

УДК616.988.25-002:595.42]-085.37

Г.Н. Леонова

**ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКА КЛЕЩЕВОГО  
ЭНЦЕФАЛИТА В УСЛОВИЯХ ЦИРКУЛЯЦИИ  
ГЕТЕРОГЕННОЙ ВИРУСНОЙ ПОПУЛЯЦИИ**НИИ эпидемиологии и микробиологии СО РАМН  
(г. Владивосток)*Ключевые слова: вирус клещевого энцефалита, вакцины, специфический иммунный ответ.*

Клещевой энцефалит (КЭ) встречается на обширной территории Евразийского материка. В Российской Федерации эта инфекция регистрируется на 46 административных территориях, в том числе на 18 территориях Сибири и Дальнего Востока. В 1996 и 1999 г. был отмечен значительный подъем заболеваемости до уровня 6,8–7 на 100 тыс. населения. По данным Г.Г. Онищенко [12], в первые годы XXI века в среднем по Российской Федерации интенсивный показатель заболеваемости КЭ составил 4–5 на 100 тыс. населения. Наряду с этим возросло число лиц с остаточными явлениями после перенесенной болезни, а также повысилась заболеваемость среди детей [12]. Эти процессы протекают на фоне заметного снижения показателей иммунореактивности населения. Замедлилось формирование специфического иммунного ответа у больных, антитела появляются в более поздние сроки — через 28–35 дней от начала заболевания [3].

В последние десятилетия существенно изменилось представление о структуре популяции вируса КЭ. По нашему мнению, наиболее изученной является незначительная часть вирусной популяции, которая способна вызвать острые формы с типичной клиникой заболевания [5]. Большая же часть вирусной популяции остается вне поля зрения исследователей. Инфицирование людей штаммами вируса, которые не всегда проявляют вирулентность и иммуногенность, вероятно, указывает на какие-то дефекты в генетической структуре изолятов. Явление дефектности у циркулирующих в природе штаммов возбудителей КЭ и ее возможная связь с серонегативными формами заболевания были отмечены также и В.В. Погодиной [14].

Изучение молекулярной характеристики штаммов, изолированных от больных с инаппарантной и очаговыми формами инфекции в Приморском крае, показало принадлежность их к дальневосточному субтипу вируса КЭ [7]. Сформировавшееся современное представление о вирусной популяции заставляет нас использовать эти знания при изучении вопроса эффективности вакцинопрофилактики КЭ.

История создания вакцины против КЭ началась практически с момента открытия возбудителя в 1937 г. Отряду первооткрывателей, начальником которого был известный к тому времени вирусолог проф. Л.А. Зильбер, было ясно, что для защиты от этого

опасного заболевания необходима вакцина. Уже в 1938 г. группой молодых вирусологов была создана первая мозговая инактивированная формалином вакцина на основе дальневосточного штамма «Софьин» вируса КЭ. Первые опыты по изучению эффективности этой вакцины были проведены в 1939 г. на территории Оборского лесопромышленного хозяйства (Хабаровский край) [13]. Несмотря на очевидную эпидемиологическую эффективность, вакцина вызывала неблагоприятные побочные действия, что диктовало необходимость поиска более безопасных подходов при создании новых препаратов.

Разработка в 60-х годах XX века вакцины против КЭ с применением культуры клеток куриных эмбрионов для репродукции вируса явилась значительным шагом к улучшению качества вакцинного препарата. Однако громоздкая схема вакцинации, кратковременный гуморальный иммунитет у лиц, привитых жидкой культуральной вакциной, инактивированной формалином, постоянно стимулировали исследовательские работы. Так, в 70-х годах бурную реакцию вызвали разработки живой вакцины на основе аттенуированного штамма TP-21 вируса Лангат и его антигенно близкого, естественно аттенуированного штамма Еланцев, изолированного из крови человека на территории Сибирского региона [15]. Эта вакцина не нашла практического применения в силу ее потенциальной опасности. В настоящее время продолжают работы по поиску наиболее безопасных и высокоэффективных вакцин нового поколения на основе современных генно-инженерных технологий. Заслуживают внимания работы по созданию в качестве вакцинного препарата рекомбинантной ДНК, содержащей гены E и NS1 вируса КЭ [17].

Применение современных методов концентрации и очистки вируса КЭ позволило создать технологию получения цельновирионной, концентрированной, очищенной инактивированной вакцины. В настоящий период в Российской Федерации для профилактики КЭ используют пять таких препаратов: сухая вакцина ИПВЭ РАМН им. М.П. Чумакова (г. Москва) и жидкие вакцины «Энцевир» (г. Томск), «ФСМЕ — ИММУН-Инжек» (Австрия), «Энцепур взрослый», «Энцепур детский» (Германия). Несмотря на схожесть технологии производства, все же эти вакцины имеют свои особенности. Так, в австрийской и в российских вакцинах для сохранения активности препарата применяют человеческий сывороточный альбумин, который, по мнению E. Marth и B. Kleihapfl [22], не только стабилизирует вирусный антиген, но и смягчает действие на иммунную систему других компонентов вакцины, в первую очередь адьюванта — гидроокиси алюминия. И только немецкая вакцина против КЭ не содержит стабилизаторов, таких как полижелатин и альбумин, что выгодно отличает ее от других препаратов, так как исключает нежелательные аллергические реакции, а также возможность передачи опасных инфекций с донорским человеческим альбумином.

В характеристике вакцин основной частью является степень очистки их от чужеродных белков, которые являются основными факторами реактогенности. Белковые компоненты вакцины могут состоять из гетерологичного белка куриного эмбриона, гомологичного сывороточного альбумина и специфического белка — антигена вируса КЭ. Важной особенностью в свойствах вакцин является количественное содержание антигена вируса. Так, поданным М.С. Воробьевой [2], вакцина «ФСМЕ — ИММУН-Инжек» содержит от 2,0 до 3,5 мкг/доза, вакцина ИПВЭ РАМН — 0,9-1,5 мкг/доза, но, к сожалению, в наставлениях к российским вакцинам содержание специфического белка не указывают. Создатели немецкой вакцины «Энцекур» придают большое значение концентрации специфического антигена вируса, которая строго соответствует определенной дозе: для вакцины «Энцекур взрослый» — 1,5 мкг, а для вакцины «Энцекур детский» — 0,75 мкг.

Все вышеуказанные вакцины против КЭ имеют однотипные схемы применения. До настоящего времени никто не проводил сравнительного изучения иммунологической активности этих профилактических препаратов. Оценка специфического иммунитета в ответ на введение разных вакцин была дана по иммуноферментному анализу выявления антител IgG и в реакции нейтрализации у 169 привитых. Самые низкие показатели выявлены у лиц, иммунизированных жидкой культуральной вакциной (г. Томск), которая к настоящему времени снята с производства. Напряженность иммунного ответа (средняя геометрическая титров антител) была разной. Лучше всего (1:128) зарекомендовала себя вакцина ИПВЭ им. М.П. Чумакова РАМН, хуже (1:32) — жидкая культуральная вакцина (г. Томск). В настоящий период, характеризующийся применением разнообразных вакцин, общий показатель числа привитых лиц, по данным иммуноферментного анализа, составляет 89%, по данным реакции нейтрализации — 93,5%.

Учитывая характеристики препаратов, встает вопрос о поствакцинальных реакциях или осложнениях при их применении. Опыт прошедших лет (с 1960 по 2001 г.) по применению прежней вакцины производства НПО «Вирион», содержавшей гетерологичный куриный эмбриональный белок от 5 до 25 мкг/доза, указывал на то, что у отдельных привитых лиц, чаще детей или людей старшего возраста, развивались аллергические реакции различной степени тяжести вплоть до анафилактического шока [2]. За 1997—2000 гг. в ГИСК им. Л.А. Тарасевича поступили сообщения о 58 случаях поствакцинальных осложнений аллергического характера, связанных с применением указанной вакцины. По определению В.К. Таточенко [16], такие неблагоприятные события можно трактовать как тяжелые поствакцинальные реакции, связанные с ненадлежащим качеством препарата. Новая вакцина «Энцекур» содержит в одной дозе препарата всего 0,5 мкг чужеродного белка куриного эмбриона, что вселяет надежду на исключение поствакцинальных осложнений.

И все же все вакцины, получившие в той или иной мере очистку от гетерологичного белка, вызывают кратковременные незначительные нарушения здоровья, не оставляющие стойких последствий. Эти нарушения, скорее всего, можно трактовать как обычные поствакцинальные реакции. Н.В. Медуницын [11] считает, что любая вакцина, вводимая человеку, обладает определенной степенью реактогенности. По мнению Т.А. Бектемирова [1], реакции на введение вакцин, обусловленные антигенами и некоторыми другими компонентами, определяющими иммунный ответ, являются неизбежными и встречаются часто.

Нами показано, что в группе лиц без реакции на введение вакцины средняя геометрическая титров антител после 3-й прививки была значительно ниже (1:97), чем с реакцией на нее (1:182). Подобные результаты получены и при вакцинации по ускоренной схеме. После 3-й прививки у лиц с реакцией на введение вакцины средняя геометрическая титров антител в реакции нейтрализации составила 1:147, а без реакции — 1:56 [9].

Анализ литературных и собственных данных убеждает нас в том, что все вакцины против КЭ в той или иной мере обладают способностью вызывать поствакцинальные реакции у привитых лиц. Причем у детей и людей молодого возраста эти реакции более выражены, так же как и показатели клеточного и гуморального иммунитета. Выраженное действие специфического антигена вируса КЭ на иммунологическую память у лиц с реакциями на вакцинный препарат в большей степени указывает на индивидуальные особенности иммунной системы макроорганизма [10]. И все же поствакцинальные реакции у привитых лиц полностью исключить нельзя, так как они, как было показано нами, определяются также реакцией на чужеродный белок — антиген вируса КЭ, который всегда будет присутствовать в любых вакцинах [10].

Вопрос специфической активности вакцин против КЭ по отношению к гетерогенной вирусной популяции в различных очаговых регионах стран Евразии обсуждается учеными давно. Особенно остро он встал в 90-х годах прошлого столетия, когда в России появились вакцины, приготовленные в Австрии и Германии из западных вариантов вируса КЭ. Их производители, как правило, изучали иммуногенность препарата относительно гомологичного штамма вируса КЭ, из которого приготовлена вакцина. Во всех регионах России изучение иммунологической эффективности вакцин чаще всего проводили к одному штамму вируса КЭ, который используется в стандартных коммерческих диагностических наборах. Однако, как было показано нами ранее [4], уровень иммунного ответа у привитых людей жидкой культуральной убитой вакциной из дальневосточного штамма 205 (г. Томск) к четырем региональным штаммам вируса КЭ различался. При создании вакцины «Энцекур взрослый» против КЭ немецкие исследователи также проводили изучение эффективности ее в отношении различных изолятов вируса КЭ, включая даже вирус

шотландского энцефаломиелита овец, принадлежащий к вирусам комплекса КЭ [21]. Авторы указывали, что результат высокой активности иммунного ответа к этим штаммам не явился для них неожиданным. К тому времени ряд исследователей показал, что оболочечный гликопротеин европейских изолятов вируса КЭ — основной и, скорее всего, единственный определяющий фактор в индукции защитного иммунитета — обладает высокой однородностью [19,20,23].

Данный гликопротеин не подвержен сильному давлению естественного отбора, характерному для гликопротеинов других возбудителей (грипп, парамиксовирусы и альфавирусы). Однако поскольку титры нейтрализующих антител, индуцируемых немецкой вакциной против гетерологичных изолятов вируса, оказались ниже, чем титры против гомологичных изолятов, должны существовать некоторые отличия между нейтрализующими эпитопами различных штаммов возбудителя КЭ [21].

Исследования иммунологической эффективности вакцины «Энцекур взрослый», приготовленной из западного варианта вируса КЭ (штамм К23), проведены нами по отношению к трем дальневосточным штаммам вируса КЭ, которые были изолированы от людей, заразившихся в разных районах Приморского края. Так, штамм Р-73 выделен из мозга умершего больного, заразившегося на территории высокоэндемичного Дальнереченского района. Штаммы Р-202 и Р-69 выделены из крови людей с «укусом клеща» на менее эндемичных территориях Надеждинского и Уссурийского районов.

Первоначально было показано, что уже после 2-й вакцинации в реакции торможения гемагглютинации получена разная степень специфической связи вакцинных антител с этими штаммами [6]. Дальнейшие наблюдения за динамикой иммунного ответа против трех дальневосточных штаммов вируса КЭ (Р-73, Р-202 и Р-69) спустя 1 год после 2-кратной и 1 месяц после 3-кратной иммунизации людей вакциной «Энцекур взрослый» показали, что доля серопозитивных лиц в иммуноферментной реакции и реакции нейтрализации спустя 1 год после 2-й иммунизации существенно отличалась. При иммуноферментном анализе этот показатель составил  $40,9 \pm 7,4\%$ . Самый высокий показатель отмечен к штамму Р-73 ( $56,8 \pm 7,5\%$ ) и самый низкий — к штамму Р-69 ( $27,3 \pm 6,7\%$ ). Как указывалось ранее [6], именно к штамму Р-69 в реакции торможения гемагглютинации после 2-й вакцинации были отмечены низкие показатели иммунологической эффективности ( $74,2\%$ , средняя геометрическая титра антител — 1:45) по сравнению с показателями к другим штаммам ( $94,7\%$ , средняя геометрическая титра антител — 1:60). После 3-й иммунизации показатели иммунного ответа ко всем изученным штаммам стали значительно выше, без достоверных различий (Р-202 —  $97,6 \pm 2,3\%$ , Р-73 —  $95,5 \pm 3,1\%$ , IgG —  $93,2 \pm 3,8\%$ ). Штамм Р-69 и в этом случае составил исключение — доля серопозитивных результатов к нему в реакции нейтрализации достигла

всего  $63,9 \pm 7,2\%$  и статистически различалась от вышеуказанных данных для других штаммов.

Напряженность иммунного ответа к различным штаммам вируса КЭ у вакцинированных лиц подтвердила ту же закономерность. До проведения 3-й иммунизации показатели максимального титра антител, средней геометрической и средней арифметической титров антител для штамма Р-73 соответственно составили 1:80, 1:19,7 и  $14,5 \pm 3,0$ , для штамма Р-202 — 1:40, 1:15 и  $9,3 \pm 1,7$ , для штамма Р-69 — 1:20, 1:11,3 и  $3,3 \pm 0,8$ . После 3-й иммунизации эти показатели увеличились для всех штаммов вируса. Самые низкие величины оставались для штамма Р-69 (1:80, 1:28 и  $20,2 \pm 3,0$ ). После проведения полного курса вакцинации напряженность иммунного ответа к штамму Р-73 была достоверно выше, чем к двум другим. В то же время напряженность иммунного ответа к штамму Р-202 была статистически достоверно выше по сравнению со штаммом Р-69.

Чтобы понять причины разного уровня иммунного ответа у вакцинированных лиц к разным штаммам, нами были изучены антигенные свойства трех штаммов (Р-73, Р-202 и Р-69) с использованием реакции торможения гемагглютинации, непрямого иммунофлюоресцентного анализа и реакции нейтрализации [8]. Результаты идентификации продемонстрировали то, что штамм Р-73 — типичный представитель дальневосточного варианта вируса КЭ. Антигенная характеристика штамма Р-202 в большей степени была аналогична штамму Р-73. Более выраженные антигенные различия в серологических реакциях как с поликлональными, так и с моноклональными антителами были отмечены для штамма Р-69.

Различия в антигенной характеристике, отражающей свойства поверхностного белка Е вируса, диктовали необходимость изучения молекулярной характеристики этих трех региональных штаммов. Анализ их генетической структуры проведен по участку 1-505 н.о. гена белка Е. Средний процент гомологии составил от 96,6 до 97,4%, что позволило однозначно отнести эти штаммы к дальневосточному субтипу вируса КЭ. Филогенетический анализ также показал, что данные штаммы кластеризуются вместе с дальневосточными штаммами вируса КЭ, что позволяет сделать вывод об их близком генетическом родстве с I дальневосточным субтипом вируса КЭ. Штамм Р-202, вызывающий инapparантную форму заболевания, расположился в субкладе со штаммом Crimea, изолированным в Крыму в 1987 г. Штамм Р-69 сформировал также отдельный субклайд в пределах дальневосточного субтипа вируса. Штамм Р-73, вызвавший очаговую форму КЭ с летальным исходом, проявил наиболее близкое филогенетическое родство со штаммом Софьин, который считается прототипным дальневосточным штаммом вируса КЭ.

Взятые в исследование штаммы (Р-73, Р-202, Р-69) выявили разную степень специфичности к образовавшимся антителам у привитых немецкой вакциной «Энцекур взрослый». Самые высокие показатели во

всех реакциях получены к штамму Р-73, менее значимые — к штамму Р-69, который имел антигенные отличия и от двух других.

Принципиально важно отметить то, что у всех вакцинированных зарегистрированы антитела, которые были способны нейтрализовать три различных геноварианта дальневосточного субтипа вируса КЭ. Это значит, что вакцина «Энцепур взрослый» может обеспечить полноценную защиту против вирусной инфекции, вызванной любыми штаммами вируса дальневосточного субтипа. После трехкратной иммунизации средняя геометрического титра антител в реакции нейтрализации составляла от 1:28 до 1:128. Это значительно выше так называемого «защитного титра» вируснейтрализующих антител, который составляет 1:4–1:8 для людей, иммунизированных против КЭ.

Известно, что вакцинные препараты способны защищать от географически удаленных штаммов различных субтипов вируса КЭ [18]. Это подтверждается в наших исследованиях высоким уровнем вируснейтрализующих антител у вакцинированных людей. Таким образом, на введение немецкой вакцины «Энцепур взрослый», приготовленной на основе западного штамма К23, самый полноценный иммунный ответ сформировался к дальневосточному высоковирулентному и высокоиммуногенному штамму Р-73, способному вызывать очаговые формы заболевания с летальным исходом. Вакцинированные люди также хорошо защищены и от другого вирулентного для белых мышей штамма Р-202, не вызвавшего после «укуса клеща» у человека манифестной формы энцефалита. Среди дальневосточных изолятов можно встретить и такой штамм, как Р-69, который инициирует у человека инapparантную форму инфекции, его иммуногенные свойства выражены значительно слабее, чем у остальных штаммов. Для людей такие штаммы вируса представляют меньшую угрозу из-за способности вызывать манифестную форму заболевания.

В заключение следует подчеркнуть, что у лиц, привитых любыми вакцинами против КЭ, индукция специфических вируснейтрализующих антител может обеспечить надежную защиту от этой инфекции не только в Дальневосточном, но и в других регионах страны. Кроме того, остается в силе известный постулат о том, что специфическая вакцинопрофилактика — самая надежная защита от заболевания клещевым энцефалитом.

## Литература

- Бектемиров Т.А. // *Вакцинация*. — 2000. — № 2. — С. 5–7.
- Воробьева М.С. // *Клещевой энцефалит*. — Владивосток: Приморский полиграфкомбинат, 2002. — С. 166–169.
- Караванов А.С., Пиванова Г.П., Шипакин В.Н., Матвеев Л. Э. // *Актуальные проблемы медицинской вирусологии*. — М., 1999. — С. 28.
- Леонова Г.Н. *Клещевой энцефалит в Приморском крае*. — Владивосток : Дальнаука, 1997.
- Леонова Г.Н. // *Клещевой энцефалит*. — Владивосток: Приморский полиграфкомбинат, 2002. — С. 5–14.
- Леонова Г.Н., Мизеров К.С., Крылова Н.В. и др. // *Биопрепараты*. — 2004. — №2. — С. 24–28.
- Леонова Г.Н., Беликов С.И., Кулакова Н.В. и др. // *Молекул. генетика, микроб. и вирусология*. — 2004. — № 2. — С. 32–37.
- Леонова Г.Н., Павленко Е.В., Терновой В.А. и др. // *Дальневост. журнал инфекц. патол.* — 2005. — № 6. — С. 41.
- Леонова Г.Н., Крылова Н.В., Павленко Е.В., Майстровская О.С. // *Мед. иммунол.* — 2005. — Т. 7, № 4. — С. 391–396.
- Леонова Г.Н., Крылова Н.В., Павленко Е.В., Майстровская О.С. // *Бюлл. сибирской медицины*. — 2006. — Т. 5, прил. 1. — С. 72–78.
- Медуницын Н.В. // *Биопрепараты*. — 2001. — № 3. — С. 10–12.
- Онищенко Т.Т. // *Доклад на VIII Всероссийском съезде эпидемиологов, микробиологов и паразитологов*. — М., 2002.
- Погодина В.В. *Воспоминания о Елизавете Николаевне Левкович*. — М. : Наука, 2001.
- Погодина В.В., Бочкова Н.Г., Левина Л.С. // *Материалы VIII Всерос. общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов*. — М., 2002. — С. 377–378.
- Сморodinцев А.А., Дубов А.В. *Клещевой энцефалит и его вакцинопрофилактика*. — Л.: Медицина, 1986.
- Таточенко В.К. // *Вакцинация*. — 2000. — №4(10). — С. 3–6.
- Ткачев С.Е., Митрофанова Е.Э., Максимова Т.Г. и др. // *Иммунология*. — 2000. — № 3. — С. 26–29.
- Холдман Х., Воробьева М.С., Ладыженская И.П. и др. // *Эпидемиол. вакцинопроф.* — 2003. — №2. — С. 37–41.
- Heinz F.J.C., Kunz C // *J. Gen. Virol.* — 1981. — Vol. 57. — P. 263.
- Heinz F., Kunz C // *Arch. Virol.* — 2004. — Vol. 18. — P. 201–205.
- Klockmann U., Krivanec K., Stephenson J.R., Hilfenhaus J. // *Vaccine*. — 1991. — No. 9. — P. 210–212.
- Marth E., Kleinhaupl B. // *Vaccine*. — 2002. — No. 20. — P. 532–537.
- Stephenson J.R., Lee, J.M., Wilton-Smith P.O. // *J. Gen. Virol.* — 1984. — Vol. 65. — P. 81.

Поступила в редакцию 28.04.06.

VACCINAL PROPHYLAXIS OF THE TICK-BORNE ENCEPHALITIS AT THE CONDITIONS OF HETEROGENEOUS VIRUS POPULATION CIRCULATION  
G.N. Leonova  
Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Siberian branch of the Russian Academy of Medical Sciences (Vladivostok)  
Summary — The immunology efficiency of vaccines against tick-borne encephalitis was described. On an example of the German vaccine «Encepur the Adult» the specificity of antibodies in vaccinated persons to a heterogeneous population of tick-borne encephalitis virus was shown. It was concluded possessed about the high immunologic activity of vaccine «Encepur Adult». This vaccine as a safety and effective specific preventive may be measure recommended in TBE endemic areas.

*Pacific Medical Journal*, 2006, No. 3, p. 23–26.