

МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ MICROBIOLOGY AND VIROLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2018-3.4.7

УДК 616.988.25-002

Леонова Г.Н.

ХАРАКТЕРИСТИКА ДАЛЬНЕВОСТОЧНОЙ ПОПУЛЯЦИИ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА И РЕШЕНИЕ ВОПРОСОВ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова»
(690087, г. Владивосток, ул. Сельская, 1, Россия)

Подразделение вирусной популяции на субтипы и кластеры на основании молекулярно-генетической характеристики штаммов вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) предопределяет не только различия в биологических свойствах этих штаммов, но и их разную реакцию на специфические антитела у лиц, вакцинированных против КЭ.

Цель настоящего исследования: на модели двух штаммов ВКЭ дальневосточного субтипа, принадлежащих к разным кластерам, показать различия биологических свойств и обосновать необходимость персонализированного подхода к вакцинопрофилактике клещевого энцефалита.

Результаты. В работе были использованы два штамма ВКЭ. Штамм Dal'negorsk (FJ402886, GenBank) на основании полногеномного секвенирования отнесён к типичным представителям Sofjin-подобных, а Primorye-437 (JQ825162, GenBank) – к Oshima-подобным штаммам вируса КЭ дальневосточного субтипа. В эксперименте показаны уровни специфических антител, способные нейтрализовать разные по вирулентности штаммы вируса клещевого энцефалита. Низкие титры антител (1:100 и 1:400) могут нейтрализовать только низкую дозу неvirulentного штамма вируса клещевого энцефалита. Надёжную защиту от заболевания лиц, заразившихся вирулентными штаммами вируса КЭ, может обеспечить только высокий уровень специфических антител.

Заключение. При уровне специфических антител класса IgG 1:400 и ниже следует продолжить курс вакцинации, при титре антител выше 1:400 ревакцинацию можно отсрочить при условии ежегодного контроля показателей специфического иммунитета в предэпидемический сезон КЭ.

Ключевые слова: штаммы вируса клещевого энцефалита, патогенность, специфический IgG

Для цитирования: Леонова Г.Н. Характеристика дальневосточной популяции вируса клещевого энцефалита и решение вопросов специфической профилактики. Acta biomedica scientifica, 3 (4), 42-46. DOI 10.29413/ABS.2018-3.4.7

CHARACTERISTICS OF THE FAR EASTERN POPULATION OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS AND SOLVING ISSUES OF SPECIFIC PREVENTION

Leonova G.N.

Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology
(ul. Selskaya 1, Vladivostok 690087, Russian Federation)

The subdivision of the viral population into subtypes and clusters based on the molecular genetic characteristics of the tick-borne encephalitis virus (TBEV) strains predetermines not only the differences in the biological properties of these strains, but also their different responses to specific antibodies in persons vaccinated against TBE.

The aim of the present study is to show the differences in biological properties on the model of two strains of Far Eastern TBEV subtype belonging to different clusters and to substantiate the need for a personalized approach to the vaccine prophylaxis of tick-borne encephalitis.

Results. Two strains of TBEV were used in the studies. On the basis of full genome sequencing the Dal'negorsk strain (FJ402886, GenBank) is referred to the typical representative of Sofjin-like, and Primorye-437 (JQ825162, GenBank) – to Oshima-like TBEV strains of the Far Eastern subtype. The experiment shows the levels of specific antibodies capable of neutralizing virulence strains of tick-borne encephalitis virus. Low antibody titers (1:100 and 1:400) can neutralize only a low dose of a non-virulent strain of tick-borne encephalitis virus. Reliable protection against the disease of people infected with virulent strains of the TBEV can provide only a high level of specific antibodies.

Conclusion. If the level of specific antibodies of IgG is 1:400 or lower, the vaccination course should be continued, at a titer of antibodies above 1:400, revaccination can be postponed subject to annual monitoring of specific immunity parameters in the pre-epidemic TBE season.

Key words: TBEV strains, pathogenicity, specific IgG

For citation: Leonova G.N. Characteristics of the Far Eastern population of tick-borne encephalitis virus and solving issues of specific prevention. Acta biomedica scientifica, 3 (4), 42-46, DOI 10.29413/ABS.2018-3.4.7.

ВВЕДЕНИЕ

Наступление весенне-летнего периода в разных регионах Евразийского континента напоминает здравоохранению об актуальной до настоящего времени проблеме клещевого энцефалита (КЭ). В 1990-х годах произошёл резкий подъём заболеваемости КЭ на всех очаговых территориях континента, что способствовало повышению научного интереса к изучению характеристики вирусной популяции. В эти годы стали внедряться молекулярно-генетические методы, использование которых постепенно открывало тайны вирусной популяции, распространённой от Тихого океана до берегов Атлантики. Для этого вначале использовали более простой и доступный метод молекулярной гибридизации, который помог понять, насколько гетерогенна популяция вируса клещевого энцефалита (ВКЭ). Секвенирование небольшого фрагмента белка Е, затем полного генома белка Е и, наконец, полного генома ВКЭ выявило значительные штаммовые различия, которые необходимо учитывать для решения вопросов лечения и профилактики заболевания. На основании биологических и молекулярно-генетических особенностей штаммы ВКЭ были сгруппированы в три основных субтипа: дальневосточный (I), европейский (II) и сибирский (III) [5].

Представление о дальневосточной вирусной популяции получено путём комплексного изучения биологической характеристики и полногеномного секвенирования 49 штаммов, изолированных от больных и умерших от КЭ пациентов, иксодовых клещей на территории юга Дальнего Востока. Было показано, что все штаммы ВКЭ принадлежат к одному дальневосточному субтипу и подразделяются ещё на 3 кластера: Oshima-подобных, Sofjin-подобных и Senzhang-подобных штаммов [4, 6]. Такое подразделение вирусной популяции на субтипы и кластеры на основании молекулярно-генетической характеристики предопределяет не только различия в биологических свойствах штаммов, но и их разную реакцию на специфические антитела у лиц, вакцинированных против КЭ.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЙ

На модели двух штаммов ВКЭ дальневосточного субтипа, принадлежащих к разным кластерам, показать различия биологических свойств и обосновать необходимость персонализированного подхода к вакцинопрофилактике клещевого энцефалита.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Штаммы вируса клещевого энцефалита

В работе были использованы два штамма ВКЭ из коллекции НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова. Штамм Dal' negorsk (Dal') выделен в 1973 г. из мозга умершего больного очаговой формой КЭ, заразившегося в Дальнегорском районе; штамм Primorye-437 (P-437) выделен в 1999 г. из крови клинически здорового человека после укуса клеща в пригородной зоне Владивостока (район б. Лазурная). В исследование взяты штаммы после 8 пассажей при внутримозговом заражении белых мышей в возрасте 2 сут. Штамм Dal' (FJ402886, GenBank) на основании полногеномного секвенирования отнесён к типичным представителям Sofjin-подобных, а P-437

(JQ825162, GenBank) – к Oshima-подобным штаммам вируса КЭ дальневосточного субтипа.

Изучение биологической характеристики штаммов

Изучена гемагглютинирующая активность (ГА) этих штаммов вируса КЭ в реакции гемагглютинации (РГА) при разных значениях pH буферных растворов. С этой целью из 10%-й суспензии мозга больных мышей, заражённых штаммами вируса КЭ, готовили антигены на боратном буфере с последующей очисткой протаминсульфатом (Serva). РГА проводили микрометодом с использованием 0,4%-й взвеси эритроцитов гуся, приготовленной на фосфатном буфере pH 5,4, 6,2 и 6,8.

Показана динамика накопления разных штаммов вируса КЭ в культуре клеток СПЭВ. Каждым штаммом заражали односуточный монослой клеток, выращенный во флаконах, заражающая доза вируса КЭ составляла 3 log тканевой цитопатической дозы (ТЦД₅₀/ml). Экспериментальные пробы собирали спустя 1, 3, 6, 12, 24 часов, 2, 3, 4, 5 и 6 суток после заражения клеток СПЭВ. Затем проводили одновременное исследование проб культуральной жидкости по накоплению вируса, путём титрования вируса по бляшкообразующей активности (БОЕ), гемагглютинирующей активности (ГА) и по коэффициенту позитивности (К), отражающему накопление специфического антигена в ИФА. Для проведения ИФА использовали тест-системы ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск).

Вирулицидное действие иммуноглобулина в отношении разных штаммов вируса клещевого энцефалита

Изучено действие иммуноглобулина (ИГ) против КЭ на процессы элиминации разных штаммов ВКЭ. В экспериментах использован ИГ против КЭ производства «НПО «Микроген», титр в ИФА – 1:6400. В опытах использовали ИГ в разведениях (с титрами 1:100, 1:400 и 1:3200), 0,9 мл которых соединяли с 0,1 мл вируса КЭ (4,0 log ТЦД₅₀/ml), после чего рабочая доза вируса в опыте составила 3,0 log ТЦД₅₀/ml. Смесь помещали на 2 часа в холодильник 4 °С, затем этими пробами заражали монослой клеток СПЭВ, выращенный на пробирках, после 1 часа контакта в термостате монослой заражённых клеток трижды промывали средой и заливали средой поддержки. Через 3, 24, 48 и 72 часа собирали культуральную жидкость клеток СПЭВ, заражённых экспериментальными пробами.

В надосадочной культуральной жидкости проб определяли титр вируса. Десятикратными разведениями этих проб заражали односуточный монослой клеток СПЭВ, выращенных на 24-луночных планшетах. После 1 часа контакта при температуре 37 °С заражённый монослой клеток промывали культуральной средой 199, затем добавляли поддерживающую среду 199 с гентамицином и с 1%-й эмбриональной сывороткой коров и помещали в термостат. Наблюдения за цитопатическим действием штаммов проводили в течение 5–7 суток. Все эксперименты проводили в трёх повторах.

Статистическая значимость различий средних величин оценивали на основе t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для более полного представления о ходе инфекционного процесса разных по патогенности для

человека штаммов ВКЭ в присутствии специфических антител мы предварительно рассмотрели их молекулярно-генетическую структуру и обобщили важные биологические свойства этих штаммов, чтобы понять характер защитного действия антител у лиц, вакцинированных против КЭ. Выраженная разница биологических характеристик показана на примере штаммов Dal'negorsk и Primorye-437, принадлежащих к двум разным кластерам вируса КЭ дальневосточного субтипа Sofjin-подобных и Oshima-подобных штаммов. Ранее в наших публикациях было показано, что различия биологических характеристик штаммов из этих кластеров зависят, в первую очередь, от выявленных замен аминокислот в полипротеине [4, 6, 8]. Показано, что в полипротеине этих двух штаммов из 3414 аминокислотных остатков 3374 совпадающие, их которых 34 замены аминокислот являются синонимичными и лишь 6 аминокислотных замен являются несинонимичными. Кроме того, в штамме Primorye-437 так же, как и в других изученных нами штаммах вируса КЭ, не вызвавших манифестные формы инфекции, в капсидном белке определена типичная делеция одной аминокислоты [4, 8]. Выявленные особенности таких штаммов, как было показано нами [6], предопределяют сниженную патогенность их и относительную безопасность для человека.

Изучение сравнительной характеристики биологических свойств штаммов Dal'negorsk и Primorye-437 показало их значительные различия. Определены титры штаммов вируса КЭ на модели неинbredных мышей весом 10–12 г при внутримышечном и подкожном заражении, они составили для штамма Dal' – 9.8 и 9.5 log LD₅₀/ml и для штамма P-437 – 7.7 и 5.5 log LD₅₀/ml соответственно. Максимальное накопление штамма Dal' на культуре клеток СПЭВ отмечено до 8.0 log ТЦД₅₀/ml, штамма P-437 – до 5.0 log ТЦД₅₀/ml.

Показаны также различия гемагглютинирующих свойств при трёх значениях рН (5.4, 6.2 и 6.8) антигенов этих штаммов вируса КЭ, приготовленных из мозга больных мышей, заражённых этими штаммами. Наибольшей активностью обладал высоко патогенный для человека штамм Dal'. Показатели ГА для штамма P-437, вызвавшего инаппарантную форму КЭ, были ниже (1:84, 1:79 и 1:79) по сравнению с показателями штамма Dal' (рис. 1).

Но главные различия этих штаммов были установлены по репликативной активности их при инфицировании клеток СПЭВ одинаковой заражающей дозой (3 log ТЦД₅₀/ml), что можно наблюдать по ГА, бляшкообразующей активности и по показателям накопления антигена в культуральной жидкости. Для штамма Primorye-437 отмечено менее активное и замедленное накопление ГА. Максимальные показатели ГА в культуральной жидкости клеток СПЭВ достигали только на 6-й и 7-й день после заражения. Эти результаты совпадали с показателями по выявлению вируса в надосадочной жидкости заражённых клеток СПЭВ с помощью бляшкообразующего теста. Полученные данные по накоплению вируса в культуральной жидкости имеют характерные особенности для этих различающихся штаммов ВКЭ, что продемонстрировано на рисунке 2.

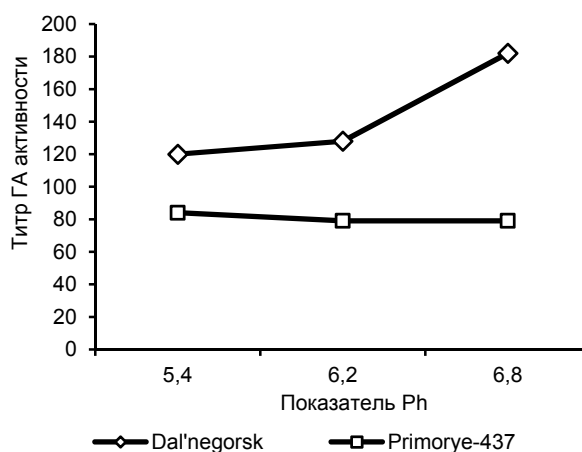


Рис. 1. Сравнительная характеристика гемагглютинирующих свойств штаммов Dal'negorsk и Primorye-437 вируса клещевого энцефалита дальневосточного субтипа.

Fig. 1. Comparative characteristics of haemagglutinating properties of Dal'negorsk and Primorye-437 strains of Far Eastern TBEV subtype.

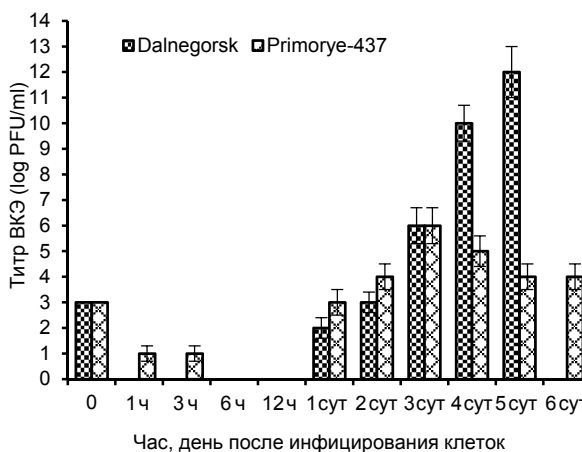
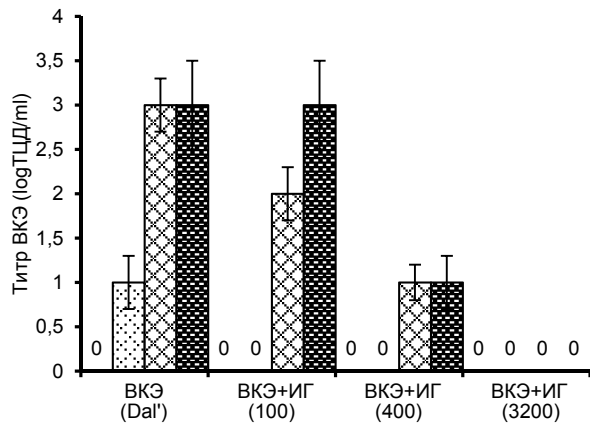


Рис. 2. Динамика накопления вируса клещевого энцефалита в культуральной жидкости культуры клеток СПЭВ, заражённых штаммами Dal'negorsk и Primorye-437.

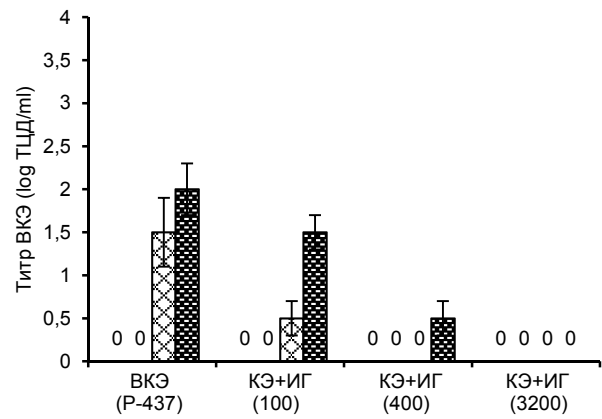
Fig. 2. Dynamics of accumulation of TBEV in the culture fluid of PEK cell culture infected with Dal'negorsk and Primorye-437 strains.

Полученные различия по молекулярно-генетической и биологической характеристике двух изученных штаммов ВКЭ с разной патогенностью для человека дали основание рассмотреть вопрос эффективности защиты специфических антител по отношению к этим штаммам вируса КЭ.

Установленные нами ранее [1, 7] уровни иммунологической памяти (1:100) и защитного титра (1:400) специфических антител при эпидемически значимой заражающей дозе ВКЭ, равной 3,0 log ТЦД₅₀/ml, требовали дополнительного подтверждения. Этот вопрос следовало рассмотреть с другой стороны: определить *in vitro* уровни остаточного вируса в динамике после взаимодействия специфических антител (ИГ в титрах 1:100, 1:400 и 1:3200) с разными по патогенности и вирулентности штаммами Dal' и P-437 ВКЭ. Результаты этих опытов смогут дополнить и уточнить представление об уровне защитного действия специфических антител у лиц, привитых против КЭ, при встрече



Показатели проб спустя 3, 24, 48, 72 час после инфицирования



Показатели проб спустя 3, 24, 48, 72 час после инфицирования

Рис. 3. Динамика выявления вируса в культуральной жидкости клеток СПЭВ, заражённых штаммами Dal'negorsk (а) и Primorye-437 (б) (контрольные пробы) и вирус+ иммуноглобулин в титрах 1:100, 1:400, 1:3200 (опытные пробы) спустя 3, 24, 48, 72 часа после инфицирования. Разница показателей во все сроки статистически значима ($p \leq 0,05$).

Fig. 3. The detection dynamics of the virus in the culture medium of PEK cells infected with Dal'negorsk strain (а) and Primorye-437 (б) (control samples) and virus + immunoglobulin in titres 1:100, 1:400 and 1:3200 (experimental samples) 3, 24, 48, 72 hours after infecting. The difference in indices at all times is reliable ($p \leq 0,05$).

их с разными штаммами ВКЭ. Мы одновременно провели сравнительные наблюдения в динамике (0, 3, 24, 48, 72 часа после инфицирования) за процессом накопления ВКЭ в культуральной среде клеток СПЭВ, заражённых пробами вируса с ИГ (опытные пробы) и без ИГ (контроль вируса).

Из данных рисунка 3 видно, что ИГ в титре 1:100 оказывал слабое вирулицидное действие по отношению к обоим штаммам, накопление которых по сравнению с контролем вируса наблюдалось, но с запозданием на одни сутки. Вирулицидное действие иммуноглобулина в титре 1:400 было более выражено: спустя 72 часа после заражения клеток пробами размножение штамма Dal' снизилось на 2 lg ТЦД₅₀/ml и штамма P-437 – на 1,5 log ТЦД₅₀/ml. Причём штамм P-437 был определён в культуральной жидкости только спустя 72 часа. Полная задержка размножения обоих штаммов вируса КЭ во все сроки наблюдалась в пробах с ИГ в титре 1:3200.

В настоящее исследование были взяты два разных по патогенности для человека штамма ВКЭ из разных кластеров дальневосточной вирусной популяции с определённой целью – показать, как происходит процесс элиминации вируса КЭ при воздействии на них специфического ИГ в разных титрах.

Учитывая, что оба штамма ВКЭ были взяты в титре 3 log ТЦД₅₀/ml, можно предположить, что вакцинированные люди с титром антител 1:100 подвержены заболеванию КЭ в высокой степени. Известно, что в группе вакцинированных лиц встречаются случаи с лихорадочной формой КЭ и иногда с клиникой поражения мозга [2]. Такие случаи возможны у вакцинированных не только при уровне антител 1:100, но и при более высоких уровнях специфических антител. Нельзя также с уверенностью считать, что титр антител 1:400 является защитным, как было показано нами ранее [1, 7]. Необходимо учитывать тот факт, что довольно часто могут формироваться низкие показатели количества специфических антител при вакцинации даже высоко иммуногенными

вакцинами против КЭ. Число иммунных лиц с титром IgG 1:100 может достигать 40–44 % в отдельных группах вакцинированных групп [3]. Тем более, как установлено нами, остаточный вирус, хоть и с запозданием на 1–2 сут., способен реплицироваться, поступать в культуральную жидкость и вызывать цитопатический эффект заражённых клеток СПЭВ.

Ранее нами было показано, что штамм P-437 обладает длительным периодом накопления вируса в мозге экспериментально заражённых белых мышей (7–14 сут.), у которых была отмечена лишь незначительная реакция сосудов мягкой мозговой оболочки [6]. Выявленные точечные мутации в активном центре вирусной сериновой протеазы (в комплексе NS2B/NS3) штамма P-437 [4, 8], вероятно, способствовали задержке накопления вируса в месте инокуляции, ограничивая распространение его в ЦНС. Вероятность выжить таким штаммам в организме даже у невакцинированных лиц невысокая. Уже в начальном периоде инфекционного процесса, как правило, происходит элиминация их из организма. С более выраженным успехом элиминация невирулентного штамма ВКЭ вируса при его низких дозах может происходить у вакцинированных лиц даже при низких титрах специфических антител.

Высокопатогенные штаммы ВКЭ, вызывающие манифестные формы инфекции, представляют наибольшую угрозу здоровью человека и заслуживают особое внимание при решении вопросов специфической профилактики. Как показывают результаты нашего эксперимента, в таких случаях надёжную защиту от заболевания у вакцинированных лиц, может обеспечить только высокий уровень специфических антител. И хотя эти исследования проведены *in vitro*, полученные результаты отражают силу специфических связей между вирусом и антителами с определёнными титрами.

Длительное сохранение антител у привитых лиц, понижение титров антител в разные сроки после проведения курса вакцинации и ревакцинации, а также нарушение курса вакцинации указывает на целе-

сообразность индивидуального подхода к каждому пациенту перед проведением ревакцинации. Мы полагаем, что если в сыворотке крови уровень антител класса IgG составляет 1:400 и ниже, то следует продолжить курс вакцинации, при титре антител выше 1:400 ревакцинацию можно отсрочить при условии ежегодного контроля показателей специфического иммунитета в предэпидемический сезон.

Представленные данные на модели разных штаммов вируса КЭ открывают новые возможности и значительно повышают эффективность специфической вакцинопрофилактики, при индивидуальном назначении количества и сроков ревакцинации не только при КЭ, но и при других инфекциях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные по молекулярно-генетической характеристике и биологическим свойствам разных по патогенности для человека штаммов ВКЭ помогают обосновать значение специфической вакцинации в целом для профилактики КЭ. Показаны уровни специфических антител, способные нейтрализовать разные по вирулентности штаммы вируса клещевого энцефалита. Низкие титры антител (1:100 и 1:400) могут нейтрализовать только низкую дозу не-вирулентного штамма вируса клещевого энцефалита.

При проведении иммунопрофилактики после присасывания клеща, инфицированного вирусом КЭ, надёжную защиту от заболевания лиц, заразившихся вирулентными штаммами вируса КЭ, вероятно, может обеспечить только высокий уровень специфических антител.

Работа выполнена в рамках научного проекта (0545-2014-0011) Федерального агентства научных организаций.

Выражение признательности

Автор выражает признательность сотрудникам лаборатории О.С. Майстровской и И.В. Сирант за техническую помощь при выполнении фрагментов исследований настоящей работы.

Статья опубликована в рамках международной юбилейной конференции, посвящённой 20-летию научного сотрудничества между Россией и Монголией «Разные страны – общие проблемы природно-очаговых инфекций».

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Леонова Г.Н. Вакцинопрофилактика клещевого энцефалита в прошлом, настоящем и будущем // Бюл. СО РАМН. – 2011. – № 4. – С. 79–85.

Leonova GN. (2011). Vaccine prophylaxis against tick-borne encephalitis in past, present and future

[Vaksinoprofilaktika kleshchevogo entsefalita v proshlom, nastoyashchem i budushchem]. *Byul. SO RAMN*, (4), 79-85.

2. Погодина В.В., Лучинина С.В., Степанова О.Н., Стенько Е.А., Горфинкель А.Н., Кармышева В.Я., Герасимов С.Г. (2015). Необычный случай летального клещевого энцефалита у пациента, привитого вакцинами разных генотипов (Челябинская область) // Эпидемиология и инфекционные болезни. – Т. 20, № 1. – С. 56–60.

Pogodina VV, Luchinina SV, Stepanova ON, Stenko EA, Gorfinkel AN, Karmysheva VY, Gerasimov SG. (2015). Abnormal lethal case of tick-borne encephalitis in the patient vaccinated with vaccines of different genotypes (Chelyabinsk Oblast) [Neobychnny sluchay letal'nogo kleshchevogo entsefalita u patsienta, privitogo vaktsinami raznykh genotipov (Chelyabinskaya oblast)]. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni*, 20 (1), 56-60.

3. Погодина В.В., Щербинина М.С., Левина Л.С., Бочкова Н.Г. (2017). Изучение защитного титра антител против сибирского подтипа вируса клещевого энцефалита у вакцинированного населения // Медицинская вирусология. – Т. XXXI (1). – С. 39.

Pogodina VV, Shcherbinina MS, Levina LS, Bochkova NG. (2017). Study of the protective titer of antibodies against the Siberian subtype of tick-borne encephalitis virus in the vaccinated population [Izuchenie zashchitnogo titra antitel protiv sibirskogo podtipa virusa kleshchevogo entsefalita u vaktsinirovannogo naseleniya]. *Meditinskaya virusologiya*, XXXI (1), 39.

4. Belikov SI, Kondratov IG, Potapova UV, Leonova GN. (2014). The relationship between the structure of the tick-borne encephalitis virus strains and their pathogenic properties. *PLoS One*, 9 (4), 94946. DOI: 10.1371/journal.pone.0094946.eCollection 2014

5. King AMQ, Adams MJ, Carstens EB, Lefkowitz EJ. (2012). Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. San Diego, 1003-1020.

6. Leonova GN, Maistrovskaya OS, Kondratov IG, Takashima I, Belikov SI. (2014). The nature of replication of tick-borne encephalitis virus strains isolated from residents of the Russian Far East with inapparent and clinical forms of infection. *Virus Res*, 189, 34-42. DOI: 10.1016/j.virusres.2014.04.004.

7. Leonova GN, Pavlenko EV, Maistrovskaya OS, Chausov EV. (2011). Protective antibody titer for patients vaccinated against tick-borne encephalitis. *Procedia in Vaccinology*, 4, 84-91. DOI: 10.1016/j.provac.2011.07.012

8. Potapova UV, Feranchuk SI, Potapov VV, Kulakova NV, Kondratov IG, Leonova GN, Belikov SI. (2012). NS2B/NS3 protease: allosteric effect of mutations associated with the pathogenicity of tick-borne encephalitis virus. *J Biomol Struct Dyn*, 30 (6), 638-651.

Сведения об авторе Information about the author

Леонова Галина Николаевна – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории природно-очаговых трансмиссивных инфекций, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова» (690087, г. Владивосток, ул. Сельская 1, тел. (4232) 44-07-12; e-mail: galinaleon41@gmail.com) © http://orcid.org/0000-0001-5387-1127

Leonova Galina Nikolaevna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Chief Research Officer at the Laboratory of Natural-Focal Transmissible Infections, Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology (690087, Vladivostok, ul. Selskaya, 1; tel. (4232) 44-07-12; e-mail: galinaleon41@gmail.com) © http://orcid.org/0000-0001-5387-1127