

УДК 578.76

DOI:10.14427/jipai.2023.3.87

Вертикальная передача вируса Западного Нила у млекопитающих и птиц

А.Ю. Галкина, А.Д. Герасимова, Е.А. Гусев, Д.Н. Лучинин, Е.В. Молчанова

Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Волгоград

Vertical transmission of West Nile virus in mammals and birds

A.Yu. Galkina, A.D. Gerasimova, E.A. Gusev, D.N. Luchinin, E.V. Molchanova

Volgograd Plague Control Research Institute of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Volgograd, Russia

Аннотация

Тропность вируса Западного Нила (ВЗН) к тканям мочеполовой системы способствует возможности передачи патогена потомству. С целью определения потенциала вертикальной передачи ВЗН у птиц и млекопитающих подкожно заражали перепелов обыкновенных и белых мышей. Наличие вируса определяли вирусологическим и молекулярно-генетическим методами.

Вертикальная передача ВЗН у перепелов обыкновенных осуществлялась в 34,5% со средними значениями титра вируса $10^{4\pm 0,4}$ БОЕ/мл, у белых мышей – в 60,9% в титре $10^{4,2\pm 1,1}$ БОЕ/мл. В яйцах птиц вирус присутствовал в бластодиске, хорионаллантоисной мембране и эмбриональных мышцах. Часть вылупившихся птенцов имела врождённые отклонения. У мышей установлена различная восприимчивость эмбрионов к вирусу в зависимости от срока гестации, на котором осуществляли заражение. В плаценте экспериментальных животных присутствовали высокие титры вируса.

Полученные данные указывают на высокий потенциал вертикальной передачи ВЗН у перепелов обыкновенных и белых мышей, что обуславливает риск развития аномалий у потомства и осложнений течения беременности вплоть до летального исхода у млекопитающих.

Ключевые слова

Вирус Западного Нила, вертикальная передача, мыши, птицы.

Введение

Вирус Западного Нила (ВЗН) относится к роду *Flavivirus*, антигенному комплексу японского энцефалита семейства *Flaviviridae*. Вирус поддерживается в энзоотическом цикле пере-

Summary

The affinity of West Nile virus (WNV) to the tissues of the genitourinary system contributes to the possibility of pathogen transmission to offspring. In order to determine the potential for vertical transmission of WNV in birds and mammals, common quail and white mice were subcutaneously infected. The presence of the virus in the test material was determined by virological and molecular genetic methods.

Vertical transmission of WNV in common quail was carried out in 34.5% with an average virus titer of $10^{4\pm 0.4}$ PFU/ml, in white mice – in 60.9% in a titer of $10^{4.2\pm 1.1}$ PFU/ml. In avian eggs, the virus was present in the blastodisc, chorioallantoic membrane, and embryonic muscles. Part of the hatched chicks had congenital abnormalities. In mice, different susceptibility of embryos to the virus was established depending on the gestational age at which the infection was carried out. High titers of the virus were present in the placenta of experimental animals.

The data obtained indicate a high potential for vertical transmission of WNV in quail and white mice, which causes the risk of developing anomalies in the offspring and complications of pregnancy, up to death in mammals.

Keywords

West Nile virus, vertical transmission, mice, bird.

дачи с участием птиц и комаров, в котором млекопитающие считаются случайными хозяевами [1]. Лихорадка Западного Нила (ЛЗН) характеризуется такими симптомами, как повышение температуры тела, головная и мышечная боль,

сыпь и, в ряде случаев, неврологические нарушения [2].

Основной путь передачи вируса Западного Нила – трансмиссивный, однако сообщалось также об альтернативных путях: переливание крови [3], трансплантация органов [4], грудное вскармливание и внутриутробная инфекция во время беременности [5].

Тропность ВЗН к тканям и органам мочеполовой системы обуславливает возможность вертикального пути передачи вируса. У птиц вертикальная передача вируса на данный момент мало изучена. В отдельных исследованиях отмечали только наличие антител к ВЗН у вылупившегося потомства [6]. Известно, что эмбрионы птиц чувствительны к вирусным инфекциям и используются в качестве стандартной модели для получения изолятов ВЗН, поэтому предполагается, что вертикальная передача патогена будет приводить к остановке развития зародыша [7]. В предыдущих исследованиях нами было обнаружено, что перепел обыкновенный является толерантным к инфекции ВЗН видом птиц и потенциальным резервуаром вируса в природе [8].

Результаты исследований среди больных ЛЗН беременных женщин демонстрируют случаи обнаружения маркёров ВЗН и некоторых аномалий у младенцев, что предполагает врождённую передачу вируса [9]. На сегодняшний день нет ответа на вопрос: является ли вирус причиной этих пороков развития или нет. Мыши считаются подходящей моделью для изучения ЛЗН у людей, поскольку многие признаки заболевания у них схожи [10]. Кроме того, развитие плода у мышей аналогично с таковым у человека: первая, вторая и третья недели беременности во многих аспектах эквивалентны первому, второму и третьему триместрам гестации у женщины [11,12].

В связи с вышесказанным представляло интерес изучение потенциала вертикальной передачи ВЗН у перепела обыкновенного и белой мыши и определение патологических изменений у потомства.

Цель: определить потенциал вертикальной передачи вируса Западного Нила у птиц и млекопитающих на моделях перепела обыкновенного и белой мыши.

Материалы и методы исследования

Штаммы и биологические модели

В работе использовали штамм ВЗН Volg601/18 (II генотип) ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспо-

требнадзора», депонированный в государственной коллекции возбудителей вирусных инфекций и риккетсиозов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора под номером V-959; полногеномная последовательность представлена в GenBank под номером MN619800.1. LD₅₀ ВЗН Volg601/18 для нелинейных белых мышей весом 18-20 г составила 1×10^4 БОЕ / животное.

До начала эксперимента животные были выдержаны на 14-дневном карантине. Обыкновенных перепелов содержали в вольерах, мышей – в клетках на пищевом рационе, соответствующем виду. Все процедуры с животными выполняли в соответствии с правилами, принятыми в учреждении, рекомендациями национального совета по исследованиям, национальными законами и международными правилами и нормами [13].

Заражение птиц

Исследование включало три серии опытов. В каждый опыт было взято 15 перепелов, которых распределили в три вольера по четыре самки и одному самцу. Заражение птиц производили подкожно в дозе, превышающей LD₅₀ для нелинейных белых мышей и составляющей 1×10^8 БОЕ. В первой группе были заражены самки, во второй – самец, третья группа являлась отрицательным контролем. Семенную жидкость инфицированных самцов исследовали на наличие РНК ВЗН. Снесенные яйца отбирали ежедневно, регистрировали и делили на две части. Первую – исследовали вирусологическим и молекулярно-генетическим методами, вторую – инкубировали с использованием инкубатора «Несушка» БИ-2 (ООО ЗЭБТ, Россия).

Инкубация перепелиных яиц

Яйца от всех трёх групп собирали в течение 9 дней, обрабатывали 0,1% раствором перманганата калия, подписывали маркером на скорлупе номер группы и день от момента заражения, затем помещали в инкубатор. На 5 день инкубации проводили овоскопирование яиц на выявление неоплодотворённых экземпляров.

Режим инкубации яиц включал четыре этапа:

1. В первые сутки поддерживалась температура 38,2-38,4°C, влажность – 60%.
2. 2-7 сутки: температура 37,8°C, влажность – 60%, поворот яиц четыре раза в сутки.
3. 8-14 сутки: температура 37,8°C, влажность – 45%, поворот яиц 4-6 раз в сутки и охлаждение дважды в день 15-20 минут;
4. 15-17 сутки: температура 37,5°C, влажность – 80%.

Заражение млекопитающих

Исследование включало три серии опытов. В каждый опыт было взято 15 белых мышей, находящихся на 1 (3 день после оплодотворения), 2 (10 день после оплодотворения) и 3 (17 день после оплодотворения) неделях беременности, по 5 особей на каждой. В качестве отрицательного контроля использовали беременных самок, которым вводили физиологический раствор. В качестве положительного – небеременных самок.

Животных заражали подкожно в дозе LD₅₀ для нелинейных белых мышей и составляющей 1×10⁴ БОЕ. Павших животных вскрывали в асептических условиях, извлекали плаценту и плоды. Образцы тканей трижды тщательно промывали в стерильном физиологическом растворе.

Определение титра вируса

Титр вируса в материале яиц, тканях эмбрионов перепелов и мышей и плаценте мышей определяли вирусологическим методом с использованием культуры клеток Vero. Материал объёмом со спичечную головку ресуспендировали в 100 мкл культуральной среды DMEM, из которого делали серию 10-ти кратных разведений. Аликвотами серийных разведений заражали предварительно подготовленный монослой культуры клеток Vero и наблюдали в течение недели наличие цитопатического эффекта (ЦПЭ) [14]. Для расчёта инфекционных доз на грамм ткани использовали четыре повтора [15].

Выявление РНК ВЗН

Материал готовили к молекулярно-генетическому исследованию согласно методическим указаниям [16]. Наличие РНК вируса Западного Нила подтверждали методом ОТ-ПЦР согласно прилагаемой к набору инструкции (Ампли-Сенс WNV-FL, Россия).

Статистический анализ

Каждый эксперимент был поставлен в трёхкратной повторности. Для статистической обработки данных использовали методы в пакете MS Excel (функции НАИБОЛЬШИЙ, НАИМЕНЬШИЙ, СРЗНАЧ, СТАНДОТКЛОН, ВЕРОЯТНОСТЬ).

Результаты

Исследование вертикальной передачи вируса у птиц

В ранних исследованиях при моделировании ЛЗН у перепела обыкновенного отмечали выделение вируса из мочеполовой системы в период с 3 по 10 день от момента заражения [8]. Известно, что формирование яйца у перепела происходит в течение суток. Основываясь на этих данных, в эксперимент были взяты яйца, полученные со 2 по 10 день после заражения птиц.

В результате трёх серий опытов было получено 223 яйца: 62 от птиц в первой группе (заражённые ВЗН самки), 70 – от второй группы (заражённые ВЗН самцы) и 91 – контрольной (интактной) группы (табл. 1).

В контрольной группе два из 91 инкубированного яйца (2,2%) оказались неоплодотворёнными, 9 из 89 (10,1%) остановили своё развитие в течение первых трёх суток, из 80 вылупились птенцы (89,9%) с отсутствием патологий при визуальном осмотре.

РНК ВЗН была обнаружена в материале 7 из 31 яйца (22,6%) от птиц из первой группы и 2 из 35 яиц (5,7%) от перепелов из второй группы (в среднем в 9 из 66 яиц – 13,6%), а также в семенной жидкости заражённых самцов. Все яйца были снесены на 5-8 день после заражения птиц.

Стоит отметить, что в яйцах от птиц из первой и второй группы, которые были инкубированы, большая часть эмбрионов остановила своё развитие и погибла (в первой группе 14 из 24 опло-

Таблица 1. Сводные данные по инфицированности ВЗН яиц, снесенных заражёнными перепелами

Количество яиц	Группы птиц		
	Заражённые самки	Заражённые самцы	Интактные птицы (контроль)
снесенных	62	70	91
исследованных методом ПЦР	31	35	–
/ обнаружен ВЗН	/ 7	/ 2	
инкубированных	31	35	91
/ неоплодотворенных	/ 7	/ 15	/ 2
/ вылупилось птенцов	/ 10	/ 5	/ 80
/ погибших эмбрионов	/ 14	/ 15	/ 9

дотворённых яиц или 58,3%; во второй группе 15 из 20 оплодотворённых яиц или 75%) (табл. 1).

Из 44 инкубированных оплодотворённых яиц, снесённых в разные дни от инфицированных ВЗН птиц двух групп (24 яйца от птиц из первой и 20 – из второй группы), вылупилось 15 птенцов (34,1%), 29 эмбрионов (65,9%) остановили своё развитие на стадии 3-9 суток. Из 29 погибших зародышей 9 относились к категории «аморфоз», 20 – к категории «замершие»: 13 эмбрионов погибли примерно на 4-5 день развития, на что указывает наличие амниона, зачатков конечностей, локтевых и коленных суставов; 7 эмбрионов – на 6-7 день, так как у зародыша были видны конечности, клюв (табл. 2).

При вскрытии яиц у эмбрионов были обнаружены кровоизлияния на теле и эмбриональных оболочках, недоразвитие головы и костей, увеличение массы аллантоиса и объёма его жидкости.

Из 15 вылупившихся птенцов 9 (60%) были вялыми, плохо стояли на ногах, пупочное кольцо было плохо заживлено, желточный мешок не втянут, отмечалось запрокидывание головы. В течение 24 ч птенцы пали, при вскрытии были обнаружены дистрофические изменения в головном мозге и почках, а также обширные подкожные кровоизлияния. Оставшиеся 6 птенцов при визуальном осмотре не обнаруживали патологии.

В образцах органов павших птенцов ВЗН не был выявлен. В результате вирусологического исследования материала 29 погибших зародышей ВЗН был обнаружен в бластодиске, хорионаллантоисной мембране и эмбриональных мышцах. В яйцах, относившихся к категории «аморфоз», концентрация ВЗН составила $10^{7,3} \pm 0,8$ БОЕ/мл, в эмбрионах, погибших на 4-5 день развития, – $10^{4,8} \pm 0,4$ БОЕ/мл, в эмбрионах, погибших на 6-7

день, титр вируса установить не удалось (средние значения титра вируса $10^{4 \pm 0,4}$ БОЕ/мл).

Так, в 38 из 110 яиц была обнаружена либо РНК ВЗН, либо сам вирус (в 9 из 66 яиц, 13,6% была обнаружена РНК ВЗН, в 29 погибших зародышах из 44 оплодотворённых эмбрионов, 65,9% – вирус). Вертикальная передача ВЗН происходила в 34,5% случаев со средними значениями титра патогена $10^{4 \pm 0,4}$ БОЕ/мл.

Исследования вертикальной передачи вируса у млекопитающих

Для определения потенциала и последствий вертикальной передачи ВЗН у млекопитающих были заражены беременные лабораторные мыши, находящиеся на разных неделях гестации.

Среди 45 заражённых беременных мышей 28 пали (62,2%) большей частью на 7-10 день после заражения, независимо от недели беременности, на которой они были инфицированы (табл. 3).

У 17 из 45 беременных самок детёныши родились, но потомство, матери которых были инфицированы на первой и второй неделях, было сразу съедено. У мышей, рождённых самками, заражёнными на третьей неделе гестации, морфофункциональные отклонения от нормы визуально не были обнаружены.

Для определения как потенциала вертикальной передачи ВЗН, так и её зависимости от сроков беременности плоды и плацента от павших самок, заражённых на 3, 10 и 17 день гестации, были взяты в вирусологическое исследование. Вирус был обнаружен в плодах при заражении самок на 3 и 10 дни беременности, при этом титр патогена был выше в эмбрионах мышей, инфицированных на 10 день. В 2 плодах из 30 от

Таблица 2. Результаты инкубации яиц, снесенных зараженными перепелами

День п/п	Количество инкубированных яиц	Дни инкубации, на которые эмбрионы остановили развитие					Количество вылупившихся птенцов	
		1	2-3	4-5	6-7	8-17	патология	норма
2	5	0	0	0	0	0	2	3
3	4	0	1	0	0	0	2	1
4	6	0	2	2	1	0	1	0
5	5	0	0	4	1	0	0	0
6	7	0	2	3	2	0	0	0
7	3	0	0	1	2	0	0	0
8	4	0	2	1	1	0	0	0
9	5	0	2	2	0	0	1	0
10	5	0	0	0	0	0	3	2
Всего	44	0	9	13	7	0	9	6

самок, заражённых на 17 день, вирус обнаружили в следовых количествах, его титр не удалось установить. В плаценте присутствовали высокие титры ВЗН независимо от гестационного состояния на момент инфицирования.

Таким образом, вертикальная передача ВЗН у белых мышей при их заражении во время беременности в дозе LD_{50} выявлена у 60,9% животных (титр $10^{4.2} \pm 1,1$ БОЕ/мл).

Обсуждение

Известно, что ВЗН способен инфицировать широкий спектр видов, принадлежащих к различным таксонам животных. Особенностью ВЗН является его тропность к клеткам нервной ткани у людей, лошадей, птиц и мышей. Также вирус способен поражать различные органы и ткани мочеполовой системы [17, 18, 19].

В почках птиц ВЗН сохраняется в течение долгого времени как после естественного, так и экспериментального заражения [20]. В нескольких исследованиях показано, что наличие почечной недостаточности у людей может способствовать развитию хронической формы инфекции и приводить к неблагоприятным исходам заболевания. У некоторых из таких пациентов ВЗН был обнаружен в осадке мочи спустя девять лет после острой формы ЛЗН [21]. Тропность ВЗН к тканям и органам мочеполовой системы способствует возможности вертикального пути передачи вируса. Степень влияния на здоровье естественно инфицированных хозяев, включая человека, а также раскрытие механизмов и потенциала вертикальной передачи вируса остаётся важным и нерешённым вопросом.

В данной работе передачу ВЗН потомству исследовали на моделях перепела обыкновенного и белой мыши.

Ранее, при изучении восприимчивости перепела обыкновенного к ВЗН установили, что этот вид относится к группе толерантных птиц и может являться потенциальным резервуаром вируса Западного Нила. Также для этого вида отмечали: устойчивость к инфицированию ВЗН в высоких дозах, максимальную вирусемию на 3-4 сутки и выделение вируса из мочеполовой системы с 3 по 10 день инфекции [8]. Сроки обнаружения ВЗН в яйцах перепела обыкновенного коррелируют со снижением титра вируса в крови и периодом обнаружения вируса в клоакальных мазках. РНК ВЗН в материале яиц определяли с 5 по 8 сутки от момента заражения, а в яйцах, снесённых на 3-9 день инфекции, наблюдали остановку развития и гибель эмбрионов. У части птенцов, вылупившихся из яиц, собранных на 2 и 10 сутки, отмечали врождённую патологию.

В литературе различают два основных критических периода развития эмбрионов у птиц – на первой неделе и в последние дни инкубации яиц. При гибели эмбриона перепела в течение первых трёх суток развития в зависимости от причин он будет классифицироваться как «аморфоз» или «кровавое кольцо» – ранняя эмбриональная смертность. Начиная с 4-суточного возраста, погибшие зародыши перепела следует относить к категории «замершие» [22]. Максимальную гибель эмбрионов в нашем эксперименте наблюдали на 4-5 сутки развития. При этом наибольшую концентрацию вируса ($10^{7.3} \pm 0,8$ БОЕ) регистрировали в первые дни развития зародышей, после чего титр снижался.

У замерших эмбрионов были обнаружены кровоизлияния на теле и эмбриональных обо-

Таблица 3. Титры ВЗН, выделенного из тканей плодов и плаценты от павших мышей, инфицированных в разное время во время беременности

	Контроль «+»	Контроль «-»	Беременные мыши	Плод	Плацента
Сроки заражения	Процент мёртвых мышей / количество мёртвых / всего			Титр вируса, БОЕ/мл / количество с вирусом / всего	
3 день гестации	60,0/9/15	0/0/15	86,7/13/15	$10^{5.0} \pm 0,8/54/78$	$10^{6.9} \pm 0,7/76/78$
10 день гестации	40,0/6/15	0/0/15	66,7/10/15	$10^{7.6} \pm 2,4/47/61$	$10^{7.2} \pm 0,6/58/61$
17 день гестации	60,0/9/15	0/0/15	33,3/5/15	+*/2/30	$10^{6.4} \pm 0,8/19/30$
Средние показатели	53,3/24/45	0/0/45	82,2/28/45	$10^{4.2} \pm 1,1/101/169$	$10^{4.8} \pm 0,7/153/169$

Примечание: * «+» – ВЗН обнаружен, титр не установлен.

лочках, недоразвитие головы и костей, увеличение массы аллантаиса и объёма его жидкости. В результате вирусологического исследования материала установили наличие ВЗН в бластодиске, хорионаллантоисной мембране и эмбриональных мышцах. В образцах органов павших птенцов ВЗН не был выявлен. Схожее распределение вируса в структурах зародыша наблюдали при его выделении на куриных эмбрионах, тогда антиген ВЗН выявили в хорионаллантоисной мембране, эмбриональных мышцах, как скелетных, так и гладких, и в мультифокальных областях кожи, при этом патоген отсутствовал во внутренних органах эмбриона и желточном мешке [23].

Мы регистрировали ВЗН и в яйцах от птиц из первой группы, где заражали самок, и от перепелов из второй группы, где инфицировали самцов, в эякуляте которых также обнаружили вирусную РНК.

Заражение эмбрионов в первой группе птиц возможно на этапе формирования яйца в яичнике при условии поражения репродуктивных органов. Так, Gancz A.Y. с соавторами в аналогичных исследованиях у североамериканских сов выявляли оофорит, а также единичные случаи некроза семенных канальцев и эпидидимита, антиген вируса детектировали в ооцитах, текальных, гранулёзных клетках яичника, в макрофагах семенников и придатках яичка [24]. Эти данные согласуются с полученными нами результатами и объясняют наличие РНК ВЗН в семенной жидкости перепелов из второй группы. Кроме того, из придатков семенников и семявыносящих протоков семенная жидкость поступает в клоаку в непосредственной близости с отверстием мочеточников.

Вертикальная передача вируса во второй группе птиц предположительно обусловлена заражением яйца в яйцеводе, куда попадает часть эякулята. Скорлупа формируется в нижних отделах яйцевода, до этого момента яйцо более подвержено воздействию патогена. В ряде работ у некоторых видов птиц отмечали выделение вируса из ротовой полости и клоаки [25,26].

В нашем эксперименте заражённый самец и здоровые самки содержались вместе, поэтому нельзя исключать также фекально-оральный и контактный путь заражения самок с последующей передачей вируса эмбриону.

Возможность внутриутробного заражения плода ВЗН показана в ряде работ. Имеются достоверные сведения о внутриутробной передаче ВЗН при инфекции у беременных женщин. При этом большинство детей, рождённых от инфицированных матерей, были здоровыми,

только в нескольких случаях наблюдались тяжёлые церебральные аномалии, хориоретинит или респираторный дистресс-синдром новорождённых [9]. Для изучения осложнений и нарушений беременности у человека широко используют экспериментальные модели лабораторных животных. Наиболее распространённый вид млекопитающих для исследования аспектов беременности – мышь, преимуществом которой является короткий срок гестации, многочисленное потомство, сходство с человеком механизмов развития и типа строения плаценты [27]. У мышей срок беременности в среднем составляет 20 дней: первая, вторая и третья недели беременности во многих аспектах эквивалентны первому, второму и третьему триместрам гестации у женщины [11,12].

В результате наших исследований наиболее высокий титр ВЗН был обнаружен в материале плодов при инфицировании беременных мышей на 3-й и 10-й дни гестации. При заражении на 17-й день беременности самок вирус был обнаружен в 2 плодах из 30.

Полученный результат, скорее всего, обусловлен временем и стадией развития плаценты. На 4-й день беременности у мышей наблюдается повышенная проницаемость сосудов матки в месте прикрепления эмбриона, начинается инициация имплантации, на 7-ой день эмбрион увеличивается в размерах, проникает в мезометрий, с 11-го дня дифференцированные синцитиотрофобласты созревающей плаценты формируют барьер для проникновения инфекции в эмбрионы, с 13-го дня плацента полностью сформирована [27, 28]. Вероятно, этим объясняется процент инфицирования плаценты и плодов вирусом, который был выше, если мыши были заражены до, а не после 11 дня беременности. Всё сказанное говорит о наличии тропности ВЗН к плаценте, что позволяет ему сохраняться в виде рецидивирующей инфекции. Это может быть обусловлено подавлением или уклонением вируса от иммунной системы в тканях плаценты, а возможно объясняется наличием относительно большего количества рецепторов на поверхности плацентарных клеток [28].

Из животных, заражённых на первой неделе гестации, большая часть (86,7%) погибла до родов. При заражении мышей на второй неделе беременности матери рожали живых детёнышей, но новорождённые были съедены. Каннибализм в данном случае является профилактической мерой по предупреждению распространения инфекции и выражается в уничтожении большого потомства [12].

Заключение

В результате исследований подтверждена возможность и изучен потенциал вертикальной передачи ВЗН у перепела обыкновенного и белой мыши.

Так, в 38 из 110 яиц была обнаружена либо РНК ВЗН, либо сам вирус (в 9 из 66 яиц, 13,6% была обнаружена РНК ВЗН, в 29 погибших зародышах из 44 оплодотворённых эмбрионов, 65,9% – вирус). Вертикальная передача ВЗН происходила в 34,5% случаев со средними значениями титра патогена $10^{4\pm 0,4}$ БОЕ/мл. Отметим, что ВЗН был выявлен в бластодиске, хорионаллантоисной мембране и эмбрионе яиц, снесённых при заражении как самок, так и самцов птиц. Часть вылупившихся птенцов, павших в течение 24 часов, имела отклонения: пупочное кольцо не было заживлено, желточный мешок не втянут, отмечалось запрокидывание головы, при вскрытии были обнаружены обширные подкожные кровоизлияния, дистрофические изменения в головном мозге и почках.

В ходе эксперимента на белых мышах подтверждён не только факт передачи вируса от матери к потомству, но и наличие тропности ВЗН к плаценте. Установлена различная восприимчивость эмбрионов к возбудителю в зависимости от срока гестации, на котором осуществляли заражение. Следовательно, время инфицирования ВЗН в период беременности может быть важным фактором, ограничивающим передачу патогена плоду.

Вертикальная передача ВЗН у белых мышей при их заражении на разных сроках беременности в дозе LD_{50} обнаружена в 60,9% случаев (титр $10^{4,2\pm 1,1}$ БОЕ/мл).

Полученные данные указывают на высокий потенциал вертикальной передачи ВЗН у перепелов обыкновенных и белых мышей, что обуславливает риск развития аномалий у потомства и осложнений течения беременности вплоть до летального исхода у млекопитающих.

Литература

1. Львов Д.К., Ковтунов А.И., Яшкулов К.Б. и др. Особенности циркуляции вируса Западного Нила (Flaviviridae, Flavivirus) и некоторых других арбовирусов в экосистемах дельты Волги, Волго-Ахтубинской поймы. Вопросы вирусологии. 2004;49(3):45-52.
2. Lenka A, Kamat A, Mittal SO. Spectrum of Movement Disorders in Patients With Neuroinvasive West Nile Virus Infection. *Mov Disord Clin Pract*. 2019;6(6):426-433. Published 2019 Jul 16. doi:10.1002/mdc3.12806
3. Pealer LN, Marfin AA, Petersen LR, et al. Transmission of West Nile virus through blood transfusion in the United States in 2002. *N Engl J Med*. 2003;349(13):1236-1245. doi:10.1056/NEJMoa030969
4. Iwamoto M, Jernigan DB, Guasch A, et al. Transmission of West Nile virus from an organ donor to four transplant recipients. *N Engl J Med*. 2003;348(22):2196-2203. doi:10.1056/NEJMoa022987
5. Hayes EB, O'Leary DR. West Nile virus infection: a pediatric perspective. *Pediatrics*. 2004;113(5):1375-1381. doi:10.1542/peds.113.5.1375
6. Nemeth NM, Oesterle PT, Bowen RA. Passive immunity to West Nile virus provides limited protection in a common passerine species. *Am J Trop Med Hyg*. 2008;79(2):283-290.
7. Wodak E, Richter S, Bagó Z, et al. Detection and molecular analysis of West Nile virus infections in birds of prey in the eastern part of Austria in 2008 and 2009. *Vet Microbiol*. 2011;149(3-4):358-366. doi:10.1016/j.vetmic.2010.12.012
8. Молчанова Е.В., Прилепская Д.Р., Негоденко А.О. и др. Восприимчивость перепелов обыкновенных (*Coturnix coturnix*), чижей (*Carduelis spinus*) и лягушек озёрных (*Rana ridibunda*) к вирусу Западного Нила. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2021;171(4):473-476. doi:10.47056/0365-9615-2021-171-4-473-476
9. Paisley JE, Hinckley AF, O'Leary DR, et al. West Nile virus infection among pregnant women in a northern Colorado community, 2003 to 2004. *Pediatrics*. 2006;117(3):814-820. doi:10.1542/peds.2005-1187
10. Granwehr BP, Lillibridge KM, Higgs S, et al. West Nile virus: where are we now?. *Lancet Infect Dis*. 2004;4(9):547-556. doi:10.1016/S1473-3099(04)01128-4
11. Córdoba L, Escribano-Romero E, Garmendia A, Saiz JC. Pregnancy increases the risk of mortality in West Nile virus-infected mice. *J Gen Virol*. 2007;88(Pt 2):476-480. doi:10.1099/vir.0.82439-0
12. Blázquez AB, Saiz JC. West Nile virus (WNV) transmission routes in the murine model: intrauterine, by breastfeeding and after cannibal ingestion. *Virus Res*. 2010;151(2):240-243. doi:10.1016/j.virusres.2010.04.009
13. Consolidated text: Council Directive 96/49/EC of 23 July 1996 on the approximation of the laws of the Member States with regard to the transport of dangerous goods by rail [Electronic resource]. Mode of access: <http://data.europa.eu/eli/dir/1996/49/2004-12-30>. Date of access: 2.02.2023.
14. Sidwell RW, Huffman JH. Use of disposable micro tissue culture plates for antiviral and interferon induction studies. *Appl Microbiol*. 1971;22(5):797-801. doi:10.1128/am.22.5.797-801.1971
15. Reed LJ, Muench H. A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *Am. J. Epidemiol*. 1938;27(3):493-497. doi:10.1093/oxfordjournals.aje.a118408
16. МУК 4.2.3009-12 Методические указания «Порядок организации и проведения лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней».
17. Burke SA, Wen L, King NJ. Routes of inoculation and the immune response to a resolving genital flavivirus infection in a novel murine model. *Immunol Cell Biol*. 2004;82(2):174-183. doi:10.1046/j.0818-9641.2004.01239.x
18. Gamino V, Höfle U. Pathology and tissue tropism of natural West Nile virus infection in birds: a review. *Vet Res*. 2013;44(1):39. doi:10.1186/1297-9716-44-39
19. Blitvich BJ, Magalhaes T, Laredo-Tiscareño SV, Foy BD. Sexual Transmission of Arboviruses: A Systematic Review. *Viruses*. 2020;12(9):933. doi:10.3390/v12090933

20. Nemeth N, Gould D, Bowen R, Komar N. Natural and experimental West Nile virus infection in five raptor species. *J Wildl Dis.* 2006;42(1):1-13. doi:10.7589/0090-3558-42.1.1
21. Murray KO, Kolodziej S, Ronca SE, et al. Visualization of West Nile Virus in Urine Sediment using Electron Microscopy and Immunogold up to Nine Years Postinfection. *Am J Trop Med Hyg.* 2017;97(6):1913-1919. doi:10.4269/ajtmh.17-0405
22. Афанасьев Г.Д., Попова Л.А., Саиду С.Ш. и др. Воспроизводительные качества перепелов разного происхождения. *Зоотехния.* 2014;(12):19-20.
23. Crespo R, Shivaprasad HL, França M, Woolcock PR. Isolation and distribution of West Nile virus in embryonated chicken eggs. *Avian Dis.* 2009;53(4):608-612. doi:10.1637/8829-040209-ResNote.1
24. Gancz AY, Smith DA, Barker IK, Lindsay R, Hunter B. Pathology and tissue distribution of West Nile virus in North American owls (family: Strigidae). *Avian Pathol.* 2006;35(1):17-29. doi:10.1080/03079450500465676
25. Hinton MG, Reisen WK, Wheeler SS, Townsend AK. West Nile Virus Activity in a Winter Roost of American Crows (*Corvus brachyrhynchos*): Is Bird-To-Bird Transmission Important in Persistence and Amplification?. *J Med Entomol.* 2015;52(4):683-692. doi:10.1093/jme/tjv040
26. Pérez-Ramírez E, Llorente F, Jiménez-Clavero MÁ. Experimental infections of wild birds with West Nile virus. *Viruses.* 2014;6(2):752-781. Published 2014 Feb 13. doi:10.3390/v6020752
27. Lim HJ, Wang H. Uterine disorders and pregnancy complications: insights from mouse models. *J Clin Invest.* 2010;120(4):1004-1015. doi:10.1172/JCI41210
28. Julander JG, Winger QA, Rickords LF, et al. West Nile virus infection of the placenta. *Virology.* 2006;347(1):175-182. doi:10.1016/j.virol.2005.11.040

Сведения об авторах

Галкина Анастасия Юрьевна – научный сотрудник лаборатории арбовирусных инфекций, Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт. tashpevaau@mail.ru. Адрес: 400131 Волгоград, ул. Голубинская, д. 7, Россия.

Герасимова Арина Дмитриевна – научный сотрудник лаборатории арбовирусных инфекций, Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт, Волгоград, Россия, arinagomanovskaya@yandex.ru.

Гусев Евгений Александрович – научный сотрудник лаборатории арбовирусных инфекций, Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт, Волгоград, Россия, evggusev92@gmail.com.

Лучинин Дмитрий Николаевич – научный сотрудник лаборатории арбовирусных инфекций, Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт, Волгоград, Россия, biohimik87@gmail.com.

Молчанова Елена Владимировна – кандидат биологических наук, зав. лабораторией арбовирусных инфекций, Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт, Волгоград, Россия; доцент кафедры молекулярной биологии и генетики, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия, elenakalinki@yandex.ru.

Поступила 17.03.2023.