

Современные проблемы специфической профилактики клещевого энцефалита. Сообщение II: особенности иммунитета в зоне доминирования сибирского подтипа возбудителя¹

В.В. Погодина¹ (pogodina_v_v@mail.ru), М.С. Щербинина¹, Л.С. Левина¹,
С.Г. Герасимов^{1,2}, Н.М. Колясникова¹

¹ФГБНУ «Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова», Москва

²ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России

Резюме

Сибирский подтип вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) доминирует на обширной территории России. В обзоре приведены данные литературы и собственных исследований об особенностях иммунного ответа, индуцированного сибирским подтипом ВКЭ, при заболевании и естественной иммунизации населения. Показано изменение структуры естественного иммунитета при вакцинации штаммами дальневосточного подтипа. Обсуждаются защитный титр антител, развитие инфекции в вакцинированном организме и персистенция ВКЭ.

Ключевые слова: клещевой энцефалит, сибирский подтип, вакцинальный иммунитет, защитный титр антител, персистенция ВКЭ

Modern Problems of Tick-Borne Encephalitis Specific Prevention.

Communication II: Peculiarity of Immunity in Area with Siberian Subtype Domination

V.V. Pogodina¹ (pogodina_v_v@mail.ru), M.S. Shcherbinina¹, L.S. Levina¹, S.G. Gerasimov^{1,2}, N.M. Kolyasnikova¹

¹Federal State Budgetary Scientific Institute «M.P. Chumakov Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalites», Moscow

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, State Educational Institution of Higher Professional Training of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation

Abstract

Siberian subtype of TBE virus dominates in the most part of Russia outside of the Far East. Peculiarity of immunity induced by Siberian subtype during disease or inapparent infection and change of immunity after vaccination are described in this article. Protective titre of antibodies and persistence of TBE virus (TBEV) in vaccinated organism are discussed.

Key words: Siberian subtype of TBEV, immunity, vaccination, antibodies, TBEV persistence

На рубеже XX – XXI веков в изучении клещевого энцефалита (КЭ) возник ряд новых направлений, связанных с открытием сибирского подтипа вируса КЭ (ВКЭ), выяснением широты его ареала и доминирования (до 70 – 100% вирусной популяции) на территории многих регионов России с высоким уровнем заболеваемости.

В классической работе Д. Кларк [1] при антигенной дифференциации штаммов ВКЭ в реакции диффузионной преципитации в агаре (РДПА) с перекрестно адсорбированными сыворотками 28 штаммов ВКЭ были разделены на два подтипа (термин Д. Кларка) – дальневосточный и центрально-европейский, что соответствовало представлениям о двух вариантах КЭ – восточном и западном [2, 3]. Автору не удалось типировать один штамм – № 119, выделенный в 1953 году в Кемеровской области Е.С. Сармановой из крови больного че-

ловека. Спустя 40 лет штамм 119, хранившийся в лиофилизированном виде, был генотипирован как сибирский подтип ВКЭ методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени с флуоресцентной детекцией с гено-типспецифическими зондами [4, 5].

Первые статьи о существовании самостоятельного, ранее неизвестного серотипа ВКЭ, были опубликованы в 1980 и 1981 годах. С.Г. Рубин и М.П. Чумаков [6] с помощью модифицированной РДПА показали своеобразие штаммы Айна, выделенного в 1963 году Н.Н. Краминской и др. [7] из ликвора больной хроническим КЭ. В.В. Погодина и др. [8] описали группу Айна-подобных штаммов, изолированных в Иркутской области от больных хроническим КЭ, и из клещей *Ixodes persulcatus* и грызунов. Иммунологическое обследование больных и здорового населения показало связь нового серотипа

с манифестными и инаппарантными формами КЭ в Иркутской, Читинской, Курганской областях [9]. Были сформулированы критерии определения самостоятельного серотипа:

- 1) существенные антигенные отличия от известных серотипов ВКЭ, обусловленные типоспецифическими детерминантами;
- 2) широта ареала;
- 3) стабильность циркуляции;
- 4) влияние на формирование популяционного иммунитета;
- 5) доказанная роль в этиологии манифестных форм болезни (острых и хронических);
- 6) недостаточная эффективность стандартных диагностических и профилактических препаратов [9].

Обширные исследования, проведенные на основе РДПА Н.Г. Бочковой, В.Ю. Жезмер, А.Г. Трухиной и др. [10 – 12], выявили широту ареала серотипа Айна в Восточной Сибири, его связь со всеми звеньями эпидемиологической цепи. Новый серотип получил название «сибирский» [12].

В.И. Злобин и соавт. [13] описали урало-сибирский серотип ВКЭ с прототипным штаммом Лесопарк-11 на основе анализа растворимого антигена в реакции связывания компонента (РСК). Позднее генетическими методами была показана принадлежность штаммов группы Айна и Лесопарк-11 к одному подтипу.

Из многочисленных штаммов нового серотипа первым был генотипирован новосибирский штамм Васильченко. В 1993 году Т.С. Gritsun и соавт. секвенировали Е-ген, в 1997 году – полный геном этого штамма [14], затем штамма Заусаев [15]. Штаммы Васильченко и Заусаев стали прототипными штаммами двух кластеров сибирского подтипа. Секвенирование Е-гена штамма Айна проведено М. Esker с соавт. [16]. Международным комитетом по таксономии вирусов за новым подтипом закреплено наименование Сибирский с прототипным штаммом Васильченко – L40361 Vasilchenko [17].

Исследования в области молекулярной эпидемиологии КЭ, начатые В.И. Злобиным, стимулировали развитие работ в этом направлении, что позволило уточнить ареал сибирского подтипа, определить обширную зону его доминирования за пределами Дальнего Востока [18 – 21]. Было выявлено генетическое разнообразие сибирского подтипа ВКЭ, распространенного в азиатской и европейской частях ареала [22-24].

В настоящее время кардинально изменились представления о патогенности сибирского подтипа ВКЭ для человека. Гипотеза о том, что дальневосточный и сибирский подтипы ВКЭ связаны с разными нозологическими формами [19], не нашла подтверждения, как и мнение о слабой патогенности сибирского подтипа. Клинико-вирусологические, иммунологические, генетические, морфологические исследования доказывают способность си-

бирского подтипа вызывать инаппарантные, лихорадочные, менингеальные, тяжелые хронические, летальные очаговые формы КЭ [25 – 26]. В 2000 – 2014 годах все летальные случаи КЭ, зарегистрированные в Свердловской, Кемеровской, Курганской, Челябинской, Ярославской, Вологодской областях, были вызваны сибирским подтипом ВКЭ [27].

Сравнительно с другими направлениями исследований иммунологические вопросы изучены крайне недостаточно (особенности инфекционного иммунитета, индуцированного сибирским подтипом ВКЭ, изменение структуры популяционного иммунитета под влиянием вакцинации и т. д.).

В настоящей статье представлены данные литературы и собственные материалы по инфекционному и вакцинальному иммунитету в районах доминирования сибирского подтипа, обсуждается вопрос о защитном титре антител и судьбе ВКЭ в вакцинированном организме.

Иммунный ответ к разным серотипам ВКЭ при заболевании, естественной иммунизации и вакцинации

В зоне доминирования сибирского подтипа ВКЭ этиология всех форм манифестной инфекции, формирование естественного иммунитета (иммунной прослойки) за счет латентной инфекции связаны с инфицированием данным подтипом возбудителя. Иммунный ответ в отношении разных серотипов (подтипов) ВКЭ мало изучен. Коммерческие диагностикумы для реакций торможения гемагглютинации (РТГА), связывания компонента (РСК), реакции радиального гемолиза в геле (РРГ), а также для иммуноферментных тест-систем готовятся на основе штамма 139 ВКЭ согласно инструкции по применению набора реагентов «Диагностикум клещевого энцефалита сухой для РТГА, РСК, РРГ» (ФГУП «НПО «Микроген», 21.04.2011 г.) и Паспорту диагностикума клещевого энцефалита для РТГА, РСК, РРГ (филиал ФГУП «НПО» Микроген» МЗ РФ, г. Томск, НПО «Вирион»). Штамм 139, изолированный из клещей *Ixodes persulcatus* Л.А. Верета и М.С. Воробьевой в Хабаровском крае, генотипирован как штамм дальневосточного подтипа ВКЭ.

Согласно инструкциям, положительными считаются сыворотки с титром от 1:20 в РТГА, 1:4 – в РСК. Допускаются менее выраженные перекрестные реакции с вирусами антигенного комплекса КЭ и другими флавивирусами. В диагностическом наборе для проведения иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе «ВектоВКЭ-IgG» производства ЗАО «Вектор-Бест», Кольцово, Новосибирская область, используется антиген того же штамма ВКЭ из диагностического набора «Диагностикум клещевого энцефалита сухой для РТГА, РСК, РРГ». Иммуносорбентом служат моноклональные антитела к ВКЭ.

Коммерческие диагностические системы не позволяют дифференцировать иммунный ответ к различным серотипам (подтипам) ВКЭ.

Приведем результаты наших исследований, в которых в РТГА, РСК, РДПА были использованы экспериментально приготовленные антигены к трем подтипам ВКЭ: из штамма Айна (AF09106-Aina) сибирского подтипа, штамма Софьин (AB062064) дальневосточного подтипа и штамма 256 (AF091014 № 256) европейского подтипа. Для РТГА готовили антигены из ткани мозга зараженных белых мышей с использованием боратно-солевой экстракции, очисткой протаминсульфатом, инактивацией бета-пропиолактоном. Для РДПА готовили антиген из культуральной вирусосодержащей жидкости клеток СПЭВ, концентрированной полиэтиленгликолем (ПЭГ 6000 – 8000), с модификацией, описанной С.Г. Рубиным и др. [28]. В реакции нейтрализации (РН) использовали те же три штамма. РН проводили методом, позволяющим определять способность сыворотки нейтрализовать различные дозы ВКЭ – от 10^2 до 10^5 и выше, что определяли по IgИН (индекс нейтрализации) при титровании вируса в смеси с контрольной неиммунной и испытуемой сыворотками в разведении 1:8. Титрование ВКЭ проводили путем заражения мозга белых мышей массой 6 – 7 г или в культуре клеток СПЭВ по цитопатогенному действию, определяя IgИН по ЛД₅₀ и ТЦД₅₀.

В таблице 1 показаны результаты многократного обследования больного КЭ в течение 250 дней. В начальном и отдаленном периодах заболевания выявлялись антитела только к инфицирующему штамму сибирского подтипа при титрах в РТГА 1:20 – 1:40 – 1:80. На пике иммунного ответа (73-й день болезни) при титре 1:320 в РТГА, 1:32 в РДПА отмечалась перекрестная реакция с антигенами дальневосточного и европейского подтипов при 8-кратной разнице титров антител. Разница титров в РСК была 2-кратная. В РН наблюдалась разница на 1 – 2 IgИН. Выраженная реакция с сибирским подтипом ВКЭ имела и по одной из реакций клеточного иммунитета – ингибции миграции лейкоцитов.

С использованием РН и двух штаммов сибирского и дальневосточного подтипов была изучена структура коллективного иммунитета (иммунная прослойка) у населения четырех регионов Восточной Сибири и Зауралья. При невысокой величине IgИН (1,7 – 2,5) сыворотки реагировали избирательно с одним из штаммов – Айна (А+) или Софьин (С+). При IgИН $\geq 3,0$ наблюдалась одинаковая нейтрализация двух штаммов (А+ С+). Всего исследовано 1445 сывороток крови здорового населения – от 932 до 115 проб в пре-

Таблица 1.
Динамика иммунитета к различным серотипам (подтипам) ВКЭ при заболевании, вызванном сибирским подтипом ВКЭ

Дни болезни	Материал	Метод	Антитела к подтипам ВКЭ, штаммы		
			Сибирский (Айна)	Дальневосточный (Софьин)	Европейский (256)
5	Сыворотка крови	РТГА	0	0	НИ
19	Сыворотка крови	РТГА	80	0	0
73	Сыворотка крови	РТГА	320	40	40
		РДПА	32	4 – 8	4
		РСК	64	32	16 – 32
		РН	3,8	1,9	НИ
115	Сыворотка крови	РТГА	40	0	0
		РДПА	16 – 32	2	0
		РСК	16	0	0
120	Сыворотка крови	РТГА	20	0	0
		РН	2,7	1,8	НИ
120	Ликвор	РТГА	0	0	0
		РН	2,7	0,3	НИ
170	Сыворотка крови	РТГА	40	0	0
	Лейкоциты крови	Ингибция, % миграции лейкоцитов	40,5	27	12,7
250	Сыворотка крови	РТГА	40	0	0

Примечание: НИ – не исследовали.
Приведены обратные величины титров антител в РТГА, РСК, РДПА.

делах отдельных районов (табл. 2). Исследования были проведены В.В. Погодиной, Н.Г. Бочковой, Л.С. Левиной в 1983 – 1985 годах. На этом этапе в популяции выявлялись штаммы сибирского и дальневосточного подтипов, по данным иммунотипирования в РДПА [8 – 11].

Уровень иммунной прослойки варьировался от 53,4 – 57,4% в Красноярском крае и Иркутской области до 65,2 – 67,7% в Курганской и Читинской областях. В Курганской области и Красноярском крае у населения преобладали сыворотки с высокой нейтрализующей активностью (А+ С+). В Читинской области 37,5% сывороток избирательно реагировали со штаммом Айна, 37% сывороток одинаково нейтрализовали оба штамма, была достаточно высока (25%) доля сывороток, избирательно нейтрализующих штамм Софьин. В Иркутской области число сывороток, избирательно нейтрализующих сибирский подтип ВКЭ, было значительно выше, чем нейтрализующих штамм Софьин. На обследованной территории нами были выделены многочисленные штаммы сибирского подтипа ВКЭ, сначала иммунотипированные в РДПА, затем ретроспективно генотипированные – АУ363864-Irkutsk-3, АУ363850-Irkutsk-6 и др.

Процесс формирования иммунной прослойки разными подтипами ВКЭ был прослежен на территории Эхирит-Булагатского района Иркутской области – местности, где заболела больная Айна М., от которой изолирован одноименный штамм. У жителей поселка Олой сыворотки брали в апреле и октябре. Сезонный прирост вируснейтрализующих антител к штамму Айна (А+) был от 6,8 до 31,7% ($p < 0,05$), тогда как к штамму Софьин – от 4,5 до 8,3%.

В настоящее время коллективный иммунитет определяется методом ИФА, характеризующим уровень и напряженность иммунной прослойки без дифференциации подтипов. При определении уровня иммунной прослойки по Российской Федерации (РФ) и федеральным округам (ФО) учитывается суммарно естественный иммунитет и приобретенный иммунитет вследствие вакцинации. В РФ иммунная прослойка возросла с 2011 по 2013 год от 5,86 до 5,97%, в том числе по Центральному ФО – от 0,31 до 0,33%, по

Приволжскому ФО – 3,81 – 3,92%, по Уральскому – 25,36 – 25,74%, по Сибирскому – 14,69 – 14,72%, по Дальневосточному – 10,47 – 11,47% [29]. Максимальные показатели по Уральскому ФО определяются высоким уровнем эндемичности и массовой вакцинопрофилактикой в Свердловской области. На данной территории уровень иммунной прослойки с 2000 по 2009 год, по данным ИФА, вырос с 50 до 73%, когда охват населения прививками составил 78%, привитость – 72% [30].

В Челябинской области в 2012 – 2014 годах коллективный иммунитет составлял 23,4% в горно-лесной зоне, 25,5% – в лесостепной и 18,3% – в степной зоне. В структуре популяционного иммунитета 35,9% приходится на долю привитых, 64,1% – непривитых, имеющих естественный иммунитет (данные С.В. Лучининой, Управление Роспотребнадзора в Челябинской области). В Курганской области уровень коллективного иммунитета колебался от 5 до 18%, охват прививками в 2011 году составил 22,6% в целом по области, с колебаниями по административным территориям. Уровень популяционного иммунитета варьировался в зависимости от степени эндемичности районов, масштабов вакцинации. Напряженность иммунитета колебалась, по данным ИФА, – от титров $IgG \leq 1:100$ до $\geq 1:1600$.

В Костромской области уровень иммунной прослойки (по результатам ИФА) среди непривитых и неболевших лиц в 2011 – 2014 годах составлял 11,8 – 14,7% (данные Управления Роспотребнадзора в Костромской области). Доля вакцинированных лиц в популяции иммунных равнялась 3,3%.

В Иркутской области проведено сравнение состояния и структуры популяционного иммунитета среди неболевшего КЭ взрослого здорового населения: невакцинированного и привитого вакциной томского производства из штамма № 205 (табл. 3). У невакцинированных лиц преобладали антитела невысокой нейтрализующей активности ($IgИН < 2,7$) преимущественно к сибирскому подтипу (71,3%) и менее 10% – к дальневосточному подтипу. Антитела с высокой нейтрализующей активностью были у 18,8% лиц. Вакцинация изменила уровень и структуру иммунной прослойки

Таблица 2.
Структура иммунной прослойки у населения по данным реакции нейтрализации

	Всего	Положительны, %	А+ С, %	А+, %	С+, %
Иркутская область	932	536, 57,4	47,0	34,0	19
Читинская область	177	118, 67,7	37,5	37,5	25
Красноярский край	221	118, 53,4	63	12	25
Курганская область	115	75, 65,2	85,5	8,0	6,5

Примечание: (А+ С) сыворотки, реагирующие в РН одинаково со штаммами Айна и Софьин; (А+) – сыворотки, избирательно реагирующие со штаммом Айна; (С+) – сыворотки, избирательно реагирующие со штаммом Софьин.

ки: на 20% возросло число серопозитивных лиц, возросла доля лиц, имеющих антитела, способные нейтрализовать высокие дозы сибирского подтипа (IgИН ≥ 3). Одновременно уменьшилось количество сывороток с низкой нейтрализующей активностью в отношении сибирского подтипа ВКЭ.

Защитный титр антител

Определение защитного титра антител важно для оценки профилактической активности вакцин. В настоящее время нет единого мнения о защитным титре антител при КЭ. Н.В. Медуницын и А.Н. Миронов оценивают при вакцинации против КЭ титр антигемагглютининов 1:20 как защитный, титр $\geq 1:60$ – как максимальный [31]. В санитарно-эпидемиологических правилах указан защитный титр IgG в ИФА 1:100 [32]. В работах В.В. Романенко и др. [30, 33] по сравнительной оценке иммуногенности современных культуральных очищенных концентрированных вакцин титр IgG 1:100 учитывается как минимальный показатель серопозитивности. В наблюдениях на исходно серонегативных группах (преимущественно дети) через 1 месяц после 2 – 3-кратной иммунизации титр IgG достигал 1:3200 – 1:6400, что оценивалось как показатель высокой иммунологической эффективности вакцин производства ИПВЭ им. М.П. Чумакова, Энцевир, ФСМЕ-Иммун и Энцепур [30, 33]. В процессе 2 – 3-кратной иммунизации доля IgG в титре 1:100 снижалась с $10,1 \pm 2,8\%$ до $1,7 – 5,0 \pm 1,9\%$ для вакцин Энцепур и ФСМЕ-иммун, и до нуля – для вакцин российского производства [33].

Г.Н. Леонова на экспериментальной основе дифференцировала уровни IgG в понятиях защитного титра и иммунологической памяти [34]. Сыворотки с титром IgG 1:100 не полностью нейтрализуют эпидемиологически значимую дозу ВКЭ $3,0 \text{ IgTЦД}_{50}$, $3,0 \text{ IgLD}_{50}$. Сыворотки с титром IgG 1:3200 нейтрализуют $3,0 – 4,0 \text{ IgTЦД}_{50}$ ВКЭ.

Титр IgG 1:400 соответствует титру 1:20 в реакции нейтрализации. Предложено считать титр IgG 1:100 нижним порогом иммунологической памяти, титр 1:400 – нижним порогом защитного действия антител. При титрах IgG 1:400 и ниже необходима ревакцинация. Защитные титры определяются на уровне $\geq 1:800$ [34].

Как часто антитела в титре 1:100 встречаются у вакцинированного населения, проживающего на эндемичной по КЭ территории? По данным

М.С. Щербининой, В.В. Погодиной, С.М. Скрынника, в Курганской области у лиц, привитых 3 – 5 раз, накануне второй ревакцинации в 25% случаев отсутствовали IgG, в 39% IgG были в титре 1:100. У тех, кто получил две ревакцинации, через 11 – 19 лет (когда были пропущены 3 – 6 ревакцинаций) IgG не выявлялись или были в титре 1:100. Эти данные позволяют оценивать IgG в титре 1:100 в поствакцинальном периоде как показатель В-клеточной иммунологической памяти.

В-клетки памяти не вырабатывают антитела и не защищают от инфекции [35]. Они представляют собой длительно существующую популяцию антиген-специфичных покоящихся клеток, готовых реагировать на повторное введение конкретного антигена [35] после активации Т-хелперов.

Интересны результаты изучения поствакцинального иммунитета у сотрудников ЗАО «Вектор-Бест», 15 исходно серонегативных человек были 3-хкратно привиты вакциной Энцевир [36]. Гуморальный иммунитет сохранялся 10 лет с постепенным снижением титра антител. При начальном титре IgG до 1:1600 – 1:6400 отмечено 4 – 8-кратное и более снижение до 1:100 – 1:400. При начальном титре IgG 1:400 через 1 – 5 лет антитела не выявлялись или были в титре 1:100. Устойчивость иммунитета была индивидуальной, ниже – в старшей возрастной группе. Однократная ревакцинация при титре IgG 1:100 или утрате антител давала сероконверсию до титров IgG 1:800 – 1:3200. При сохранении гуморального иммунитета на уровне 1:200 – 1:800 ревакцинация, по мнению авторов, не является необходимой [36].

Популяционный иммунитет у населения эндемичной по КЭ территории складывается из естественной иммунизации (инаппарантная инфекция), заболевания КЭ и вакцинации. Совместно со специалистами Курганской области мы изучили состояние специфического иммунитета у здорового населения 10 районов, привитого 3 – 10 раз вакцинами производства НПО «Вирион», «Энцевир» НПО «Микроген», г. Томск. Сравнивали три показателя: число серонегативных, число лиц с титром IgG 1:100 и среднее геометрическое титров (СГТ) IgG. По состоянию на 2013 – 2014 годы частота серонегативных лиц варьировалась от 6,9 до 30,4%, число лиц с титром IgG 1:100 – от 23 до 67%, СГТ IgG от 1:290 до $1:1029 \pm 139$. Результаты изучения показали разную степень защищенности от КЭ

Таблица 3.
Структура иммунитета у вакцинированного населения Иркутской области (реакция нейтрализации)

Показатели	Непривитые	Привитые
Иммунная прослойка	46,6	66,6
Антитела к штаммам (%) Айна + Софьин	18,8	31,1
Антитела к штамму Айна	71,3	47,4
Антитела к штамму Софьин	9,9	21,5

населения обследованных районов, которая зависит от уровня эпидемиологической напряженности в районах, активности проведения вакцинации и ревакцинации.

В оценке титра IgG важна нейтрализующая активность сывороток. Г.Н. Леонова отмечает способность сывороток с титром IgG 1:100 и 1:3200 нейтрализовать ВКЭ дальневосточного подтипа [34]. Крайне мало известно о соотношении титров IgG, определенных стандартной тест-системой на основе штамма 139 дальневосточного подтипа и способности сывороток нейтрализовать ВКЭ сибирского подтипа. Приводим ряд данных, полученных М.С. Щербининой и Л.С. Левиной при исследовании сывороток крови лиц, привитых 2-х или 3-кратно. В качестве тест-штаммов в РН использованы современные высокопатогенные штаммы ВКЭ сибирского подтипа. Штамм Абд-12 (KJ 936631-Chelyabinsk-Abd-12) изолирован из мозга невакцинированного больного, умершего в 2012 году в Челябинской области при остром течении КЭ. Штамм № 118 выделен из мозга 6-кратно привитого пациента, умершего в 2010 году в Курганской области [37]. Штамм Курган-269 (FJ214129-Kurgan269-07) изолирован от клеща *Ixodes persulcatus* в 2007 году в Курганской области.

Сыворотка № 119/14 взята от жителя Кемеровской области, привитого 2 раза вакциной ФСМЕ-Иммун. Заболевание КЭ у больного началось через пять месяцев после вакцинации и присасывания клеща. После острого КЭ отмечена хронизация процесса с развитием постоянного тремора руки, затем через 3,5 года сформировался синдром Кожевниковской эпилепсии. Сыворотка крови содержала антигемагглютинины в высоком титре 1:1600, IgG в титре 1:640 –

1:12800 с высокой avidностью (индекс avidности 72%), IgM не выявлены. В РН сыворотка нейтрализовала штамм Абд-12 в дозе 6,35 IgLD₅₀, штамма Софьин – 5,1 IgLD₅₀.

Сыворотка № 114/13 взята у пациента Л. через 47 лет от начала заболевания хроническим КЭ, вызванным сибирским подтипом ВКЭ (изолирован штамм 592/67) и через 31 год после проведения курса вакцинотерапии – три дозы вакцины из штамма дальневосточного подтипа. Сыворотка содержала IgG в титре 1:800, была высокоavidна (60%), нейтрализовала штамм Абд-12 в дозе 5 IgLD₅₀, штамм Софьин – 3,75 IgLD₅₀.

Исследована также сыворотка № 123/15 от невакцинированного жителя Кемеровской области, взятая на ранней стадии развития Кожевниковской эпилепсии. При титре IgG 1:1600 получена нейтрализация штаммов Абд-12, №118 и Курган-269 в дозах 3,5 – 4,5 IgLD₅₀.

Сыворотки № 120-1/14 и 120-2/14 были взяты у больного острым КЭ (менингоэнцефалитическая форма) жителя Угличского района Ярославской области (наблюдение Т.А. Дружининой, Н.С. Барановой). На территории доминирует сибирский подтип ВКЭ [21]. Пациент был трижды привит вакциной производства ФГУП «ИПВЭ им М.П. Чумакова» (третья прививка в мае 2013 г.) заболел после присасывания клеща в мае 2014 года. Две сыворотки крови, взятые в динамике, содержали IgG в титре 1:400 при отсутствии IgM. Сыворотки нейтрализовали штамм Абд-12 (сибирский подтип) в дозе 5,75 – 5,50 IgLD₅₀, штамм Софьин (дальневосточный подтип) – 4,5 IgLD₅₀, штамм 256 (европейский подтип) – 4,75 IgLD₅₀.

Приведенные данные показывают, что сыворотки крови, содержащие специфические IgG в ти-

Таблица 4.
Нейтрализация штаммов сибирского подтипа ВКЭ сыворотками крови вакцинированных больных

№ сывороток	Вакцинация		Титр IgG	LgИИ, тест-штаммы		
	Вакцина	Число доз		сибирский	дальневосточный, Софьин	европейский № 256
119/14	ФСМЕ-Иммун	2	12800	Abd-12 6,35	5,1	3,25
114 – 1/13	ФГУП ИПВЭ	3	800	Abd-12 5,0	3,75	НИ*
114 – 2/13	ФГУП ИПВЭ	3	800	Abd-12 4,0	НИ	НИ
120 – 1/14	ФГУП ИПВЭ	3	400	Abd-12 5,75	4,5	4,75
120 – 2/14	ФГУП ИПВЭ	3	400	Abd-12 5,50	4,5	НИ
123/15	–	–	1600	Abd-12 – 4,5 №118 – 4,0 Курган-269 – 3,5	2,0	НИ

Примечания: 1. Указаны обратные титры IgG (ИФА), 2). Характеристика сывороток дана в тексте.

*НИ – не исследовали.

тре 1:400 – 1:12800, нейтрализуют высокие дозы современных высокопатогенных штаммов сибирского подтипа – от 3,5 до 6,35 IgLD₅₀. Строгого соответствия между титром IgG и нейтрализующей активностью сывороток в этих экспериментах не найдено (табл. 4).

Механизмы формирования инфекционного и вакцинального иммунитета неодинаковы. Исследованные нами сыворотки, описанные выше, отражали комбинацию вакцинального и инфекционного иммунитета (см. табл. 4).

Для уточнения защитного титра IgG в соотношении с нейтрализующей активностью сывороток в реакциях со штаммами ВКЭ сибирского подтипа необходимо накопление фактов с отдельной информацией по группам:

- а) вакцинированные здоровые исходно серонегативные лица;
- б) здоровое вакцинированное население эндемичной территории;
- в) вакцинированные больные КЭ;
- г) невакцинированные больные КЭ.

Судьба вируса в вакцинированном организме

Взаимодействие антител и вируса *in vitro* и *in vivo* неодинаково. Высокоактивные сыворотки с титром IgG 1:1600 – 1:12800 нейтрализуют *in vitro* ВКЭ в дозе 4 – 6 IgLD₅₀ (см. табл. 4), оставляя ненейтрализованную часть вирусной популяции в концентрации 2 – 4 IgLD₅₀. В организме также остается ненейтрализованная фракция, если учесть, что инфицирующая доза ВКЭ может быть высока: в индивидуальных особях клещей *Ixodes persulcatus* содержится от 10² до 10⁹ БОЕ/мл ВКЭ [38]. Нейтрализованный ВКЭ поддерживает вирусемию, локализуется в органах-мишенях.

Приведем результаты изучения размножения ВКЭ в организме обезьян (яванская макака, макака мулатта) и сирийских хомячков, вакцинированных 2 – 3-кратно культуральной концентрированной вакциной производства ИПВЭ им. М.П. Чумакова. Через 1 – 2 месяца после вакцинации животных заражали под кожу штаммами сибирского подтипа Васильченко, Айна, 41/65 и В-383 и обследовали многократно через 3 – 30 дней, 3, 5 и 12 месяцев. Состояние гуморального иммунитета определяли в РТГА и РН. Содержание ВКЭ в крови и органах на ранних сроках определяли титрованием, в поздние сроки – методом эксплантации тканей, РНК выявляли методом молекулярной гибридизации нуклеиновых кислот, антиген – методом иммунофлуоресценции [39]. Получены следующие результаты:

- Исход заражения зависит от соотношения уровня иммунитета и инфицирующей дозы ВКЭ;
- При уровне нейтрализующих антител 3 – 3,5 IgИН частично подавляется репродукция ВКЭ, введенного в дозе 10³ LD₅₀, не подавляется – при дозе 10⁵ LD₅₀;
- Нейтрализованный вирус проникает в ЦНС, селезенку, печень;

- В головном мозге ВКЭ локализуется преимущественно в коре больших полушарий, подкорковых ганглиях, продолговатом мозге, мозжечке;
- Вакцинопрофилактика не препятствует персистенции ВКЭ, введенного в высокой дозе;
- Персистирующий вирус меняет свойства: снижена вирулентность, нарушена сборка вирионов, продукция гемагглютининов, резко снижена avidность;
- Создается равновесие между персистирующим вирусом со сниженной способностью связываться с антителами и иммунитетом;
- Иммуносупрессия (спонтанная или индуцированная стрессом, физической нагрузкой, сопутствующими заболеваниями, введением антибиотиков и в силу других причин) способствует активации ВКЭ и прогрессированию патологического процесса.

Подобные механизмы, по-видимому, определяют развитие хронического КЭ у вакцинированных пациентов [40, 41].

Заключение

Изучены особенности иммунитета при заболевании и естественной иммунизации населения в зоне доминирования сибирского подтипа ВКЭ. На ранних этапах иммуногенеза выявляются антитела только к сибирскому подтипу ВКЭ, на пике иммунного ответа наблюдаются перекрестные реакции со штаммами дальневосточного и европейского подтипов. Описано изменение структуры естественного иммунитета под влиянием вакцинации. Инактивированные культуральные вакцины отечественного и зарубежного производства основаны на штаммах дальневосточного и европейского подтипов, имеющих генетические отличия от сибирского подтипа ВКЭ.

Ключевой вопрос: способны ли современные вакцины обеспечить защиту от заражения сибирским подтипом ВКЭ, включая высокопатогенные варианты возбудителя? Ответ может быть получен только в условиях реального применения вакцин. Практика активной иммунизации в прошлом и настоящем указывает на эффективность массовой вакцинопрофилактики:

- Кемеровская область: в популяции ВКЭ в 1954 – 1970 годах 91,2% составлял сибирский подтип ВКЭ [20, 25]. Массовая иммунизация вакциной из штамма Пан европейского подтипа обеспечила эпидемиологический эффект со снижением частоты очаговых форм заболевания [42].
- Свердловская область: в популяции ВКЭ в 2003 – 2009 годах сибирский подтип составлял от 98 до 100% [20, 25]. Массовая вакцинопрофилактика отечественными вакцинами из штаммов дальневосточного подтипа и препаратами зарубежного производства из штаммов европейского подтипа дала высокий эпидемиологический эффект – 98,1% [30].

В основе достигнутого эффекта могут быть следующие иммунологические слагаемые:

- а) естественный иммунитет у населения, обусловленный сибирским подтипом ВКЭ, с высоким уровнем вируснейтрализующих антител;
- б) бустер-эффект вакцинации, повышающий уровень иммунитета при исходно низких титрах вируснейтрализующих антител;
- в) вакцинальный иммунитет высокого уровня у исходно серонегативных лиц, обеспечивающий перекрестную защиту от сибирского подтипа ВКЭ.

В работе обсуждается вопрос о защитном титре антител. Представлены обоснования считать титр IgG 1:100 (ИФА) не как защитный титр, а как показатель В-клеточной иммунологической памяти. В экспериментах на животных показана возможность формирования персистентной инфекции в вакцинированном организме. Развитие хронического КЭ наблюдалось у ряда вакцинированных больных [40, 41], что может быть связано с недостаточной нейтрализацией вируса при высокой инфицирующей дозе и его персистенцией в ЦНС и органах иммунной системы.

Литература

1. Clarke D.H. Further studies on antigenic relationship among the viruses of the group B tick-borne complex. Bull. Wed. Health. Org. 1964; 31: 45 – 56.
2. Чумаков М.П. Клещевой энцефалит человека: Дис. ... докт. мед. наук. Москва; 1944.
3. Casals J. Antigenic classification of arthropod viruses. Proceedings of the sixth international Congress of tropical medicine and malaria. Lisboa, Portugal. 1959; 5: 34 – 47.
4. 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.
5. Безрукова Е.Г. Роль сибирского подтипа вируса клещевого энцефалита в этиологии острых и хронических форм заболевания (сопоставление с дальневосточным подтипом): Дис. ... канд. мед. наук; Москва; 2009: 225.
6. Rubin S.G., Chumakov M.P. New data on the antigenic types of Tick-borne encephalitis (TBE) virus. In: Arboviruses in the Mediterranean Countries. Stuttgart, New York; 1980 – 231 – 236.
7. Краминская Н.Н., Живоляпина Р.Р., Мейерова Р.А., Первозников В.А. Своеобразный штамм вируса клещевого энцефалита, выделенный от больного с прогредиентным течением заболевания. В кн.: «Актуальные проблемы вирусных инфекций». Москва; 1965: 190 – 191.
8. Погодина В.В., Бочкова Н.Г., Корешкова Г.В. Свойства штаммов серотипа Айна/1448 вируса клещевого энцефалита. Вопросы вирусологии. 1981; 6: 741 – 746.
9. Погодина В.В., Бочкова Н.Г., Левина Л.С., Жезмер В.Ю., Мейерова Р.А., Корешкова Г.В. и др. Иммунологические и некоторые этиологические аспекты изучения серотипа Айна/1448 вируса клещевого энцефалита. Вопросы вирусологии. 1981; 6: 735 – 741.
10. Бочкова Н.Г., Жезмер В.Ю., Трухина А.Г., Гусарова Н.А., Погодина В.В. Изучение серотипа Айна/1448 вируса клещевого энцефалита. Вопросы вирусологии. 1985; 5: 572 – 575.
11. Трухина А.Г. Особенности популяции возбудителя клещевого энцефалита в зоне распространения двух серотипов вируса клещевого на территории Прибайкалья. Дис. ... канд. мед. наук, Иркутск; 1989: 213.
12. Погодина В.В., Фролова М.П., Ерман Б.А. Хронический клещевой энцефалит. Новосибирск; «Наука». 1986: 234.
13. Злобин В.И., Дрокин Д.А., Мансуров П.Г. Типирование штаммов вируса клещевого энцефалита по растворимому антигену. Вопросы вирусологии. 1991; 1: 24 – 27.
14. Gritsun T.S., Frolova T.V., Pogodina V.V., Lashkevich V.A., Venugopal K., Gould E.A. Nucleotide and deduced amino acid sequence of envelope gene of the Vasilchenko strain of TBE virus, comparison with other flaviviruses. Virus Research. 1993; 27: 201 – 209.
15. Gritsun T.S., Frolova T.V., Zhankov A.I., Armesto M., Turner S.L., Frolova M.P. et al. Characterization of a Siberian virus, isolated from patient with progressive chronic Tick-borne encephalitis. J. of Virology. 2003; (1): 25 – 36.
16. Ecker M., Allison S., Meixner T., Heinz F. Sequence analysis and genetic classification of Tick-borne encephalitis viruses from Europe and Asia. J. Gen. Virol. 1999; 80: 179 – 185.
17. Heinz F.X., Collet M.S., Purcell R.H., Gould E.A., Howard C.L., Houghton M. et al. Family *Flaviviridae*. Taxonomic structure of Family. In: Virus taxonomy. 7th Intern. Committee for the taxonomy of viruses. Ed.: C.M. Fauquet H.L., Bishop, E. Carstens. San Diego. Academic Press; 2000: 859 – 878.
18. Злобин В.И., Верхозина М.М., Демина Т.В., Джиоев Ю.П., Адельшин Р.В., Козлова И.В. и др. Молекулярная эпидемиология клещевого энцефалита. Вопросы вирусологии. 2007; 6: 4 – 13.
19. Вотяков В.И., Злобин В.И., Мишаева Н.П. Клещевые энцефалиты Евразии. Новосибирск, «Наука». 2002: 438.
20. Колясникова Н.М. Мониторинг структуры популяции вируса клещевого энцефалита в Уральском, Западно-Сибирском и Северо-Западном регионах России (вирусологические и молекулярно-биологические исследования). Дис. ... канд. мед. наук. Москва; 2008: 216.
21. Герасимов С.Г., Дружинина Т.А., Карань Л.С., Колясникова Н.М., Баранова Н.С., Левина Л.С. и др. Особенности клещевого энцефалита в Ярославской области на современном этапе. Проблема эволюции инфекции. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2014; 4: 37 – 44.
22. Карань Л.С., Погодина В.В., Фролова Т.В., Платонов А.Е. Генетические различия восточно-европейской и азиатской популяций вируса клещевого энцефалита сибирского подтипа. Бюлл СО РАМН. 2006. Приложение 1: 24 – 27.
23. Golovlyova I., Katargina O., Geller J., Talio T., Mitzhenkov V., Vene S. et al. Unique signature amino acid substitution in Baltic Tick-borne encephalitis virus (TBEV) strains within the Siberian TBE subtypes. Intern J. Med. Microbiology. 2008. doi: 10.1016 / J. M.M. 2007. 12.04.
24. Чаусов Е.В., Терновой В.А., Протопопова Е.В., Коновалова С.Н., Кононова Ю.В., Тупота Н.Л. и др. Молекулярно-генетический анализ полного генома вируса клещевого энцефалита сибирского субтипа на примере современного изолята Коларово-2008. Проблемы особо опасных инфекций. 2011; 110: 44 – 47.
25. Погодина В.В., Карань Л.С., Колясникова Н.М., Левина Л.С., Маленко Г.В. и др. Эволюция клещевого энцефалита и проблема эволюции возбудителя. Вопросы вирусологии. 2007; 5: 16 – 20.
26. Андаев Е.И., Трухина А.Г., Борисова Т.И., Карань Л.С., Погодина В.В., Гамова Е.Г. и др. Особенности популяции вируса клещевого энцефалита в Забайкальском крае. Медицинская вирусология. 2009; XXVI: 47 – 49.
27. Левина Л.С., Погодина В.В., Карань Л.С., Колясникова Н.М., Кармышева В.Я., Маленко Г.В. и др. Вирусологическая и молекулярно-генетическая диагностика летальных случаев энцефалита на Урале, в Западной Сибири и европейской части России (2001 – 2013 гг.). Труды научно-практической конференции «Молекулярная диагностика-2014». Москва; 2014; 2: 500 – 501.
28. Рубин С.Г., Эльберт Л.Б., Чумаков М.П. Применение полиэтиленгликоля (ПЭГ) для получения концентрированных диагностикумоварбовирусов группы В. Труды Института полиомиелита и вирусных энцефалитов, 15-я научная сессия. Москва; 1968; 3: 255 – 257.
29. Носков А.К., Ильин В.П., Андаев Е.И., Пакскина Н.Д., Веригина Е.В., Балахонов С.В. Заболеваемость клещевым вирусным энцефалитом в российской федерации по федеральным округам в 2009 – 2013 гг., эпидемиологическая ситуация в 2014 г и прогноз на 2015 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2015; 1: 46 – 50.
30. Романенко В.В., Анкудинова А.В., Киячина А.С. Эффективность программы массовой вакцинопрофилактики клещевого энцефалита в Свердловской области. Вестник Уральского Государственной медицинской академии. Екатеринбург. 2010; 21: 125 – 132.
31. Медуницын Н.В., Миронов А.Н. Вакцины. Новые способы повышения эффективности и безопасности вакцинации. Вопросы вирусологии. 2012. Приложение 1: 43 – 51.
32. Профилактика клещевого вирусного энцефалита. Санитарно-эпидемиологические правила, СП 3.1.3. 2352-07. Москва; 2008.
33. Киячина А.С. Изучение эффективности массовой вакцинации населения против клещевого энцефалита вакцинами III поколения. Дис. ... канд. мед. наук. Москва; 2008: 148.
34. Леонова Г.Н. Клещевой энцефалит: актуальные аспекты. Москва; Издатель И.В. Балабанов; 2009: 168.
35. Медуницын Н.В., Миронов А.Н., Мовсисянц А.А. Теория и практика вакцинологии. ООО «Ремедиум», «Иммунологическая память»; Москва; 2015; глава 14: 121 – 124.

36. Топычанова Н.Г., Кувшинова И.Н., Офицеров В.И. К вопросу о сроках ревакцинации против клещевого энцефалита. «Новости Вектор-Бест». 2015; 2 (76): 4 – 6.
37. 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 – 37.
38. Коренберг Э.И., Помелова В.Г., Осин Н.С. Природно-очаговые инфекции, передаваемые иксодовыми клещами. Гинсбург, В.И. Злобин, ред. В кн.: Клещевой энцефалит. Москва; 2013: 61 – 173.
39. Левина Л.С., Погодина В.В. Персистенция вируса клещевого энцефалита в вакцинированном организме. Вопросы вирусологии. 1988; 4: 485 – 490.
40. Волкова Л.И. Клещевой энцефалит на Среднем Урале: клинико-эпидемиологический анализ острых и хронических форм, пути оптимизации оказания специализированной медицинской помощи в эндемичном очаге: Автореферат дис. ... докт. мед. наук. Екатеринбург; 2009.
41. Субботин А.В., Семенов В.А., Смирнов В.Д., Щербинина М.С., Погодина В.В. Случай развития хронического клещевого энцефалита у вакцинированного пациента. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2014; 3: 107 – 112.
42. Чумаков М.П., Львов Д.К., Сарманова Е.С., Найдич Г.Н., Чумак Н.Ф. и др. Сравнительное изучение эпидемиологической эффективности прививок культуральной и мозговой вакцины против клещевого энцефалита. Вопросы вирусологии. 1963; 3: 307 – 315.

References

1. Clarke D.H. Further studies in antigenic relationship among the viruses of the group B Tick-borne complex. Bull. Wed. Health. Org. 1964; 31: 45 – 56.
2. Chumakov M.P. Tick-borne encephalitis in human. PhD of med. sci. Moscow; 1944 (in Russian).
3. Casals J. Antigenic classification of arthropod viruses. Processings of the sixth international Congress of tropical medicine and malaria. Lisboa, Portugal 1959; 5: 34 – 47.
4. 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 – 21 (in Russian).
5. Bezrukova E.G. Participation of Siberian subtype of Tick-borne encephalitis virus in ethiology of chronic disease forms. Diss med., Moscow; 2009 : 225 (in Russian).
6. Rubin S.G., Chumakov M.P. New data on the antigenic types of Tick-borne encephalitis virus. In: Arboviruses in the Mediterranean Countries. Stuttgart, New York. 1980: 231 – 236.
7. Kraminskaya N.N., Zhivolypina R.R., Meyerova R.A., Perevoznikov V.A. Unusual strains of Tick-borne encephalitis virus, isolated from patient with progressive form of disease. In: Actual problems of viral infection. Moscow; 1965: 190 – 191 (in Russian).
8. Pogodina V.V., Bochkova N.G., Koreshkova G.V. Strains of the Aina/1448 serotype of Tick-borne encephalitis virus. Voprosy virusologii. 1981; 6: 741 – 746 (in Russian).
9. Pogodina V.V., Bochkova N.G., Levina L.S., Zhezmer V.Yu., Meyerova R.A., Koreshkova G.V. et al. Immunological and some ethiological aspects of the study of Aina/1448 serotype of Tick-borne encephalitis virus. Voprosy virusologii. 1981; 6: 735 – 741 (in Russian).
10. Bochkova N.G., Zhezmer V.Yu., Trukhina A.G., Gusarova N.A., Pogodina V.V. Study of the Aina/1448 serotype of Tick-borne encephalitis virus. Voprosy virusologii. 1985; 5: 572 – 575 (in Russian).
11. Trukhina A.G. Peculiarity of Tick-borne encephalitis virus population with two circulating serotypes (Baikal area). Doctorat of med. sci. Irkutsk; 1989 (in Russian).
12. Pogodina V.V., Frolova M.P., Erman B.A. Chronic Tick-borne encephalitis. 1986. Nauka. Novosibirsk: 238 (in Russian).
13. Zlobin V.I., Drokin D.A., Mansurov P.G. Typing of Tick-borne encephalitis virus strains by soluble antigen. Voprosy virusologii. 1991; 1: 24 – 27 (in Russian).
14. Gritsun T.S., Frolova T.V., Pogodina V.V., Lashkevich V.A., Venugopal K., Gould E.A. Nucleotide and deduced amino acid sequence of envelope gene of the Vasilchenko strain of TBE virus, comparison with other flaviviruses. Virus Research. 1993; 27: 201 – 209.
15. Gritsun T.S., Frolova T.V., Zhankov A.I., Armesto M., Turner S.L., Frolova M.P. et al. Characterization of a Siberian virus, isolated from patient with progressive chronic Tick-borne encephalitis. J. of Virology. 2003; 77 (1): 25 – 36.
16. Ecker M., Allison, S., Meixner, T., Heinz, F. Sequence analysis and genetic classification of Tick-borne encephalitis viruses from Europe and Asia. J. Gen. Virol. 1999; 80: 179 – 185.
17. Heinz F.X., Collet M.S., Purcell R.H., Gould E.A., Howard C.L., Houghton M. et al. Family *Flaviviridae*. Taxonomic structure of Family. In: Virus taxonomy. 7th Intern. Committee for the taxonomy of viruses. Ed.: C.M. Fauquet, H.L. Bishop, E. Carstens. San Diego. Academic Press. 2000. 859 – 878.
18. Zlobin V.I., Verkhovina M.M., Demina T.V., Dzhiboev Yu.P., Adel'shin R.V., Kozlova I.V. et al. Molecular epidemiology of Tick-borne encephalitis. Voprosy virusologii. 2007; 6: 4 – 13 (in Russian).
19. Votyakov V.I., Zlobin V.I., Mishaeva N.P. Tick-borne encephalitis in Eurasia, ecology, molecular epidemiology, nosology, evolution. Novosibirsk: Nauka; 2002; 438 (in Russian).
20. Kolyasnikova N.M. Monitoring of TBE virus populations in Ural, West Siberian and Nord-Western regions of Russia (Virologic and molecular-biologic investigation). Doctorat of med. sci. Moscow; 2008 (in Russian).
21. Gerasimov S.G., Druzhinina T.A., Karan' L.S., Kolyasnikova N.M., Baranova N.S., Levina L.S. The features of Tick-borne encephalitis in Yaroslavl region in modern phase. The problem of evolution of the infection. Epidemiologia i infeksionnye bolezni. 2014; 4 (19): 37 – 44 (in Russian).
22. Karan' L.S., Pogodina V.V., Frolova T.V., Platonov A.E. Genetic differences between East-European and Asian populations of Tick-borne encephalitis virus Siberian subtype. Bulletin Siberian Branch of Russian Academy of medical sciences. 2006; 1: 24 – 27 (in Russian).
23. Golovlyova I., Katargina O., Geller J., Talio T., Mittzenkov V., Vene S. et al. Unique signature amino acid substitution in Baltic Tick-borne encephalitis virus (TBEV) strains within the Siberian TBE subtypes. Intern J. Med. Microbiology. 2008. Doi: 10.1016 / J. M.M. 2007. 12.04.
24. Chausov E.V., Ternovoy V.A., Protopopova E.V., Kononova Yu.V., Tupota N.L. et al. Molecular genetic analysis of the complete genome of Tick-borne encephalitis virus (Siberian subtype): modern Kolarovo-2008 isolate. Problemy osobo opasnykh infektsiy. Problems of dangerous infections. 2011; 110: 44 – 48 (in Russian).
25. Pogodina V.V., Karan' L.S., Kolyasnikova N.M., Levina L.S., Malenko G.V., Gamova E.G. et al. Tick-borne Encephalitis evolution and the problem of TBE virus evolution. Voprosy virusologii. 2007; 5: 16 – 20 (in Russian).
26. Andaev E.I., Trukhina A.G., Borisova T.I., Karan' L.S., Pogodina V.V., Gamova E.G. et al. Peculiarity of Tick-borne encephalitis virus population in Transbaikalia. Meditsinskaya virusologia. 2009; XXVI: 47 – 49.
27. Levina L.S., Pogodina V.V., Karan' L.S., Kolyasnikova N.M., Karmysheva V. Ya., Malenko G.V. et al. Virological and molecular diagnostics of encephalitis cases in Ural, West Siberia and European regions of Russia (2001 – 2013). Proceedings of the VIII conference «Molecular diagnostics». Moscow. 2014; 1: 501 – 502 (in Russian).
28. Rubin S.G., Elbert L.B., Chumakov M.P. Application of polyethelenglicol for production of concentrated arbovirus (group B) diagnostic preparations. 15-th Scientific conference, Institute of poliomyelitis and viral encephalitis. 1968. Moscow; 3: 255 – 257 (in Russian).
29. Noskov A.K., Il'in V.P., Andaev E.I., Paksina N.D., Verigina E.V., Balakhonov S.V. Morbidity rates as regards Tick-borne encephalitis in Russian Federation and across Federal Districts in 2009 – 2013. Epidemiological Situation in 204 and prognosis for 2015. Problems of especially dangerous infections. 2015; 1: 46 – 50 (in Russian).
30. Romanenko V.V., Ankudinova A.V., Kilyachina A.S. Efficiency of the TBE vaccination program in Sverdlovsk region. J. of Ural med. Academy. 2010; 21: 125 – 132 (in Russian).
31. Medunitsyn N.Y., Mironov A.N. Vaccines. New approaches for the enhancement of vaccination efficiency and safety. Voprosy virusologii. 2012; 1: 43 – 51 (in Russian).
32. Tick-borne encephalitis prevention Sanitary and epidemiologic rules and regulations SP 3.1.3.2352-07. Moscow; 2008 (in Russian).
33. Kilyachina A.S. Study of efficiency of vaccination against Tick-borne encephalitis by modern vaccines. Doctorat of med. sci. Moscow; 2008 (in Russian).
34. Leonova G.N. Tick-borne Encephalitis: actual aspects. Moscow; Ed. by Balabanov; 2009: 168.
35. Medunitsyn N.V., Mironov A.N., Movsesyants A.A. Theory and practice of vaccinology. Part 14. Immunological memory. Remedium, Moscow. 2015: 121 – 124 (in Russian).
36. Topychkanova N.G., Kuvshinova I.N., Ofitsеров V.I. About of revaccination time against Tick-borne encephalitis. «News of Vector-Best». («Novosti of Vector-Best»). 2015; 2 (76): 4 – 6 (in Russian).
37. Pogodina V.V., Levina L.S., Skrynник 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 – 37 (in Russian).
38. Korenberg E., Pomelova V., Osin N. Infections with natural focality transmitted by Ixodes ticks. Ed.: A. Ginsburg, V. Zlobin. Moscow. 2013; Part: Tick-borne encephalitis: 61 – 173.
39. Levina L.S., Pogodina V.V. Persistence of Tick-borne encephalitis virus in vaccinated organism. Voprosy virusologii. 1988; 4: 485 – 490 (in Russian).
40. Volkova L.I. Tick-borne Encephalitis in the middle Urals: clinical and epidemiological analysis of acute and chronic forms, improvement of special medical service in endemic territory; autoreferat of dissertation of doctor of medical sciences, Ekaterinburg. 2009 (in Russian).
41. Subbotin A.V., Semenov V.A., Smirnov V.D., Shcherbinina M.S., Pogodina V.V. A case of chronic TBE in vaccinated person. Epidemiologia i vaksino profilaktika. 2014; 3: 107 – 112 (in Russian).
42. Chumakov M.P., L'vov D.K., Sarmanova E.S., Naidich G.N., Chumak N.F. et al. Comparison study of epidemiological efficiency of «brain» and cultural vaccines against Tick-borne encephalitis. Voprosy virusologii. 1963; 3: 307 – 315 (in Russian).