

УДК616.98:578.833.29]-06:616.61-008.6]-02:599.323:574.3(571.63)

Т.В. Кушнарева, Р. А. Слонова

НИИ эпидемиологии и микробиологии СО РАМН (г. Владивосток)

РОЛЬ ПРЯМОГО ПУТИ ПЕРЕДАЧИ ХАНТАВИРУСОВ - ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ СРЕДИ МЫШЕЙ РОДА *APODEMUS*

Ключевые слова: геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, хантавирусы, прямой путь передачи, природный очаг.

Представлены данные по многолетней динамике активности эпизоотического процесса и интенсивности внутривидовой агрессии в популяциях грызунов *Apodemus peninsulae* и *Apodemus agrarius* — резервуаров этиологических агентов геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС) на территории Приморского края. Прямой путь передачи хантавирусов, ассоциированный с агрессивными контактами в популяциях разных видов рода *Apodemus*, имеет наибольшее значение в весенне-летний период во время высокой численности грызунов, в большей степени среди половозрелых самцов. Наблюдение за уровнем внутривидовой агрессии в популяциях грызунов-носителей патогенных хантавирусов может быть рекомендовано в качестве одного из дополнительных тестов для оценки активности природных очагов ГЛПС.

Род *Hantavirus* (сем. *Bunyaviridae*) включает более 25 серологически и/или генетически отличающихся друг от друга вирусов, каждый из которых в природных условиях эволюционно ассоциирован с одним видом мелких млекопитающих [3, 11]. На юге Дальнего Востока России в природных очагах циркулируют патогенные хантавирусы *Far East* и *Amur* (грызуны-носители — полевая мышь *Apodemus agrarius* и восточно-азиатская мышь *Apodemus peninsulae* соответственно), которые вызывают у людей геморрагическую лихорадку с почечным синдромом (ГЛПС) [2, 14]. Как известно, существование активного очага инфекции возможно лишь при непрерывной циркуляции возбудителя между хозяевами через факторы внешней среды или при непосредственном контакте с инфицированными носителями.

Установлено, что грызуны, инфицированные хантавирусами, обычно не проявляют клинических признаков болезни, являются носителями вируса в течение длительного периода как животные-резервуары и выделяют его с секретами слюнных желез и экскрементами (моча, фекалии) во внешнюю среду с высоким уровнем выделения в первый месяц после заражения [6, 9, 13]. Возможность передачи инфекции непрямой путем через факторы контаминированной окружающей среды показана на примере вирусов *Hantaan* и *Puumala* [4, 8, 10]. Для передачи вируса через инфицированную слюну из-за ее небольшого объема необходимы прямые контакты между грызунами, которые связывают в основном с агрессивными стычками между особями одного вида. В ряде работ сообщалось о трансмиссии патогенных хантавирусов *Puumala* и *Sin Nombre* при агрессивном поведении среди рыжих полевок (*Clethrionomus glareolus*) и оленьих мы-

шей (*Peromyscus maniculatus*) соответственно [5, 7, 12]. Данных о роли агрессивных контактов среди мышей рода *Apodemus* в передаче вирусов *Far East* и *Amur* не имеется. Поскольку ГЛПС в настоящее время является одним из наиболее распространенных в Евразии вирусных нетрансмиссивных зоонозов, актуальность исследований различных аспектов эпизоотологии этой инфекции не вызывает сомнения.

Целью настоящей работы было выяснение особенностей, интенсивности и эпизоотологического значения внутривидовой агрессии в популяциях *A. agrarius* и *A. peninsulae* — основных резервуаров патогенных хантавирусов в природных очагах на территории Приморского края.

Для характеристики активности эпизоотии хантавирусной инфекции в популяциях мышей рода *Apodemus* использованы материалы многолетних зоологических и эпизоотологических исследований, проведенных на очаговых территориях Приморского края. Всего было отловлено 13647 мышевидных грызунов шести видов, в том числе 6940 — полевых и 3193 — восточно-азиатских мышей. При регистрации внутривидовой агрессии обследовано 3346 экземпляров грызунов рода *Apodemus*, из них 2250 — полевых и 1096 — восточно-азиатских мышей, отловленных на стационарных участках в типичных местах обитания этих видов грызунов. Ежегодную активность эпизоотического процесса в популяциях грызунов-носителей оценивали с помощью следующих показателей:

- 1) процентная доля данного вида грызуна в отлове;
- 2) процент антигенположительных зверьков от особей данного вида и от всех инфицированных в отлове;
- 3) средней геометрического титра (СГТ) антигена в \log_2 для данного вида.

Детекцию хантавирусного антигена в 10% суспензии ткани легкого и других органов грызунов проводили с помощью иммуноферментного анализа, используя коммерческую тест-систему «Хантагност» производства Института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН (г. Москва). Присутствие антител к хантавирусам в сыворотках крови и/или настоях сердец грызунов выявляли с помощью непрямого метода флуоресцирующих антител по общепринятой методике, используя в качестве вторичных антител антивидовые иммуноглобулины, меченные ФИТЦ, производства Института эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи (г. Москва). Индекс avidности специфических антител определяли

Таблица 1

Сезонная динамика относительного показателя внутривидовой агрессии в популяциях мышевидных грызунов

| Вид грызуна | Сезон отлова | Кол-во обследованных | | | | ОПва, М±m | |
|----------------------------|--------------|----------------------|-------|--------------------|-------|-----------|----------|
| | | всего | | с порванными ушами | | самцы | самки |
| | | самцы | самки | самцы | самки | | |
| Род <i>Apodemus</i> | Весна | 428 | 427 | 87 | 71 | 20,3±1,9 | 16,6±1,8 |
| | Лето | 657 | 496 | 80 | 42 | 12,2±1,3 | 8,5±1,2 |
| | Осень | 600 | 564 | 40 | 31 | 2,3±0,6 | 5,5±0,9 |
| <i>Apodemus agrarius</i> | Весна | 332 | 290 | 64 | 47 | 19,3±2,3 | 16,2±2,2 |
| | Лето | 320 | 235 | 32 | 20 | 10,0±1,7 | 8,5±1,8 |
| | Осень | 457 | 440 | 30 | 19 | 6,6±1,2 | 4,3±1,0 |
| <i>Apodemus peninsulae</i> | Весна | 96 | 137 | 23 | 24 | 24,0±4,3 | 17,5±3,2 |
| | Лето | 337 | 261 | 48 | 22 | 14,2±1,9 | 8,4±1,7 |
| | Осень | 143 | 124 | 12 | 10 | 8,4±2,3 | 8,0±2,4 |

по разнице в титре антител до и после обработки препаратов-слайдов 8М раствором мочевины (Hedman et al., 1991). На момент отлова активными вирусносителями считали зверьков с наличием антигена хантавируса в легком и/или антител низкой avidности в крови.

Возможность выделения возбудителя хантавирусной инфекции во внешнюю среду из организма природного хозяина со слюной устанавливали с помощью молекулярно-генетических исследований по обнаружению вирусной РНК в органах секреции *A. peninsulae* и *A. agrarius*. Общую РНК экстрагировали из органов, взятых от антиген- и серопозитивных мышей. Для выделения суммарной РНК использовали набор реагентов «ВектоРНК-экстракция». Выявление вирусной РНК проводили с помощью реакции обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции с последующей визуальной индикацией продуктов методом гель-электрофореза в 1,2% агарозном геле в присутствии бромида этидия с использованием тест-системы «Векто-Ханта-РНК-ампли». Полимерно-цепную реакцию проводили в nested-варианте, используя набор из 4 праймеров S-гена, группспецифичных к вирусам *Hantaan* и *Amur*.

Проявление прямых агрессивных контактов среди грызунов в наших исследованиях регистрировалось с помощью метода подсчета особей с порванными ушами (статус «порванные уши»), при этом учитывался тот факт, что выемки на кромке ушной раковины в результате агрессивных стычек имеют рваный вид, в случае присасывания личинок и нимф иксодовых клещей — округлый. Применение этого метода было обусловлено данными экспериментов по ссаживанию мышевидных грызунов одного и разных видов [1], которые показали, что в результате внутривидовых стычек наиболее часто страдает целостность ушной раковины, в то время как межвидовые контакты мышевидных грызунов, по сравнению с внутривидовыми, принципиально реже приводят к агрессивным погрызам. За относительный показатель внутривидовой агрессии (ОПва) принималось число особей со статусом «порванные уши» в пересчете на 100 обследованных особей данной популяции грызунов.

Определение доверительной вероятности (P) проводили по таблице критерия Стьюдента (t). Статистически достоверными различия считали при $P < 0,05$. Данные представлены как средняя величина плюс-минус стандартное отклонение. Корреляционную связь выявляли с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена, используя программный пакет Statistica.

Анализ активности эпизоотического процесса на разных фазах популяционной динамики экологически разных видов грызунов рода *Apodemus* показал, что периоды низкой активности эпизоотического процесса в популяциях полевой мыши, как правило, совпадали с периодами высокой активности эпизоотии в популяциях восточно-азиатской мыши. В популяциях восточно-азиатской мыши в интенсивности эпизоотии наблюдалась 3—4-летняя цикличность, при этом периоды ее высокой активности отмечены в фазу пика численности грызунов. Процент антигенпозитивных особей в эти годы составил в среднем $14,7 \pm 0,9\%$, СГТ антигена — $4,5 \log_2$. В годы низкой активности эпизоотии, наблюдавшейся, как правило, в фазу депрессии численности грызунов, процент антигенпозитивных особей в среднем составил $1,9 \pm 0,2\%$, СГТ антигена — $1,7 \log_2$. В динамике эпизоотического процесса в популяциях полевой мыши отмечена более сложная цикличность: выраженный пик активности на фоне менее значительных 2—3-летних ее подъемов и периодов спада. В год выраженного пика число антигенпозитивных особей составило $12,8 \pm 0,7\%$, а СГТ антигена — $4,7 \log_2$. В годы спада активности эпизоотии показатели были гораздо ниже: доля антигенпозитивных особей — $2,8 \pm 0,3\%$, СГТ антигена — $1,6 \log_2$.

При анализе многолетней динамики интенсивности прямых агрессивных контактов в популяциях *A. agrarius* и *A. peninsulae*, отличающихся сезонным разграничением местообитания [1], средний относительный показатель внутривидовой агрессии для *A. agrarius* составил $10,4 \pm 0,6$, для *A. peninsulae* — $13,5 \pm 1,0$. При этом среднегодовые значения ОПва варьировали в широких пределах: в популяциях

Таблица 2

Относительный показатель внутривидовой агрессии в разных возрастно-функциональных группах грызунов рода *Apodemus*

| Вид, группа | Кол-во грызунов | | ОПва, М±т |
|----------------------|-----------------|--------------------|-----------|
| | всего | с порванными ушами | |
| <i>A. agrarius</i> | 2250 | 235 | 10,4±0,6 |
| Неполовозрелые | 925 | 24 | 2,6±0,5 |
| в т.ч. самцы | 473 | 7 | 1,5±0,6 |
| самки | 452 | 17 | 3,8±0,9 |
| Половозрелые | 1325 | 211 | 15,9±1,0 |
| в т.ч. самцы | 738 | 128 | 17,3±1,4 |
| самки | 587 | 83 | 14,1±1,4 |
| <i>A. peninsulae</i> | 1096 | 148 | 13,5±1,0 |
| Неполовозрелые | 454 | 23 | 5,1±2,0 |
| в т.ч. самцы | 214 | 7 | 3,3±1,2 |
| самки | 240 | 16 | 6,7±1,6 |
| Половозрелые | 642 | 125 | 19,5±3,1 |
| в т.ч. самцы | 360 | 73 | 20,3±2,1 |
| самки | 282 | 52 | 18,4±2,3 |

полевой мыши — от 7,4±1,9 до 15,6±2,5, в популяциях восточно-азиатской мыши — от 6,3±2,0 до 27,9±2,3.

Выявлена прямая тесная связь между интенсивностью внутривидовой агрессии и динамикой популяционной численности грызунов рода *Apodemus* с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена ($r=0,9478$). Значения ОПва в годы пика/спада численности и годы депрессии/начала подъема численности составили в популяциях *A. agrarius* 12,5±0,8 и 7,6±1,3 соответственно, в популяциях *A. peninsulae* — 18,8±1,6 и 6,3±2,5 соответственно.

При изучении сезонной динамики интенсивности внутривидовой агрессии в популяциях обоих видов грызунов рода *Apodemus* получена сходная картина: максимальные значения ОПва регистрировались весной, более низкие — летом и минимальные — осенью (табл. 1). Весной значение этого показателя было достоверно выше, чем летом и осенью: в популяциях *A. agrarius* — в 1,9 и 3,2 раза, в популяциях *A. peninsulae* — в 1,7 и 2,5 раза соответственно. При этом отмечено, что среднегодовые сезонные значения ОПва в популяциях *A. peninsulae* были выше, чем в популяциях *A. agrarius*.

У обоих видов рода *Apodemus* особи со статусом «порванные уши» значительно чаще встречались в группах половозрелых самцов и самок по сравнению с группами самцов и самок, не достигших этого состояния (табл. 2). Среди незрелых особей объектами агрессии чаще становились самки, в то время как в группе зрелых особей средний много-

летний ОПва у самцов был выше, чем у самок. Отмечено, что во всех возрастно-функциональных группах (зрелые самцы, зрелые самки, незрелые самцы, незрелые самки) среднее значение ОПва было выше у *A. peninsulae*, чем у *A. agrarius*.

При сравнительном анализе инфицированности грызунов с разным состоянием целостности ушной раковины выявлены достоверные различия между группой особей с порванными ушами и группой особей с целыми ушами по показателю их инфицированности (табл. 3). Суммарная инфицированность мышей обоих видов рода *Apodemus* в группе особей со статусом «порванные уши» (20,9±2,1%) превышала таковую в группе особей с целыми ушами (9,4±1,1%) в 2,2 раза. При этом инфицированность грызунов с порванными ушами была выше инфицированности грызунов с целыми ушами в популяциях *A. agrarius* в 2,1 раза (18,7±2,5 и 8,8±0,6% соответственно), в популяциях *A. peninsulae* — в 2,3 раза (24,3±3,5 и 10,7±1,0% соответственно).

Свидетельством острой стадии инфекции на момент отлова у грызунов с разным состоянием целостности ушной раковины могут служить данные вирусологических и молекулярно-генетических исследований: обнаружение антигена хантавируса и вирусной РНК в слюнных железах и органах выделения, а также присутствие специфических антител низкой avidности в крови у инфицированных мышей. В период острого проявления инфекции с активной диссеминацией вируса с секретами и экскретами во внешнюю среду распространение хантавирусов *Amur* и *Far East* в популяциях их природных хозяев, по-видимому, может происходить через горизонтальную трансмиссию, по всей вероятности, и при прямых контактах, в том числе при агрессивных взаимодействиях через инфицированную слюну.

Результаты исследований показали, что на интенсивность внутривидовой агрессии среди мышей рода *Apodemus* оказывают заметное влияние демографические, популяционные и сезонные факторы. Более широкий диапазон и высокие значения ОПва у *A. peninsulae* по сравнению с *A. agrarius*, по-видимому, связаны с резкими колебаниями популяционной численности грызунов этого вида, обусловленными в значительной степени кормовыми и погодными

Таблица 3

Инфицированность мышей рода *Apodemus* с порванными и целыми ушами

| Вид и пол | Кол-во грызунов | | | | | |
|----------------------|--------------------|----------------|---------------------------|----------------|----------------|---------------------------|
| | с порванными ушами | | | с целыми ушами | | |
| | всего | инфицированных | инфицированность, % (М±т) | всего | инфицированных | инфицированность, % (М±т) |
| <i>A. agrarius</i> | 235 | 44 | 18,7±5,1 | 2015 | 178 | 8,8±1,2 |
| Самцы | 135 | 30 | 22,2±7,1 | 1076 | 108 | 10,0±1,8 |
| Самки | 100 | 14 | 14,0±6,9 | 939 | 70 | 7,4±1,8 |
| <i>A. peninsulae</i> | 148 | 36 | 24,3±7,0 | 948 | 102 | 10,7±2,0 |
| Самцы | 80 | 25 | 31,2±10,4 | 494 | 68 | 13,8±3,1 |
| Самки | 68 | 11 | 16,2±8,9 | 454 | 34 | 7,5±2,4 |

факторами в разных ландшафтных зонах Приморского края. Так, по данным многолетних стационарных наблюдений, относительная численность полевой мыши в годы пика доходила до 15, а в годы депрессий не опускалась ниже 6 особей в пересчете на 100 ловушко-суток. Средняя относительная численность восточно-азиатской мыши в годы пика составила 22 особи, в годы депрессии — 1–2 особи на 100 ловушко-суток, то есть амплитуда колебания превышала двадцатикратную отметку. Согласно полученным данным, половозрелые особи в весенний и летний сезоны в структуре популяций мышей рода *Apodemus* составляли $95,8 \pm 0,9$ и $76,4 \pm 1,0\%$ соответственно, а в группе особей со статусом «порванные уши» — $99,5 \pm 0,6$ и $90,5 \pm 2,6\%$ соответственно. Ранее в экспериментальных исследованиях также были отмечены более частые агрессивные взаимодействия между зверьками одного вида мышевидных грызунов весной и летом в период размножения, чем осенью и зимой [1].

На основании данных по инфицированности зверьков с разным состоянием целостности ушной раковины можно предположить, что агрессивные контакты могут являться одним из механизмов прямой передачи хантавирусов в популяциях мышей рода *Apodemus*, в большей степени в весенне-летний период в фазу пика численности грызунов. Инфицированная часть популяций *A. agrarius* и *A. peninsulae* в весенне-летний период была представлена в основном половозрелыми особями ($95,6 \pm 2,1\%$), среди которых преобладали самцы ($57,9 \pm 5,1\%$). Процент активных вирусоносителей среди особей со статусом «порванные уши» в фазы пика и депрессии численности составил в популяциях полевой мыши $29,2 \pm 5,4$ и $9,9 \pm 3,5$ соответственно, в популяциях восточно-азиатской мыши — $44,2 \pm 6,9$ и $17,0 \pm 5,5$ соответственно. Агрессивные стычки имели место на всех фазах популяционного цикла, создавая благоприятные условия для передачи хантавирусов через слюну среди грызунов, даже во время депрессии их численности. Однако прямой путь передачи, ассоциированный с агрессивным поведением зверьков, по всей вероятности, играет значимую роль во время высокой численности, способствующей более частым контактам неинфицированных чувствительных животных с активными вирусоносителями.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют об определенном участии прямого контактного пути трансмиссии хантавирусов *Amur* и *Far East*, ассоциированного с агрессивным поведением их экологических хозяев, в поддержании природных очагов ГЛПС на территории Приморского края. Прямой путь передачи патогенных хантавирусов в популяциях экологически разных видов рода *Apodemus* имеет наибольшее значение в весенне-летний период в годы высокой популяционной численности *A. agrarius* и *A. peninsulae*, в большей степени среди половозрелых самцов. Наблюдение за уровнем внутривидовой агрессии в популяциях гры-

зунов-носителей патогенных хантавирусов может быть рекомендовано в качестве одного из дополнительных тестов для оценки активности природных очагов ГЛПС.

Литература

1. Косой М. Е. Эколого-эпидемиологическая характеристика природных очагов геморрагической лихорадки с почечным синдромом : дис. ... канд. биол. наук. - М., 1987.
2. Слонова Р. А., Кушнарева Т. В., Компанец Г. Г. и др. // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунол. — 2006. — №3.-С. 74-77.
3. Ткаченко Е. А., Деконенко А. Е., Дзагурова Т. К. и др. // Хантавирусы и хантавирусные инфекции / под ред. Р. А. Слоновой и В. А. Иванис. — Владивосток, 2003. - С. 56-78.
4. Bernshtein A. D., Apekina N. S., Mikhailova T. V. et al. // Arch. Virol. - 1999. - Vol. 144. - P. 2415-2428.
5. Escutenaire S., Chalon P., De Jaegere F. et al. // Emerg. Infect. Dis. - 2002. - Vol. 8-P. 930-936.
6. Gavrilovskaya I. N., Apekina N. S., Bernshtein A. D. et al. // Arch. Virol. - 1990. - Suppl. 1. - P. 57-62.
7. Hinson E. R., Shone S. M., Zink M. C et al. // Am. J. Trop. Med. Hyg. - 2004. - Vol. 70-P. 310-317.
8. Kallio E. R., Klingstrum J., Gustafsson E. et al. // J. Gen. Virol. - 2006. - Vol. 87. - P. 2127-2134.
9. Kariwa H., Fujiki M., Yoshimatsu K et al. // Arch. Virol. - 1998. - Vol. 143. - P. 365-374.
10. Lee H. W., Lee P. W., Baek L. J. et al. // Am. J. Trop. Med. Hyg. - 1981. - Vol. 30. - P. 1106-1112.
11. Plyushin A., Vapalahti O., Vaheri A. // J. Gen. Virol. - 1996. - Vol. 77. - C 2677-2687.
12. Root J. J., Calisher G. H., Beaty B. J. // Wildl Dis. - 1999. - Vol. 35. - P. 311-318.
13. Safronetz D., Lindsay R., Dibbernardo A. // Vector Borne Zoonotic Dis. - 2005. - Vol. 5, No. 2. - P. 127-132.
14. Yashina L., Patrushev N., Ivanov A. et al. // Virus. Res. — 2000. - Vol. 70. - P. 31-44.

Поступила в редакцию 14.05.2008.

ROLE OF DIRECT TRANSMISSION OF HANTAVIRUSES - AGENTS OF HFRS IN POPULATIONS OF APODEMUS RODENTS

T. Kushnaryova, R. Slonova
Institute of Epidemiology and Microbiology, Russian Academy of Medical Sciences Siberian Branch (Vladivostok)

Summary — Long-term dynamics of activity of epizootic process and intensity of intraspecific aggression was studied in *Apodemus peninsulae* and *Apodemus agrarius* rodent populations — reservoirs of etiologic agents of hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) in Primorye region. It has been shown that the direct transmission mode of hantaviruses, associated with aggressive contacts in populations of different *Apodemus* rodents, is more significant in spring-summer season in the time of temporal high population number, largely among sexual maturity males. Observation of the level of intraspecific aggression in populations of hantavirus rodent-host may be recommended as one of the additional tests to assess the activity of HFRS natural foci.

Keywords: hemorrhagic fever with renal syndrome, hantaviruses, direct transmission, natural foci.