

# Эволюция средств и принципов оспопрививания

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

УДК 614.2:616.912-085.371

<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2020-4-1-66-85>

С.В. Борисевич<sup>1</sup>, В.Н. Подкуйко<sup>1</sup>, А.П. Пирожков<sup>1</sup>, А.И. Тереньтев<sup>1</sup>,  
В.П. Краснянский<sup>1</sup>, Е.В. Рождественский<sup>1</sup>, С.В. Назаров<sup>1</sup>, С.Л. Кузнецов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«48 Центральный научно-исследовательский институт»  
Министерства обороны Российской Федерации,  
141306, Московская область, г. Сергиев Посад-6, ул. Октябрьская, д. 11

<sup>2</sup>Управление начальника войск радиационной, химической и биологической защиты  
Вооруженных Сил Российской Федерации, 119160, Москва, Фрунзенская наб., д. 22/2

Поступила 10.09.2019 г. Принята к публикации 29.03.2020 г.

Существуют несколько возможных причин возврата натуральной оспы как эндемического заболевания. Например, возможность сохранения вируса натуральной оспы в активном состоянии в трупах больных, захороненных в районах вечной мерзлоты или эволюционные изменения ортопоксвирусов с появлением более вирулентных штаммов. С момента ликвидации натуральной оспы изменились требования к оспенным вакцинам, что привело к смене принципов оспопрививания. Цель исследования – изучение эволюции средств и принципов оспопрививания для определения дальнейшего направления совершенствования противооспепных средств иммунопрофилактики. Всего за весь более чем 200-летний период использования человечеством активной иммунопрофилактики ортопоксвирусных инфекций было разработано четыре поколения вакцинных препаратов. Первое – дермовакцины, представляющие собой вирусодержащий детрит кожи телят. Второе – в качестве субстрата накопления вируса использовались культуры клеток или куриных эмбрионов. Третье – вакцины, полученные на основе аттенуированных различными способами штаммов вируса вакцины. Четвертое – ДНК-вакцины и субъединичные рекомбинантные вакцины. Среди современных принципов оспопрививания доминирует безопасность (ограничение применения вакцин первого и второго поколений, разработка следующих поколений вакцин, средств и схем безопасного оспопрививания) при сохранении требований эффективности, равной апробированным вакцинам. Замена эпидемически апробированных вакцин препаратами третьего и четвертого поколений обусловила необходимость сравнительной оценки защитной эффективности и безопасности разрабатываемых вакцин. Целесообразно проведение двухэтапного оспопрививания с использованием на первом этапе инактивированных или новых безопасных нереплицирующихся вакцин третьего или четвертого поколений.

**Ключевые слова:** аттенуированные и рекомбинантные штаммы; вакцинация; вирус вакцины; орто-поксвирусы; оспенная вакцина; оспопрививание; противооспенная иммунизация.

**Библиографическое описание:** Борисевич С.В., Подкуйко В.Н., Пирожков А.П., Тереньтев А.И., Краснянский В.П., Рождественский Е.В., Назаров С.В., Кузнецов С.Л. Эволюция средств и принципов оспопрививания // Вестник войск РХБ защиты. 2020. Т. 4. № 1. С. 66–85. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2020-4-1-66-85>

Натуральная оспа является одной из древнейших инфекционных болезней человека, которая оставила в истории человечества печальную память о себе многочисленными жертвами. Летальность при натуральной оспе, вызываемой изолятами вируса *variola major*, в

условиях отсутствия поствакцинального иммунитета составляла от 20 до 40 %, что, в совокупности с высокой контагиозностью и восприимчивостью человека, приводило к очень большому количеству погибших. Выжившие после натуральной оспы люди практически всегда имели на

коже многочисленные рубцы, могли частично или полностью потерять зрение [1–4].

В настоящее время натуральная оспа является единственной инфекционной болезнью человека, которая была полностью ликвидирована во всем мире путем проведения всеобщей кампании массовой вакцинации населения. Прекращение оспопрививания в 1980 г. привело к тому, что у следующих поколений людей иммунитет против ортопоксвирусов отсутствует, а люди старшего возраста имеют низкий остаточный иммунитет. Следовательно, население, при отсутствии оспопрививания, стало чувствительным к патогенным для человека ортопоксвирусам, о чем свидетельствует появление многочисленных вспышек среди людей оспы обезьян и оспы буйволов [5–9]. Озабоченность специалистов вызывает также вопрос о возможности как случайного, так и искусственного возврата вируса натуральной оспы, источником которого могут быть нелегальные лаборатории на территории некоторых стран или тела людей, погибших от натуральной оспы и захороненных в зоне вечной мерзлоты. Поэтому, несмотря на полную ликвидацию натуральной оспы, разработка средств защиты против данного заболевания и поддержание их запаса является одной из актуальных задач [1, 10, 11].

Общепризнанным является тот факт, что в течение двух веков основным эффективным средством борьбы с натуральной оспой и родственными ей заболеваниями остается противооспенная вакцинация, а в течение 4 тысячелетий – оспопрививание<sup>1</sup>. Понимая опасность, которая стоит за натуральной оспой, специалисты в области вакцинологии до настоящего времени активно применяют термин оспопрививание (отдавая дань уважения этой грозной инфекции)<sup>2</sup>. За этот период требования к проведению вакцинации и сами средства оспопрививания претерпели значительные изменения. Учитывая необходимость дальнейшего совершенствования способов и средств защиты от ортопоксвирусных инфекций, представляется целесообразным провести анализ эволюции принципиальных подходов, способов и средств проведения противооспенной иммунизации.

*Цель исследования* – изучение эволюции средств и принципов оспопрививания для определения дальнейшего направления совершенствования противооспенных средств иммунопрофилактики.



**Рисунок 1 – Вирионы вируса натуральной оспы (электронная микроскопия, увел. 370000)<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> URL: [https://ru.wikipedia.org/wiki/Натуральная\\_оспа](https://ru.wikipedia.org/wiki/Натуральная_оспа) (дата обращения: 03.04.2019).

#### **Этиология, происхождение и распространение натуральной оспы**

Возбудитель натуральной оспы (*variola virus*), согласно международному комитету по таксономии вирусов, относится к семейству *Poxviridae*, подсемейству *Chordopoxviridae* и роду *Orthopoxvirus*<sup>3</sup>. Филогенетически различают два класта вируса натуральной оспы – *variola major* и *variola minor*. В первую группу входят штаммы, вызывающие непосредственно классическую форму натуральной оспы, а во вторую – штаммы, вызывающие клинически более мягкую форму заболевания с летальностью около 1 % (аластрим). Считалось, что разделение *variola virus* на два класта произошло приблизительно между XV в. до н.э. и VII в. н.э. [10, 12–14], но последние данные указывают на более поздний период – между IX и XV веками н.э. [15, 16]. Все поксвирусы являются крупными ДНК-содержащими возбудителями. Размеры поксвирусов позволили выявить возбудитель методом световой микроскопии уже в 1886 г. английским исследователем Д. Бьюстом. Однако свое название элементарные тельца (вирионы вируса натуральной оспы), выявляемые с помощью микроскопии в материале из pustul больных натуральной оспой, получили в честь немецкого ученого Э. Пашена, который опубликовал свою работу в 1906 г. [2]. Вирионы возбудителя натуральной оспы представляют собой кирпичеобразные частицы размером 250–300×200×250 нм (рисунок 1).

<sup>1</sup> Оспопрививание – общепринятый термин, означающий активную иммунизацию против натуральной оспы с использованием оспенной вакцины, широко применяется для защиты от ортопоксвирусных инфекций уже более 200 лет.

<sup>2</sup> МУ 3.3.1.2044-06 Проведение вакцинопрофилактики натуральной оспы. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2006.

<sup>3</sup> Virus taxonomy: The classification and nomenclature of viruses. Ninth Report of the International Committee on taxonomy of viruses. 2012.



**Рисунок 2 – Натуральная оспа в стадии пустул<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> URL: [https://ru.wikipedia.org/wiki/Натуральная\\_оспа](https://ru.wikipedia.org/wiki/Натуральная_оспа) (дата обращения: 03.04.2019).

Вирус натуральной оспы вызывает крайне опасное заболевание, характеризующееся в типичных случаях тяжелым течением, интоксикацией, лихорадкой и характерной сыпью на коже и слизистых, последовательно проходящих стадии пятна, папулы, пузырька, пустулы, корочки и рубца [4, 15–17] (рисунок 2).

Натуральная оспа является строгой антропонозной инфекцией. Основным путем передачи – воздушно-капельный, но возможно также заражение воздушно-пылевым путем при соприкосновении с пораженной кожей больного или инфицированными предметами.

Происхождение вируса натуральной оспы остается неизвестным. Предполагали, что возбудитель натуральной оспы произошел от вируса оспы коров, обезьян или грызунов [12–14], но в настоящее время существует другая гипотеза, которая получила экспериментальное подтверждение методом филогенетического анализа наиболее консервативных генов ортопоксвирусов. Согласно последней, вирус натуральной оспы наиболее близок к вирусу оспы верблюдов и, возможно, данные вирусы имели общего предшественника с более широким кругом хозяев. Сравнение генома вируса натуральной оспы с геномами наиболее близкородственных ортопоксвирусов и изучение ареалов обитания их естественных хозяев позволяют предположить, что

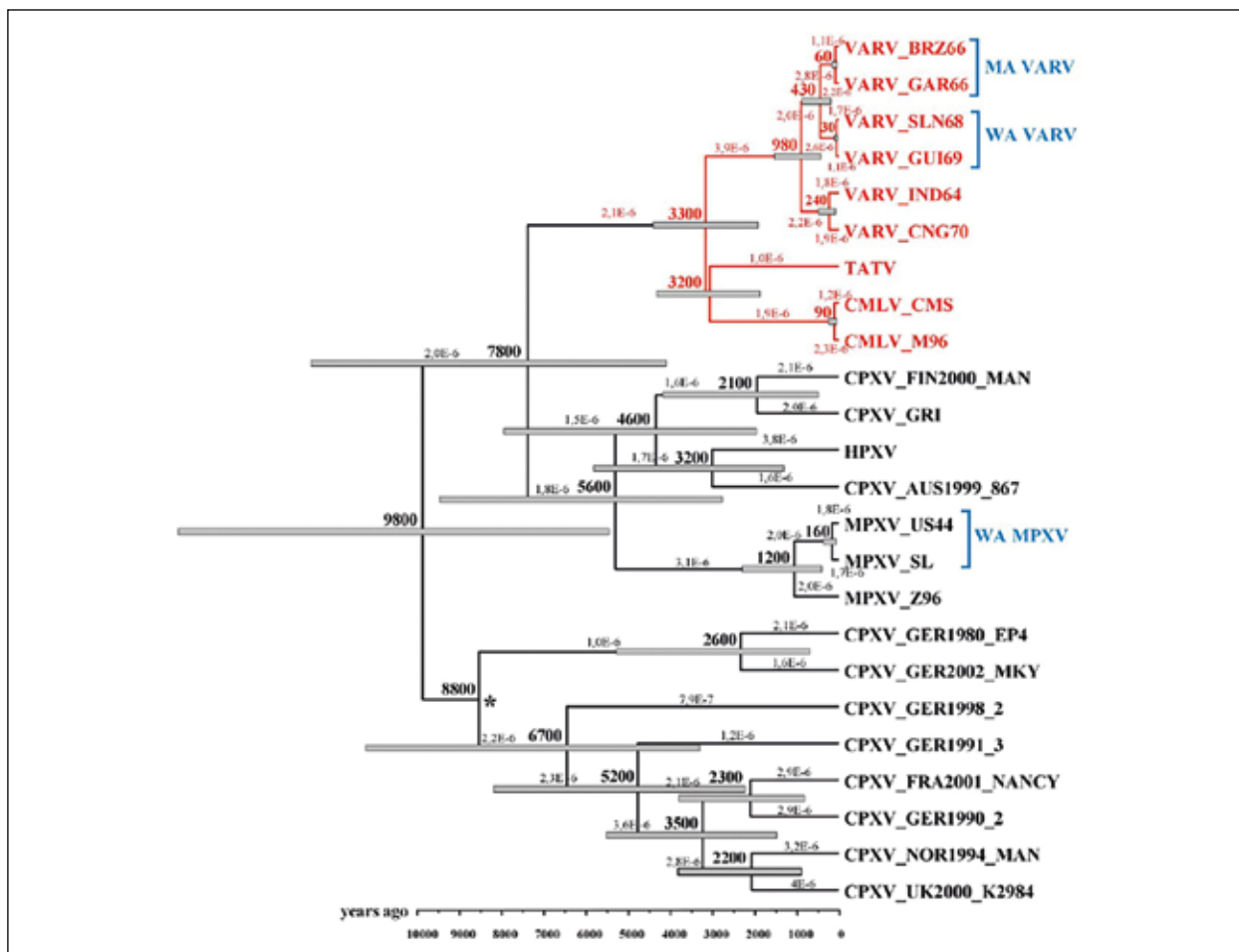
натуральная оспа возникла 3000–4000 лет назад на востоке Африканского континента. Предположительно, появление верблюдов в Африке и сопутствующие изменения климата были факторами, которые вызвали эволюционные изменения вируса предшественника, что привело к появлению вируса натуральной оспы [18, 19].

Так или иначе, выйдя из первичных очагов, натуральная оспа начала распространяться по всему миру. Первые письменные упоминания о масштабной эпидемии натуральной оспы в Китае относятся к IV в., откуда возбудитель распространился в Корею и Японию. В последней стране только за один 737 г. умерло более 30 % населения, при этом в густонаселенных городах уровень смертности доходил до 70 %. В Европе первое достоверное указание о натуральной оспе датировано 514 г. во Франции. В России, согласно летописям, эпидемия натуральной оспы поразила многие города в 1426–1427 гг. В начале XVI в. оспа была завезена испанцами в Центральную Америку, что вызвало широкое распространение заболевания. Имеются сведения, что в 1520 г. в Мексике от натуральной оспы погибло более 3,5 млн человек. В Бразилии эпидемия натуральной оспы была отмечена впервые в 1563 г. В начале XVII в. натуральная оспа проникла в Северную Америку. В Австралию инфекция была завезена, по-видимому, в конце XVIII в., поскольку в 1789 г. эпидемии уже отмечались среди аборигенов этого континента [12, 14, 17].

#### **Вариоляция**

В XVIII в. распространение натуральной оспы в Европе достигло своего наивысшего расцвета. Предположительно, за этот период умерли от данной инфекции более 3,6 млн человек. С целью борьбы с натуральной оспой, начиная с XVII в., предпринимался ряд мероприятий (изоляция больных, быстрое погребение трупов, дезинфекция жилищ, где находились больные, создание карантинных и кордонов), которые проводились ранее при эпидемиях чумы. Отсутствие заметного эффекта и почти полная безуспешность этих мер заставляли искать другие методы борьбы с этой инфекцией. В XVIII в. в Европе стали использовать вариоляцию, которая издавна практиковалась в Индии и Китае. Она представляла собой искусственное заражение натуральной оспой путем нанесения на скарифицированную кожу здорового человека гнойного материала из созревших пустул больного нетяжелой формой заболевания. Известно, что в Китае и других странах Азии процедура вариоляции имела существенные отличия. Гнойное отделяемое кожных пустул больных натуральной оспы высушивали и измельчали. Затем полученный порошок вдвухли через трубку в носовые ходы





**Рисунок 3 – Филогенетическое дерево ортопоксвирусов [19]**

(серые полосы представляют доверительный интервал  $I_{95}$ ; скорость накопления мутаций показана на соответствующей ветви; числа на разветвлениях указывают количество лет до расхождения с последним общим предком; VARV – вирус натуральной оспы; TATV – татера-поксвирус; CMLV – вирус верблюжьей оспы; CPXV – вирус коровьей оспы; HPXV – вирус оспы лошадей; MPXV – вирус оспы обезьян; MA VARV – штаммы аластрима натуральной оспы *variola minor*; WA VARV – штаммы вируса натуральной оспы *variola major*; WA MPXV – штаммы вируса оспы Западной Африки)

человека, у которого после легкой формы заболевания вырабатывался иммунитет к инфекции (рисунок 4).

В России первая вариоляция была проведена в 1768 г. специально приглашенным английским врачом Т. Димсдейлом. Среди первых привитых была сама императрица Екатерина II, которая таким образом подала личный пример своим подданным [20].

Вариоляция, однако, не оказала никакого влияния на уровень заболеваемости и смертности при натуральной оспе. К тому же вариоляция была небезопасна и иногда сопровождалась летальностью до 10–15 %, хотя обычно составляла 1–2 %. Так как натуральная оспа приводила к смертности в 10–20 раз больше, то вариоляция сначала пользовалась широкой популярностью. Однако она иногда способствовала распространению инфекции и не всегда предохраняла пере-

несших ее от последующего заражения. Поэтому постепенно вариоляция вышла из употребления. Во Франции вариоляция была запрещена в 1762 г., а в Англии – в 1840 г. Одной из причин послужило исследование смертности больных натуральной оспой в Лондоне за 40-летний период с начала вариоляции. Было установлено, что по сравнению с таким же периодом до введения вариоляции уровень летальности среди больных стал даже выше. Нельзя, однако, отрицать, что вариоляция, с одной стороны, была единственным, хотя и небезопасным методом предупреждения заболевания натуральной оспой, а с другой – она подготовила почву для вакцинации [4, 15, 16].

#### Вакцинация

Решающим, поворотным пунктом в борьбе с натуральной оспой явилась вакцинация, открытая в 1796 г. английским врачом Эдвардом



**Рисунок 4 – Процедура вариоляции в древнем Китае<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> URL: <https://www.labroots.com/trending/microbiology/4928/variolation-vaccination> (дата обращения: 03.04.2019)

Дженнером (англ. Edward Anthony Jenner; 1749–1823), которая основывалась на многолетних наблюдениях о том, что человек, переболевший оспой коров, является невосприимчивым к этой инфекции. Вакцинация по методу Дженнера начала широко распространяться в различных странах Западной Европы. Через 10–15 лет после открытия Дженнера число прививок уже исчислялось миллионами. В России вакцинация по методу Дженнера была начата в октябре 1801 г. на базе Императорского воспитательного дома профессором Е.О. Мухиным (1766–1850) в Москве [15, 20, 21].

Вакцинация проводилась далеко не всем родившимся детям. Так, во Франции с 1660 г. по 1869 г. привитые среди родившихся детей составляли 59 %. Еще в меньших размерах осуществлялась ревакцинация. Даже в передовых странах Европы повторно привитые составляли только 15–20 % населения. Во второй половине XIX века было установлено, что первичная прививка не приводит к пожизненному иммунитету. В Великобритании, например, во время ряда крупных эпидемий натуральной оспы в конце XIX века подавляющее большинство заболевших составляли вакцинированные. Крупные эпидемии натуральной оспы наблюдались в Шеффилде в 1887 г. и в Варрингтоне в 1892 г., где привитые составляли 97,6 и 99,2 % населения соответственно. Во время эпидемии в одном из городов Великобритании в 1892 г., где 98,0 % населения было привито против натуральной оспы, 66 % всех случаев заболевания составляли вакцинированные. При этом натуральная оспа перестала быть типичной «детской» инфекцией. Она стала чаще отмечаться у лиц старшего возраста, не охваченных прививками или утративших вакцинальный иммунитет [14, 16].

В XIX в. был введен ряд усовершенствований в дело вакцинации. По методу Э. Дженнера прививка проводилась содержимым пустул коровьей

оспы или содержимым пустул детей, привитых коровьей оспой, путем переноса вакцинального материала от руки одного привитого на руку другому. Такой метод был мало пригоден для массовой вакцинации. Кроме того, при большом числе последовательных прививок вакцина «вырождалась» и становилась неактивной. Введение в 1842 г. пассирования вируса на скарифицированной коже телят или коров позволило получать препарат в значительно больших количествах, а предложенное несколько позднее использование глицерина в качестве стабилизатора – сохранять ее активность. Сухая оспенная вакцина впервые была получена в 1919 г., но жидкая дермовакцина продолжала применяться, особенно в эндемических странах, в течение длительного периода времени. Массовое производство сублимационно высушенных препаратов вакцины началось в 1950-е гг. с целью увеличения срока годности препарата и возможности массового применения в местности, удаленной от стационарных медицинских пунктов. Последующее изобретение бифуркационной иглы позволило существенно повысить эффективность оспопрививания. Данный инструмент, способный удерживать необходимый объем вакцины между двумя зубчиками, позволял любому добровольцу и сельским жителям безопасно и с высокой эффективностью проводить вакцинацию. Бифуркационная игла также позволяла, что было не менее важным, крайне экономно дозировать вакцину [19].

Внимание к широкой вакцинации и ревакцинации населения привлекла пандемия натуральной оспы, возникшая в результате миграции населения во время франко-прусской войны 1870–1871 гг. Во время этой пандемии, охватившей ряд стран Европы, во Франции умерло 90 тыс., а в Пруссии – 125 тыс. человек. Впервые в Европе закон об обязательном оспопрививании был введен в Германии в 1875 г. Вскоре он был принят и в других странах Европы. В результате значительных пробелов в оспопрививании, ослабления мер профилактики и миграции населения эпидемиологическая обстановка резко обострилась в годы Первой мировой войны. Так, в 1915–1919 гг. в Австрии было зарегистрировано более 52 тыс., в Италии – свыше 17 тыс., в России – 535 тыс. заболеваний натуральной оспой, закончившихся летальным исходом. В Германии, где до войны заболеваемость натуральной оспой составляла лишь несколько десятков случаев в год, в 1917–1920 гг. заболело 10,6 тыс. человек. Только после 1922–1928 гг. заболеваемость натуральной оспой в большинстве стран Европы резко пошла на убыль. Исключением являлись Испания, Португалия и Турция, где эпидемическая ситуация оставалась довольно сложной [4, 15–17].

В годы Второй мировой войны в ряде стран вновь наблюдались эпидемии натуральной оспы. Так, например, в Турции в 1942–1944 гг. было зарегистрировано более 20 тыс. случаев заболевания, в Египте в 1943–1944 годах – более 15 тыс., в Италии в 1944–1945 гг. от натуральной оспы умерло 5994 человека, в Греции в 1943–1944 гг. – 1160 человек. Последние местные случаи этой инфекции в Европе были зарегистрированы в Италии в 1946 году, в Испании в 1947 г. и Португалии в 1953 г. С этого времени во всех странах Европы наблюдались только заносные вспышки натуральной оспы [4, 15, 17].

После ликвидации натуральной оспы в Советском Союзе в 1936 г. неоднократно возникали заносные вспышки. Так, с 1950 г. по 1960 г. в результате заносов было официально зарегистрировано более 600 случаев заболевания. Эти заносные вспышки, в основном, наблюдались в республиках Средней Азии, по одной вспышке было зарегистрировано в Азербайджане и в Москве. В последние годы наблюдались еще две заносные вспышки натуральной оспы в Казахстане и Таджикистане. С декабря 1958 г. по февраль 1973 г. наблюдалось 34 случая заноса натуральной оспы в страны Европы – в основном авиатранспортом из стран Юго-Восточной Азии, реже – из стран Африки. В результате этого в странах, куда была занесена инфекция, заболело 539 человек, то есть в среднем один заносной случай вызвал заболевание 16 человек. Следует отметить, что эти заносные вспышки натуральной оспы возникали при настороженности органов здравоохранения в отношении заноса этого заболевания, их нормальной работе и обязательном требовании от прибывших из эндемических районов наличия сертификата о прививках против натуральной оспы, действительного в течение 3 лет после иммунизации [2, 10].

Благодаря проведению противоэпидемических мероприятий (изоляция больных и контактировавших с ними, массовая иммунизация населения и т.д.) заносные вспышки натуральной оспы удавалось достаточно быстро ликвидировать. При этом противоэпидемические мероприятия принимали особо крупные масштабы при заносных вспышках в крупных городах или распространении инфекции в различные районы страны, что можно проиллюстрировать на примерах заносных вспышек натуральной оспы в Москве в 1960 г. и в Югославии в 1972 г. В Москве было изолировано 1496 контактировавших с больными, а в проведении иммунизации участвовало 26963 медицинских работника, которые привили более 6,5 млн человек. В Югославии было иммунизировано 18 млн жителей, причем оспенная вакцина, кроме югославской, была получена из ВОЗ и 13 стран мира [15].

### Программа глобальной ликвидации натуральной оспы

Широкое распространение натуральной оспы во многих странах Азии, Африки и Южной Америки в середине XX в. представляло серьезную потенциальную угрозу для возникновения эпидемий в странах, где она была искоренена массовой иммунизацией населения. Становилась все более очевидной необходимость борьбы с этой инфекцией на новой основе – путем совместных, согласованных действий всех стран мира.

Вопрос об искоренении натуральной оспы на земном шаре неоднократно поднимался отечественными учеными. Наиболее точно это положение высказал академик АМН СССР Михаил Николаевич Соловьев (1886–1980) в 1947 г.: «Естественно возникает вопрос, можно ли ликвидировать оспу во всем мире. Принимая во внимание блестящий пример СССР, можно ответить на этот вопрос положительно. Необходимо только осуществить это мероприятие не разрозненно, а по единому плану, путем международного объединения в борьбе с этой болезнью». 30 мая 1956 г. на XI сессии Всемирной ассамблеи здравоохранения (ВАЗ) глава советской делегации В.М. Жданов внес предложение о повсеместной ликвидации натуральной оспы. После тщательного изучения и обсуждения этого предложения 12 июня 1956 г. на VII пленарном заседании ВАЗ была единогласно принята резолюция, предусматривающая глобальную ликвидацию натуральной оспы [1, 4].

В ходе реализации программы ликвидации натуральной оспы менялись основные направления проводимых мероприятий. На первом этапе работы основу программы составляла стратегия массовой иммунизации населения в эпидемических районах. В этот период считалось, что ликвидация инфекции может быть достигнута путем прививок 60 % населения данной страны в течение 4–5 лет. Однако ход выполнения программы на первом этапе, наряду с определенными успехами, характеризовался и серьезными недостатками. Так, например, национальная программа ликвидации натуральной оспы, начатая в Индии в 1962 г., предусматривавшая массовую иммунизацию с целью охвата 80 % населения в течение 3 лет, к 1967 г. не привела к существенному снижению заболеваемости. На о. Ява (Индонезия), где охват населения прививками превышал 90 %, трансмиссия натуральной оспы продолжалась. В северных штатах Индии с высокой плотностью населения крупные эпидемии продолжались, несмотря на охват прививками 70–80 % населения вакцинацией и ревакцинацией с последующим поддержанием коллективного иммунитета. В штате Западная Бенгалия, где охват населения



прививками составлял 86 %, натуральная оспа в 1971 г. распространялась по всему штату. В 1974 г. в штате Бихар, в наиболее пораженных натуральной оспой районах которого имелось до 20 % непривитых, заболели 126,9 тыс. человек. Следовательно, при высокой плотности населения наличие 80–86 % иммунизированных недостаточно для предотвращения развития крупных эпидемий, которые сохраняют эпидемиологические закономерности, характерные для натуральной оспы.

Наиболее существенной причиной этого явления являлось отсутствие строгого контроля за ходом прививочной компании, в результате чего прививки проводились ежегодно наиболее доступным группам населения (школьники, рабочие предприятий, плантаций и т.д.), в то время как остальные контингенты часто оставались непривитыми. Кроме того, имелась недооценка эпидемиологического надзора как важнейшего инструмента в борьбе с натуральной оспой. На значение этого фактора обращалось серьезное внимание рядом ученых, в том числе Ш.Д. Мошковским в его выступлении на XIII сессии ВОЗ в 1960 г.

Второй этап программы начался в 1967 г., когда была принята интенсифицированная программа ликвидации оспы. На данном этапе натуральная оспа оставалась эндемичной еще в 33 странах. В то время официально регистрировалось и сообщалось в ВОЗ только около 10 % всех случаев заболевания натуральной оспой в странах Африки и Азии. На фоне проведенной массовой вакцинации населения в последующие годы осуществлялся активный поиск очагов заболевания с проведением противоэпидемических мероприятий, в том числе иммунизация в очагах инфекции. При активном поиске очагов натуральной оспы в странах Азии было установлено, что официальные данные даже непосредственно перед ликвидацией инфекции являлись заниженными. Так, в Афганистане, где натуральная оспа была ликвидирована в 1973 г., в 1969–1972 гг. число официально сообщенных случаев заболевания составило в среднем только 24,3 %, что было выявлено бригадой эпидемиологического надзора. В Индии, где последний случай этого заболевания был зарегистрирован в мае 1975 г, бригадой эпидемиологического надзора в 1973 г. только в трех штатах в течение недели было выявлено более двух тысяч не сообщенных случаев заболевания натуральной оспой, а число зарегистрированных случаев по сравнению с сообщенными органами здравоохранения за неделю, предшествующую поиску, возросло почти в 20 раз.

Последний случай натуральной оспы был зарегистрирован в Сомали 26 октября 1977 г. и в декабре 1979 г. Глобальная комиссия по удо-

стоверению ликвидации оспы подтвердила факт ее полного искоренения на нашей планете. 8 мая 1980 г. 155 государств-членов ВОЗ, представленными делегациями на XXXIII сессии ВОЗ, единодушно одобрили выводы этой комиссии и в своей декларации торжественно провозгласили, что «мир и все народы одержали победу над оспой, бывшей одной из самых опустошительных болезней, которая с самых ранних времен охватывала эпидемиями многие страны, оставляя после себя смерть, слепоту и уродство, и которая всего лишь десятилетие назад свирепствовала в Африке, Азии и Америке» [1, 15, 20].

Таким образом, основные принципы, сформулированные в ходе выполнения программы глобальной ликвидации оспы, заключались в необходимости проведения массовой вакцинации населения с охватом более 90 % в сочетании с мероприятиями строгого эпидемиологического контроля. Только такие мероприятия позволили ограничить распространение натуральной оспы в густонаселенных районах, сократить число случаев заболевания и привели к полной ликвидации заболевания.

#### **Современное состояние разработки противоспепенных вакцин**

За весь период использования человечеством активной иммунопрофилактики ортопоксвирусных инфекций было разработано четыре поколения вакцинных препаратов (таблица 1). Накожные дермовакцины, представляющие собой вирусосодержащий детрит кожи телят, представляют первое поколение живых вакцин. Они являлись единственными препаратами вплоть до начала 1960-х гг. прошлого века.

Вакцины, полученные с помощью более безопасного субстрата накопления (культуры клеток или куриных эмбрионов), относятся ко второму поколению. К третьему поколению препаратов, которые активно стали разрабатывать в 1960–1970-х гг. прошлого столетия, относят вакцины, полученные на основе аттенуированных различными способами штаммов вируса вакцины. ДНК-вакцины и субъединичные рекомбинантные вакцины являются четвертым поколением [22–25].

Традиционные накожные оспенные живые дермовакцины первого поколения имеют биотехнологические недостатки: их нарабатывают на коже телят не только по устаревшей технологии без соблюдения правил GMP, но и с риском возможной контаминации инфекционными патогенами [26]. Дермовакцина вызывает реакции у 40 % привитых (лихорадка, миалгия, недомогание, головная боль и др.) и серьезные осложнения с частотой от 40 до 400 на  $10^6$  иммунизированных (поствакцинальный энцефалит,

**Таблица 1 – Примеры основных оспенных вакцин, их характеристики и факторы эволюции, преимущества и недостатки**

Вакцина		История получения, особенность штаммов, технология вакцины, способ селекции или генетической инженерии штамма	Фактор <sup>1</sup>		Преимущества и недостатки
поколение	название (штамм)		Б	И	
Первое	Сухая оспенная вакцина (ЛИВП, Б-51)	Дермальная вакцина на основе дермы телят, получена в РФ на основе модифицированного штамма Elstree, частота осложнений у детей - 1:42 000			Подтверждена эффективность в эпидемических очагах, большое количество осложнений, производство не соответствует GMP
	Dryvax, Aventis	Дермальная вакцина, получена в США, частота реакций и осложнений у привитых до 40%, в 2003 г. противопоказана 50% населения			
	(NYCBH)	Дермальная вакцина, получена в Великобритании, применялась повсеместно в период ликвидации натуральной оспы			
Второе	CV-2 (NYCBH)	Тканевая вакцина, получена в 1939 г. в США (штамм NYCBH) путем 235 пассажей в ткани куриных эмбрионов и через яичко кроликов	+		Эффективность соответствует 1 поколению, биотехнологически безопасны, но сохраняется риск развития тяжелых реакций и осложнений
	Acam2000 (NYCBH)	Культуральная вакцина, получена в 1991 г. в США пассажем штамма NYCBH в культуре клеток Vero. Иммуногенность сравнима с Dryvax	+		
	Elstree-BN (Lister)	Культуральная вакцина, получена в 1988 г. в Нидерландах пассажем штамма Lister в культуре клеток куриных фибробластов. Иммуногенность равна с Dryvax	+		
Третье	MVA3000 и Imvamune (MVA)	Культуральная аттенуированная вакцина, получена в 1964 г. в ФРГ пассированием штамма Анкара (свыше 570) в куриных фибробластах. Использовалась двухэтапным способом вакцинации с дермальной вакциной	++		Вакцины безопаснее 1 поколения, но по иммуногенности ниже, но эпидемиологическая эффективность, за исключением ТЭОВак, не изучена и необходимы полевые испытания
	ТЭОВак и сухая оспенная вакцина (Б-51БМ)	Таблетированные эмбриональные вакцины <sup>2</sup> и дермовакцина, получены в РФ (1971 г) и в БССР для массовой иммунизации взрослых и вакцинации детей клонированным (белым модифицированным) штаммом Б-51 БМ	++	+	
	LC16m8 (Lister)	Культуральная аттенуированная вакцина, получена 1973 г. в Японии пассажирами в клетках почек кроликов и селекции на куриных эмбрионах	++		
	G-9 (Небесный Храм)	Получена в 1988 г. в Китае клонированием штамма	++		
Четвертое	NYVAC (Copenhagen)	Аттенуированная вакцина, получена в 1992 г. делецией 18 генов	+++	+	Вакцины биотехнологически безопасны или неинфекционны, но необходимы сравнительные и полевые испытания эффективности
	Ревакс ВТ	Мукозальная таблетированная рекомбинантная эмбриональная бивакцина против гепатита В, рекомбинантный штамм получен на основе ЛИВП <sup>3</sup>	+++	+	
Нет	ДНК-вакцины и субъединичные вакцины	Плазмиды генов VACV IMV (A27, D8L, F9L, H3L, L1R), EEV (A33R, A56R, B5R) и белки продукция генов VACV IMV (A27, H3L, L1R) и EEV (A33R, B5R)	+++		

**Примечания.**  
1 – Факторы повышения безопасности (эволюции) вакцин обозначены: Б – биотехнологические, И – иммунологические, «+» и «+++» – наличие и выраженность влияния фактора на безопасность (+ – технологический, ++ – аттенуация или селекция, +++ – генная инженерия),  
2 – Вакцина ТЭОВак апробирована в условиях вакцинации и ревакцинации в РФ, иммуногенность и протективная эффективность не ниже 1 поколения и успешно апробирована в эпидемическом очаге (Эфиопия, 1973 год) во 2 периоде глобальной ликвидации натуральной оспы,  
3 – Генно-инженерная инактивация гена тимидинкиназы повысила аттенуацию векторного штамма.





**Рисунок 5 – Вакцина Dryvax с бифуркационной иглой<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> URL: <https://vaxopedia.org/2016/10/26/discontinued-vaccines> (дата обращения: 03.04.2019).

генерализованные и прогрессирующие вакцины, вакцинальная экзема и др.) [27–29].

В современных условиях дермовакцины опасны тяжелыми кожными, аллергическими и неврологическими осложнениями, прогнозируемая частота развития которых увеличится примерно в 1000 раз [15]. В 2002 г. при оспопрививании дермовакциной Dryvax (рисунок 5) в США зарегистрировали 3 летальных исхода и высокую частоту осложнений со стороны сердца (86 на 10<sup>5</sup> привитых) [25, 30]. Следовательно, хотя дермовакцины имеют доказанную эпидефективность, технология их производства имеет существенные недостатки, в том числе практическую невозможность получения стерильного парентерального препарата, высокую трудоемкость при их производстве, прионную опасность, высокую реактогенность используемых штаммов и риск развития тяжелых осложнений, выделение вируса вакцины в окружающую среду с опасностью трансмиссии вируса среди высокочувствительных лиц.

Инактивированные вакцины, разработанные в период с 1959 г. по 1974 г., не вызывают продолжительного иммунного ответа и исполь-

зуются только для профилактики осложнений первичного оспопрививания дермовакциной. В Российской Федерации инактивированная гамма-излучением дермальная вакцина ОспаВир используется в двухэтапной вакцинации с сухой накожной оспенной вакциной (рисунок 6) и является практически ареактогенной [31, 32]. Неврологические осложнения в двухэтапном оспопрививании были снижены в 7 раз, что позволило применять данный метод для лиц с противопоказаниями при нормальной иммунореактивности. ОспаВир обеспечивает умеренную реактогенность, безвредность и высокую иммуногенность дермовакцины. В Германии с целью снижения аллергических осложнений при двухэтапной вакцинации разработали культуральную формовакцину, при введении которой 120 тыс. детям старше 5 лет и ревакцинированным пожилым, наблюдали снижение реактогенности и летальности в 8–10 раз [33].

С целью устранения технологических недостатков накожных оспенных вакцин были разработаны вакцины второго поколения, в качестве сырья для получения которых используют куриные эмбрионы или культуру клеток. В 1958 году в Бразилии дермовакцину заменили эмбриональной и использовали при ликвидации натуральной оспы [22, 34, 35]. В СССР (1970 г.) на 500 тыс. взрослых лицах установили, что аналогичная вакцина была иммуногена, безопасна и менее реактогенна, чем дермовакцина [2, 27]. Культуральную вакцину клинически испытали в 1973 г. в Индонезии, но ее эффективность и безопасность были аналогичны дермовакцине [22]. Вакцина Асам2000 на основе штамма NYCBH, полученная на основе культуры клеток Vero, менее нейровирулентна, чем дермовакцина, однако она вызывает отдельные побочные эффекты (дискомфорт в грудной клетке, миокардиты), аналогичные вакцине Dryvax [30, 31].

Зарегистрированная в Российской Федерации живая таблетированная эмбриональная оспенная вакцина ТЭОВак (рисунок 7) на основе



**А**



**Б**

**Рисунок 6 – Инактивированная (А) и живая (Б) оспенные вакцины, разрешенные к применению в Российской Федерации для первичного оспопрививания**



**Рисунок 7 – Вакцина оспенная эмбриональная живая таблетированная в блистерной упаковке**

штамма Б-51, разработанная в 1967–1973 гг., является альтернативой накожным по своей эпидемиологической эффективности и безвредности [28, 36–41]. Помимо эффективности, которая подтверждена опытом противоэпидемического применения в Эфиопии, преимуществами ТЭОВак являются простота применения при массовой иммунизации населения, отсутствие кожных и аллергических реакций, исключение распространения гемоконтактных и прионных заболеваний. Доклинические данные о большей безопасности ТЭОВак по сравнению с накожными вакцинами в отягощенных условиях (облучение, операция, аллергияция) [38], результаты ее применения для ревакцинации [40] и итоги клинических испытаний при первичной вакцинации взрослых лиц [39], свидетельствуют о том, что данная вакцина не уступает по безопасности препаратам третьего поколения (таблица 1).

Несмотря на то, что эффективность ряда вакцин второго поколения была подтверждена в эпидемических очагах, они также опасны серьезными побочными эффектами, хотя их использование исключает ряд проблем, связанных с применением дермовакцин. Поэтому в 1960-е гг. XX в. начали разработку более безопасных вакцин третьего поколения.

Культуральные вакцины на основе аттенуированных штаммов, полученных путем пассирования в культурах клеток, отнесли к третьему поколению вакцин. LC16m8 – репликационно-компетентная вакцина, разработана в Японии в 1960 г. путем 53 серийных пассажей штамма Lister в первично-трипсицинизированных клетках почек кроликов в условиях пониженной температуры для снижения нейровирулентности. В 1970 гг. ее применили в Японии для безопасной вакцинации населения на завершающем, втором этапе ликвидации натуральной оспы. Накожная вакцина на основе штамма LC16m8 может вызвать легкие осложнения и в три раза меньше поствакцинальных



**Рисунок 8 – Вакцина Imvamune (Bavarian-Nordic)<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> URL: <http://bavarian.manasoft.com/investor/downloads/images.aspx> (дата обращения: 03.04.2019).

реакций, чем дермовакцина на основе штамма Lister [42]. Японская вакцина обеспечивает защиту иммуноослабленных мышей, кроликов и обезьян от поксвирусной инфекции. Доклинически доказано, что вакцина на основе LC16m8 индуцирует, наравне с вакциной Dryvax, сильный гуморальный иммунитет и защиту против летальной поксвирусной инфекции. Она лицензирована в Японии и США для медицинского использования в чрезвычайных ситуациях [2].

Модифицированный вакцинный штамм Ankara (MVA) получен в Германии путем пассирования (572 раз) в фибробластах куриных эмбрионов, что привело к утрате 15 % генома и неспособности реплицироваться в клетках млекопитающих, включая человека [43, 44]. Создатели вакцины на основе штамма MVA сообщили об отсутствии осложнений у новорожденных животных (мышей, кроликов, кур) и у людей с ослабленным иммунитетом (облучение, ятрогенная иммунная супрессия) [24, 45, 46]. Исследования на здоровых и иммуноослабленных мышцах и обезьянах продемонстрировали защитное действие единичных или множественных введений вакцин на основе штаммов MVA к штамму Lister. Иммуноослабленные животные с селективным истощением (В-лимфоциты, CD4<sup>+</sup> или CD8<sup>+</sup> Т-лимфоциты) были защищены, в отличие от обезьян, инфицированных вирусом иммунодефицита, или с комбинированным иммунодефицитом [23, 45, 47]. В связи с отсутствием вспышек натуральной оспы на момент разработки вакцины на основе штамма MVA, ее эпидефективность не была изучена в эпидочагах [43], но более 100 тыс. военнослужащих в Германии были ею вакцинированы. В настоящее время вакцину на основе штамма MVA разрабатывают компании Acambis PLC (MVA3000) и Bavarian-Nordic (Imvamune) (рисунок 8). Последняя защищает лабораторных животных от оспы обезьян, как и традиционные вакцины. Две последовательные

дозы Imvamune были безопасными при введении здоровым неиммунным людям, страдающим атопическим дерматитом в легкой форме и аллергическим ринитом. Сероконверсия составила 100 % [48]. Вакцины третьего поколения не вызывают осложнений при первичной вакцинации. Однако для экстренного массового оспопрививания при вспышке натуральной оспы вакцина на основе штамма MVA не пригодна, поскольку ее однократное введение не обеспечивает необходимую иммунную защиту.

Современные методы генетической инженерии позволяют селективно блокировать факторы вирулентности вируса вакцины для получения аттенуированных иммуногенных живых вакцин, которые также относятся к третьему поколению. В ГНЦ ВБ «Вектор» разработаны несколько экспериментальных образцов оспенных вакцин третьего поколения с помощью генной инженерии. Экспериментальная эмбриональная таблетированная векторная бивакцина Ревакс ВТ против натуральной оспы и гепатита В на основе модифицированного штамма ЛИВП получена путем выключения гена тимидинкиназы вируса вакцины за счет встройки фрагмента ДНК вируса гепатита В, кодирующего синтез pre-S2-S-белка [49, 50]. Для получения рекомбинантного штамма 1421ABJCN использовали делецию или нарушение функции 5 генов вирулентности штамма ЛИВП вируса вакцины, кодирующих гемагглютинин (A56R), тимидинкиназу (J2R), комплемент-связывающий белок (C3L),  $\gamma$ -интерферонсвязывающий белок (B8R) и Bcl-2-подобный ингибитор апоптоза (N1L) [51].

Аттенуированную рекомбинантную вакцину NYVAC на основе высокоректогенного штамма Copenhagen получили делецией генов B13R и B14R (гены геморрагического района), A26L (кодирующий белок включения типа A), A56R (гемагглютинин), 14L (рибонуклеотид-редуктаза) и J2R (тимидинкиназа) в геноме с протяженной делецией кассеты из 12 генов от C7L до R1L (район «генов круга хозяев»). NYVAC безопасна для иммунодефицитных макак, но не защищает от летальной для них вакцинальной инфекции [52].

К вакцинам четвертого поколения относят неинфекционные ДНК-вакцины и рекомбинантные субъединичные вакцины. ДНК-вакцины представляют собой гибридную плазмиду, содержащую гены протективного антигена. Внутриклеточный синтез антигенов, направляемый ДНК-вакциной, имитирует инфекцию и индуцирует сбалансированный гуморальный и клеточный иммунный ответ. ДНК-вакцина безопаснее живой вакцины, ее эффективность зависит от выбранного антигена, плазмиды, промотора, способа, дозы и количества иммунизаций. Протективность, равная традиционной

вакцине, обеспечивается поливалентностью. ДНК-вакцины актуальны для людей с иммунодефицитными состояниями при первичной иммунизации с возможной ревакцинацией живой вакциной [2, 53–56]. Для создания ДНК вакцин используют комбинации генов внутриклеточного вируса вакцины IMV (A27, D8L, F9L, H3L, L1R) и внеклеточного оболочечного вириона EEV (A33R, A56R, B5R), которые обеспечивают защитный иммунитет у обезьян и мышей. При этом комбинация ДНК с введением белка более эффективна [54]. Субъединичные вакцины представляют собой очищенные рекомбинантные белки H3L A27L, L1R, D8L и EEVA33R, B5R, ключевым из них для индукции протективного иммунитета является белок D8L внешней мембраны вируса, обеспечивающий связывание вируса с клеткой. Белок B5R отвечает за морфогенез оболочки вирионов и их высвобождение, иммунизация мышей этим белком защищала их от летальной инфекции [24, 25, 34, 35, 57]. Изучены кандидатные поливалентные ДНК и субъединичные вакцины, обеспечивающие высокие уровни вируснейтрализующих антител и полную защиту мышей и низших приматов от инфицирования вирусом вакцины или оспы обезьян [22, 58]. Для изучения нереплицирующихся рекомбинантных вакцин используют маркеры иммунитета и защиты (реакции специфических антител в иммуноферментном анализе, В-клеток памяти, Т-клеток в IFN $\gamma$ -ELISPOT или окрашивание цитокинов, коррелирующих с защитой), однако для клинической оценки безопасности и эффективности необходимы крупномасштабные исследования [59].

Отдельным направлением совершенствования оспенных вакцин является использование вируса вакцины в качестве вектора для создания би- и поливакцин против социально значимых инфекций, позволяющих также формировать у населения иммунитет к ортопоксвирусам [60, 61]. Преимуществом вектора на основе вируса вакцины является возможность включения в геном от 10 до 20 протективных генов. К 2000 г. было получено около 100 рекомбинантных штаммов на основе штаммов NYVAC, Lister, MVA и LC16m8 против более 50 возбудителей социально значимых инфекций. В то же время остается вероятностью проявления остаточной вирулентности вектора, которую можно снизить встройкой генов лимфокинов (интерлейкин-2,  $\gamma$ -интерферон). Актуальность данного направления подтверждается активной разработкой с 1996 г. в США, Канаде и Франции эффективных мукозальных рекомбинантных вакцин против бешенства, безопасных для 45 видов птиц и млекопитающих, широкое применение которых может остановить трансмиссию ортопоксвирусов среди животных [15, 24, 60].



### Проблема оспопрививания после ликвидации оспы

После ликвидации натуральной оспы все страны мира отменили вакцинацию населения против этой инфекции. Вакцинация населения СССР была полностью прекращена в 1980 г. По состоянию на 2018 г. доля населения Земли, не имеющая противооспенного иммунитета, составляет более 60 %. При этом другая половина человечества, старше 40 лет, в условиях отсутствия ревакцинации по уровню защитного иммунитета незначительно отличается от первой. Условно можно считать, что уровень популяционного противооспенного иммунитета в мире соответствует таковому в Америке в конце XV в, когда население континента впервые столкнулось с натуральной оспой. К 1800 г. коренное население континента уменьшилась на 99 %, при этом ведущую роль в гибели цивилизации американских индейцев ряд специалистов отводит именно натуральной оспе. Поэтому возможность возврата натуральной оспы после ее полной ликвидации по-прежнему является значительной угрозой всему человечеству [1, 10].

По мнению специалистов, существуют несколько возможных причин временного возврата натуральной оспы как эндемического заболевания. Например, возможность сохранения вируса натуральной оспы в активном состоянии в трупах больных, захороненных в районах вечной мерзлоты, или эволюционные изменения ортопоксвирусов с появлением более вирулентных штаммов [5, 7, 10, 12]. Например, вирус оспы обезьян способен вызывать крупные вспышки заболевания среди людей. Кроме того, в условиях снижения противооспенного коллективного иммунитета имеется тенденция к увеличению заболеваемости и количества генераций передачи данного вируса от человека к человеку [6]. Однако результаты проведенных исследований стабильности вируса натуральной оспы в естественных условиях при низких температурах не подтверждают возможность сохранения его жизнеспособного состояния более 10 лет. Эволюционные изменения ортопоксвирусов происходят в течение длительного времени и регулярный мониторинг вспышек зоонозных ортопоксвирусных инфекций, изучение генетической структуры и биологических свойств новых изолятов патогенных для человека поксвирусов позволят своевременно предпринять необходимые противоэпидемические меры [10, 12].

В связи с этим можно сделать вывод о том, что единственной причиной возврата натуральной оспы может быть только преступное применение террористическими организациями ее возбудителя в качестве биологического поражающего агента.

В США после известных событий 2001 г. была утверждена Программа по вакцинации 10,5 млн военнослужащих, медицинских работников и служб спасения. Однако попытки возврата к традиционной накожной вакцинации в 2002–2003 гг. в США оказались неудачными в связи с развитием у взрослого населения и военнослужащих тяжелых, в том числе смертельных, осложнений. Серьезные поствакцинальные осложнения были зафиксированы с частотой от 1:7937 (у военнослужащих) до 1:1652 (у гражданских лиц) с тремя летальными исходами. После охвата 500 тыс. человек, 70 % из которых были первично иммунизированы, примерно через 3–4 месяца программа была остановлена. По итогам накожного оспопрививания вакциной Dryvax воинского контингента и медицинского персонала в США было установлено, что дермовакцина противопоказана для более 50 % населения (лицам с иммунодефицитами, аллергией и др.). По этим причинам использование дермальных оспенных вакцин в США было приостановлено и в 2008 г. запасы дермальной вакцины Dryvax были уничтожены [22, 30].

В Вооруженных Силах Советского Союза иммунизация против натуральной оспы в связи с продолжением прививок в армиях основных стран Западной Европы была возобновлена после 1983 г. В 1990 г. вакцинация против натуральной оспы личного состава армии и флота была окончательно отменена. В настоящее время для первичной иммунизации населения Российской Федерации разрешена для плановой иммунизации одна сухая оспенная накожная вакцина, однако фактически ее нельзя использовать для лиц старше 3 лет из-за высокого риска тяжелых поствакцинальных осложнений. В период плановой вакцинации с 1950 по 1970 гг. прошлого столетия первично иммунизировали детей в возрасте от 1 до 3 лет, а ревакцинировали – в 8 и 16 лет. У вакцинированных 1–3-летних детей местные реакции составляли до 100 %, лимфаденит – 22 % от всех привитых. Общие поствакцинальные осложнения развивались с частотой 1:42000, при этом летальность от тяжелых осложнений составляла от 25 до 30 %. С увеличением возраста первично вакцинируемых существенно, примерно на один порядок, возрастает частота развития поствакцинальных осложнений, в том числе энцефалитов [15, 33].

Считается, что даже при возникновении единичных случаев заболевания натуральной оспы при случайном заражении в лаборатории, противоэпидемические мероприятия по выявлению и изоляции больных и запас вакцины позволяют эффективно взять вспышку под контроль в условиях отсутствия популяционного иммунитета [1, 15].



**Рисунок 9 – Эволюция принципов противооспенной иммунизации (оспопрививания) от вариоляции до вакцинации. Составлена авторами**

В ряде ведущих стран мира (США, Франция, Германия, Швейцария и др.) продолжают хранить на случай чрезвычайной ситуации необходимый для защиты населения запас оспенной вакцины 1 и 2 поколения. Чрезвычайный запас оспенной вакцины ВОЗ в настоящий момент составляет 305 млн доз и будет храниться, предположительно, до уничтожения всех живых образцов вируса натуральной оспы.

Таким образом, в современных условиях, когда наблюдается увеличение до 50 % доли населения с наличием противопоказаний к оспопрививанию, а также после получения на основе современных достижений геной инженерии и биотехнологии безопасных оспенных вакцин 3–4 поколений, позволяющих создать стойкий противовирусный иммунитет, произошел пересмотр критериев эффективности и безопасности оспенной вакцинации (рисунок 9).

Среди современных принципов оспопрививания превалирует безопасность, для обеспечения которой при накожной вакцинации проводят тщательное обследование вакцинируемых лиц на наличие противопоказаний и изоляцию после иммунизации на срок до 2 недель для предотвращения заражения не иммунных лиц. В ряде стран происходит планомерный отказ от применения вакцин первого поколения и накожного введения вируса вакцины, разрабатываются и внедряются вакцины третьего и четвертого поколений и другие лекарственные средства сопровождения оспопрививания, используются индивидуальные

схемы иммунизации с учетом наличия противопоказаний.

### Заключение

Подводя итог, необходимо отметить, что, несмотря на искоренение натуральной оспы, актуальность этой инфекции, как и других ортопоксвирусных заболеваний человека, сохраняется. Падение популяционного иммунитета населения после глобальной ликвидации натуральной оспы, рост заболеваемости оспой обезьян и другими зоонозными ортопоксвирусными инфекциями создают необходимость поддержания готовности системы здравоохранения к возврату массового оспопрививания населения. Учитывая возможность огромного социально-экономического ущерба в случае возникновения вспышки ортопоксвирусной инфекции, во многих странах развернута широкая программа мер противодействия. Создаются запасы оспенных вакцин, разрабатываются новые образцы противооспенной вакцины, рассматривается вопрос возврата всеобщего оспопрививания.

В Российской Федерации в настоящее время существует понимание необходимости отказа от использования дермальных вакцин первого поколения и продолжения работ по созданию оспенных вакцин второго поколения, безопасных для первичного оспопрививания взрослого населения, на основе штаммов, подтвердивших свою эпидемическую эффективность, а также новых вакцин третьего и

четвертого поколений, в том числе векторных поливакцин, пригодных для иммунизации лиц с противопоказаниями к оспопрививанию живыми вакцинами. Однако защитная эффективность новых оспенных вакцин не может быть полностью подтверждена эпидемиологически. Поэтому в случае возврата в Российской Федерации плановой вакцинопро-

филактики против натуральной оспы представляется целесообразным избирательно, с учетом противопоказаний, использовать для первичной иммунизации безопасные вакцины третьего и четвертого поколений для лиц с ограничениями, а также живые вакцины первого и второго поколений – при отсутствии противопоказаний.

#### **Информация о конфликте интересов**

Авторы заявляют, что исследования проводились при отсутствии любых коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

#### **Сведения о рецензировании**

Статья прошла открытое рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала.

#### **Список источников**

1. Львов Д.К., Зверев В.В., Гинзбург А.Л. и др. Натуральная оспа – дремлющий вулкан // *Вопр. вирусол.* 2008. № 4. С. 36–41.
2. Маренникова С.С., Щелкунов С.Н. Патогенные для человека орто-поксвирусы. М.: КМК Scientific Press Ltd., 1998.
3. Щелкунов С.Н., Щелкунова Г.А. Нужно быть готовыми к возврату оспы // *Вопр. вирусол.* 2019. № 5. С. 206–214. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2019-64-5-206-214>
4. Fenner F. Smallpox and its eradication. Geneva: World Health Organization, 1988.
5. Борисевич С.В., Маренникова С.С., Махлай А.А. и др. Оспа коров: особенности распространения после отмены обязательного оспопрививания // *Журн. микробиол.* 2012. № 3. С. 103–107.
6. Борисевич С.В., Маренникова С.С., Стомба Л.Ф. и др. Оспа обезьян: особенности распространения после отмены обязательного оспопрививания // *Журн. микробиол.* 2012. № 2. С. 69–73.
7. Борисевич С.В., Маренникова С.С., Махлай А.А. и др. Вакциноподобные вирусы: особенности циркуляции в Южной Америке // *Вопр. вирусол.* 2014. № 2. С. 10–14.
8. Nalca A., Rimo A.W., Bavari S., Whitehouse C.A. Reemergence of monkeypox: prevalence, diagnostics, and countermeasures // *Clin. Infect. Dis.* 2005. V. 41. P. 1765–1771. <https://doi.org/10.1086/498155>
9. Vorou R.M., Papavassiliou V.G., Pierroutsakos I.N. Cowpox virus infection: an emerging health threat // *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2008. V. 21. P. 153–156. <https://doi.org/10.1097/QCO.0b013e3282f44c74>
10. Щелкунов С.Н. Возможен ли возврат оспы? // *Молекулярная медицина.* 2011. № 4. С. 36–41.
11. Pennington H. Smallpox and bioterrorism // *Bull. WHO.* 2003. V. 81. P. 762–767.
12. Бабкин И.В., Щелкунов С.Н. Молекулярная эволюция поксвирусов // *Генетика.* 2008. № 8. С. 1029–1044.
13. Esposito J.J., Sammons S.A., France A.M., et al. Genom sequence diversity and clues to the evolution of variola (smallpox) virus // *Science.* 2006. V. 313 (5788). P. 807–812. <https://doi.org/10.1126/science.1125134>
14. Li Y., Carroll D.S., Gardner S.N., et al. On the origin of smallpox: correlating variola phylogenics with historical smallpox records // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007. V.104 (40) P. 15787–15792. <https://doi.org/10.1073/pnas.0609268104>
15. Маренникова С.С. К 30-летию юбилею ликвидации натуральной оспы в мире // *Журн. микробиол.* 2011. № 3. С. 121–124.
16. Fogg C., Lustig S., Whitbeck J.C., et al. Protective immunity to vaccinia virus induced by vaccination with multiple recombinant outer membrane proteins of intracellular and extracellular virions // *J. Virol.* 2004. V. 78(19). P. 10230–10237. <https://doi.org/10.1128/JVI.78.19.10230-10237.2004>
17. Henderson D.A. Smallpox: the death of a disease. New York, 2009.
18. Babkin I.V., Babkina I.N. The origin of the variola virus // *Viruses.* 2015. V. 7(3). P. 1100–1112. <https://doi.org/10.3390/v7031100>
19. Babkin I.V., Babkina I.N. A retrospective study of the orthopoxvirus molecular evolution // *Infect. Genet. Evol.* 2012. V. 12. P. 1597–1604. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.07.011>
20. Васильев В.С. Иммунизация против натуральной оспы: история и перспективы // *Журнал Гродненского государственного медицинского университета.* 2009. №3 (27). С. 20–22.
21. Петров Б.Д. Трехсотлетие указа об оспе (Страницы истории эпидемиологии) // *Журн. микробиол.* 1981. № 6. С. 117–118.
22. Максютов Р.А., Гаврилова Е.В., Щелкунов С.Н. Разработка современных противооспепных вакцин // *Вопр. вирусол.* 2011. № 6. С. 5–8.
23. Voigt E.A., Kennedy R.B., Poland G.A. Defending against smallpox: a focus on vaccines //



Expert Rev Vaccines. 2016. V. 15(9). P. 1197–1211. <https://doi.org/10.1080/14760584.2016.1175305>

24. Verardi P.H., Titong A., Hagen C.J. A vaccinia virus renaissance // Human vaccines and immunotherapeutic. 2012. V. 8. P. 961–970. <https://doi.org/10.4161/hv.21080>

25. Wizer I., Balicer R., Cohen D. An update on smallpox vaccine candidates and their role in bioterrorism related vaccination strategies // Vaccine. 2007. V. 25. P. 976–984. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.09.046>

26. Amara R.R., Nigam P., Sharma S., et al. Long-lived poxvirus immunity, robust CD4 help, and better persistence of CD4 than CD8 T cells // J. Virol. 2004. V. 78(8). P. 3811–3816.

27. Анджапаридзе О.Г., Чернонос В.И. Исследования по совершенствованию оспенной вакцины – вклад в ликвидацию оспы в мире // Вопр. вирусол. 1982. № 4. С. 4–10.

28. Babkin I.V., Babkina I.N. A retrospective study of the orthopoxvirus molecular evolution // Infect. Genet. Evol. 2012. V. 12. P. 1597–1604. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.07.011>

29. Онищенко Г.Г., Максимов В.А., Воробьев А.А. и др. Актуальность возврата к оспопрививанию: проблемы и перспективы // Вестник РАМН. 2006. № 7. С. 32–38.

30. Frey S.E., Newman F.K., Kennedy J.S., et al. Comparison of the safety and immunogenicity of ACAM1000, ACAM2000 and Dryvax® in healthy vaccinia-naïve adults // Vaccine. 2009. V. 27 (10). P. 1637–1644. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.11.079>

31. Мацевич Г.Р. Инактивированная оспенная вакцина. Вопросы профилактических прививок и роль аллергии в вакцинальном процессе. Л. 1969. С. 69–71.

32. Мацевич Г.Р., Свет-Молдавская И.А. Оспенная вакцина, инактивированная  $\gamma$ -лучами, антигенные и иммуногенные свойства // Вопр. вирусол. 1970. № 3. С. 316–322.

33. Перекрест В.В., Мовсесянц А.А., Мухачева А.В. и др. Препараты для специфической профилактики натуральной оспы, зарегистрированные в Российской Федерации // Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2013. № 2. С. 4–13.

34. Fogg C.N., Americo J.L., Lustig S. Adjuvant-enhanced antibody response to recombinant proteins correlates with protection of mice and monkeys to orthopoxvirus challenges // Vaccine. 2007. V. 25. P. 2787–2799. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.12.037>

35. Fogg C., Lustig S., Whitbeck J.C., et al. Protective immunity to vaccinia virus induced by vaccination with multiple recombinant outer membrane proteins of intracellular and extracellular virions // J. Virol. 2004. V. 78(19). P. 10230–10237. <https://doi.org/10.1128/JVI.78.19.10230-10237.2004>

36. Воробьев А.А., Подкуйко В.Н., Михайлов В.В., Махлай А.А. Непарентеральные методы им-

мунизации против оспы // Журн. микробиол. 1996. № 5. С. 117–121.

37. Воробьев А.А., Подкуйко В.Н., Михайлов В.В. Итоги фундаментальных и прикладных исследований по пероральной иммунизации против натуральной оспы // Журн. микробиол. 2002. № 1. С. 12–18.

38. Воробьев А.А., Подкуйко В.Н., Максимов В.А. Пероральная вакцинация против оспы (к вопросу о возврате оспопрививания) // Вестн. РАМН. 2003. № 1. С. 5–10.

39. Максимов В.А., Мельников С.А., Бектимиров Т.А. и др. Выбор и оценка иммуногенности и реактогенности оптимальной иммунизирующей дозы ТЭОВак для первичной иммунизации при испытании вакцины на ограниченной группе взрослых людей // Материалы VI Межгосударственной научно-практической конференции «Санитарная охрана территории государств-участников содружества независимых государств: проблемы биологической безопасности и противодействия терроризму в современных условиях». Волгоград. 2005. С. 257–258.

40. Мельников С.А., Подкуйко В.Н., Хамитов Р.А. и др. Клинические исследования вакцины ТЭОВак в условиях отдаленной ревакцинации // Журн. микробиол. 2005. № 6. С. 29–33.

41. Подкуйко В.Н., Краснянский В.П., Воробьев А.А. и др. Пероральная иммунизация – способ повышения безопасности рекомбинантного вектора (вируса вакцины) // Вестник РАМН. 1993. № 2. С. 39–45.

42. Kidokoro M., Tashiro M., Shida H. Genetically stable and fully effective smallpox vaccine strain constructed from highly attenuated vaccinia LC16m8 // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2005. V. 102(11). P. 4152–4157. <https://doi.org/10.1073/pnas.0406671102>

43. Drexler I., Heller K., Wahren B., et al. Highly attenuated modified vaccinia virus Ankara replicates in baby hamster kidney cells, a potential host for virus propagation, but not in various human transformed and primary cells // J. Gen Virol. 1998. V. 79(Pt 2). P. 347–352. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-79-2-347>

44. Empig C., Kenner J.R., Perret-Gentil M. Highly attenuated smallpox vaccine protects rabbits and mice against pathogenic orthopoxvirus challenge // Vaccine. 2006. V. 24. P. 3686–3690. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2005.03.029>

45. Vollmar J., Arndt N., Eckl K.M. Safety and immunogenicity of «IMVAMUNE», a promising candidate as a third generation smallpox vaccine // Vaccine. 2006. V. 24 (12). P. 2065–2070. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2005.11.022>

46. Vollmar J., Pokorny R., Rapp P. A randomized, double-blind, dose-finding phase II study to evaluate immunogenicity and safety of the third generation smallpox vaccine candidate «Imvamune» // Vaccine. 2010. V. 28. P. 1209–1216.

47. Amara R.R., Nigam P., Sharma S., et al. Long-lived poxvirus immunity, robust CD4 help, and better persistence of CD4 than CD8 T cells // J. Virol. 2004. V. 78(8). P. 3811–3816.

48. Wyatt L.S., Earl P.L., Eller L.A., Moss B. Highly attenuated smallpox vaccine protects mice with and without immune deficiencies against pathogenic vaccinia virus challenge // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2004. V. 101(13). P. 4590–4595. <https://doi.org/10.1073/pnas.0401165101>
49. Сергеев А.А., Сергеев А.Н., Петрищенко В.А. и др. Реактогенность, безопасность, иммуногенность рекомбинантной бивакцины против оспы и гепатита В в ограниченных клинических испытаниях // Вопр. вирусол. 2004. № 5. С. 22–26.
50. Maksytov R.A., Yakubitskiy S.N., Kolosova I.V., Shchelkunov S.N. Comparing new-generation candidate vaccines against human orthopoxvirus infections // Acta naturae. 2017. V. 9. P. 88–93.
51. Yakubitskiy S.N., Kolosova I.V., Maksytov R.A., Shchelkunov S.N. At-tenuation of vaccinia virus // Acta naturae. 2015. V. 7. P. 113–121.
52. Tartaglia J., Perkus M.E., Taylor J., et al. NYVAC: a highly attenuated strain of vaccinia virus // Virology. 1992. V. 188. P. 217–232.
53. Doria-Rose N.A., Haigwood N.L. DNA vaccine strategies: candidates for immune modulation and immunization regimens. // Methods. 2003. V. 31. P. 207–216.
54. Hooper J.W., Custer D.M., Thompson E. Four-gene-combination DNA vaccine protects mice against a lethal vaccinia virus challenge and elicit appropriate antibody responses in nonhuman primates // Virology. 2003. V. 306. P. 181–195.
55. Otero M., Calarota S.A., Dai A., et al. Efficacy of novel plasmid DNA encoding vaccinia antigens in improving current smallpox vaccination strategy // Vaccine. 2006. V. 24(21). P. 4461–4470. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2005.08.010>
56. Pulford D.J., Gates A., Bridge S.H., et al. Differential efficacy of vaccinia virus envelope proteins administered by DNA: minimisation in protection of BALB/c mice from a lethal intranasal poxvirus challenge // Vaccine. 2004. V. 22(25–26). P. 3358–3366. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2004.02.034>
57. Phelps A., Gates A.J., Hillier M., et al. Comparative efficacy of replicating smallpox vaccine strains in a murine challenge model // Vaccine. 2005. V. 23(27). P. 3500–3507. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2005.02.005>
58. Berhanu A., Wilson R.L., Kirkwood-Watts D.L. Vaccination of BALB/mice with Escherichia coli – expressed vaccinia virus proteins A27L, B5R, and D8L protects mice from lethal vaccinia virus challenge // J. Virol. 2008. V. 82. P. 3517–3529. <https://doi.org/10.1128/JVI.01854-07>
59. Crotty S., Feigner P., Davies H., et al. Cutting edge: long-term B cell memory in humans after smallpox vaccination // J. Immunol. 2003. V. 171(10). P. 4969–4973.
60. Борисевич С.В., Михайлов В.В., Бектимиров Т.А. и др. Оценка возможности использования штаммов вируса вакцины для конструирования на их основе рекомбинантной вакцины против СПИДа // ВИЧ СПИД и родственные проблемы. 2001. № 2. С. 72–87.
61. Плясунов И.В., Сергеев А.Н., Сергеев А.А. и др. Клинические исследования рекомбинантной бивакцины «Ревакс ВТ» против оспы и гепатита В в условиях двукратной оральной вакцинации // Вопр. вирусол. 2006. № 2. С. 31–35.

#### Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, 141306, Российская Федерация, г. Сергиев Посад-6, ул. Октябрьская, д.11.

*Борисевич Сергей Владимирович.* Начальник Федерального государственного бюджетного учреждения «48 ЦНИИ» Минобороны России, д-р биол. наук, проф., чл.-корр. РАН.

*Подкуйко Валерий Николаевич.* Ведущий научный сотрудник научно-исследовательского испытательного отдела ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, д-р мед. наук, ст. науч. сотр.

*Пирожков Алексей Петрович.* Ведущий научный сотрудник научно-исследовательского управления ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, канд. мед. наук.

*Терентьев Александр Иванович.* Старший научный сотрудник научно-исследовательского испытательного отдела ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, д-р биол. наук, ст. науч. сотр.

*Краснянский Владимир Павлович.* Старший научный сотрудник научно-исследовательского испытательного отдела ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, канд. мед. наук, ст. науч. сотр.

*Рождественский Евгений Всеволодович.* Начальник научно-исследовательского отдела ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, канд. мед. наук.

*Назаров Станислав Викторович.* Старший научный сотрудник научно-исследовательского отдела ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России.

Управление начальника войск радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации, 119160, Москва, Фрунзенская наб., д. 22/2.

*Кузнецов Сергей Леонидович.* Начальник отдела, д-р мед. наук, ст. науч. сотр.

**Контактная информация для всех авторов:** 48cni@mail.ru  
**Контактное лицо:** Борисевич Сергей Владимирович, 48cni@mail.ru

## Evolution of means and principles of smallpox vaccination

S.V. Borisevich<sup>1</sup>, V.N. Podkuyko<sup>1</sup>, A.P. Pirozhkov<sup>1</sup>, A.I. Terent'ev<sup>1</sup>,

V.P. Krasnyansky<sup>1</sup>, E.V. Rozhdestvensky<sup>1</sup>, S.V. Nazarov<sup>1</sup>, S.L. Kuznecov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of Defense of the Russian Federation, 141306, Moscow region, Sergiev Posad-6, Oktyabrskaya Street 11*

<sup>2</sup> *Department of the Head of the Nuclear, Biological and Chemical Protection Troops of the Russian Armed Forces, 141306, Moscow, Frunzenskay Emb. 22/2*

There are several possible reasons for the return of smallpox as an endemic disease. For example, the possibility of maintaining smallpox virus in an active state in the corpses of the dead, buried in permafrost regions, or the evolutionary changes of orthopoxviruses with the appearance of more virulent strains. Since the eradication of smallpox, the requirements for smallpox vaccines have changed, leading to a change in the principles of smallpox vaccination. The purpose of the study is to review the evolution of means and principles of smallpox vaccination. For almost 200 years four generations of vaccine preparations have been developed. The first ones were the dermovaccines, i.e. the virus-containing detritus of calfskin. Then, chicken-embryo-skin cell cultures were used as a substrate for virus accumulation. The third generation were the vaccines based on vaccine strains at-tenuated by various methods. Fourth, DNA vaccines and subunit recombinant vaccines. One of the main contemporary principles of smallpox vaccination is safety (limited use of the vaccines of first and second generations, the development of next generations of vaccines, means and schemes of safe vaccination) while maintaining the requirements of efficiency equal to the existing vaccines. The replacement of epidemiologically tested vaccines with the third and fourth- generation drugs necessitated a comparative assessment of the protective efficacy and safety of new vaccines. It may be useful to carry out two-stage vaccination using inactivated or new safe non-replicating the third and fourth generation vaccines at the first stage.

**Keywords:** *attenuated and recombinant strains; vaccination; vaccinia virus; orthopoxviruses; smallpox vaccine; smallpox immunization.*

**For citation:** *Borisevich S.V., Podkuyko V.N., Pirozhkov A.P., Terent'ev A.I., Krasnyansky V.P., Rozhdestvensky E.V., Nazarov S.V., Kuznecov S.L. Evolution of means and principles of smallpox vaccination // Journal of NBC Protection Corps. 2020. V. 4. № 1. P. 66–85. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2020-4-1-66-85>*

### **Conflict of interest statement**

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationship that could be construed as a potential conflict of interest.

### **Peer review information**

The article has been peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board.

### **References**

1. L'vov D.K., Zverev V.V., Ginzburg A.L. et al. Smallpox is a dormant volcano // *Vopr. Virusol.* 2008. № 4. P. 36–41 (in Russian).
2. Marennikova S.S., Shchelkunov S.N. Pathogenic for humans poxviruses. M. 1998. 386 p. (in Russian).
3. Shchelkunov S.N., Shchelkunova G.A. We should be prepared to smallpox re-emergence // *Vopr. Virusol.* 2019. № 5. C. 206–214. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2019-64-5-206-214> (in Russian).
4. Fenner F. Smallpox and its eradication. Geneva: World Health Organization, 1988. 1460 p.
5. Borisevich S.V., Marennikova S.S., Makhlai A.A.



- et al. Cowpox: features of spread after cancellation of mandatory pox immunization // *Zhurn. Mikrobiol.* 2012. № 3. P. 103–107 (in Russian).
6. Borisevich S.V., Marennikova S.S., Stovba L.F. et al. Monkeypox: features of spread after cancellation of mandatory pox immunization // *Zhurn. Mikrobiol.* 2012. № 2. P. 69–73 (in Russian).
7. Borisevich S.V., Marennikova S.S., Makhlai A.A. et al. Vaccine-like viruses: peculiarities of circulation in South America // *Vopr. Virusol.* 2014. № 2. P. 10–14 (in Russian).
8. Nalca A., Rimoin A.W., Bavari S., Whitehouse C.A. Reemergence of monkeypox: prevalence, diagnostics, and countermeasures // *Clin. Infect. Dis.* 2005. V. 41. P. 1765–1771. <https://doi.org/10.1086/498155>
9. Vorou R.M., Papavassiliou V.G., Pierrotsakos I.N. Cowpox virus infection: an emerging health threat // *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2008. V. 21. P. 153–156. <https://doi.org/10.1097/QCO.0b013e3282f44c74>
10. Shchelkunov S.N. Is it possible to return smallpox? // *Molekulyarnaya Meditsina.* 2011. № 4. P. 36–41 (in Russian).
11. Pennington H. Smallpox and bioterrorism // *Bull. WHO.* 2003. V. 81. P. 762–767.
12. Babkin I.V., Shchelkunov S.N. Molecular evolution poxviruses. // *Genetika.* 2008. № 8. P. 1029–1044 (in Russian).
13. Esposito J.J., Sammons S.A., France A.M. et al. Genom sequence diversity and clues to the evolution of variola (smallpox) virus // *Science.* 2006. V. 313 (5788). P. 807–812. <https://doi.org/10.1126/science.1125134>
14. Li Y., Carroll D.S., Gardner S.N., Walsh M.C. et al. On the origin of smallpox: correlating variola phylogenics with historical smallpox records // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007. V.104 (40). P. 15787–15792. <https://doi.org/10.1073/pnas.0609268104>
15. Marennikova S.S. To the 30th anniversary of the global smallpox eradication // *Zhurn. Mikrobiol.* 2011. № 3. P. 121–124 (in Russian).
16. Henderson D.A. Smallpox: the death of a disease. New York, 2009. 500 p.
17. Hopkins D.R. The greatest killer. Smallpox in history. Chicago, 2002. 550 p.
18. Babkin I.V., Babkina I.N. The origin of the variola virus // *Viruses.* 2015. V. 7 (3). P. 1100–1112. <https://doi.org/10.3390/v7031100>
19. Babkin I.V., Babkina I.N. A retrospective study of the orthopoxvirus molecular evolution // *Infect. Genet. Evol.* 2012. V. 12. P. 1597–1604. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.07.011>
20. Vasil'ev V.S. Immunization against smallpox: history and prospects // *Zh. Grod. Med. Univer.* 2009. № 3 (27). P. 20–22 (in Russian).
21. Petrov B.D. Tercentenary of the decree on smallpox (a page from the history of epidemiology) // *Zhurn. Mikrobiol.* 1981. № 6. P. 117–118 (in Russian).
22. Maksyutov R.A., Gavrilova E.V., Shchelkunov S.N. Development of current smallpox vaccines // *Voprosy Virusol.* 2011. № 6. P. 5–8 (in Russian).
23. Voigt E.A., Kennedy R.B., Poland G.A. Defending against smallpox: a focus on vaccines // *Expert Rev Vaccines.* 2016. V. 15(9). P. 1197–1211. <https://doi.org/10.1080/14760584.2016.1175305>
24. Verardi P.H., Titong A., Hagen C.J. A vaccinia virus renaissance // *Human Vaccines and Immunotherapeutic.* 2012. V. 8. P. 961–970. <https://doi.org/10.4161/hv.21080>
25. Wizer I., Balicer R., Cohen D. An update on smallpox vaccine candidates and their role in bioterrorism related vaccination strategies // *Vaccine.* 2007. V. 25. P. 976–984. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.09.046>
26. Murphy F.A., Osburn B.I. Adventitious agents and smallpox vaccine in strategic national stockpile // *Emerg. Infect. Dis.* 2005. V. 11. P. 1086–1089. <https://doi.org/10.3201/eid1107.050277>
27. Andzhaparidze O.G., Chernos V.I. Research to improve smallpox vaccine: the contribution to the elimination of smallpox in the world // *Vopr. Virusol.* 1982. № 4. P. 4–10 (in Russian).
28. Babkin I.V., Babkina I.N. A retrospective study of the orthopoxvirus molecular evolution // *Infect. Genet. Evol.* 2012. V. 12. P. 1597–1604. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.07.011>
29. Onishchenko G.G., Maksimov V.A., Vorob'ev A.A., Podkuiko V.N., Mel'nikov S.A. The relevance of the return to smallpox, problems and prospects // *Vestnik RAMN.* 2006. № 7. P. 32–38 (in Russian).
30. Frey S. E., Newman F. K., Kennedy J. S. et al. Comparison of the safety and immunogenicity of ACAM1000, ACAM2000 and Dryvax® in healthy vaccinia-naive adults // *Vaccine.* 2009. V. 27 (10). P. 1637–1644. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.11.079>
31. Matsevich G.R. Inactivated smallpox vaccine. Vaccination issue and role of allergies in the vaccination process. Leningrad: 1969, P. 69–71 (in Russian).
32. Matsevich G.R., Svet-Moldavskaya I.A. Smallpox vaccine inactivated by gamma-rays: its antigenic and immunogenic properties // *Vopr. Virusol.* 1970. № 3. P. 316–322 (in Russian).
33. Perekrest V.V., Movsesyants A.A., Mukhacheva A.V. et al. Preparations for the specific prevention of smallpox registered in Russian Federation // *Biopreparaty.* 2013. № 2. P. 4–13 (in Russian).
34. Fogg C.N., Americo J.L., Lustig S. Adjuvant-enhanced antibody response to recombinant proteins correlates with protection of mice and monkeys to orthopoxvirus challenges // *Vaccine.* 2007. V. 25. P. 2787–2799. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.12.037>
35. Fogg C., Lustig S., Whitbeck J.C. et al. Protective immunity to vaccinia virus induced by vaccination with multiple recombinant outer membrane proteins of intracellular and extracellular virions // *J. Virol.* 2004. V. 78(19). P. 10230–10237. <https://doi.org/10.1128/JVI.78.19.10230-10237.2004>
36. Vorob'ev A.A., Podkuiko V.N., Mikhailov V.V., Makhlai A.A. Nonparenteral immunization methods against smallpox // *Zhurn. Mikrobiol.* 1996. № 5. P. 117–121 (in Russian).

37. Vorob'ev A.A., Podkuiko V.N., Mikhailov V.V. Results of basic and applied investigations on oral immunization against smallpox // *Zhurn. Mikrobiol.* 2002. № 1. P. 12–18 (in Russian).
38. Vorob'ev A.A., Podkuiko V.N., Maksimov V.A. Oral vaccination against smallpox (on the return of smallpox vaccination) // *Vestn. RAMN.* 2003. № 1. P. 5–10 (in Russian).
39. Maksimov V.A., Mel'nikov S.A., Bektimirov T.A. et al. Selection and evaluation of immunogenicity and reactogenicity of the optimal immunizing dose TEOVak for primary immunization when testing vaccine in limited group of adults // Materials of the 6th interstate scientific-practical conference «Sanitary protection of the territory of the states-participants SNG: Problems of biological security and countering terrorism in modern conditions». Volgograd. 2005. P. 257–258 (in Russian).
40. Mel'nikov S.A., Podkuiko V.N., Khamitov R.A. et al. Clinical studies of vaccine TEOVak under the conditions of remote revaccination // *Zhurn. Mikrobiol.* 2005. № 6. P. 29–33 (in Russian).
41. Podkuiko V.N., Krasnyanskii V.P., Vorob'ev A.A. et al. Peroral immunization – a method for enhancing the safety of recombinant vector (the vaccinia virus) // *Vestnik RAMN.* 1993. № 2. P. 39–45 (in Russian).
42. Kidokoro M., Tashiro M., Shida H. Genetically stable and fully effective smallpox vaccine strain constructed from highly attenuated vaccinia LC16m8 // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005. V. 102(11). P. 4152–4157. <https://doi.org/10.1073/pnas.0406671102>
43. Drexler I., Heller K., Wahren B., Erfle V., Sutter G. Highly attenuated modified vaccinia virus Ankara replicates in baby hamster kidney cells, a potential host for virus propagation, but not in various human transformed and primary cells // *J. Gen Virol.* 1998. V. 79(Pt 2). P. 347–352. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-79-2-347>.
44. Empig C., Kenner J.R., Perret-Gentil M. Highly attenuated smallpox vaccine protects rabbits and mice against pathogenic orthopoxvirus challenge // *Vaccine.* 2006. V. 24. P. 3686–3690. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2005.03.029>
45. Vollmar J., Arndtz N., Eckl K.M. Safety and immunogenicity of «IMVAMUNE», a promising candidate as a third generation smallpox vaccine // *Vaccine.* 2006. V. 24 (12). P. 2065–2070. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2005.11.022>
46. Vollmar J., Pokorny R., Rapp P. A randomized, double-blind, dose-finding phase II study to evaluate immunogenicity and safety of the third generation smallpox vaccine candidate «Imvamune» // *Vaccine.* 2010. V. 28. P. 1209–1216.
47. Amara R.R., Nigam P., Sharma S. et al. Long-lived poxvirus immunity, robust CD4 help, and better persistence of CD4 than CD8 T cells // *J. Virol.* 2004. V. 78(8). P. 3811–3816.
48. Wyatt L.S., Earl P.L., Eller L.A., Moss B. Highly attenuated smallpox vaccine protects mice with and without immune deficiencies against pathogenic vaccinia virus challenge // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004. V. 101(13). P. 4590–4595. <https://doi.org/10.1073/pnas.0401165101>
49. Sergeev A.A., Sergeev A.N. et al. Reactogenicity, safety and immunogenicity of a recombinant bivalent vaccine against smallpox and hepatitis B in limited clinical trials // *Vopr. Virusol.* 2004. № 5. P. 22–26 (in Russian).
50. Maksytov R.A., Yakubitskiy S.N., Kolosova I.V., Shchelkunov S.N. Comparing new-generation candidate vaccines against human orthopoxvirus infections // *Acta Naturae.* 2017. V. 9. P. 88–93.
51. Yakubitskiy S.N., Kolosova I.V., Maksytov R.A., Shchelkunov S.N. Attenuation of vaccinia virus // *Acta Naturae.* 2015. V. 7. P. 113–121.
52. Tartaglia J., Perkus M.E., Taylor J. et al. NYVAC: a highly attenuated strain of vaccinia virus // *Virology.* 1992. V. 188. P. 217–232.
53. Doria-Rose N.A., Haigwood N.L. DNA vaccine strategies: candidates for immune modulation and immunization regimens. // *Methods.* 2003. V. 31. P. 207–216.
54. Hooper J.W., Custer D.M., Thompson E. Four-gene-combination DNA vaccine protects mice against a lethal vaccinia virus challenge and elicit appropriate antibody responses in nonhuman primates // *Virology.* 2003. V. 306. P. 181–195.
55. Otero M., Calarota S.A., Dai A. et al. Efficacy of novel plasmid DNA encoding vaccinia antigens in improving current smallpox vaccination strategy // *Vaccine.* 2006. V. 24(21). P. 4461–4470. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2005.08.010>
56. Pulford D.J., Gates A., Bridge S.H. et al. Differential efficacy of vaccinia virus envelope proteins administered by DNA: minimisation in protection of BALB/c mice from a lethal intranasal poxvirus challenge // *Vaccine.* 2004. V. 22(25–26). P. 3358–3366. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2004.02.034>
57. Phelps A., Gates A.J., Hillier M. et al. Comparative efficacy of replicating smallpox vaccine strains in a murine challenge model // *Vaccine.* 2005. V. 23(27). P. 3500–3507. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2005.02.005>
58. Berhanu A., Wilson R.L., Kirkwood-Watts D.L. Vaccination of BALB/mice with Escherichia coli – expressed vaccinia virus proteins A27L, B5R, and D8L protects mice from lethal vaccinia virus challenge // *J. Virol.* 2008. V. 82. P. 3517–3529. <https://doi.org/10.1128/JVI.01854-07>
59. Crotty S., Feigner P., Davies H. et al. Cutting edge: long-term B cell memory in humans after smallpox vaccination // *J. Immunol.* 2003. V. 171(10). P. 4969–4973.
60. Borisevich S.V., Mikhailov V.V., Bektimirov T.A., Perekrest V.V., Makhlai A.A., Podkuiko V.N. Assessment of the possibility of using vaccine virus strains to construct a recombinant AIDS vaccine on their basis // *Russkii zhurnal «VICH SPID i rodstvennyye problemy».* 2001. № 2. P. 72–87 (in Russian).
61. Plyasunov I.V., Sergeev A.N., Sergeev A.A. et al. Clinical trials of oral recombinant bivalent vaccine against variola and hepatitis B during double vaccination // *Vopr. Virusol.* 2006. № 2. P. 31–35 (in Russian).

**Authors**

Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of Defence of the Russian Federation. Oktyabrskiy Street 11, Sergiev Posad 141306, Russian Federation.

*Sergey Vladimirovich Borisevich.* Head of the FSBE «48 Central Scientific Research Institute». Doctor of Biological Sciences, Corresponding Member of RAS.

*Valery Nikolayevich Podkuyko.* Leading Researcher. Doctor of Medical Science.

*Aleksei Petrovich Pirozhkov.* Leading Researcher. Candidate of Medical Sciences.

*Aleksandr Ivanovich Terent'ev.* Leading Researcher. Doctor of Biological Sciences.

*Vladimir Pavlovich Krasnyansky.* Leading Researcher. Doctor of Biological Sciences.

*Evgenii Vsevolodovich Rozhdestvensky.* Head of the Scientific Research Department. Candidate of Medical Sciences.

*Stanislav Viktorovich Nazarov.* Senior Researcher.

Department of the Head of the Nuclear, Biological and Chemical Protection Troops of the Russian Armed Forces. 141306, Moscow, Frunzenskay Emb. 22/2.

*Stanislav Viktorovich Kuznecov.* Head of the Department. Doctor of Medical Sciences.

**Contact information for all authors:** 48cnii@mil.ru

**Contact person:** Sergey Vladimirovich Borisevich; 48cnii@mil.ru