

Е.И. Андаев, А.Г. Трухина, Л.С. Карань, В.В. Погодина, Е.Г. Гамова,
Н.Г. Бочкова, Т.И. Борисова, О.А. Нагибина, Е.А. Вершинин, Е.А. Сидорова

КЛЕЩЕВОЙ ЭНЦЕФАЛИТ В ЧИТИНСКОЙ ОБЛАСТИ И ЭТИОЛОГИЯ ОЧАГОВЫХ ФОРМ С ЛЕТАЛЬНЫМ ИСХОДОМ

ФГУЗ НИ противочумный институт Сибири и Дальнего Восток Роспотребнадзора, Иркутск,
ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва,
ГУ Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН, Москва,
ФГУЗ Читинская противочумная станция Роспотребнадзора

Читинская область, в отличие от других регионов Восточной Сибири, в отношении клещевого энцефалита (КЭ) наименее изучена, недостаточно исследована циркулирующая популяция вируса. Отмечен высокий процент очаговых форм КЭ и высокий уровень летальности при этом заболевании на фоне более низких, чем на сопредельных территориях, показателей заболеваемости. Для изучения этиологической структуры очаговых форм КЭ, закончившихся летальным исходом, впервые с применением молекулярно-биологических методов исследована большая группа штаммов вируса КЭ, выделенных от умерших в 1995-2003 гг. людей. Эти штаммы изучены по ряду фенотипических свойств. Показано, что в Читинской области очаговые формы КЭ обусловлены двумя самостоятельными субтипами вируса КЭ — дальневосточным и сибирским. Очаговые формы болезни связаны также и с политиповыми штаммами вируса КЭ. Ретроспективный анализ штаммов свидетельствует о стабильности и длительности (более 40 лет) циркуляции сибирского субтипа вируса КЭ в природных очагах области.

Ключевые слова: клещевой энцефалит, Читинская область

Клещевой энцефалит (КЭ) — природноочаговое вирусное заболевание, характеризующееся развитием различных по клинической картине, тяжести и исходу форм инфекции: от иннапарантных, лихорадочных и менингеальных, как правило, заканчивающихся полным выздоровлением, до очаговых, в исходе которых могут быть тяжелые остаточные явления, хронизация процесса с прогрессированием симптомов болезни и гибелью больного.

Возбудитель КЭ в соответствии с современной классификацией относится к семейству *Flaviviridae*, род *Flavivirus* и включает в себя дальневосточный, сибирский и европейский субтипы [1].

Тяжесть течения болезни в разных регионах различается и, как полагает ряд авторов, зависит от субтипа вируса. Так, В.А. Борисов и соавт. [2] наиболее тяжелые поражения центральной нервной системы (ЦНС) с развитием очаговых форм и летальностью связывают с дальневосточным субтипом, а заболевания с доброкачественным течением и единичными случаями очаговых форм — с европейским или сибирским субтипами вируса. В то же время, В.В. Погодиной и с соавт. [3] показано, что весь спектр клинических проявлений клещевого энцефалита, включая очаговые

формы с летальным исходом, может быть вызван как дальневосточным, так и сибирским субтипами вируса КЭ.

Целью данной работы явилось изучение этиологической структуры очаговых форм клещевого энцефалита с летальным исходом в Читинской области.

Материал и методы исследования

Штаммы вируса КЭ. В работе использованы 13 штаммов вируса КЭ, выделенных в 1995-2003 гг. от умерших больных с энцефаломиелитической, менингоэнцефаломиелитической, менингополиомиелитической формами КЭ на новорожденных белых мышах (НБМ), зараженных пробами из разных отделов головного (11 штаммов), спинного (1) мозга и трупной крови (1) (Таблица 1). Больные, от которых после гибели изолированы штаммы вируса КЭ, проживали в городах Чита, Баян-Ола, а также в Читинском, Оловянинском, Баянском, Шелопугинском, Карымском, Красно-Чикойском, Борзинском, Улетовском районах области. К началу исследования штаммы прошли не более 2-3 пассажей через мозг НБМ. Сбор материала, изоляция штаммов, их доставка для идентификации в Иркутский противочумный институт проведены врачом Читинской противочумной станции О.А. Нагибиной.

Таблица 1

Штаммы вируса клещевого энцефалита, использованные для генотипирования и изучения фенотипических свойств

№ штам-ма	Источник выделения	Год выделе-ния
653	Продолговатый мозг умершего больного	1995
5	Мозг умершего больного (аммонов рог)	1996
7	Мозг умершего больного (лобная доля)	1996
1	Спинной мозг умершего больного	1998
11	Головной мозг умершего больного	1999
102	Трупная кровь	2000
104	Продолговатый мозг умершего больного	2000
6	Мозг умершего больного (стволовая часть)	2002
18	Мозг умершего больного (стволовая часть)	2002
22	Мозг умершего больного (кора головного мозга)	2002
25	Мозг умершего больного (кора головного мозга)	2002
29	Мозг умершего больного (лобная доля)	2002
35	Мозг умершего больного (стволовая часть)	2003

Изоляцию и реинфекцию штаммов проводили на 2-3-суточных НБМ по общепринятым методам. Постановку опытов на лабораторных животных осуществляли в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к Приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 г. № 755).

Для идентификации штаммов использовали РТГА, ИФА, РНИФ, в ряде случаев для детекции РНК вируса КЭ в суспензии головного мозга НБМ — ОТ-ПЦР.

Выделение РНК, амплификацию кДНК с вирусспецифическими праймерами проводили с комплектами реагентов РИБО — золь — А (АмплиСенс) и «Вектор-Бест», в соответствии с прилагаемой Инструкцией.

Генотипирование штаммов проводили в режиме реального времени гибридационно-флуоресцентным методом с мечеными генотипспецифическими флуоресцентными зондами [4] и методом анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов, разработанным Л.С. Карань и описанным В.В. Погодиной [5].

Гемагглютинирующую активность исследовали в РГА с щелочно-боратными антигенами на уровне 2-3 пассажей с 0,5% эритроцитами гуся при разных значениях рН.

Нейроинвазивность. Способность штаммов преодолевать гематоэнцефалический барьер и инвазировать ЦНС оценивали на уровне 2-3 пассажей на белых мышах массой 6-8 г по индексу инвазивности (ИИ) — разнице титров $\lg \text{ЛД}_{50}/\text{мл}$ при их внутримозговом (mNsc) и подкожном (mNsc) заражении. Штаммы с ИИ $< 2,0 \lg \text{ЛД}_{50}/\text{мл}$

оценивали как высоковирулентные, с ИИ $> 3,5 \lg \text{ЛД}_{50}/\text{мл}$ — как слабовирулентные, с $2 < \text{ИИ} < 3,5 \lg \text{ЛД}_{50}/\text{мл}$ — как умеренновирулентные.

Для оценки динамики заболеваемости КЭ и уровня летальности использованы официальные статистические данные, опубликованные в ежегодных выпусках Информационного сборника статистических и аналитических материалов «Инфекционная заболеваемость в субъектах Российской Федерации», Государственном докладе «О санитарно-эпидемиологической обстановке в Читинской области», а также отчетные материалы ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Читинской области» Роспотребнадзора.

Результаты и обсуждение

Читинская область, наряду с Красноярским краем, Иркутской областью и республиками Бурятия и Тыва, входит в состав Восточной Сибири. В отличие от других перечисленных регионов Читинская область в отношении КЭ наименее изучена, недостаточно исследована популяция вируса КЭ, циркулирующая в природных очагах. Территория Читинской области характеризуется сочетанием гор, покрытых сибирской тайгой с большими выровненными площадями со степной растительностью. Здесь обычным является глубокое проникновение узких лент степных и лесостепных ландшафтов далеко в северную тайгу. Иногда тайга проникает в степи. В связи с хозяйственным освоением территории многие естественные ландшафты претерпели значительные изменения.

По типу населения иксодовых клещей — носителей и переносчиков вируса КЭ — Читинский, Карымский, Красночикойский, Шелопугинский, Балейский районы принадлежат к средне-, южнотаежному и подтаежному, характеризующимся обитанием *Ixodes persulcatus*, местами в сочетании с *Dermacentor silvarum*. Для севера Оловянинского и Борзинского районов характерен сухостепной тип: *D. nuttalli* днищ сибирских межгорных котловин и высоких равнин юго-восточного Забайкалья. В Улетовском районе по особенностям населения иксодовых клещей выделяются три типа территорий: средне- и южно-таежные, характеризующиеся низкой численностью *I. persulcatus*; подтаежные, населяемые *I. persulcatus* местами в сочетании с *D. silvarum* с преимущественно низкой численностью с повышением в локальных местообитаниях, и переходные от подтаежного к лесостепному, где к перечисленным видам добавился *D. nuttalli* [6].

Официальная регистрация заболеваемости КЭ в Читинской области начата в 1956 г., ретроспективно она установлена с 1933 г. Анализ материалов по заболеваемости в первые годы

изучения ситуации проведен О.Н. Горловой, А.С. Бондарчуком [7], А.С. Петровой и соавт., [8], О.З. Гориным [9]. По данным этих авторов, до 50% областной заболеваемости приходилось на Красночикийский и Петровск-Забайкальский районы. Отмечены четыре клинические формы КЭ: энцефалитическая, менингеальная, полиомиелитическая и стертая с преобладанием последней (до 67%). В Красночикийском районе часто наблюдались осложнения в виде кожевниковской эпилепсии. Летальность не превышала 5%. В конце 50-х годов прошлого века наблюдался рост заболеваемости. В 1960-1980-е годы имелось снижение с 19 и 15,5 случаев до 5 и 1,3 случаев на 100 тыс. населения. Это связано с введением массовой вакцинации среди групп «высокого риска», проведением многократных противоклещевых обработок территории [10]. С 1990-х годов, с небольшими колебаниями по годам, видна тенденция к росту заболеваемости до 9,81 в 2002 г. по сравнению с РФ — 3,6.

К неблагоприятным по КЭ относятся 25 из 28 районов области и 2 из 3 районов Агинского Бурятского автономного округа. Наибольшее число заболевших отмечается в Петровск-

Забайкальском, Шелопугинском, Сретенском, Карымском, Красночикийском, Акшинском районах и Чите [11, 12].

Динамика заболеваемости КЭ и уровень летальности в Читинской области за период, когда были выделены изученные нами штаммы представлены на рисунке. Для оценки ситуации использованы показатели заболеваемости и процент летальности при КЭ в Республике Бурятия. Природные очаги КЭ, расположенные на этих двух сопредельных территориях, схожи по ландшафтно-биоценотической структуре. Данные количестве летальных случаев КЭ в Республике Бурятия любезно предоставлены руководителем Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Республике Бурятия А.В. Болошиновым и врачом Р.С. Шобоевой. Обращает на себя внимание высокий уровень летальности при КЭ в Читинской области на фоне невысоких показателей заболеваемости. Так если в Восточной Сибири в целом летальность не превышала 2% [13], то в Республике Бурятия при более высоких показателях заболеваемости максимальный уровень летальности составил

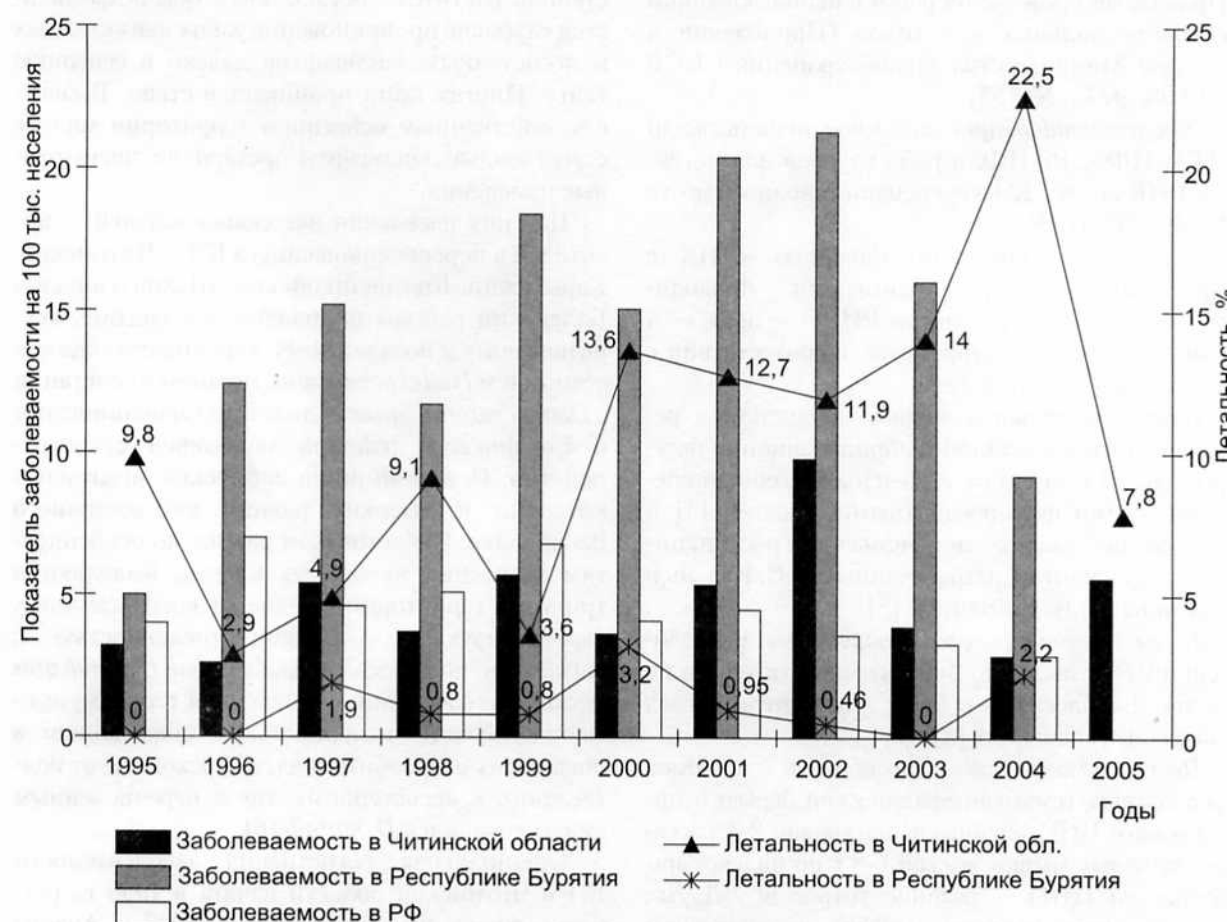


Рис. Показатели заболеваемости и летальности КЭ в Читинской области и Республике Бурятия

3,2% (2000 г.), а в отдельные годы — 1995, 1996, 2003 — летальные случаи не зарегистрированы. В дальневосточном регионе, который на протяжении многих лет отличался особой тяжестью и высокой летальностью (до 30%), в последние годы увеличилось число неочаговых форм и летальность снизилась до 7-8% [14]. В Читинской области уровень летальности с 1995 г. колебался и достигал 11,9 (2002 г.); 13,6 (2000 г.); 14,0 (2003 г.); 22,5 (2004 г.) %. Среди больных КЭ достаточно высоким был процент очаговых форм — 35,7 от общего числа заболевших, заболевание характеризовалось тяжелым течением, высоким процентом (45,1) утраты трудоспособности, длительным восстановительным периодом, тяжелой инвалидизацией и в 12,9% случаев переходом в прогрессирующее хроническое течение [10, 11, 12].

Для изучения этиологической структуры очаговых форм КЭ, закончившихся летальным исходом, в Читинской области впервые с применением молекулярно-биологических методов изучена большая группа штаммов вируса КЭ, выделенных от умерших людей. В анамнезе больных отмечались укусы клещей или частое посещение леса. Большинство больных были не вакцинированы, либо данные об их вакцинации в материалах, которыми мы располагаем, отсутствовали. Возраст больных колебался от 14 до 55 лет. Клиническая картина характеризовалась острым началом заболевания — подъемом температуры до 39-40 °С, сильной головной болью, болями в мышцах, нарушением сознания различной степени тяжести, нарастанием менингеальных симптомов и симптомов очагового поражения головного мозга. Смерть больных наступала на 4-37-е сутки от начала болезни. Больные в тяжелом состоянии поступали в лечебные учреждения Читы. Вскрытие умерших проводили в Областном патологоанатомическом бюро.

При генотипировании выделенных изолятов установлено наличие среди них штаммов вируса КЭ дальневосточного (8 штаммов) и сибирского (4 штамма) субтипов (Таблица 2). Один штамм (№ 29) охарактеризован как политиповой, содержащий участки генома дальневосточного и сибирского субтипов. Объяснить механизм происхождения политиповых штаммов пока не представляется возможным. Штамм 29 выделен из лобной доли головного мозга больного К., 28 лет. Укус клеща отмечен 23 июня 2002 г. Заболел остро 15 июля 2002 г., от госпитализации отказался. 17 июля был госпитализирован в тяжелом состоянии, смерть наступила 22 июля. Клинический и патологоанатомический диагноз: Клещевой энцефалит, менингоэнцефалитическая форма. Инкубационный период для новорожденных белых мышей при выделении вируса составил 13 суток. При изучении фенотипических свойств штамм охарактеризован как высоковирулентный для беспородных белых мышей (ИИ равен 0,36 lg LD₅₀/мл), агглютинировал 0,5% эритроциты гуся при pH 5,8-6,2, титр гемагглютининов при оптимальном значении pH 6,2 равен 1:640.

Штаммы дальневосточного субтипа вируса КЭ выделены от больных с энцефаломиелитической, менингоэнцефаломиелитической, менингополиомиелитической формами болезни. Штаммы сибирского субтипа и политиповой штамм выделены от больных менингоэнцефалитической формой КЭ. Продолжительность болезни в случаях, когда этиологическим агентом был возбудитель дальневосточного субтипа, равна 5-37 сут., при заражении больных вирусом КЭ сибирского субтипа — 4-12 сут.

Ретроспективно в Читинской области был установлен единственный случай выделения от умершего больного с диагнозом хронический

Таблица 2

Характеристика изученных штаммов вируса КЭ

№ штамма	Инкубационный период для НБМ при выделении штамма	Количество пассажей на НБМ	Субтип вируса	Вирулентность для НБМ, lg LD ₅₀ /мл			Титр гемагглютининов
				mNic	mNsc	ИИ	
653	9-10	3	сибирский	10,0	7,0	3,0	1:160
5	4-5	2	сибирский	10,0	8,5	1,5	1:640
7	6	3	дальневосточный	8,53	8,5	0,03	1:320
1	5	2	дальневосточный	10,5	8,0	2,5	1:320
11	9	3	сибирский	9,0	8,7	0,3	1:320
102	7		дальневосточный	ни	ни	ни	—
104	6	3	дальневосточный	9,0	8,0	1,0	1:40
6	5	3	дальневосточный	9,0	8,8	0,2	1:320
18	8	3	дальневосточный	ни	ни	ни	1:320
22	6	3	сибирский	8,5	8,25	0,25	1:1280
25	4	3	дальневосточный	ни	ни	ни	1:320
29	13	3	политиповой штамм	8,96	8,6	0,36	1:640
35	5	2	дальневосточный	8,5	7,2	1,3	1:160

арахноидит (сопутствующее заболевание — хронический алкоголизм) вируса КЭ сибирского субтипа (клиническое наблюдение Р.А. Мейеровой, изоляция штамма в 1963 г. Н.Н. Краминской, Р.Р. Живольяпиной подтиповая принадлежность определена методом генотипирования В.В. Погодиной и соавт.) [3].

Продолжительность инкубационного периода при выделении на НБМ изолятов вируса КЭ сибирского субтипа была равна 4-10 суткам, дальневосточного субтипа — 4-8 суткам. Большинство изученных штаммов явились высоковирулентными как при внутримозговом, так и подкожном введении вируса ($\text{ИИ} < 2,0 \lg \text{ЛД}_{50}/\text{мл}$) и только один штамм 653 — умеренновирулентный (ИИ равен $3,0 \lg \text{ЛД}_{50}/\text{мл}$). Различия по способности преодолевать гематоэнцефалический барьер у изученных штаммов разных субтипов вируса КЭ не установлены.

Штаммы независимо от субтиповой принадлежности агглютинировали эритроциты гуся в зоне рН 5,8-6,2. Титры гемагглютининов колебались от 1:40 до 1:1280. Преобладали штаммы со средними титрами. Исключение составил штамм 102 (вирус КЭ дальневосточного субтипа), у которого отсутствовали гемагглютинирующие свойства. Это один из немногочисленных антигенно-дефектных изолятов вируса КЭ, с которыми предположительно связывают развитие серонегативных форм инфекции [15].

Все изученные штаммы проявляли цитопатическое действие на культуре клеток СПЭВ, но в то же время различались по срокам деструкции монослоя и степени ее выраженности.

Таким образом, в результате впервые проведенного комплексного изучения биологических, в том числе и молекулярно-генетических свойств штаммов вируса КЭ, выделенных от умерших больных, показано, что в Читинской области заболевания КЭ обусловлены двумя самостоятельными субтипами вируса КЭ — дальневосточным и сибирским, причем оба этиологически связаны с развитием очаговых форм КЭ с летальным исходом. Очаговые формы КЭ связаны и с политипными штаммами вируса КЭ. Ретроспективный анализ позволяет говорить о стабильности и длительности (более 40 лет) циркуляции сибирского субтипа вируса КЭ в природных очагах области.

Результаты наших наблюдений поднимают целый ряд вопросов, представляющих практический интерес: особенности диагностики и профилактики КЭ, характер эпидемического и эпизоотического проявлений очагов инфекции. Необходимо тщательное изучение причин высокого процента очаговых форм и высокого уровня летальности при КЭ в Читинской области. Решение этих воп-

росов невозможно без мониторинга природных очагов, изучения связи распределения разных субтипов вируса с экологическими особенностями и ландшафтно-биоценотической характеристикой очагов, степенью их антропогенной трансформации, а также углубленного исследования свойств вируса, циркулирующего в природных очагах, уточнения роли разных субтипов вируса КЭ в формировании региональной патологии.

TICK-BORNE ENCEPHALITIS IN CHITA REGION AND ETIOLOGY OF LOCAL FORMS WITH LETHAL OUTCOME

E.I. Andaev, A.G. Trukhina, L.S. Karan, V.V. Pogodina, E.G. Gamova, N.G. Bochkova, T.I. Borisova, O.A. Nagibina, E.A. Vershinin, E.A. Sidorova

Chita region is the least studied among other East-Siberian regions in respect of tick-borne encephalitis (TBE); population of TBE virus, colonizing the focal territories, is not studied well enough. High rate of local forms of the TBE and high mortality level of this disease in Chita region at the background of lower morbidity level as compared with contiguous territories was noted. First the representative group of TBE virus strains, isolated from dead people (from 1995 up to 2003), have been investigated with the help of molecular-biological methods for studying of etiological structure of local TBE forms with lethal outcome. Some phenotypic characteristics of the isolated strains were studied. It was shown that TBE cases in Chita region depended on two independent subtypes of the TBE virus — Far-Eastern and Siberian, — and both were etiologically connected with local TBE forms with lethal outcome. Strains of the TBE virus, containing genome areas of the Far-Eastern and the Siberian subtypes take part in progress of local forms too. Retrospective analysis of strains allows to argue about stability and duration (more than 40 years of observation) of the Siberian TBE virus subtype circulation in natural foci of the region.

Литература

1. Heinz, F.X. Family Flaviviridae / F.X. Heinz, M.S. Collett, R.S. Purcell // Virus Taxonomy: 7-th Intern. Com. Taxonomy of Viruses. — San Diego, 2000. — P. 859-878.
2. Некоторые клинико-патогенетические параллели при клещевом энцефалите / В.А. Борисов, Н.Д. Ющук, И.В. Малов, К.А. Аитов // Эпидемиол. и инфекц. бол. — 2000. — № 2. — С. 43-47.
3. Сравнительный анализ вирулентности сибирского и дальневосточного подтипов вируса клещевого энцефалита / В.В. Погодина, Н.Г. Бочкова, Л.С. Карань и др. // Вopr. вирусол. — 2004. — № 6. — С. 24-30.
4. Генотипирование вируса клещевого энцефалита молекулярно-биологическими методами / Л.С. Карань, Т.А. Булгакова, Т.В. Маленко и др. // Геномные технологии в медицине и медобразовании на рубеже

веков: Матер. Междунар. науч.-практ. конф. — Алма-Ата, 2006. — С. 70-72.

5. *Погодина, В.В.* Мониторинг популяций вируса клещевого энцефалита и этиологической структуры заболеваемости за 60-летний период / В.В. Погодина // *Вопр. вирусол.* — 2005. — № 3. — С. 7-13.

6. Опыт создания карты иксодовых клещей Азиатской части России / В.Б. Сочава, В.Н. Байбородин, Т.А. Вершинина, И.В. Конева. — Иркутск, 1974. — 84 с.

7. *Горлова, О.М.* Данные изучения фауны клещей в очагах весенне-летнего энцефалита в Читинской области / О.М. Горлова, А.С. Бондарчук // *Рефераты докладов конференции Читинского ИЭМ совместно с Читинским филиалом Всерос. общества эпидемиологов, микробиологов и инфекционистов за 1958 г.* — Чита, 1959. — С. 23-26.

8. *Петрова, А.С.* Некоторые вопросы эпидемиологии клещевого энцефалита в Читинской области / А.С. Петрова, М.Г. Каткова, В.Н. Онищук // *Клещевой энцефалит и другие арбовирусные инфекции.* — М.; Минск, 1962. — С. 141-142.

9. *Горин, О.З.* Эпидемиологическая оценка количественных показателей интенсивности заражения клещевым энцефалитом в различных ландшафтных условиях Забайкалья: Автореф. дис. ... канд. мед. наук / О.З. Горин. — М., 1970. — 17 с.

10. *Злобин, В.И.* Клещевой энцефалит: Этиология. Эпидемиология и профилактика в Сибири / В.И. Зло-

бин, О.З. Горин. — Новосибирск, 1966. — 117 с.

11. *Созанский, Б.Е.* Заболеваемость клещевым энцефалитом в Красночикойском районе / Б.Е. Созанский // *Сб. статей, посвящ. 60-летию ЦГСЭН в Читинской области.* — Чита, 2000. — С. 95-97.

12. Лабораторная диагностика клещевого энцефалита в Читинской области с 1990 по 1999 гг. / С.И. Федотова, Н.Н. Агапова, П.П. Лапа и др. // *Сборник статей, посвящ. 60-летию ЦГСЭН в Читинской области.* — Чита, 2000. — С. 124-125.

13. *Злобин, В.И.* Эпидемиологическая обстановка и проблемы борьбы с клещевым энцефалитом в Российской Федерации / В.И. Злобин // *Бюл. Сиб. мед.* — 2006. — Т. 5. — Приложение № 1. — С. 16-23.

14. Современное состояние проблемы клещевого энцефалита на юге дальневосточного региона России / Г.Н. Леонова, Н.А. Белоголовкина, В.Г. Борисевич и др. // *Эпидемиол. обстановка и стратегия борьбы с клещевым энцефалитом на современном этапе: Материалы расширенного пленума Проблемной комиссии «Клещевой и другие вирусные энцефалиты».* — М., 2003. — С. 22-23.

15. Явление антигенной дефектности у циркулирующих в природе штаммов вируса клещевого энцефалита и его возможная связь с серонегативными формами заболевания / В.В. Погодина, Н.Г. Бочкова, Т.И. Дживанян и др. // *Вопр. вирусол.* — 1992. — № 2. — С. 103-107.