



Эпидемиология оспы лошадей. Новые аспекты

Л.Ф. Стомба, А.А. Петров, С.А. Мельников, О.В. Чухраля, Н.К. Черникова,
С.В. Борисевич✉

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«48 Центральный научно-исследовательский институт»
Министерства обороны Российской Федерации,
141306, Российская Федерация, Московская область, Сергиев Посад-6, ул. Октябрьская, д. 11
✉ e-mail: 48cnii@mail.ru

В последние 10 лет интерес ученых к возбудителю оспы лошадей резко возрос в связи с получением его химерной копии и дискуссией, был ли он использован при создании ранних оспенных вакцин и опасности технологий, позволяющих восстанавливать вымершие возбудители опасных инфекций.

Цель работы – обобщение материалов по современным исследованиям вируса оспы лошадей.

Источниковая база исследования – англоязычная научная литература, доступная через сеть Интернет.

Метод исследования – анализ научных источников по оспе лошадей от общего к частному. Рассматривали ареал распространения вируса, его эпидемиологическую опасность, филогенетическое родство, данные по секвенированию генома вируса оспы лошадей и вероятность использования его при создании первых противооспных вакцин, а также получение его химерной копии, на основе которой создана новая противооспная вакцина – TNX-801.

Результаты и обсуждение. Вирус оспы лошадей относится к семейству поксвирусов, роду ортопоксвирусов. Классическая оспа лошадей ранее зарегистрирована только в Европе (Франция), в Монголии и в Кении. Определена полная нуклеотидная последовательность генома вируса оспы лошадей штамма MNR-76, выделенного в Монголии. Помимо генов, характерных для всех ортопоксвирусов, он включает интактные гены, специфические только для этого вируса, гомологи которых фрагментированы в геноме других ортопоксвирусов. На основе консервативной центральной области генома и части более вариабельных терминальных областей выполнен филогенетический анализ ряда ортопоксвирусов и построено филогенетическое древо. Полученные данные свидетельствуют, что вирус оспы лошадей теснее всего связан со штаммами вируса вакцины и вируса оспы кроликов. Хотя оспа лошадей в настоящее время считается исчезнувшей, возможно, ее возбудитель сохраняется в неизвестных резервуарах. Данные по секвенированию генома вируса оспы лошадей, штамм MNR-76 дают основание предполагать, что вирус оспы лошадей мог служить основой первых противооспных вакцин. Методом синтетической биологии получена химерная копия вируса оспы лошадей, на основе которой создана новая противооспная вакцина – TNX-801. На ее основе сконструирована рекомбинантная вакцина против SARS-CoV-2. Восстановление «вымерших вирусов» методами синтетической биологии привело к интенсивным дебатам о пользе и риске подобных исследований.

Заключение. Нельзя исключать, что использование современных генно-инженерных технологий может привести не только к разработке эффективных вакцинных препаратов, но и к получению новых ортопоксвирусов, патогенных для человека и животных, или к реинтродукции натуральной оспы, что представляет особую опасность в условиях практического отсутствия противооспенного иммунитета у населения и международного контроля над экспериментами по синтетической биологии опасных патогенов.

Ключевые слова: вирус оспы лошадей; ортопоксвирусы; оспа лошадей; противооспная вакцина; синтетическая биология; химерная копия

Для цитирования: Стомба Л.Ф., Петров А.А., Мельников С.А., Чухраля О.В., Черникова Н.К., Борисевич С.В. Эпидемиология оспы лошадей. Новые аспекты. Вестник войск РХБ защиты. 2024;8(2):135–145. EDN:uvyboa.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-2-135-145>

Прозрачность финансовой деятельности: авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

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

Финансирование: Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Поступила 05.06.2024. После доработки 13.06.2024 г. Принята к публикации 27.06.2024.

Epidemiology of Horsepox. The New Aspects

Lyudmila F. Stovba, Aleksandr A. Petrov, Sergey A. Melnikov, Oleg V. Chukhralia,
Natalya K. Chernikova, Sergey V. Borisevich✉

48 Central Scientific Research Institute
of the Ministry of Defence of the Russian Federation,
Oktyabrskaya Street, 11, Sergiev Posad 141306, Russian Federation
✉ e-mail: 48cnii_1@mil.ru

In the last 10 years, scientists' interest in the horsepox pathogen has increased sharply due to the obtaining of its chimeric copy and the discussion of whether it was used to create early smallpox vaccines and the dangers of technologies that allow the restoration of extinct pathogens of dangerous infections.

The aim of the work is to summarize the materials on modern studies of the horsepox virus.

The source base of the study is English-language scientific literature available via the Internet.

The research method is an analysis of scientific sources on horsepox from the general to the specific. We considered the area of distribution of the virus, its epidemiological danger, phylogenetic relationship, data on the sequencing of the horsepox virus genome and the likelihood of its use in the creation of the first vaccines, as well as obtaining its chimeric copy, on the basis of which a new smallpox vaccine was created – TNX-801.

Results and discussion. The horsepox virus belongs to the poxvirus family, the orthopoxvirus genus. Classical horsepox has previously been reported only in Europe (France), Mongolia, and Kenya. The complete nucleotide sequence of the horsepox virus genome MNR-76 isolated in Mongolia has been determined. In addition to genes common to all orthopoxviruses, it includes intact genes specific only to this virus, the homologues of which are fragmented in the genome of other orthopoxviruses. Phylogenetic analysis of a number of orthopoxviruses was performed and a phylogenetic tree was constructed based on the conserved central region of the genome and some of the more variable terminal regions. The data obtained indicate that horsepox virus is most closely related to vaccinia virus and rabbitpox virus strains. Although horsepox is currently considered extinct, its pathogen may persist in unknown reservoirs. The data on the sequencing of the horsepox virus genome, strain MNR-76, suggest that horsepox virus could have served as the basis for the first smallpox vaccines. A chimeric copy of the horsepox virus was obtained using synthetic biology, which was used to create a new smallpox vaccine, TNX-801. On its basis, a recombinant vaccine against SARS-CoV-2 was constructed. The restoration of "extinct viruses" using synthetic biology methods has led to intense debates about the benefits and risks of such research.

Conclusion. It cannot be ruled out that the use of modern genetic engineering technologies may lead not only to the development of effective vaccines, but also to the production of new orthopoxviruses pathogenic for humans and animals, or to the reintroduction of smallpox, which is especially dangerous in the context of the virtual absence of smallpox immunity in the population and international control over experiments in the synthetic biology of dangerous pathogens.

Keywords: chimerical virus; horsepox virus; Orthopoxviruses; recombinant vaccine; reintroduction of smallpox; scHPXV; smallpox vaccines; strain MNR-76; synthetic biology

For citation: Stovba L.F., Petrov A.A., Melnikov S.A., Chukhralya O.V., Chernikova N.K., Borisevich S.V. Epidemiology of Horsepox. The New Aspects. Journal of NBC Protection Corps. 2024;8(2):135–145. EDN:uvyboa.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-2-135-145>

Financial disclosure: The authors have no financial interests in the submitted materials or methods.

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

Funding: The study had no sponsorship.

Received June 05, 2024. Revised June 13, 2024. Accepted June 27, 2024

В последние 10 лет интерес ученых к возбудителю оспы лошадей резко возрос в связи с синтезом его химерной копии и дискуссией, был ли он использован при создании ранних оспенных вакцин и опасности технологий, позволяющих восстанавливать вымершие виды возбудителей опасных инфекций.

Цель работы – обобщение материалов по современным исследованиям вируса оспы лошадей.

Источниковая база исследования – англоязычная научная литература, доступная через сеть Интернет.

Метод исследования – анализ научных источников по оспе лошадей от общего к частному.

Рассматривали ареал распространения вируса, его свойства, эпидемиологическую опасность, филогенетическое родство, данные по секвенированию генома вируса оспы лошадей и вероятность использования его при создании первых вакцин, а также получение его химерной копии, на основе которой создана новая противооспенная вакцина – TNX-801.

Распространение и свойства возбудителя оспы лошадей. Возбудителем оспы лошадей является вирус оспы лошадей, который относится к семейству поксвирусов (Poxviridae), роду ортопоксвирусов (Orthopoxviridae) [1]. Он образует оспины на хорион-аллантоисной оболочке (ХАО) развивающихся куриных эмбрионов (РКЭ), хорошо репродуцируется во многих клеточных линиях, включая клетки млекопитающих. Классическая оспа лошадей ранее была зафиксирована только в Европе во Франции: в Реймсе близ Тулузы в 1860 г., в Мезон-Альфор, нынешнем пригороде Парижа, в 1863 г., в Тулузе в 1880 г., в Сен-Жан-де-Не департамента Верхняя Луара в 1887 г. [2]. Помимо Европы, к началу XX века вспышки этого заболевания фиксировались в Монголии (в провинции Хентил – в 1976 г., в провинциях Дорноговь, Дундговь и Кхентил – в 1980 г.) [3, 4] и в Кении – в 1934 г. [5].

Оспа лошадей протекает в двух клинических формах: щечная форма, характеризующаяся доброкачественными поражениями на морде и во рту, называемая пустулезным контактиозным стоматитом, и генерализованная – высоко контактиозная папулоузелковая форма, называемая вирусным папулезным дерматитом (рисунки 1) [6–8].



Рисунок 1 – Папулезная сыпь на коже лошади, инфицированной вирусом оспы лошадей [7]

Клинические симптомы, вызываемые вирусом оспы лошадей, схожи с таковыми, вызываемыми другими оспенными вирусами: лошадиным контактиозным моллюском и болезнью Уасингишу [9].

Строение генома и филогенетический анализ вируса оспы лошадей. Определена полная нуклеотидная последовательность генома единственного штамма вируса оспы лошадей – MNR-76, выделенного в Монголии от лошади, больной пустулезным дерматитом [10]. Геном состоит из 212633 пар нуклеотидов, содержит 69 % (A+T) нуклеотидных пар и организационно подобен другим ортопоксвирусам. Он содержит центральную часть, которая определяет основные репродуктивные функции, такие как вирусную транскрипцию и модификацию, репликацию ДНК и сборку вирионов. По концам генома расположены инвертированные терминальные повторы, определяющие вирусную вирулентность, круг хозяев, модификацию хозяйского иммунного ответа. Однако помимо генов, характерных для всех ортопоксвирусов, в геноме вируса оспы лошадей имеются интактные гены, специфические только для этого возбудителя, гомологи которых фрагментированы в геномах других ортопоксвирусов. Параллельно с этим наблюдается уникальная фрагментация нескольких генов, которые интактны во всех или у большинства ортопоксвирусов. На основе высоко консервативной центральной области генома и части более вариабельных терминальных

областей был выполнен филогенетический анализ ряда ортопоксвирусов и построено филогенетическое древо, представленное на рисунке 2.

Полученные данные свидетельствовали, что вирус оспы лошадей теснее всего связан со штаммами вируса вакцины и вируса оспы кроликов, по сравнению с другими ортопоксвирусами. Эти выводы согласуются с ранее полученными результатами, что вирус оспы лошадей – это вакциноподобный вирус [11], а вирус вакцины и вирус оспы лошадей имеют общего предшественника [12]. Однако, несмотря на тесную взаимосвязь, филогенетически вирус оспы лошадей дистанцируется от штаммов вируса вакцины и не является их прямым предком. Следовательно, вирус оспы лошадей, штамм MNR-76, представлял собой новый, циркулирующий в природе возбудитель, а лошади являлись для него промежуточным хозяином.

О прямой передаче человеку оспы лошадей имеется сообщение в Великобритании. Кроме того, время от времени, начиная с работы Дженнера и Лоя, сообщалось о других случаях прямой передачи болезни человеку от лошади [13]. Однако диагностика возбудителя не проводилась ни в одном из случаев. Применение полимеразной цепной реакции с праймерами, рассчитанными на ген телец

включения А-типа, позволяет выявлять род возбудителя, поскольку эти тельца-включения имеют все ортопоксвирусы. И хотя при этом образуются амплификаты разного размера, рекомендуется дополнять эту реакцию другим методом, например, рестриктивным анализом, результаты которого позволяют определять только вирус оспы лошадей, как в случае с вирусом оспы верблюдов [14, 15].

В целом, о свойствах вируса оспы лошадей известно немного, поскольку вызываемое им заболевание не было распространенным и не наносило большого вреда народному хозяйству. Нет также прямых доказательств передачи его человеку. Оспа лошадей начала исчезать в конце XIX века и сейчас считается исчезнувшей, хотя, возможно, возбудитель сохраняется в неизвестных резервуарах [4].

Вирус оспы лошадей как основа первых противооспённых вакцин. Однако в последнее время интерес ученых к вирусу оспы лошадей резко возрос. Это связано с дискуссией о том, на основе какого именно вируса были созданы первые противооспённые вакцины: на основе вируса оспы коров, вируса оспы лошадей или вируса вакцины. В 1798 г. был опубликован труд Дженнера «Inquiry» («Исследование»), в котором предполагалось, что противооспённая вакцина основана на вирусе оспы коров. Это мнение просущество-

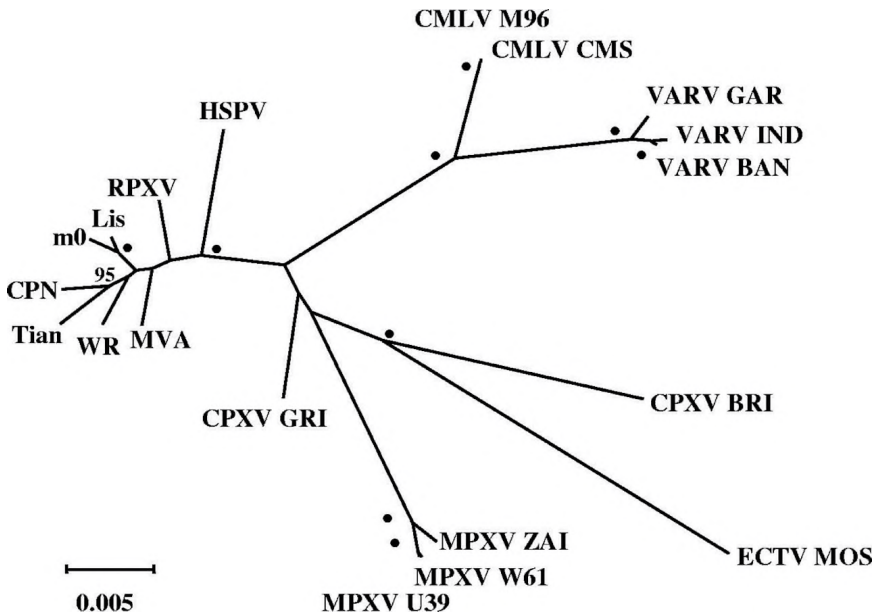


Рисунок 2 – Филогенетическое древо, построенное по результатам анализа центральных геномных последовательностей вируса оспы лошадей и ряда других ортопоксвирусов [10]. Штаммы вируса вакцины: Lis (Lister), m0 (LC16m8), CPN (Копенгаген), Tian (TianTan), WR, MVA; RPXV – вирус оспы кроликов (штамм Утрехт); HSPV – вирус оспы лошадей (штамм MNR-76); CMLV – вирус оспы верблюдов (штаммы M96 and CMS); VARV – вирус натуральной оспы (штаммы GAR (Гарсия 1966), IND (Индия 1967), BAN (Бангладеш 1975); CPXV – вирус оспы коров (штаммы BR lu U39); ECTV – вирус эктромелии (штамм MOS (Москва); MPXV – вирус оспы обезьян (штаммы ZAI, W61, U39)

вало до 1939 г., пока не было показано, что данный патоген серологически, хоть и связан с вирусом оспы коров, но отличается от него [14–16].

На протяжении XIX в. иммунизация проводилась как лимфой больных коров (вакцинация), так и лимфой больных лошадей (эквинация), то есть для противооспенной иммунизации использовались и вирус оспы коров, и вирус оспы лошадей [16–19]. Производственные вакцины на протяжении XIX в. могли содержать смеси этих двух вирусов, что приводило к различным генетическим модификациям, в результате которых образовались современные штаммы вируса вакцины [16].

Фактически вирус оспы коров никогда не был определен на молекулярном уровне ни в одной из противооспенных вакцин [20], в то время как вирус, связанный с вирусом оспы лошадей, применяемый в качестве основы противооспенной вакцины, использовался в лаборатории Mulford в США в 1902 г. [21, 22]. Центральная консервативная часть генома штамма Mulford 1902 на 99,7 % была подобна геному штамма MNR-76. Он отличался только по наличию делеций в 10,7 т.п.о. на левом конце генома и 5,5 т.п.о. на правом

конце генома, что также характерно для всех штаммов вируса вакцины [21, 23].

Недавно было сообщено о частичных последовательностях геномов вирусов, которые лежали в основе пяти американских противооспенных вакцин, применявшихся с середины до конца XIX в. [19, 23, 24]. Филогенетический анализ выявил, что эти штаммы кластеризуются с вирусом оспы лошадей и штаммом Mulford 1902 (рисунки 3). Также было показано, что противооспенные вакцины на основе вируса оспы лошадей применялись в США, по крайней мере, за 36 лет до штамма Mulford 1902. В XIX в. штаммы вирусов для противооспенных вакцин постоянно импортировались из Европы и вполне вероятно, что вакцинные вирусы оспы лошадей повторно интродуцировались в Европу, а подобные им вакцины производились и использовались в Европе в XIX в. [24–26].

Данные по секвенированию генома вируса оспы лошадей, штамм MNR-76, и многих штаммов вируса вакцины выявили их тесное подобие, что также дает основание предполагать, что вирус оспы лошадей и связанные с ним возбудители могли служить основой противооспенных вакцин, как и вирус вакцины. Для подтверждения этому предпо-

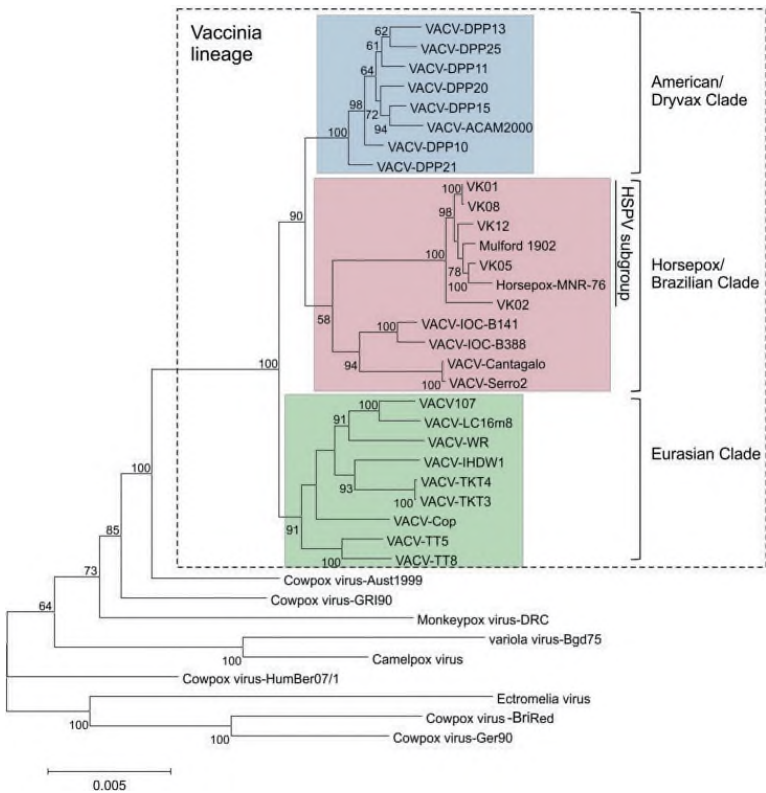
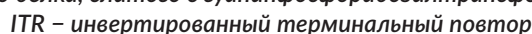


Рисунок 3 – Филогенетическое древо, определяющее положение противооспенных вакцин, применявшихся в XIX веке, относительно вируса оспы лошадей, современных штаммов вируса вакцины и ряда ортопоксвирусов [20]

Концевые 40-нуклеотидные фрагменты, содержащие одноцепочечные шпилечные структуры, не были синтезированы, а отрезаны от генома вируса вакцины, штамм WR, и слигированы с концевыми фрагментами химически синтезированного генома. Клонированные ДНК-фрагменты вырезались из плазмидного вектора, к концевым фрагментам пришивались фрагменты вируса вакцины, содержащие шпилечные одноцепочечные структуры, и этой эквимольярной смесью проводилась трансфекция в клетках BGМК [28], инфицированных вирусом фибромы Шоупа как вирусом-помощником (рисунк 4).

****Правый инвертированный терминальный повтор.**

Всего было получено три бляшки, которые содержали химически синтезированный вирусный геном, идентичный геному вируса оспы лошадей, за исключением 40 нуклеотидов по концам генома. Стоимость данного эксперимента составила 100 тыс. долларов США.



Секвенирование этих химерных геномов подтвердило их полное сходство с нуклеотидной последовательностью генома штамма MNR-76, за исключением 40 концевых нуклеотидов, которые были заменены на концевые последовательности вируса вакцины.

Изучение свойств одного из химерных вирусов, названного scHPVX (synthetic chimeric HPVX) проводилось в сравнении с вирусом вакцины, штаммами WR и DPP15. Химерный вирус образовывал бляшки меньшего размера в культурах клеток BSC-40, HeLa, HEL фибробластах, Vero и продуцировал меньше внеклеточного вируса, а также проявлял меньшую патогенность на мышах. При оценке его иммуногенных свойств было показано, что он защищает белых мышей от заражения летальной дозой вируса вакцины [27].

Создание вакцин на основе синтетического химерного вируса оспы лошадей (scHPVX). В марте 2017 г. компания Tonix Pharmaceuticals анонсировала создание новой противооспенной вакцины с коммерческим названием TNX-801. Эта вакцина была основана на указанном химерном вирусе оспы лошадей¹. Изучение ее свойств показало, что она индуцирует у обезьян *Cynomolgus macaques* гуморальный иммунный ответ, защитный уровень которого повышается при увеличении вводимой дозы [29]. Эффективность вакцины TNX-801 была оценена при заражении обезьян на 60 сутки после вакцинации летальной дозой (5,0 lg10 БОЕ) вируса оспы обезьян, штамм Заир. Все вакцинированные обезьяны выжили, либо не проявляя никаких симптомов заболевания, либо незначительно реагируя вирусемией, небольшой потерей веса или облысением. Следовательно, однократное введение вакцины TNX-801, способной к репликации в клетках млекопитающих, формирует иммунный ответ, достаточный для защиты иммунизированных животных от заражения летальной дозой вируса оспы обезьян (рисунок 5) [29].

Оценка вакцины TNX-801 в сравнении с существующими противооспенными вакцинами, изготовленными на основе вируса вакцины, показала, что она еще недостаточно исследована, коммерчески не выгодна, а потому имеет мало шансов на лицензирование [30, 31]. Но, тем не менее, создание вакцин на основе искусственно полученного вируса продолжалось [32, 33].

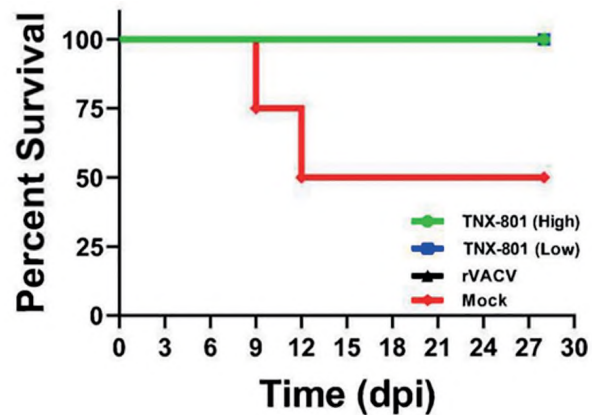


Рисунок 5 – Результаты оценки выживаемости обезьян *Cynomolgus macaques* (процент), после заражения их летальной дозой вируса оспы обезьян (линия зеленого цвета – вакцинированных рекомбинантной химерной вакциной TNX-801, красного – контрольных невакцинированных) [29]

Была получена рекомбинантная вакцина TNX-1800 на основе химерного вируса оспы лошадей, в геном которого встраивали ген спайкового белка вируса SARS-CoV-2. Она оценивалась на двух видах обезьян: африканских зеленых марышках (African Green Monkeys) и макаках циномоглус (*Cynomolgus macaques*). Иммунизация этой вакциной не вызывала побочных реакций и изменений клинических параметров у обоих видов обезьян. Однократное введение вакцины индуцировало гуморальный иммунный ответ, о чем свидетельствовало наличие связывающих спайковых анти-SARS-CoV-2 IgG и нейтрализующих антител против штамма USA-WA1/2020 у обоих видов обезьян. У макака циномоглус индуцировался Т-клеточный иммунитет. При заражении вирусом SARS-CoV-2 обоих видов обезьян наблюдалось быстрое выведение вируса из верхних и нижних дыхательных путей.

Эта же вакцина оценивалась на сирийских хомячках и новозеландских белых кроликах [32, 33]. Животные были однократно вакцинированы тремя дозами вакцины внутрикожно. Вакцинация хорошо переносилась обоими видами животных, без побочных реакций. После вакцинации у всех животных выявлялись специфические антитела против спайкового S-белка вируса SARS-CoV-2. Следовательно, рекомбинантные живые вакцины на основе искусственно полученного

¹ Tonix Pharmaceuticals announces demonstrated vaccine activity in first-ever synthesized chimeric horsepox virus. Tonix Pharmaceuticals, New York, NY. 2017. URL: <https://www.tonixpharma.com/news-events/press-releases/detail/1052/tonix-pharmaceuticals-announces-demonstrated-vaccine> (дата обращения: 02.06.2024).

вируса оспы лошадей хорошо переносятся лабораторными животными и вызывают защитный иммунный ответ при однократной иммунизации.

Вместе с тем сами факты публикации методологии синтеза генома вируса оспы лошадей из химических фрагментов и создания на его основе нативного возбудителя показали, что синтетическая биология вступила в область больших вирусов [27].

Первый синтетический вирус, полиовирус, синтезированный Wimmer и коллегами, открыл новую эру обратной генетики, которая позволяет генерировать синтетический вирус без необходимости в нуклеиновокислотной заправке [34]. Применение этой методологии дало возможность получить вирус гриппа, вызвавший эпидемию гриппа 1918–1919 гг., так называемую «Испанку», который сейчас не выделяется в природе [35]. Так же был получен SARS-подобный коронавирус, выделенный от летучих мышей, от которого происходит SARS-CoV-2 – коронавирус, вызвавший пандемию, начавшуюся в конце 2019 г. [36]. С помощью этой же методологии были получены инфекционные варианты трех изолятов вируса Эбола: Ebola Makona, Tumba, Itari, которые обладали той же патогенностью для лабораторных мышей, как и природные изоляты [37].

Создание нативных вирусов методами синтетической биологии привело к интенсивным дебатам о пользе и риске подобных исследований. Создание вакцинного препарата открывает путь для получения новых противооспенных вакцин, не вызывающих побочных реакций и обладающих достаточной иммуногенностью при одноразовом введении. Однако эта же методология может привести к получению новых ортопоксвирусов, патогенных для человека и животных, или к реинтродукции натуральной оспы, что представляет особую опасность в условиях практического отсутствия противооспенного иммунитета.

Заключение

Таким образом, оспа лошадей – довольно редкое в прошлом заболевание, которое не наносило значительного ущерба народному хозяйству, сейчас не регистрируется, а его возбудитель не выявляется в природе. Од-

нако вирус оспы лошадей вызывает большой интерес, как основа репликационно-компетентных противооспенных вакцин, способных индуцировать иммунный ответ без побочных реакций при однократном введении. Данные по секвенированию генома вируса оспы лошадей, штамм MNR-76, и многих штаммов вируса вакцины выявили их тесное подобие, что дает основание предполагать, что вирус оспы лошадей мог ранее служить основой противооспенных вакцин, как и вирус вакцины.

Канадскими исследователями был получен геном вируса оспы лошадей на основе генома штамма MNR-76 из 10 химически синтезированных фрагментов по 10–30 т.п.о., за исключением 40 нуклеотидов, расположенных по концам генома (в месте образования одноцепочечных шпилечных структур). В результате была образована химерная копия вируса оспы лошадей, названная scHPXV. В марте 2017 г. компания Tonix Pharmaceuticals анонсировала создание на основе указанного химерного вируса оспы лошадей новой противооспенной вакцины под коммерческим названием TNX-801. Изучение ее свойств показало, что при однократном введении обезьянам *Cynomolgus tacaques* она индуцирует гуморальный иммунный ответ и защищает от гибели 100 % животных при заражении летальной дозой (5,0 lg БОЕ) вируса оспы обезьян, штамм Заир. На основе этого же химерного вируса оспы лошадей была создана рекомбинантная вакцина против SARS-CoV-2 – TNX-1800, которая при однократном введении индуцировала гуморальный и клеточный иммунитет у обезьян, кроликов и сирийских хомячков и защищала их от заражения вирулентным коронавирусом.

В тоже время нельзя исключать и того, что использование современных генно-инженерных технологий может привести не только к разработке эффективных вакцинных препаратов, но и к получению новых ортопоксвирусов, патогенных для человека и животных, или к реинтродукции натуральной оспы, что представляет особую опасность в условиях практического отсутствия противооспенного иммунитета у населения и международного контроля над экспериментами по синтетической биологии опасных патогенов.

Список источников/References

1. Oliveira Silva NI, de Oliveira JS, Kroon EG, de Souza Trindade G, Drumond BP. Here, There, and Everywhere: The Wide Host Range and Geographic Distribution of Zoonotic Orthopoxviruses. *Viruses*. 2021;13:43. <https://doi.org/10.3390/v13010043>

2. Galtier V. *Horse-pox simulant la dourine; enzootie de variola équine dans la Haute-Loire; rapport adressé à M. le préfet de la Haute-Loire*. Lyon; 1887.
3. Delhon G, Afonso CL, Zsak L, Sandybaev NT. Genome of horsepox virus. *J Virol*. 2006;80:9244–58.
<https://doi.org/10.1128/JVI.00945-06>
4. Esparza J. Has horsepox become extinct? *Vet Rec*. 2013;173:272–3.
<https://doi.org/10.1136/vr15587>
5. Kamingolo JS, Nyaga PN, Gicho JN. Isolation, Cultivation and Characterization of a Poxvirus from some Horses in Kenya. *Zbl Vet Med B*. 1974;21:592–601.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0450.tb00534.x>
6. McInture RW. Virus popular Dermatitis of the horse. *Am J Vet Res*. 1949;10:229–32.
7. Munz E, Dumbell KH. Horsepox. In: *Infectious diseases of live stock-with special emphasis to Southern Africa*. Coetzer JAW, Thompson GR, Eds. Oxford University Press, Oxford, United Kingdom; 1998. P. 631–2.
8. MacNeill AI. Comparative pathology of zoonotic orthopoxviruses. *Pathogens*. 2022;11(8):892.
<https://doi.org/10.3390/pathogens11080892>
9. Thompson CH, Yager JA and Van Rensburg IB. Close relationship between equine and human molluscum contagiosum virus demonstrated by in situ hybridization. *Res Vet Sci*. 1998;64:157–61.
10. Tulman ER, Delhon G, Afonso CL, Lu Z, Zsak L, Sandybaev NT, et al. Genome of Horsepox Virus. *J Virol*. 2006;80:9244–58.
<https://doi.org/10.1128/JVI.00945-06>
11. Gubser C, Hue S, Kellam P, Smith GL. Poxvirus genomes: a phylogenetic analysis. *J Gen Virol*. 2004;85:105–17.
<https://doi.org/10.1099/vir.0.19565-0>
12. Esparza J, Damaso CR. Searching for the origin of the smallpox vaccine. Edward Jenner and his little-known horsepox hypothesis. *Vaccine*. 2022;3(40):3–4.
<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.11.007>
13. Cameron AF. Horse-pox directly transmitted to man. *British Med J*. 1908;1292–4.
<https://doi.org/10.1136/bmj.1.2474.1293>
14. Meyer H, Pfeffer M, Rziha H-J. Sequence alterations within and down stream of the A-type inclusion protein genes allow of Orthopoxvirus species by polymerase chain reaction. *J Gen Virol*. 1994;75:1975–81.
<https://doi.org/10.1099/0022-1317-75-8-1975>
15. Brum MCS, dos Anjos BL, Nogueira CEW, Weiblen R, Flores EF. An outbreak of orthopoxvirus-associated disease in horses in southern Brazil. *J Vet Diagn Invest*. 2010;22:143–7.
<https://doi.org/10.1177/104063871002200132>
16. Esparza J, Schrick L, Damaso RD, Nitsche A. Equination (inoculation of horsepox): An early alternative to vaccination (inoculation of cowpox) and the potential role of horsepox virus in the origin of the smallpox vaccine. *Vaccine*. 2017;35:7222–30.
<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.11.003>
17. Damaso CR. Revisiting Jenner's mysteries, the role of the Beaugency lymph in the evolutionary path of ancient smallpox vaccines. *Lancet Infect Dis*. 2018;18:e55–63.
[https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30445-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30445-0)
18. Esparza J, Nitsche A, Damaso CR. Beyond the myths: novel findings for old paradigms in the history of the smallpox vaccine. *PLoS Pathog*. 2018;14:e1007082.
<https://doi.org/10.1071/journal.ppat.1007082>
19. Duggan AT, Klunk J, Porter AF, Dhody AN, Hicks R, Smith GL, et al. The origins and genomic diversity of American Civil War Era smallpox vaccine strains. *Genome Biol*. 2020;21(1):175.
<https://doi.org/10.1186/S13059-020-02079-z>
20. Brinkmann A, Souza ARV, Esparza J, Nitsche A, Damaso CR. Re-assembly of nineteenth-century smallpox vaccine genomes reveals the contemporaneous use of horsepox and horsepox-related viruses in the USA. *Genome Biology*. 2020;21:86.
<https://doi.org/10.1186/s13059-020-02202-0>
21. Schrick L, Tausch SH, Dabrowski PW, Damaso CR, Esparza J, Nitsche A. An early American smallpox vaccine based on horsepox. *N Engl J Med*. 2017;377:1491–2.
<https://doi.org/10.1056/NEJMe170760>
22. Molteni C, Forni D, Cagliani R, Clerici M, Sironi M. Genetic ancestry and population structure of vaccinia virus. *NPJ Vaccines*. 2022;7(1):92.
<https://doi.org/10.1038/s41541-022-005199-4>
23. Bolger AM, Lohse M, Usadel B. Trimmomatic a flexible trimmer for illumine sequence data. *Informatics*. 2014;30:2114–20.
<https://doi.org/10.1093/биоинформатика/btu170>

24. Souza ARV, Brinkmann A, Esparza J, Nitsche A, Damaso CR. Gene duplication, gene loss, and recombination events with variola virus shaped the complex evolutionary path of historical American horsepox-based smallpox vaccines. *mBio*. 2023;14(5):e0188723.
<https://doi.org/10.1128/mbio.01887-23>
25. Esparza J, Lederman S, Nitsche A, Damaso CR. Early smallpox vaccine manufacturing in the United States: introduction of the “animal vaccine” in 1870, establishment of “vaccine farms” and the beginnings of the vaccine industry. *Vaccine*. 2020;38(50):4773–9.
<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2020.05.037>
26. Duggan AT, Holmes EC, Poinar HN. Response to Brinkmann et al. “Re-assembly of nineteenth-century smallpox vaccine genomes reveals the contemporaneous use of horsepox and horsepox-related viruses in the United States”. *Genome Biology*. 2020;21:287.
<https://doi.org/10.1186/s13059-020-02203-z>
27. Noyce RS, Lederman S, Evans DH. Construction of an infectious horsepox virus vaccine from chemically synthesized DNA fragments. *PLoS ONE*. 2018;13(1):e0188453.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188453t001>
28. Yao XD, Evanc DH. High-frequency genetics recombination and reactivation of orthopoxviruses from DNA fragments transfected into leporipoxvirus-infected cells. *J Virol*. 2003;77(13):7281–90.
<https://doi.org/10.1128/JVI.77.133>
29. Noyce RS, Westfall LW, Fogarty S, Gilbert K, Mpanju O, Stillwell H et al. Single Dose of Recombinant Chimeric Horsepox Virus (TNX-801) Vaccination Protects Macaques from Lethal Monkeypox Challenge. *Viruses*. 2023;15(2):356.
<https://doi.org/10.3390/v15020356>
30. Koblentz GD. A Critical Analysis of the Scientific and Commercial Rationales for the De Novo Synthesis of Horsepox Virus. *mSphere*. 2018;3(2):e00040–18.
<https://doi.org/10.1128/mSphere.00074-18>
31. DiEuliis D, Berger K, Gronvall G. Biosecurity Implication for the Synthesis of Horsepox, an Orthopoxvirus. *Health Security*. 2017;15(6):629–37.
<https://doi.org/10.1089/hs.20170081>
32. Awasthi M, Macaluso A, Myscowski D, Prigge J, Koide F, Noyce RS, et al. Immunogenicity and efficacy of TNX-1800, a live virus recombinant poxvirus candidate against SARS-CoV-2 Challenge in nonhuman primates. *Vaccines (Basel)*. 2023;11(11):1682.
<https://doi.org/10.3390/vaccines11111682>
33. Awasthi M, Macaluso A, Goebel SJ, Luea E, Noyce RS, Nasar F, et al. Immunogenicity and tolerability of a SARS-CoV-2 TNX-1800, a live recombinant poxvirus candidate in Syrian hamsters and new Zeland white rabbits. *Viruses*. 2023;15(10):2131.
<https://doi.org/10.3390/v15102131>
34. Cello J, Paul AV, Wimmer E. Chemical synthesis of poliovirus cDNA: generation of infectious virus in the absence of natural template. *Science*. 2002;297(5583):1016–8.
<https://doi.org/10.1126/science.1072266>
35. Tumpey TM, Basler CF, Aguilar PV, Zeng H, Solorzano A, Swayne DE, et al. Characterization of the reconstructed 1918 Spanish influenza pandemic virus. *Science*. 2005;310(5745):77–80.
<https://doi.org/10.1126/science.1119392>
36. Becker MM, Graham RL, Donaldson EF, Rockx B, Sims AC, Sheahan T, et al. Synthetic recombinant bat SARS-like coronavirus is infectious in cultured cells and in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008;105(50):19944–9.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0808116105>
37. Beitzel BF, Radoshitzky SR, Di Paola N, Brannan JM, Kimmel D, Caviness K, et al. On-Demand Patient-Specific Phenotype-to-Genotype Ebola Virus Characterization. *Viruses*. 2021;13(10):2010.
<https://doi.org/10.3390/v13102010>

Вклад авторов / Authors cjntributions

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Вклад распределен следующим образом: **Л.Ф. Стовба** – формирование концепции статьи, написание текста рукописи; **А.А. Петров** – подбор и анализ данных научной литературы по проблематике ортопоксвирусов; **С.А. Мельников** – критическая переработка рукописи, редактирование текста; **О.В. Чухраля** – критический анализ статьи, оформление иллюстративных материалов; **Н.К. Черникова** – редактирование текста, оформление статьи в соответствии с требованиями журнала; **С.В. Борисевич** – сбор и анализ научной литературы, выбор темы статьи, окончательное утверждение рукописи для публикации. / All the authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). The significant contributions were as follows:

L.F. Stovba – conceptualized the study, drafted the manuscript; **A.A. Petrov** – selected and analysed scientific literature about orthopoxviruses; **S.A. Melnikov** – critical revised the manuscript, edited the text; **O.V. Chukhralya** – critical analysed of the manuscript, puted into shape the illustrations; **N.K. Chernikova** – corrected the text, edited the text with accordance of journal; **S.V. Borisevich** – selected and analysed scientific literature, choice of the manuscript subject.

Сведения о рецензировании / Peer review information

Статья прошла двустороннее анонимное «слепое» рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала и в РИНЦе / The article has been doubleblind peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board and from Russian Science Citation Index database.

Об авторах / Authors

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

Стовба Людмила Федоровна. Старший научный сотрудник, канд. биол. наук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7985-5516>

Петров Александр Анатольевич. Начальник управления, д-р мед. наук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9714-2085>

Мельников Сергей Алексеевич. Старший научный сотрудник, канд. биол. наук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3487-5829>

Чухраля Олег Васильевич. Заместитель начальника научно-исследовательского отдела.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2603-0860>

Черникова Наталья Константиновна. Старший научный сотрудник, канд. биол. наук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1491-6293>

Борисевич Сергей Владимирович. Начальник ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, д-р биол. наук, профессор, академик РАН,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6742-3919>

Контактная информация для всех авторов: 48cnii@mil.ru

Контактное лицо: Борисевич Сергей Владимирович; 48cnii@mil.ru

48 Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation. Otyabrskaya St., 11, Moscow region, SergievPosad-6 141306, Russian Federation.

Lyudmila F. Stovba. Senior Researcher of the Department. Cand. Sci. (Biol.).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7985-5516>

Aleksandr A. Petrov. Chief of the Directorate. Dr. Sci. (Med.).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9714-2085>

Sergey A. Melnikov. Senior Researcher of the Department. Cand. Sci. (Biol.).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3487-5829>

Oleg V. Chukhralia. Chief of the Department.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2603-0860>

Natalya K. Chernikova. Senior Researcher of the Department. Cand. Sci. (Biol.).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1491-6293>

Sergey V. Borisevich. Chief of the Institute. Dr. Sci. (Biol.), Professor, Academician of RAS.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6742-3919>

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

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