

УДК 579.895.42 : 576.858.25

ТИТРЫ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА
У НАПИТАВШИХСЯ ВЗРОСЛЫХ КЛЕЩЕЙ
IXODES PERSULCATUS

Э. И. Коренберг, А. А. Пчелкина

Приведены результаты титрования взрослых вирусоформных клещей *Ixodes persulcatus*, собранных в различных природных очагах клещевого энцефалита и индивидуально накормленных на лабораторных животных, а также результаты титрования клещей этого же вида, первично зараженных на лабораторных животных во время вирусемии. Прослежены изменения титра вируса у напитавшихся клещей до момента яйцекладки. Обсуждается значение содержания вируса у сытых клещей для процесса циркуляции возбудителя в природных очагах.

Сущность сложных процессов циркуляции вируса в природных очагах клещевого энцефалита (КЭ) сводится, как подчеркивал Е. Н. Павловский (1963), к закономерному воспроизведению популяции возбудителя. В этой связи особое значение он придавал судьбе вируса в клещах — переносчиках, заложив основы ее экспериментального изучения (Павловский, Соловьев, 1940, 1941). Опубликованный недавно обзор (Наумов и др., 1980) показывает, что они пока еще остаются весьма фрагментарными. Особенно мало сведений о титрах вируса у клещей, заразившихся естественным путем (т. е. при кровососании на животных), в частности о его концентрации у напитавшихся самок, дающих начало новой генерации.

В любом природном очаге КЭ среди голодных клещей имеются зараженные и незараженные особи. Они могут накармливаться порознь или совместно на позвоночных животных в период вирусемии или при ее отсутствии. Комбинации указанных условий в конечном счете определяют титры вируса у напитавшихся клещей сразу после их насыщения. Эти явления, принципиально важные для познания закономерностей существования популяции вируса, практически почти не изучены.

Материалы, изложенные в настоящей работе, имеют целью: а) охарактеризовать титры вируса КЭ у спонтанно зараженных самок таежного клеща после их насыщения на незараженных лабораторных животных; б) оценить возможные титры вируса у напитавшихся клещей, получивших вирус при кровососании на зараженных лабораторных животных; в) выявить общий характер изменений титра вируса у самок с момента их насыщения до начала яйцекладки.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Спонтанную зараженность самок таежного клеща, собранных с растительности в природных очагах Кировской и Тюменской обл., а также Хабаровского края, выявляли методом индивидуального кормления на лабораторных белых мышах или золотистых хомячках. После насыщения клещей мозг животных-доноров исследовали на наличие вируса пассажем на белых мышах. Идентификация выделенных штаммов произведена в реакции нейтрализации с гипериммунными сыворотками к эталонному штамму «Софьин» вируса КЭ, а также с помощью РПГА и РСК по общепринятой методике. Всего путем индивидуального кормления исследовано 218 клещей, из которых 47 содержали вирус КЭ (см. таблицу).

Титрование вируса в напитавшихся клещах во всех случаях осуществлено на белых мышах массой 6 г. С этой целью из клещей готовили суспензию и центрифугировали ее при 3000 об./мин в течение 5 мин. Надосадочную жидкость в разведениях от 10^{-1} до 10^{-10} вводили мышам интродуцируемо по 0.03 мл и наблюдали за ними в течение двух недель. Результаты титрования выражали через $\lg LD_{50/ic}$ по Риду и Менчу.

Титры вируса КЭ у спонтанно зараженных самок, накормленных на лабораторных животных

Место сбора клещей	Число накормленных клещей	Из них зараженных	Титр вируса КЭ у напитавшихся клещей ($\lg LD_{50/0.03}$)		
			минимальный	максимальный	средний
Кировская обл.	99	7	1.0	2.6	1.7 ± 0.3
Тюменская обл.	30	12	1.0	4.1	1.9 ± 0.4
Хабаровский край	89	28	1.0	4.6	2.1 ± 0.4

Для первичного заражения клещей использована их «чистая» лабораторная культура и штамм вируса КЭ «Софьин», исходный титр которого составлял $9.5 \pm 0.3 \lg LD_{50/0.03}$. Клещей кормили на зараженных белых мышах или золотистых хомяках. В день подсадки клещей мышам под кожу головы вводили по 0.1 мл, а хомячкам — внутрибрюшинно по 0.2 мл заражающего материала в разведении 10^{-2} . На 2-й день питания клещей у животных-доноров определяли интенсивность вирусемии путем титрования крови на белых мышах. Напитавшихся клещей исследовали через 5 дней после отпадения, а в опыте по определению титра вируса в отдаленные после кормления сроки — и через каждые последующие 5 дней вплоть до яйцекладки. Клещи для этого эксперимента были накормлены на хомячках, титр вируса в крови которых составлял 3—5 $\lg LD_{50/0.03}$. В общей сложности протитрована 61 самка, напитавшаяся на зараженных лабораторных животных.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В таблице приведены итоги титрования напитавшихся самок таежного клеща, спонтанная зараженность которых была выявлена индивидуальным кормлением. Эти клещи во время кровососания заразили лабораторных животных, что доказано выделением вируса от последних. Тем не менее сразу после насыщения титр вируса у них был значительным и у разных особей составлял от 1 до 4.6 $\lg LD_{50}$ (см. таблицу). Учитывая небольшое число протитрованных клещей из Кировской обл., а также определенную ошибку точности самого метода титрования, можно, очевидно, считать, что средний титр вируса у клещей из разных природных очагов был примерно одинаков и составлял около 2 $\lg LD_{50}$.

Титры вируса у напитавшихся клещей, первичное заражение которых произошло при кровососании на лабораторных животных, на 5-й день после их отпадения варьировали в значительных пределах (рис. 1). В целом неплохо прослеживается зависимость содержания возбудителя в клещах от интенсивности вирусемии у животных-доноров. Примененный нами способ титрования не выявил вирус у клещей, накормленных на мышах и хомячках с содержанием его в крови последних менее 3 $\lg LD_{50}$. Эти факты хорошо согласуются с экспериментальными данными других исследователей (Думина, 1958; Кондрашова, 1969, 1970; Кондрашова, Котельникова, 1975) о важном значении уровня вирусемии или концентрации вируса в поглащаемом клещами заражающем материале для возможности и интенсивности их инфицирования. Вместе с тем важно подчеркнуть, что у большинства сытых самок, первично заразившихся во время кровососания на животных с напряженной вирусемией, титр вируса оказался выше, чем у клещей, содержащих вирус еще до кормления и накормленных на «чистых» животных. Максимальные показатели содержания вируса у клещей,

накормленных на инфицированных мышах, составляли 6 и более $\lg LD_{50}$ (рис. 1, А), а у особей кормившихся на инфицированных хомячках — около 7 $\lg LD_{50}$ (рис. 1, Б).

На рис. 2 изображены два варианта изменений среднего титра вируса у клещей с момента их насыщения до яйцекладки. Заражающее кормление было произведено в разные месяцы. В связи с этим яйцекладка после него произошла у одной партии клещей примерно через 30, а у другой — почти через 69 дней. В обоих случаях после заражения у сытых самок наблюдалось увеличение титра

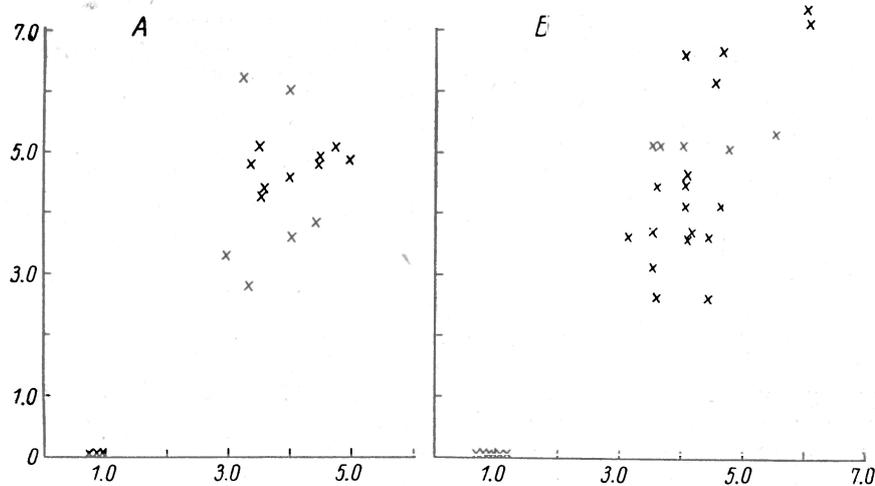


Рис. 1. Зависимость титра вируса КЭ у напитавшихся самок *I. persulcatus* от интенсивности вирусемии у белых мышей (А) и золотистых хомячков (Б), на которых кормились клещи.

По оси абсцисс — титры вируса у животных-доноров; по оси ординат — у напитавшихся клещей ($\lg LD_{50}$).

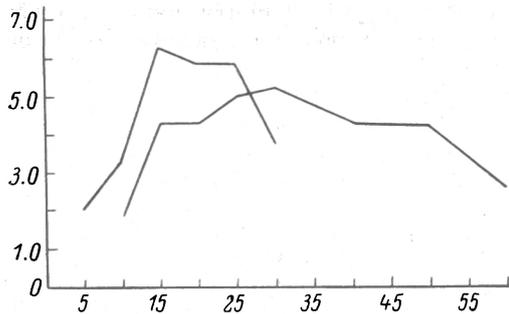
(размножение) вируса с 2 примерно до 5—7 $\lg LD_{50}$, а затем его уменьшение. В результате непосредственно перед яйцекладкой содержание вируса у самок оказалось на 1—1.5 \lg больше, чем сразу после заражающего кормления.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты титрования спонтанно зараженных клещей и экспериментальные данные, на наш взгляд, прежде всего свидетельствуют о том, что, очевидно, в любом природном очаге титры вируса у зараженных особей варьируют в широких пределах. Эта внутрипопуляционная вариабельность, по всей видимости, обусловлена различными вариантами изменений содержания вируса в клещах в зависимости от напряженности вирусемии у животных-прокормителей, исходным уровнем вирусофорности самих клещей, а также различной судьбой возбудителя в клещах разного абсолютного возраста и физиологического состояния. Членистоногие с различным содержанием вируса несомненно имеют неодинаковое значение в поддержании его дальнейшей циркуляции, а уровень инфекциозности голодных имаго, как можно представлять, должен иметь важное эпидемиологическое значение. Из этого следует, что для характеристики истинного уровня зараженности популяции клещей совершенно недостаточно единственного и качественного по своей сути показателя (их доли с вирусом), который многие годы используют при анализе динамики эпизоотического и эпидемиического процессов. Разработка полевых и лабораторных методик, позволяющих оценить численность популяции вируса КЭ, как и других возбудителей природно-очаговых инфекций, представляется важной и неотложной задачей.

Хотя материалы, использованные нами для выявления естественной зараженности клещей методом их индивидуального кормления, не особенно велики, обращает внимание тот факт, что во всех случаях этот метод демонстрирует значительно большую вирусофорность, чем проведенные параллельно весьма репрезентативные вирусологические исследования голодных имаго из тех же очагов и в те же годы пулами по 10 экз. с последующим подсчетом индивидуальной зараженности по формуле В. Н. Беклемишева (1963). Так, в Кировской обл.

по результатам кормления на лабораторных животных (см. таблицу) индивидуальная зараженность клещей была около 7%, а, по данным исследования, пулов — 0.1—0.9% (Пчелкина и др., 1970). Для Хабаровского края эти показатели составляют соответственно более 30% (исходные цифры см. в таблице) и 0.1—3.4% (Коренберг и др., 1979). По всей видимости, исследование голодных клещей пулами общепринятым методом биопроб не позволяет учесть особей,



имеющих небольшой титр вируса, но достаточный для заражения восприимчивых лабораторных животных при индивидуальном кормлении на них таких клещей. Как показы-

Рис. 2. Изменение титра вируса КЭ у напивавшихся клещей.

По оси абсцисс — число дней после полного насыщения; по оси ординат — средний титр вируса (Lg LD₅₀).
Объяснения см. в тексте.

вают наши эксперименты, в целом совпадающие с экспериментальными данными по *I. ricinus* (Benda, 1958), сразу после насыщения, а возможно, уже и при кровососании у зараженных клещей происходит интенсивное размножение вируса КЭ. Поэтому о наличии в природных очагах значительного числа голодных членистоногих с небольшим титром вируса свидетельствуют особи, у которых даже после кровососания он составлял не более 1 lg LD₅₀. Роль этой части зараженных переносчиков в эпизоотическом и эпидемическом процессах нуждается в дальнейшем изучении.

Титр вируса у напивавшихся самок на завершающих этапах овогенеза, по всей видимости, определяет возможность трансвариальной передачи возбудителя и количественные характеристики ее эффективности. В этой связи, на наш взгляд, чрезвычайно существенно, что самки, заразившиеся во время кровососания на животных-донорах, обычно имели больше вируса, чем самки, накормленные на «чистых» животных, которые уже были зараженными к моменту кровососания. Это свидетельствует о необходимости периодического «подзаражения» клещей в природном очаге для существования популяции возбудителя, на что уже неоднократно обращали внимание многие исследователи. Можно предполагать, что особенно высокими должны быть титры вируса у напивавшихся клещей, которые, будучи зараженными до насыщения, получили дополнительно определенную дозу возбудителя при кровососании в момент вирусемии у прокормителя. По всей видимости, в природе именно такие самки имеют наибольшее значение в процессе трансвариальной передачи возбудителя. Зараженность новой генерации клещей, очевидно, зависит не только от количества напивавшихся вирусифорных самок (Коренберг, Ковалевский, 1977), но и от титра вируса, который они содержат.

ВЫВОДЫ

1. Титры вируса КЭ у спонтанно зараженных самок таежного клеща после их насыщения, а также у напивавшихся особей, первично заразившихся при кровососании на лабораторных животных, варьируют в значительных пределах.

2. Как у предварительно зараженных особей, так и у клещей, первично заразившихся при кровососании, после насыщения происходит размножение вируса. Непосредственно перед яйцекладкой титр вируса несколько выше, чем сразу после насыщения.

3. Можно предполагать, что показатели интенсивности трансвариальной передачи вируса КЭ существенно зависят от его титра у напивавшихся клещей. В таком случае уровень зараженности новой генерации должен зависеть не только от общего числа напивавшихся вирусифорных самок, но и от количественного соотношения среди них особей с различным титром вируса.

Литература

- Беклемишев В. Н. К изучению зараженности клещей — переносчиков энцефалита методом биопробы. — *Вопр. вирусол.*, 1963, № 2, с. 240—242.
- Бенда Р. В е н д а R. Обычный клещ *Ixodes ricinus*, как резервуар вируса и переносчик клещевого энцефалита. II. Экспериментальная передача энцефалита лабораторным животным клещами на разных фазах их развития. — *Журн. гигиены, эпидемиол., микробиол. и иммунол.*, Прага, 1958, т. 2, с. 467—480.
- Думина А. Л. Экспериментальное изучение зараженности клеща *Ixodes persulcatus* вирусом клещевого энцефалита при кровососании на иммунных животных. — *Вопр. вирусол.*, 1958, № 3, с. 156—159.
- Кондрашова З. Н. Сравнительное изучение специфичности взаимоотношений некоторых вирусов комплекса клещевого энцефалита с клещом *Ixodes persulcatus* P. Sch. — В кн.: Матер. 16-й науч. сессии Ин-та полиомиелита и вирусных энцефалитов. Вып. 2. Арбовирусы. М., 1969, с. 16—17.
- Кондрашова З. Н. Изучение факторов, влияющих на поведение вируса клещевого энцефалита в клеще *Ixodes persulcatus*. — В кн.: Клещевой энцефалит и другие природно-очаговые инфекции. Свердловск, 1970, с. 22—27.
- Кондрашова З. Н., Котельникова Г. М. Поведение вируса клещевого энцефалита в клещах *Ixodes persulcatus* разного происхождения. — *Мед. паразитол. и паразитарн. болезни*, 1975, № 1, с. 25—29.
- Коренберг Э. И., Ковалевский Ю. В. Общая схема циркуляции вируса клещевого энцефалита. — *Зоол. журн.*, 1978, т. 56, № 10, с. 1467—1478.
- Коренберг Э. И., Ковалевский Ю. В., Кузиков И. В., Пчелкина А. А., Бусоедова Н. М., Рейчук Е. А., Медведева Г. И., Тимошенко В. И., Савельева Н. А., Лев М. И., Плотникова Л. Ф., Суворова Л. Г., Бушуева Л. К. Основные итоги разведки природных очагов болезней человека в Амур-Буреинской части БАМ. — *ЖМЭИ*, 1979, № 5, с. 34—38.
- Наумов Р. Л., Гугова В. П., Чунихин С. П. Иксодовые клещи и возбудитель клещевого энцефалита. Сообщ. 1. Взаимоотношения вируса с клещами рода *Ixodes*. — *Мед. паразитол. и паразитарн. болезни*, 1980, № 2, с. 17—23.
- Павловский Е. Н. На чем основывается существование природного очага болезни на свойственной ему территории. — *Зоол. журн.*, 1963, т. 42, № 3, с. 321—325.
- Павловский Е. Н., Соловьев В. Д. Экспериментальные исследования над циркуляцией вируса клещевого энцефалита в организме клеща-переносчика (*Ixodes persulcatus*). — *Арх. биол. наук*, 1940, т. 59, № 1—2, с. 111—117.
- Павловский Е. Н., Соловьев В. Д. О циркуляции вируса весенне-летнего энцефалита в организме клеща-переносчика *Haemaphysalis concinna*. — *Тр. ВМА*, 1941, т. 25, с. 9—18.
- Пчелкина А. А., Коренберг Э. И., Земская А. А., Суворова Л. Г., Ковалевский Ю. В. Изучение вирусофорности *Ixodes persulcatus* P. Sch. в очагах клещевого энцефалита восточно-европейских южнотаежных лесов. — В кн.: Второе акарол. совещ. Ч. 2. (Тез. докл.). Киев, Наукова думка, 1970, с. 97—98.

НИИ эпидемиологии и микробиологии
им. Н. Ф. Гамалеи АМН СССР, Москва

Поступило 31 VIII 1983

TITERS OF THE TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS IN ENGORGED ADULT TICKS OF *IXODES PERSULCATUS*

E. I. Korenberg, A. A. Pchelkina

SUMMARY

The results of titration of adult virus infected ticks of *Ixodes persulcatus* are given. The ticks were collected in various natural nidi of tick-borne encephalitis and individually fed on laboratory animals. The results of titration of ticks of the same species primarily infected on laboratory animals during viremia are given as well. Changes of the virus titer in engorged ticks were observed till the egg production. A role of the presence of virus in engorged ticks for the process of the agent circulation in natural nidi is discussed.