

Погодина В.В.¹, Карань Л.С.², Левина Л.С.¹,
Колясникова Н.М.¹, Герасимов С.Г.¹, Маленко Г.В.¹

75-летие открытия вируса клещевого энцефалита. Сравнение ранних (1937–1945) и современных штаммов

¹ ФГБУ «Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова» РАМН;

² ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора РФ

Историческая дальневосточная экспедиция Л.А. Зильбера 1937 г. в кратчайшие сроки – 3 месяца – открыла вирус клещевого энцефалита (ВКЭ), его передачу клещами *Ixodes persulcatus*, описала основные черты эпидемиологии, патоморфологии болезни. Из 29 выделенных во время этой экспедиции штаммов на настоящий момент сохранились два. В 1939–1945 гг. М.П. Чумаков открыл природные очаги КЭ на Урале, в Сибири, Казахстане, европейской части СССР. Впервые им была установлена спонтанная зараженность *I. ricinus*, открыта роль ВКЭ в этиологии хронического КЭ. Выделено множество штаммов. В статье представлены результаты генотипирования уникальной коллекции штаммов М.П. Чумакова, в которой содержатся первые изоляты дальневосточного, европейского и сибирского подтипов. Дана сравнительная характеристика ранних штаммов и изолятов 1954–2007 гг. по уровню вирулентности и генетическим особенностям.

Ключевые слова: клещевой энцефалит, открытие вируса, генотипы, вирулентность, ранние штаммы, современные штаммы.

Pogodina V.V.¹, Karan L.S.², Levina L.S.¹,
Kolyasnikova N.M.¹, Gerasimov S.G.¹, Malenko G.V.¹

75-anniversary of the tick-borne encephalitis discovery. Comparison of historical (1937–1945) and modern strains of tick-borne encephalitis virus

¹ M.P. Chumakov Institute of poliomyelitis and viral encephalitis,
Russian Academy of medical sciences

² Central Research Institute of Epidemiology, Russian Ministry of public health

The TBE virus was discovered in 1937 by members of L.A. Zilber expedition on the territory of Far East of USSR. Within 3 month, 29 strains of TBE from patients and died people and *Ixodes persulcatus* ticks were isolated. Just two strains, Sofjin and Obor-4, preserved. During 1939–1945 M.P. Chumakov discovered TBE natural foci the Far East – in Ural, Siberia, Kazakhstan and European part of the USSR. He proved the significance of TBEV in etiology of chronic TBE and stated for the first time that *Ixodes ricinus* ticks are transmitters of TBEV in the western regions of the areal. M.P. Chumakov's collection is a unique collection of earliest strains of TBEV. Authors performed a genetic assessment of RNA specimens extracted directly from a lyophilized virus stored for 60 to 65 years long, and recovered from the collection strains also. Retrospectively, a fact of belonging of strains to the Far Eastern, European, and Siberian subtypes was stated. Unusual strains which contain fragments of NS1 and E protein genes of both the Far Eastern and Siberian subtypes are revealed. Genetic peculiarities and virulence of the collection and modern strains of TBEV were studied.

Key words: tick-borne encephalitis, virus discovery, genotypes, virulence, early strains, modern strains.

Открытие вируса клещевого энцефалита.

Среди многих открытий в области микробиологии открытие клещевого энцефалита (КЭ) и его возбудителя занимает особое место, поскольку стало мощным стимулом к развитию отечественной медицинской вирусологии и формированию крупных научных школ в области онковирусологии, вакцинологии, эпидемиологии, патогенеза и иммунологии вирусных инфекций, природной очаговости болезней.



Рисунок 1. Руководитель Первой дальневосточной экспедиции академик Зильбер Лев Александрович (1894–1966)

Первая дальневосточная экспедиция 1937 г., возглавляемая Львом Александровичем Зильбером, является образцом великолепной организации и высококвалифицированной работы большого многопрофильного коллектива, добившегося выдающихся успехов в кратчайшие сроки – всего за 3 мес.. По воспоминаниям А.К. Шубладзе, к началу экспедиции в стране насчитывалось всего 16 вирусологов, занимавшихся вирусами растений и бактериофагами. Л.А. Зильбер включил в состав экспедиции молодых, но уже опытных сотрудников, в основном в возрасте около 30 лет. Самому Льву Александровичу было немногим более 40. Руководителем Северного отряда, работавшего в Хабаровском крае с базой в п. Обор, была Елизавета Николаевна Левкович. Южный отряд базировался в Приморском крае, его возглавляла

Александра Даниловна Шеболдаева. В каждом отряде были молодые вирусологи (М.П. Чумаков, А.К. Шубладзе, В.Д. Соловьёв), энтомологи – ученики Е.Н. Павловского – эпидемиологи (В.Л. Ольшевская и Т.М. Сафонова), клиницисты – военные врачи Хабаровского военного госпиталя: И.З. Финкель, А.Г. Панов, А.Н. Шаповал и другие специалисты.

Экспедиция установила этиологию неизвестной тяжёлой нейроинфекции, выделила многочисленные штаммы, определила переносчика – иксодового клеща *Ixodes persulcatus* (рис. 2), описала клинику и патологическую анатомию болезни, обосновала нозологическую самостоятельность заболевания, предложила и испытала перспективный метод – серотерапию [1].

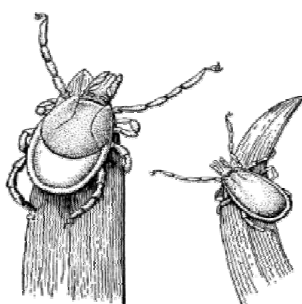
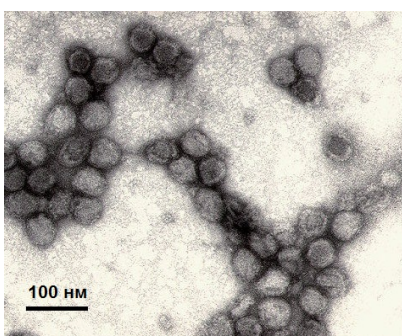


Рисунок 2. ВКЭ (*Flaviviridae*, *Flavivirus*) – возбудитель КЭ (слева); подстерегающие прокормителя иксодовые клещи *Ixodes persulcatus* (♀ и ♂) – хозяева и переносчики ВКЭ (центр); питающаяся самка *I. persulcatus* (справа).

Вторая дальневосточная экспедиция (1938 г.), руководимая Е.Н. Павловским (рис. 3) и А.А. Смородинцевым, детально исследовала трансмиссивный путь передачи, вопросы природной очаговости, распределение вируса в организме человека, гуморальный иммунитет. Одновременно в Москве Надежда Вениаминовна Каган разрабатывала первую инактивированную вакцину из мозга заражённых мышей [2]. После гибели Н.В. Каган и лаборанта Н.Я. Уткиной, заразившихся в лабораторных условиях, работу по созданию

вакцины продолжила Е.Н. Левкович. Полученные серии вакцины первыми испытали на себе Е.Н. Левкович, А.А. Смородинцев и лаборант Г.Н. Зорина-Николаева. В 1939 г. во время 3-й дальневосточной экспедиции созданная вакцина была испытана в эпидопыте.



Рисунок 3. В базовом лагере Северного отряда (п. Обор, 1938 г.): руководитель (слева) Второй дальневосточной экспедиции академик Павловский Евгений Никанорович (1884–1965)

Отечественные учёные,
отдавшие свои жизни в борьбе с КЭ



Рисунок 4.
Уткина
Наталья Яковлевна
(1913–1938)



Рисунок 5.
Померанцев
Борис Иванович
(1903–1939)

Блестящая работа 1-й и последующих дальневосточных экспедиций сопровождалась тяжёлыми испытаниями и потерями. В 1937 г. заразились и заболели КЭ М.П. Чумаков, В.Д. Соловьёв, Е.Ф. Гневыхева. В 1938 г. при разработке вакцины против КЭ заразились и погибли Н.В. Каган и Н.Я. Уткина (рис. 4). В 1939 г. погиб энтомолог Б.И. Померанцев (рис. 5), подвергшийся массовому нападению клещей, он похоронен на территории Супутинского заповедника.

В 1937 г. после возвращения из экспедиции в Москву и блестящих отзывов прессы об итогах экспедиции Л.А. Зильбер, А.Д. Шеболдаева и

Т.М. Сафонова были арестованы. Возможные причины арестов и сущность ложных доносов обсуждаются в ряде изданий (Шаров А. «Первое сражение», 1963; «Воспоминания о Михаиле Петровиче Чумакове», 1999, 2009; «Воспоминания о Елизавете Николаевне Левкович», 2001), а также в журнальных статьях [7]. Воспоминания об истории открытия КЭ и его изучении оставили многие участники первых экспедиций, но только Л.А. Зильбер и в последние годы А.Н. Шаповал писали о произошедших арестах, в том числе – среди военных врачей (И.З. Финкель и др.).

Наиболее полно вопрос об арестах с использованием материалов государственных архивов, а также борьба за освобождение Л.А. Зильбера отражены в книге Л.Л. Киселева и Е.С. Левиной [4].

За годы активного изучения КЭ чрезвычайно расширился его нозоареал, и клещевой энцефалит стал серьезной медицинской проблемой Евразии [12]. В странах Европы ежегодно регистрируется до 1 200–14 000 случаев КЭ. В Российской Федерации пик заболеваемости пришелся на 1996 г., когда было зарегистрировано около 10 тыс. больных. Существенно пополнились представления об эпидемиологии и клинике КЭ, строении и свойствах возбудителя, о его серотипах и генотипах. Созданы новые виды вакцин: культуральная инактивированная неочищенная и инактивированные культуральные очищенные концентрированные вакцины. Каждое открытие в области КЭ становилось предметом научных дискуссий: существование шотландского энцефаломиелита в СССР (Зильбер Л.А., Шубладзе А.К., 1944), алиментарный путь заражения при КЭ, нозологическая самостоятельность двухволнового менингоэнцефалита (Сморозинцев А.А. и др., 1954) и двухволновой молочной лихорадки (Чумаков М.П. и др., 1954; Дроздов С.Г., 1956). Открытие вирусов ОГЛ, КЛБ, Лангат, Повассан привело к дискуссии о единстве или множественности клещевых энцефалитов, сходстве и различиях членов антигенного комплекса КЭ (Левкович Е.Н. и др., 1967). В связи с различной тяжестью течения КЭ в пределах Евразии дискутировался вопрос о трех нозологических формах, вызываемых различными генотипами ВКЭ (Вотяков В.И. и др., 2002). Открытия в области молекулярной биологии ВКЭ и молекулярной эпидемиологии инфекции поставили вопрос о количестве генотипов ВКЭ, в том числе об отдельном сибирском подтипе (генотип 3) и его патогенном потенциале (Вотяков В.И. и др., 2002; Злобин В.И. и др., 2002, 2003; Локтев В.Б., 2007; Grard et al, 2007; Погодина В.В. и др., 2007, 2009). В последние годы особую остроту приобрела проблема генетического несоответствия вакцинных и природных штаммов ВКЭ и протективного эффекта гетеротипичных вакцин.

В настоящей статье характеризуются первые изоляты ВКЭ и сравниваются их вирулентность и генетические особенности со свойствами современных штаммов ВКЭ, а также рассматриваются некоторые дискуссионные вопросы проблемы КЭ.

Первые штаммы ВКЭ (1937 г.).

Экспедиция Л.А. Зильбера изолировала 29 штаммов нового вируса. В рабочих тетрадях Северного отряда отражена изоляция 24 штаммов. С 20 мая больные поступали в больницу п. Обор ежедневно, умирали на 2–3 сут.. Ликвором больных и мозгом умерших 21 мая 1937 г. была заражена первая партия мышей. Руководитель отряда Е.Н. Левкович записывает в экспедиционном дневнике 7 июня: «Таким образом, получен вирус из мозга 3 больных с клиническим диагнозом энцефалит (бульбарная форма)». Это больные Косицын, Кривушев, Жадан. Позднее из ткани мозга, ликвора, крови и селезенки умерших были выделены новые штаммы.

Южным отрядом экспедиции был изолирован штамм Софьин, которым Л.А. Зильбер, А.Д. Шеболдаева и А.К. Шубладзе заразили обезьян, что позволило в экспедиционных условиях воспроизвести заболевание на животных. Штаммы Софьин и Жадан были использованы в 1938 г. Н.В. Каган для приготовления первой инактивированной мозговой вакцины против КЭ. Позднее основные серии вакцины готовились из штамма Софьин [2].

Из многочисленных штаммов, выделенных экспедицией Л.А. Зильбера, сохранились два – Софьин и Жадан (он же Обор-4 или № 4). Существуют разные линии штамма Софьин, прошедшие множество пассажей в лабораториях нашей страны и за рубежом. В работах ряда авторов фигурирует также штамм АВ062064-Sofjin-НО, происхождение которого не описано. В совместной работе с Л.С. Карань было проведено изучение и секвенирование штамма Обор-4, сохранившегося в лиофилизированном виде в коллекциях Е.Н. Левкович и М.П. Чумакова. Последовательности штамма Khabarovsk/Obor-4/1937 депонированы в GenBank с идентификационным номером FJ214111.

Штаммы периода 1939–1945 гг. (коллекция М.П. Чумакова).

Представления о КЭ как локальной инфекции Дальнего Востока изменились благодаря открытиям М.П. Чумакова, выезжавшего во многие экспедиции, несмотря на перенесенный им тяжёлый КЭ. Впервые было установлено существование очагов КЭ на Урале, в Сибири, Казахстане, в европейской части СССР. Впервые была доказана спонтанная зараженность клещей *Ixodes ricinus* ВКЭ. Впервые была выявлена роль ВКЭ в этиологии хронических форм болезни [11]. Многочисленные штаммы боли изолированы от больных людей, грызунов, из клещей. Лиофилизированные на уровне 3–4-го пассажа, эти штаммы составили уникальную коллекцию ранних изолятов ВКЭ, вероятно, единственную в мире. Достаточно сказать, что первый штамм ВКЭ в европейских странах был выделен в 1948 г..

Сохранившаяся коллекция М.П. Чумакова включала 35 штаммов ВКЭ, из них 26 были изолированы на Урале (1939–1945 гг.), 2 – в Белоруссии (1940, 1941 гг.), 3 – в Ленинградской обл. (1943 г.), 1 – в Казахстане (1941 г.), 3 – на Дальнем Востоке (1937, 1945, 1949 гг.). Большинство штаммов (30) выделены от больных и умерших пациентов.

При исследовании методом ОТ-ПЦР лиофилизированных штаммов, хранившихся свыше 60 лет, РНК ВКЭ была определена в 31 образце в концентрации от $3 \cdot 10^8$ копий/мл до менее, чем 10^3 копий/мл. Генотипирование проводили методом ОТ-ПЦР-РВ (в режиме реального времени) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией с генотипспецифическими зондами [3]. Из 31 генотипированного штамма 27 отнесены к дальневосточному подтипу ВКЭ, 2 – к европейскому подтипу, 2 штамма представляли микст и содержали в области генов белков E и NS1 фрагменты геномов дальневосточного и сибирского подтипов [3, 9].

Для 10 штаммов дальневосточного подтипа из коллекции М.П. Чумакова определены последовательности полного E-гена с целью сравнения с генетической структурой других штаммов того же подтипа, выделенных на Среднем Урале и в других частях нозоареала КЭ в более поздние годы.

Аmplификацию и секвенирование E-гена проводили с двумя парами праймеров по обеим цепям. Первая пара: TBEE1s (TCACGGTGCACACATCTGGAAAA) и TBE6as (CTTGGTTCCCTCAATGTGYGCCACAGGAA); вторая пара: TBE3s (GTTGACYTKGCYACAGACYGTCAT) и TBEE2as (CATCAGCTCCCACTCCGAGTGTCAT). Секвенирование проводили на автоматическом секвенаторе «ABI Prism 3100 DNA Sequencer (Applied Biosystems, USA) с набором «ABI Prism Big Dye Terminator Kit v.1.1». Нуклеотидные последовательности анализировали с использованием программы Mega software v. 4.0.

Данные анализа генетического родства группы уральских штаммов 1939–1943 гг. из коллекции М.П. Чумакова указывают на то, что эти штаммы формируют на филогенетическом дереве отдельную не самую древнюю ветвь, отличаются от штаммов ВКЭ дальневосточного генотипа, изолированных на одноименной территории в 1959–1960 гг. – Ekaterinburg/Vinokurov/1959 (FJ214120), Ekaterinburg/Bersenev/1960 (FJ214121) – но включают в группу ярославский штамм Yaroslavl/10/1989 (FJ214147), выделенный в 1989 г. и дальневосточный штамм N132 (AF091013), изолированный в 1970-х гг.. Данная группа штаммов представляет собой изоляты с достаточно низким уровнем изменчивости: 11 аминокислотных замен среди 12 проанализированных геномов (E ген), подобный уровень дивергенции встречается у другой географически обособленной группы штаммов Oshima – с северной оконечности о. Хоккайдо: 8 аминокислотных замен. Данный высокий уровень гомологии штаммов свидетельствует о существовании на тот момент на Урале достаточно молодой географически обособленной популяции ВКЭ.

Наиболее генетически близки вышеописанной группе штаммы из Свердловской обл. 1970-х гг. изоляции: Ekaterinburg/3745/1968 и Ekaterinburg/80-2/1969; отдельные штаммы, изолированные в Кемеровской области в 1954 и 1967 гг., современные иркутские изоляты 2006 г. Irkutsk/48/2006 (FJ214157) и 2008 г. Irkutsk/1861/2008 (JN003205), штамм из

Новосибирска 1991 г. FJ214558 (рис. 6). То есть во второй половине двадцатого века и в двадцать первом веке, штаммы, близкие группе уральских изолятов 1939–1943 гг., обнаруживаются уже в Западной и Восточной Сибири.



Рисунок 6. Дендрограмма последовательностей (1 488 н.п.) E гена изолятов ВКЭ, построенная с помощью Мега 4.0 по алгоритмам «ближайшего соседа» в рамках 2-параметрической модели М. Кимуры. Черными ромбами обозначены штаммы из коллекции М.П. Чумакова.

Штаммы, выделенные от больных хроническим КЭ.

В коллекции М.П. Чумакова содержатся штаммы, впервые выделенные при основных клинических формах хронического КЭ – гиперкинетической и амиотрофической.

Штамм Troynik – первый в истории изолят, выделенный от больного с синдромом Кожевниковской эпилепсии. Мальчик 6 лет заболел в мае 1940 г. на Среднем Урале – в Свердловской обл.. Сначала развились симптомы острого менингоэнцефалита, гемипарез, клонические судороги в мышцах пораженных конечностей и лица. Позднее появились приступы Кожевниковской эпилепсии. Через 32 дня от начала заболевания из крови изолирован вирус, который был лиофилизирован в 1941 г.. Через 64 года в лиофилизированном материале выявлена РНК ВКЭ в концентрации $5 \cdot 10^6$ копий/мл. При генотипировании штамм Ural/Troynik/1941 (FJ214112) отнесен к дальневосточному подтипу.

Штамм Хромов является первым в истории штаммом, выделенным при амиотрофической форме хронического КЭ во время эпидемии КЭ в войсках Советской Армии на Волховском фронте, Ленинградская обл.. Во время вспышки КЭ было зарегистрировано более 900 больных летом 1942–1943 гг. На местности с глухими нетронутыми елово-лиственными лесами одновременно встречались *I. ricinus* (60 %) и *I. persulcatus* (40 %). Зараженность их достигала 8–10 % [6]. Летальность среди больных составляла 3–4 %, хронические формы КЭ – 8.2 %. Е.Н. Левкович изолировала из клещей и от больных 14 штаммов ВКЭ [6]. Больной Хромов – офицер-артиллерист, 47 лет, заболел в мае 1943 г.: появились лихорадка, державшаяся 10 сут., паралич правой руки. Через 4 мес. развился парез левой руки, атрофия мышц плечевого пояса, слепота. Спустя 1 мес. зрение частично восстановилось. Через 6 мес. от начала заболевания у больного, находившегося в НИИ неврологии в Москве, развились бульбарные явления с летальным исходом. Диагноз: хронический рецидивирующий КЭ, полиоэнцефаломиелит. Из крови, головного и спинного мозга М.П. Чумаковым были выделены 3 штамма ВКЭ. Генотипирование лиофилизированных штаммов было проведено через 60 лет и показало принадлежность штамма Volkhov/Khromov/1943 (FJ214114) к дальневосточному подтипу.

Ретроспективно мы показали, что этиология Волховской вспышки связана с сибирским и дальневосточным подтипами ВКЭ. Штаммы Volkhov-2 (AY9363847) и Volkhov-4, выделенные Е.Н. Левкович из *I. ricinus*, принадлежат сибирскому подтипу. Штамм, выделенный от больного с хроническим КЭ, генотипирован как дальневосточный подтип.

Связь различных подтипов ВКЭ с хроническим КЭ была изучена в последующие годы. В 1962–1969 гг. 22 штамма были изолированы от больных хроническим КЭ в Иркутской и Читинской обл. Н.Н. Краминской, Р.А. Мейеровой, Р.Р. Живоляпиной: Irkutsk-508 (AY363862), Irkutsk-515 (AY363863), Irkutsk-3 (AY363864), Irkutsk-305 (AY363865) и другие.

Штамм Заусаев изолирован в 1986 г. в Томской обл. из мозга умершего больного при первично-прогредиентной полиомиелитической форме хронического КЭ. Т.С. Грицун, Т.В. Фролова и др. в 2003 г. секвенировали полный геном штамма Zausaev (AF527415), показав аминокислотные замены в NS1 белке (T277V, E279G).

Тесная связь сибирского подтипа с хроническим КЭ подтверждается множеством выделенных от больных штаммов и замедленным течением патологического процесса у экспериментально зараженных хомяков (табл. 1). По-видимому, дальневосточный подтип реже вызывает хронические формы заболевания. По данным Г.М. Воронковой и др. (2007 г.), на Дальнем Востоке хронические формы КЭ наблюдаются в 0.5 % случаев. Известны лишь три штамма дальневосточного подтипа, выделенные при хроническом течении болезни. Два таких штамма относятся к коллекции М.П. Чумакова, один штамм (Primorje-1024) выделен на Дальнем Востоке в 1969 г. и генотипирован нами в 2004 г..

Таблица 1. Вирулентность ранних и современных штаммов ВКЭ для сирийских хомяков.

Подтип ВКЭ	Штамм, регион	Год изоляции	Источник изоляции **	Гибель хомяков, %	СПЖ, дни
Дальневосточный (ДВ)	Sofjin (ХО7755), Дальний Восток	1937	Мозг, ОКЭ	100	5.9
	Khabarovsk/Obor/1937 * (FJ214111)	1937	Мозг, ОКЭ	100	8.3
	Т-кровь *, Урал	1939	Кровь, ОКЭ	100	11.1
	Ural/Troynik * (FJ214112)	1941	Кровь, ХКЭ	100	9.3
	Ural/Antipov * (FJ214115)	1942	Кровь, ОКЭ	80	13.2
	Ural-Yulya * (FJ214113)	1943	СМЖ, ОКЭ	100	7.1
	Ural/Nina * (FJ214119)	1943	Кровь, ОКЭ	100	9.2
	Ural/Belogradov *	1944	Мозг, ОКЭ	90	9.5
	Kemerovo/Phateev (FJ214132)	1954	Кровь, ОКЭ	100	8.0
	Khabarovsk-17	1957	Мозг, ОКЭ	100	8.8
	Primorje-1024	1969	Кровь, ХКЭ	100	8.0
	Chita-18	2002	Мозг, ОКЭ	90	13.7
	Ekaterinburg-74	2003	<i>I. persulcatus</i>	100	7.0
	Ekaterinburg-79	2003	<i>I. persulcatus</i>	100	6.3
Сибирский	Irkutsk-518 (AY363861)	1966	Кровь, ХКЭ	40	24.8
	Primorje-592	1967	Кровь, ХКЭ	30	58.3 ***
	Yaroslavl-2 (FJ214144)	1980	<i>I. persulcatus</i>	20	27.4
	Ekaterinburg-27 (FJ214123)	2006	<i>I. persulcatus</i>	30	22.8
	Ekaterinburg-37 (FJ214126)	2006	<i>I. persulcatus</i>	40	27.0
	Vologda-227 (FJ214153)	2006	<i>I. persulcatus</i>	30	21.8
	Kurgan-280 (FJ214152)	2007	<i>I. persulcatus</i>	30	25.0
Сибирский + ДВ	Kazakhstan/Baidar/1941 *	1941	Кровь, ОКЭ	70	19.8
	<i>I. persulcatus</i> -45 *, Урал	1945	<i>I. persulcatus</i>	70	20.1

* штаммы из коллекции М.П. Чумакова.

** обозначения: ОКЭ – острый клещевой энцефалит; ХКЭ – хронический клещевой энцефалит.

*** хомяков наблюдали 90 сут..

Патогенез хронического КЭ связывают с персистенцией вируса, что доказано изоляцией штаммов от больных в отдаленные сроки болезни и экспериментальными исследованиями на сирийских хомяках и обезьянах. В опытах на макаках-резусах хронический энцефалит вызывали штаммы сибирского подтипа, а также мутанты штамма Пан, относящегося к европейскому подтипу [8].

Европейские авторы отмечают развитие постэнцефалитического синдрома у больных, перенесших острый КЭ. Осложнения, вплоть до гемиплегии, могут появиться через 1-2 года после начала заболевания [13]. Способность европейского подтипа вызывать хронические формы КЭ требует дальнейшего изучения, так как на территории прибалтийских стран, Финляндии циркулируют штаммы не только европейского, но и сибирского подтипов.

Сравнение вирулентности ранних и современных штаммов ВКЭ.

В опытах на сирийских хомяках изучены 9 штаммов из коллекции М.П. Чумакова, эталонный штамм Софьин и 13 штаммов, изолированных в 1954–2007 гг. и генотипированных как изоляты дальневосточного и сибирского подтипов. Каждым штаммом заражали интрацеребрально 10 хомяков массой 40 г, доза вируса 10^5 ЛД₅₀/50 мгл. Животных наблюдали 30 сут., определяли процент заболевания и гибели и среднюю продолжительность жизни – СПЖ, как описано в работе [8]. Ранние и современные штаммы дальневосточного подтипа проявили высокую вирулентность для хомяков – гибель 80–100 % животных при СПЖ 5.9–13.2 сут. (табл. 1). Штаммы сибирского генотипа оказались менее вирулентны – гибель 20–40 % хомяков при СПЖ 23.3–27.4 сут.. Если животных наблюдали 90 сут., СПЖ достигала 58 сут. в опытах со штаммами сибирского подтипа. Штаммы Kazakhstan/Baidar/1941 и *I. persulcatus*-45, в которых сочетались генетические структуры двух подтипов, в опытах на хомяках заняли промежуточное положение между дальневосточным и сибирским подтипами.

Проблема смены подтипов ВКЭ.

Изучение коллекции штаммов М.П. Чумакова стало основой развития нового – хронологического – направления молекулярной эпидемиологии КЭ. Мониторинг генетической структуры популяций ВКЭ за 60-тилетний период выявил смену подтипов на Среднем Урале – вытеснение дальневосточного подтипа и замещение его сибирским [9]. В 1939–1945 гг. дальневосточный подтип составлял 95.5 % среди изученных штаммов, в 1959-1960 гг. – 60 %, в 2003 г. изолировали 3 штамма дальневосточного подтипа.. В последующие годы все изоляты из клещей *I. persulcatus* относились к сибирскому подтипу. Сходное изменение вирусной популяции прослежено за 50–30-тилетний период в Кемеровской, Курганской, Ярославской областях. На исследованных территориях в настоящее время сибирский подтип ВКЭ составляет 98–100 % [9].

Описанный нами феномен смены подтипов ВКЭ и расширения зоны доминирования сибирского подтипа стал предметом дискуссии в аспекте иммунопрофилактики КЭ и сущности самого феномена. Вопрос об эффективности иммунизации вакцинами, созданными на основе штаммов дальневосточного и европейского подтипов, решен лишь в Свердловской области [10]. В.В. Романенко и др. проведена вакцинопрофилактика КЭ всеми сертифицированными гетеротипичными вакцинами с охватом 78 % населения, что дало высокий эпидемиологический, иммунологический и клинический эффект [10]. В других регионах малые масштабы вакцинации (3-20%) не влияют на уровень заболеваемости. В ранние годы в Свердловской, Курганской, Ярославской обл. очаговые формы КЭ были вызваны заражением дальневосточным подтипом ВКЭ. На современном этапе (2001-2012 гг.) все исследованные нами летальные случаи КЭ этиологически связаны с сибирским подтипом, доминирующим в природных вирусных популяциях в этих областях. Вирус КЭ сибирского генотипа изолирован из мозга умершего в Курганской области пациента, иммунизированного вакциной на основе штамма ВКЭ дальневосточного подтипа.

Дискутируется также вопрос о механизме появления дальневосточного подтипа ВКЭ на Урале и в европейской части страны [5]. С.Ю. Ковалевым и др. высказана гипотеза о заносе дальневосточного подтипа вследствие реализации государственной программы акклиматизации охотничье-промысловых зверей и птиц путем переселения их в 1930-1990-ые гг. XX века из восточных районов СССР. Если принять факт интродукции дальневосточного подтипа ВКЭ, то нужно объяснить его доминирование в вирусной популяции в начале этого периода (вытеснение «аборигенного» сибирского подтипа?) и последующее снижение его доли вплоть до полного исчезновения. По данным авторов гипотезы, в 1966–1986 гг. доля дальневосточного подтипа составляла 18.6 %, в 2007 г. – 0.003 %.

Наши наблюдения показывают, что происходящие изменения генетической структуры природных вирусных популяций на исследованных территориях имеют одинаковую направленность и по существу соответствуют термину «смена подтипов».

ЛИТЕРАТУРА

1. Зильбер Л.А., Левкович Е.Н., Шубладзе А.К. и др. Этиология весенне-летнего эпидемического энцефалита // Архив биологических наук. – 1938. – Т. 52. – № 1. – С. 162–163.
2. Каган Н.В. Экспериментальные материалы к иммунизации мышей против весенне-летнего (клещевого) энцефалита препаратами живого и убитого вируса // Архив биологических наук. – 1939. – Т. 56. – № 2. – С. 97–111.
3. 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. – С. 17–22.
4. Киселев Л.Л., Левина Е.С. Лев Александрович Зильбер 1894–1966. Жизнь в науке. – М.: Наука, 2005. – 699 с.
5. Ковалев С.Ю. Проблема «смены» генотипа ВКЭ на Урале за последние 60 лет // Национальные приоритеты России. – 2011. – № 2 (5), спец. вып. – С. 151–153.
6. Петрищева П.А., Левкович Е.Н. Спонтанная зараженность *I. ricinus* и *I. persulcatus* вирусом клещевого энцефалита в Ленинградской области // В кн.: Весенне-летний энцефалит в Ленинградской области. Ленинград, 1945. – С. 71–73.
7. Погодина В.В. История изучения клещевого энцефалита: открытия, трагедии, вопросы, дискуссии // Вестник УГМА. – 2010. – № 21. – С. 121–124.
8. Погодина В.В., Фролова М.П., Ерман Б.А. Хронический клещевой энцефалит. – Новосибирск: Наука, 1986. – 233 с.
9. Погодина В.В., Карань Л.С., Колясникова Н.М. и др. Эволюция клещевого энцефалита и проблема эволюции возбудителя // Вопросы вирусологии. – 2007. – № 5 – С. 16–20.
10. Романенко В.В., Анкудинова А.В., Килячина А.С. Эффективность программы массовой вакцинопрофилактики клещевого энцефалита в Свердловской области // Вестник УГМА. – 2010. – № 21. – С. 125–132.
11. Чумаков М.П. Клещевой энцефалит человека // Дисс. ... д.м.н. – М., 1944. – В 2-х тт..
12. Gritsun T.S., Nuttall P.A., Gould E.A. Tick-borne flaviviruses // Adv. Virus Res. – 2003. – V. 61. – P. 317-371.
13. Haglund M., Gunter G. Tick-borne encephalitis – pathogenesis, clinical and long-term follow-up // In: Tick-borne encephalitis: virus, disease and prevention / Eds.: C. Kunz, F.X. Heinz.