

6. Avsic-Zupanc T. Hantaviruses and hemorrhagic fever with renal syndrome in Balkans // *Factors in the emergence and control of rodent-born viral diseases*. Paris, 1999. P. 93–98.
7. Bernshtein A.D., Apekina N.S., Mikhailova T.V. et al. Dynamics of Puumala hantavirus infection in naturally infected bank voles (*Clethrionomys glareolus*) // *Arch Virol*. 1999. Vol. 44, issue 12. P. 2415–2428.
8. Easterbrook J.D., Klein S.L. Immunological mechanisms mediating hantavirus persistence in rodent reservoirs // *PLoS pathogens*. 2008. Vol. 4, issue 11. P. 1–8.
9. Hedman K., Vahery A., Brummer-Korvenkontio M. Rapid diagnosis of hantavirus disease with IgG-avidity assay // *Lancet*. 1991. Vol. 338. P. 1313–1356.
10. Hutchinson K.L., Rollin P. E., Peters C. J. Pathogenesis of a North American hantavirus, Black Creek Canal, in experimentally infected *Sigmodon Hispidus* // *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 1998. Vol. 59. P. 58–65.
11. Lee H.W. Emergence and control of hantavirus diseases // *Хантавирусы и хантавирусные инфекции*. Владивосток, 2003. С. 20–55.
12. Meyer B., Schmaljohn C.S. Persistent hantavirus infections: characteristics and mechanisms // *Trends in microbiol*. 2000. Vol. 8. No. 2. P. 61–67.
13. Safronetz D., Lindsay R., Hjelle B. et al. Use of Ig G avidity to indirectly monitor epizootic transmission of Sin Nombre virus in deer mice (*Peromyscus maniculatus*) // *Amer. J. Trop. Med., Hyg*. 2006. Vol. 75, issue 6. P. 1135–1139.
14. Vapalahti O., Mustonen J., Lundkvist A. et al. Hantavirus infections in Europe // *Lancet. Infect. Dis*. 2003. Vol. 3, No. 10. P. 653–661.
15. Zhang Y.Z., Xiao D.L., Wang Y. et al. The epidemic characteristics and preventive measures of hemorrhagic fever with renal syndrome in China // *Chin. J. Epidemiol*. 2004. Vol. 25, No. 6. P. 466–469.

Поступила в редакцию 16.02.2010.

EPIDEMIOLOGY OF HANTAVIRUS AND EPIZOOTIC PROCESS IN APODEMUS GENUS MICE POPULATIONS

R.A. Slonova, T.V. Kushnareva, G.G. Kompanets, I.G. Maksema, O.V. Iunikhina, E.L. Kushnarev
Research Institute of Epidemiology and Microbiology, SB RAMS
(1 Selskaya St. Vladivostok 690087 Russia)

Summary – The authors provide data concerning epidemiologic and epizootic manifestations of Hantavirus infection within the Primorsky Krai territory being enzootic for the pathogenous Hunt viruses Hantaan and Amur. Observations of the population number and contamination rate of *Apodemus genus* mice that are reservoir animals of hemorrhagic fever with renal syndrome pathogens allow to identify indicators of epizooty activity level that influences the epidemiological process. There is a tie between annual and seasonal dynamics of the morbidity rate and the dynamics of a number of field and Korean field mice infected with Hantavirus with acute infection that are a source of human infection in natural nidi of hantavirus infection caused by various pathogen types.

Key words: Hantavirus, epidemic process, epizootic process, natural nidi.

Pacific Medical Journal, 2010, No. 3, p. 34–37.

УДК 578.833.29:616.98-036.22

ХАНТАВИРУСЫ ВО ВНЕШНЕЙ СРЕДЕ В ПРИРОДНЫХ ОЧАГАХ ХАНТАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Т.В. Кушнарева, Р.А. Слонова, О.В. Иунихина, Е.Л. Кушнарев

НИИ эпидемиологии и микробиологии СО РАМН (690087 г. Владивосток, ул. Сельская, 1)

Ключевые слова: хантавирусы, экология, эпизоотология, эпидемиология.

Проведены исследования по выявлению хантавирусной РНК в пробах субстратов внешней среды из природных очагов геморрагической лихорадки с почечным синдромом. Грызуны и образцы почвенной подстилки были собраны в различных типах смешанных лесов. Образцы воздуха с пылевыми частицами получены из сельских надворных строений. Детекцию антигена и РНК хантавирусов проводили в иммуноферментном анализе и полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией. Впервые присутствие хантавирусной РНК выявлено в образцах компонентов внешней среды: почвенной подстилке (из кедрово-широколиственного леса) и пробах воздуха (из погреба и помещения для содержания скота). При этом условия окружающей среды были ассоциированы со слабой солнечной радиацией, низкой и стабильной температурой воздуха и высокой влажностью почвенной подстилки. Полученные результаты обеспечивают научный базис для изучения естественных механизмов трансмиссии хантавирусов в популяциях грызунов-хозяев и к людям. Детекция хантавирусной РНК на субстратах внешней среды может быть использована для непрямого мониторинга эпидемического риска энзоотических территорий.

Природными резервуарами хантавирусов и источниками заражения людей являются в основном

Кушнарева Татьяна Валерьевна – с. н. с. лаборатории ГЛПС НИИЭМ СО РАМН (690087 г. Владивосток, ул. Сельская, 1); тел.: 8 (4232) 44-18-88, e-mail: atavalk@inbox.ru

мышевидные грызуны. Характер течения хантавирусной инфекции в организме резервуарных хозяев для установленных к настоящему времени серотипов возбудителей, по мнению некоторых авторов, универсален [12]. Более полные данные получены в условиях эксперимента на моделях: «рыжая полевка *Clethrionomus (Myodes) glareolus* – вирус *Puumala*», «полевая мышь *Apodemus agrarius* – вирус *Hantaan*», «оленья мышь *Peromyscus maniculatus* – вирус *Sin Nombre*» [5, 6, 8, 11, 13]. В ходе экспериментальных исследований показано, что хантавирусная инфекция у грызунов протекает как персистирующая (хроническая), без видимых клинических проявлений; иммунитет у животных нестерильный, антитела полностью не подавляют размножение вируса; вирус и/или вирусный антиген обнаруживаются в большинстве внутренних органов; выделение вируса из организма грызунов происходит со слюной, мочой и калом. Это создает возможность горизонтальной трансмиссии инфекции в популяциях грызунов-носителей прямым (контактным) и непрямым (аэрогенным) способами [3, 9]. Аэрогенный путь заражения хантавирусом человека является одним из основных.

Таблица

Результаты исследования проб субстратов внешней среды на присутствие РНК хантавируса

Надворные постройки	Пробы воздуха с пылевыми частицами		Природные ландшафты (участки отлова грызунов)	Пробы почвы с растительной подстилкой	
	всего	РНК+		всего	РНК+
Погреб	6	2	Лещиново-леспедецевые заросли	4	0
Чердак	4	0	Островной дубняк	4	0
Амбар с зерном	6	0	Дубово-широколиственный лес	4	0
Коровник	4	1	Широколиственный лес по долине	4	0
Свинарник	4	0	Кедрово-широколиственный лес (рубленный)	6	1
Веранда дома	4	0	Коренной кедрово-широколиственный лес	6	2
Теплица	6	0	Хвойно-широколиственный лес	6	0
<i>Всего:</i>	34	3	<i>Всего:</i>	34	3

Наиболее интенсивное размножение хантавируса в организме хозяина и выделение его с секретами и экскретами во внешнюю среду происходят в первые месяцы после заражения животных [6, 8, 11]. Как показали эксперименты, в этот период источником заражения служили не только сами инфицированные особи, но и зараженный ими гнездовой материал. Познание механизма циркуляции разных серотипов/генотипов хантавирусов в природе, их трансмиссии в популяциях экологических хозяев и к человеку требует выявления периодов их активного выделения, распространения и условий сохранения на конкретных для каждого вида инфекции территориях. Однако к настоящему времени представлено немного работ по выявлению хантавируса в органах выделения и экскретах естественно инфицированных мышей рода *Apodemus* [2, 4, 11], а информация о возможности выявления хантавирусов на субстратах внешней среды в природных очагах геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС) ограничена [10].

Целью данного исследования являлась детекция субвирионных компонентов хантавируса на субстратах из внешней среды природных очагов хантавирусных инфекций на территории Приморского края.

Материал и методы. Образцами субстратов из внешней среды послужили 25 проб сена и соломы со скошенных полей и лугов, 24 пробы почвы и 34 пробы почвы с растительной подстилкой из естественных убежищ, прикорневых пустот и прилегающих к ним территорий. Пробы воздуха (34) с пылевыми частицами из сельских надворных построек отбирали в 10 мл культуральной жидкости в течение 10 мин с помощью аспиратора для забора воздуха (модель 822 отечественного производства) со скоростью просасывания воздуха 20 л в мин.

Диких мышевидных грызунов отлавливали с помощью стандартного метода ловушко-линий осенью и весной-летом 2008–2009 гг. От 144 особей для иммунохимических и молекулярно-генетических исследований были взяты легкие и органы выделения. Число отловленных и инфицированных зверьков в пересчете на 100 ловушко-ночей (л/н) служило по-

казателем относительной численности и инфицированности грызунов. Детекцию хантавирусного антигена в 10%-ной суспензии ткани органов грызунов проводили с помощью иммуноферментного анализа, используя коммерческую тест-систему «Хантагност» производства Института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН. Детекцию РНК хантавирусов в исследуемых образцах органов грызунов и образцах субстратов из внешней среды проводили с помощью метода полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией. Экстракцию тотальной РНК, постановку полимеразной цепной реакции и электрофоретическую детекцию продуктов амплификации выполняли с помощью наборов реагентов «Вектор-Бест» и «АмплиСенсR *Hantavirus*» по инструкции производителей. Визуальную индикацию продуктов полимеразной цепной реакции осуществляли методом электрофореза в 1,5%-ном агарозном геле в присутствии бромида этидия.

Результаты исследования. При полимеразной цепной реакции с образцами тотальной РНК, экстрагированной из проб субстратов внешней среды, РНК хантавируса была выявлена в пробах почвы, содержащих мелкие остатки хвойно-лиственной подстилки (табл., рис.). РНК-положительные пробы были взяты в октябре и начале июня недалеко от естественных убежищ грызунов в смешанном кедрово-широколиственном лесу с хорошо выраженным подлеском и нижним ярусом на территории Кавалеровского и Ольгинского районов Приморского края. Во время забора образцов почвенная подстилка была влажной, температура воздуха в октябре ночью опускалась до $-2-0^{\circ}\text{C}$, а днем не поднималась выше $6-8^{\circ}\text{C}$, в начале июня ночные температуры составляли $2-4^{\circ}\text{C}$, а дневные – $8-10^{\circ}\text{C}$. Необходимо отметить, что РНК-положительные пробы почвенной подстилки были взяты на ловушко-линиях с высокой относительной численностью инфицированных восточноазиатских мышей ($5,2$ особи на 100 л/н, из которых $66,7 \pm 7,8\%$ имели антиген к РНК хантавируса в органах секреции и экскреции). Высокая относительная численность инфицированных восточноазиатских мышей отме-

чена в хвойно-широколиственном лесу (5,2 особи на 100 л/н), при этом она была в 3,7 раза выше, чем в дубово-широколиственном лесу (1,4 особи на 100 л/н). В то же время в этих типах природных ландшафтов относительная численность *A. peninsulae* была примерно одинаковой и составила 14,2 и 13,8 особи на 100 л/н (в хвойно-широколиственном и дубово-широколиственном лесу соответственно). Наиболее низкие показатели относительной численности и инфицированности восточноазиатских мышей были получены в мелколиственно-широколиственном лесу: 4,3 и 1,1 особи на 100 л/н соответственно.

Подтверждением присутствия хантавирусов во внешней среде энзоотичных территорий в период забора проб субстратов могут служить результаты обнаружения хантавирусного антигена и РНК хантавируса в органах выделения у инфицированных восточноазиатских мышей. Субвирионные компоненты были выявлены в легких у $20,1 \pm 3,3\%$ мышей; в слюнных железах, почках и кишечнике с его содержимым их выявляли соответственно в 2,3, 4,5 и 2,2 раза реже, чем в легких. У одной особи субвирионные компоненты хантавируса были обнаружены в мочевом пузыре и его содержимом.

Пробы воздуха с пылевыми частицами были отобраны в мае 2006 г. в надворных постройках (коровнике, свинарнике, амбаре, погребе и т.д.) нескольких сел Спасского района. В этих населенных пунктах, расположенных недалеко от культивируемых полей и границы с хвойно-широколиственным лесом, регистрировались случаи заражения людей ГЛПС и отлавливались инфицированные хантавирусом мыши рода *Arodemus*. При исследовании методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией образцов общей РНК, экстрагированной из проб воздуха с пылевыми частицами, хантавирусная РНК была обнаружена в пробах, взятых в отдельно стоящих строениях-погребах и помещении для содержания домашнего скота (табл., рис.).

Обсуждение полученных данных. Способность вирусов, носимых грызунами, сохранять инфекционные свойства вне организма хозяина имеет важное эпизоотологическое и эпидемиологическое значение. Выявление субвирионных компонентов хантавируса вне организма мышевидных грызунов – носителей вируса служит доказательством присутствия хантавируса во внешней среде очаговых территорий.

Обнаружение РНК хантавируса в пробах почвы с хвойно-лиственной подстилкой, взятых в кедрово-широколиственном лесу, где в это время была отмечена самая высокая численность инфицированных восточноазиатских мышей, может свидетельствовать о выделении вируса из организма хозяина и его не прямой трансмиссии через субстраты внешней среды в популяции *A. peninsulae*. Подтверждением эпидемиологических данных о воздушно-пылевом пути заражения людей ГЛПС служат находки РНК хантавируса в пробах воздуха с пылевыми частицами, взятых в

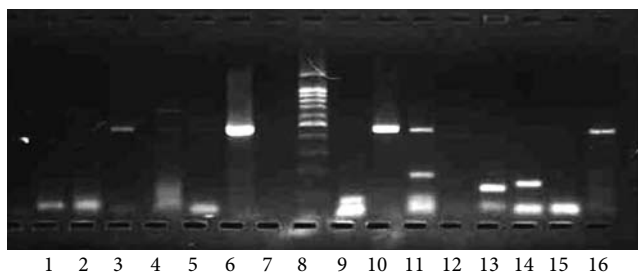


Рис. Результаты исследования проб воздуха с пылевыми частицами и почвы с растительной подстилкой на инфицированность хантавирусом в полимеразной цепной реакции:

1–5 – пробы воздуха с пылевыми частицами; 6 – положительный контроль; 7 – отрицательный контроль; 8 – маркер молекулярных масс; 11 – контроль выделения тотальной РНК; 9–16 – пробы почвы с почвенной подстилкой; 3, 10, 16 – РНК-положительные образцы.

надворных постройках сельских населенных пунктов, расположенных на энзоотичных территориях.

Вопрос о длительности сохранения инфекционных свойств хантавирусов, выделенных инфицированными животными во внешнюю среду, пока остается открытым. По данным экспериментальных наблюдений в условиях хранения при разных температурных режимах и влажности, была показана способность вируса *Puumala* сохранять свои инфекционные свойства более трех месяцев при 4°C и до 2 недель – при комнатной температуре в подстилке клеток, где содержались инфицированные животные [11]. Во влажных условиях эксперимента вирус *Hantaan* оставался инфекционным в течение 96 дней при 4°C и 9 дней – при 20°C [7]. Экспериментально установлена способность хантавирусов адсорбироваться на сорбентах природного происхождения и образцах почвы из природных очагов ГЛПС [1].

Учитывая, что в местах отбора РНК-положительных проб отмечены благоприятные условия внешней среды (высокая влажность хвойно-лиственной подстилки, низкая и стабильная температура воздуха и слабая солнечная радиация под нижним растительным ярусом в кедрово-широколиственном лесу), можно сделать предположение о сохранении хантавируса вне организма хозяина в течение определенного периода, продолжительность которого предстоит изучить в дальнейшем. Относительно стабильная влажность и без резких колебаний прохладная температура воздуха, а также слабая освещенность помещений, где в пробах воздуха с пылевыми частицами обнаружена РНК хантавируса, могут являться благоприятными факторами для сохранения возбудителя и заражения людей в надворных постройках.

Полученные нами результаты создают основу для изучения экологии вирусов, а также естественного способа передачи возбудителей нетрансмиссивных зоонозов в популяциях их резервуарных хозяев и к людям. Характеристика биотических и абиотических факторов, ассоциированных с присутствием РНК хантавируса на субстратах внешней среды, может быть использована для оценки потенциальной эпидемической опасности на конкретных энзоотичных территориях. Детекция

РНК хантавируса вне организма природного хозяина может внести научно обоснованную корректировку в перечень рекомендованных противоэпидемических мероприятий, и в первую очередь при наличии концентрации инфицированных животных, включая, помимо их отлова, обработку объектов внешней среды в помещениях закрытого типа.

Литература

1. Иунихина О.В., Компанец Г.Г., Слонова Р.А. Способность хантавируса адсорбироваться на почвообразующих минеральных частицах // Дальневосточный журн. инфекц. патол. 2008. № 13. С. 134–138.
2. Кушнарева Т.В., Компанец Т.Т., Максема И.Г. и др. Обнаружение хантавирусов – возбудителей ГЛПС в выделениях естественно инфицированных мышей рода *Arodemus* // Дальневосточный журн. инфекц. пат. 2008. № 13. С. 130–134.
3. Кушнарева Т.В., Слонова Р.А. Роль прямого пути передачи хантавирусов – возбудителей геморрагической лихорадки с почечным синдромом среди мышей рода *Arodemus* // Тихоокеанский мед. журн. 2008. № 2. С. 57–60.
4. Слонова Р.А., Кушнарев Е.Л., Косой М.Е. и др. Характер персистенции возбудителя ГЛПС в организме природного хозяина и связь ее с эпизоотическим и эпидемическим процессами // Вопр. вирусол. 1990. № 3. С. 250–253.
5. Botten J., Mirowsky K.Ye.C., Gottlieb K. et al. Shedding and intracage transmission of *Sin Nombre hantavirus* in the deer mouse (*Peromyscus maniculatus*) model // J. Virol. 2002. Vol. 76. P. 7587–7594.
6. Gavrilovskaya I. N., Apekina N. S., Bernshtein A. D. et al. Pathogenesis of hemorrhagic fever with renal syndrome virus infection and mode of horizontal transmission of hantavirus in bank voles // Arch. Virol. 1990, Suppl. 1. P. 57–62.
7. Hardestam J., Simon M., Hedlund K. et al. Ex vivo stability of the rodent-borne Hantaan virus in comparison to that of art-borne members of Bunyaviridae family // Applied and Environmental Microbiol. 2007. Vol. 73, No. 8. P. 2547–2551.
8. Hutchinson K.L., Rollin P.E., Peters C.J. Pathogenesis of a North American hantavirus, Black Creek Canal, in experimentally infected *Sigmodon hispidus* // Am. J. Trop. Med. Hyg. 1998. Vol. 59. P. 58–65.
9. Kallio E. R., Klingstrum J., Gustafsson E. et al. Prolonged survival of *Puumala hantavirus* outside the host: evidence for indirect transmission via the environment // J. Gen. Virol. 2006. Vol. 87. P. 2127–2134.
10. Kushnareva T., Iunikhina O., Slonova R. A preliminary study of the hantaviral RNA presence in an air samples from rural buildings // Control epidemiological of illnesses transmitted by vectors. Argentina, 2007. P. 47.
11. Lee H. W., Lee P. W., Baek L. J. et al. // Am. J. Trop. Med. Hyg. 1981. Vol. 30. P. 1106–1112.
12. Meyer B.J., Schmaljohn C.S. Persistent hantavirus infections: characteristics and mechanisms // J. Trends Microbiol. 2000. Vol. 8. P. 61–67.
13. Yanagihara R., Amyx L., Gajdusek D.C. Experimental infection with *Puumala virus*, the etiologic agent of *nephropathia epidemica*. In bank voles (*Clethrionomus glareolus*) // J. Virol. 1985. Vol. 55. P. 34–38.

Поступила в редакцию 19.02.2010.

HANTAVIRUSES IN ENVIRONMENT OF NATURAL HANTAVIRAL INFECTION FOCI

T.V. Kushnareva, R.A. Slonova, O.V. Iunikhina, E.L. Kushnarjev
Science Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Siberian Branch of RAMS (1 Selskaya St. Vladivostok 690087 Russia)

Summary – The hantaviral RNA in environment samples from foci of hantaviral infections was investigated. Rodent and soil litter samples were collected in different types of mixed forests. Air samples with dusty particles were obtained by air-collector from village buildings. Detection of hantaviral antigen and RNA were carried out by IFA and RT-PCR. For the first time the presence of hantaviral RNA was revealed in environment samples: soil litters (from cedar-broadleaf forest) and air samples (from cold-cellar and cow-shed). Under sampling environment conditions were associated with weak sun radiation, low and stability air temperatures and high moisture litter. Obtained results provide the scientific basis for the study of the natural mechanism of transmission of hantaviral infections in rodent-host populations and to humans. Detection of hantaviral RNA on environment components may be used to the indirectly monitoring on epidemic risk of enzootic territories on Hemorrhagic fever with renal syndrome.

Key words: hantavirus, ecology, epizootiology, epidemiology.

Pacific Medical Journal, 2010, No. 3, p. 37–40.

УДК 616.61-002.151:616.98:578.833.29(571.63)

ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ СМЕШАННОГО ОЧАГА ХАНТАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ НА ТЕРРИТОРИИ ВЛАДИВОСТОКСКОГО ГОРОДСКОГО ОКРУГА

Г.Г. Компанец¹, И.Г. Максема¹, О.В. Иунихина¹, Т.В. Кушнарева¹, Т.В. Хоменко², Г.П. Мурначев², Р.А. Слонова¹

¹ НИИ эпидемиологии и микробиологии СО РАМН (690087 г. Владивосток, ул. Сельская, 1),

² Владивостокское отделение Приморской противочумной станции (690065 г. Владивосток, ул. Морозова, 7а)

Ключевые слова: геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, хантавирусы, Хантаан, Амур.

Многолетние исследования показали, что на территории Владивостокского городского округа длительно функционирует смешанный очаг хантавирусной инфекции с циркуляцией трех патогенных для человека хантавирусов, однако ведущая роль в этиологии геморрагической лихорадки с почечным синдромом принадлежит вирусу Сеул. Случаи заболевания, связанные с вирусами Хантаан и Амур, имеют выраженную территориальную привязанность к сохранившимся природным биотопам.

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) остается актуальной проблемой для здравоохранения Российской Федерации вследствие ежегодной регистрации во многих регионах страны случаев заболевания, нередко протекающих в тяжелой форме с летальными исходами, а также отсутствия специфических средств профилактики и лечения данной инфекции.

В Дальневосточном регионе Приморский край является одной из эндемичных по ГЛПС территорий, а показатели ежегодной заболеваемости здесь