

НАУЧНЫЙ ОБЗОР

https://doi.org/10.36233/0507-4088-111

© НОВИКОВ Д.В., МЕЛЕНТЬЕВ Д.А., 2022



## Энтеровирусные (*Picornaviridae: Enterovirus*) (неполио) вакцины

Новиков Д.В.<sup>1</sup>, Мелентьев Д.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора, 603950, Нижний Новгород, Россия;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Нижегородский государственный университет имени Н.И. Лобачевского», 603022, Нижний Новгород, Россия

Неполиомиелитные энтеровирусы (НПЭВ) распространены повсеместно и являются одними из основных возбудителей заболеваний вирусной этиологии у детей. Наиболее часто НПЭВ инфицируют новорождённых и детей младшего возраста, что связано с отсутствием у них антител. У детей клинические проявления могут варьировать от острых лихорадочных заболеваний до тяжёлых осложнений, требующих госпитализации и приводящих в ряде случаев к инвалидности или летальному исходу. Заражение НПЭВ способно приводить к тяжёлым последствиям, таким как полиомиелитоподобные заболевания, серозный менингит, менингоэнцефалит, миокардит и др. Наиболее перспективной стратегией профилактики таких заболеваний является вакцинация. На территории России обнаружена циркуляция не менее 53 типов НПЭВ. Однако эпидемическое значение имеют возбудители экзантемных форм заболевания, асептического менингита и миокардита. При этом частота обнаружения НПЭВ в субъектах Российской Федерации характеризуется неравномерностью распределения и сезонными подъёмами. В обзоре обсуждается эпидемическая значимость разных типов энтеровирусов, в том числе актуальных для Российской Федерации, а также современные технологии, применяемые при создании энтеровирусных вакцин для профилактики тяжёлых заболеваний.

**Ключевые слова:** *неполиомиелитные энтеровирусы; вакцина; полиомиелитоподобные заболевания; энтеровирусная инфекция; вирусоподобные частицы*

**Для цитирования:** Новиков Д.В., Мелентьев Д.А. Энтеровирусные (*Picornaviridae: Enterovirus*) (неполио) вакцины. *Вопросы вирусологии*. 2022; 67(3): 185–192. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-111>

**Для корреспонденции:** Новиков Дмитрий Викторович, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунохимии Нижегородского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени академика И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия. E-mail: [novikov.dv75@mail.ru](mailto:novikov.dv75@mail.ru)

**Участие авторов:** Новиков Д.В., Мелентьев Д.А. – анализ литературы, написание текста статьи, утверждение окончательного варианта статьи.

**Финансирование.** Исследование проведено в рамках государственного задания Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор).

**Конфликт интересов:** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Поступила 26.04.2022

Принята в печать 02.06.2022

Опубликована 30.06.2022

REVIEW ARTICLE

https://doi.org/10.36233/0507-4088-111

## Enteroviral (*Picornaviridae: Enterovirus*) (nonpolio) vaccines

Dmitriy V. Novikov<sup>1</sup>, Dmitriy A. Melentev<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, 603950, Nizhny Novgorod, Russia;

<sup>2</sup>N.I. Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, 603022, Nizhny Novgorod, Russia

Non-polio enteroviruses (NPEVs) are ubiquitous and are one of the main causative agents of viral infections in children. NPEVs most commonly infect newborns and young children, due to their lack of antibodies. In children, clinical manifestations can range from acute febrile illness to severe complications that require hospitalization and lead in some cases to disability or death. NPEV infections can have severe consequences, such as polio-like diseases, serous meningitis, meningoencephalitis, myocarditis, etc. The most promising strategy for preventing such diseases is vaccination. No less than 53 types of NPEVs have been found to circulate in Russia. However, of epidemic importance are the causative agents of exanthemic forms of the disease, aseptic meningitis and

myocarditis. At the same time, the frequency of NPEV detection in the constituent entities of the Russian Federation is characterized by uneven distribution and seasonal upsurges. The review discusses the epidemic significance of different types of enteroviruses, including those relevant to the Russian Federation, as well as current technologies used to create enterovirus vaccines for the prevention of serious diseases.

**Keywords:** *Non-polio enteroviruses; vaccine; polio-like diseases; enterovirus infection; virus-like particles*

**For citation:** Novikov D.V., Melentev D.A. Enteroviral (*Picornaviridae: Enterovirus*) (nonpolio) vaccines. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2022; 67(3): 185–192 (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-111>

**For correspondence:** Dmitri V. Novikov, Ph.D. (Biol.), Senior Researcher of Laboratory of Immunochemistry, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia. E-mail: [novikov.dv75@mail.ru](mailto:novikov.dv75@mail.ru)

**Information about the authors:**

Novikov D.V., <https://orcid.org/0000-0001-7049-6935>

Melentyev D.A., <https://orcid.org/0000-0002-2441-6874>

**Contribution:** Novikov D.V., Melentev D.A., literature analysis, writing of the text, approval of the final version of the article.

**Funding.** The study was funded by the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare (Rospotrebnadzor) as part of the federal program.

**Conflict of interest.** The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Received 26 April 2022

Accepted 02 June 2022

Published 30 June 2022

## Введение

Энтеровирусы (*Viruses, Riboviria, Orthornavirae, Pisuviricota, Pisoniviricetes, Picornavirales, Picornaviridae, Enterovirus*) – повсеместно распространённые небольшие (около 30 нм) безоболочечные вирусы с геномом, представленным рибонуклеиновой кислотой (РНК) позитивной полярности. Энтеровирусы инфицируют широкий круг позвоночных животных. По данным Международного комитета по таксономии вирусов, в настоящее время к роду *Enterovirus* относят более 300 представителей. На основе генетических, иммунологических характеристик и сродства вирусов к рецепторам клетки род разделяют на 15 видов: 12 видов *Enterovirus*, обозначенных буквами от А до L, и 3 вида *Rhinovirus* – от А до С [1]. Базируясь на серологических и генетических характеристиках, внутри видов выделяют различные типы вирусов [2].

Среди собственно энтеровирусов патогенными для человека являются энтеровирусы 106 типов, относящиеся к четырем видам: *Enterovirus A* – 20 типов, *Enterovirus B* – 59 типов, *Enterovirus C* – 23 типа, *Enterovirus D* – 4 типа. К неполиомиелитным энтеровирусам (НПЭВ) относятся вирусы 103 типов, за исключением полиовирусов 1, 2, 3-го типа вида *Enterovirus C* [3]. Изучение глобальной распространённости и распределения типов НПЭВ показало, что представители вида *Enterovirus B* обнаруживаются по всему миру. В то же время представители *Enterovirus A* чаще других обнаруживаются в Азии, а *Enterovirus C* – в Африке [4].

Энтеровирусы – это широко распространённые вирусные агенты, являющиеся одним из основных возбудителей заболеваний человека вирусной этиологии. Например, в США энтеровирусы вызывают не менее 10–15 млн симптоматических инфекций в год [5]. НПЭВ имеют большую значимость в инфекционной патологии детей первых лет жизни, периодически вызывая массовые вспышки [6]. В Российской Феде-

рации многолетняя динамика заболеваемости энтеровирусной инфекцией характеризовалась устойчивой тенденцией к росту и периодическими подъемами. До пандемии COVID-19 средний показатель заболеваемости энтеровирусными инфекциями составлял 7,02 на 100 тыс. населения, при этом удельный вес детей до 17 лет был более 90% [7]. Однако при проведении противоэпидемических мероприятий по профилактике новой коронавирусной инфекции зарегистрирован спад заболеваемости, вызванной НПЭВ. Это указывает на возможное уменьшение иммунной прослойки к НПЭВ и риск эпидемического подъёма заболеваемости в последующие годы [8].

**Целью** настоящей работы является обзор современных данных о заболеваниях, вызываемых НПЭВ, их распространённости, существующих и новых подходах к разработке вакцин для профилактики энтеровирусной (неполио) инфекции.

## Заболевания, вызванные неполиомиелитными энтеровирусами

НПЭВ являются причиной широкого спектра заболеваний, включая энцефалит, менингит, миокардит, экзантему полости рта и конечностей (HFMD – Hand, Foot and Mouth Disease), конъюнктивит, респираторные и желудочно-кишечные заболевания, но большинство инфекций, связанных с НПЭВ, остаются бессимптомными. НПЭВ легко передаются от человека к человеку с использованием фекально-орального механизма или воздушно-капельным путём и могут поражать людей разных возрастных групп. Симптомы появляются через 3–7 дней после заражения. С появлением симптомов вирусная РНК детектируется в периферической крови, носоглоточных смывах и фекалиях, а при наличии осложнений – в спинномозговой жидкости [9]. У взрослых заболевания обычно протекают бессимптомно или характеризуются лёгким течением, которое в основ-

ном описывается как респираторное. Наиболее часто НПЭВ инфицируют новорождённых и детей младшего возраста, что связано с отсутствием у них антител. У детей клинические проявления могут варьировать от острых лихорадочных заболеваний до тяжёлых осложнений, требующих госпитализации и приводящих в ряде случаев к инвалидности или летальному исходу. Например, в Восточной и Юго-Восточной Азии частота госпитализаций с диагнозом HFMD составила около 6% от всех заболевших, из которых у 20% развивались осложнения, связанные с поражением центральной нервной системы, а 5% умирали [10]. Причины неблагоприятного течения заболевания остаются во многом непонятными. Однако в ряде исследований было показано, что генетические особенности хозяина и чрезмерная продукция различных цитокинов (цитокиновый шторм) коррелируют с тяжёлым течением заболевания [11].

НПЭВ разных типов могут быть причиной сходных по клинике заболеваний. При этом установлена преимущественная связь определённых типов энтеровируса со специфической клинической картиной. Так, представители вида *Enterovirus A* ответственны более чем за 90% случаев энтеровирусной экзантемы, которая может проявляться в форме HFMD, атипичной экзантемы и герпетической ангины [12]. Основными возбудителями, вызывающими вспышки HFMD во всём мире, являются *Enterovirus (EV) A71 (EV-A71)* [13] и *Coxsackievirus (CV) A16 (CVA16)* [14]. С начала XXI в. в странах Азиатско-Тихоокеанского региона к ним присоединился CVA6 [15], а также CVA10, который сформировал вариант с повышенной нейровирулентностью [16]. Представители вида *Enterovirus B* чаще вызывают такие серьёзные, требующие госпитализации заболевания, как серозный энтеровирусный менингит, энцефалит, миелит и миокардит. Этиологическими агентами энтеровирусного менингита преимущественно являются типы *Echovirus (E) – E6, E7, E9, E11, E30* и др. Фактически вспышки асептического менингита и энцефалита по всему миру в основном связаны с различными типами *Echovirus* [17] и CVB5 [18]. Вирусы CVB6 являются этиологической причиной разных клинических форм заболевания, включая HFMD и острый миокардит. В США CVB3 ежегодно вызывает 20 000–40 000 случаев острого миокардита, при этом у 3–8 из каждых 100 тыс. больных развивается дилатационная кардиомиопатия [19]. НПЭВ вида *Enterovirus C* могут вызывать HFMD, герпангину, асептический менингит и др. Особое эпидемическое значение приобрёл вариант CVA24v, вызвавший вспышки острого геморрагического конъюнктивита в ряде стран [20]. EV-D68, относящийся к виду *Enterovirus D*, известен как вирус, вызывающий вспышки полиомиелитоподобных острых вялых миелитов, в том числе с летальными исходами, в США и некоторых странах Европы с 2014 г. Циркуляция этого вируса зафиксирована в Западной Европе, Северной Америке, Африке, Юго-Восточной Азии [21].

На территории России обнаружена циркуляция не менее 53 типов НПЭВ: *Enterovirus A (CVA2-A6,*

*A8, A10, A14, A16, EV-A71, A76, A120); Enterovirus B (CVA9, CVB1-6, E1-7, E9, E11, E13-19, E21, E22, E24, E29, E30, E31, E33, EV-B75); Enterovirus C (CVA1, A13, A17, A20, A21, A22, A24, EV-C99, C113, C116); Enterovirus D (EV-D68)*. Однако эпидемическое значение имеют возбудители экзантемных форм заболевания (CVA6, CVA10, CVA16, EV-A71), асептического менингита (E30, E6, CVB5) и миокардита (CVB3). Суммарная доля данных вирусов превышает 50% от всех НПЭВ, идентифицированных на территории России [22, 23]. При этом частота обнаружения НПЭВ в субъектах Российской Федерации характеризуется неравномерностью распределения и сезонными подъёмами. Дальневосточный федеральный округ характеризуется наиболее высокой частотой обнаружения НПЭВ, а на Кавказе НПЭВ детектируются реже, чем в других регионах. Сезонный подъём заболеваемости, вызванный НПЭВ, регистрируется в августе–сентябре [7].

### Структурная организация энтеровирусов

Геном энтеровирусов представлен однонитевой линейной РНК позитивной полярности размером 7,1–7,4 kb и включает концевые нетранслируемые регионы, фланкирующие одну открытую рамку считывания, кодирующую полипротеин размером 2100 аминокислот. В процессе трансляции происходит каскад расщепления полипротеина вирусными протеазами 2A и 3C сначала на три белка-предшественника (P1, P2 и P3), затем на функциональные белки. P1 расщепляется на четыре структурных белка (VP1, VP2, VP3, VP4), а P2 и P3 – на семь неструктурных белков (P2-2Apro, 2B, 2C, P3-3A, 3B, 3Cpro, 3Dpol). Четыре структурных белка путём самосборки формируют основной строительный блок капсида вириона – протомер. Пять протомеров образуют пентамер, а 12 пентамеров и вирусный геном образуют икосаэдральный вирион диаметром 30 нм с pseudo-T = 3 типом симметрии. Белки VP1, VP2 и VP3, представленные на поверхности вириона, формируют структуры, отвечающие за распознавание рецептора [24].

Капсидные белки являются основными антигенами вириона. На белках VP1, VP2 и VP3 обнаружены линейные и конформационные эпитопы, связывание с которыми антител приводит к нейтрализации вируса [25]. Высокая варибельность аминокислотных последовательностей поверхностных белков НПЭВ приводит к тому, что антитела, нейтрализующие один тип вируса, не способны нейтрализовать другие типы. Неструктурные белки также содержат В- и Т-клеточные эпитопы, некоторые из которых вызывают перекрестные иммунные реакции с разными типами НПЭВ [11].

### Иммунный ответ на неполиомиелитные энтеровирусы

К настоящему времени известно, что для эффективной защиты организма от инфекции НПЭВ достаточно нейтрализующих антител, которые в большинстве случаев предотвращают заражение или останавлива-

ют прогрессирование заболевания. На примере больных HFMD было показано, что антитела класса IgM к вирусу EV-A71 детектировались уже через день после появления клинических симптомов, а антитела класса IgG – на 3–6-й день. Продукция нейтрализующих антител в большинстве случаев приводит к выздоровлению. У пациентов с поражением центральной нервной системы титры нейтрализующих антител не отличались от соответствующих титров у пациентов с лёгким течением HFMD. После выздоровления антитела IgM сохранялись в сыворотке крови в течение месяцев, а IgG детектировались несколько лет [26]. Следует отметить, что антитела класса IgG против НПЭВ могут передаваться от матери к плоду и сохраняться в периферической крови ребёнка в течение нескольких месяцев после рождения [27].

Сероэпидемиологические исследования показали, что частота обнаружения антител к НПЭВ варьирует в зависимости от типа вируса, возрастной группы населения, времени и места проведения исследования. Общей закономерностью является увеличение частоты обнаружения антител к НПЭВ с увеличением возраста детей. У младенцев 5–12 мес частота обнаружения антител составляет 4–18%, а в возрастной группе 7–19 лет она возрастает до 30–50% с последующим сохранением данного показателя у взрослых [28].

#### Вакцины против неполиомиелитных энтеровирусов

В связи со значимостью в инфекционной патологии детей ведется разработка вакцин против разных эпидемических типов НПЭВ. Эпидемии, связанные с EV-A71, стали серьёзной угрозой для общественного здравоохранения в Азиатско-Тихоокеанском регионе, что определило усилия в первую очередь китайских исследователей по разработке типоспецифических вакцин для профилактики HFMD. Наибольшее распространение приобрела классическая технология получения вакцин путём инактивации цельных вирионов. Тремя разработчиками (Sinovac Biotech, Beijing Vigoo Biological и Китайской академией медицинских наук) были получены три инактивированные вакцины против EV-A71. В клинических испытаниях все три вакцины показали безопасность и высокую эффективность для профилактики заболеваний, ассоциированных с EV-A71. В настоящее время китайскими компаниями получена лицензия на производство инактивированных вакцин против EV-A71 для детей до 5 лет. При этом вакцина фирмы Sinovac Biotech, основанная на использовании вируса субгенотипа С4, показала 95% эффективность против HFMD, вызванной EV-A71, и 100% защиту от инфекции EV-A71 с неврологическими симптомами [29]. Вакцина вызывала устойчивый, в течение 5 лет, иммунитет против различных генотипов EV-A71. В связи с этим Всемирная организация здравоохранения полагает, что она может быть использована во всём мире [30]. На Тайване для производства инактивированной вакцины против EV-A71 использовали вирус генотипа В4. Вакцина вызывала продукцию нейтрализующих антител против EV-A71 разных генотипов и не обла-

дала серьёзными побочными эффектами, а антитела сохранялись не менее 2 лет. В настоящий момент вакцина проходит 3-й этап испытаний [31]. Имеются сообщения о разработке типоспецифических моновалентных и комбинированных вакцин на основе инактивированных вирусов CVA16, CVA6, CVA10. По результатам доклинических испытаний хорошую иммуногенность и протективные свойства показали моновалентная вакцина против CVA16 и двухвалентная против EV-A71 и CVA16 [32].

Ведутся исследования, направленные на получение живых вакцин на основе аттенуированных вирусов. В процессе адаптации CVA16 к диплоидной линии эмбриональных клеток лёгких человека KMB17 был получен аттенуированный штамм K168-8Ac. При вакцинации макаков резусов штаммом K168-8Ac была показана высокая эффективность защиты от инфекции CVA16 [33]. Для получения аттенуированных вирусов широко применяется создание инфекционных клонов комплементарной дезоксирибонуклеиновой кислоты НПЭВ. На примере EV-A71 определено, что мутации в 5'-нетранслируемом регионе РНК или аминокислотные замены в белках вируса приводят к снижению вирулентности *in vitro* и *in vivo*. Установлено, что замена цитозина на урацил в позиции 158 РНК снижала скорость трансляции полипротеина и вирулентность EV-A71 [34]. Аминокислотные замены в VP1 (G64R или G64T) и 3D полимеразе (S264L и L123F) также снижали вирулентность EV-A71 [35, 36]. Р.Т.И. Уее и соавт. сконструировали штамм EV-A71 (pY), в геном которого были встроены нуклеотидные последовательности, являющиеся мишенью для двух микроРНК (let-7a и miR-124a). Это приводило к уменьшению числа копий РНК вируса по сравнению с диким типом в клетках, имеющих различное тканевое происхождение. Вакцинация штаммом pY защищала мышей от смертельной дозы EV-A71 [37]. В США группой учёных создан живой ослабленный штамм CVB3 (Mt10), имеющий аминокислотную замену в VP1 (H790A). Иммунизация мышей штаммом Mt10 защищала их как от миокардита, так и от панкреатита [38].

Следует отметить, что живые аттенуированные вакцины являются высокоиммуногенными препаратами, однако их использование для создания поливалентных энтеровирусных вакцин несёт риски. Для НПЭВ показано, что межвидовая и внутривидовая рекомбинации между геномами являются одним из факторов формирования новых эпидемических вариантов. При попадании вакцинных штаммов в организм, инфицированный диким вирусом, возникает риск формирования вариантов НПЭВ с непредсказуемыми свойствами [39].

В качестве альтернативы инактивированным и живым аттенуированным вакцинам разрабатываются субъединичные вакцины. К настоящему времени в аминокислотных последовательностях поверхностных белков НПЭВ обнаружено множество консервативных линейных эпитопов, являющихся мишенями для нейтрализующих антител. Использование пептида SP70 VP1 EV-A71 (208–222 аминокислоты) для вакцинации показало, что антисыворотка против SP70 пас-

сивно защищала новорождённых мышей как от гомологичных, так и от гетерологичных штаммов EV-A71. Y.X. Li и соавт. разработали пептид, состоящий из трёх линейных эпитопов белка VP1 EV-A71, последовательно соединённых линкером (Gly4Ser). Однако, несмотря на применение адьювантов, титры нейтрализующих антител после иммунизации мышей пептидами были в 4 раза ниже, чем у мышей, иммунизированных инактивированной вакциной [40].

Для повышения иммуногенности субъединичных вакцин проводятся исследования по встраиванию пептидов поверхностных белков НПЭВ в другие вирусы и вирусоподобные частицы (ВпЧ). X. Tian и соавт. сообщили о включении эпитопа SP70 EV-A71 в экспонированные на поверхности домены гексона аденовируса III типа (*Mastadenovirus: Human adenovirus B: Human adenovirus 3*). Конструкция была способна вызывать гуморальный ответ, специфичный для эпитопа SP70 [41]. Основной антиген (НВс) вируса гепатита В (*Orthohepadnavirus: Hepatitis B virus*) был использован для формирования вирусоподобных частиц с экспонированным на поверхности эпитопом VP2 CVA10 (136–150 а.к.). Такие ВпЧ вызывали сильный гуморальный ответ у мышей, а антитела нейтрализовали как штамм-прототип, так и другие клинические изоляты CVA10 [42]. L. Jiang и соавт. сконструировали Р-частицы норовируса (*Caliciviridae: Norovirus*), экспонирующие на поверхности эпитопы капсидных белков EV-A71. Наибольшую эффективность показал эпитоп VP3 (176–190 аминокислоты), использование которого в составе Р-частицы для иммунизации самок мышей позволяло защитить рождённых ими мышат от летальной дозы EV-A71 в период лактации [43]. В нашей работе на основе белка VP1 норовируса были получены ВпЧ, презентующие на поверхности полноразмерный VP1 E30 [44].

При исследовании самосборки вирионов НПЭВ было установлено, что для формирования ВпЧ энтеровирусов достаточна совместная экспрессия только Р1 и 3С областей генома. Причём самосборка происходила при экспрессии в клетках как насекомых [45], так и дрожжей [46]. Данное наблюдение было использовано для получения ВпЧ НПЭВ в качестве антигена для вакцины. Группа исследователей из Китая на основе ВпЧ основных возбудителей HFMD (EV-A71, CVA16, CVA6, CVA10) создала четырехвалентную вакцину и продемонстрировала её способность вызывать у мышей протективный иммунитет против исследуемых вирусов. Титры нейтрализующих антител были сравнимы с соответствующими моновалентными вакцинами и защищали мышей как от единичного, так и от смешанного инфицирования вирусами EV-A71, CVA16, CVA6, CVA10 [47]. Подобным образом были получены ВпЧ EV-A71 генотипа С4а, явившегося причиной вспышки HFMD в Корее в 2009 г., при которой заболевание характеризовалось частыми поражениями центральной нервной системы [48]. Также с использованием клеток насекомых получены ВпЧ CVB3 и CVB1 и разработана технология их производства с повышенным выходом и чистотой про-

дукта [49]. В целом показано, что такие ВпЧ индуцируют сильный и длительный гуморальный иммунный ответ и перспективны для разработки высокоэффективных вакцин против энтеровирусов.

Совместная экспрессия белка-предшественника Р1 и протеазы 3СD также приводила к самосборке ВпЧ энтеровирусов в дрожжах. С. Zhang и соавт. получили высокий выход рекомбинантных ВпЧ EV-A71 в клетках *Pichia pastoris*. При иммунизации мышей такие ВпЧ индуцировали высокие титры антител, способных нейтрализовать различные штаммы EV-A71. Что ещё более важно, иммунизация самок защищала рождённых ими мышат от летального исхода при заражении EV-A71 [50]. Z. Yang и соавт. сообщили о получении штамма *P. pastoris* с высоким уровнем продукции ВпЧ, который составил 270 мг/л [51]. Опубликованы результаты успешных доклинических испытаний данной кандидатной вакцины на грызунах и приматах, что послужило основанием для проведения клинических испытаний [52]. Также в клетках *P. pastoris* получены ВпЧ EV-D68. Мыши, иммунизированные такими ВпЧ, продуцировали антитела, нейтрализующие вирус в условиях *in vitro*. Вакцинация самок защищала рождённых ими мышат-сосунков от летальных доз вируса. Пассивный перенос сывороток, содержащих антитела против полученных ВпЧ, обеспечивал полную защиту мышей-реципиентов [53]. L. Sherry и соавт. с использованием генетического материала термостабильного мутантного штамма PV-1 получили в *P. pastoris* ВпЧ, которые имели общие характеристики с ВпЧ, продуцируемыми клетками млекопитающих. Авторы заключили, что ВпЧ полиовируса, полученные в дрожжах, являются многообещающей системой для крупномасштабного производства полиовирусных вакцин [54].

### Заключение

НПЭВ являются одними из основных склонных к эпидемическому распространению возбудителей заболеваний вирусной этиологии у детей младшего возраста, вызывающих заболевания с различной клинической картиной. В связи с этим в мире ведется разработка вакцин против разных эпидемических типов НПЭВ. Для предотвращения вспышек экзантемных заболеваний в Юго-Восточной Азии разработаны инактивированные типоспецифические вакцины для профилактики HFMD, связанной с ЭВ-A71, разрабатываются поливалентные вакцины на основе инактивированных вирусов CVA16, CVA6, CVA10. Также исследуется применимость альтернативных подходов, основанных на аттенуированных вирусах, субъединичных вакцинах и ВпЧ. Обзор литературных данных показал, что ВпЧ являются привлекательной платформой для разработки более безопасных вакцин против как заболеваний, вызванных НПЭВ, так и полиомиелита. В ВпЧ отсутствует вирусный геном, они безопасны в производстве и применении. Развитие биотехнологии на современном этапе позволяет использовать ВпЧ для разработки поливалентных энтеровирусных вакцин нового поколения, облада-

ющих высокой иммуногенностью и возможностью непрерывной модернизации, позволяющей заменять антигены в составе вакцины на актуальные.

## ЛИТЕРАТУРА

- International committee on taxonomy of viruses (ICTV). Genus: Enterovirus. Available at: [https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv\\_online\\_report/positive-sense-rna-viruses/w/picornaviridae/681/genus-enterovirus](https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/positive-sense-rna-viruses/w/picornaviridae/681/genus-enterovirus)
- Oberste M.S., Maher K., Kilpatrick D.R., Pallansch M.A. Molecular evolution of the human enteroviruses: correlation of serotype with VP1 sequence and application to picornavirus classification. *J. Virol.* 1999; 73(3): 1941–8. <https://doi.org/10.1128/JVI.73.3.1941-1948.1999>
- Simmonds P., Gorbalenya A.E., Harvala H., Hovi T., Knowles N.J., Lindberg A.M., et al. Recommendations for the nomenclature of enteroviruses and rhinoviruses. *Arch. Virol.* 2020; 165(3): 793–7. <https://doi.org/10.1007/s00705-019-04520-6>
- Brouwer L., Moreni G., Wolthers K.C., Pajkrt D. World-wide prevalence and genotype distribution of enteroviruses. *Viruses.* 2021; 13(3): 434. <https://doi.org/10.3390/v13030434>
- Wells A.I., Coyne C.B. Enteroviruses: A gut-wrenching game of entry, detection, and evasion. *Viruses.* 2019; 11(5): 460. <https://doi.org/10.3390/v11050460>
- Harvala H., Benschop K.S.M., Berginc N., Midgley S., Wolthers K., Simmonds P., et al. European non-polio enterovirus network: introduction of hospital-based surveillance network to understand the true disease burden of non-polio enterovirus and parechovirus infections in Europe. *Microorganisms.* 2021; 9(9): 1827. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9091827>
- Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2019 году». М.; 2020.
- Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2020 году». М.; 2021.
- Cheng H.Y., Huang Y.C., Yen T.Y., Hsia S.H., Hsieh Y.C., Li C.C., et al. The correlation between the presence of viremia and clinical severity in patients with enterovirus 71 infection: a multi-center cohort study. *BMC Infect. Dis.* 2014; 14: 417. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-417>
- Koh W.M., Badaruddin H., La H., Chen M.I.C., Cook A.R. Severity and burden of hand, foot and mouth disease in Asia: a modeling study. *BMJ Glob. Health.* 2018; 3(1): e000442. <https://doi.org/10.1136/bmjgh-2017-000442>
- Aw-Yong K.L., NikNadia N.M.N., Tan C.W., Sam I.C., Chan Y.F. Immune responses against enterovirus A71 infection: Implications for vaccine success. *Rev. Med. Virol.* 2019; 29(5): e2073. <https://doi.org/10.1002/rmv.2073>
- Ni H., Yi B., Yin J., He T., Du Y., Wang J., et al. Epidemiological and etiological characteristics of hand, foot and mouth disease in Ningbo, China, 2008–2011. *J. Clin. Virol.* 2012; 54(4): 342–8. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2012.04.021>
- Yee P.T.I., Poh L.C. Impact of genetic changes, pathogenicity and antigenicity on Enterovirus-A71 vaccine development. *Virology.* 2017; 506: 121–9. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2017.03.017>
- Mao Q., Wang Y., Yao X., Bian L., Wu X., Xu M., et al. Coxsackievirus A16: epidemiology, diagnosis, and vaccine. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2014; 10(2): 360–7. <https://doi.org/10.4161/hv.27087>
- Li J.L., Yuan J., Yang F., Wu Z.Q., Hu Y.F., Xue Y., et al. Epidemic characteristics of hand, foot, and mouth disease in southern China, 2013: coxsackievirus A6 has emerged as the predominant causative agent. *J. Infect.* 2014; 69(3): 299–303. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2014.04.001>
- Yang Q., Ding J., Cao J., Huang Q., Hong C., Yang B. Epidemiological and etiological characteristics of hand, foot, and mouth disease in Wuhan, China from 2012 to 2013: outbreaks of coxsackieviruses A10. *J. Med. Virol.* 2015; 87(6): 954–60. <https://doi.org/10.1002/jmv.24151>
- Kim H.J., Kang B., Hwang S., Hong J., Kim K., Cheon D.S. Epidemics of viral meningitis caused by echovirus 6 and 30 in Korea in 2008. *Virol. J.* 2012; 9: 38. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-9-38>
- Chen P., Tao Z., Song Y., Liu G., Wang H., Liu Y., et al. A coxsackievirus B5-associated aseptic meningitis outbreak in Shandong Province, China in 2009. *J. Med. Virol.* 2013; 85(3): 483–9. <https://doi.org/10.1002/jmv.23478>
- Kim D.S., Nam J.H. Characterization of attenuated coxsackievirus B3 strains and prospects of their application as live-attenuated vaccines. *Expert. Opin. Biol. Ther.* 2010; 10(2): 179–90. <https://doi.org/10.1517/14712590903379502>
- Sousa I.P. Jr., Burlandy F.M., Ferreira J.L., Alves J.C.S., Sousa-Júnior E.C., Tavares F.N., da Silva E.E. Re-emergence of a coxsackievirus A24 variant causing acute hemorrhagic conjunctivitis in Brazil from 2017 to 2018. *Arch. Virol.* 2019; 164(4): 1181–5. <https://doi.org/10.1007/s00705-019-04157-5>
- Holm-Hansen C.C., Midgley S.E., Fischer T.K. Global emergence of enterovirus D68: a systematic review. *Lancet Infect. Dis.* 2016; 16(5): e64–75. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00543-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00543-5)
- Golitsyna L.N., Zverev V.V., Fomina S.G., Sozonov D.V., Novikova N.A. Enterovirus infection in the Russian Federation in 2008–2018. *Infektsiya i immunitet.* 2018; 8(4): 558. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2018-4-3.16>
- Сапега Е.Ю., Бутакова Л.В., Троценко О.Е., Зайцева Т.А., Гарбуз Ю.А., Балахонов С.В. и др. Роль молекулярно-генетических методов исследования в выявлении потенциальных рисков завоза энтеровирусной инфекции на территорию Хабаровского края. *Здоровье населения и среда обитания.* 2018; (2): 44–51. <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2018-299-2-44-51>
- Yuan J., Shen L., Wu J., Zou X., Gu J., Chen J., et al. Enterovirus A71 proteins: structure and function. *Front. Microbiol.* 2018; 9: 286. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00286>
- Huang K.A. Structural basis for neutralization of enterovirus. *Curr. Opin. Virol.* 2021; 51: 199–206. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2021.10.006>
- Yang C., Deng C., Wan J., Zhu L., Leng Q. Neutralizing antibody response in the patients with hand, foot and mouth disease to enterovirus 71 and its clinical implications. *Virol. J.* 2011; 8(1): 306. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-8-306>
- Luo S.T., Chiang P.S., Chao A.S., Liou G.Y., Lin R., Lin T.Y., et al. Enterovirus 71 maternal antibodies in infants, Taiwan. *Emerg. Infect. Dis.* 2009; 15(4): 581–4. <https://doi.org/10.3201/eid1504.081550>
- Zhu R., Cheng T., Yin Z., Liu D., Xu L., Li Y., et al. Serological survey of neutralizing antibodies to eight major enteroviruses among healthy population. *Emerg. Microbes Infect.* 2018; 7(1): 2. <https://doi.org/10.1038/s41426-017-0003-z>
- Zhu F., Xu W., Xia J., Liang Z., Liu Y., Zhang X., et al. Efficacy, safety, and immunogenicity of an enterovirus 71 vaccine in China. *N. Engl. J. Med.* 2014; 370(9): 818–28. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1304923>
- Lei D., Griffiths E., Martin J. WHO working group meeting to develop WHO Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of enterovirus 71 vaccines. *Vaccine.* 2020; 38(32): 4917–23. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2020.05.001>
- Huang L.M., Chiu C.H., Chiu N.C., Lin C.Y., Li M.T., Kuo T.Y., et al. Immunogenicity, safety, cross-reaction, and immune persistence of an inactivated enterovirus A71 vaccine in children aged from two months to 11 years in Taiwan. *Vaccine.* 2019; 37(13): 1827–35. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.02.023>
- Cai Y., Ku Z., Liu Q., Leng Q., Huang Z. A combination vaccine comprising of inactivated enterovirus 71 and coxsackievirus A16 elicits balanced protective immunity against both viruses. *Vaccine.* 2014; 32(21): 2406–12. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.03.012>
- Yang T., Xie T., Li H., Song X., Yue L., Wang X., et al. Immune responses of a CV-A16 live attenuated candidate strain and its protective effects in rhesus monkeys. *Emerg. Microbes Infect.* 2020; 9(1): 2136–46. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1823889>
- Yeh M.T., Wang S., Yu C.K., Lin K.H., Lei H.Y., Su I.J., et al. A single nucleotide in stem loop II of 5'-untranslated region contributes to virulence of enterovirus 71 in mice. *PLoS One.* 2011; 6(11): e27082. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027082>
- Meng T., Kwang J. Attenuation of human enterovirus 71 high-replication-fidelity variants in AG129 mice. *J. Virol.* 2014; 88(10): 5803–15. <https://doi.org/10.1128/JVI.00289-14>
- Tsa Y.H., Huang S.W., Hsieh W.S., Cheng C.K., Chang C.F., Wang Y.F., et al. Enterovirus A71 containing codon deoptimized VP1 and high-fidelity polymerase as next-generation vaccine candidate. *J. Virol.* 2019; 93(13): e02308-18. <https://doi.org/10.1128/JVI.02308-1>
- Yee P.T.I., Tan S.H., Ong K.C., Tan K.O., Wong K.T., Hassan S.S., et al. Development of live attenuated Enterovirus 71 vaccine strains

- that confer protection against lethal challenge in mice. *Sci. Rep.* 2019; 9(1): 4805. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41285-z>
38. Lasrado N., Gangaplara A., Massilamany C., Arumugam R., Shelbourn A., Rasquinha M.T., et al. Attenuated strain of CVB3 with a mutation in the CAR interacting region protects against both myocarditis and pancreatitis. *Sci. Rep.* 2021; 11(1): 12432. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90434-w>
  39. Muslin C., Kain A.M., Bessaud M., Blondel B., Delpeyroux F. Recombination in enteroviruses, a multi-step modular evolutionary process. *Viruses.* 2019; 11(9): 859. <https://doi.org/10.3390/v11090859>
  40. Anasir M.I., Poh C.L. Advances in antigenic peptide-based vaccine and neutralizing antibodies against viruses causing hand, foot, and mouth disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20(6): 1256. <https://doi.org/10.3390/ijms20061256>
  41. Tian X., Su X., Li X., Li H., Li T., Zhou Z., et al. Protection against enterovirus 71 with neutralizing epitope incorporation within adenovirus type 3 hexon. *PLoS One.* 2012; 7(7): e41381. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041381>
  42. Dai W., Xiong P., Zhang X., Liu Z., Chen J., Zhou Y., et al. Recombinant virus-like particle presenting a newly identified coxsackievirus A10 neutralization epitope induces protective immunity in mice. *Antiviral Res.* 2019; 164: 139–46. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2019.02.016>
  43. Jiang L., Fan R., Sun S., Fan P., Su W., Zhou Y., et al. A new EV71 VP3 epitope in norovirus P particle vector displays neutralizing activity and protection in vivo in mice. *Vaccine.* 2015; 33(48): 6596–603. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.10.104>
  44. Новиков Д.В., Мелентьев Д.А., Мохонов В.В., Кашников А.Ю., Новикова Н.А., Лапин В.А. и др. Получение вирусоподобных частиц норовируса (Caliciviridae; Norovirus), содержащих белок VP1 энтеровируса Echovirus 30 (Picornaviridae; Enterovirus). *Вопросы вирусологии.* 2021; 66(5): 383–9. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-79>
  45. Chung C.Y., Chen C.Y., Lin S.Y., Chung Y.C., Chiu H.Y., Chi W.K., et al. Enterovirus 71 virus-like particle vaccine: improved production conditions for enhanced yield. *Vaccine.* 2010; 28(43): 6951–7. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.08.052>
  46. Li H.Y., Han J.F., Qin C.F., Chen R. Virus-like particles for enterovirus 71 produced from *Saccharomyces cerevisiae* potently elicits protective immune responses in mice. *Vaccine.* 2013; 31(32): 3281–7. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.05.019>
  47. Zhang W., Dai W., Zhang C., Zhou Y., Xiong P., Wang S., et al. A virus-like particle-based tetravalent vaccine for hand, foot, and mouth disease elicits broad and balanced protective immunity. *Emerg. Microbes Infect.* 2018; 7(1): 94. <https://doi.org/10.1038/s41426-018-0094-1>
  48. Kim H.J., Son H., Lee S.W., Yoon Y., Hyeon J.-Y., Chung G.T., et al. Efficient expression of enterovirus 71 based on virus-like particles vaccine. *PLoS One.* 2019; 14(3): e0210477. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210477>
  49. Hankaniemi M.M., Baikoghli M.A., Stone V.M., Xing L., Vaatainen O., Soppela S., et al. Structural insight into CVB3-VLP non-adjuvanted vaccine. *Microorganisms.* 2020; 8(9): 1287. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091287>
  50. Zhang C., Ku Z., Liu Q., Wang X., Chen T., Ye X., et al. High-yield production of recombinant virus-like particles of enterovirus 71 in *Pichia pastoris* and their protective efficacy against oral viral challenge in mice. *Vaccine.* 2015; 33(20): 2335–41. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.03.034>
  51. Yang Z., Gao F., Wang X., Shi L., Zhou Z., Jiang Y., et al. Development and characterization of an enterovirus 71 (EV71) virus-like particles (VLPs) vaccine produced in *Pichia pastoris*. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2020; 16(7): 1602–10. <https://doi.org/10.1080/21645515.2019.1649554>
  52. Wang Z., Zhou C., Gao F., Zhu Q., Jiang Y., Ma X., et al. Preclinical evaluation of recombinant HFMD vaccine based on enterovirus 71 (EV71) virus-like particles (VLP): Immunogenicity, efficacy and toxicology. *Vaccine.* 2021; 39(31): 4296–305. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.06.031>
  53. Zhang C., Zhang X., Zhang W., Dai W., Xie J., Ye L., et al. Enterovirus D68 virus-like particles expressed in *Pichia pastoris* potently induce neutralizing antibody responses and confer protection against lethal viral infection in mice. *Emerg. Microbes Infect.* 2018; 7(1): 3. <https://doi.org/10.1038/s41426-017-0005-x>
  54. Sherry L., Grehan K., Snowden J.S., Knight M.L., Adeyemi O.O., Rowlands D.J., et al. Comparative molecular biology approaches for the production of poliovirus virus-like particles using *Pichia pastoris*. *mSphere.* 2020; 5(2): e00838-19. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00838-19>

## References

1. International committee on taxonomy of viruses (ICTV). Genus: Enterovirus. Available at: [https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv\\_online\\_report/positive-sense-rna-viruses/w/picornaviridae/681/genus-enterovirus](https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/positive-sense-rna-viruses/w/picornaviridae/681/genus-enterovirus)
2. Oberste M.S., Maher K., Kilpatrick D.R., Pallansch M.A. Molecular evolution of the human enteroviruses: correlation of serotype with VP1 sequence and application to picornavirus classification. *J. Virol.* 1999; 73(3): 1941–8. <https://doi.org/10.1128/JVI.73.3.1941-1948.1999>
3. Simmonds P., Gorbalenya A.E., Harvala H., Hovi T., Knowles N.J., Lindberg A.M., et al. Recommendations for the nomenclature of enteroviruses and rhinoviruses. *Arch. Virol.* 2020; 165(3): 793–7. <https://doi.org/10.1007/s00705-019-04520-6>
4. Brouwer L., Moreni G., Wolthers K.C., Pajkrt D. World-wide prevalence and genotype distribution of enteroviruses. *Viruses.* 2021; 13(3): 434. <https://doi.org/10.3390/v13030434>
5. Wells A.I., Coyne C.B. Enteroviruses: A gut-wrenching game of entry, detection, and evasion. *Viruses.* 2019; 11(5): 460. <https://doi.org/10.3390/v11050460>
6. Harvala H., Benschop K.S.M., Berginc N., Midgley S., Wolthers K., Simmonds P., et al. European non-polio enterovirus network: introduction of hospital-based surveillance network to understand the true disease burden of non-polio enterovirus and parechovirus infections in Europe. *Microorganisms.* 2021; 9(9): 1827. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9091827>
7. State report «On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2019». Moscow; 2020. (in Russian)
8. State report «On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2020». Moscow; 2021. (in Russian)
9. Cheng H.Y., Huang Y.C., Yen T.Y., Hsia S.H., Hsieh Y.C., Li C.C., et al. The correlation between the presence of viremia and clinical severity in patients with enterovirus 71 infection: a multi-center cohort study. *BMC Infect. Dis.* 2014; 14: 417. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-417>
10. Koh W.M., Badaruddin H., La H., Chen M.I.C., Cook A.R. Severity and burden of hand, foot and mouth disease in Asia: a modeling study. *BMJ Glob. Health.* 2018; 3(1): e000442. <https://doi.org/10.1136/bmjgh-2017-000442>
11. Aw-Yong K.L., NikNadia N.M.N., Tan C.W., Sam I.C., Chan Y.F. Immune responses against enterovirus A71 infection: Implications for vaccine success. *Rev. Med. Virol.* 2019; 29(5): e2073. <https://doi.org/10.1002/rmv.2073>
12. Ni H., Yi B., Yin J., He T., Du Y., Wang J., et al. Epidemiological and etiological characteristics of hand, foot and mouth disease in Ningbo, China, 2008–2011. *J. Clin. Virol.* 2012; 54(4): 342–8. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2012.04.021>
13. Yee P.T.I., Poh L.C. Impact of genetic changes, pathogenicity and antigenicity on Enterovirus-A71 vaccine development. *Virology.* 2017; 506: 121–9. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2017.03.017>
14. Mao Q., Wang Y., Yao X., Bian L., Wu X., Xu M., et al. Coxsackievirus A16: epidemiology, diagnosis, and vaccine. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2014; 10(2): 360–7. <https://doi.org/10.4161/hv.27087>
15. Li J.L., Yuan J., Yang F., Wu Z.Q., Hu Y.F., Xue Y., et al. Epidemic characteristics of hand, foot, and mouth disease in southern China, 2013: coxsackievirus A6 has emerged as the predominant causative agent. *J. Infect.* 2014; 69(3): 299–303. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2014.04.001>
16. Yang Q., Ding J., Cao J., Huang Q., Hong C., Yang B. Epidemiological and etiological characteristics of hand, foot, and mouth disease in Wuhan, China from 2012 to 2013: outbreaks of coxsackieviruses A10. *J. Med. Virol.* 2015; 87(6): 954–60. <https://doi.org/10.1002/jmv.24151>
17. Kim H.J., Kang B., Hwang S., Hong J., Kim K., Cheon D.S. Epidemics of viral meningitis caused by echovirus 6 and 30 in Korea in 2008. *Virol. J.* 2012; 9: 38. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-9-38>
18. Chen P., Tao Z., Song Y., Liu G., Wang H., Liu Y., et al. A coxsackievirus B5-associated aseptic meningitis outbreak in Shandong Province, China in 2009. *J. Med. Virol.* 2013; 85(3): 483–9. <https://doi.org/10.1002/jmv.23478>

19. Kim D.S., Nam J.H. Characterization of attenuated coxsackievirus B3 strains and prospects of their application as live-attenuated vaccines. *Expert. Opin. Biol. Ther.* 2010; 10(2): 179–90. <https://doi.org/10.1517/14712590903379502>
20. Sousa I.P. Jr., Burlandy F.M., Ferreira J.L., Alves J.C.S., Sousa-Júnior E.C., Tavares F.N., da Silva E.E. Re-emergence of a coxsackievirus A24 variant causing acute hemorrhagic conjunctivitis in Brazil from 2017 to 2018. *Arch. Virol.* 2019; 164(4): 1181–5. <https://doi.org/10.1007/s00705-019-04157-5>
21. Holm-Hansen C.C., Midgley S.E., Fischer T.K. Global emergence of enterovirus D68: a systematic review. *Lancet Infect. Dis.* 2016; 16(5): e64–75. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00543-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00543-5)
22. Golitsyna L.N., Zverev V.V., Fomina S.G., Sozonov D.V., Novikova N.A. Enterovirus infection in the Russian Federation in 2008–2018. *Infektsiya i immunitet.* 2018; 8(4): 558. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2018-4-3.16>
23. Sapaga E.Yu., Butakova L.V., Trotsenko O.E., Zaytseva T.A., Garbuz Yu.A., Balakhonov S.V., et al. The role of molecular genetic analysis in detection of potential importation of enterovirus infection in the Khabarovsk region. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya.* 2018; (2): 44–51. <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2018-299-2-44-51> (in Russian)
24. Yuan J., Shen L., Wu J., Zou X., Gu J., Chen J., et al. Enterovirus A71 proteins: structure and function. *Front. Microbiol.* 2018; 9: 286. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00286>
25. Huang K.A. Structural basis for neutralization of enterovirus. *Curr. Opin. Virol.* 2021; 51: 199–206. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2021.10.006>
26. Yang C., Deng C., Wan J., Zhu L., Leng Q. Neutralizing antibody response in the patients with hand, foot and mouth disease to enterovirus 71 and its clinical implications. *Virol. J.* 2011; 8(1): 306. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-8-306>
27. Luo S.T., Chiang P.S., Chao A.S., Liou G.Y., Lin R., Lin T.Y., et al. Enterovirus 71 maternal antibodies in infants, Taiwan. *Emerg. Infect. Dis.* 2009; 15(4): 581–4. <https://doi.org/10.3201/eid1504.081550>
28. Zhu R., Cheng T., Yin Z., Liu D., Xu L., Li Y., et al. Serological survey of neutralizing antibodies to eight major enteroviruses among healthy population. *Emerg. Microbes Infect.* 2018; 7(1): 2. <https://doi.org/10.1038/s41426-017-0003-z>
29. Zhu F., Xu W., Xia J., Liang Z., Liu Y., Zhang X., et al. Efficacy, safety, and immunogenicity of an enterovirus 71 vaccine in China. *N. Engl. J. Med.* 2014; 370(9): 818–28. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1304923>
30. Lei D., Griffiths E., Martin J. WHO working group meeting to develop WHO Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of enterovirus 71 vaccines. *Vaccine.* 2020; 38(32): 4917–23. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2020.05.001>
31. Huang L.M., Chiu C.H., Chiu N.C., Lin C.Y., Li M.T., Kuo T.Y., et al. Immunogenicity, safety, cross-reaction, and immune persistence of an inactivated enterovirus A71 vaccine in children aged from two months to 11 years in Taiwan. *Vaccine.* 2019; 37(13): 1827–35. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.02.023>
32. Cai Y., Ku Z., Liu Q., Leng Q., Huang Z. A combination vaccine comprising of inactivated enterovirus 71 and coxsackievirus A16 elicits balanced protective immunity against both viruses. *Vaccine.* 2014; 32(21): 2406–12. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.03.012>
33. Yang T., Xie T., Li H., Song X., Yue L., Wang X., et al. Immune responses of a CV-A16 live attenuated candidate strain and its protective effects in rhesus monkeys. *Emerg. Microbes Infect.* 2020; 9(1): 2136–46. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1823889>
34. Yeh M.T., Wang S., Yu C.K., Lin K.H., Lei H.Y., Su I.J., et al. A single nucleotide in stem loop II of 5'-untranslated region contributes to virulence of enterovirus 71 in mice. *PLoS One.* 2011; 6(11): e27082. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027082>
35. Meng T., Kwang J. Attenuation of human enterovirus 71 high-replication-fidelity variants in AG129 mice. *J. Virol.* 2014; 88(10): 5803–15. <https://doi.org/10.1128/JVI.00289-14>
36. Tsa Y.H., Huang S.W., Hsieh W.S., Cheng C.K., Chang C.F., Wang Y.F., et al. Enterovirus A71 containing codon deoptimized VP1 and high-fidelity polymerase as next-generation vaccine candidate. *J. Virol.* 2019; 93(13): e02308-18. <https://doi.org/10.1128/JVI.02308-1>
37. Yee P.T.I., Tan S.H., Ong K.C., Tan K.O., Wong K.T., Hassan S.S., et al. Development of live attenuated Enterovirus 71 vaccine strains that confer protection against lethal challenge in mice. *Sci. Rep.* 2019; 9(1): 4805. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41285-z>
38. Lasrado N., Gangaplara A., Massilamany C., Arumugam R., Shelbourn A., Rasquinha M.T., et al. Attenuated strain of CVB3 with a mutation in the CAR interacting region protects against both myocarditis and pancreatitis. *Sci. Rep.* 2021; 11(1): 12432. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90434-w>
39. Muslin C., Kain A.M., Bessaud M., Blondel B., Delpeyroux F. Recombination in enteroviruses, a multi-step modular evolutionary process. *Viruses.* 2019; 11(9): 859. <https://doi.org/10.3390/v11090859>
40. Anasir M.I., Poh C.L. Advances in antigenic peptide-based vaccine and neutralizing antibodies against viruses causing hand, foot, and mouth disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20(6): 1256. <https://doi.org/10.3390/ijms20061256>
41. Tian X., Su X., Li X., Li H., Li T., Zhou Z., et al. Protection against enterovirus 71 with neutralizing epitope incorporation within adenovirus type 3 hexon. *PLoS One.* 2012; 7(7): e41381. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041381>
42. Dai W., Xiong P., Zhang X., Liu Z., Chen J., Zhou Y., et al. Recombinant virus-like particle presenting a newly identified coxsackievirus A10 neutralization epitope induces protective immunity in mice. *Antiviral Res.* 2019; 164: 139–46. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2019.02.016>
43. Jiang L., Fan R., Sun S., Fan P., Su W., Zhou Y., et al. A new EV71 VP3 epitope in norovirus P particle vector displays neutralizing activity and protection in vivo in mice. *Vaccine.* 2015; 33(48): 6596–603. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.10.104>
44. Novikov D.V., Melent'ev D.A., Mokhonov V.V., Kashnikov A.Yu., Novikova N.A., Lapin V.A., et al. Construction of norovirus (Caliciviridae: Norovirus) virus-like particles containing VP1 of the Echovirus 30 (Picornaviridae: Enterovirus: Enterovirus B). *Voprosy virusologii.* 2021; 66(5): 383–9. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-79> (in Russian)
45. Chung C.Y., Chen C.Y., Lin S.Y., Chung Y.C., Chiu H.Y., Chi W.K., et al. Enterovirus 71 virus-like particle vaccine: improved production conditions for enhanced yield. *Vaccine.* 2010; 28(43): 6951–7. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.08.052>
46. Li H.Y., Han J.F., Qin C.F., Chen R. Virus-like particles for enterovirus 71 produced from *Saccharomyces cerevisiae* potently elicits protective immune responses in mice. *Vaccine.* 2013; 31(32): 3281–7. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.05.019>
47. Zhang W., Dai W., Zhang C., Zhou Y., Xiong P., Wang S., et al. A virus-like particle-based tetravalent vaccine for hand, foot, and mouth disease elicits broad and balanced protective immunity. *Emerg. Microbes Infect.* 2018; 7(1): 94. <https://doi.org/10.1038/s41426-018-0094-1>
48. Kim H.J., Son H., Lee S.W., Yoon Y., Hyeon J.-Y., Chung G.T., et al. Efficient expression of enterovirus 71 based on virus-like particles vaccine. *PLoS One.* 2019; 14(3): e0210477. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210477>
49. Hankaniemi M.M., Baikoghli M.A., Stone V.M., Xing L., Vaatainen O., Soppela S., et al. Structural insight into CVB3-VLP non-adjuvanted vaccine. *Microorganisms.* 2020; 8(9): 1287. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091287>
50. Zhang C., Ku Z., Liu Q., Wang X., Chen T., Ye X., et al. High-yield production of recombinant virus-like particles of enterovirus 71 in *Pichia pastoris* and their protective efficacy against oral viral challenge in mice. *Vaccine.* 2015; 33(20): 2335–41. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.03.034>
51. Yang Z., Gao F., Wang X., Shi L., Zhou Z., Jiang Y., et al. Development and characterization of an enterovirus 71 (EV71) virus-like particles (VLPs) vaccine produced in *Pichia pastoris*. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2020; 16(7): 1602–10. <https://doi.org/10.1080/21645515.2019.1649554>
52. Wang Z., Zhou C., Gao F., Zhu Q., Jiang Y., Ma X., et al. Preclinical evaluation of recombinant HFMD vaccine based on enterovirus 71 (EV71) virus-like particles (VLP): Immunogenicity, efficacy and toxicology. *Vaccine.* 2021; 39(31): 4296–305. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.06.031>
53. Zhang C., Zhang X., Zhang W., Dai W., Xie J., Ye L., et al. Enterovirus D68 virus-like particles expressed in *Pichia pastoris* potently induce neutralizing antibody responses and confer protection against lethal viral infection in mice. *Emerg. Microbes Infect.* 2018; 7(1): 3. <https://doi.org/10.1038/s41426-017-0005-x>
54. Sherry L., Grehan K., Snowden J.S., Knight M.L., Adeyemi O.O., Rowlands D.J., et al. Comparative molecular biology approaches for the production of poliovirus virus-like particles using *Pichia pastoris*. *mSphere.* 2020; 5(2): e00838-19. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00838-19>