
ОБЗОРЫ

© ЛАШКЕВИЧ В.А., КАРГАНОВА Г.Г., 2018
УДК 615.371:616.831=002=022:578.833.26].012.6

Лашкевич В.А., Карганова Г.Г.

О СОВРЕМЕННЫХ ПОДХОДАХ К СОЗДАНИЮ ОДНОРАЗОВОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

ФГБНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов
им. М.П. Чумакова РАН», 108819, г. Москва

В России ежегодно заболевают клещевым энцефалитом (КЭ) около 2 тыс. человек. Почти все они не были вакцинированы. Для профилактики КЭ используют инактивированные вакцины против КЭ (ИВКЭ). ИВКЭ безопасны и защищают от заболевания не менее 95% вакцинированных. Недостатками ИВКЭ являются необходимость многочисленных внутримышечных введений медицинскими работниками, высокая стоимость вакцинации и отказ населения от вакцинации. Новая вакцина против КЭ не должна уступать ИВКЭ по безопасности и эффективности, должна вызывать длительный иммунитет после однократного применения и, желательнее, быть эффективной после перорального введения. В настоящее время предложены генно-инженерные методы получения флавивирусов, дефектных по репликации (одноцикловых), которые могут быть основой для создания безопасных вакцин нового типа, сходных по многим характеристикам с классическими живыми вакцинами из аттенуированных штаммов вирусов. Возможность заражения человека КЭ алиментарным путем при употреблении молока естественно инфицированных животных, а также опыт применения экспериментальных живых вакцин против КЭ являются предпосылками для создания безопасной пероральной одноразовой вакцины против этого заболевания.

Ключевые слова: вирус клещевого энцефалита; вакцина против клещевого энцефалита.

Для цитирования: Лашкевич В.А., Карганова Г.Г. О современных подходах к созданию одноразовой вакцины против клещевого энцефалита. *Вопросы вирусологии*. 2018; 63(3): 101-105.
DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-3-101-105>

Lashkevich V.A., Karganova G.G.

ON MODERN APPROACHES TO CREATION OF A SINGLE-CYCLE VACCINE AGAINST TICK-BORNE ENCEPHALITIS

Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune and Biological Products of Russian Academy of Sciences, Moscow, 108819, Russian Federation

In Russia, about 2000 people get tick-borne encephalitis (TBE) every year. Almost none of them are vaccinated. For the prevention of TBE, inactivated vaccines (IVTBE) are used. IVTBE are safe and protect from TBE not less than 95% of vaccinated. The disadvantages of IVTBE are the need for numerous intramuscular injections by medical personnel, the high cost of vaccination and the vaccination refusals. A new vaccine against TBE should not be inferior to IVTBE in its safety and efficacy, should cause long-term immunity after a single application, and, preferably, be effective after oral administration. Currently, genetic engineering methods for producing replication-defective (single-cycle) flaviviruses that can serve as the basis for creating new types of safe vaccines similar in many characteristics to classic live vaccines based on attenuated strains of viruses have been proposed. The possibility of infecting humans with TBE by the use of milk of naturally infected animals, as well as the experience of using experimental live TBE vaccines, are prerequisites for the creation of a safe oral single-dose TBE vaccine.

Key words: review; tick-borne encephalitis; tick-borne encephalitis vaccine.

For citation: Lashkevich V.A., Karganova G.G. On modern approaches to creation of a single-cycle vaccine against tick-borne encephalitis. *Voprosy Virusologii (Problems of Virology, Russian journal)*. 2018; 63(3): 101-105. (In Russ.).
DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-3-101-105>

For correspondence: Galina G. Karganova, Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of Laboratory of biology of arboviruses, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and- Biological Products of Russian Academy of Sciences, Moscow, 108819, Russian Federation. E-mail: karganova@bk.ru

Information about authors:

Karganova G.G., <http://orcid.org/0000-0002-8901-6206>

Acknowledgment. This work was supported by the Russian Science Foundation (Grant No. 15-14-0004).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 10 December 2017
Accepted 12 December 2017

Для корреспонденции: Карганова Галина Григорьевна, д-р биол. наук, профессор, зав. лабораторией биологии арбовирусов ФГБНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН», 108819, г. Москва.
E-mail: karganova@bk.ru

Введение

Клещевой энцефалит (КЭ) является эндемичным для большинства стран Евразии. По оценочным данным, в мире ежегодно заболевают КЭ более 10 тыс. человек [1, 2]. Около 2–10% из них умирают, примерно треть переболевших имеют осложнения разной степени тяжести, в том числе инвалидность.

Санация природных очагов КЭ неосуществима и нецелесообразна. Возможности неспецифической профилактики для прерывания путей передачи вируса человеку очень ограничены. Вакцинация населения качественной и удобной для применения вакциной и просвещение населения об опасности КЭ и мерах профилактики являются главными условиями успешной борьбы с этой арбовирусной инфекцией.

В настоящее время для вакцинации населения используются инактивированные концентрированные очищенные вакцины против КЭ четырёх производителей для детей и взрослых [3, 4]. Большой опыт использования доказал их безопасность и высокую эффективность [1, 2, 5–9], хотя редкие случаи заболевания регистрируются и среди вакцинированных [10–12].

Главными недостатками инактивированных вакцин являются необходимость многочисленных внутримышечных прививок, которые проводятся только медицинскими работниками в соответствующих условиях, дороговизна каждого введения вакцины и отказ населения от прививок по разным причинам.

Ранее предпринимались многочисленные попытки разработать живую аттенуированную вакцину, которая была бы лишена этих недостатков [13–23]. Живая вакцина на основе вируса Лангат, разработанная А. Дубовым и соавт. [23–25], была использована для вакцинации более 600 тыс. людей и вызвала поствакцинальные осложнения с частотой 1 на 18 500 привитых, в том числе 1 летальный случай [23, 26]. Эта неудача практически остановила работы в этом направлении.

В последние годы разрабатываются новые подходы для получения более эффективной вакцины против КЭ, получены экспериментальные штаммы-кандидаты для такой вакцины, но их пригодность для вакцинации людей не изучена.

Заболееваемость КЭ в России и вакцинация

По данным Роспотребнадзора, КЭ в 2013–2016 гг. в России заболели соответственно 2225, 1969, 2300, 2020 человек [27]. Большинство заболевших не были вакцинированы. Тем не менее редкие случаи КЭ среди привитых регистрируются в регионах, где применяются вакцины разных производителей, и циркулируют разные подтипы вируса КЭ [6–7, 10–12, 28].

Оценка эффективности вакцинного препарата для арбовирусных инфекций достаточно сложна, поскольку зависит от многих факторов, в том числе активности очага, частоты нападения клещей на человека, плотности населения, свойств вируса и т. п. Наиболее достоверные данные можно получить на основании многолетних наблюдений в очагах, где вся территория является эндемичной, уровень вакцинации превышает 50% и проводится эпидемиологический анализ всех случаев заболевания. В свете этих требований наиболее показательны данные, полученные в Австрия [5, 8], где население прививается, в основном, вакциной на основе европейского штамма вируса КЭ, и данные для Свердловской области, где используются вакцины разных производителей на

основе дальневосточных и европейских штаммов вируса КЭ, а циркулирует преимущественно сибирский подтип вируса [6, 7]. Согласно эпидемиологическим данным, полученным в этих регионах, уровень эпидемиологической защиты от инактивированных КЭ-вакцин превышает 95% [5, 7].

Низкий уровень вакцинации против КЭ объясняется несколькими объективными и субъективными причинами. Главной объективной причиной является высокая стоимость вакцинации и большая группа риска. В РФ на территории, эндемичной по КЭ, проживает около 61 млн человек [29]. Если учесть высокую подвижность населения и количество людей, которые проживают на неэндемичной территории, но посещают регионы, где есть риск заражения, это число будет ещё больше. Первичный курс вакцинации и последующие ревакцинации через каждые 3 года являются непосильным бременем для здравоохранения. В настоящее время благодаря политике местных властей и надзору за этой проблемой со стороны РОСПОТРЕБНАДЗОРА практически во всех регионах уровень вакцинации повышается. Бесплатной вакцинацией охвачено детское население. Сокращение числа ревакцинаций позволило бы значительно продвигаться в решении этой проблемы.

Субъективными причинами недостаточного охвата населения вакцинацией против КЭ являются также высокая стоимость вакцины для индивидуального применения, нарушение схемы вакцинации из-за необходимости многократной иммунизации, антивакцинальные кампании и др.

Новые подходы к созданию вакцины для защиты против КЭ

Подъем заболеваемости КЭ в Европе и России в 90-е годы прошлого века привлёк внимание исследователей и производителей профилактических препаратов к созданию более эффективной вакцины против КЭ [30].

Новая вакцина не должна уступать современным препаратам по безопасности и иммуногенности и, кроме того, должна индуцировать длительный, возможно пожизненный противовирусный иммунитет после однократного применения и, желательно, быть эффективной после перорального введения.

Большим достоинством новой вакцины была бы её способность защищать от нескольких флавивирусов, поскольку в РФ существуют сочетанные очаги, где помимо вируса КЭ циркулируют вирусы Западного Нила, Повассан, омской геморрагической лихорадки и японского энцефалита. Дополнительные трудности в создании вакцины при наличии сочетанных очагов флавивирусных инфекций связаны с характерным для флавивирусов, особенно переносимых комарами, антителозависимым повышением тяжести инфекции.

Создание новой вакцины против КЭ проводилось и проводится в разных направлениях. Данный обзор не претендует на исчерпывающее описание исследований в этой области. Ниже приведены некоторые примеры, которые, на наш взгляд, дают представление об общих тенденциях и состоянии дел на данный момент:

– рекомбинантные вакцины, представляющие вирионные белки пре-M + E [31], фрагмент поверхностного гликопротеина E, иммобилизованный на декстрансульфате в сочетании с олигонуклеотидами CpG [32], или неструктурный белок NS1 [33, 34] в виде ДНК-вакцин или в составе разных векторов;

– субвирусные частицы, несущие вирусные глико-

протеины пре-М и Е, полученные в бактериальных системах [31], дрожжах [35] и клетках млекопитающих [36, 37];

– живые аттенуированные вакцины с мутациями в разных участках генома, в первую очередь в нетранслируемых областях или с делецией в белке нуклеокапсида С [38–41], а также полученные с помощью рандомизированного кодирования кодонов в сочетании с обратной генетикой без использования бактерий [42];

– флавиовирусные химеры, в которых в геноме одного вируса гены белков пре-М и Е заменены генами от другого вируса. Для получения вакцины, защищающей от КЭ, гены белков Е и пре-М вирусов КЭ или Лангат были вставлены в геном вируса денге-4 [43, 44];

– самореплицирующаяся неинфекционная РНК-вакцина [45, 46] – синтезированная *in vitro* инфекционная РНК, с которой транскрибируется инфекционная РНК *in vivo*, дефектная по репродукции за счёт протяжённой делеции в белке нуклеокапсида;

– вирусный антиген, полученный в растениях [47];

– вирус, аттенуированный путём введения в вирусный геном сайтов для тканеспецифических микро-РНК, что обеспечивает деградацию вирусной РНК в ЦНС и клетках членистоногих [48, 49];

– сочетание химеризации и протяжённой делеции в белке нуклеокапсида С, что в результате даёт дефектный вирус, способный только на один раунд репродукции в клетках [50].

В ряде случаев предлагаемые кандидаты были тестированы на лабораторных животных и показана их иммуногенность или протективность. В нескольких исследованиях были проведены эксперименты по оценке протективной активности новых препаратов в сравнении с существующими инактивированными вакцинами. В описанных исследованиях не изучалась длительность индуцируемого иммунного ответа, что реально должно было бы показать преимущества предлагаемой вакцины. Не описаны попытки сочетания нового препарата с инактивированной вакциной.

Эффективность однократной иммунизации в экспериментах на лабораторных мышах для защиты от дальневосточного подтипа вируса КЭ была показана для ДНК вакцины, несущей гены пре-М и Е [31], а также для самореплицирующейся неинфекционной РНК [46].

Одним из наиболее интересных вариантов представляется дефектный, способный только к одному раунду репродукции вирус. В 2006 г. были предложены конструкции на основе вакцинного штамма вируса желтой лихорадки и вируса Западного Нила с делецией в белке нуклеокапсида С и, соответственно, дефектные по размножению [51]. В эти конструкции можно вставить белки пре-М и Е других флавиовирусов и не только флавиовирусов. При репродукции таких псевдоинфекционных вирусных частиц синтезируются иммуногенные не имеющие генома субвирусные частицы. Псевдоинфекционные частицы могут быть получены при репродукции в генномодифицированных клетках, экспрессирующих белок С. Вакцинный вариант для защиты от КЭ был создан, и проведены эксперименты на лабораторных мышах и обезьянах [50], результаты которых внушают надежду на получение однократной инъекционной вакцины против КЭ.

Предпосылки для разработки пероральной вакцины против КЭ

Человек может заразиться КЭ при употреблении не-

кипяченого молока инфицированных животных [52]. До настоящего времени публикуются новые сообщения о пероральных заражениях КЭ [53–54]. Ранее было показано, что во время клинических испытаний живых аттенуированных кандидатов в вакцины против КЭ при пероральном применении наблюдается индукция противовирусного иммунного ответа [15, 21, 23]. Эти факты, а также большие достижения в создании новых лекарственных форм являются предпосылкой для разработки пероральной вакцины против КЭ.

Заключение

Недостатки инактивированных КЭ-вакцин не исчезнут. Разработка однократной пероральной вакцины против КЭ, дающей иммунитет на всю жизнь, является насущной задачей. Если в ходе дальнейших исследований удастся получить безопасную вакцину против КЭ, эффективную при однократном применении, это будет важным достижением современной вакцинологии.

Финансирование. Работа была поддержана грантом РФФИ 15-14-0004.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1, 2, 4, 5, 8-11, 13, 16, 17, 20, 28, 30-51, 53, 54 см. REFERENCES)

- Воробьева М.С. Современная стратегия вакцинопрофилактики клещевого энцефалита. *Медицинская вирусология*. 2009; 26: 73-4.
- Романенко В.В., Есюнина М.С., Килячина А.С., Пименова Т.А. Массовая иммунизация населения Свердловской области против клещевого энцефалита, ее эпидемиологическая, клиническая и иммунологическая эффективность. *Медицинская вирусология*. 2006; 23: 116-25.
- Романенко В.В., Есюнина М.С., Килячина А.С. Опыт реализации программы массовой иммунизации против клещевого энцефалита в Свердловской области. *Вопросы вирусологии*. 2007; 52(6): 22-5.
- Погодина В.В., Лучинина С.В., Степанова О.Н., Стенько Е.А., Горфинкель А.Н., Кармышева В.Я. и др. Необычный случай летального исхода клещевого энцефалита у пациента, привитого вакцинами разных генотипов (Челябинская область). *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2015; 20(1): 56-64.
- Ильенко В.И., Платонов В.Г., Прозорова И.Н., Смородинцев А.А. Опыт изучения живой вакцины из малайского вируса штамма Лангат TP-21. *Бюллетень ВОЗ*. 1968; 39(3): 425-31.
- Аджапаридзе О.Г., Степанова Л.Г. Изучение изменчивости вируса клещевого энцефалита. Сообщение 7. Реактогенные и иммуногенные свойства аттенуированного штамма И-40 Д при пероральной вакцинации добровольцев. *Вопросы вирусологии*. 1970; 15(4): 428-32.
- Ерофеев В.С., Карпов С.П., Куликова Н.Н. Иммунобиологическая характеристика вакцины клещевого энцефалита, приготовленной из аттенуированного вируса. В кн.: *Труды Томского НИИ Вакцин и сывороток и Томского медицинского института*. 1976; 26: 229-35.
- Левкович Е.Н., Карпович Л.Г., Засухина Г.Д. Генетика и эволюция арбовирусов. М.: Медицина; 1971.
- Ильенко В.И., Платонов В.Г., Прозорова И.Н., Смородинцев А.А. К вопросу о возможности приготовления живой вакцины против клещевого энцефалита из малайского вируса штамма Лангат TP-21. В кн.: *Клещевой энцефалит*. СПб.: 1989: 126-32.
- Соколова Е.Д., Камалов И.И., Коновалов Г.В., Вейгман Н.З. Нейровирулентность вариантов вируса Лангат TP-21 в опытах на низших обезьянах разных видов. *Вопросы вирусологии*. 1994; 39(2): 116-9.

23. Смородинцев А.А., Дубов А.В. *Клещевой энцефалит и его вакцинопрофилактика*. Ленинград: Медицина; 1986.
24. Дубов А., Горожанкина Т.С., Иванова Л.М., Молотиллов Б.А., Костылев С.Г., Губина С.В. и др. Результаты испытания живой вакцины против клещевого энцефалита в расширенном эпизодемиологическом опыте. В кн.: *Опыт применения живой вакцины против клещевого энцефалита*. Тюмень; 1971: 11-7.
25. Дубов А.В., Горожанкина Т.С., Смородинцев А.А. Основные биологические свойства вакцинного штамма Еланцев вируса клещевого энцефалита. Живая вакцина против клещевого энцефалита. В кн.: *Труды Тюменского НИИ краевой инфекционной патологии*. 1969; (3): 16-26.
26. Шаповал А.Н., Камалов И.И., Денисова Е.Ю., Соколова Е.Д., Лузин П.М., Шамарина А.Г. и др. Изучение отдаленных последствий иммунизации людей живой вакциной против клещевого энцефалита. В кн.: *«Клещевой энцефалит»*. СПб.: 1989: 133-5.
27. Роспотребнадзор. Инфекционная заболеваемость в Российской Федерации за 2013-2016 гг. по данным Формы № 1 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях». Available at: <http://gospotrebnadzor.ru/activities/statistical-materials/>
29. Чернохаева Л.Л., Холодилов И.С., Пакскина Н.Д. Современный ареал клещевого энцефалита в Российской Федерации. *Медицинская вирусология*. 2016; 30(1): 6-22.
52. Верета Л.А., Скоробрехова В.З., Николаева С.П., Александров В.И., Толстоногова В.И., Захарычева Т.А. и др. Заражение вирусом клещевого энцефалита через коровье молоко. *Медицинская паразитология*. 1981; 31: 54-6.

REFERENCES

1. World Health Organization. Vaccines against tick-borne encephalitis: WHO position paper. *WER*. 2011; 24(86): 241-56.
2. Amicizia D., Domnich A., Panatto D., Lai P.L., Cristina M.L., Avio U., et al. Epidemiology of tick-borne encephalitis (TBE) in Europe and its prevention by available vaccines. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2013; 9(5): 1163-71.
3. Vorob'eva M.S. Modern strategy of tick-borne encephalitis vaccinal prevention. *Meditsinskaya virusologiya*. 2009; 26: 73-4. (in Russian)
4. Heinz F.X., Stiasny K. Flaviviruses and flavivirus vaccines. *Vaccine*. 2012; 30(29): 4301-6.
5. Kunz C. TBE vaccination and the Austrian experience. *Vaccine*. 2003; 21(Suppl. 21): 50-5.
6. Romanenko V.V., Eshunina M.S., Kilyachina A.S., Pimenova T.A. Mass immunization Sverdlovsk region population against tick-borne encephalitis, epidemiological, clinical and immunological effectiveness of vaccination. *Meditsinskaya virusologiya*. 2006; 23: 116-25. (in Russian)
7. Romanenko V.V., Eshunina M.S., Kilyachina A.S. Experience in implementing the mass immunization program against tick-borne encephalitis in the Sverdlovsk Region. *Voprosy virusologii*. 2007; 52(6): 22-5. (in Russian)
8. Kunze U., Böhm G. Tick-borne encephalitis (TBE) and TBE-vaccination in Austria: Update 2014. *Wiener Medizinische Wochenschrift*. 2015; 165(13-14): 290-5. (in German)
9. Domnich A., Panatto D., Arbutova E.K., Signori A., Avio U., Gasparini R., et al. Immunogenicity against Far Eastern and Siberian subtypes of tick-borne encephalitis (TBE) virus elicited by the currently available vaccines based on European subtype: Systematic review and meta-analysis. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2014; 10(10): 2818-33.
10. Andersson C.R., Vene S., Insulander M., Lindquist L., Lundkvist A., Günther G. Vaccine failures after active immunization against tick-borne encephalitis. *Vaccine*. 2010; 28(16): 2827-31.
11. Bender A., Jager G., Scheuerer W., Feddersen B., Kaiser R., Pfister H.W. Two severe cases of tick-borne encephalitis despite complete active vaccination — the significance of neutralizing antibodies. *J. Neurol.* 2004; 251(3): 353-4.
12. Pogodina V.V., Luchinina S.V., Stepanova O.N., Sten'ko E.A., Gorfinkel' A.N., Karmysheva V.Ya., et al. Unusual case of lethal tick-borne encephalitis in patient vaccinated with vaccines produced from different viruses strains (the Chelyabinsk Region). *Epidemiologiya i infektionnye bolezni*. 2015; 20(1): 56-64. (in Russian)
13. Timofeev A.V., Karganova G.G. *Tick-borne Encephalitis Vaccine: From Past to Future*. Moscow; 2003.
14. Il'enko V.I., Platonov V.G., Prozorova I.N., Smorodintsev A.A. Experience in the study of a live vaccine made from the TP-21 strain of Malayan Langat virus. *Bull. World Health Organ.* 1968; 39(3): 425-31.
15. Adzhapardize O.G., Stepanova L.G. Study of the variability of tick-borne encephalitis virus. Communication 7. Reactogenic and immunogenic properties of the attenuated strain I-40 D for oral vaccination of volunteers. *Voprosy virusologii*. 1970; 15(4): 428-32. (in Russian)
16. Mayer V., Rajcáni J. Study of the virulence of tick-borne encephalitis virus. VI. Intracerebral infection of monkeys with clones experimentally attenuated virus. *Acta Virol.* 1967; 11(4): 321-3.
17. Price W.H., Thind I.S., Teasdall R.D., O'Leary W. Vaccination of human volunteers against Russian spring-summer (RSS) virus complex with attenuated Langat E5 virus. *Bull. World Health Organ.* 1970; 42(1): 89-94.
18. Erofeev V.S., Karpov S.P., Kulikova N.N. Immunobiological characteristics of tick-borne encephalitis vaccine prepared from an attenuated virus. In: *Proceedings of the Tomsk Scientific Research Institute of Vaccines and Serums and Tomsk Medical Institute [Trudy Tomskogo NII Vaksin i syvorotok i Tomskogo meditsinskogo instituta]*. 1976; 26: 229-35. (in Russian)
19. Levkovich E.N., Karpovich L.G., Zasukhina G.D. *Genetics and the Evolution of Arboviruses [Genetika i evolyutsiya arbovirusov]*. Moscow: Meditsina; 1971. (in Russian)
20. Mayer V., Pogády J., Starek M., Hrbka J. A live vaccine against tick-borne encephalitis: integrated studies. III. Response of man to a single dose of the E5 "14" clone (Langat virus). *Acta Virol.* 1975; 19(3): 229-36.
21. Il'enko V.I., Platonov V.G., Prozorova I.N., Smorodintsev A.A. Experience in studying live vaccine from Malay virus strain Langat TR-21. In: *Tick-borne Encephalitis [Kleshchevoy entsefalit]*. St. Petersburg; 1989: 126-32. (in Russian)
22. Sokolova E.D., Kamalov I.I., Konovalov G.V., Veygman N.Z. The neurovirulence of variants of the Langat TP-21 virus in experiments on different species of lower monkeys. *Voprosy virusologii*. 1994; 39(2): 116-9. (in Russian)
23. Smorodintsev A.A., Dubov A.V. *Tick-borne Encephalitis and Its Vaccine Prophylaxis [Kleshchevoy entsefalit i ego vaksino profilaktika]*. Leningrad: Meditsina; 1986. (in Russian)
24. Dubov A., Gorozhankina T.S., Ivanova L.M., Molotilov B.A., Kostylev S.G., Gubina S.V., et al. The results of testing live vaccine against tick-borne encephalitis in the expanded epidemiological experience. In: *The Experience of Using Live Vaccine Against Tick-borne Encephalitis [Opyt primeneniya zhivoy vaksiny protiv kleshchevogo entsefalita]*. Tyumen'; 1971: 11-7. (in Russian)
25. Dubov A.V., Gorozhankina T.S., Smorodintsev A.A. The main biological properties of the vaccine strain of Elantcev of tick-borne encephalitis virus. Live vaccine against tick-borne encephalitis. In: *Proceedings of Tyumen Research Institute of Regional Infectious Pathology [Trudy Tyumenskogo NII kraevoy infektionnoy patologii]*. 1969; (3): 16-26. (in Russian)
26. Shapoval A.N., Kamalov I.I., Denisova E.Yu., Sokolova E.D., Luzin P.M., Shamarina A.G., et al. Study of the long-term consequences of immunization of people with live vaccine against tick-borne encephalitis. In: *Tick-borne Encephalitis [Kleshchevoy entsefalit]*. St. Petersburg; 1989: 133-5. (in Russian)
27. Роспотребнадзор (Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare). Infectious morbidity in the Russian Federation for 2013-2016. according to Form No. 1 "Information on infectious and parasitic diseases". Available at: <http://rospotrebnadzor.ru/activities/statistical-materials/> (in Russian)
28. Grgič-Vitek M., Avšič-Županc T., Klavs I. Tick-borne encephalitis after vaccination: vaccine failure or misdiagnosis. *Vaccine*. 2010; 28(46): 7396-400.
29. Chernokhaeva L.L., Kholodilov I.S., Paksina N.D. Present

- distribution area of tick-borne encephalitis in the Russian Federation. *Meditsinskaya virusologiya*. 2016; 30(1): 6-22. (in Russian)
30. Pugachev K.V., Guirakhoo F., Trent D.W., Monath T.P. Traditional and novel approaches to flavivirus vaccines. *Int. J. Parasitol.* 2003; 33(5-6): 567-82.
 31. Omori-Urabe Y., Yoshii K., Ikawa-Yoshida A., Kariwa H., Takashima I. Needle-free jet injection of DNA and protein vaccine of the far-eastern subtype of tick-borne encephalitis virus induces protective immunity in mice. *Microbiol. Immunol.* 2011; 55(12): 893-7.
 32. Ershova A.S., Gra O.A., Lyaschuk A.M., Grunina T.M., Tkachuk A.P., Bartov M.S., et al. Recombinant domains III of Tick-Borne Encephalitis Virus envelope protein in combination with dextran and CpGs induce immune response and partial protectiveness against TBE virus infection in mice. *BMC Infect. Dis.* 2016; 16(1): 544.
 33. Aleshin S.E., Timofeev A.V., Khoretonenko M.V., Zakharova L.G., Pashvykina G.V., Stephenson J.R., et al. Combined primeboost vaccination against tick-borne encephalitis (TBE) using a recombinant vaccinia virus and a bacterial plasmid both expressing TBE virus non-structural NS1 protein. *BMC Microbiol.* 2005; 5: 45.
 34. Kuzmenko Y., Starodubova E., Shevtsova A., Chernokhaeva L., Latanova A., Preobrazhenskaia O., et al. Intracellular degradation and localization of NS1 of TBEV affects its protective properties. *J. Gen. Virol.* 2017; 98(1): 50-5.
 35. Yun S.M., Jeong Y.E., Wang E., Lee Y.J., Han M.G., Park C., et al. Cloning and Expression of Recombinant Tick-Borne Encephalitis Virus-like Particles in *Pichia pastoris*. *Osong. Public Health Res. Perspect.* 2014; 5(5): 274-8.
 36. Yoshii K., Hayasaka D., Goto A., Kawakami K., Kariwa H., Takashima I. Packaging the replicon RNA of the Far-Eastern subtype of tick-borne encephalitis virus into single-round infectious particles: development of a heterologous gene delivery system. *Vaccine.* 2005; 23(30): 3946-56.
 37. Gehrke R., Ecker M., Aberle S.W., Allison S.L., Heinz F.X., Mandl C.W. Incorporation of tick-borne encephalitis virus replicons into virus-like particles by a packaging cell line. *J. Virol.* 2003; 77(16): 8924-33.
 38. Mandl C.W., Allison S.L., Holzmann H., Meixner T., Heinz F.X. Attenuation of tick-borne encephalitis virus by structure-based site-specific mutagenesis of a putative flavivirus receptor binding site. *J. Virol.* 2000; 74(20): 9601-9.
 39. Pletnev A.G. Infectious cDNA clone of attenuated Langat tick-borne flavivirus (strain E5) and a 3' deletion mutant constructed from it exhibit decreased neuroinvasiveness in immunodeficient mice. *Virology.* 2001; 282(2): 288-300.
 40. Kofler R.M., Heinz F.X., Mandl C.W. Capsid protein C of tick-borne encephalitis virus tolerates large internal deletions and is a favorable target for attenuation of virulence. *J. Virol.* 2002; 76(7): 3534-43.
 41. Engel A.R., Rummyantsev A.A., Maximova O.A., Speicher J.M., Heiss B., Murphy B.R., et al. The neurovirulence and neuroinvasiveness of chimeric tick-borne encephalitis/dengue virus can be attenuated by introducing defined mutations into the envelope and NS5 protein genes and the 3' non-coding region of the genome. *Virology.* 2010; 405(1): 243-52.
 42. Fabritius L., Nougairède A., Aubry F., Gould E.A., de Lamballerie X. Utilisation of ISA reverse genetics and large-scale random codon re-encoding to produce attenuated strains of tick-borne encephalitis virus within days. *PLoS ONE.* 2016; 11(8): e0159564.
 43. Pletnev A.G., Bray M., Hanley K.A., Speicher J., Elkins R. Tick-borne Langat/mosquito-borne dengue flavivirus chimera, a candidate live attenuated vaccine for protection against disease caused by members of the tick-borne encephalitis virus complex: evaluation in rhesus monkeys and in mosquitoes. *J. Virol.* 2001; 75(17): 8259-67.
 44. Rummyantsev A.A., Chanock R.M., Murphy B.R., Pletnev A.G. Comparison of live and inactivated tick-borne encephalitis virus vaccines for safety, immunogenicity and efficacy in rhesus monkeys. *Vaccine.* 2006; 24(2): 133-43.
 45. Kofler R.M., Aberle J.H., Aberle S.W., Allison S.L., Heinz F.X., Mandl C.W. Mimicking live flavivirus immunization with a noninfectious RNA vaccine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004; 101(7): 1951-6.
 46. Aberle J.H., Aberle S.W., Kofler R.M., Mandl C.W. Humoral and cellular immune response to RNA immunization with flavivirus replicons derived from tick-borne encephalitis virus. *J. Virol.* 2005; 79(24): 15107-13.
 47. Martínez C.A., Giulietti A.M., Talou J.R. Research advances in plant-made flavivirus antigens. *Biotechnol. Adv.* 2012; 30(6): 1493-505.
 48. Heiss B.L., Maximova O.A., Thach D.C., Speicher J.M., Pletnev A.G. MicroRNA targeting of neurotropic flavivirus: effective control of virus escape and reversion to neurovirulent phenotype. *J. Virol.* 2012; 86(10): 5647-59.
 49. Tsetsarkin K.A., Liu G., Volkova E., Pletnev A.G. Synergistic Internal Ribosome Entry Site/MicroRNA-Based Approach for Flavivirus Attenuation and Live Vaccine Development. *MBio.* 2017; 8(2): e02326-16.
 50. Rummyantsev A.A., Goncalvez A.P., Giel-Moloney M., Catalan J., Liu Y., Gao Q., et al. Single dose-vaccine against tick-borne encephalitis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2013; 110(32): 13103-8.
 51. Mason P.W., Shustov A.V., Frolov I. Production and characterization of vaccines based on flaviviruses defective in replication. *Virology.* 2006; 351(2): 432-43.
 52. Vereta L.A., Skorobrekhova V.Z., Nikolaeva S.P., Aleksandrov V.I., Tolstogonova V.I., Zakharycheva T.A., et al. Infection with tick-borne encephalitis virus through cow's milk. *Meditsinskaya parazitologiya.* 1981; 31: 54-6. (in Russian)
 53. Kriz B., Benes C., Daniel M. Alimentary transmission of tick-borne encephalitis in the Czech Republic (1997-2008). *Epidemiol. Microbiol. Immunol.* 2009; 58(2): 98-103.
 54. Hudopisk N., Korva M., Janet E., Simetinger M., Grgič-Vitek M., Gubenšek J., et al. Tick-borne encephalitis associated with consumption of raw goat milk, Slovenia, 2012. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19(5): 806-8.

Поступила 10.12.17

Принята в печать 12.12.17