

ПОЛОВАЯ ПЕРЕДАЧА ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА
У ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕЙ (IXODIDAE)С. П. Чунихин, Л. Ф. Стефуткина, М. Б. Королев,
И. А. Решетников, Г. А. Хозинская

Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов АМН СССР, Москва

В условиях эксперимента половая передача вируса клещевого энцефалита от зараженных самцов незараженным самкам имела место в 50% случаев (6 из 12) у *Ixodes persulcatus* и в 6.2% (1 из 16) у *Hyalomma anatolicum*. При электронно-микроскопическом изучении половой системы зараженных вирусом клещевого энцефалита самцов иксодовых клещей многочисленные морфологически зрелые вирусные частицы были обнаружены в просветах эндоплазматического ретикулума и вакуолях комплекса Гольджи сперматоцитов, а также — в ассоциации с трубчатыми элементами сперматид.

В литературе имеется несколько сообщений о распространении арбовирусов в популяциях переносчиков при передаче от зараженных самцов незараженным самкам со спермой или секретами придаточных половых желез. Так, половой путь передачи вируса африканской лихорадки свиней отмечен у клещей *Ornithodoros moubata* (Plowright e. a., 1974). Такая же передача вируса Лакросс показана экспериментально у комаров *Aedes triseriatus* (Thompson, Beaty, 1977). Масштабы этого явления и его роль в динамике природных популяций вирусов с трансмиссивной передачей не изучены. Тем не менее сам факт существования полового пути передачи арбовирусов у переносчиков при наличии у них трансвариальной и трансфазовой передачи предполагает возможность «циркуляции» арбовирусов без участия позвоночных.

В настоящем сообщении приводятся результаты вирусологического и электронно-микроскопического изучения полового пути передачи вируса клещевого энцефалита (КЭ) у иксодовых клещей.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты были проведены с клещами *Ixodes persulcatus* и *Hyalomma anatolicum* первого лабораторного поколения. Нимф *I. persulcatus* заражали при естественном кормлении на инфицированных вирусом КЭ (штамм ЛК-26) 2—4-дневных белых мышах в период вирусемии (Чунихин и др., 1981). Поскольку по мере насыщения нимф на сосунках матери начинали их объедать, в заключительной фазе кормления — последние 1—2 суток — сосунки содержались отдельно от взрослых мышей. Напитавшиеся нимфы были помещены во влажные камеры и содержались до линьки при температуре 24—26 °С. В момент линьки самцы были отделены от самок и содержались в камерах 45 суток, после чего 15 самцов были индивидуально обследованы на наличие вируса. Индикация вируса была осуществлена внутримозговым заражением суспензией клещей 2—4-дневных белых мышей. Объем инокулята 0.03 мл.

Параллельно с кормлением клещей на зараженных мышах было проведено кормление нимф из этой же партии на незараженных животных. Как и в первом случае, в момент линьки самцы были отделены от самок.

Начиная с 45-го дня после окончания линьки зараженные самцы подсаживались в камеры к незараженным самкам. Каждая пара содержалась в отдель-

ной камере. На 10-е, 16-е и 30-е сутки после копуляции самцы и самки были обследованы на наличие вируса. Одна группа самок (5 особей) на 30-й день после копуляции была помещена на кролика для насыщения. Напитавшиеся самки содержались до получения кладок во влажных камерах в термостате при температуре 26 °С. Кладки были обследованы на наличие вируса.

Самцы *H. anatolicum* были заражены на морских свинках. Поскольку у этих животных при КЭ напряженная вирусемия не развивается, циркуляция вируса в крови была вызвана введением в кровяное русло очень больших доз вируса $1.5-2.5 \times 10^8$ LD₅₀ (внутриголовные дозы для белых мышей). Зараженных самцов подсаживали к незараженным самкам и обследовали тех и других на наличие вируса через 10, 16 и 30 суток после копуляции.

Материал для электронно-микроскопического исследования брали через 1—5 суток после начала кормления клещей на инфицированных животных. Отпрепарированные органы клещей промывали 0.1 М какодилатным буферным раствором с рН 7.2, фиксировали в 2%-ном растворе глутаральдегида, приготовленном на том же буфере, с последующей дофиксацией в 1%-ном растворе четырехоксида осмия. После обезвоживания в спиртах восходящих концентраций материал заливали в эпон-аралдит (Mollenhauer, 1964). Ультратонкие срезы готовили на ультрамикротоме ОМ-3 «Reichert», контрастировали уранилацетатом и цитратом цинка. Полученные препараты изучали в электронном микроскопе JEM-100В при ускоряющем напряжении 80 кВ.

В общей сложности вирусологическими методами было обследовано 40 самцов и 25 самок, а электронно-микроскопическими — 12 самцов иксодовых клещей двух видов (8 зараженных и 4 контрольных). Яйца *I. persulcatus* были изучены только вирусологически. Кровь кролика, на котором питались самки *I. persulcatus*, зараженные половым путем, была обследована на наличие антигеммагглютининов к вирусу КЭ. Титр вируса определялся по методу Рида и Менча.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При электронно-микроскопическом изучении ультратонких срезов семенников клещей морфологически зрелые вирусные частицы были обнаружены в половых клетках, находящихся на разных стадиях развития. В сперматоцитах многочисленные частицы локализовались в просветах эндоплазматического ретикулума, а также вакуолях комплекса Гольджи, расположенных в непосредственной топографической близости от краевых альвеол (см. рисунок). Сходные частицы обнаруживались во внутренней полости сперматид в ассоциации с трубчатыми элементами. Размеры и морфология вирусных частиц были аналогичны таковым вируса клещевого энцефалита. Поскольку в ряде случаев количество вирусных частиц в сперматоцитах было очень значительным, есть основания предполагать, что при заражении вирусом нимф проникновение этого вируса в половые клетки происходит уже на стадии сперматогониев, т. е. на самых ранних этапах сперматогенеза.

Вирусологическое обследование 15 самцов *I. persulcatus*, зараженных на стадии нимфы, показало, что вирус КЭ в титре $2.0-3.7 \lg LD 50/0.03$ мл содер-

Половая передача вируса клещевого энцефалита у клещей *I. persulcatus* и *H. anatolicum*

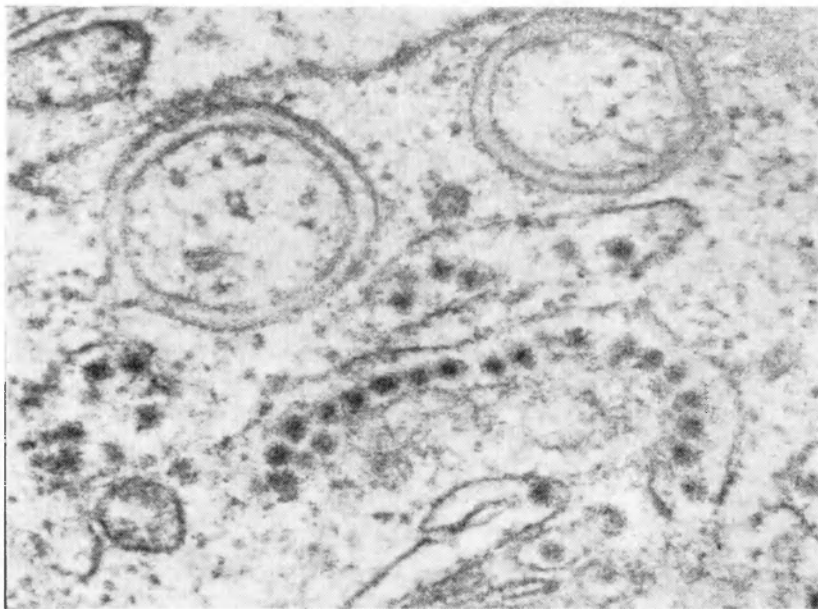
№ опыта	Вид клеща	Срок с момента копуляции (в сутках)	Число		Частота половой передачи (в %)
			пар	самок с вирусом	
1	<i>I. persulcatus</i>	10	3	1	33.3
2	Тот же	16	4	1	25.0
3	»	30	5	4	80.0
В среднем			12	6	50.0
4	<i>H. anatolicum</i>	10	4	0	0
5	Тот же	16	4	0	0
6	»	30	8	1	12.5
В среднем			16	1	6.2

жится во всех особях. Из 16 самцов *H. anatolicum* вирус КЭ после копуляции с незараженными самками имели 12 особей (75%).

Результаты вирусологического обследования самок клещей после копуляции с зараженными самцами представлены в таблице.

Как следует из данных таблицы, частота половой передачи вируса КЭ очень значительна у *I. persulcatus* (в среднем 50%) и невелика у *H. anatolicum* (в среднем 6.2%).

Обследование сыворотки крови кролика, на котором питались зараженные половым путем самки *I. persulcatus*, показало наличие антигемагглютининов



Вирусные частицы, локализованные в цистернах эндоплазматического ретикулума и вакуолях комплекса Гольджи сперматоцита *H. anatolicum* (ув. 85 000×).

к вирусу КЭ. Таким образом, зараженные половым путем самки *I. persulcatus* способны передавать вирус КЭ при кровососании. Частоту подобной передачи установить не удалось, поскольку 5 самок питались на кролике одновременно.

Из 5 кладок, полученных от зараженных половым путем самок *I. persulcatus*, вирус КЭ содержали две.

ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении полового пути передачи вируса Лакросс у комаров *Aedes triseriatus* было показано, что этот вирус передается не со спермой, а с секретами придаточных половых желез (Thompson, Beaty, 1977). У зараженных вирусом африканской лихорадки свиней самцов *Ornithodoros moubata* вирус был обнаружен не только в придаточных половых железах, но и в семенниках (Plowright e. a., 1974). Поскольку индикация вируса была проведена только вирусологическими методами, вопрос о репродукции вируса непосредственно в половых клетках остался открытым. Возможность контаминации половых желез вирусом при вскрытии клещей не была устранена.

Электронно-микроскопическое изучение половой системы зараженных арбовирусом самцов иксодовых клещей проведено нами впервые. Обнаружение многочисленных морфологически зрелых вирусных частиц вируса КЭ в сперматоците и сперматиде иксодовых клещей свидетельствует о самостоятельном, не связанном с репродукцией вируса в придаточных железах, цикле размножения этого вируса в семенниках. Как известно, соприкосновение секретов придаточных половых желез с половыми клетками происходит в процессе формиро-

вания сперматофора, т. е. на стадии проспериов (Атлас электронно-микроскопической анатомии иксодовых клещей, 1979). Таким образом, вирус КЭ попадает в половые клетки не в результате контаминации инфицированными секретами придаточных половых желез. Этот вирус проникает в генеративные клетки на ранних стадиях сперматогенеза. Репликация и накопление вируса идут параллельно с процессом превращения генеративных клеток. Подобная сопряженность репродукции вируса со сперматогенезом свидетельствует о значительной эволюционной давности связей этого вируса с генеративной системой самцов иксодин.

Как было установлено, половая передача вируса КЭ у иксодовых клещей обеспечивает трансмиссивную передачу и попадание вируса в яйца.

Таким образом, половую передачу вируса КЭ у иксодовых клещей следует признать одним из очень важных механизмов, обеспечивающих стабильность вирусной популяции в природном очаге инфекции.

Л и т е р а т у р а

- А т л а с электронно-микроскопической анатомии иксодовых клещей. Под ред. Ю. С. Балашова. Л., Наука, 1979. 256 с.
- Ч у н и х и н С. П., К у р е н к о в В. Б., Л е о н о в а Г. Н., К о ч е т о в а Г. А., К о р о т к о в Ю. С., Р е ш е т н и к о в И. А., К о н с т а н т и н о в О. К. Дифференциация штаммов вируса клещевого энцефалита по уровням вирусемии, вызываемой ими у рыжих полевков. — Мед. паразитол. и паразитарн. болезни, 1981, т. 50, вып. 5, с. 76—81.
- M o l l e n h a u e r H. H. Plastic embedding mixtures for use in electron microscopy. — Stain Technol., 1964, vol. 39, p. 111—114.
- P l o w r i g h t W., P e r r y C. T., G r e i g A. Sexual transmission of African swine fever virus in tick, *Ornithodoros moubata* porcinus, Walton. — Res. Vet. Sci., 1974, vol. 17, p. 106—113.
- T h o m p s o n W. H., B e a t y B. J. Venereal transmission of LaCrosse (California encephalitis) arbovirus in *Aedes triseriatus* Mosquitoes. — Science, 1977, vol. 196, p. 530—531.

SEXUAL TRANSMISSION OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS IN IXODIDS (IXODIDAE)

S. P. Chunikhin, L. F. Stefutkina, M. B. Korolev, I. A. Reshetnikov,
G. A. Khozinskaya

S U M M A R Y

Sexual transmission of tick-borne encephalitis virus from infected ixodid males to noninfected females is shown: in *Ixodes persulcatus* in 50% (6 of 12) and in *Hyalomma anatolicum* in 6.2% (1 of 16). The sexual transmission of tickborne encephalitis virus is shown to provide a transmissible transfer of the virus into eggs in ixodid ticks.

Electron microscope studies of the sexual system of ixodid males infected with the virus have revealed numerous morphologically mature virus particles in lumens of endoplasmic reticulum, in vacuoles of Golgi complex of spermatocytes and in association with tubular elements of spermatids.