

## СЛУЧАЙ ИЗ ПРАКТИКИ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 616.831-002-022:578.833.26]-036.88:615.371

Погодина В. В.<sup>1</sup>, Лучинина С. В.<sup>2</sup>, Степанова О. Н.<sup>2</sup>, Стенько Е. А.<sup>3</sup>, Горфинкель А. Н.<sup>3</sup>, Кармышева В. Я.<sup>1</sup>, Герасимов С. Г.<sup>1</sup>, Левина Л. С.<sup>1</sup>, Чиркова Г. Г.<sup>4</sup>, Карань Л. С.<sup>5</sup>, Колясникова Н. М.<sup>1,5</sup>, Маленко Г. В.<sup>1</sup>, Колесникова Л. И.<sup>2</sup>

### НЕОБЫЧНЫЙ СЛУЧАЙ ЛЕТАЛЬНОГО ИСХОДА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА У ПАЦИЕНТА, ПРИВИТОГО ВАКЦИНАМИ РАЗНЫХ ГЕНОТИПОВ (ЧЕЛЯБИНСКАЯ ОБЛАСТЬ)

<sup>1</sup> ФГБУ «ИПВЭ им. М. П. Чумакова» РАМН, 142782. Москва;

<sup>2</sup> Управление Роспотребнадзора по Челябинской области, 454000, г. Челябинск;

<sup>3</sup> МБУЗ Городская клиническая больница № 8, 454071, г. Челябинск;

<sup>4</sup> ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Челябинской области», 454091, г. Челябинск;

<sup>5</sup> ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора РФ», 111123 г. Москва

Современные инактивированные вакцины против клещевого энцефалита (КЭ) высокоэффективны. При неполной нарушенной схеме вакцинации возможно развитие КЭ, преимущественно неочаговых форм инфекции. Летальные исходы КЭ у привитых ранее не были описаны. Первый случай летального КЭ у многократно привитого пациента зарегистрирован в Курганской области, второй случай – в Челябинской области. Нами установлены широкое распространение сибирского подтипа вируса КЭ (ВКЭ), его роль в этиологии летальных случаев КЭ в данном регионе. Необычный случай КЭ развился у пациента, привитого 8-кратно вакцинами из штаммов дальневосточного подтипа ВКЭ («Вирион», Томск; ФГУП ИПВЭ им. М. П. Чумакова, Москва) и из штаммов европейского подтипа ВКЭ (Encepur; FSME-Immun). Через 2 года после последней ревакцинации и присасывания двух клещей развилась менингоэнцефалитическая форма КЭ с летальным исходом на 9-й день. В сыворотках крови методом иммуноферментного анализа выявлены специфические IgM и сероконверсия IgG. В полушариях головного мозга при морфологическом исследовании отмечена гибель нейронов, глиоцитов, периваскулярный и перицеллюлярный отек, в мозжечке почти полное разрушение клеток Пуркинью. Методом иммунофлюоресценции в нейронах определен антиген ВКЭ. Обсуждаются критерии дифференциации вакцинального и инфекционного иммунитета, особенности течения КЭ в вакцинированном организме, возможные механизмы преодоления вакцинального иммунитета.

Ключевые слова: клещевой энцефалит; вакцинация; вакцинальный иммунитет; заболеваемость привитых; патоморфология; генотипы вируса.

Для цитирования: Эпидемиология и инфекционные болезни. 2015. 20 (1): 56–64.

Pogodina V. V.<sup>1</sup>, Luchinina S. V.<sup>2</sup>, Stepanova O. N.<sup>2</sup>, Stenko E. A.<sup>3</sup>, Gorfinkel A. N.<sup>3</sup>, Karmysheva V. Ya.<sup>1</sup>, Gerasimov S. G.<sup>1</sup>, Levina L. S.<sup>1</sup>, Chirkova G. G.<sup>4</sup>, Karan L. S.<sup>5</sup>, Kolyasnikova N. M.<sup>1,5</sup>, Malenko G. V.<sup>1</sup>, Kolesnikova L. I.<sup>2</sup>

UNUSUAL CASE OF LETHAL TICK-BORNE ENCEPHALITIS IN PATIENT VACCINATED WITH VACCINES PRODUCED FROM DIFFERENT VIRUSES STRAINS (THE CHELYABINSK REGION).

<sup>1</sup> M. P. Chumakov Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalitis of the Russian Academy of Medical Sciences, 27th km. of Kiev Highway, Leninsky District, Moscow Region, 142782

<sup>2</sup> The Department of the Federal Service for the Oversight of Consumer Protection and Welfare in the Chelyabinsk Region, 73, Elkina Str., Chelyabinsk, Russian Federation, 454092,

<sup>3</sup> City Clinical Hospital № 8, 28, Gor'kogo Str., Chelyabinsk, Russian Federation, 454071,

<sup>4</sup> Center for Hygiene and Epidemiology in the Chelyabinsk region, 147, Svobody Str, Chelyabinsk, Russian federation, 454091

<sup>5</sup> Central Research Institute of Epidemiology of the Federal Service on Customers' Rights Protection and Human Well-being Surveillance, 3a, Novogireevskaya Str., Moscow, Russian Federation, 111123

Lethal cases of tick-borne encephalitis in previously vaccinated patients have not been described. Modern inactivated vaccines against Tick-borne encephalitis (TBE) are high effective. The TBE cases, preference unfocal forms, are developed in persons with incomplete irregular vaccination. First case of lethal TBE after plural vaccination was described in the Kurgan region, the second case – in the Chelyabinsk region. These very rare unusual cases were studied. Being dominant the Siberian subtype of TBE virus is related with lethal TBE cases in the Chelyabinsk region. Unusual TBE case was developed in patient who had been vaccinated 8 times with vaccines produced from strains of Far-Eastern TBE subtype («Virion», Tomsk, Chumakov institute, Moscow) and European TBE subtype (Encepur; FSME-Immun). Two years after the last vaccination a focal form of TBE was developed with lethal outcome at 9<sup>th</sup> day. Specific antibodies IgM and IgG seroconversion were detected. The TBE virus antigen was detected in brain neurons by immunofluorescent test. Destroyed neurons and gliocytes were shown by histological study in cerebral hemispheres and cerebellum. The Purkinje cells were destroyed. Possible reasons of surmounting vaccinal immunity including a genetic difference of vaccine and infection virus strains are discussed.

Key words: Tick-borne encephalitis, vaccination, lethal disease, pathomorphology, vaccinal immunity, virus genotypes, South Ural, Russia.

Citation: Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni. 2015; 20 (1): 56–64. (In Russ.)

Эпидемиологическая эффективность вакцинопрофилактики клещевого энцефалита (КЭ) доказана при применении инактивированных цельновирионных вакцин трех поколений: «мозговой» из ткани мозга белых мышей, культуральной сорбированной и современных культуральных очищенных концентрированных вакцин, которые готовят из штаммов дальневосточного подтипа вируса КЭ (ВКЭ) в России и из штаммов европейского подтипа в Австрии и Германии [1]. Высокая эффективность иммунизации (до 99,3%) достигнута в Австрии в условиях генетического соответствия вакцинных штаммов и циркулирующего в природе европейского подтипа ВКЭ [2]. В Свердловской области показатель эпидемиологической эффективности в 2009 г. составлял 98,1% при использовании всех современных вакцин отечественного и зарубежного производства [3], которые генетически отличаются от циркулирующего в данном регионе сибирского подтипа ВКЭ [4, 5]. Значение фактора генетического несоответствия вакцинных штаммов и природных вариантов ВКЭ оценивается неоднозначно. Считается эффективной комбинированная иммунизация вакцинами разных генотипов [6, 7].

Даже высокоэффективные вакцины не обеспечивают стопроцентную защиту населения [2]. Чаше и тяжелее КЭ протекает у лиц с неполным и нарушенным курсом прививок [2, 8]. В Свердловской области клинический эффект вакцинации выражается в преобладании неочаговых форм КЭ без летальных исходов у привитых [3, 8].

Г. Н. Леонова и соавт. [9] сообщили о четырех летальных случаях КЭ в 1995 и 1998 гг. у пациентов, привитых вакциной производства «Вирион», Томск, при неполной и нарушенной схемах вакцинации. Данные об иммунологическом, вирусологическом, морфологическом обследовании умерших больных не приведены.

Первый детально обследованный случай летального КЭ у многократно привитого пациента относится к Курганской области [10]. На территории, где распространен сибирский подтип ВКЭ, специфическая профилактика осуществляется отечественными вакцинами (преимущественно «Энцевири») из штаммов дальневосточного подтипа ВКЭ. Доля вакцинированных среди больных КЭ составила в 2010 г. 22,45%, в 2011 г. 19,88%. В 2010 г. был зарегистрирован случай КЭ с фульминантным течением и летальным исходом у 6-кратно привитого лица. Диагноз подтвержден изоляцией ВКЭ из ткани мозга и характером морфологических изменений [10].

В настоящей статье описан второй детально обследованный случай летального КЭ у вакциниро-

ванного пациента, зарегистрированный в 2011 г. в Челябинской области. Ранее, по данным А. Б. Коньковой-Рейдман и В. И. Злобина [11], в данном регионе среди вакцинированных больных наблюдались только неочаговые формы КЭ.

Несмотря на очевидную редкость летальных исходов КЭ у привитых, исследование таких случаев важно в практических и теоретических аспектах: достоверность диагностики, особенности развития патологического процесса, причины преодоления протективных механизмов вакцинального иммунитета и др.

В статье представлены результаты комплексного изучения необычного летального случая КЭ у пациента, привитого многократно всеми типами сертифицированных в России вакцин, приведены критерии дифференциации вакцинального и инфекционного иммунитета, дана характеристика генетической структуры популяции ВКЭ в Челябинской области.

## Материал и методы

Эпидемиологические данные по КЭ представлены Управлением Роспотребнадзора по Челябинской области. Клиническое, серологическое, патолого-анатомическое обследование пациента М. проводилось МБУЗ «Городская клиническая больница № 8», Челябинск. Сбор клещей *Ixodes persulcatus* проводился в разных районах области ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Челябинской области».

Вирусологические, гистологические, иммуно-морфологические исследования проведены в ФБГУ ИПВЭ им. М. П. Чумакова РАМН.

Сыворотки крови исследовали методом иммуноферментного анализа (ИФА) на наличие антител к ВКЭ с тест-системами «Векто-ВКЭ-IgM и Векто-ВКЭ-IgG (ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск), а также антител к возбудителям иксодовых клещевых боррелиозов, гранулоцитарного анаплазмоза человека (ГАЧ) и моноцитарного эрлихиоза человека (МЭЧ).

Аутопсийный материал от вакцинированного пациента М. поступил в 2011 г. в ФГБУ ИПВЭ им. М. П. Чумакова РАМН в виде участков 6 органов (головной мозг, печень, селезенка, почки, легкие, стенка кишечника) в 10% растворе формалина. После тщательного отмывания от формалина ткани суспендировали и использовали для заражения перевиваемой культуры клеток почек свиного эмбриона (СПЭВ) с целью детекции цитопатогенного действия (ЦПД). В 2012–2014 гг. из Челябинской области поступили также аутопсийные материалы (мозг) от трех умерших невакцинированных больных.

В зараженных культурах СПЭВ проводили 4–10 пассажей. При развитии ЦПД культуральной жидкостью заражали в мозг 20 белых мышей массой 6–7 г. Опыты *in vivo* выполнены с разрешения этического комитета в ФГБУ ИПВЭ им. М. П. Чумакова РАМН. 10% суспензии исходных аутопсийных материалов, мозга зараженных мышей, культуральная жидкость

Для корреспонденции (correspondence to): **Погодина Ванда Вацлавовна**, доктор мед. наук, проф., руководитель лаб. клещевого энцефалита и других вирусных энцефалитов ФГБУ «ИПВЭ им. М. П. Чумакова», e-mail: pogodina\_v\_v@mail.ru

использовались для дальнейших молекулярно-биологических исследований в ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора.

Выделение тотальной РНК проводили из 10% суспензии тканей перечисленных выше органов методом фенольной экстракции по Хомчинскому (комплект реагентов для выделения РНК из клинического материала «Рибозоль-В» производства ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора). РНК ВКЭ определяли методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени с гибридационно-флуоресцентной детекцией с генотипспецифическими зондами. Результаты типирования подтверждали методом секвенирования участка гена E. Ранее описаны детали методов и разработанные в ЦНИИ эпидемиологии тест-системы, а также метод иммуноморфологических исследований [11].

### Результаты и обсуждение

Среднемноголетний показатель заболеваемости КЭ в Челябинской области в 2008–2012 гг. составил  $3,67 \pm 1,7$  на 100 тыс. населения с максимумом в 2011 г. 5,84 [13]. Летальность варьировала в пределах 1,02–2,56%, в 2011 г. – 4,57%. В 2011 г. зарегистрирован летальный случай КЭ у привитого пациента, который не вошел в официальную статистику из-за длительности многоплановых исследований, достоверно подтверждающих диагноз КЭ.

Прививочный статус пациента М. Мужчины, 59 лет, Челябинск, инженер в системе Газтранс, ежегодно проходил диспансеризацию. Последний осмотр с заключением о допуске к работе 11 апреля 2011 г. Привит и ревакцинирован против КЭ (табл. 1). Первичный курс – 3 прививки и 2 ревакцинации проведены вакцинами из штаммов дальневосточного подтипа ВКЭ, следующие ревакцинации вакцинами европейского подтипа. Между 1-й и 2-й, 3-й и 4-й ревакцинациями были сокращенные на 1–2 года интервалы. Таким образом, пациент получил полный законченный курс вакцинопрофилактики КЭ, 8 прививок с использованием всех современных вакцин из штаммов дальневосточного и европейского подтипов ВКЭ.

История болезни, клиника. Через 2 года после 5-й ревакцинации, 20 мая 2011 г., в районе Верхнего Уфалея (высокоэндемичная горнолесная зона), заметил укусы двух клещей в области живота и левого бедра. Клещей удалил самостоятельно, экстренную серопрфилактику не получал.

Спустя 10 дней, 30 мая, почувствовал головную боль, слабость левых конечностей. 31 мая появились судороги в конечностях, нарушение речи. Госпитализирован в инфекционное отделение городской клинической больницы № 8 с диагнозом: клещевой энцефалит, менингоэнцефалитическая форма, средней степени тяжести. Введен специфический иммуноглобулин внутримышечно 6 мл, титр 1:160.

### Прививочный анамнез больного М.

Вакцинация, ревакцинация	Год	Вакцина	Серия	Подтип (генотип) вакцинного штамма*
Первичный курс, 3 прививки	1999	НПО Вирион, Томск	?	Дв
RV1	2000	То же	?	Дв
RV2	2001	ФГБУ ИПВЭ им. М. П. Чумакова РАМН	588	Дв
RV3	2004	Encerpur	031011F	Евр
RV4	2005	"	054021F	Евр
RV5	2009	FSME-immun	VNR1HO9B	Евр

Примечание. \*Дв – дальневосточный подтип ВКЭ; \*евр – европейский подтип ВКЭ.

1 июня состояние ухудшилось, в связи с дыхательной недостаточностью переведен на искусственную вентиляцию легких (ИВЛ) в реанимационное отделение. 01.06.11 в 10.00 состояние больного ближе к тяжелому. Ригидность затылочных мышц 1 балл. Парез в левой руке до 3 баллов, в левой ноге 4 балла. АД 180/110 мм рт. ст.

01.06.11. 14.40. У больного генерализованный судорожный припадок с прикусыванием языка. Из дневника дежурного реаниматолога: 02.06. 16.00–03.06. 9.00: состояние больного тяжелое, обусловленное поражением ЦНС, нарушением сознания, очаговой неврологической симптоматикой, дыхательной недостаточностью, эндогенной интоксикацией, эписиндром.

04.06.11: состояние тяжелое, нарушение сознания до комы III степени, очаговая неврологическая симптоматика. Питание через зонд.

05.06.11. 10.00: состояние больного тяжелое. Мышечный тонус – диффузная гипотония. Сухожильные рефлексы не вызываются. Менингеальных знаков нет. ИВЛ. Питание через зонд.

06.06.11. Диагностирована левосторонняя нижнедолевая пневмония, трахеостомия. Продолжается ИВЛ. Проведена противовирусная терапия (10 инъекций специфического иммуноглобулина с титром IgG 1 : 160), сосудистая, противоотечная, метаболическая, антибактериальная терапия.

07.06.11. 16.00. Состояние крайне тяжелое. Сознание медикаментозно загружено. Выраженная гипертермия, резистентная к введению жаропонижающих средств. Гемодинамика стабильная: артериальная гипотензия на фоне возрастающих доз вазопрессоров, АД 70/40–60/30 мм рт.ст., ЧСС до 100 в минуту, пульс слабого наполнения.

В 16.30 внезапно произошла остановка сердца. Реанимационные мероприятия, непрямой массаж сердца. В 17.05 07.06.11 констатирована смерть пациента М.

Таблица 2

## Результаты прижизненного и посмертного обследования пациента М.

День болезни	Метод	Материал	Результат
3-й	ИФА	Сыворотка	IgM-КП* –6,2; IgG 1:1600
5-й	ИФА	"	IgM-КП* –6,2; IgG 1:1600
8-й	ИФА	"	IgG 1:12 800
9-й	Вирусология: 10 пассажей в культуре СПЭВ	Суспензия головного мозга (из 10% формалина)	ЦПД отсутствует, вирус не выявлен
	Вирусология: пассажи на мышцах		Животные не болели, вирус не выделен
	ПЦР	10% суспензии мозга, почек, печени, селезенки, легких, стенки кишечника	РНК ВКЭ не выявлена
	Иммунофлюоресценция	Препараты головного мозга	Антиген ВКЭ в нейронах
	Гистология	Гистологические препараты головного мозга	Морфологические изменения в ЦНС, гибель нейронов, периваскулярный, перипеллюлярный отек и др.

Примечание. \*IgM-КП –коэффициент позитивности.

**Иммунологические исследования**

Методом ИФЛ в сыворотках крови больного М, взятых на 3-й и 5-й день болезни, выявлены IgM к ВКЭ с коэффициентом позитивности (КП) 6,2 и IgG в титре 1:1600. На 8-й день болезни титр IgG 1:12 800 (табл. 2). Не найдено антител к возбудителям иксодового клещевого боррелиоза, ГАЧ и МЭЧ. По результатам серологических исследований необходимо дифференцировать вакцинальный и инфекционный иммунитет. Известно, что после 2–3-кратной вакцинации IgM могут сохраняться в крови реципиентов несколько месяцев [14]. У пациента М. заболевание развилось через 2 года после 5-й ревакцинации. Наличие в первых сыворотках крови IgM трудно объяснить предшествующей вакцинацией, тогда как IgG в титре 1 : 1600 могут быть проявлением вакцинального иммунитета. Однако 8-кратная сероконверсия IgG подтверждает диагноз КЭ». Безусловным доказательством клинического диагноза служит выявление в структурах головного мозга пациента М. антигена ВКЭ методом иммунофлюоресценции (результаты приведены ниже).

Анализ крови 1.06.11–6.06.11: нарастающий лейкоцитоз, выраженный дефицит лимфоцитов в течение всего срока заболевания 3,2–4,3% (референс-показатели 42–78,0%), повышенное содержание нейтрофилов (90,6–94,0%) и незрелых гранулоцитов (0,6–1,7%).

**Морфологическое исследование мозга пациента М.**

МУЗ ГКБ № 8, Челябинск, 08.06.11: выраженный перипеллюлярный отек, умеренное полнокровие

сосудов, эритроцитарные стазы, местами присутствуют перипеллюлярные инфильтраты из лимфоцитов, мононуклеаров. Нейроны с очаговыми дистрофическими, некробиотическими изменениями, мелкие очажки деструкции в сером и белом веществе со скоплениями мононуклеаров, деструктивный отек. Хроматолиз в нейронах, отдельные клетки-«тени», апоптозные тельца.

Мозжечок – дистрофические изменения нейронов, одиночные миелиновые шары, отек.

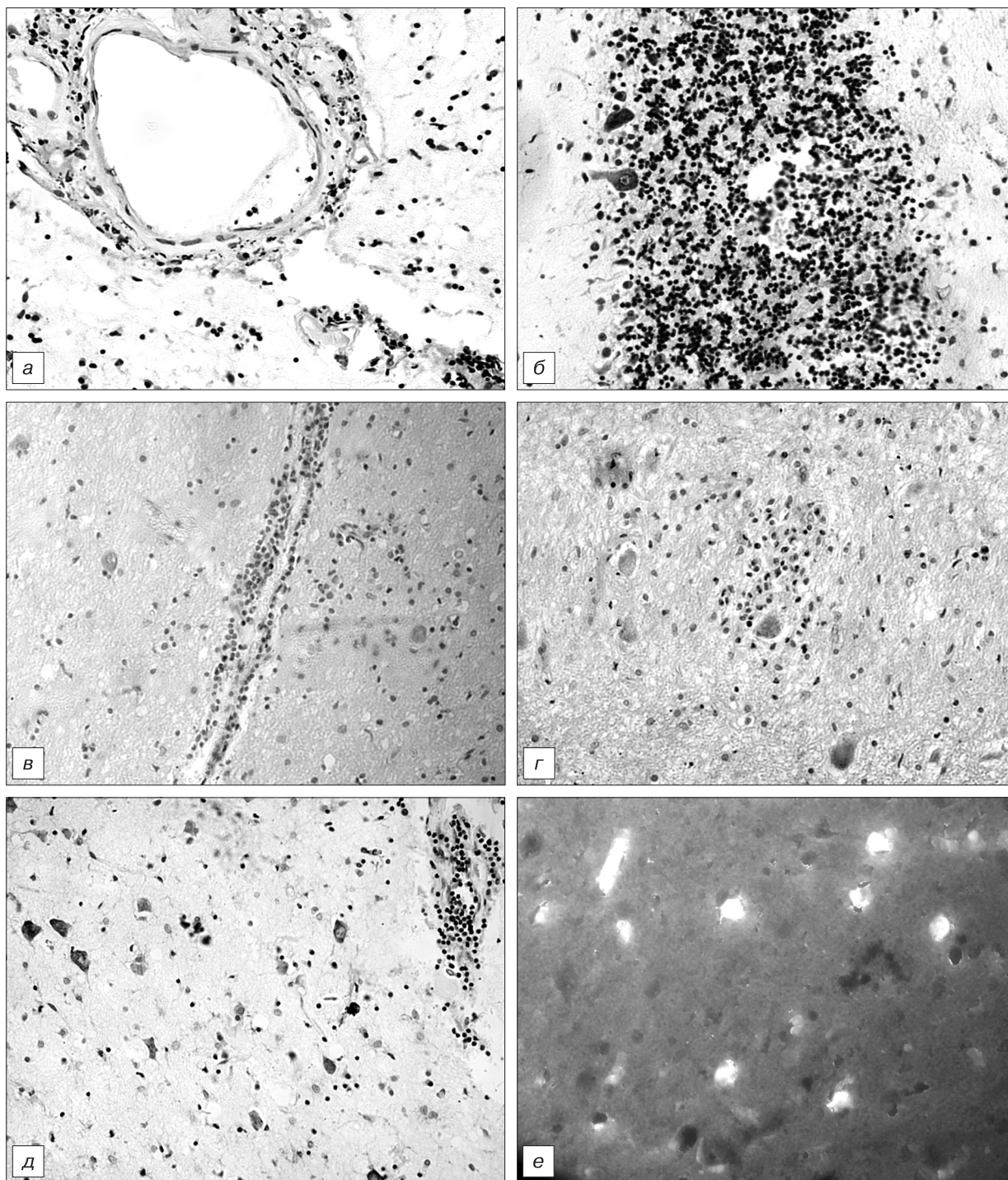
**Заключение комиссионного разбора летального исхода КЭ (01.07.11).** Поставлен диагноз: основной – клещевой энцефалит, менингоэнцефалитическая форма, тяжелое течение, левосторонний гемипарез. Симптом афатических нарушений. Фоновый диагноз ревматоидный полиартрит, суставно-висцеральная форма с поражением почек. Осложнения: отек-набухание головного мозга, почечная недостаточность, внутрибольничная очаговая пневмония, отек легких. Непосредственная причина смерти: отек-набухание головного мозга.

**Дополнительные гистологические и иммуноморфологические исследования.** В ФГБУ ИПВЭ им. М. П. Чумакова РАМН исследованы гистологические препараты мозга пациента М., выявлена сложная картина морфологических изменений, обусловленных возрастом больного, сопутствующими заболеваниями и КЭ. Специфичность поражений, вызванных ВКЭ, подтверждена локализацией и характером изменений и выявлением антигена ВКЭ методом иммунофлюоресценции.

При детальном изучении гистологических препаратов мозга выявлена разная степень тяжести изменений в левом и правом полушариях. В последнем произошли почти полное разрушение и потеря нейронов, глиоцитов, отслоение и гибель эндотелио-, миоцитов микроциркуляторного русла, перипеллюлярных сосудов правого полушария (см. рисунок, а).

Преобладали пикнотические изменения с гиперхроматозом погибших клеток. Встречались лизированные клетки-«тени». Развивались стазы, периваскулярный и перипеллюлярный отек, образование (особенно в коре) деструктивных базофильных телец. В мозжечке отмечены почти полная гибель клеток Пуркинье и значительное разрежение зернистого слоя (см. рисунок, б). Незначительная лимфоцитарная инфильтрация. В левом полушарии выявлены такие же, но гораздо менее выраженные изменения. Повреждение нейронов отмечено в характерных индикаторных зонах: нейронах предцентральной извилины, черной субстанции, нижней оливы, ядрах черепных нервов, в мозжечке. Кровообращение в основном сохранено. Образовывались значительные периваскулярные инфильтраты (см. рисунок, в), периневральные отеки, глиальные нейронафагические узелки (см. рисунок, г), отек.

Методом флюоресцирующих антител антиген



**Морфологические изменения в мозге пациента М.**

*a* – разрушение нервной ткани, стенок кровеносных сосудов, периваскулярных инфильтратов (стрелки), отек в правом полушарии большого мозга; *б* – потеря грушевидных нейронов Пуркинье, корзинчатых и звездчатых нейронов молекулярного слоя (стрелка), зерновидных нейронов в правом полушарии мозжечка; *в* – разрушение эндотелия (стрелка) периваскулярная и диффузная инфильтрация, гибель нейронов; *г* – периневральные отеки (стрелки), глиальный узелок, дистрофия нейронов; *д* – сохранение части нейронов, периваскулярные и диффузные инфильтраты; *а-д* – окраска: крезиловый прочный; *е* – непрямой метод флюоресценции антител, x200.

ВКЭ четко выявляется преимущественно в более сохранившихся нейронах левого полушария (см. рисунок, *е*). В погибших клетках обоих полушарий видны только незначительные остатки антигена. Результаты прижизненных и посмертных исследований пациента М. отражены в табл. 2.

*Вирусологические и молекулярно-биологические исследования*

После отмывки от формалина ткань мозга была суспендирована, 10% суспензией заражены культуры клеток СПЭВ и 20 белых мышей. В культурах клеток проведено 10 пассажей, деструкции клеток

не наблюдали. Мыши, зараженные исходной 10% суспензией мозга и культуральной жидкостью от разных пассажей, не заболели.

10% суспензии мозга, селезенки, печени, почек, легких и стенки кишечника были исследованы методом ПЦР на наличие РНК ВКЭ. Кроме суспензии мозга пациента, исследованы культуральная жидкость разных уровней пассажей и мозг зараженных мышей. Выявить РНК ВКЭ не удалось. Негативные результаты могли быть связаны с масляной деградацией вирусной РНК формалином и инактивацией ВКЭ.

#### *Изучение генотипа ВКЭ, циркулирующего на территории Челябинской области*

Представление о том, с каким генотипом ВКЭ связано заболевание пациента М., дают результаты изучения генетической структуры популяции ВКЭ, переносимой клещами на территории Челябинской области. Публикация О. В. Морозовой и соавт. [15] относится к локальному антропоургическому очагу (пос. Каштак), где авторы в 2009 г. изолировали из клещей *Ixodes persulcatus* РНК ВКЭ сибирского подтипа, группа Заусаев.

Приводим неопубликованные ранее данные Л. С. Карань по обследованию в 2008 г. клещей *Ixodes persulcatus* из разных районов области. Исследованы индивидуально 1014 клещей, снятых с людей преимущественно в горнолесной и лесостепной ландшафтных зонах. Выделено 14 образцов РНК ВКЭ (1,38%). Все биопробы отнесены к сибирскому подтипу ВКЭ. Секвенирование E-гена двух изолятов РНК показало их принадлежность к группе Заусаев сибирского подтипа. Ни одного изолята РНК дальневосточного или европейского подтипов ВКЭ не обнаружено. В 2014 г. при обследовании клещей *I. persulcatus*, собранных в районе г. Златоуст (горнолесная зона), в образце № 100 детектирована РНК ВКЭ сибирского подтипа, группа Заусаев.

#### *Изучение генотипа ВКЭ, связанного с летальным КЭ*

Изучение этиологии летальных случаев КЭ в Свердловской, Кемеровской, Курганской, Вологодской, Ярославской областях показало, что на современном этапе они связаны с заражением сибирским подтипом ВКЭ [4, 16]. В Челябинской области такие исследования не проводились. В 2012, 2013 и 2014 гг. нами проведено исследование аутопсийных материалов от трех умерших невакцинированных больных.

Больной А., 66 лет, житель г. Пласт (лесостепная зона), заболел через 3 дня после укуса клеща. Не привит, экстренную серопротекцию не получал. Диагноз: клещевой вирусный менингоэнцефалит с поражением головного и спинного мозга. Диагноз КЭ подтвержден выявлением методом ИФЛ специфических IgM и сероконверсией IgG. Заболевание длилось 29 дней. Из ткани головного и спинного мозга выделено 2 образца РНК и 1 штамм

ВКЭ. Изоляты генотипированы как сибирский подтип ВКЭ, группа Васильченко.

Больная Я., 61 год, жительница г. Копейска (лесостепная зона). Укус клеща 6 сентября 2013 г., заболела 26 сентября, умерла 18 октября, на 23-й день болезни. Диагноз: КЭ, менингоэнцефалополиомиелитическая форма. Из трех участков головного мозга (варолиев мост, лобная и теменная доли) изолирована РНК ВКЭ, генотипированная как сибирский подтип ВКЭ, группа Заусаев.

Больная Ч., 47 лет. 11 мая сняла с головы ползающего клеща. Заболела через 30 дней. Умерла на 15-й день болезни. Серонегативна – IgM и IgG к ВКЭ, иксодовому клещевому боррелиозу, ГЛЧ, МЭЧ, ЛЗН не выявлены в крови и к ВКЭ – в ликворе. Диагноз: менингоэнцефалит неясной этиологии. Из ткани головного мозга умершей изолирована РНК ВКЭ сибирского подтипа, группа Заусаев.

Проведенные исследования показали, что в различных районах Челябинской области циркулирует сибирский подтип ВКЭ, с которым связана этиология летальных случаев заболевания.

Диагностика КЭ у вакцинированных пациентов, особенно в случаях с летальным исходом, трудна из-за необходимости дифференциации вакцинального и инфекционного иммунитета и получения комплекса доказательств специфичности патологического процесса.

В случае, зарегистрированном в Челябинской области у пациента М., многократно привитого вакцинами из штаммов дальневосточного и европейского подтипов ВКЭ, диагноз КЭ подтвержден эпидемиологическими, клиническими, гистологическими данными, детекцией в сыворотках крови специфических IgM и сероконверсией IgG, а также выявлением антигена ВКЭ в нейронах головного мозга методом иммунофлюоресценции.

Ранее нами описан подобный случай в Курганской области, где основой диагноза КЭ служили эпиданамнез (укус клеща), тяжелая неврологическая симптоматика в первые два дня болезни и факт изоляции ВКЭ из ткани мозга [10]. Из-за молниеносного течения заболевания и смерти через 55 ч проследить сероконверсию не удалось. Нетипична была картина морфологических изменений мозга: отсутствовали воспалительно-пролиферативные и дегенеративные изменения, преобладал отек головного мозга [10]. Отсутствие в литературе описания подобных случаев свидетельствует об их исключительной редкости или трудности диагностики.

Оба случая, исследованные нами, имеют сходство: а) зона циркуляции сибирского подтипа ВКЭ, вакцинация гетеротипичными вакцинами; б) многократные прививки с сокращенными интервалами между отдельными ревакцинациями; в) быстрота развития заболевания и летального исхода (55 ч и 9 сут) в отличие от времени смерти невакцинирован-

ных больных (в Челябинской области у пациентов на 15, 29 и 23-й день).

В инструкциях по применению вакцин КЭ число ревакцинаций не ограничено. Между тем известно, что гипервакцинация, излишняя антигенная нагрузка нежелательны из-за риска осложнений, образования иммунных комплексов [17]. Важен принцип индивидуализации процесса вакцинации с учетом иммунного статуса реципиента [17], который еще не вошел в практику специфической профилактики КЭ. Обращает на себя внимание высокий уровень гуморального иммунитета в двух описанных случаях летального КЭ у вакцинированных пациентов – титр IgG 1:1600. При сравнительном изучении российских и зарубежных вакцин КЭ показатель в ИФЛ 1:1600 свидетельствовал о высокой иммуногенности препаратов [3]. Причины неэффективности вакцинации у умерших больных с высоким уровнем иммунитета требуют целенаправленного изучения.

В обоих случаях отягощение заболевания с развитием генерализованных судорожных припадков произошло после введения специфического иммуноглобулина. Подобный эффект наблюдался при введении специфического иммуноглобулина невакцинированным больным очаговой формой КЭ, закончившейся летальным исходом, в Ярославской области [18, 19].

Описанные явления – неэффективность вакцинального иммунитета, отягощающее действие иммуноглобулина – могут быть связаны с феноменами антигенного импринтинга и антителозависимого усиления инфекции [20]. Феномен антигенного импринтинга (phenomenon of original antigenic sin) состоит в том, что при повторном контакте иммунной системы с вирусом или вакциной иммунная система не воспринимает различия между вариантом эпигона, с которым уже познакомилась, и его новым вариантом [20]. Данный феномен обнаружен не только при инфекциях, вызванных антигенно-дрейфующими вирусами (ВИЧ-инфекция, грипп), но и более стабильными вирусами, имеющими серотипы (денге).

Феномен антителозависимого отягощения инфекции (antibody-dependent enhancement – ADE) описан для возбудителей лихорадки Эбола, Марбург, Западного Нила, денге, желтой лихорадки. ВКЭ имеет 3 серотипа, генетические отличия существуют между вакцинными и инфицирующими штаммами. В экспериментах *in vitro* воспроизведен феномен ADE, хотя не со всеми изученными сыворотками [21].

Описанные феномены могут проявляться лишь у отдельных людей. Вероятность их реализации в условиях вакцинации и применения специфического иммуноглобулина зависит от индивидуальных особенностей иммунной системы человека, полиморфизма генов, ответственных за иммунный ответ на вирус и антигены вакцин [20, 22, 23].

## Выводы

1. Летальный КЭ развился у пациента 59 лет, получившего полный курс вакцинопрофилактики комбинированно препаратами из штаммов дальневосточного и европейского подтипов ВКЭ, всего 8 прививок. Имелись сокращенные интервалы до 1–2 лет между отдельными ревакцинациями. Заболевание развилось на фоне высокого вакцинального иммунитета, титр IgG 1:1600.

2. Диагноз КЭ подтвержден эпидемиологически данными (укусы двух клещей), тяжелой неврологической симптоматикой, выявлением в сыворотках крови специфических IgM и 8-кратной сероконверсией IgG, типичной для КЭ локализацией морфологических изменений в головном мозге и характером поражения клеток, детекцией антигена ВКЭ в нейронах.

3. Заболевание развилось в зоне распространения сибирской подтипа ВКЭ, выявленного в клещах *Ixodes persulcatus* в различных ландшафтных подзонах. Установлена роль сибирского подтипа ВКЭ группы Заусаев и Васильченко в этиологии летальных случаев КЭ в Челябинской области.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Воробьева М. С., Меркулов В. Л., Ладыженская И. П., Рукавишников Л. В., Шевцов В. А. История изучения и оценка качества современных вакцин клещевого энцефалита отечественного и зарубежного производства. *Ведомости научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2013; 3: 40–4.
2. Хайнц Ф., Хольцманн Х., Эссл А., Кундт М. Анализ эффективности вакцинации населения природных очагов Австрии против клещевого энцефалита. *Вопросы вирусологии*. 2008; 2: 19–27.
3. Романенко В. В., Анкудинова А. В., Килячина А. С. Эффективность программы массовой вакцинопрофилактики клещевого вирусного энцефалита в Свердловской области. *Вестник Уральской государственной медицинской академии*. 2010; 21: 125–32.
4. Погодина В. В., Карань Л. С., Колясникова П. М., Левина Л. С., Маленко Г. В., Гамова Е. Г. и др. Эволюция клещевого энцефалита и проблема эволюции возбудителя. *Вопросы вирусологии*. 2007; 5: 16–20.
5. Колясникова Н. М., Погодина В. В., Карань Л. С., Левина Л. С., Маленко Г. В., Герасимов С. Г., Платонов А. Е. Молекулярная эпидемиология клещевого энцефалита. В кн.: *Медицинская вирусология*. М.; 2013; т. 27: 59.
6. Леонова Г. Н. *Клещевой энцефалит: актуальные аспекты*. М.: Издатель Балабанов И. В.; 2009.
7. Leonova G. N., Pavlenko E. V. Characterization of neutralizing antibodies to Tar-Hastern Tick-borne encephalitis virus subtype and antibody avidity for four Tick-borne encephalitis vaccines in human. *Vaccine*. 2009; 27: 2899–904.
8. Волкова Л. И. Клещевой энцефалит на Среднем Урале: клинико-эпидемиологический анализ острых и хронических форм, пути оптимизации оказания специализированной медицинской помощи в эндемичном очаге: Дисс. ... д-ра мед. наук. Екатеринбург; 2009.
9. Леонова Г. Н., Павленко Г. В., Крылова Н. В. *Вакцинопрофилактика клещевого энцефалита*. Владивосток: Издательство «ОАО «Приморский полиграф»; 2006.
10. Погодина В. В., Левина Л. С., Скрынник С. М., Травина Н. С., Карань Л. С., Колясникова Н. М. и др. Клещевой энцефалит с молниеносным течением и летальным исходом у многократно вакцинированного пациента. *Вопросы вирусологии*. 2013; 2: 33–7.

11. Конькова-Рейдман Л. В., Злобин В. И. Клинико-эпидемиологическая характеристика клещевого энцефалита на Южном Урале. *Сибирский медицинский журнал*. 2011; 4: 92–5.
12. Карань Л. С., Браславская С. И., Мязин А. Е. Развитие методов детекции и генотипирования вируса клещевого энцефалита на основе амплификационных технологий. *Вопросы вирусологии*. 2007; 6: 17–22.
13. Лучинина С. В., Степанова О. П., Погодина В. В., Стенько И. Д., Чиркова Г. Г., Герасимов С. Г., Колесникова Л. И. Современная эпидемиологическая ситуация по клещевому вирусному энцефалиту в Челябинской области. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2014; 2 (75): 32–7.
14. Holzmann H. Diagnosis of Tick-borne encephalitis. *Vaccine*. 2003; 21 (31): 36–40.
15. Морозова О. В., Гришечкин А. Е., Конькова-Рейдман А. Б. Количественные оценки ДИК боррелий и бартоanelл и РНК вируса клещевого энцефалита в клещах *Ixodes persulcatus*, собранных в Челябинской области. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2011; 1: 35–8.
16. Левина Л. С., Погодина В. В., Карань Л. С., Колясникова П. М., Кармышева В. Я., Маленко Г. В. и др. Вирусологическая и молекулярно-генетическая диагностика легальных случаев энцефалита на Урале, в Западной Сибири и европейской части России (2001–2013 гг.). В кн.: *Труды VIII Научно-практической конференции «Молекулярная диагностика-2014»*. М.; 2014; т. 2: 500–1.
17. Медунитсын Н. В., Миронов А. Н. Вакцины. Новые способы повышения эффективности и безопасности вакцинации. *Вопросы вирусологии*. 2012; приложе. 1: 43–51.
18. Погодина В. В., Левина Л. С., Колясникова Н. М., Безрукова Е. Г., Дружинина Т. Д. и др. Летальные исходы клещевого энцефалита, вызванного сибирским подтипом возбудителя в европейской части России и на Урале. В кн.: *Медицинская вирусология*. М.; 2009; т. 26: 121–2.
19. Герасимов С. Г. Эволюция клещевого энцефалита в Центральном федеральном округе России. Моделирование смены подтипов возбудителя в эксперименте: Дисс. ... канд мед. наук. М.; 2012.
20. Супотницкий М. В. Неисследованные тупики вакцинации. *Крымский журнал экспериментальной клинической медицины*. 2011; 1 (3–4): 118–27.
21. Ожерелков С. В., Калинин И. С., Кожевникова Т. Н., Санин Л. В., Тимофеев Л. В., Стивенсон Д. Р. Экспериментальное исследование феномена антителозависимого усиления инфекционности вируса клещевого энцефалита in vitro. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2008; 6: 39–43.
22. Rummyantsev S. N. The origin of individual differences in the course and severity of diseases. *Sci. World J.* 2006; 6: 1674–1704. (DOI 10.1100/tsw.2006.278).
23. Ruzek D., Dobler G., Niller H. May early intervention with dose intravenous immunoglobulin pose a potentially successful treatment for severe cases of Tick-borne encephalitis. *BMC Infect. Dis.* 2013; 1306–12.
- evolution and the problem of TBE virus evolution. *Voprosy virusologii*. 2007; 5: 16–21. (in Russian)
5. Kolyasnikova N. M., Pogodina V. V., Karan' L. S., Levina L. S., Malenko G. V., Gerasimov S. G., Platonov A. E. Molecular epidemiology of Tick-borne encephalitis. In: *Meditinskaya virusologiya*. Moscow; 2013; t. 27: 59. (in Russian)
6. Leonova G. N. Tick-borne encephalitis: actual problems. *Kleshchevyy entsefalit: aktual'nye aspekty*. Moscow: Izdatel Balabanov I. U.; 2009. (in Russian)
7. Leonova G. N., Pavlenko L. V. Characterization of neutralizing antibodies to Far-Eastern Tick-borne encephalitis virus subtype and antibody avidity for four Tick-borne encephalitis vaccines in human. *Vaccine*. 2009; 27: 2899–904.
8. Volkova L. I. Tick-borne Encephalitis in Middle Urals: Clinical and Epidemiological Analysis of Acute and Chronic Forms, Improvement of Special Medical Service in Endemic Territory: Diss. Ekaterinburg; 2009. (in Russian)
9. Leonova G. N., Pavlenko E. V., Krylova N. B. Vaccine Protection of Tick-borne Encephalitis. *Vaktsinoprofilaktika kleshchevogo entsefalita*. Vladivostok: Izdatel'stvo «OAO Primorskiy poligraf»; 2006. (in Russian)
10. Pogodina V. V., Levina N. S., Skrynnik S. M., Travina N. S., Karan' L. S., Kolyasnikova N. M. et al. Tick-borne Encephalitis with fulminant course and lethal outcome in patient with plural vaccination. *Voprosy virusologii*. 2013; 2: 33–7. (in Russian)
11. Kon'kova-Reydmann A. B., Zlobin V. I. Specific and non-specific prevention of Tick-borne encephalitis and Ixodes borreliosis in Southern Urals. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*. 2011; 4: 92–5. (in Russian)
12. Karan' L. S., Braslavskaya S. I., Myazin A. E. The development of methods for tick-borne encephalitis virus detection and genotyping based on amplification technologies. *Voprosy virusologii*. 2007; 6: 17–22. (in Russian)
13. Luchinina S. V., Stepanova O. N., Pogodina V. V., Sten'ko E. A., Chirkova G. G., Gerasimov S. G., Kolesnikova Z. I. Modern epidemiologic situation of Tick-borne encephalitis in Chelyabinsk Region of Russia. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika*. 2014; 2 (75): 32–7. (in Russian)
14. Holzmann H. Diagnosis of Tick-borne encephalitis. *Vaccine*. 2003; 21 (31): 36–40.
15. Morozova O. V., Grisechkin A. L., Kon'kova-Reydmann A. B. Quantitative assay of DNA of borrelia and bartonella and RNA of Tick-borne encephalitis virus in the ticks *Ixodes persulcatus* collected in Chelyabinsk region. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya*. 2011; 1: 35–8. (in Russian)
16. Levina L. S., Pogodina V. V., Karan' L. S., Kolyasnikova N. M., Karmysheva V. Ya., Malenko G. V. et al. Virbiological and molecular diagnostics of encephalitis cases in Ural, West Siberia and European regions of Russia (2001–2013). In: *Proceedings of the VIII Conference «Molecular Diagnostics-2014»*. Moscow; 2014; T. 2: 500–1. (in Russian)
17. Medunitsyn N. V., Mironov A. N. Vaccines. New approaches for the enhancement of vaccination efficiency and safety. *Voprosy virusologii*. 2012; pril. 1: 43–51. (in Russian)
18. Pogodina V. V., Levina L. S., Kolyasnikova N. M., Bezrukova E. G., Druzhinina T. A. et al. Lethal Tick-borne encephalitis related with Siberian subtype of TBE virus in European parts of Russia and Ural. In: *Meditinskaya virusologiya*. Moscow; 2009; T. 26: 121–2. (in Russian)
19. Gerasimov S. G. Tick-borne Encephalitis Evolution in Central Federal District of Russia. The Change of TBEV Subtypes in Experiments: Diss. Moscow; 2012. (in Russian)
20. Supotnitskiy M. V. Unexplored deadlocks vaccination. *Krymskiy zhurnal eksperimental'noy klinicheskoy meditsiny*. 2001; 1 (3–4): 118–27 (in Russian)
21. Ozherekov S. V., Kalimina E. S., Kozhevnikova T. N., Sanin A. V., Timofeev A. V., Stivenston D. R. Experimental study of the phenomenon of antibody dependent Tick-borne encephalitis virus infectivity enhancement in vitro. *Zhurnal mikrobiologicheskoy epidemiologii i immunobiologii*. 2008; 6: 39–43. (in Russian)
22. Rummyantsev S. N. The origin of individual differences in the course and severity of diseases. *Sci. World J.* 2006; 6: 1674–704. (DOI 10.1100/tsw.2006.278).

## REFERENCES

1. Vorob'yeva M. S., Merkulov V. A., Ladyzhenskaya I. P., Rukavishnikov A. V., Shevtsov V. A. History of creation and quality evaluation of modern tick-borne encephalitis vaccines of domestic and foreign production. *Vedomosti nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya*. 2013; 3: 40–4. (in Russian)
2. Khaynz F., Hol'tsman Kh., Essl A., Kundt M. Analysis of efficiency of tick-borne encephalitis vaccination in the population in the natural foci of Austria. *Voprosy virusologii*. 2008; 2: 19–27. (in Russian)
3. Romanenko V. V., Ankudinova A. V., Kilyachina A. S. Efficiency of the TBE vaccination program in Sverdlovsk region. *Vestnik Ural'skoy gosudarstvennoy meditsinskoy akademii*. 2010; 21: 125–32. (in Russian)
4. Pogodina V. V., Karan' L. S., Kolyasnikova N. M., Levina L. S., Malenko G. V., Gamova E. G. et al. Tick-borne Encephalitis



23. Ruzek D., Dobler G., Niller H. May early intervention with dose intravenous immunoglobulin pose a potentially successful treatment for severe cases of Tick-borne encephalitis. *BMC Infect. Dis.* 2013; 1306–12.

Поступила 04.12.14  
Received 04.12.14

#### Сведения об авторах:

**Лучинина Светлана Васильевна**, зам. руководителя Управления Роспотребнадзора по Челябинской обл.; **Степанова Ольга Николаевна**, зам. начальника эпидотдела Управления Роспотребнадзора по Челябинской обл.; **Стенько Екатерина Александровна**, зав. инфекционным отделением больницы № 8; **Горфинкель Анна Наумовна**, канд. мед. наук, зав. патолого-анатомическим отделением; **Кармышева Валентина Яковлевна**, доктор мед. наук, гистолог, ст. науч. сотр. лаб. клещевого энцефалита и других вирусных энцефалитов ФГБУ «ИПВЭ им. М. П. Чумакова»; **Герасимов Сергей Геннадьевич**, канд. мед. наук, вирусолог,

ст. науч. сотр. лаб. клещевого энцефалита и других вирусных энцефалитов ФГБУ «ИПВЭ им. М. П. Чумакова»; **Левина Людмила Сергеевна**, канд. биол. наук, вирусолог, вед. науч. сотр. лаб. клещевого энцефалита и других вирусных энцефалитов ФГБУ «ИПВЭ им. М. П. Чумакова»; **Чиркова Галина Григорьевна**, зав. вирусологической лабораторией «Центр гигиены и эпидемиологии» в Челябинской обл.; **Карань Людмила Станиславовна**, руководитель научной группы «Разработка новых методов диагностики природно-очаговых инфекций» ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора; **Колясникова Надежда Михайлова**, молекулярный биолог, вирусолог, канд. мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. клещевого энцефалита и других вирусных энцефалитов; **Маленко Галина Викторовна**, канд. биол. наук, иммунолог, вед. науч. сотр. лаб. клещевого энцефалита и других вирусных энцефалитов ФГБУ «ИПВЭ им. М. П. Чумакова»; **Колесникова Любовь Ивановна**, вед. эксперт эпидотдела Управления Роспотребнадзора по Челябинской обл.