

КЛИНИЧЕСКИЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В МЕДИЦИНЕ И БИОЛОГИИ

УДК 578.833:612

**Е.И. Андаев, Т.И. Борисова, А.Д. Ботвинкин², Е.А. Вершинин, О.В. Мельникова,
Л.С. Немченко, С.В. Бахум, Р.С. Шобоева¹, А.Б. Болошинов¹, А.М. Титенко**

СЕРОЛОГИЧЕСКОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ НА АРБОВИРУСЫ ЛЮДЕЙ И СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ В РЕСПУБЛИКЕ БУРЯТИЯ

**ФГУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт
Сибири и Дальнего Востока (Иркутск)**

¹**Территориальное управление Роспотребнадзора по Республике Бурятия (Улан-Удэ)**

²**Иркутский государственный медицинский университет (Иркутск)**

Проведено изучение иммунной прослойки к арбовирусам, передаваемым клещами и комарами, у населения и сельскохозяйственных животных в пяти районах Республики Бурятия. Вируснейтрализующие антитела к арбовирусам клещевого энцефалита (КЭ), Инко, Гета и Батаи обнаружены у местного населения на всех обследуемых территориях. Наибольшая частота вируснейтрализующих антител выявлена к вирусам КЭ и Инко, наименьшая – к вирусам Гета и Батаи. В иммуноферментном анализе обнаружены антитела к вирусу Западного Нила в 4 % исследованных сывороток крови людей. Результаты обследования сельскохозяйственных животных в большинстве случаев согласуются с экологическими предпосылками существования природных очагов арбовирусных инфекций. Они могут найти применение для эпидемиологического районирования территории по степени активности природных очагов арбовирусных инфекций.

Ключевые слова: арбовирусы, реакция нейтрализации в культуре клеток

SEROLOGICAL SURVEY FOR ARBOVIRUSES AMONG PEOPLE AND CATTLE IN BURYAT REPUBLIC

**E.I. Andayev, T.I. Borisova, A.D. Botvinkin², E.A. Vershinin, O.V. Melnikova,
L.S. Nemchenko, S.V. Bakhum, R.S. Shoboeva¹, A.B. Boloshinov¹, A.M. Titenko**

Anti-Plaque Research Institute of Siberia and Far East, Irkutsk

¹**Territorial Administration of Federal Services for Supervision in the Sphere
of Protection of Consumer's Rights in Buryat Republic, Ulan-Ude**

²**Irkutsk State Medical University, Irkutsk**

Immune stratum for arboviruses among people and cattle in five administrative districts of Buryat Republic was studied. Neutralizing antibodies to arboviruses of tick-borne encephalitis (TBE), Inkoo, Getah and Batai were found in human sera from all inspected territories. Antibodies to TBE and Inkoo were detected most frequently, antibodies to Getah and Batai viruses were revealed rarely. In enzyme-linked immunosorbent assay antibodies to West Nile virus were detected in 4 % of studied human sera. The results of investigating of the cattle mostly conform the ecological preconditions of existing of the arboviruses natural foci. They can be also used in epidemiological zoning of the territory for the arboviruses natural foci activity degree.

Key words: arboviruses, neutralization test in cell culture

Известно, что в Республике Бурятия клещевой энцефалит (КЭ) занимает существенное место в инфекционной патологии населения [3, 8, 9]. В пределах ландшафтных зон средней и южной тайги распространены передаваемые комарами арбовирусы серогруппы Калифорнийского энцефалита (в частности, Инко), Батаи (Bunyaviridae), Гета (Togaviridae), которые способны вызывать заболевания, практически не регистрируемые из-за отсутствия патогномичных симптомов и лабораторной диагностики [1, 2, 5, 6]. Ранее, по данным

Д.К. Львова на территории Восточной Сибири (Красноярский край, Республика Бурятия, Читинская область) выявлены антитела к вирусу Западного Нила у 0,4 % населения, однако не обозначены участки сбора материала [4].

Цель работы — характеристика иммунной прослойки к арбовирусам, передаваемым клещами и комарами у населения и сельскохозяйственных животных в разных районах Республики Бурятия. Для более объективной оценки активности природных очагов арбовирусных инфекций проведено сравнение

результатов обследования людей и сельскохозяйственных животных в пяти районах Республики Бурятия, различающихся по видовому составу и численности переносчиков арбовирусов, а также по ландшафтными и природно-климатическим условиям.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Сыворотки крови. Сбор проб сывороток крови людей и животных проведен в 2001 – 2005 гг. в июле – августе в период активности кровососущих членистоногих. Сыворотки крови людей получены из поликлиник и стационаров различного профиля, где пациенты проходили обследования или лечение по поводу заболеваний, не связанных с арбовирусами. Образцы крови домашних животных взяты при плановых ветеринарных серологических обследованиях. Всего исследованы 414 сывороток крови людей и 177 сывороток крови сельскохозяйственных животных.

Участки сбора сывороток крови и зоолого-паразитологические наблюдения. Проведено рекогносцировочное обследование участков сбора сывороток крови для оценки состояния численности и видового состава кровососущих членистоногих и мелких млекопитающих. Обследованию подверглись наиболее типичные ландшафты этих территорий, а также участки, существенно отличающиеся от типичных, как по климатическим и ландшафтными характеристикам, так и по составу паразитоценозов в Тункинском, Окинском, Кяхтинском, Прибайкальском и Баргузинском районах. Учеты мелких млекопитающих проводили методом ловушко-линий в типичных местообитаниях, учты иксодовых клещей – с помощью флага, а также сбора преимагинальных стадий клещей при очесе отловленных млекопитающих. Ориентировочная оценка обилия гнуса дана по результатам собственных визуальных наблюдений и литературных источников. Более подробно районы охарактеризованы ранее [2, 7].

Вирусы. В работе использовали штаммы вирусов из коллекции Иркутского НИПЧИ Сибири и ДВ. Вирус клещевого энцефалита (штамм Софьин); вирус Инко (штамм 620 – выделен от комаров, отловленных в Северобайкальском районе Республики Бурятия; вирус Гета (штамм 2925 – выделен от комаров, отловленных в п. Кумора Северобайкальского района); вирус Батаи (штамм

2513 – выделен от полевки-экономки, отловленной в п. Поливаниха Иркутского района).

Клеточные культуры. Использовали перевиваемую линию клеток Vero.

Исследование сывороток крови в реакции нейтрализации (РН) проводили микрометодом в культуре клеток Vero, выращенной на 96-луночных планшетах фирмы «Linbro», с вирусами КЭ, Инко, Гета и Батаи. РН ставили с постоянной для каждого вируса дозой – 100 ТЦПД₅₀ /пробу. Сыворотки крови исследовали в разведениях 1:20 и 1:40. В качестве контроля специфической нейтрализации вирусов использовали иммунные асцитические жидкости. Результаты учитывали по появлению цитопатического эффекта через 4 – 7 дней после заражения культуры до наступления неспецифической дегенерации клеток.

Исследование сывороток крови людей на антитела (IgG) к вирусу Западного Нила проводили в иммуноферментном анализе (ИФА) на тест-системе производства Института вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По результатам серологического исследования в образцах сывороток крови местного населения со всех обследуемых территорий наибольшая частота вируснейтрализующих антител выявлена к вирусам КЭ, Инко и наименьшая – к вирусам Гета и Батаи (табл. 1). Антитела у людей к арбовирусам КЭ, Инко, Гета, Батаи обнаружены на всех обследованных участках, за исключением вируса Гета в Тункинском районе. Вероятно, это обусловлено небольшой выборкой исследованных сывороток. Доля серопозитивных находок значительно варьировала. Более высокий процент серопозитивных сывороток к вирусу КЭ в Тункинском районе связан, по-видимому, с тем, что таежный клещ здесь встречается чаще, чем на обследованных участках в Кяхтинском районе и Окинской котловине. Относительно высокие показатели иммунной прослойки к вирусу КЭ у населения Прибайкальского и Баргузинского районов. Высокие показатели иммунной прослойки к вирусу Инко в Баргузинском и в Кяхтинском районах оказались ожидаемыми, исходя из более высокой численности кровососущих двукрылых (в сравнении с территориями Тункинского и Окинского районов).

Таблица 1

Результаты исследования сывороток крови людей по районам

Территория (районы)	Исследовано всего	Антитела к вирусам (% ± m)			
		КЭ	Инко	Гета	Батаи
Баргузинский район	34	23,5 ± 7,2	29,4 ± 7,7	11,7 ± 5,5	14,7 ± 6,07
Прибайкальский район	138	24,6 ± 3,6	11,6 ± 2,7	2,9 ± 1,4	4,3 ± 1,7
Кяхтинский район	123	15,4 ± 3,2	22,7 ± 3,8	3,25 ± 1,6	2,4 ± 1,4
Тункинский район	24	43,5 ± 10,1	17,4 ± 7,7	0	8,7 ± 5,7
Окинский район	95	18,9 ± 4,0	13,6 ± 3,5	3,1 ± 1,7	13,6 ± 3,5
Всего	414	21,5 ± 2,0	17,1 ± 1,8	3,6 ± 0,9	7,0 ± 1,2

Таблица 2

Результаты исследования сывороток крови людей по населенным пунктам в Прибайкальском районе

Населенные пункты Прибайкальского района	Исследовано всего	Антитела к вирусам (% ± m)			
		КЭ	Инко	Гета	Батаи
Старое Татаурово	47	21,2 ± 5,9	2,1 ± 1,4	2,1 ± 1,4	2,1 ± 1,4
Ильинка	41	36,5 ± 7,5	4,8 ± 3,3	0	0
Горячинск	50	18 ± 5,4	26 ± 6,2	6 ± 3,3	10 ± 4,2
Всего	138	24,6 ± 3,6	11,6 ± 2,7	2,9 ± 1,4	4,3 ± 1,7

Таблица 3

Результаты исследования сывороток крови сельскохозяйственных животных

Территория (районы)	Исследовано всего	Антитела к вирусам (% ± m)			
		КЭ	Инко	Гета	Батаи
Кяхтинский район	80	3,7 ± 2,1	18,7 ± 4,3	11,2 ± 3,5	0
Тункинский район	35	14,2 ± 5,9	8,5 ± 4,7	5,7 ± 3,9	11,1 ± 5,3
Окинский район	62	22,6 ± 5,3	3,2 ± 2,2	3,2 ± 2,2	9,7 ± 3,7
Всего	177	12,4 ± 2,4	18,1 ± 2,8	6,7 ± 1,8	5,6 ± 1,7

Частота выявления антител к вирусам Гета и Батаи в Прибайкальском (2,9 и 4,3 % соответственно) и Кяхтинском районах (3,2 и 2,4 % соответственно) заметно отличалась от Баргузинского (11,7 и 14,7 % соответственно). Наиболее высокий уровень иммунной прослойки к вирусу Батаи был зарегистрирован в Окинском районе. Относительно близкие для разных участков результаты в отношении вирусов Гета и Батаи не могут быть объяснены на основе данных об обилии гнуса. По-видимому, имеют значение и другие факторы. В целом результаты согласуются с ранее полученными для региона результатами при использовании различных серологических тестов [3].

На разных участках наблюдений в пределах одной административной территории уровни иммунной прослойки заметно отличаются. При сравнении результатов по трем населенным пунктам в Прибайкальском районе обращает на себя внимание более высокая частота выявления антител к вирусам Инко, Гета и Батаи у жителей п. Горячинск, расположенного недалеко от границы с Баргузинским районом (табл. 2). Более высокий уровень иммунной прослойки к вирусу КЭ у жителей поселков Ильинка и Старое Татаурово по сравнению с жителями Горячинска закономерен и связан с расположением этих населенных пунктов на территории с активными природными очагами КЭ. Большая иммунная прослойка к вирусу КЭ в Тункинском (43,5 %) районе обусловлена, по-видимому, вакцинацией населения, а также более частыми контактами с клещами. Сравнительно высокие показатели иммунной прослойки к вирусу КЭ в Окинском районе отчасти могут быть также связаны с вакцинацией населения. Очевидно, что некоторые из людей, сыворотки крови которых содержат антитела к вирусу КЭ, в прошлом были вакцинированы, но оценить вклад поствакцинально-

го иммунитета на итоговый результат не представляется возможным из-за отсутствия необходимых сведений в анамнезе.

В целом, результаты исследования сывороток крови людей далеко не всегда находились в соответствии с эпидемиологическим фоном и экологическими предпосылками существования природных очагов арбовирусов.

Одновременно с выявлением вируснейтрализующих антител 172 сыворотки крови людей трех районов впервые исследовали на наличие антител к вирусу Западного Нила в ИФА. Специфические антитела к вирусу Западного Нила обнаружены в 7 пробах или в 4,0 % исследованных сывороток крови людей во всех трех районах с вариацией по частоте выявления от 1 до 8 %.

Более четкой представляется картина по результатам исследования сывороток крови сельскохозяйственных животных (табл. 3).

Логичнее всего выглядят результаты исследования популяционного иммунитета к вирусу КЭ. Максимальные значения иммунной прослойки получены для участков Окинского и Тункинского районов, где скот, в отличие от Кяхтинского района, выпасается вблизи лесных массивов. Уровень иммунной прослойки среди населения также высок на этих территориях.

Хорошо увязываются с экологическими условиями и ранее полученными данными результаты изучения уровня антител к вирусу Инко. Более высокие показатели характерны для таежных и лесостепных зон Кяхтинского района с фауной комаров, типичной для средней Сибири. Меньшие показатели иммунной прослойки к этому вирусу у сельскохозяйственных животных в высокогорье (Окинский, Тункинский районы), где численность кровососущих комаров ниже.

Труднее поддаются анализу результаты, полученные при исследовании сывороток крови с вирусами Гета и Батаи. Разброс результатов по разным участкам не так велик, как при исследовании этих же сывороток с вирусами КЭ и Инко. Тем не менее, заметно, что процент положительных находок несколько ниже в остепненных межгорных котловинах высокогорий (Окинский, Тункинский районы).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты серологического обследования населения и сельскохозяйственных животных в районах с различными ландшафтными и природно-климатическими условиями заметно различались и в большинстве случаев находились в соответствии с численностью и особенностями состава переносчиков. Однако, сравнивая результаты обследования людей и животных из одних и тех же районов, следует отметить их расхождение в ряде случаев. На результаты обследования людей, вероятно, накладываются отпечаток миграционные процессы и специфическая профилактика в отношении КЭ, что требует проведения тщательного анализа анамнестических данных и отбора групп населения для серологического обследования. Результаты обследования сельскохозяйственных животных в большей степени согласуются с экологическими предпосылками существования природных очагов арбовирусных инфекций. Обследование сельскохозяйственных животных на арбовирусы предоставляет дополнительные возможности для оценки активности природных очагов арбовирусных инфекций с более точной привязкой к местности [10].

Серологическое обследование сельскохозяйственных животных может найти применение для эпидемиологического районирования территорий по степени активности природных очагов арбовирусных инфекций, передающихся кровососущими членистоногими.

Представляет интерес обнаружение специфических антител к вирусу Западного Нила в ИФА в образцах сывороток крови населения. Для того, чтобы подтвердить существование природных очагов лихорадки Западного Нила на территории Республики Бурятия необходимы дальнейшие исследования.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант № 05-04-97241.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арбовирусы в Прибайкалье / Е.А. Чапоргина, А.Г. Трухина, М.А. Хаснатинов и др. // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. — Иркутск, 2002. — Т. 2, № 2. — С. 127 — 130.
2. Восточная Сибирь. Экономико-географическая характеристика. — М.: География, 1963. — 896 с.
3. Горин О.З. Современные особенности эпидемиологии арбовирусных инфекций, экологии арбовирусов и вирусов гриппа в природных биоценозах юга Восточной Сибири: Дис. ... д-ра мед. наук в форме науч. докл.: 14.00.30 / НИИ вирусологии РАМН. — М., 1994. — 68 с.
4. Львов Д.К. Лихорадка Западного Нила / Д.К. Львов // Вопр. вирусол. — 2000. — Т. 45, № 2. — С. 4 — 9.
5. О циркуляции вирусов комплекса калифорнийского энцефалита и Батаи в Прибайкалье (данные серологических исследований) / Е.А. Чапоргина, А.З. Феоктистов, А.М. Бутенко и др. // Мед. паразитол. и паразитарные болезни. — 1995. — № 4. — С. 56 — 60.
6. Передаваемые комарами арбовирусы в Прибайкалье и Забайкалье / Д.К. Львов, В.Л. Громашевский, Т.М. Скворцова и др. // Вопр. вирусол. — 1995. — № 4. — С. 170 — 172.
7. Результаты серологических исследований на арбовирусы в районах Восточной Сибири, отличающихся по природно-климатическим условиям / Е.И. Андаев, С.В. Бахум, Т.И. Борисова и др. / Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. — Иркутск, 2004. — Т. 2, № 1. — С. 16 — 21.
8. Холмогорова Г.Н. Вопросы эпидемиологии и дифференциальной диагностики природно-очаговых трансмиссивных клещевых инфекций юга Восточной Сибири: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.30, 14.00.10 / ВСНЦ СО РАМН. — Иркутск, 2002. — 21 с.
9. Titenko A.M. Tick-borne encephalitis epidemiology in some province of Siberia / A.M. Titenko, A.D. Botvinkin, E.I. Andaev // Zent. Bakteriол. — 1999. — Vol. 289. — P. 595 — 604.
10. Antibodies to arboviruses in cattle as an indicator of virus activity / A.M. Titenko, S.V. Bakhum, T.I. Borisova et al. // Int. J. Med. Microbiol. — 2002. — Vol. 291, N 33, suppl. — P. 178.