

# РАЗРАБОТКА ВАКЦИННЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ПОЛИОМИЕЛИТА: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ (ОБЗОР)

DOI: 10.17691/stm2019.11.4.22

УДК 578.7:615.371:616.988.23

Поступила 12.08.2019 г.



**А.А. Ишмухаметов**, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, генеральный директор<sup>1</sup>;  
зав. кафедрой организации и технологии производства иммунобиологических препаратов<sup>2</sup>;

**А.А. Синугина**, руководитель производственного направления<sup>1</sup>;

**К.М. Чумаков**, доктор наук, сотрудник Центра по оценке и исследованию биологических продуктов<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН, поселение Московский, поселок Института полиомиелита, домовладение 8, корпус 1, Москва, 108818;

<sup>2</sup>Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет), ул. Трубецкая, 8, стр. 2, Москва, 119991;

<sup>3</sup>Office of Vaccines Research and Review, Center for Biologics Evaluation and Research, Food and Drug Administration, 10903 New Hampshire Avenue, Silver Spring, MD 20993, USA

История разработки и применения вакцин против полиомиелита отражает эволюцию препаратов для вакцинации под воздействием меняющейся эпидемиологической обстановки и социально-экономических факторов.

Разработка двух вакцин против полиомиелита — инактивированной вакцины Солка и живой оральной вакцины из штаммов Сэбина, каждой со своими преимуществами и недостатками, — числится в списке наиболее значимых достижений профилактической медицины прошлого века. За последние 50 лет они применялись в различных условиях, по разным схемам и в различных комбинациях. Это позволило добиться полного устранения полиомиелита почти во всех странах мира. Продолжение деятельности по его ликвидации, возглавляемой ВОЗ, может в скором времени привести к полному прекращению циркуляции диких штаммов вируса. В таком случае полиовирус, как и вирус натуральной оспы, останется лишь в лабораториях. Однако остановить вакцинацию после прекращения циркуляции патогена, как было в случае с уничтожением вируса оспы, не представляется возможным. Вакцины против полиомиелита не потеряют своей актуальности в ближайшем будущем ввиду наличия выраженных различий в свойствах и эпидемиологических характеристиках этих двух вирусов.

**Ключевые слова:** полиомиелит; полиовирус; живая аттенуированная вакцина; инактивированная вакцина.

**Как цитировать:** Ishmukhametov A.A., Siniugina A.A., Chumakov K.M. The development of polio vaccines: the current update (review). *Sovremennye tehnologii v medicine* 2019; 11(4): 200–215, <https://doi.org/10.17691/stm2019.11.4.22>

## English

### The Development of Polio Vaccines: the Current Update (Review)

**A.A. Ishmukhametov**, MD, DSc, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, General Director<sup>1</sup>; Head of the Department of Organization and Technology of Immunobiological Production<sup>2</sup>;

**A.A. Siniugina**, Production Manager<sup>1</sup>;

**K.M. Chumakov**, DSc, Staff Member, Center for Biologics Evaluation and Research<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products, Russian Academy of Sciences, Moscow Settlement, 8/1 Village of Institute of Poliomyelitis, Moscow, 108818, Russia;

<sup>2</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), 8/2 Trubetskaya St., Moscow, 119991, Russia;

<sup>3</sup> Office of Vaccines Research and Review, Center for Biologics Evaluation and Research, Food and Drug Administration, 10903 New Hampshire Avenue, Silver Spring, MD 20993, USA

**Для контактов:** Ишмухаметов Айдар Айдарович, e-mail: [ishmukhametov@chumakovs.su](mailto:ishmukhametov@chumakovs.su)

The dramatic history of the development and use of polio vaccines reflects the evolution of vaccine preparations under the influence of changing epidemiological conditions and socio-economic factors.

The invention of two polio vaccines — the inactivated Salk vaccine and the live oral vaccine from Sabin strains, each with its own advantages and disadvantages — is on the list of the most significant medical achievements of the XX century. Over the past 50 years, these vaccines were used in various modalities, schemes, and combinations. As a result, poliomyelitis has been completely eradicated in almost all countries of the world. The sustained WHO-led efforts toward full eradication of the disease are expected to result in complete cessation of the virus circulation. In this case, the poliovirus, like the smallpox virus, will remain only in laboratories. However, it would be unreasonable to stop the vaccination even after the pathogen circulation has been stopped like it was in the case with the elimination of smallpox virus. Unlike the smallpox vaccination, vaccines against poliomyelitis will not lose their relevance in the near future because these two viruses significantly differ from each other in terms of biological and epidemiological characteristics.

**Key words:** poliomyelitis; poliovirus; live attenuated vaccine; inactivated vaccine.

## Введение

Вакцины занимают особое место среди медицинских продуктов. Самые ранние из них были изобретены очень давно. Некоторые вакцины до сих пор производятся методами, разработанными несколько веков назад. Однако повышение требований к безопасности, а также к эффективности применения и производства вынуждает производителей вакцин использовать современные методы и разрабатывать инновационные подходы.

Вакцины против полиомиелита числятся в списке наиболее часто используемых и эффективных и служат эталоном для других вакцинных препаратов. Более 60 лет назад вакцины против этого страшного заболевания позволили практически избавиться от него в подавляющем числе стран мира. Такие резкие изменения эпидемиологии полиомиелита и переоценка обществом значения вакцин в контексте превалирования потенциальной пользы над риском осложнений привели к ряду важных изменений в программах вакцинации против полиомиелита.

Курс на полное избавление от заболевания в ближайшем будущем диктует необходимость замены ныне используемых вакцин на более совершенные, со свойствами, более подходящими для применения в условиях полной ликвидации вируса. Этот факт является наглядным примером эволюции вакцин, движимой изменениями эпидемиологической обстановки и социально-экономических факторов, а также объясняет необходимость непрерывного совершенствования методов их производства.

В данном обзоре представлены общая информация о полиомиелите и история создания вакцин против этого заболевания.

## Общая характеристика полиомиелита

Полиомиелит (воспаление серого вещества спинного мозга, от греч. *polios* — серый и *myelos* — спинной мозг) — острое инфекционное заболевание, вызываемое одним из трех серологических типов вируса полиомиелита (полиовируса), клинические проявления которого варьируют от бессимптомной инфекции,

легкого недомогания до тяжелых распространенных параличей в случае проникновения вируса в ЦНС и необратимого поражения двигательных клеток — мотонейронов серого вещества передних рогов спинного мозга и ядер черепно-мозговых нервов ствола головного мозга.

Заболевание было впервые описано в XVIII в. британским врачом Майклом Ундервудом [1], но человечество столкнулось с полиомиелитом многими столетиями ранее. Найденные в Египте изображения людей с характерными проявлениями полиомиелита свидетельствуют о его существовании в XIV–XVI в. до н.э. Однако вплоть до конца XIX и начала XX в. полиомиелит был спорадическим заболеванием, поражающим преимущественно детей (за что получил название «детский паралич») [2–5], которое не привлекало большого внимания на фоне эпидемий чумы, холеры, оспы. На рубеже XX в. свойства болезни изменились и ее вспышки постепенно приобрели характер эпидемий, наблюдавшихся во всем мире [6–8]. Причиной такого рода трансформации послужило соблюдение правил гигиены благодаря изменениям социально-экономических факторов. В прошлом большинство детей имели первый контакт с вирусом в совсем раннем возрасте. Тогда они находились под защитой антител матери и были в меньшей степени подвержены эффектам вируса. Уровень заболеваемости был невысоким — болезнь поражала одного из нескольких сотен зараженных. Благодаря такому раннему контакту с вирусом подавляющее большинство детей, у которых не развилось заболевание, получали иммунитет на всю жизнь. Таким образом, дикие штаммы полиовируса сами обеспечивали вакцинацию людей и тем самым ограничивали свое распространение. Развитие санитарных условий и гигиены сместило время первого контакта ребенка с вирусом на более поздний возрастной период, когда у молодого организма уже не было антител матери. В результате частота возникновения паралича возросла. Снижение коллективного иммунитета создало условия для стремительного распространения вируса, увеличения размера эпидемических вспышек и повышения тяжести заболевания.

Первая крупная вспышка полиомиелита в Европе (1031 случай) была описана в 1905 г. в Швеции.

В США первый отчет о множественных случаях полиомиелита в одном штате был опубликован в 1843 г., а уже в 1916 г. в стране была объявлена эпидемия полиомиелита (27 тыс. случаев заболевания, 6 тыс. — с летальным исходом). В России описания небольших вспышек полиомиелита (несколько десятков случаев) стали появляться с 1905 г. В СССР до применения вакцин наблюдали неуклонное нарастание эпидемической заболеваемости, которая достигла максимума в 1958 г. — более 13 тыс. случаев (10,66 на 100 тыс. населения) [9].

**Этиология полиомиелита.** В 1909 г. австрийские исследователи К. Ландштейнер и Э. Поппер [2] впервые сообщили об успешной изоляции полиовируса. В это же время С. Флекснер и П. Льюис [10] показали, что обезьяны также подвержены заражению вирусом и способны вырабатывать к нему иммунитет путем как пассивной (введение антител, полученных от животных с уже выработанным иммунитетом), так и активной иммунизации [11]. Дальнейшие исследования позволили узнать о существовании трех отличных друг от друга серотипов полиовируса [12–14].

Название «вирус полиомиелита (полиовирус)» объединяет три антигенно различных вируса (типы 1, 2, 3), принадлежащих к роду *Enterovirus* [15] семейства *Picornaviridae* [16].

Возбудители полиомиелита — РНК-содержащие энтеровирусы семейства *Picornaviridae* рода *Enterovirus*, куда входят также Коксаки- и ЕСНО-вирусы. Вирусная частица небольшого размера (27–30 нм в диаметре) не имеет липопротеидной оболочки, внутри капсида икосаэдрической симметрии заключен геном, представленный одноцепочечной РНК положительной полярности длиной около 7500 нуклеотидов. Капсид состоит из 60 копий каждого из четырех капсидных белков (VP1–VP4), определяющих антигенную специфичность полиовирусной частицы. Цикл репродукции полиовируса в клетке занимает около 7 ч. Проникновение полиовируса в живую клетку происходит с помощью специфического рецептора CD155 — гликопротеина, относящегося к суперсемейству иммуноглобулинов, который расположен на цитоплазматической мембране клеток человека и обезьян. Прикрепление к рецептору обуславливает изменения в структуре капсида, необходимые для попадания в цитоплазму. Ни один другой пикорнавирус не способен использовать этот белок как клеточный рецептор. После этапа проникновения происходят трансляция и репликация вирусного генома, созревание вирусных частиц, выход из клетки, что сопровождается ее лизисом [17–19]. Наиболее нейровирулентным из всех трех серотипов является полиовирус типа 1.

Современная классификация штаммов вируса полиомиелита (независимо от серотипа) подразделяет их на основании генетического родства с вакцинным штаммом Сэбина, которое определяется по количеству нуклеотидных замен на участке фрагмента генома полиовируса, кодирующего белок VP1 [20–24].

Полиовирус является одним из наиболее устойчивых к воздействию внешних факторов (температуры, изменению pH, действию дезинфектантов) вирусом. В лабораторных условиях он сохраняет жизнеспособность в течение многих лет при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$ , многих месяцев — при температуре  $2-4^{\circ}\text{C}$ . В течение нескольких месяцев вирус может сохраняться в объектах внешней среды, загрязненных фекальными выделениями человека (почве, сточных водах, воде поверхностных водоемов). Полиовирус не разрушается пищеварительным соком. При нагревании до  $50^{\circ}\text{C}$  погибает в течение 30 мин. Быстро разрушается при кипячении, под действием ультрафиолетового облучения и при высушивании. Быстро инактивируется под воздействием дезинфектантов [25].

**Патогенез.** Все три типа полиовируса могут вызывать острую инфекцию. Первичное размножение вируса в организме человека происходит в миндалинах, кишечных М-клетках, пейеровых бляшках кишечника, брыжеечных лимфатических узлах. Вирус проникает в кровь, а из кровяного русла в части случаев — в ЦНС, где распространяется вдоль нервных волокон и в процессе внутриклеточного размножения может повредить или полностью разрушить нервные клетки. Размножение вируса происходит преимущественно в мотонейронах передних рогов спинного мозга, что приводит к их гибели и развитию вялого паралича мышц. Иногда могут быть затронуты клетки ствола мозга, возбуждающие дыхательные мышцы, в результате дыхание затрудняется и развивается бульбарный паралич [25].

**Резервуар и источник инфекции.** Резервуаром и источником инфекции в естественных условиях является человек, больной или носитель [25, 26]. В течение первых дней после инфицирования до появления выраженных клинических симптомов вирус может быть обнаружен в крови и глоточной слизи, фекалиях. Для вирусологической диагностики принципиальное значение имеет массивное ( $10 \cdot 10^6$  вирусных частиц в 1 г) выделение вируса с фекалиями в течение 3–4 нед (до 2 мес) независимо от формы инфекции. Экскреция вируса может быть прерывистой, количество его постепенно снижается.

Механизмы передачи возбудителя — фекально-оральный (основной) и аэрозольный (вероятный), а также вертикальная передача (возможная). Пути передачи — водный, пищевой, контактно-бытовой, воздушно-капельный.

Естественная восприимчивость людей высокая, однако клинически выраженная инфекция встречается гораздо реже носительства: на один манифестный случай приходится от 100 до 1000 случаев бессимптомного носительства полиовируса. Поэтому с точки зрения эпидемической значимости случаи бессимптомного носительства или бессимптомной инфекции представляют большую опасность.

Постинфекционный иммунитет (пожизненный) — типоспецифический (только к определенному типу по-

лиовируса), поэтому человек, перенесший инфекцию одним из серотипов полиовируса, остается восприимчивым к инфицированию другими серотипами.

Длительность инкубационного периода при остром полиомиелите колеблется от 4 до 30 дней. Наиболее часто этот период длится от 6 до 21 дня.

**Клиническая картина.** В исследованиях, проведенных на обезьянах, была получена основная информация о характеристиках полиомиелитной инфекции [25–28]. Установлено, что все люди восприимчивы к ней и практически каждый человек оказывается инфицированным. Почти у 85% инфицированных лиц инфекция протекает бессимптомно, приблизительно у 15% — как легкое или средней тяжести лихорадочное заболевание и только примерно у 0,1–1% она вызывает поражения ЦНС — параличи, парезы, менингиты.

Клинические проявления полиомиелита варьируют от бессимптомной инфекции до тяжелых распространенных параличей. Выделяют четыре формы проявления полиовирусной инфекции.

1. Инаппарантная (вирусоносительство) — не сопровождается какими-либо клиническими симптомами, инфекционный процесс ограничивается размножением вируса в верхних дыхательных путях и кишечнике. Диагностика осуществляется только по данным вирусологического обследования. Составляет примерно 72% всех случаев инфицирования.

2. Abortивная (малая болезнь) — характеризуется общими инфекционными симптомами без признаков поражения нервной системы: умеренными лихорадочными явлениями, недомоганием, головной болью, тошнотой, иногда катаральными явлениями, дисфункцией кишечника. При abortивной форме обычно выявляется вирусемия. Составляет около 24% случаев инфицирования.

3. Менингеальная — обусловлена проникновением вируса в ЦНС и воспалительной реакцией оболочек мозга. Характеризуется острым началом, протекает с синдромом серозного менингита, лихорадкой, сильной головной болью, ригидностью затылка, рвотой, иногда сопровождается болями в конечностях, шее, спине. Составляет 4% случаев.

4. Паралитическая — следствие проникновения вируса в ЦНС. Составляет менее 1%.

Течение паралитического полиомиелита принято делить на 4 периода: препаралитический, паралитический, восстановительный и резидуальный. Препаралитический период наступает после инкубационного, длительность его переменна (от нескольких часов до 3–6 сут). Начинается остро, с лихорадки, симптомов интоксикации, возможно возникновение катаральных явлений со стороны ротоглотки, диспептических явлений. Паралитический период характеризуется появлением двигательных нарушений (чаще всего параличи наступают в утренние часы), которые нарастают в течение нескольких часов, но не более 3 дней. Спустя 2–3 нед наступает восстановительный период (6–12 мес), в течение которого происходит

восстановление нарушенных двигательных функций. В наименее пораженных мышцах удается достичь лишь частичного восстановления, тяжело пораженные мышцы остаются полностью парализованными. Сохраняющиеся после истечения восстановительного периода параличи относят к остаточным явлениям паралитического полиомиелита, они формируют резидуальный период на всю жизнь. Примерно у 20–25% больных, перенесших паралитический полиомиелит, через 20–50 лет после этого заболевания развивается состояние, обозначаемое как постполиомиелитический синдром — В91 по МКБ-10. Это медленно прогрессирующий синдром, который характеризуется симптомами мышечной слабости, утомляемости, миалгиями, артралгиями, дыхательными нарушениями. Затрагивает как атрофированные, так и ранее не пораженные мышцы.

В зависимости от анатомического расположения поражения моторных нейронов спинного мозга или ствола мозга различают спинальную, бульбарную, понтинную и смешанные (понтоспинальную, бульбоспинальную) клинические формы.

Многообразие клинических форм проявления инфекционного процесса и преобладание бессимптомной инфекции, поддерживающей скрыто развивающийся эпидемический процесс, являются факторами, осложняющими ликвидацию полиомиелита.

**Специфическая лабораторная диагностика.** Проводится диагностика случаев заболевания с синдромом острого вялого паралича (ОВП) в целях выявления паралитического полиомиелита, вызванного полиовирусом. Она включает клиническое обследование, лабораторное вирусологическое и серологическое исследования, инструментальные и клинические исследования, выявление и оценку остаточных неврологических симптомов спустя 60 дней после начала заболевания [25, 26, 29]. При характерной клинической картине наблюдают острое начало (от нескольких часов до 1–2 дней), периферические парезы и параличи, пораженность проксимальных отделов конечностей, асимметричность параличей. При этом сохранена чувствительность, функции тазовых органов не нарушены.

Поскольку синдром ОВП может иметь различную этиологию (инфекционную, токсическую, неврологическую, травматическую), подтверждение вирусной природы заболевания является решающим при постановке диагноза. Диагноз устанавливается на основании результатов вирусологического исследования образцов стула (отбирают две пробы фекалий с интервалом 24–48 ч). Пробы должны быть отобраны не позднее 14-го дня от начала паралича. Вирусологическое исследование включает выделение вируса на культуре клеток, его идентификацию с помощью методов молекулярной биологии (ПЦР с обратной транскрипцией в режиме реального времени), генотипирование с помощью частичного секвенирования участка генома VP1. Для серологического исследования (определение

уровня вируснейтрализующих антител в сыворотке крови) отбирают два образца — в начале заболевания и через 3 нед. Диагностически значимым признается 4-кратное нарастание уровня антител [30].

Повторный осмотр и отбор проб фекалий для лабораторного исследования от больных полиомиелитом, в том числе вакциноассоциированным паралитическим полиомиелитом (ВАПП), проводят на 60-й и 90-й дни от начала паралича.

В случае летального исхода исследуют секционный материал (ткани шейного и поясничного отделов спинного мозга, продолговатого мозга, Варолиева моста, нисходящего отдела толстой кишки, содержимое кишечника).

В РФ лабораторные исследования материалов от больных полиомиелитом/ОВП выполняют учреждения, назначенные Министерством здравоохранения для проведения этих работ и аккредитованные ВОЗ. Они входят в Глобальную лабораторную сеть по полиомиелиту ВОЗ.

**Дифференциальная диагностика.** Проводят с полирадикулонейропатией, синдромом Гийена–Барре, острым миелитом, серозными менингитами, невритом лицевого нерва, костно-суставной патологией, ботулизмом, клещевым вирусным энцефалитом, острым полиомиелитом другой этиологии (вызванным вирусами Коксаки, ЕСНО, энтеровирусом 71 и др.) [27].

**Лечение.** Развитие клинических симптомов, pozorительных на острый полиомиелит, требует срочной госпитализации больного и строгого постельного режима [27, 28]. Физический покой имеет большое значение в препаралитической фазе как для уменьшения степени тяжести развивающихся в дальнейшем параличей, так и для их предупреждения. Необходимо сократить до минимума различные манипуляции, в том числе внутривенные и внутримышечные инъекции. Специфического лечения, блокирующего вирус полиомиелита, не существует. Введение человеческого иммуноглобулина в высоких дозах малоэффективно. С учетом этих обстоятельств еще большее значение приобретает предупреждение заболевания путем плановой иммунопрофилактики детского населения.

В паралитическом периоде большое значение имеет физиологическая укладка больного, что помогает минимизировать негативные последствия параличей. Лечение тяжелых распространенных форм полиомиелита проводится в условиях палаты интенсивной терапии. После окончания острого периода необходимы лечебная физкультура, массаж, физиотерапия. В дальнейшем показано санаторно-курортное лечение.

**Прогноз.** При инаппарантной, абортивной, понтинной формах прогноз благоприятный. Исход паралитических форм полиомиелита зависит от тяжести поражения ЦНС [25]. При легких формах полное восстановление двигательных функций происходит в течение 2–3 мес. Наиболее тяжело протекают бульбарные и бульбарно-спинальные формы полиомиелита, сопровождающиеся глубокими парезами и парали-

чами мышц туловища и конечностей. Двигательные функции восстанавливаются крайне медленно, первые движения появляются на 4–5-м месяце болезни, дальнейшее восстановление движений может быть лишь частичным. Стойкие парезы и параличи без тенденции к восстановлению являются остаточными явлениями полиомиелита, имеют дифференциально-диагностическое значение.

До начала массовой вакцинации летальные исходы у непривитых достигали 5–7%. В большинстве случаев летальный исход наступал в течение первых двух недель от начала заболевания, уровень смертности и степень инвалидизации были наиболее высокими у детей старшего возраста и подростков [25].

**Осложнения.** К осложнениям полиомиелита относят пневмонии, ателектазы легких, миокардит; при бульбарной форме могут развиваться острое расширение желудка, желудочно-кишечные расстройства с кровотечениями, язвами, непроходимостью кишечника.

Тяжелое течение спинальных форм полиомиелита сопровождается полным параличом. Заболевание заканчивается формированием остаточных явлений с грубыми нарушениями функций, атрофиями, костными деформациями и контрактурами. Переболевший полиомиелитом человек на всю жизнь остается инвалидом [25, 27].

**Факторы риска.** В современный период наибольшему риску заболевания полиомиелитом в случае завоза дикого вируса или появления циркулирующих вакцинородственных полиовирусов (ВРПВ) подвержены дети, не привитые против этой инфекции (получившие менее 3 прививок против полиомиелита) или привитые с нарушением сроков иммунизации. Факторами, увеличивающими риск проявления параличей при инфицировании вирусами полиомиелита, являются внутримышечные инъекции, физические упражнения, ранения и беременность.

**Проявления эпидемического процесса.** В довакцинальный период распространение заболевания полиомиелитом носило повсеместный и выраженный эпидемический характер. В условиях умеренного климата наблюдалась летне-осенняя сезонность. В странах с тропическим климатом чаще всего болели новорожденные и маленькие дети, в странах с умеренным климатом — дети школьного возраста. Однако вспышки в изолированных населенных районах могут вызывать паралитические формы и у людей старшего возраста. Так, наиболее крупные вспышки полиомиелита с большой долей паралитических случаев отмечались среди островных жителей или изолированных групп населения (например, эскимосов, религиозных сект). В период вспышек в основном заболевали невакцинированные или не полностью вакцинированные группы населения. Болезнь была вызвана чаще всего (74%) полиовирусом типа 1. Случаи инфицирования в развивающихся странах происходили чаще у детей до 2 лет, а в развитых странах — у людей стар-

шего возраста, которые оставались подверженными полиомиелиту. Поствакцинальный период характеризуется резким снижением заболеваемости полиомиелитом [31].

После сертификации ликвидации полиомиелита в Европейском регионе (2002), в том числе в Российской Федерации, основную угрозу представляет завоз дикого полиовируса из эндемичных или неблагополучных по полиомиелиту стран, а также появление ВРПВ. В 2010 г. в Республике Таджикистан была зарегистрирована крупная вспышка полиомиелита, вызванного диким полиовирусом. Заболело более 700 человек и впервые после 1996 г. вирус был завезен в Россию трудовыми мигрантами.

В период отсутствия заболеваний полиомиелитом, вызванных диким штаммом полиовируса, на первое место в России вышла проблема ВАПП. Все случаи этой разновидности полиомиелита были выявлены в рамках эпидемиологического надзора за ОВП. В целях исключения случаев ВАПП в календарь профилактических прививок введена вакцинация инактивированной (убитой) полиомиелитной вакциной Солка (ИПВ).

**Профилактические мероприятия.** Основным профилактическим мероприятием является плановая иммунизация детей. В России вакцинация и ревакцинация против полиомиелита проводятся в соответствии с Национальным календарем профилактических прививок вакцинами, разрешенными к применению в Российской Федерации [32].

С этой целью используются два типа вакцин — живая оральная полиовирусная вакцина из штаммов Сэбина и инактивированная вакцина Солка.

### Создание вакцин против полиомиелита

В XX в. нарастающая опасность вспышек полиомиелита привлекла внимание общественности и исследователей, активизирующих поиски способов борьбы с болезнью. Повышению интереса к проблеме и осведомленности о ней способствовал и тот факт, что президент США Франклин Рузвельт заболел полиомиелитом в возрасте 39 лет и до конца жизни был частично парализован. Вместе со своим другом Бэзиллом О'Коннором он содействовал учреждению Национального фонда по борьбе с детским параличом (National Foundation for Infantile Paralysis), который впоследствии стал известен как «Марш гривенников» (March of Dimes). Эта благотворительная организация занималась сбором денежных средств в пользу больных полиомиелитом и спонсированием исследований по профилактике заболевания.

В разработке вакцин против полиомиелита принимали участие множество ведущих ученых. Началу исследований способствовали появившиеся незадолго до этого данные, которые свидетельствовали, что сыворотка, полученная от реконвалесцентов, может обеспечить защиту от полиомиелита и что обезьяны

могут быть вакцинированы инактивированным вирусом [33, 34].

В 1949 г. Джон Эндерс, Томас Уэллер и Фред Роббинс сделали прорыв в работе над вакциной. Они получили клеточные культуры *in vitro*, которые могли поддерживать рост полиовируса в лабораторных условиях [35]. За это открытие, позволившее начать изучение полиовируса в лаборатории, и за разработку вакцин в 1954 г. они были удостоены Нобелевской премии по физиологии и медицине.

Последующие важные исследования выполнены Уильямом Хэммоном и другими учеными: они изучали возможность использования для защиты от болезни сыворотки, полученной от людей с иммунитетом к полиомиелиту. В ходе крупного клинического исследования было обнаружено, что гамма-глобулин в сыворотках обеспечивает стопроцентную защиту от паралича [36]. Это послужило неоспоримым доказательством достаточности гуморального иммунитета для защиты от полиомиелита и возможности создания вакцины, введение которой индуцировало бы такого рода иммунный ответ.

Исследования по разработке технологии изготовления вакцинных препаратов против полиомиелита велись в двух направлениях.

Группе ученых во главе с Д. Солком удалось создать трехвалентную инактивированную формалином вакцину на основе выращенных на клеточных культурах трех типов полиовируса [37]. В присутствии формалина вирус утрачивал инфекционность, но при этом сохранял свои иммуногенные свойства. Вакцину Д. Солка начали широко использовать в США в 1954 г., а уже к 1957 г. частота заболеваний паралитическим полиомиелитом снизилась в несколько раз, что подтвердило выводы исследователей о высокой профилактической эффективности препарата для вакцинации. Производство ИПВ было налажено в нескольких странах, и вакцина широко применялась вплоть до создания живой полиовирусной вакцины.

Следует отметить, что и в СССР в 1956 г. в Институте по изучению полиомиелита тоже было освоено производство вакцины Солка, а к 1958 г. объем выпускаемой в институте ИПВ достиг 5 млн. доз, но все же был совершенно недостаточен для обеспечения всей страны. Серьезным недостатком вакцины Солка стали высокая стоимость и необходимость повторных вакцинаций [38].

Целью других групп ученых была разработка вакцинных препаратов на основе аттенуированных штаммов полиовируса. Такие штаммы, пригодные для использования в качестве вакцинных, должны воспроизводить естественную инфекцию, но без параличей и с формированием длительного стойкого иммунитета к последующему заражению вирулентным диким вирусом [38].

После открытия Y.F. Enders и соавт. [35] способности вируса полиомиелита размножаться в культурах клеток были разработаны методы его титрования,

что позволило количественно оценивать степень аттенуации вируса полиомиелита по соотношению его титров в культуре клеток и при внутримозговом заражении обезьян. Стало возможным распознавать штаммы, обладающие сниженной нейровирулентностью для обезьян, и проводить широкие исследования по изучению изменчивости вируса и преобразованию высоко- или умеренно-нейровирулентных штаммов в варианты с относительной нейровирулентностью, пригодные для испытания в качестве вакцинных [38]. Так, Х. Копровский и его сотрудники разрабатывали технологию изготовления живой вакцины на основе адаптированных к мышам штаммов [39, 40]. Вакциной Копровского было иммунизировано около 20 млн. детей, и ее применение в ряде стран продолжалось вплоть до середины 70-х годов, когда стали использоваться более изученную к тому времени живую вакцину А. Сэбина.

Подробное описание происхождения аттенуированных вакцинных штаммов А. Сэбина опубликовано в 1973 г. [41]. Живая аттенуированная вакцина Сэбина — оральная полиовирусная вакцина (ОПВ) — вводилась перорально непосредственно в ротовую полость ребенка в виде только капли или капли, предварительно нанесенной на кубик рафинированного сахара.

Внедрение ОПВ в практику здравоохранения затруднялось какое-то время из-за конкуренции с довольно широко применявшейся в то время вакциной Солка и, главное, из-за сомнений в отношении безопасности применения живого (хотя и аттенуированного) полиовируса.

Вместе с тем в начале 1959 г. в Институте полиомиелита были изготовлены несколько партий экспериментальной ОПВ на основе аттенуированных штаммов А. Сэбина. Этой вакциной были привиты 13,5 млн. человек в возрасте до 20 лет [42]. Заболеваемость, носившая в то время эпидемический характер, была снижена в 3–5 раз. Полученные результаты оказались окончательным доказательством высокой эффективности и безопасности пероральной вакцины против полиомиелита.

Кроме того, положительное отношение как администрации США, так и широких народных масс к ОПВ значительно выросло из-за случившегося в 1955 г. инцидента с ИПВ в фармацевтической компании Cutter Laboratories [43]. Из-за ошибок при изготовлении ИПВ некоторые партии вакцины содержали, вероятно, не полностью инактивированный живой полиовирус. В результате этой аварии было зарегистрировано 79 случаев заболевания полиомиелитом среди привитых детей, 105 случаев — среди членов их семей и 20 случаев — среди контактирующих с ними лиц, а всего — 204 случая заболевания, из которых 11 закончились летальным исходом [44]. Этот инцидент заставил изменить нормы, регулирующие производство и использование вакцин, а кроме того, устранил все барьеры для широкого применения ОПВ.

## Проблемы замены оральной полиовирусной вакцины на инактивированную полиомиелитную вакцину

Инактивированная полиомиелитная вакцина была лицензирована 12 апреля 1955 г., ровно через десять лет после смерти самого известного больного полиомиелитом — президента Рузвельта. В США и европейских странах использование вакцины Солка привело к заметному снижению заболеваемости острым паралитическим полиомиелитом. Однако введение ИПВ не приводит к формированию стерильного иммунитета. Иными словами, несмотря на полную защиту от паралитической формы заболевания, вакцинированные лица могут быть инфицированы полиовирусом и заражать им окружающих. Таким образом, ИПВ нельзя считать эффективной с точки зрения эпидемиологии: вакцина не способна надлежащим образом остановить распространение вируса и нарушить пути его передачи. В отличие от нее ОПВ обеспечивает защиту тканей желудочно-кишечного тракта от инфекции и препятствует тем самым вирусной репликации и выделению полиовируса с калом. ОПВ обладает еще одним положительным свойством: после проведения вакцинации формируется коллективный иммунитет. Вакцинный вирус, введенный привитому ребенку, передается контактным способом родным, друзьям, близкому окружению, что приводит к их пассивной иммунизации. Это является, пожалуй, самым большим преимуществом живой вакцины над инактивированной наряду с более низкой стоимостью производства и простотой применения. В результате после лицензирования ОПВ в начале 1960-х гг. подавляющее число стран (за исключением трех скандинавских) в своих Национальных календарях прививок заменили ИПВ на ОПВ.

Как уже было сказано, производство ОПВ обходится дешевле, а ее введение не требует особых усилий. ИПВ вводится в организм путем внутримышечных инъекций, для выполнения которых требуется квалифицированный медицинский персонал. ОПВ же вводится перорально путем закапывания капли вакцины в рот ребенка, для чего нет необходимости привлечения специализированных медработников. Это является существенным преимуществом, особенно в бедных странах. Переходу от ИПВ к ОПВ также способствовал тот факт, что А. Сэбин предоставлял бесплатную лицензию на применение разработанных им аттенуированных штаммов полиовируса любой фирме, которая принимала бы во внимание его советы по производственному процессу ОПВ. В 1972 г. он передал свои штаммы полиовируса ВОЗ и предоставил ей право контроля за их использованием.

Несмотря на ряд очевидных преимуществ ОПВ, ее глобальное применение не обошлось без неприятных последствий. Первую проблему обнаружили вскоре после появления сообщений о редких случаях острого паралитического полиомиелита у детей, вакциниро-

ванных ОПВ [20–22, 45]. Исследователи долгое время подозревали о наличии взаимосвязи между очень редкими случаями паралитического полиомиелита и ОПВ, но не могли доказать ее существование. Лишь с введением в практику молекулярно-генетического исследования и методов секвенирования [23] удалось найти неопровержимое доказательство того, что возникающий ВАПП вызывается мутировавшим вакцинным вирусом, который заново приобретает нейровирулентные свойства (т.е. происходит реверсия вирулентности). Количество случаев ВАПП варьирует в разных странах. Согласно результатам одного из наиболее репрезентативных исследований, проведенных в США, при первичной вакцинации ВАПП развивался у одного из 600 000 вакцинированных лиц [24]. Таким образом, в США регистрировалось 5–10 случаев заболевания ВАПП в год, что вначале не привлекало особого внимания, поскольку смертность от полиомиелита, вызванного диким штаммом вируса, была значительно выше. Однако спустя некоторое время ВАПП стал ведущей формой полиомиелита в стране, что поставило в 1990-х гг. перед работниками здравоохранения вопрос об этических аспектах дальнейшего использования ОПВ. Тогда же стало доступным новое поколение ИПВ, и некоторые страны начали использовать схему вакцинации, при которой сначала вводилась ИПВ, а затем ОПВ. Впоследствии системы здравоохранения некоторых стран полностью отказались от применения ОПВ в пользу инактивированной вакцины.

Позднее было сделано еще одно неприятное открытие: мутировавший вакцинный полиовирус может не только приводить к развитию параличей у вакцинированных детей и лиц из их непосредственного окружения, но и распространяться в популяции, вызывая вспышки острого паралитического полиомиелита. Открытие циркулирующих ВРПВ было сделано на острове Гаити в 2000 г. [46]. С этого времени были выявлены десятки вспышек острого паралитического полиомиелита, вызванного ВРПВ всех трех типов полиовируса [47, 48]. Однако чаще всего возникновение таких вспышек было обусловлено ВРПВ типа 2.

Сомнения касательно дальнейшего использования ОПВ еще больше возросли с обнаружением иных типов вакциноассоциированного вируса полиомиелита, выделенных от лиц, хронически инфицированных полиовирусом [49, 50]. Пациенты с некоторыми типами первичных иммунодефицитов, характеризующимися нарушением продукции антител (агаммаглобулинемией), после проведения иммунизации могут стать хроническими носителями вакцинного штамма полиовируса и постоянно выделять его в окружающую среду в течение длительного времени (часто в течение многих лет). Длительное выделение полиовируса наблюдалось также и у здоровых лиц [51]. Открытие трех типов ВРПВ окончательно разрушило устоявшиеся убеждения в том, что штаммы Сэбина неспособны к полной реверсии вирулентности, и заставило уче-

ных осознать серьезную опасность, представляемую данным феноменом. В настоящее время общепризнанным является тот факт, что вирулентность ВРПВ может быть сопоставимой с вирулентностью диких штаммов полиовируса. Неизбежность их появления в регионах, где для вакцинации используют ОПВ, стала серьезным основанием для перехода от ОПВ к ИПВ, особенно в странах, избавившихся от циркуляции диких штаммов полиовируса.

Переход к ИПВ стал возможен благодаря значительному усовершенствованию учеными Национального института общественного здравоохранения и окружающей среды в Нидерландах технологии производства ИПВ с повышенной специфической активностью [52]. В отличие от использования классической вакцины Солка, получаемой путем инактивирования формалином вируса, содержащегося в зараженных клеточных культурах, они предложили, во-первых, для культивирования клеток вместо обычной монослойной культуры применять биореакторы, в которых клетки выращивались в подвешенном состоянии на специальных микрогранулах. Этот метод обеспечивал гораздо более высокую плотность клеток и, соответственно, большее количество вирусных частиц. Во-вторых, очистку вируса ученые рекомендовали производить с использованием сочетания гель-фильтрационной и ионообменной хроматографии, что позволяло в значительной степени очистить культуру от большинства клеточных элементов. В результате каждая доза ИПВ содержала большее количество антигена, что обуславливало ее более высокую активность. Подобная технология используется и в настоящее время производителями ИПВ.

Процесс постепенной замены ОПВ на ИПВ продолжается до сих пор. С улучшением экономической ситуации в той или иной стране начинают использовать более дорогостоящие способы профилактики. Замена ОПВ на ИПВ способствовало внедрению комбинированных вакцин, в которых помимо ИПВ присутствуют и другие вакцинные препараты. Так, ИПВ стала вводиться в комбинации с вакцинами против дифтерии, столбняка, гепатита В, гемофилии и коклюша. Это позволяет не перегружать Национальные календари прививок дополнительными вакцинами и, соответственно, инъекциями.

На пути замены ОПВ на ИПВ стоит ряд серьезных препятствий, наиболее важные из которых — высокая стоимость вакцины и необходимость привлечения квалифицированного медицинского персонала для проведения внутримышечных инъекций. Еще одна проблема заключается в низкой способности ИПВ оказывать влияние на местный иммунитет слизистых оболочек, что препятствует разрыву цепи передачи вируса. Наконец, использующаяся на сегодняшний день ИПВ изготовлена из высоко вирулентных штаммов, поэтому ее производство создает значительный риск с точки зрения биологической безопасности. Попытки обойти вышеуказанные проблемы представлены разработкой нового поколения вакцин.



Новые препараты должны соответствовать следующим принципам: низкая стоимость, повышенная способность вызывать иммунный ответ со стороны слизистых оболочек и соответствие требованиям биобезопасности [53].

Для создания новых живых вакцин необходимо использовать вирусы с повышенной генетической стабильностью, чтобы исключить вероятность реверсии вирулентности. Оценка генетической стабильности проводится *in vitro* (на культурах клеток) и *in vivo* (на животных), но в конечном итоге о безопасности вакцины можно судить только по результатам ее испытания на людях.

Несмотря на все усилия, направленные на полное прекращение распространения полиовируса, небольшая вероятность случайного или преднамеренного высвобождения живого вируса в окружающую среду с катастрофическими последствиями будет присутствовать всегда. Именно это послужило причиной поиска для производства ИПВ аттенуированных штаммов, обеспечивающих биологическую безопасность при работе с ними.

Такая работа ведется в нескольких направлениях. Одним из очевидных решений явилось создание ИПВ на основе аттенуированных штаммов Сэбина (sIPV). Следует отметить, что иммуногенность sIPV типа 1 не уступала иммуногенности ИПВ, полученной из дикого штамма Mahoney. Однако иммуногенность ИПВ, изготовленных из двух других серотипов вирусов Сэбина, особенно типа 2, была ниже иммуногенности ИПВ из диких штаммов [54–57]. В результате оптимальный состав трехвалентной sIPV отличается от такового ИПВ из диких штаммов. К настоящему времени sIPV лицензирована в Японии и Китае [58]. В Японии препарат производится для подкожного введения в виде комбинированной вакцины против полиомиелита, дифтерии, столбняка и коклюша (DTP). Так как в Китае и Японии полиомиелит отсутствует, ожидаемый результат клинических исследований sIPV оценивается по сероконверсии. Институт трансляционной вакцинологии в Нидерландах при поддержке ВОЗ разработал свою технологию производства вакцины sIPV [59] и предоставил лицензии на производство ряду компаний в развивающихся странах.

В России многолетний опыт по изучению полиовируса и созданию противовирусных вакцин: оральной полиомиелитной, антирабической, против клещевого энцефалита и желтой лихорадки, используемых в широкой практике здравоохранения, позволил впервые на базе Федерального научного центра исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН разработать технологию изготовления инактивированной, культуральной, концентрированной, очищенной вакцины против полиомиелита «ПолиовакСин» на основе аттенуированных штаммов Сэбина [60]. Эта вакцина проходит в настоящее время клинические испытания и в перспективе может стать первой отечественной инактивированной

вакциной для профилактики полиомиелита, что позволит заменить дорогостоящие зарубежные вакцинные препараты, используемые в Национальном календаре вакцинации Российской Федерации.

### Проблемы и перспективы создания новых полиовирусных вакцин

Вакцина sIPV стала первой из нового поколения ИПВ. Остается ряд важных нерешенных вопросов, касающихся этого препарата для вакцинации. Некоторые из них относятся к стандартизации нового класса ИПВ, выбору соответствующих методов проверки эффективности и подбора референтных реагентов. Другие аспекты, требующие дальнейшего изучения, связаны с обеспечением условий биобезопасности в процессе производства полиовакцины. Так, в результате ликвидации полиомиелита (в соответствии с принятым Глобальным планом ВОЗ) и прекращения циркуляции диких вирусов штаммы Сэбина должны содержаться в таких же строгих условиях, как и дикие штаммы. В этом случае предприятия, изготавливающие sIPV, должны отвечать уровню безопасности BSL3/полио, что создаст большие трудности для изготовления и реализации значительно возросшего в цене препарата. Иными словами, sIPV является шагом в правильном направлении, но решить все проблемы эта вакцина не в состоянии, поэтому в будущем предстоит разработать более совершенный вакцинный препарат.

После открытия в 1980-е и 1990-е гг. молекулярных механизмов аттенуации и реверсии вирулентности полиовирусов были сделаны несколько попыток создания ослабленных штаммов, обладающих повышенной генетической стабильностью. В основном эти попытки имели целью ограничить возникновение и накопление точечных мутаций, приводящих к реверсии вирулентности. Большинство штаммов ВРПВ являются рекомбинантами штаммов Сэбина и других неполиомиелитных энтеровирусов, поэтому и появилось мнение, что рекомбинации могут также играть роль в реверсии вирулентности. Оценка генетической стабильности проводится *in vitro* (на культурах клеток) и *in vivo* (на животных), но в конечном итоге о безопасности вакцины судить можно только по результатам ее применения у людей. Ряду исследователей удалось добиться повышения стабильности в экспериментах *in vitro*, однако найти подтверждение этого факта в ходе клинических исследований будет непросто. Учитывая относительно низкую частоту осложнений вакцинации (приблизительно 1 на 600 000 первых доз), достижение статистической мощности, необходимой для получения окончательных выводов о превосходстве нового штамма, потребует проведения клинического исследования колоссального масштаба.

Еще одной проблемой, усложняющей разработку более стабильного ослабленного штамма, является отсутствие надежных биомаркеров безопасности

полиовируса *in vitro* и на модели животных. По этой причине в данном направлении большого количества исследований не проводилось, пока не была создана группа финансируемых Фондом Билла и Мелинды Гейтс лабораторий, перед которыми была поставлена задача разработать штамм ОПВ типа 2, характеризующийся большей генетической стабильностью. На сегодняшний день данное исследование еще не завершено, поэтому мы можем только описать общие принципы, используемые в этой работе.

Одними из детерминант вирулентности и аттенуации являются мутации в структуре типа шпильки (обозначаемой как F-домен шпильки VI) 5'-нетранслируемой области. Этот домен является частью участка внутренней посадки рибосомы (IRES), и он, как полагают, участвует во взаимодействиях факторов инициации трансляции с рибосомами и молекулой вирусной РНК [61, 62]. В литературе есть данные о том, что некоторые из этих факторов являются тканеспецифичными, и поэтому мутации данной области могут изменить тропизм к тканям и ограничить размножение вируса в нейронах. Было обнаружено, что рекомбинанты, в которых данная область генетического материала полиовируса была заменена гомологичным элементом человеческого риновируса, имели очень слабо выраженные вирулентные свойства [63, 64]. В настоящее время особенности данных химерных рино- и полиовирусов изучаются с целью их использования в качестве онколитических агентов, воздействующих на глиомы [65]. Теоретически такие химерные вирусы можно применять как основу для вакцин с повышенной стабильностью.

Суть другого подхода, основывающегося на использовании той же самой детерминанты аттенуации, заключается в следующем: стабилизация шпильки приводит к повышению вирулентности, в то время как дестабилизация — к аттенуации. Например, аттенуация полиовируса типа 3 была достигнута путем замены стабильной пары G:C на нестабильную G:U, что привело к дестабилизации всей шпильки. При реверсии вирулентности данная пара G:U заменяется изначальной парой G:C. Пара A:U занимает промежуточное положение между G:C и G:U по стабильности, поэтому при перестройке шпильки РНК путем замены пар G:C и G:U на пары A:U общая стабильность структуры и вирулентность данного вируса остаются практически неизменными. Однако генетическая стабильность при этом будет выше, поскольку для преобразования пары A:U в более стабильную пару G:C требуются две мутации, а промежуточные в этом процессе пары (G:U и A:C) имеют более низкую структурную стабильность и, следовательно, отрицательно сказываются на репликативной способности вируса. У ряда генно-инженерных конструкций, созданных на основе этого принципа, наблюдалась повышенная генетическая стабильность. В настоящее время их предполагается использовать для создания вакцин на основе вирусов также с повышенной генетической стабильностью [66–68].

Другим способом ослабления функции IRES является делеция нуклеотидов или вставка дополнительных нуклеотидов, что приводит к нарушению конформации всей структуры. Однако такие манипуляции не повышают стабильность, так как вирус может легко восстановить репликативную способность путем вырезания вставленных фрагментов или заполнения удаленных фрагментов участками иной РНК такого же размера из других источников. Преодолеть эту проблему нестабильности попытались Н. Toyoda и соавт. [69]. Они предложили способ, основанный на особенностях цис-элемента репликации (*cis-acting replicative element*) в вирусной РНК. Обычно этот элемент расположен в центре молекулы РНК и крайне важен для инициации репликации РНК. Перемещение цис-элемента из его нормального положения в участок IRES 5'-нетранслируемой области привело к существенной аттенуации. Поскольку цис-элемент играет важную роль в репликации РНК, вирус не может его вырезать. В итоге полученные таким образом ослабленные генно-инженерные конструкции являются генетически стабильными.

Вирусные РНК-репликазы известны своим свойством допускать множество ошибок в ходе репликации, что приводит к возникновению большого количества мутаций. Эта особенность является одной из причин генетической нестабильности вирусных РНК-геномов. Высокая частота мутаций, с одной стороны, создает очевидные проблемы, но с другой — дает вирусам ряд преимуществ, позволяющих им быстро адаптироваться к росту в условиях новой и/или меняющейся окружающей среды. Таким образом, точность вирусных репликаз подстроена под нужды вирусов. Она не является ни высокой, ни низкой. Это было доказано при открытии в гене, кодирующем полимеразу, мутаций, которые приводят к увеличению точности репликаз [70] и снижению способности инфицировать животных [71, 72]. Этот феномен можно использовать для создания высокоточных мутантных полимераз с целью уменьшения частоты реверсии вирулентности и обеспечения дополнительного механизма аттенуации.

Всем организмам, включая полиовирусы, присуще предпочтение кодонов (т.е. более высокая частота использования лишь одного из синонимичных кодонов в кодирующих областях генома). Этот феномен нашел широкое применение в сфере биотехнологии, когда чужеродный белок экспрессируется в гетерологичной системе. Чтобы максимально увеличить выработку белка, ген, кодирующий целевой белок, подвергается перекодировке, при которой кодоны меняются на те, что наиболее часто используются в системе экспрессии. Этот процесс называется оптимизацией кодонов. В ходе экспериментов с полиовирусом было обнаружено, что обратный процесс — деоптимизация кодонов (т.е. модификация вирусных геномов таким образом, чтобы в генетическом материале оказались редкие для полиовирусного генома кодоны) — снижает репликативную способность вируса и выход

обладающих инфекционными свойствами вирионов [73]. В результате «ослабленному» таким способом вирусу оказывается нелегко прибегнуть к реверсии вирулентности и восстановлению репликативной способности, потому что изменение явилось результатом множества мутаций в разных частях генома.

Не исключено, что механизм, с помощью которого деоптимизация кодонов снижает репликативную способность, является более сложным, чем просто использование редких кодонов. Помимо феномена предпочтения кодонов у большинства организмов также обнаруживается предпочтение к использованию определенных пар кодонов [74]. Это означает, что существует и предпочтение при отборе кодона для кодирования соседних аминокислот: некоторые пары кодонов используются чаще, чем другие. Если этот порядок изменить путем замены различных кодонов синонимичными им в последовательности, результат будет аналогичным результату при деоптимизации кодонов, даже несмотря на то, что общее количество используемых кодонов останется неизменным [75]. Причина, объясняющая феномен предпочтения пар кодонов, еще не установлена. Еще больше усложняет ситуацию тот факт, что в геноме вируса полиомиелита частота следования нуклеотида G за нуклеотидом C (наличие динуклеотида CpG) и частота следования нуклеотида A за нуклеотидом U (UpA) ниже, чем можно было бы ожидать в случайной последовательности. При перекодировке РНК полиовируса в последовательность с большим числом динуклеотидов CpG и UpA размер стерильных пятен, образуемых им на культуре клеток, уменьшается пропорционально количеству вносимых изменений [76]. У вирусов, полученных с использованием подобного рода способов «перестановки элементов генома» (genome scrambling), значительно уменьшается выход вирионов с инфекционными свойствами, в то время как общее количество производимых вирусных частиц меняется в меньшей степени. Биологические механизмы, лежащие в основе этих явлений, пока остаются неизученными. Кроме того, неясно, являются ли все эти феномены следствием одной или нескольких не связанных друг с другом причин. Тем не менее «перестановка элементов генома» может иметь важные точки приложения в разработке ослабленных и инактивированных вакцин [77].

Пока что мы уделили внимание только новым рациональным способам аттенуации вируса с сохранением генетической стабильности и ограничения реверсии вирулентности путем предотвращения точечных мутаций. Иным подходом к разработке более генетически устойчивого полиовируса является попытка ограничить его способность рекомбинации с другими вирусами. Полиовирусу и энтеровирусам в целом свойственна рекомбинация, частота которой крайне высока [78–81]. Эта характеристика является очень ценной, потому что позволяет им быстро развиваться и нивелировать эффект точечных мутаций

путем замены поврежденных частей их генома функционирующими элементами генетического материала, полученного от других вирусов. По всей вероятности, рекомбинация помогает вакцинным вирусам заменять поврежденные при аттенуации части генома и, как следствие, в ограниченной степени восстанавливать репликативную способность. Таким образом, снижение частоты рекомбинации следует рассматривать как подходящее свойство для совершенствования вакцинного штамма.

Работа в этом направлении затруднена ограниченностью наших знаний о механизмах рекомбинации. Считается, что гомологичная рекомбинация является важным свойством полиовируса; следовательно, рекодирование определенных частей генома вакцинного полиовируса для сведения к минимуму гомологичности с генетическим материалом других вирусов может снизить частоту рекомбинации. Кроме того, оказаться полезным для ограничения способности вирусов обмениваться частями генома может обнаружение мутаций в кодирующих полимеразу генах, приводящих к снижению базовой частоты рекомбинации [82]. Однако на сегодняшний день целесообразность применения этих подходов остается неизвестной. До сих пор неясно, что именно является фактором, ограничивающим частоту возникновения рекомбинантных вирусов: сам факт рекомбинации или отбор, основанный на репликативной способности. Работа в данном направлении продолжается и обещает пролить свет на этот интересный аспект биологии полиовируса.

Ряд исследовательских групп также работает над созданием иных, еще более безопасных, штаммов, которые могут быть использованы для производства ИПВ. Основным требованием, предъявляемым к таким штаммам, является полная непатогенность и устойчивость ослабленного фенотипа как *in vitro*, так и *in vivo*, чтобы избежать реверсии вирулентности и возобновления циркуляции, даже при проникновении вируса в окружающую среду. Подходы, используемые для получения таких стабильных ослабленных вирусов, включают в себя замену подверженных реверсии элементов IRES полиовирусов Сейбина гомологичными участками вирусов, не обладающих тропизмом к нервной ткани, таких как риновирусы человека [63–65]; стабилизацию ослабляющих доменов в IRES путем модификации F-домена шпилек с помощью пар A:U [73]; перемещение цис-элемента на 5'-нетранслируемую область [69]; вызывание высокоточных мутаций в гене, кодирующем полимеразу [72]; перестановку кодирующих элементов генома с целью изменить предпочтение кодонов, предпочтение к использованию пар кодонов [69] или количество динуклеотидов CpG и UpA [76]. Предварительные исследования клинической эффективности каждого из этих подходов *in vitro* показали, что полученный вирус, по всей вероятности, имеет более высокую генетическую стабильность. Однако еще предстоит установить, могут ли они быть использованы для производства антигена

полиовируса в количестве, достаточном для получения ИПВ. Кроме того, неизвестно, будут ли они более стабильны *in vivo* (и, следовательно, более приемлемы с точки зрения биобезопасности), что достоверно проверить крайне затруднительно ввиду отсутствия доклинической (животной) модели, подходящей для исследования передачи и генетической стабильности полиовируса *in vivo*.

Идеальным решением проблемы биобезопасности можно будет считать производственный процесс, в котором не используется вирус с заразными свойствами. Антигены для многих других вакцин могут быть успешно получены в различных системах экспрессии (бакуловирус, дрожжи и т.д.). В случае же с полиомиелитом трудности использования этого подхода для создания вакцин заключается в том, что большинство ее защитных эпитопов (если не все) образуются путем вторичных или даже третичных взаимодействий между отрезками аминокислот из различных полипептидных цепей. Их активность крайне чувствительна к конформационным изменениям, и, следовательно, только нативные вирусные частицы могут вызывать иммунитет. В настоящий момент не существует эффективного алгоритма сборки полиовируса *in vitro*, который мог бы быть использован для получения необходимого для производства вакцины количества полиовирусных частиц. Процесс сборки капсида полиовируса является довольно сложным и окончательно не изучен. Тем не менее известно, что он включает в себя аутопротеолитическое расщепление одного из белков-предшественников, которое происходит только после того, как РНК инкапсулируется внутри этих частиц и «фиксирует» правильную конформацию всей структуры. «Пустые» частицы, не содержащие РНК полиовируса, образуемые в ходе репликации или экспрессии белков полиовируса, характеризуются неустойчивостью. Эта проблема теоретически может быть решена путем стабилизации с помощью методов белковой инженерии [83]. Если такой метод окажется успешным, он откроет путь к созданию пустых капсидов, обладающих иммуногенными свойствами. Эти капсиды можно будет использовать в качестве вакцин, для производства которых не потребуются наличия живого вируса полиомиелита.

Другим научно-исследовательским подходом к созданию новых инактивированных вакцин против полиомиелита является попытка снизить стоимость и/или повысить их иммуногенность (что позволит уменьшить дозу антигена, необходимого для выработки иммунитета). Снижение затрат может быть достигнуто благодаря увеличению выхода вирусных частиц путем введения новых производственных процессов и клеточных субстратов. По опубликованным данным, использование суспензионных клеток PerC6, культивируемых в питательной среде в отсутствие сыворотки, позволяет клеткам расти в условиях значительно большей плотности и обеспечивать более высокий выход полиовируса [84].

Еще одним способом снизить стоимость производства вакцины является использование альтернативных путей введения, что приведет к увеличению иммуногенности и позволит снизить вводимую дозу. Распространенным способом увеличения иммуногенности и снижения дозы вакцины является добавление адъювантов. На сегодняшний день целый ряд исследовательских групп активно изучает возможность использования различных стандартных и новых адъювантов в комбинации с вакцинами против полиовируса. Среди обычных адъювантов повышает иммуногенность гидроксид алюминия [85, 86]. Сейчас изучаются и новые адъюванты, такие как эмульсии типа «масло в воде» [87] и агонисты толл-подобных рецепторов и других элементов неспецифической иммунной защиты. Кроме того, есть данные о том, что некоторые адъюванты при внутримышечном введении увеличивают иммунный ответ со стороны слизистой оболочки [88].

Кожа является первой «линией обороны» против многих патогенов и, следовательно, содержит множество клеток иммунной системы, в том числе дендритных клеток и макрофагов, которые препятствуют вторжению патогенных микроорганизмов. Этот факт лежит в основе предположения о том, что внутрикожное введение антигенов более эффективно по сравнению с внутримышечным введением. В ходе клинических испытаний внутрикожного введения дробной дозы ИПВ [89, 90–92] было показано, что это действительно так, однако минимальная доза, необходимая для создания иммунитета, оказалась выше предполагаемой внутримышечной дозы. Эффективность первичной иммунизации одной внутрикожной дозой ИПВ была доказана наличием вторичного иммунного ответа на бустерную дозу вакцины [93]. Таким образом, внутрикожное введение является приемлемым вариантом вакцинации, которую можно осуществлять при помощи устройств для безыгольного введения. Альтернативным вариантом внутрикожного введения является использование «микроигольных пластырей» [94–97]. Эти небольшие устройства имеют множество растворимых пластиковых микроигл, покрытых антигеном, для внутрикожной доставки ИПВ. Они могут быть безболезненно нанесены на кожу, как пластырь. Применимость на практике и эффективность этого подхода в настоящее время изучаются.

Все показанные новые подходы касаются разработки инактивированной моновакцины против полиомиелита, которая может сыграть важную роль в завершающей фазе ликвидации заболевания и помочь осуществить переход от ОПВ к ИПВ. Тем не менее в долгосрочной перспективе ИПВ будет использоваться в комбинации с другими антигенами в виде четырехвалентной, пятивалентной или шестивалентной вакцины. Использование комбинированных вакцин позволяет одновременно обеспечить максимальную выгоду для системы здравоохранения и снизить стоимость и количество инъекций, необходимых для успешной вакцинации.

## Заключение

История создания вакцин против полиомиелита интересна как история двух высокоэффективных препаратов для вакцинации, каждый из которых имеет свои преимущества и недостатки. Первая из пары вакцин, инактивированная полиомиелитная вакцина, ярко продемонстрировала и достижимость профилактики полиомиелита, и опасность множества побочных эффектов вакцинации, что в свою очередь привело к появлению современной нормативно-правовой базы для разработки и использования вакцин. Это также устранило все преграды перед оральной полиовирусной вакциной, которая в течение многих лет являлась вакциной выбора и способствовала значительно прогрессу в борьбе с полиомиелитом. В дальнейшем этот успех привел к постепенному возврату к инактивированной полиомиелитной вакцине и необходимости полной замены оральной полиовирусной вакцины более безопасной инактивированной вакциной. Однако инактивированная полиомиелитная вакцина будущего, по всей вероятности, будет отличаться от нынешнего препарата. Таким образом, постоянно меняющаяся эпидемиологическая обстановка и социально-экономические факторы вынуждают непрерывно совершенствовать существующие вакцины и внедрять инновационные продукты, отвечающие новым запросам.

**Финансирование исследования.** Работа не финансировалась никакими источниками.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов, о которых необходимо сообщить.

## Литература/References

- Underwood M. *A treatise on the diseases of children with general directions for the management of infants from the birth*. London: J. Mathews; 1789.
- Badham J. Paralysis in childhood: four remarkable cases of suddenly induced paralysis in the extremities, occurring in children, without any apparent cerebral or cerebrospinal lesion. *London Med Gazette* 1834; 17: 215.
- Heine J. *Beobachtungen über Lähmungszustände der unteren Extremitäten und deren Behandlung*. Stuttgart: Köhler; 1840.
- Cornil V. Paralyse infantile; cancer les seins; autopsie; altérations de la moelle épinière, des nerfs et des muscles; généralisation du cancer. *C R Soc Biol (Paris)* 1863; 5: 187.
- Jacobi M. Pathogeny of infantile paralysis. *Am J Obstet* 1875; 7: 1.
- Putnam J.J., Taylor E.W. Is acute poliomyelitis unusually prevalent this season. *Bost Med Surg J* 1893; 129(21): 509–510, <https://doi.org/10.1056/nejm189311231292103>.
- Flexner S., Clark P.F. A note on the mode of infection in epidemic poliomyelitis. *Proc Soc Exp Biol Med* 1912; 10: 1–10.
- Frost W.H. Epidemiologic studies of acute anterior poliomyelitis. *Hyg Lab Bull* 1913; 90.
- Chumakov M.P., Voroshilova M.K., Drozdov S.G., Dzagurov S.G., Lashkevich V.A., Mironova L.L., Ralph N.M., Gagarina A.V., Ashmarina E.E., Shirman G.A., Fler G.P., Tolskaya E.A., Sokolova I.S., Elbert L.B., Sinyak K.M. Some results of the work on mass immunization in the Soviet Union with live poliovirus vaccine prepared from Sabin strains. *Bull World Health Organ* 1961; 25(1): 79–91.
- Flexner S., Lewis P.A. The transmission of acute poliomyelitis to monkeys. *JAMA* 1909; 53(20): 1639, <https://doi.org/10.1001/jama.1909.92550200027002g>.
- Flexner S., Lewis P.A. Experimental poliomyelitis in monkeys. Seventh note: active immunization and passive serum protection. *JAMA* 1910; 54(22): 1780, <https://doi.org/10.1001/jama.1910.92550480001001i>.
- Bodian D., Morgan I.V., Howe H.A. Differentiation of types of poliomyelitis viruses: III. The grouping of fourteen strains into three basic immunological types. *Am J Hyg* 1949; 49(2): 234–245, <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a119273>.
- Burnet F.M., Macnamara J. Immunological differences between strains of poliomyelitic virus. *Br J Exp Pathol* 1931; 12(2): 57–61.
- Kessel J.F., Pait C.F. Differentiation of three groups of poliomyelitis virus. *Proc Soc Exp Biol Med* 1949; 70(2): 315–316, <https://doi.org/10.3181/00379727-70-16911>.
- Pallansch M.A., Oberste M.S., Whitton J.L. Enteroviruses: polioviruses, coxsackieviruses, echoviruses, and newer enteroviruses. In: Knipe D.M., Howley P.M. (editors). *Fields virology*. Vol. 1. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2013; p. 490–530.
- Racaniello V.R. Picornaviridae: the viruses and their replication. In: Knipe D.M., Howley P.M. (editors). *Fields virology*. Vol. 1. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2013; p. 453–489.
- Herold J., Andino R. Poliovirus RNA replication requires genome circularization through a protein–protein bridge. *Mol Cell* 2001; 7(3): 581–591, [https://doi.org/10.1016/s1097-2765\(01\)00205-2](https://doi.org/10.1016/s1097-2765(01)00205-2).
- Rossmann M.G., He Y., Kuhn R.J. Picornavirus–receptor interactions. *Trends Microbiol* 2002; 10(7): 324–331, [https://doi.org/10.1016/s0966-842x\(02\)02383-1](https://doi.org/10.1016/s0966-842x(02)02383-1).
- Stanway G. Structure, function and evolution of picornavirus. *J Gen Virol* 1990; 71(Pt 11): 2483–2501, <https://doi.org/10.1099/0022-1317-71-11-2483>.
- Chang T.W., Weinstein L., Macmahon E. Paralytic poliomyelitis in a child with hypogammaglobulinemia: probable implication of type 1 vaccinal strain. *Pediatrics* 1966; 37: 630–636.
- Feigin R.D., Guggenheim M.A., Johnson S.D. Vaccine-related paralytic poliomyelitis in an immunodeficient child. *J Pediatr* 1971; 79(4): 642–647, [https://doi.org/10.1016/s0022-3476\(71\)80313-x](https://doi.org/10.1016/s0022-3476(71)80313-x).
- Wright P.F., Hatch M.H., Kasselberg A.G., Lowry S.P., Wadlington W.B., Karzon D.T. Vaccine-associated poliomyelitis in a child with sex-linked agammaglobulinemia. *J Pediatr* 1977; 91(3): 408–412, [https://doi.org/10.1016/s0022-3476\(77\)81309-7](https://doi.org/10.1016/s0022-3476(77)81309-7).
- Nottay B.K., Kew O.M., Hatch M.H., Heyward J.T., Obijeski J.F. Molecular variation of type 1 vaccine-related and wild polioviruses during replication in humans. *Virology* 1981; 108(2): 405–423, [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(81\)90448-7](https://doi.org/10.1016/0042-6822(81)90448-7).
- Alexander L.N., Seward J.F., Santibanez T.A., Pallansch M.A., Kew O.M., Prevots D.R., Strelbel P.M., Cono J., Wharton M., Orenstein W.A., Sutter R.W. Vaccine

- policy changes and epidemiology of poliomyelitis in the United States. *JAMA* 2004; 292(14): 1696–1701, <https://doi.org/10.1001/jama.292.14.1696>.
25. Ишмухаметов А.А., Иванова О.Е., Чернявская О.П. Полиомиелит. В кн.: Руководство по эпидемиологии инфекционных болезней. Т. 1. Под ред. Брико Н.И. М; 2018; с. 313–324. Ishmukhametov A.A., Ivanova O.E., Chernyavskaya O.P. Poliomyelit. V kn.: *Rukovodstvo po epidemiologii infeksionnykh bolezney*. T. 1 [Infectious disease epidemiology guide. Vol. 1]. Pod red. Briko N.I. [Briko N.I. (editor)]. Moscow; 2018; p. 313–324.
26. МУ 3.1.1.2130-06. Энтеровирусные заболевания: клиника, лабораторная диагностика, эпидемиология, профилактика. М; 2006. МУ 3.1.1.2130-06. *Enterovirusnye zabolevaniya: klinika, laboratornaya diagnostika, epidemiologiya, profilaktika* [MU 3.1.1.2130-06. Enteroviral diseases: clinic, laboratory diagnostics, epidemiology, prevention]. Moscow; 2006.
27. Лещинская Е.В., Латышева И.Н. Клиника, диагностика и лечение острого полиомиелита. М; 1998. Leshchinskaya E.V., Latysheva I.N. *Klinika, diagnostika i lechenie ostrogo poliomyelita* [Clinic, diagnosis, and treatment of acute poliomyelitis]. Moscow; 1998.
28. Чумаков М.П., Присман И.М., Зацепин Т.С. Полиомиелит, детский спинномозговой паралич. М: Медгиз; 1953. Chumakov M.P., Prisman I.M., Zatsepin T.S. *Poliomyelit, detskiy spinnomozgovoy paralich* [Poliomyelitis, childhood cerebrospinal paralysis]. Moscow: Medgiz; 1953.
29. World Health Organization. *Polio laboratory manual*. Geneva: WHO; 2004.
30. World Health Organization. *Manual for the virological investigation of polio*. Geneva: WHO; 1997.
31. Всемирная организация здравоохранения. Руководство по проведению дополнительных мероприятий, направленных на ликвидацию полиомиелита. Женева: ВОЗ; 1997. World Health Organization. *Rukovodstvo po provedeniyu dopolnitel'nykh meropriyatiy, napravlennykh na likvidatsiyu poliomyelita* [Guidelines for additional activities aimed at eradicating poliomyelitis]. Geneva: WHO; 1997.
32. Приказ Министерства здравоохранения РФ от 21 марта 2014 г. №125н «Об утверждении национального календаря профилактических прививок и календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям». *Prikaz Ministerstva zdравookhraneniya RF ot 21 marta 2014 g. No.125n "Ob utverzhdenii natsional'nogo kalendarya profilakticheskikh privivok i kalendarya profilakticheskikh privivok po epidemicheskim pokazaniyam"* [Order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated March 21, 2014 No.125n "On approval of the national calendar of preventive vaccinations and the calendar of preventive vaccinations according to epidemic indications"].
33. Kramer S.D., Aycock W.L., Solomon C.I., Thenebe C.L. Convalescent serum therapy in paralytic poliomyelitis. *N Engl J Med* 1932; 206(9): 432–435, <https://doi.org/10.1056/nejm193203032060902>.
34. Brodie M. Active immunization in monkeys against poliomyelitis with germicidally inactivated virus. *Science* 1934; 79(2061): 594–595, <https://doi.org/10.1126/science.79.2061.594>.
35. Enders J.F., Weller T.H., Robbins F.C. Cultivation of the Lansing strain of poliomyelitis virus in cultures of various human embryonic tissues. *Science* 1949; 109(2822): 85–87, <https://doi.org/10.1126/science.109.2822.85>.
36. Hammon W.M., Coriell L.L., Stokes J. Jr. Evaluation of Red Cross gamma globulin as a prophylactic agent for poliomyelitis. 2. Conduct and early follow-up of 1952 Texas and Iowa-Nebraska studies. *J Am Med Assoc* 1952; 150(8): 750–756, <https://doi.org/10.1001/jama.1952.03680080012002>.
37. Salk J.E., Bennet B.L., Lewis L.J., Ward E.N., Youngner J.S. Studies in human subjects on active immunization against poliomyelitis. *JAMA* 1953; 151(13): 1081–1098, <https://doi.org/10.1001/jama.1953.13.1081>.
38. Лашкевич В.А. История создания в 1959 г. живой вакцины из аттенуированных штаммов А. Сэбина и идея искоренения полиомиелита. Вопросы вирусологии 2013; 58(1): 4–10. Lashkevich V.A. History of development of the live poliomyelitis vaccine from Sabin attenuated strains in 1959 and idea of poliomyelitis eradication. *Voprosy virusologii* 2013; 58(1): 4–10.
39. Koprowski H., Jervis G.A., Norton T.W. Immune responses in human volunteers upon oral administration of a rodent-adapted strain of poliomyelitis virus. *Am J Hyg* 1952; 55(1): 108–126, <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a119499>.
40. Koprowski H. Immunization against poliomyelitis with living attenuated virus. *Am J Trop Med Hyg* 1956; 5(3): 440–452, <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1956.5.440>.
41. Sabin A.B., Boulgar L.R. History of Sabin attenuated poliovirus oral live vaccine strains. *J Biol Stand* 1973; 1(2): 115–118, [https://doi.org/10.1016/0092-1157\(73\)90048-6](https://doi.org/10.1016/0092-1157(73)90048-6).
42. Чумаков М.П., Ворошилова М.К., Васильева К.А. и др. Предварительное сообщение о массовой переральной иммунизации населения против полиомиелита живой вирусной вакциной из аттенуированных штаммов А.Б. Сэбина. Вопросы вирусологии 1959; 5: 520–533. Chumakov M.P., Voroshilova M.K., Vasil'eva K.A., et al. Preliminary report on massive immunization of the population with a live oral polio vaccine from attenuated Sabin virus. *Voprosy virusologii* 1959; 5: 520–533.
43. Nathanson N., Langmuir A.D. The Cutter incident. Poliomyelitis following formaldehyde-inactivated poliovirus vaccination in the United States during the Spring of 1955: II. Relationship of poliomyelitis to Cutter vaccine. *Am J Epidemiol* 1995; 142(2): 109–148, <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a117611>.
44. Живая вакцина против полиомиелита. Под ред. Смородинцева А.А. Л; 1960. *Zhivaya vaksina protiv poliomyelita* [Live polio vaccine]. Pod red. Smorodintseva A.A. [Smorodintsev A.A. (editor)]. Leningrad; 1960.
45. Бартошевич Е.Н., Цукер М.Б., Лещинская Е.В., Соколова И.С., Мартыненко И.Н., Андреева Л.С., Ашмарина Е.Е. Полиомиелитоподобные паралитические заболевания у детей, привитых живой вакциной Сэбина. Вестник АМН СССР 1963; 6: 16–21. Bartoshevich E.N., Tsuker M.B., Leshchinskaya E.V., Sokolova I.S., Martynenko I.N., Andreeva L.S., Ashmarina E.E. Polio-like paralytic diseases in children vaccinated with the Sabin live vaccine. *Vestnik AMN SSSR* 1963; 6: 16–21.
46. Kew O., Morris-Glasgow V., Landaverde M., Burns C., Shaw J., Garib Z., André J., Blackman E., Freeman C.J., Jorba J., Sutter R., Tambini G., Venczel L., Pedreira C., Laender F., Shimizu H., Yoneyama T., Miyamura T., van Der Avoort H., Oberste M.S., Kilpatrick D., Cochi S., Pallansch M., de Quadros C. Outbreak of poliomyelitis in Hispaniola associated with circulating type 1 vaccine-derived

poliovirus. *Science* 2002; 296(5566): 356–359, <https://doi.org/10.1126/science.1068284>.

47. Kew O.M., Wright P.F., Agol V.I., Delpeyroux F., Shimizu H., Nathanson N., Pallansch M.A. Circulating vaccine-derived polioviruses: current state of knowledge. *Bull World Health Organ* 2004; 82(1): 16–23.

48. Centers for Disease Control and Prevention. Update on vaccine-derived polioviruses — worldwide, April 2011–June 2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2012; 61: 741–746.

49. Lopez C., Biggar W.D., Park B.H., Good R.A. Nonparalytic poliovirus infections in patients with severe combined immunodeficiency disease. *J Pediatr* 1974; 84(4): 497–502, [https://doi.org/10.1016/s0022-3476\(74\)80667-0](https://doi.org/10.1016/s0022-3476(74)80667-0).

50. Davis L.E., Bodian D., Price D., Butler I.J., Vickers J.H. Chronic progressive poliomyelitis secondary to vaccination of an immunodeficient child. *N Engl J Med* 1977; 297(5): 241–245, <https://doi.org/10.1056/nejm197708042970503>.

51. Martín J., Odooom K., Tuite G., Dunn G., Hopewell N., Cooper G., Fitzharris C., Butler K., Hall W.W., Minor P.D. Long-term excretion of vaccinated-derived poliovirus by a healthy child. *J Virol* 2004; 78(24): 13839–13847, <https://doi.org/10.1128/jvi.78.24.13839-13847.2004>.

52. van Wezel A.L., van Steenis G., van der Marel P., Osterhaus A.D. Inactivated poliovirus vaccine: current production methods and new developments. *Rev Infect Dis* 1984; 6(Suppl 2): S335–S340, [https://doi.org/10.1093/clindis/6.supplement\\_2.s335](https://doi.org/10.1093/clindis/6.supplement_2.s335).

53. Ehrenfeld E., Modlin J., Chumakov K. Future of polio vaccines. *Expert Rev Vaccines* 2009; 8(7): 899–905, <https://doi.org/10.1586/erv.09.49>.

54. Doi Y., Abe S., Yamamoto H., Horie H., Ohyama H., Satoh K., Tano Y., Ota Y., Miyazawa M., Wakabayashi K., Hashizume S. Progress with inactivated poliovirus vaccines derived from the Sabin strains. *Dev Biol (Basel)* 2001; 105: 163–169.

55. Dragunsky E.M., Ivanov A.P., Wells V.R., Ivshina A.V., Rezapkin G.V., Abe S., Potapova S.G., Enterline J.C., Hashizume S., Chumakov K.M. Evaluation of immunogenicity and protective properties of inactivated poliovirus vaccines: a new surrogate method for predicting vaccine efficacy. *J Infect Dis* 2004; 190(8): 1404–1412, <https://doi.org/10.1086/424524>.

56. Dragunsky E.M., Ivanov A.P., Abe S., Potapova S.G., Enterline J.C., Hashizume S., Chumakov K.M. Further development of a new transgenic mouse test for the evaluation of the immunogenicity and protective properties of inactivated poliovirus vaccine. *J Infect Dis* 2006; 194(6): 804–807, <https://doi.org/10.1086/506949>.

57. Tano Y., Shimizu H., Martin J., Nishimura Y., Simizu B., Miyamura T. Antigenic characterization of a formalin-inactivated poliovirus vaccine derived from live-attenuated Sabin strains. *Vaccine* 2007; 25(41): 7041–7046, <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2007.07.060>.

58. Shimizu H. Poliovirus vaccine. *Uirusu* 2012; 62(1): 57–65, <https://doi.org/10.2222/jsv.62.57>.

59. Verdijk P., Rots N.Y., Bakker W.A. Clinical development of a novel inactivated poliomyelitis vaccine based on attenuated Sabin poliovirus strains. *Expert Rev Vaccines* 2011; 10(5): 635–644, <https://doi.org/10.1586/erv.11.51>.

60. Иванов А.П., Клеблеева Т.Д., Иванова О.Е., Ипатова Е.Г., Гмыль Л.В., Ишмухаметов А.А. Экспериментальные подходы к разработке инактивированной полиовирусной вакцины на основе штаммов Сэбина.

Эпидемиология и Вакцинопрофилактика 2016; 15(4): 59–64. Ivanov A.P., Klebleeva T.D., Ivanova O.E., Ipatova E.G., Gmyl L.V., Ishmuhametov A.A. Experimental approaches to the development of inactivated poliovirus vaccine based on sabin strains. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika* 2016; 15(4): 59–64, <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2016-15-4-59-64>.

61. Guest S., Pilipenko E., Sharma K., Chumakov K., Roos R.P. Molecular mechanisms of attenuation of the Sabin strain of poliovirus type 3. *J Virol* 2004; 78(20): 11097–11107, <https://doi.org/10.1128/jvi.78.20.11097-11107.2004>.

62. Kauder S.E., Racaniello V.R. Poliovirus tropism and attenuation are determined after internal ribosome entry. *J Clin Invest* 2004; 113(12): 1743–1753, <https://doi.org/10.1172/jci200421323>.

63. Gromeier M., Alexander L., Wimmer E. Internal ribosomal entry site substitution eliminates neurovirulence in intergeneric poliovirus recombinants. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93(6): 2370–2375, <https://doi.org/10.1073/pnas.93.6.2370>.

64. Chumakov K., Dragunsky E., Ivshina A., Enterline J., Wells V., Nomura T., Gromeier M., Wimmer E. Inactivated vaccines based on alternatives to wild-type seed virus. *Dev Biol (Basel)* 2001; 105: 171–177.

65. Dobrikova E.Y., Goetz C., Walters R.W., Lawson S.K., Peggins J.O., Muszynski K., Ruppel S., Poole K., Giardina S.L., Vela E.M., Estep J.E., Gromeier M. Attenuation of neurovirulence, biodistribution, and shedding of a poliovirus: rhinovirus chimera after intrathalamic inoculation in *Macaca fascicularis*. *J Virol* 2012; 86(5): 2750–2759, <https://doi.org/10.1128/jvi.06427-11>.

66. Macadam A.J., Ferguson G., Stone D.M., Meredith J., Almond J.W., Minor P.D. Live-attenuated strains of improved genetic stability. *Dev Biol (Basel)* 2001; 105: 179–187.

67. Macadam A.J., Ferguson G., Stone D.M., Meredith J., Knowlson S., Auda G., Almond J.W., Minor P.D. Rational design of genetically stable, live-attenuated poliovirus vaccines of all three serotypes: relevance to poliomyelitis eradication. *J Virol* 2006; 80(17): 8653–8663, <https://doi.org/10.1128/jvi.00370-06>.

68. Rowe A., Burlison J., Macadam A.J., Minor P.D. Functional formation of domain V of the poliovirus noncoding region: significance of unpaired bases. *Virology* 2001; 289(1): 45–53, <https://doi.org/10.1006/viro.2001.1111>.

69. Toyoda H., Yin J., Mueller S., Wimmer E., Cello J. Oncolytic treatment and cure of neuroblastoma by a novel attenuated poliovirus in a novel poliovirus-susceptible animal model. *Cancer Res* 2007; 67(6): 2857–2864, <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-06-3713>.

70. Pfeiffer J.K., Kirkegaard K. A single mutation in poliovirus RNA-dependent RNA polymerase confers resistance to mutagenic nucleotide analogs via increased fidelity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100(12): 7289–7294, <https://doi.org/10.1073/pnas.1232294100>.

71. Vignuzzi M., Stone J.K., Arnold J.J., Cameron C.E., Andino R. Quasispecies diversity determines pathogenesis through cooperative interactions in a viral population. *Nature* 2006; 439(7074): 344–348, <https://doi.org/10.1038/nature04388>.

72. Vignuzzi M., Wendt E., Andino R. Engineering attenuated virus vaccines by controlling replication fidelity. *Nat Med* 2008; 14(2): 154–161, <https://doi.org/10.1038/nm1726>.

73. Burns C.C., Shaw J., Campagnoli R., Jorba J., Vincent A., Quay J., Kew O. Modulation of poliovirus replicative fitness in HeLa cells by deoptimization of synonymous codon

- usage in the capsid region. *J Virol* 2006; 80(7): 3259–3272, <https://doi.org/10.1128/jvi.80.7.3259-3272.2006>.
74. Gutman G.A., Hatfield G.W. Nonrandom utilization of codon pairs in *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989; 86(10): 3699–3703, <https://doi.org/10.1073/pnas.86.10.3699>.
75. Coleman J.R., Papamichail D., Skiena S., Fitcher B., Wimmer E., Mueller S. Virus attenuation by genome-scale changes in codon pair bias. *Science* 2008; 320(5884): 1784–1787, <https://doi.org/10.1126/science.1155761>.
76. Burns C.C., Campagnoli R., Shaw J., Vincent A., Jorba J., Kew O. Genetic inactivation of poliovirus infectivity by increasing the frequencies of CpG and UpA dinucleotides within and across synonymous capsid region codons. *J Virol* 2009; 83(19): 9957–9969, <https://doi.org/10.1128/jvi.00508-09>.
77. Mueller S., Coleman J.R., Papamichail D., Ward C.B., Nimnual A., Fitcher B., Skiena S., Wimmer E. Live attenuated influenza virus vaccines by computer-aided rational design. *Nat Biotechnol* 2010; 28(7): 723–726, <https://doi.org/10.1038/nbt.1636>.
78. Cooper P.D. Genetics of picornaviruses. In: Fraenkel-Conrat H., Wagner R. (editors). *Regulation and genetics. Comprehensive virology*. Vol 9. Springer US; 1997; p. 133–207, [https://doi.org/10.1007/978-1-4684-2718-9\\_4](https://doi.org/10.1007/978-1-4684-2718-9_4).
79. Furlone M., Guillot S., Otelea D., Balanant J., Candrea A., Crainic R. Polioviruses with natural recombinant genomes isolated from vaccine-associated poliomyelitis. *Virology* 1993; 196(1): 199–208, <https://doi.org/10.1006/viro.1993.1468>.
80. Agol V.I. Recombination and other genomic rearrangements in picornaviruses. *Seminars in Virology* 1997; 8(2): 77–84, <https://doi.org/10.1006/smvy.1997.0112>.
81. Combelas N., Holmblat B., Joffret M.L., Colbère-Garapin F., Delpeyroux F. Recombination between poliovirus and coxsackie A viruses of species C: a model of viral genetic plasticity and emergence. *Viruses* 2011; 3(8): 1460–1484, <https://doi.org/10.3390/v3081460>.
82. Runckel C., Westesson O., Andino R., DeRisi J.L. Identification and manipulation of the molecular determinants influencing poliovirus recombination. *PLoS Pathog* 2013; 9(2): e1003164, <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003164>.
83. Porta C., Kotecha A., Burman A., Jackson T., Ren J., Loureiro S., Jones I.M., Fry E.E., Stuart D.I., Charleston B. Rational engineering of recombinant picornavirus capsids to produce safe, protective vaccine antigen. *PLoS Pathog* 2013; 9(3): e1003255, <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003255>.
84. Sanders B.P., Edo-Matas D., Custers J.H., Koldijk M.H., Klaren V., Turk M., Luitjens A., Bakker W.A., Uytdehaag F., Goudsmit J., Lewis J.A., Schuitemaker H. PER.C6(®) cells as a serum-free suspension cell platform for the production of high titer poliovirus: a potential low cost of goods option for world supply of inactivated poliovirus vaccine. *Vaccine* 2013; 31(5): 850–856, <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.10.070>.
85. Verdijk P., Rots N.Y., van Oijen M.G., Oberste M.S., Boog C.J., Okayasu H., Sutter R.W., Bakker W.A. Safety and immunogenicity of inactivated poliovirus vaccine based on Sabin strains with and without aluminum hydroxide: a phase I trial in healthy adults. *Vaccine* 2013; 31(47): 5531–5536, <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.09.021>.
86. Westdijk J., Koedam P., Barro M., Steil B.P., Collin N., Vedvick T.S., Bakker W.A., van der Ley P., Kersten G. Antigen sparing with adjuvanted inactivated polio vaccine based on Sabin strains. *Vaccine* 2013; 31(9): 1298–1304, <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.12.076>.
87. Baldwin S.L., Fox C.B., Pallansch M.A., Coler R.N., Reed S.G., Friede M. Increased potency of an inactivated trivalent polio vaccine with oil-in-water emulsions. *Vaccine* 2011; 29(4): 644–649, <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.11.043>.
88. Ivanov A.P., Dragunsky E.M., Chumakov K.M. 1,25-dihydroxyvitamin d3 enhances systemic and mucosal immune responses to inactivated poliovirus vaccine in mice. *J Infect Dis* 2006; 193(4): 598–600, <https://doi.org/10.1086/499970>.
89. Resik S., Tejada A., Lago P.M., Diaz M., Carmentales A., Sarmiento L., Alemañi N., Galindo B., Burton A., Friede M., Landaverde M., Sutter R.W. Randomized controlled clinical trial of fractional doses of inactivated poliovirus vaccine administered intradermally by needle-free device in Cuba. *J Infect Dis* 2010; 201(9): 1344–1352, <https://doi.org/10.1086/651611>.
90. Cadorna-Carlos J., Vidor E., Bonnet M.C. Randomized controlled study of fractional doses of inactivated poliovirus vaccine administered intradermally with a needle in the Philippines. *Int J Infect Dis* 2012; 16(2): e110–e116, <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2011.10.002>.
91. Nelson K.S., Janssen J.M., Troy S.B., Maldonado Y. Intradermal fractional dose inactivated polio vaccine: a review of the literature. *Vaccine* 2012; 30(2): 121–125, <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.11.018>.
92. Soonawala D., Verdijk P., Wijmenga-Monsuur A.J., Boog C.J., Koedam P., Visser L.G., Rots N.Y. Intradermal fractional booster dose of inactivated poliomyelitis vaccine with a jet injector in healthy adults. *Vaccine* 2013; 31(36): 3688–3694, <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.05.104>.
93. Resik S., Tejada A., Sutter R.W., Diaz M., Sarmiento L., Alemañi N., Garcia G., Fonseca M., Hung L.H., Kahn A.L., Burton A., Landaverde J.M., Aylward R.B. Priming after a fractional dose of inactivated poliovirus vaccine. *N Engl J Med* 2013; 368(5): 416–424, <https://doi.org/10.1056/nejmoa1202541>.
94. Hiraishi Y., Nandakumar S., Choi S.O., Lee J.W., Kim Y.C., Posey J.E., Sable S.B., Prausnitz M.R. Bacillus Calmette-Guérin vaccination using a microneedle patch. *Vaccine* 2011; 29(14): 2626–2636, <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.01.042>.
95. del Pilar Martin M., Weldon W.C., Zarnitsyn V.G., Koutsonanos D.G., Akbari H., Skountzou I., Jacob J., Prausnitz M.R., Compans R.W. Local response to microneedle-based influenza immunization in the skin. *MBio* 2012; 3(2): e00012-12, <https://doi.org/10.1128/mbio.00012-12>.
96. Kim Y.C., Song J.M., Lipatov A.S., Choi S.O., Lee J.W., Donis R.O., Compans R.W., Kang S.M., Prausnitz M.R. Increased immunogenicity of avian influenza DNA vaccine delivered to the skin using a microneedle patch. *Eur J Pharm Biopharm* 2012 Jun; 81(2): 239–247, <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2012.03.010>.
97. Edens C., Collins M.L., Ayers J., Rota P.A., Prausnitz M.R. Measles vaccination using a microneedle patch. *Vaccine* 2013; 31(34): 3403–3409, <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.09.062>.