробно приведены в работах Сапегинной с соавт. (1985) и Бахваловой с соавт. (2001).

Отловы красной полевки проводили ежегодно в июне—августе 1989—2001 гг. с использованием ловчих канавок (Наумов, 1955). Канавки с 5 цилиндрами 50 м длины, 20 см ширины, 15 см глубины устраивались в различных лесных местообитаниях. Дополнительно зверьков отлавливали линиями живоловок (Тупикова, 1964), выставившихся по 20 шт. с интервалом 10 м. Осенью, зимой и весной отловы проводили только с использованием живоловок.

Летом пойманных зверьков помещали в бязевые мешочки, плотно завязывали и доставляли в полевую лабораторию, где их осматривали на эктопаразитов по общепринятой методике (Жмаева и др., 1964) и вскрывали для того, чтобы определить видовую принадлежность, пол и генеративное состояние. За весь период наблюдений осмотрены 1372 зверька, с которых собраны 4874 личинки и 370 нимфы таежного клеща *Ixodes persulcatus* Schulze.

Серологическое обследование. У зверьков, доставленных в лабораторию живыми, кровь из перикардальной полости и сердца собирали на диски (в диаметре 1.5 см) из обеззоленной фильтровальной бумаги, подсушивали при комнатной температуре и хранили при  $-15^{\circ}$  до исследования (Karstedt e. a., 1957). Наличие противовирусных антител определяли в боратно-солевых элюатах дисков, как описано в работе Бахваловой с соавт. (2001) с использованием реакции торможения гемагглютинации (РТГА) по общепринятой методике (Clarke, Casals, 1958). Всего за период наблюдений были взяты пробы крови от 593 полевок.

Спонтанная инфицированность вирусом КЭ. В различных вариантах исследованы три группы полевок:

1) 21 зверек, отловленный в октябре 2000 г., их содержали индивидуально в виварии при комнатной температуре и естественном фотопериоде. После поимки у зверьков из ретроорбитального синуса брали пробы крови для определения антител. Клетки, в которых они содержались, опрыскивали 1 %-ной водной эмульсией циперметрина для того, чтобы уничтожить эктопаразитов. В первой декаде мая 2001 г. полевок забивали, вскрывали, брали пробы крови на антитела, а также пробы головного мозга и печени для индикации вируса КЭ.

2) 34 особи, погибшие в ловушках в марте—апреле 1998—2001 гг. при отрицательной температуре. Трупы зверьков хранили при  $-15^{\circ}$  не более 1 мес, после размораживания вскрывали в стерильных условиях и брали пробы головного мозга и печени.

3) 33 особи, отловленные в июне—августе 2001 г. У зверьков брали пробы крови для определения антител к вирусу КЭ. Индикацию вируса КЭ проводили только в головном мозге, который хранили до исследования при  $-70^{\circ}$ .

Еще одна группа из 12 зверьков, отловленных в марте 2001 г., была исследована с использованием комплекса приемов, направленных на активацию персистирующей инфекции. Зверькам двукратно вводили циклофосфан по схеме, описанной Фроловой с соавт. (1982), затем забивали, вскрывали, из головного мозга и печени готовили эксплантаты, которые культивировали две недели (Левина, Погодина, 1981). Далее эксплантаты гомогенизировали в культуральной жидкости и использовали для выявления возбудителя КЭ.

Из проб органов готовили 10 %-ные гомогенаты в 0.9 %-ном растворе NaCl. Детектирование вируса КЭ проводили несколькими методами. Наличие вирусной РНК определяли с использованием обратной транскрипции с полимеразной цепной реакцией (ОТ-ПЦР), вирусного антигена — с использованием иммуноферментного анализа (ИФА) и реакции гемагглютинации (РГА). Наличие патогенного возбудителя выявляли заражением белых мышей ICR массой 6—8 г. Надосадочную жидкость тестируемого гомогената вводили одновременно в мозг и под кожу четырем животным, наблюдали 21 день. На 6—7-е сутки после исходного заражения проводили первый пассаж, для чего из головного мозга двух биопробных мышей готовили 10 %-ные гомогенаты на растворе Хенкса и вводили в мозг следующей группе мышей ICR массой 6—8 г., наблюдали 14 дней. Пробы органов 21 полевки, отловленной в октябре

2000 г., пассировали до уровня второго пассажа. Идентификацию изолятов осуществляли в РТГА и реакции нейтрализации на мышах (Дерябин и др., 1986). Все методы, использованные для детектирования возбудителя, подробно описаны в публикации Бахваловой с соавт. (2001).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Уровень пораженности преимагинальными фазами таежного клеща. В районе исследований личинки и нимфы таежного клеща начинают паразитировать на грызунах во второй—третьей декадах мая, их обилие на зверьках достигает максимума к середине—концу июня, а затем постепенно снижается. После первой—второй декад сентября паразитирование преимагинальных фаз клещей на полевках полностью прекращается.

В изучаемой популяции красных полевок число личинок и нимф таежного клеща, паразитировавших на одном зверьке в мае—августе, варьировало в широких пределах. На одной полевке обнаруживали максимально до 65 личинок, а также до 8 нимф (табл. 1). Приблизительно на 10 % зверьков встречены обе фазы развития клещей. Подсчеты показали, что около одной трети всех собранных с полевок личинок паразитировали одновременно с нимфами (рис. 1). Доля нимф, паразитировавших вместе с личинками, была значительно выше — 81 %.

По уровню пораженности личинками таежного клеща в популяции красных полевок резко выделяются половозрелые самцы как перезимовавшие, так и сеголетки. Индексы обилия этой фазы приблизительно в 2—2.5 раза выше, чем на других демографических группах полевок. Несколько меньше личинок отмечено на половозрелых самках, и меньше всего — на неполовозрелых сеголетках. В группе неполовозрелых сеголеток самки и самцы не различались по показателям обилия личинок. Максимальное обилие нимф было характерно для перезимовавших самцов и самок полевок, однако для этой фазы развития клещей различия по индексам обилия не были достоверными для всех демографических групп хозяев (табл. 1).

Антигемагглютинины к вирусу КЭ выявляли у красных полевок в течение всего летнего периода, приблизительно в те же сроки, когда на зверьках паразитировали личинки и нимфы таежного клеща. Чаще всего зверьки с антителами

Таблица 1

Обилие личинок и нимф таежного клеща на красных полевках (объединенные данные отловов в мае—августе 1989—2001 гг.)

Table 1. Abundance of larval and nymphal taiga ticks on red voles (pooled data of trapping sessions from May to August, 1989—2001)

Демографическая группа	Осмотрено зверьков	Число клещей на одного зверька, min—max		Индекс обилия, M ± SD	
		личинки	нимфы	личинки	нимфы
Самцы					
перезимовавшие	135	0—60	0—6	6.8 ± 9.6*	0.5 ± 1.0
сеголетки половозрелые	154	0—65	0—4	4.2 ± 7.4*	0.2 ± 0.5
сеголетки неполовозрелые	208	0—54	0—5	2.7 ± 3.0	0.1 ± 0.6
Самки					
перезимовавшие	162	0—26	0—8	2.0 ± 3.2	0.3 ± 0.8
сеголетки половозрелые	83	0—16	0—3	1.7 ± 3.0	0.1 ± 0.5
сеголетки неполовозрелые	103	0—27	0—4	2.1 ± 5.0	0.1 ± 0.5

Примечание. \* Различия между всеми половозрелыми самцами и зверьками других демографических категорий достоверны ( $p < 0.001$ , критерий Манн—Уитни).

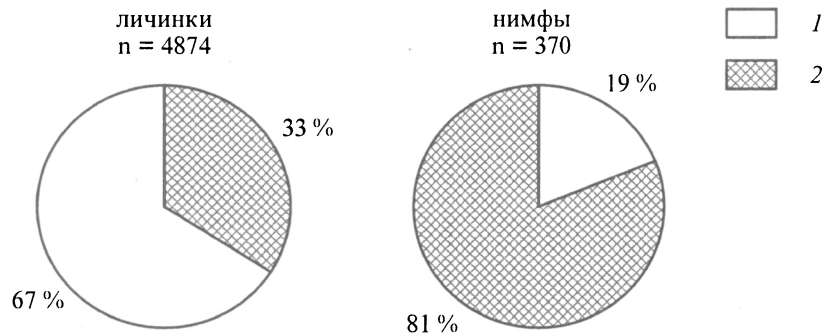


Рис. 1. Доля личинок и нимф таежного клеща, паразитировавших на красной полевке раздельно или совместно с другими фазами.

1 — раздельно; 2 — совместно с другими фазами.

Fig. 1. Percentage of larvae and nymphs of the taiga tick parasitizing on red voles along with or separately from other instars.

встречались в июне, к концу лета их процент уменьшался, но эти различия не были достоверными. За все годы наблюдений процент встречаемости полевков с антигемагглютинидами в мае—августе составил в целом для популяции  $6.1 \pm 1.0 \%$ . Титры антител варьировали от 1 : 10 до 1 : 160, у серопозитивных особей средняя геометрическая величина титров составила  $27.8 \pm 10.0$ .

Изменения процента встречаемости серопозитивных зверьков в различных демографических группах в общих чертах повторяют тенденции, отмеченные для пораженности зверьков клещами: у половозрелых полевков процент особей с антигемагглютинидами был достоверно выше, чем у неполовозрелых зверьков (табл. 2). Однако ни в одной из возрастных групп не было выявлено достоверных различий между самцами и самками по частоте встречаемости зверьков с антителами.

Межгодовые изменения численности полевков, обилия клещей и доли серопозитивных особей. По данным учетов с использованием ловчих канавок, относительная численность красной полевки, усредненная за июнь—август,

Таблица 2

Процент красных полевков с антигемагглютинидами к вирусу КЭ (объединенные данные отловов в мае—августе 1989—2001 гг.)

Table 2. Percentage of red voles with antihemagglutinins against TBE virus (pooled data of trapping sessions from May to August, 1989—2001)

Демографическая группа	Количество проб	Количество зверьков с антителами, %
Самцы		
перезимовавшие	91	$7.7 \pm 2.8$
сеголетки половозрелые	87	$10.3 \pm 3.3$
сеголетки неполовозрелые	101	0
Самки		
перезимовавшие	107	$9.3 \pm 2.8$
сеголетки половозрелые	50	$4.0 \pm 2.8$
сеголетки неполовозрелые	45	$2.2 \pm 2.2$

Примечание. Различия между всеми группами половозрелых зверьков недостоверны, различия между всеми группами половозрелых (за исключением самок-сеголеток) и всеми группами неполовозрелых зверьков достоверны ( $p < 0.05$ , t-критерий для выборочных долей).

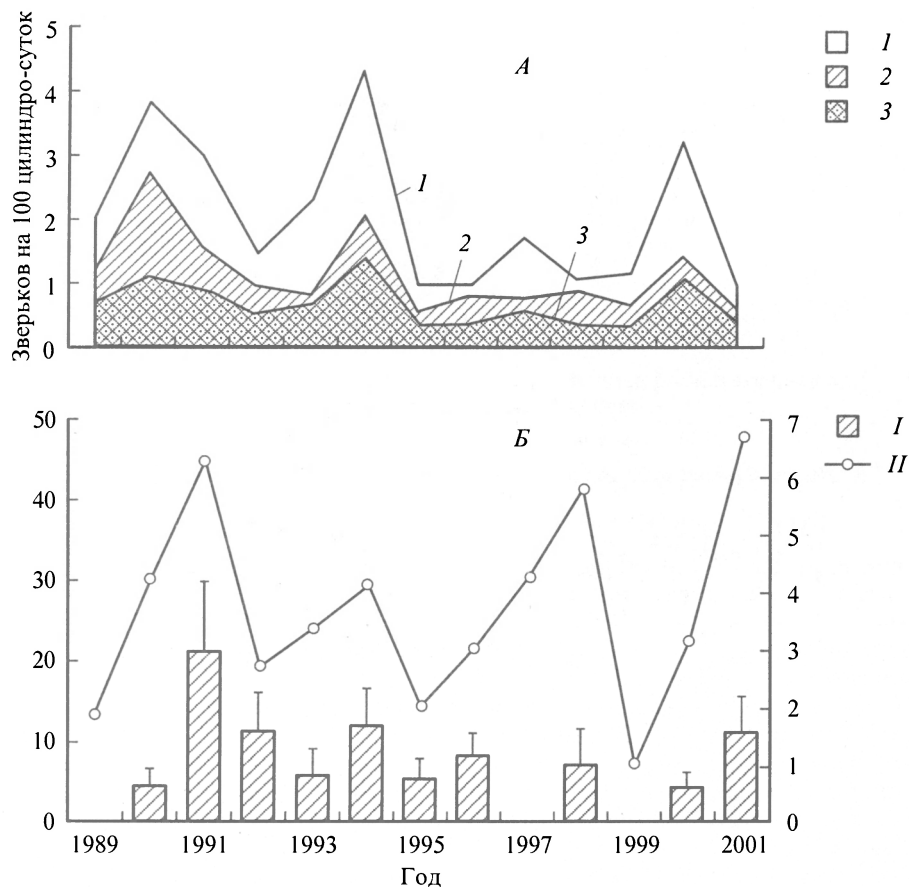


Рис. 2. Динамика относительной численности красной полевки (А), обилия личинок и нимф таежного клеща и прослойки иммунных зверьков (Б).

А: по оси ординат — количество зверьков на 100 цилиндро-суток; 1 — сеголетки неполовозрелые, 2 — половозрелые, 3 — перезимовавшие. Б: по оси ординат: *слева* — серопозитивность, %; *справа* — число клещей на одном зверьке. I — доля серопозитивных зверьков, II — обилие личинок и нимф.

Fig. 2. Dynamics of relative number of red voles (A), abundance of larvae and nymphs of the taiga tick, and proportion of immune animals (B).

варьировала от 1.0 до 4.3 особей на 100 цилиндро-суток. Хотя размах годовых колебаний немногим превышал 4-кратную величину, в динамике популяции четко прослеживаются характерные для многих видов полевок циклы численности с периодом в 3—4 года (рис. 2, А). Период наших наблюдений охватывает четыре цикла численности, за это время индекс обилия личинок варьировал в диапазоне от 1.0 до 6.3, нимф — от 0 до 0.5. Величина иммунной прослойки колебалась в пределах от 0 до  $21.1 \pm 9.8$  %.

Годовые показатели обилия личинок и нимф таежного клеща, а также процент зверьков с антителами не коррелировали с изменениями численности красных полевок. Вместе с тем повышенное обилие клещей на зверьках приходилось в трех случаях на годы, следовавшие за пиками численности полевок, и в одном случае — на пик численности (рис. 2, Б). Минимальные показатели обилия клещей отмечены на фазах минимальной численности или начала роста численности популяции. Межгодовые изменения обилия личинок совпадали с колебаниями величины иммунной прослойки у зверьков ( $r = 0.62$ ,  $p < 0.05$ ). Коэффициент корреляции обилия нимф и процента серопозитивных полевок был также положительным ( $r = 0.37$ ), но незначимым.

Таблица 3

Частота выявления (%) антигемагглютининов и вируса КЭ у красных полевков  
 Table 3. Frequency of detection (%) of antigemagglutinins and TBE virus in red voles

Время отлова	Анти-гемагглютинины (РТГА)	РНК вируса (ОТ-ПЦР)		Оболочечный белок Е (ИФА)		Патогенный вирус (биопроба)
		мозг	печень	мозг	печень	
Октябрь, содержались в виварии до мая	4.8 ± 4.8 (1/21)	66.7 ± 10.5 (14/21)	66.7 ± 10.5 (14/21)	28.6 ± 10.1 (6/21)	42.6 ± 11.0 (9/21)	0 (0/21)
Март—апрель	н. и.	40.0 ± 10.0 (10/25)	37.5 ± 10.1 (9/24)	58.8 ± 12.3 (10/17)	27.3 ± 9.7 (6/22)	0 (0/28)
Июнь—июль	12.1 ± 5.8 (4/33)	54.5 ± 8.8 (18/33)	н. и.	42.4 ± 8.7 (14/33)	н. и.	0 (0/33)

Примечание. В скобках: в числителе — число положительных проб, в знаменателе — количество исследованных проб, н. и. — не исследовали.

Спонтанная инфицированность вирусом КЭ. Исследование 21 полевки, отловленной в октябре и содержащихся в виварии до начала мая, показало, что около двух третей проб мозга и печени содержали РНК вируса КЭ (табл. 3, группа 1). Пример электрофореграммы продуктов ОТ-ПЦР приведен на рис. 3. Антиген (оболочечный белок Е) в пробах печени выявлялся приблизительно с такой же частотой, в пробах мозга — значительно реже. При исследовании мозга перечисленные выше компоненты вируса обнаружены у 15 полевков (71.4 %), одновременное присутствие РНК и антигена выявлены у 5 особей. В пробах печени РНК и (или) антиген выявлены в 19 случаях (90.5 %), а в 9 — одновременно РНК и антиген. Суммарно у всех зверьков в пробах органов были выявлены вирусная РНК и (или) антиген. При первоначальном серологическом обследовании, проводившемся после отлова зверьков, антигемагглютинины не были обнаружены. При вторичном обследовании (в начале мая) в крови

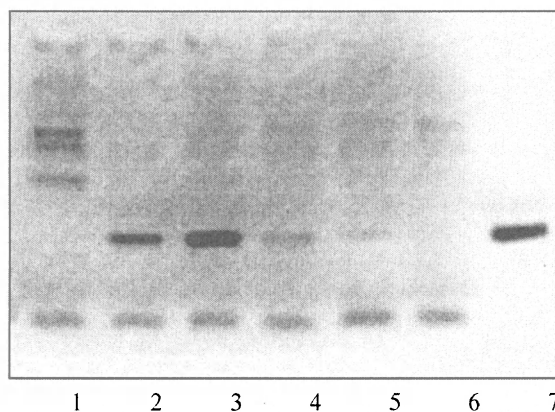


Рис. 3. Детектирование РНК вируса КЭ в мозге красной полевки методом ОТ-ПЦР. Электрофореграмма продуктов реакции в 1 %-ном агарозном геле с последующим окрашиванием бромистым этидием.

Дорожки: 1 — отрицательный контроль (суммарная РНК из мозга интактных мышей ICR), 2—6 — пробы мозга красных полевков, 7 — положительный контроль (суммарная РНК из мозга мышей, зараженных штаммом Софьин вируса КЭ).

Fig. 3. Detection of the tick-borne viral RNA in the brain of red vole by reverse transcription with polymerase chain reaction. Electrophoregram of reaction products in 1 % aragose gel stained with ethidium bromide.

Таблица 4

Результаты серологического обследования и выявления спонтанного вируса КЭ в эксплантатах органов красных полевок, отловленных в марте (n = 12)

Table 4. Results of serological examinations and detection of spontaneous TBE virus in organ explants from red voles, which have been captured in March (n = 12)

Номер зверька	Анти-гемагглютинины в сыворотке крови (титр в РТГА)	Эксплантаты					
		РНК вируса (ОТ-ПЦР)		оболочечный белок Е (титр в ИФА)		патогенный вирус (биопроба)	
		мозг	печень	мозг	печень	мозг	печень
1	—	—	+	—	1 : 5	—	+
2	—	+	+	—	—	—	+
3	—	—	+	—	—	—	+
4	1 : 80	+	—	—	—	+	—
5	1 : 40	—	—	—	—	—	—
6—12	—	—	—	—	—	—	—

Примечание. + — положительный, — — отрицательный результат исследования.

одной полевки были выявлены антигемагглютинины с титром 1 : 20. При исходном заражении и на первом пассаже патогенный для лабораторных мышей (массой 6—8 г) вирус выявить не удалось. Не был также выявлен гемагглютинирующий антиген. При осмотре забитых зверьков и гнездового субстрата из клеток, в которых они содержались, не было обнаружено гамазовых клещей и блох, которые могли бы потенциально служить источником заражения.

Приблизительно такой же была частота обнаружения РНК вируса КЭ и антигена (белка Е) в пробах органов полевок, отловленных в марте—апреле (группа 2) и июне—августе (группа 3) (табл. 3). Для обеих групп частота выявления РНК и (или) белка Е в пробах мозга была одинаковой — 66.6 %, и при этом положительные результаты ОТ-ПЦР совпадали приблизительно в 50 % случаев. С учетом результатов тестирования вируса КЭ в пробах печени зверьков в марте—апреле (в июне—августе печень не исследовали) суммарный процент патогенности, составивший 73.5 %. Серологическое обследование зверьков, отловленных в июне—августе, выявило всего 4 особи с антигемагглютиниными к вирусу КЭ в невысоких титрах (1 : 10—1 : 20), причем вирусная РНК и (или) антиген были обнаружены только у двух из них. Ни в одном случае патогенный вирус и гемагглютинирующий антиген выявить не удалось.

Для группы из 12 красных полевок, отловленных в марте 2001 г., была предпринята попытка активировать вирус КЭ. Серологическое обследование показало, что в крови двух полевок были антигемагглютинины в титрах 1 : 40 и 1 : 80 (табл. 4). В эксплантатах мозга РНК была обнаружена в двух пробах, а в эксплантатах печени — в трех. Одновременно и в мозге, и в печени РНК вируса была выявлена только в пробах от одного зверька, а антиген — в одной пробе печени. Вместе с тем из эксплантатов органов в четырех случаях удалось выделить патогенный для белых мышей вирус КЭ (из печени одной полевки — при исходном заражении мышей, остальные — на первом пассаже). Патогенный возбудитель был изолирован практически от всех проб, в которых детектировали вирусную РНК. Кроме того, в одной пробе печени, от которой был изолирован вирус, был обнаружен и антиген. Таким образом, активация патогенного возбудителя была успешной для проб органов всех четырех полевок, у которых были выявлены вирусная РНК и (или) антиген. Следует отметить, что из двух серопозитивных полевок вирусная РНК и патогенный вирус были выявлены только у одной особи.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Общеизвестно, что основным источником заражения мелких млекопитающих вирусом КЭ является передача возбудителя от личинок и нимф иксодовых клещей в процессе кровососания. Серологические исследования, проведенные в период активности клещей, показали, что нарастание и уменьшение прослойки серопозитивных зверьков происходит вслед за сезонными изменениями обилия преимагинальных фаз на зверьках (Кучерук и др., 1965; Галимов, Катин, 1974). В недавней работе Кисленко и Короткова (1998) показано наличие положительной корреляции между обилием клещей на различных демографических группах грызунов и частотой встречаемости особей с антигемагглютинидами. Сходство тенденций в изменении упомянутых выше показателей выявлено и для изучаемой популяции красной полевки. У неполовозрелых сеголетов, слабо пораженных клещами, антитела обнаруживаются значительно реже по сравнению с участвующими в размножении полевыми, на которых паразитирует значительно больше клещей. Вместе с тем для половозрелых зверьков полного соответствия между обилием клещей и частотой встречаемости гемагглютининов не наблюдается. Несмотря на то что половозрелые самцы интенсивнее всего поражены клещами, по величине иммунной прослойки они не отличаются от половозрелых самок.

Исследования, проведенные в географически удаленных популяциях красных полевок, показали, что прослойка зверьков с антигемагглютинидами в весенне-летний период обычно составляет от 2 до 15 % и лишь в отдельные годы достигает уровня 26 % (Кучерук и др., 1965; Галимов, Катин, 1974; Гутова, Наумов, 1987; Кисленко и др., 1994). Судя по тому что на изучаемой территории величина иммунной прослойки у красных полевок изменялась по годам в этих же пределах, данная популяция принципиально не отличается по частоте контактов с возбудителем КЭ от упомянутых выше. Следует отметить, что при использовании для выявления антител реакции биологической нейтрализации (РБН) доля серопозитивных красных полевок варьировала в более широком диапазоне и превышала зачастую половину всей популяции (Никифоров и др., 1961; Окулова, 1986).

В природных очагах КЭ патогенный возбудитель неоднократно выделяли от диких мелких млекопитающих, в частности от полевок рода *Clethrionomys* (Мясников, 1981). Однако сведения о частоте и успешности выделения вируса от мелких лесных грызунов весьма противоречивы. Даже при использовании высокочувствительных сосунков белых мышей в качестве биопробных животных очень редко удается выделить штаммы возбудителя (Takeda e. a., 1999). Вместе с тем в некоторых публикациях сообщается о получении изолятов патогенного вируса от небольшого числа исследованных зверьков, в частности в зимний период (Феоктистов, 1963; Гильманова и др., 1964).

Наши попытки выделить патогенный (для белых мышей массой 6—8 г) вирус непосредственно из проб органов красных полевок, отловленных в природе, во всех случаях были безуспешными. При этом почти в половине проб была обнаружена вирусная РНК и с несколько меньшей частотой — антиген. Подавление иммунитета введением циклофосфана и последующая эксплантация органов все же позволили выделить патогенный вирус. Таким способом удалось получить изоляты от 4 из 12 красных полевок, отловленных в марте, еще до начала периода активности иксодовых клещей.

Приведенные выше результаты являются дополнительным аргументом в пользу высказанного ранее предположения, что у диких мелких млекопитающих, адаптированных к возбудителю КЭ, заражение часто ведет к формированию персистентной инфекции (Бахвалова и др., 2001). При персистенции вируса КЭ в культуре клеток млекопитающих синтез вирусспецифических РНК и белков, хотя и происходит, но этот процесс не так интенсивен, как при острой инфекции, а сборка полноценных вирионов блокирована (Анджапаридзе и др., 1984). Было показано, что при развитии персистентной инфекции у обезьян иммунный ответ иной, чем при остром забо-



левании: наиболее регулярно выявляются вируснейтрализующие антитела, значительно реже — преципитирующие и антигемагглютинины (Pogodina e. a., 1984). Персистентную инфекцию КЭ изучали главным образом на лабораторных моделях, однако имеются данные, показывающие, что она может формироваться и у естественных хозяев вируса. В частности, у рыжих полевок с помощью метода флюоресцирующих антител антиген в мозге обнаруживали через 6—10 мес после лабораторного заражения (Окулова, 1986). У красных полевок удавалось активировать патогенный для белых мышей вирус через 9 мес после заражения западносибирским штаммом (Бахвалова и др., 1996).

По-видимому, выявленное нами несоответствие между высокой частотой обнаружения вирусной РНК, оболочечного белка Е и низкой частотой выявления антигемагглютининов обусловлено тем, что у красных полевок из природной популяции вирус, как правило, присутствует в персистирующей форме. Вероятно, в связи с этим не выявляется гемагглютинирующий антиген и очень затруднено выделение патогенного возбудителя. Подтверждением тому, что возбудитель способен длительно сохраняться в организме зверьков, служит обнаружение вирусной РНК и антигена у значительной части красных полевок, отловленных в очаге осенью и длительное время содержащихся в виварии без контакта с эктопаразитами.

В литературе имеются сообщения о выявлении антигемагглютининов к вирусу КЭ при серологическом обследовании мелких млекопитающих в период, когда иксодовые клещи неактивны (осенью, зимой или ранней весной) (Галимов, Катин, 1974; Рымалов и др., 1985). Кроме того, в Красноярском крае у значительного процента перезимовавших зверьков антигемагглютинины обнаруживали в мае, когда находки паразитирующих клещей были единичны (Гутова, Наумов, 1987; Кисленко и др., 1993). У красных полевок, исследованных нами на носительство вируса в марте и начале мая, также в нескольких случаях выявляли антигемагглютинины. Возможно, что описанные случаи появления антител и выделения вируса зимой являются следствием спонтанной активации персистирующего возбудителя КЭ. Известно, что активация некоторых вирусов в организме теплокровных может происходить под воздействием стресса (Ожерелков и др., 1986; Ben-Nathan e. a., 1989). Возможно, что и естественные изменения функций иммунной системы животных, связанные с половым созреванием или старением (Лохмиллер, Мошкин, 1999; Moshkin e. a., 2000), а также иммуномодулирующий эффект эктопаразитов, хорошо известный для иксодовых клещей (Gillespie e. a., 2000), могут выступать в качестве факторов, способствующих активации персистирующего возбудителя.

То, что непатогенный вирус КЭ присутствует у подавляющего большинства красных полевок в популяции хорошо согласуется с мнением о том, что передача возбудителя клещам, паразитирующим на их обычных хозяевах, осуществляется преимущественно безвиремийным путем (Алексеев, Чунихин, 1990, 1991; Labuda e. a., 1993). При таком типе передачи вирус поступает в организм паразитирующих клещей с лимфоцитами хозяина-млекопитающего, мигрирующими в очаг воспаления. К числу ведущих факторов, обуславливающих доминирование безвиремийного пути передачи КЭ в природных очагах, относят и характер распределения питающихся клещей на их прокормителях (Randolph e. a., 1999). Благодаря тому что распределение клещей агрегировано и на одних и тех же особях хозяев зачастую прокармливаются как минимум две различные фазы клещей одновременно, эффективный обмен возбудителем осуществляется между клещами одной и той же фазы развития и что самое важное — между одновременно питающимися нимфами и личинками. Не составляет исключения и исследованная нами популяция красной полевки: значительная часть личинок и подавляющее большинство нимф прокармливались одновременно. Судя по величине индексов обилия клещей, зверьки, участвующие в размножении и в первую очередь половозрелые самцы, являются группой прокормителей, на которых такой обмен происходит интенсивнее всего.

Данные многолетних наблюдений в Красноярском крае показали, что из многих параметров паразитарной системы КЭ лишь величина прослойки зверьков с антиге-

магглютиниными коррелирует с заболеваемостью людей (Гугова, Наумов, 1990). Аналогичная связь отмечена и для природных очагов КЭ северной лесостепи Приобья (Добротворский и др., 1994). Примечательно, что средние геометрические титры гемагглютининов изолятов вируса КЭ, выделенных от взрослых клещей *I. persulcatus* на этой территории, возрастали на следующий год после резкого увеличения доли зверьков с антигемагглютиниными среди мелких грызунов и насекомоядных (Бахвалова, Добротворский, 1994). По-видимому, межгодовые изменения величины прослойки зверьков с антигемагглютиниными отражают не частоту заражений, которая на самом деле значительно выше, а, скорее всего, характер инфекционного процесса, протекающего у животных. Различия в частоте выявления антигемагглютининов к вирусу КЭ у неполовозрелых и репродуктивно активных полевок могут быть связаны не только с неодинаковой их пораженностью клещами, а и с тем, что у последних снижен иммунитет, в результате чего инфекция протекает более остро. Вполне вероятно, что одной из основных причин колебаний заболеваемости людей являются сдвиги в патогенности возбудителя, в основе которых лежат изменения активности репликации вируса в популяциях его теплокровных хозяев.

Популяционные исследования с применением иммунологических методов позволили установить, что гуморальный и клеточный иммунитет многих видов диких грызунов претерпевает хорошо выраженные сезонные изменения (Лохмиллер, Мошкин, 1999). Для популяции красной полевки было показано, что гуморальный иммунный ответ на введение чужеродных эритроцитов не одинаков на разных фазах цикла численности и что эти изменения были сопряжены с демографическими изменениями, в частности степени вовлечения сеголетов в размножение (Мошкин и др., 1995; Moshkin e. a., 1998).

В исследуемой популяции красных полевок увеличение доли зверьков с антигемагглютиниными чаще всего отмечали на спаде численности. Окулова (1986) для нескольких видов полевок, исследованных в западных предгорьях Кузнецкого Алатау, также сообщает, что наиболее высокая частота встречаемости особей с вируснейтрализующими антителами приходится на годы пика или спада численности. По наблюдениям некоторых исследователей, активация эпизоотического процесса или эпидемической активности очагов КЭ часто происходит на фоне падения численности популяций лесных грызунов (Шилова, 1963; Токаревич и др., 1975).

На основании этих данных можно пока лишь предполагать, что некоторые внутрипопуляционные механизмы регуляции численности мелких млекопитающих, в которые вовлечены сопряженные изменения скорости полового созревания и иммунитета, влияют на их взаимоотношения с возбудителем КЭ. Нельзя исключить, что в основе колебаний напряженности эпизоотического процесса в природных очагах лежат естественные изменения иммунитета позвоночных-хозяев. Однако следует принимать во внимание, что подобная регуляция в популяциях одного и того же вида в зависимости от конкретных экологических условий может иметь плотностно-зависимый характер или не зависеть от плотности. Примером подобных различий могут служить популяции красной полевки в горной тайге Северо-Восточного Алтая и западносибирской лесостепи (Евсиков, Мошкин, 1994).

Таким образом, в исследованной нами популяции красных полевок доля носителей вируса КЭ значительно больше, чем это удастся косвенно оценить по величине прослойки зверьков с антигемагглютиниными или выявить в биопробе. Полученные результаты дают основания предполагать, что в природных популяциях заражение красных полевок вирусом КЭ ведет, как правило, к формированию персистентной инфекции. При этом возбудитель способен длительное время, сопоставимое с продолжительностью жизни одной генерации полевок, сохраняться в организме зверьков в непатогенной форме. Нельзя исключить, что при естественных изменениях иммунитета хозяев персистирующий вирус способен активироваться и включаться в дальнейшую цепь циркуляции.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 01-04-49535).

### Список литературы

- Алексеев А. Н., Чунихин С. П. Обмен вирусом клещевого энцефалита между иксодовыми клещами, совместно питающимися на животном с подпороговым уровнем вирусемии // Мед. паразитол. 1990. № 2. С. 48—50.
- Алексеев А. Н., Чунихин С. П. Обмен вирусом между питающимися клещами при отсутствии вирусемии у позвоночного хозяина (дистантная передача) // Мед. паразитол. 1991. № 2. С. 50—54.
- Анджапаридзе О. Г., Богомолова Н. Н., Борискин Ю. С. Персистенция вирусов. М.: Медицина, 1984. 251 с.
- Бахвалова В. Н., Добротворский А. К. Межгодовые колебания гемагглютинирующей активности вируса клещевого энцефалита природной популяции // Докл. РАН, 1994. Т. 337, № 2. С. 271—272.
- Бахвалова В. Н., Добротворский А. К., Морозова О. В. Экспериментальное изучение *in vivo* персистенции вируса клещевого энцефалита у красных полевков // Междунар. науч. конф. Вирусные, риккетсиозные и бактериальные инфекции, переносимые клещами. 24—26 сент. 1996 г. Иркутск, 1996. С. 22—23.
- Бахвалова В. Н., Морозова О. В., Добротворский А. К., Панов В. В., Матвеева В. А., Попова Р. В., Коробова С. А. Участие обыкновенной бурозубки *Sorex araneus* L. (Insectivora, Soricidae) в циркуляции вируса клещевого энцефалита на юге Западной Сибири // Паразитология. 2001. Т. 35, вып. 5. С. 376—385.
- Галимов В. Р., Катин А. А. Особенности контакта мелких млекопитающих с вирусом клещевого энцефалита (КЭ) в западной части Западной Сибири // Условия существования очагов клещевого энцефалита в Западной Сибири (Сб. науч. работ). Л., 1974. С. 80—89.
- Гильманова Г. Х., Бойко В. А., Лапшина Г. Н. Участие гамазовых клещей в циркуляции вируса КЭ в природных очагах ТАССР // Мед. паразитол. 1964. № 2. С. 157—161.
- Гутова В. П., Наумов Р. Л. Серологическая характеристика населения мелких млекопитающих в очаге клещевого энцефалита в Западном Саяне и возможность оценки интенсивности эпизоотии по этим данным // Бюл. МОИП. Отд. биол. 1987. Т. 92, № 3. С. 12—17.
- Гутова В. П., Наумов Р. Л. Оценка возможности использования параметров паразитарной системы для прогноза заболеваемости клещевым энцефалитом // Современные проблемы эпидемиологии, диагностики и профилактики клещевого энцефалита. Тез. докл. Всесоюз. симпоз. (18—21 сентября 1990). Иркутск, 1990. С. 66—67.
- Дерябин П. Г., Лебедева Г. А., Логинова Н. В. Реакция нейтрализации тогавирусов на мышах и культурах клеток // Арбовирусы: методы лаб. и полев. исслед. М., 1986. С. 120—126.
- Добротворский А. К., Бахвалова В. Н., Харитоновна Н. Н., Сапегина В. Ф. Динамика параметров паразитарной системы клещевого энцефалита в условиях северной лесостепи Приобья // Сибир. экол. журн. 1994. Т. 1, № 4. С. 369—375.
- Евсиков В. И., Мошкин М. П. Динамика и гомеостаз природных популяций животных // Сибир. экол. журн. 1994. Т. 1, № 4. С. 331—346.
- Жмаева З. М., Земская А. А., Шлугер Е. Г. Кровососущие клещи (Arthropoda, Arachnoidea, Chelicerata) // Методы изучения природных очагов болезней человека. М., 1964. С. 68—89.
- Кисленко Г. С., Коротков Ю. С. О существовании функциональной связи между индексом обилия личинок и нимф переносчика вируса и величиной иммунной прослойки к возбудителю инфекции у мелких грызунов в природном очаге клещевого энцефалита // Зоол. журн. 1998. Т. 77, № 4. С. 504—506.
- Кисленко Г. С., Коротков Ю. С., Чунихин С. П. Мелкие млекопитающие в природных очагах клещевого энцефалита Средней Сибири. Сообщ. 1. Величина иммунной прослойки к возбудителю инфекции среди насекомыхядных и грызунов // Мед. паразитол. 1994. № 4. С. 45—51.
- Кисленко Г. С., Коротков Ю. С., Чунихин С. П., Караванов А. С. Опыт серологического обследования мелких млекопитающих в природном очаге клещевого энцефалита Средней Сибири // Мед. паразитол. 1993. № 3. С. 34—38.
- Кучерук В. В., Пчелкина А. А., Никитина Н. А., Попова В. Д., Суворова Л. Г. Сезонные особенности иммунизации мелких грызунов природного очага клещевого энцефалита в южнотаежных лесах Европейской равнины // Мед. паразитол. 1965. № 3. С. 259—264.
- Лабзин В. В. Паразитирование на млекопитающих // Таежный клещ *Ixodes persulcatus* Schulze (Acarina, Ixodidae). Морфология, систематика, экология, медицинское значение. Л.: Наука, 1985. С. 291—307.

- Левина Л. С., Погодина В. В. Выделение персистирующего вируса КЭ из органов зараженных обезьян методом эксплантации // *Вопр. вирусол.* 1981. № 4. С. 439—442.
- Лохмиллер Р. Л., Мошкин М. П. Экологические факторы и адаптивная значимость иммунитета мелких млекопитающих // *Сибир. экол. журн.* 1999. Т. 6, № 1. С. 37—58.
- Мошкин М. П., Добротворский А. К., Мак В. В., Панов В. В., Добротворская Е. А. Иммунореактивность полевок рода *Clethrionomys* на разных фазах популяционного цикла // *Докл. РАН.* 1995. Т. 345, № 2. С. 280—282.
- Мясников Ю. А. Инфекционные болезни // *Европейская рыжая полевка.* М.: Наука, 1981. С. 268—279.
- Наумов Н. П. Исследование подвижности и оценка численности мелких млекопитающих с использованием ловчих канавок // *Вопросы краевой, общей и экспериментальной медицинской зоологии.* М., 1955. Т. 9. С. 179—202.
- Никифоров Л. П., Левкович Е. Н., Баннова Г. Г. Иммунологическая структура населения мелких млекопитающих природного очага клещевого энцефалита в Козульском районе Красноярского края // *Совещание по вопросам зоологических исследований в природных очагах клещевого энцефалита.* Тез. докл. М., 1961. С. 33—34.
- Ожерелков С. В., Хозинский В. В., Семенов Б. Ф. Течение экспериментальной инфекции, вызванной вирусом Лангат у мышей, на фоне стресса, связанного с ограничением движения // *Вопр. вирусол.* 1986. № 5. С. 634—636.
- Окулова Н. М. Биологические взаимосвязи в лесных экосистемах (на примере природных очагов клещевого энцефалита). М.: Наука, 1986. 248 с.
- Окулова Н. М., Мясников Ю. А. Род *Clethrionomys* Tilesius, 1850 — рыжие или лесные полевки // *Медицинская териология.* М.: Наука, 1979. С. 158—165.
- Равкин Ю. С., Лукьянова И. В. География позвоночных южной тайги Западной Сибири. Новосибирск: Наука, 1976. 360 с.
- Рымалов И. В., Пиванова Г. П., Большакова С. Л., Журавлев Ю. В. Выявление антител к вирусу клещевого энцефалита у рыжих полевок зимой // *Антропогенное воздействие на условия существования природных очагов болезней человека.* МОИП. Матер. совещ. 1983 г. М.: Наука, 1985. С. 95—99.
- Сапегина В. Ф., Доронцова В. А., Телегин В. И., Ивлева Н. Г., Добротворский А. К. Особенности распределения *Ixodes persulcatus* в лесопарковой зоне г. Новосибирска // *Паразитология.* 1985. Т. 19, вып. 5. С. 370—373.
- Токаревич К. Н., Вершинский Б. В., Перфильев П. П. Очерки ландшафтной географии зооантропонозов. Л.: Наука, 1975. 168 с.
- Тупикова Н. В. Изучение размножения и возрастного состава популяций мелких млекопитающих. Методы изучения природных очагов болезней человека. М.: Медицина, 1964. С. 154—191.
- Феокистов А. З. К вопросу о циркуляции вируса клещевого энцефалита в природе // *Мед. паразитол.* 1963. Т. 32, № 1. С. 35—39.
- Фролова Т. В., Погодина В. В., Ларина Г. И., Кармышева В. Я. Активирующий эффект циклофосфана на поздних этапах персистенции вируса клещевого энцефалита // *Вопр. вирусол.* 1982. № 5. С. 634—636.
- Чунихин С. П., Леонова Г. Н. Экология и географическое распространение арбовирусов. М.: Медицина, 1985. 127 с.
- Шилова С. А. О возможности прогнозирования заболеваемости клещевым энцефалитом // *Мед. паразитол.* 1963. № 3. С. 296—301.
- Шубин Н. Г. Экология млекопитающих юго-востока Западной Сибири. Новосибирск: Наука, 1991. 261 с.
- Ben-Nathan D., Lustig S., Feuerstein G. The influence of cold or isolation stress on neuroinvasiveness and virulence of an attenuated variant of West Nile virus // *Arch. Virol.* 1989. Vol. 109, N 1-2. P. 1—10.
- Gillespie R. D., Mbow M. L., Titus R. G. The immunomodulatory factors of bloodfeeding arthropod saliva // *Parasite Immunol.* 2000. Vol. 22, N 7. P. 319—331.
- Clarke D. H., Casals J. Techniques for hemagglutination and hemagglutination-inhibition with arthropod-borne viruses // *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 1958. Vol. 7, N 5. P. 561—573.
- Karsted L., Splatin J., Hanson R. P. Application of the paper technique to the collection of whole blood and serum samples in studies on eastern equine encephalomyelitis // *Infect. Dis.* 1957. Vol. 101, N 3. P. 295—299.
- Labuda M., Jones L. D., Williams T., Danielova V., Nuttall P. A. Efficient transmission of tick-borne encephalitis virus between co-feeding ticks // *J. Med. Entomol.* 1993. Vol. 30, N 1. P. 295—299.

- Moshkin M. P., Dobrotvorskyy A. K., Mak V. V., Panov V. V., Dobrotvorskaya E. A. Variability of immune response to heterologous erythrocytes in population cycles of red (Clethrionomys rutilus) and bank (Cl. glareolus) voles. *Oikos*. 1998. Vol. 82, N 1. P. 131—138.
- Moshkin M. P., Gerlinskaya L. A., Evsikov V. I. The role of the immune system in behavioral strategies of reproduction // *J. Reprod. Development*. 2000. Vol. 46, N 6. P. 341—365.
- Pogodina V. V., Bochkova N. G., Levina L. S. Persistence of tick-borne encephalitis virus in monkeys. Some features of the immune response // *Acta virol.* 1984. Vol. 28, N 5. P. 407—415.
- Randolph S. E., Miklisova D., Lysy J., Rogers D. J., Labuda M. Incidence from coincidence: Patterns of tick infestations on rodents facilitate transmission of tick-borne encephalitis // *Parasitology*. 1999. Vol. 118, N 2. P. 177—186.
- Takeda T., Ito T., Osada M., Takahashi K., Takashima I. Isolation of tick-borne encephalitis virus from wild rodents and a seroepizootiologic survey in Hokkaido, Japan // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1999. Vol. 60, N 2. P. 287—291.

Институт систематики и экологии животных СО РАН  
Новосибирский институт биоорганической химии СО РАН

Поступила 22.03.2002

INTERRELATIONS OF TICKS IXODES PERSULCATUS  
AND TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS  
WITH THE RED VOLE (CLETHRIONOMYS RUTILUS)  
IN WESTERN SIBERIA

V. N. Bakhvalova, O. V. Morozova, V. A. Matveeva, V. V. Panov,  
L. E. Matveev, A. K. Dobrotvorskyy

*Key words:* red vole, taiga tick, tick-borne encephalitis, host-parasite interactions, population.

SUMMARY

We present the data of 12-year survey (1989—2001) of the red vole population in southeastern West Siberia, including estimation of host relative numbers, abundance of immature taiga ticks, and percentage of animals with antigemagglutinins against tick-borne encephalitis (TBE) virus. We discuss the role of demographic groups of voles as tick's hosts and their participation in the maintenance of TBE causative agent population. The estimation of spontaneous TBE infection rate in summer as well as in winter and early spring seasons, which have been made using a set of molecular-biological, serological and virological methods, demonstrates that a high proportion of red voles maintain non-pathogenic TBE causative agent over a long time, presumably, in the form of persistent infection.