

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-51-61

УДК 616.9:615.371

Т.Э. Светоч, А.С. Трунякова, С.В. Дентовская

Оральные вакцины для профилактики бактериальных инфекций: стратегии и перспективы разработок*ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», Оболensk, Российская Федерация*

Оральные вакцины привлекают все больше внимания из-за простоты введения, меньшей инвазивности и большей безопасности в целом. В обзоре обсуждаются преимущества перорального способа вакцинации, позволяющего стимулировать гуморальные и клеточные иммунные реакции на системном уровне и слизистых оболочках для обеспечения более широкой и долговременной защиты. Проанализированы аспекты, связанные со строением кишечника и иммунологическим распознаванием антигена в ходе процесса трансформации после проникновения в кишечник. Рассмотрены подходы, применяемые для повышения эффективности оральных вакцин. Обсуждаются такие проблемы, как нестабильность и недостаточная эффективность оральных вакцин, а также недавние разработки адъювантов и систем доставки на основе минеральных солей, веществ микробного происхождения, сапонинов, полимеров, микро- и наночастиц, липосом, обладающих потенциалом для повышения эффективности оральных вакцин. Дан краткий анализ лицензированных оральных вакцин и обобщены данные по разработке прототипов вакцинных препаратов с использованием современных методов генетики, молекулярной биологии и иммунологии, а также механизмов индуцирования иммунного ответа.

Ключевые слова: оральные вакцины, адъюванты, оральная доставка, белковая доставка, мукозальный иммунитет.

Корреспондирующий автор: Светоч Татьяна Эдуардовна, e-mail: tanyasvetoch@yandex.ru.

Для цитирования: Светоч Т.Э., Трунякова А.С., Дентовская С.В. Оральные вакцины для профилактики бактериальных инфекций: стратегии и перспективы разработок. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 2:51–61. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-51-61

Поступила 02.06.2023. Отправлена на доработку 29.11.2023. Принята к публ. 08.12.2023.

T.E. Svetoch, A.S. Trunyakova, S.V. Dentovskaya

Oral Vaccines for Prevention of Bacterial Infections: Development Strategies and Prospects*State Scientific Center of Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russian Federation*

Abstract. Oral vaccines are drawing more attention due to their ease of administration, lesser invasiveness, and greater safety in general. The review discusses the benefits of oral vaccination in stimulating humoral and cellular immune responses at the systemic and mucosal level to provide expanded and longer-lasting protection. Aspects related to the structure of the intestine and immunological recognition of the antigen during the transformation process after penetration into the intestine are analyzed. Approaches used to improve the effectiveness of oral vaccines are considered. Problems such as instability and lack of effectiveness of oral vaccines are discussed, as well as recent developments of adjuvants and delivery systems based on mineral salts, substances of microbial origin, saponins, polymers, micro- and nanoparticles, liposomes, which have the potential to increase the effectiveness of oral vaccines. A brief analysis of licensed oral vaccines is given and the data on the development of prototype vaccine preparations using modern methods of genetics, molecular biology and immunology, as well as the mechanisms of inducing an immune response are summarized.

Key words: oral vaccines, adjuvants, oral delivery, protein delivery, mucosal immunity.

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

Funding: The work was carried out within the framework of the industrial research program of the Rospotrebnadzor for 2021–2025: “Scientific support of epidemiological surveillance and sanitary protection of the territory of the Russian Federation. Creation of new technologies, means and methods for the control and prevention of infectious and parasitic diseases”.

Corresponding author: Tatiana E. Svetoch, e-mail: tanyasvetoch@yandex.ru.

Citation: Svetoch T.E., Trunyakova A.S., Dentovskaya S.V. Oral Vaccines for Prevention of Bacterial Infections: Development Strategies and Prospects. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 2:51–61. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-51-61

Received 02.06.2023. Revised 29.11.2023. Accepted 08.12.2023.

Svetoch T.E., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3540-1176>

Trunyakova A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9223-2105>

Dentovskaya S.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1996-8949>

Инфекционные болезни по-прежнему остаются одной из ведущих причин смертности во всем мире. По данным Всемирной организации здравоохранения, ежегодно в мире от инфекционных болезней страдают 2 млрд человек, для 17 млн из них инфекции становятся причиной смерти. Именно поэтому потребность в разработке эффективных вакцин и но-

вых безопасных способов их доставки остается актуальной. Большинство лицензированных вакцинных препаратов вводятся подкожно или внутримышечно, что сопровождается формированием гуморального, клеточного и слабого мукозального иммунного ответа. Пероральная вакцинация, о возможности которой еще в 1880 г. говорил Пастер [1], успешно стимулирует

ет все звенья иммунного ответа, в том числе продукцию секреторных IgA [2]. Вакцины, вводимые *per os*, индуцируют первую линию защиты от возбудителей инфекционных заболеваний на слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта. Секреторные антитела IgA связывают антигены, ингибируя их адгезию и проникновение в слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта, индуцируют фагоцитоз через связывание CD89 и активируют каскад комплемента через лектиновый и альтернативный пути, способны мигрировать в слизистые оболочки респираторного и урогенитального трактов, обеспечивая защиту от патогенов [3].

В обзоре рассматриваются подходы, используемые для повышения эффективности оральных вакцин, описаны системы доставки, дан краткий анализ лицензированных антибактериальных вакцин с пероральным способом введения и направления разработок прототипов вакцинных штаммов.

Преимущества и недостатки оральных вакцин. Пероральный способ введения вакцин имеет свои преимущества и недостатки. Оральные вакцины характеризуются повышенной безопасностью, легкостью введения, менее сложным процессом производства по сравнению с инъекционными формами. К недостаткам перорального введения относят необходимость повышения дозы (по сравнению с парентеральным введением) и использования систем доставки антигенов для защиты от негативного влияния значительного изменения величины pH на протяжении желудочно-кишечного тракта и действия протеолитических ферментов. Чтобы избежать деградации молекул белков, полисахаридов и других компонентов при транзите через желудочно-кишечный тракт, выбранные кандидатные вакцинные составы заключают в капсулы, получая микрочастицы или наночастицы. Капсулы по химической природе могут быть синтетическими полимерами (полисахаридами), природными полимерами, а также липидсодержащими (липосомы, билосомы) и липосомами «второго поколения», совмещающими функции носителя и иммуностимулятора (иммуностимулирующие комплексы – ISCOMs, immune-stimulatory complexes).

Возможность возникновения иммунологической толерантности – состояния ареактивности к определенному антигену – является еще одной проблемой, ограничивающей использование перорального способа доставки вакцин. Исследования, проведенные на моделях лабораторных животных, показали, что пероральная толерантность проявляется в индуцированной активацией гибели клеток, анергии и индукции регуляторных Т-клеток. Известно, что иммунологическая толерантность может возникать после введения либо большого количества растворимых белков, либо массивных доз антигена [4]. Установлено, что индуцировать или расширять антиген-опосредованную толерантность могут четыре основных типа регуляторных Т-клеток: 1) антиген-индуцированные клетки $CD4^+ T_H2$ [5],

2) $CD4^+CD45R^{Blow} Tr1$ [6], 3) $CD4^+$ или $CD8^+$ Т-клетки, продуцирующие TGF- β (клетки T_H3) [7] и 4) регуляторные Т-клетки $CD4^+CD25^+$ (клетки T_{reg}) [8]. Современные подходы к преодолению пероральной толерантности основаны на предотвращении анергии или делеции Т-клеток путем применения технологии контролируемого высвобождения антигена, использования антигенов в форме частиц и совершенствования вводимых в состав препарата адъювантов [9].

Подходы, используемые для повышения эффективности оральных вакцин. Несмотря на многочисленные преимущества, связанные с пероральным введением вакцин, в настоящее время их использование ограничено [10]. Повышение эффективности оральных вакцин открывает возможность для более широкого их применения. Проследивая процессы трансформации антигена после проникновения в кишечник, рассмотрим некоторые аспекты, связанные со строением кишечника и иммунологическим распознаванием антигена.

Слизистая оболочка желудочно-кишечного тракта состоит из гетерогенной популяции клеток с различными функциями. Наиболее многочисленными клетками желудочно-кишечного тракта являются энтероциты, обеспечивающие первичную барьерную функцию. Энтероциты, бокаловидные клетки и М-клетки участвуют в транспорте антигенов, их поглощении и активации иммунных клеток [11]. Стенка полых органов желудочно-кишечного тракта состоит из четырех слоев: слизистая оболочка, подслизистая оболочка, мышечная оболочка и серозная оболочка (адвентиция). Первым барьером для оральных вакцин является слизистая оболочка. В ее составе три различных слоя: эпителий, собственный слой (LP – lamina propria) и мышечная пластинка.

Слизь образуют муцины, продуцируемые бокаловидными клетками. Она представляет собой гидрогель (95 % воды), состоящий из смеси белков, углеводов, липидов, солей и антител [12]. Кишечник содержит множественные индукторные участки, которые в совокупности называются лимфоидной тканью, ассоциированной с кишечником (GALT – gut associated lymphoid tissue).

Пейеровы бляшки считаются одними из крупнейших лимфоидных образований в GALT. Они образованы организованными иммунными клетками и включают фолликулы, богатые В-клетками, защищенные сетчатым образованием, известным как межфолликулярная область, образованная Т-клетками. Фолликул-ассоциированный эпителий содержит М-клетки, экспрессирующие разнообразные рецепторы к чужеродным антигенам и осуществляющие транспортировку антигенных фрагментов из просвета кишечника в пейеровы бляшки [13]. Основными эффекторными участками желудочно-кишечного тракта являются подслизистый слой и поверхностный эпителий. Далее антигены попадают в дендритные клетки – специализированные иммунные клетки,

которые процессируют и представляют антигенные фрагменты В- и Т-клеткам слизистой оболочки, чтобы инициировать антигенспецифический иммунный ответ. Участие этих антигенпрезентирующих клеток имеет решающее значение для развития местного и системного иммунитета, следовательно, важна разработка носителей для доставки вакцин с механизмами нацеливания на эти клеточные популяции.

М-клетки как мишень. Показано, что специфическое нацеливание на эпителиальные клетки кишечника, М-клетки, повышает биодоступность вакцины, а также индукцию иммунных реакций Th1- и Th2-типа. Рецепторы М-клеток могут быть мишенью для компонентов доставки оральных вакцин, включающих различные лиганды (бактериальные фрагменты, лектины, антитела и др.) [14]. Лектины – структурно разнообразная группа белков и гликопротеинов растительного и бактериального происхождения, многие из которых устойчивы к деградации ферментами кишечника [15]. Установлено, что лектины обратимо связываются с карбогидратными рецепторами М-клеток. Пероральная иммунизация частицами, нагруженными лектинами, приводила к значительному увеличению выработки сывороточных SIgA по сравнению с частицами без лектинов [16]. Однако некоторые лектины токсичны и иммуногенны по своей природе, и это ограничивает их использование.

Гликопротеин 2 (GP2), рецептор М-клеток человека и мыши, взаимодействует с FimH, компонентом наружной мембраны, ассоциированным с бактериальными пиллями I типа (*Escherichia coli*, *Yersinia*, *Salmonella*) [17]. С β_1 -интегрином М-клеток связывается инвазин, поверхностный белок *Yersinia*. Инвазин, конъюгированный с поверхностью латексных наночастиц, улучшает их поглощение М-клетками [18]. P. Tyner *et al.* [19] продемонстрировали значимость β_1 -интегрина М-клеток мыши и человека в поглощении и транслокации бактерий.

Примером использования стратегии «нацеливания» для разработки оральной вакцины является исследование T. Nochi *et al.* [20], в котором они получили моноклональные антитела к М-клеткам (mAb NKM 16-2-4) и конъюгировали их со столбнячным и ботулиническим токсинами. Пероральная вакцинация конъюгатом BT (botulinum toxoid) NKM 16-2-4 защищала мышей от гибели после заражения ботулотоксином; mAb NKM16-2-4 специфически связывались с $\alpha[1,2]$ -фукозилированными М-клетками.

Установлено, что по сравнению с растворимыми формами антигены в виде частиц лучше поглощаются М-клетками, и, следовательно, препараты в форме частиц более эффективно стимулируют иммунный ответ, что учитывают при разработке оральных вакцин [13].

Хотя использование рецепторов М-клеток в качестве мишеней при доставке компонентов оральных вакцин показало свою эффективность на модели животных, остаются нерешенными проблемы, связанные с идентификацией мишеней, функцио-

нально идентичных у мышей и человека, а также с обеспечением индукции иммунного ответа, а не толерантности. Экстраполяция на человека данных, полученных на мышинной модели, требует пристального внимания из-за различий в биологии животных и человека, в частности связанных с онтогенезом, тканевым происхождением и потенциальными ограничениями анализа *in vitro* и *in vivo* [21].

Для идентификации новых пептидных лигандов, специфичных для М-клеток человека, *in vitro* используют разработанную модель фолликул-ассоциированного эпителия пейеровых бляшек кишечника человека и метод фагового дисплея, являющегося многообещающим подходом для выявления пептидных последовательностей без знания их молекулярных свойств [22].

Адьюванты и системы доставки для оральных вакцин. Поскольку органы желудочно-кишечного тракта постоянно подвергаются воздействию широкого спектра патогенных микроорганизмов, для распознавания иммунной системой хозяина оральные вакцины должны индуцировать сигналы соответствующей силы. В противном случае может возникнуть иммунная толерантность. Именно поэтому в состав вакцин вводят носители, включающие безопасные адьюванты, стимулирующие мукозальный иммунитет [23]. Рецепторы распознавания образов (PRR – pattern recognition receptors) экспрессируются различными типами клеток, в том числе эпителиальными, антигенпрезентирующими, и взаимодействуют с патоген-ассоциированными молекулярными структурами (PAMPs – pathogen-associated molecular patterns), стимулируя фагоцитоз.

Адьюванты нового поколения повышают иммуногенность антигенов, в том числе при их применении в низких дозах, обладают низкой токсичностью или нетоксичны, используются с различными по химической природе антигенами, обеспечивают длительный гуморальный, клеточный и мукозальный иммунитет. В качестве адьювантов используют минеральные соли, вещества микробного происхождения, сапонины, полимеры, наночастицы, микрокапсулы, липосомы.

Бактериальный белок флагеллин узнается толл-подобным рецептором 5 (TLR5), который экспрессируется эпителиальными, дендритными и В-клетками [24]. Было показано, что частицы, нагруженные флагеллином, *in vivo* индуцируют гуморальный иммунный ответ, стимулируют созревание дендритных клеток кишечника, активируют Т-хелперы [25]. CpG – олигонуклеотид, содержащийся в бактериальной и вирусной ДНК, – узнается толл-подобным рецептором 9 (TLR9) и обладает иммуномодулирующими и адьювантными свойствами [26]. Модифицированный термолабильный энтеротоксин (dmLT – double mutant heat-labile toxin) энтеротоксигенных *E. coli* и нетоксичная часть холерного токсина (CT-B) *Vibrio cholerae* также обладают выраженными адьювантными свойствами [27].

А-субъединицу токсина модифицируют с целью детоксикации [28].

Все большее распространение в качестве системы доставки антигена получают нано- и микрочастицы. Наночастицы имеют размер от 1 до 1000 нм. Антигены могут быть инкапсулированы, адсорбированы на поверхности наночастиц или химически конъюгированы с ними. Наночастицы показали свою безопасность, эффективность и иммуностимулирующую способность [29]. Вакцинные составы на основе наночастиц могут продлевать иммунную стимуляцию за счет устойчивого и контролируемого высвобождения инкапсулированных молекул антигена. Это пролонгирует рост титра антител и способствует индукции большего количества эффекторных клеток памяти. Заданный разработчиком уровень плотности эпитопов, антигенная нагрузка и адъювантные свойства носителя являются важными характеристиками нановакцин. Частицы нанометрового размера лучше поглощаются М-клетками и энтероцитами. Кроме того, М-клетки и энтероциты обладают способностью транспортировать микрочастицы (размером от 1 до 1000 мкм). Однако микрочастицы индуцируют преимущественно гуморальный иммунный ответ, а наночастицы более эффективно стимулируют клеточное звено иммунитета [30].

В качестве системы доставки антигенов также используют липосомы. Такую систему доставки, например, применили D. Wang *et al.* [31], получив

ДНК-вакцину, кодирующую микобактериальный антиген Ag85A, инкапсулированный в липосомы. После трехкратного перорального введения белок Ag85A обнаруживали в эпителиальных, дендритных и М-клетках кишечника мышей. Вакцина индуцировала мукозальный, гуморальный и клеточный иммунный ответ.

Ряд полимерных материалов используют для оболочек нано- и микрочастиц. К синтетическим полимерам относят полилактид и PLGA – биоразлагаемый полимер, который состоит из сложных полиэфиров молочной и гликолевой кислот. Примером природных полимеров является полисахарид хитозан, N-ацетил-D-глюкозамин которого узнается маннозой в составе рецепторов дендритных клеток. По данным F. Poorhassan *et al.* [32], у мышей, иммунизированных *per os* наночастицами хитозана, нагруженными рекомбинантным эпсилон-токсином (rETX) типа D *Clostridium perfringens*, детектировали значительные титры защитных IgA и IgG. Адъюванты и системы доставки вакцин подробно рассмотрены в многочисленных обзорах [33].

Лицензированные оральные вакцины и прототипы препаратов против бактериальных патогенов. Большинство одобренных оральных вакцин (таблица) защищают от инфекций, поражающих желудочно-кишечный тракт, или от патогенов, которые проходят в нем решающую стадию жизненного цикла. Все одобренные оральные вакцины содержат

Клинически одобренные оральные вакцины

Clinically approved oral vaccines

Заболевание (патоген) Disease (pathogen)	Вакцина Vaccine	Тип вакцины Vaccine type	Адъювант Adjuvant	Форма выпуска Formulation
Холера (<i>V. cholerae</i>) Cholera (<i>V. cholerae</i>)	Ducoral [35]	Вакцина на основе инактивированного рекомбинантного холерного токсина В <i>V. cholerae</i> Inactivated <i>V. cholerae</i> recombinant CTB	Нет (холерный токсин В) No (cholera toxin B)	Жидкая Liquid
	Vaxchora [36]	Живая аттенуированная вакцина на основе штамма <i>V. cholerae</i> O1 Inaba (569B) Live-attenuated <i>V. cholerae</i> O1 Inaba 569B strain	Нет No	Жидкая Liquid
	Вакцина холерная бивалентная химическая Bivalent chemical cholera vaccine [38]	Смесь холерогена-анатоксина и О-антигенов <i>V. cholerae</i> O1, серовара Inaba и серовара Ogawa Mix of cholero-gen-anatoxin and O-antigens of <i>V. cholerae</i> O1, Inaba serovar and Ogawa serovar	Нет No	Таблетированная Tableted
	Shanchol Desai Shaikh [39]	Убитая двухвалентная вакцина на основе штаммов / A killed bivalent (O1 and O139), whole cell cholera vaccine based on the strains: <i>V. cholerae</i> O1 Inaba El Tor Phil 6973, <i>V. cholerae</i> O1 Ogawa classical Cairo 50, <i>V. cholerae</i> O1 Inaba classical Cairo 48, <i>V. cholerae</i> O139 4260B	Нет No	Жидкая Liquid
Брюшной тиф (<i>S. Typhi</i>) Typhoid fever (<i>S. Typhi</i>)	Vivotif [40]	Живая аттенуированная вакцина на основе штамма <i>S. Typhi</i> Live attenuated vaccine based on <i>S. Typhi</i>	Нет No	Жидкая суспензия, кишечнорастворимая капсула Liquid suspension, enteric capsule
Чума (<i>Y. pestis</i>) Plague (<i>Y. pestis</i>)	Вакцина чумная живая Live plague vaccine [34]	На основе лиофилизированной живой культуры вакцинного штамма <i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ Lyophilized live culture of the vaccine strain <i>Y. pestis</i> EV NIEG	Нет No	Таблетированная Tableted

ослабленные живые или инактивированные патогены. Как и в случае с формами этих патогенов дикого типа, аттенуированные и инактивированные формы могут подвергаться деградации или оставаться в достаточной степени интактными при транспортировке в желудке и кишечнике и вызывать более сильный иммунный ответ в слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта, чем другие типы вакцин (например, субъединичные и ДНК-вакцины). Кроме того, пероральный способ иммунизации может быть эффективен для профилактики бактериальных системных инфекций, что было показано на примере использования таблетированной формы вакцины чумной живой при иммунизации против чумы [34].

В настоящее время число лицензированных антибактериальных вакцин для перорального введения невелико. Это холерные, тифозная и чумная вакцины.

Вакцины против холеры. *V. cholerae* – высоко-вирулентный возбудитель острой кишечной инфекции, передающийся через контаминированную воду и пищу. За рубежом наиболее широко применяют вакцину B-WC (B subunit-whole cell vaccine) – убитую цельноклеточную обогащенную рекомбинантной B-субъединицей (CTB) холерного энтеротоксина (Dukoral® SBL, Нидерланды) на основе убитых холерных вибрионов серотипов Inaba и Ogawa, а также биотипов El Tor и классического. Вакцина эффективна в отношении различных серотипов возбудителя, безопасна, стабильна и обеспечивает 65 % защиту от холеры в течение двух лет [35]. Протективная активность обеспечивается продукцией антител к CT, антибактериальных антител и IgA в кишечнике. Вакцина активна также в отношении ETEC вследствие большой степени идентичности термолабильного токсина рассматриваемых патогенов. Предназначена для применения главным образом у путешественников.

Вторая лицензированная оральная вакцина представляет собой живую аттенуированную вакцину CVD-10-HgR, содержащую генетически измененный штамм *V. cholerae* O1 Inaba (инсерция в гене гемолизина A [*hlyA*], кодирующего устойчивость к рутути) (Vaxchora, PaxVax, USA) [36]. Это переформулированная вакцина CVD 103-HgR, ранее ушедшая с рынка [37].

В Российской Федерации на базе ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора лицензировано производство вакцины холерной бивалентной химической, в состав которой входят холероген-анатоксин и O-антигены, полученные из инактивированных формалином бульонных культур *V. cholerae* O1 классического биовара штаммов 569 В или KM-76 (569 pCO107-2), серовара Inaba и M-41 серовара Ogawa путем выделения, очистки и концентрирования сернокислым аммонием. Препарат представляет собой таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой. Вакцинацию проводят перорально однократно [38, 39].

Вакцины против брюшного тифа. Оральная живая аттенуированная вакцина Ty21a получена путем мутагенеза штамма Ty2 *Salmonella enterica* серовар Typhi (*S. Typhi*), в котором инактивирован ген *galE*, кодирующий эпимеразу, один из ферментов биосинтеза ЛПС [40]. Эффективность Ty21a варьирует в зависимости от состава и схемы введения. В настоящее время препарат доступен либо в виде жидкой суспензии, либо в виде капсул, покрытых кишечнорастворимой оболочкой, и вводится в виде трех или четырех доз в течение нескольких дней. Через семь дней после приема последней дозы вакцина обеспечивает 62 % защиту от заболевания в течение семилетнего периода. Вакцина Ty21a индуцирует как гуморальный (системный и мукозальный), так и клеточно-опосредованный иммунный ответ. Однако доминирующий иммунный механизм, обеспечивающий долгосрочную защиту, еще не определен.

Вакцины против шигеллеза. Шигеллы – внутриклеточные патогены, подразделяемые на четыре вида (серогруппы), объединяющие более 50 серотипов и субтипов. Оптимально вакцина против шигеллеза должна защищать от наиболее часто встречающихся серотипов возбудителя: *Shigella dysenteriae* серотипа 1, *Shigella flexneri* серотипов 1–14 и *Shigella sonnei*. Основные факторы патогенности шигелл включают белки системы секреции III типа (T3SS), антигены A, B, C, D плазмиды инвазивности (Ipa – invasion plasmid antigens A, B, C, D), белки внутриклеточного распространения (Ics – intracellular spreading proteins), липополисахарид и Шигатоксин. Антитела (сывороточные и секреторные) против O-полисахаридной цепи ЛПС играют основную роль в защите от шигеллеза [41]. Показан также вклад клеточного звена иммунитета в защиту от патогена. Получены прототипы вакцинных аттенуированных штаммов шигелл для введения *per os* – делеционные мутанты по генам, кодирующим ферменты метаболизма гуанидиновых нуклеотидов (*guaBA*), фактора колонизации (*virG*), энтеротоксинов (*sen*, *set*, *stxA*) [42]. Инактивация генов шигеллезных энтеротоксинов ShETs в комбинации с мутацией Δ *guaBA* позволила значительно аттенуировать прототип вакцинного штамма CVD1208, что было показано в клинических испытаниях на волонтерах. Вакцина индуцировала анти-ЛПС IgA и IgG. K.L. Kotloff *et al.* [42] предложили получить мутанты Δ *guaBA*, Δ *sen*, Δ *set* других штаммов *Shigella* для конструирования мультивалентной вакцины против шигеллеза, вызванного эпидемиологически и клинически значимыми штаммами. При конструировании живой аттенуированной оральной вакцины важно достичь оптимального баланса между реактогенностью и иммуногенностью прототипа вакцинного штамма.

R. McKenzie *et al.* [43] сообщили о разработке оральной инактивированной цельно-клеточной вакцины против шигеллеза на основе клинического штамма *Shigella sonnei* LB и показали ее протективную и иммуногенность на модели морских свинок

и потенциальный иммунный ответ у человека (клинические испытания, фаза I).

S. Sagi *et al.* [44] провели гетерологичную экспрессию слитого белка – иммунодоминантной области интимина (Int) *E. coli* O157:H7 и инвазина (IpaB – invasive plasmid antigen B) *Shigella flexneri* – в *Lactococcus lactis* (LL-E3), использованных как живой вектор для доставки вакцины. У иммунизированных перорально LL-EI мышей на шестые сутки после заражения штаммом *E. coli* O157:H7 отмечали уменьшение количества выделяемого с калом патогена вплоть до полного исчезновения. Выжили 93 % мышей, зараженных штаммом *S. flexneri*. Полученные результаты позволяют рассматривать рекомбинантный штамм *L. lactis* в качестве кандидата в вакцинные против инфекций, вызываемых *E. coli* O157:H7 и *Shigella* spp.

S. Harutyunyan *et al.* [45] конструировали вакцину ShigETEC на основе живого аттенуированного штамма *S. flexneri* 2a 2457T с делециями гена *rfb* (О-полисахаридная цепь ЛПС), генов *ipaB*, *ipaC* (белки системы секреции типа III) и *setBA* (ShET 1 энтеротоксин). В плазмиду инвазивности ввели химерную генетическую конструкцию LTB-ST_{N12S}, состоящую из нетоксичной в отсутствие LTA (heat-labile A – субъединица А термолabile токсина) субъединицы LTB ETEC и детоксицированного ST (heat-stable toxin – термолabile токсин) ETEC, с мутацией замены Asp на Ser в положении 12. Для повышения уровня экспрессии взяли три копии LTB-ST_{N12S} в комбинации с геном *infA* из хромосомы для стабилизации плазмиды инвазивности. Иммунизация мышей обеспечила защиту от гибели 100 % животных после заражения летальными дозами *S. flexneri* или *S. sonnei*. Результатом вакцинации ShigETEC явилась серотипнезависимая защита животных и высокий уровень IgG и IgA против бактериальных лизатов, а также продукция антитоксических антител (анти-ETEC) с нейтрализующей активностью. В настоящее время продолжаются клинические испытания (фаза I) ShigETEC – вакцины для перорального применения против шигеллеза и эшерихиоза, особенно актуальной для вакцинации населения в странах с низким уровнем жизни.

Вакцины против диареегенных *E. coli*. Энтеротоксины, адгезины и белки T3SS являются ключевыми факторами вирулентности ETEC. Известно более 25 адгезинов и 2 вида токсинов ETEC, нарушающих нормальный гомеостаз в тонком кишечнике и вызывающих тяжелую диарею. Лицензированные вакцины против ETEC отсутствуют. Идеальная вакцина против ETEC должна защищать тонкий кишечник хозяина от колонизации штаммами всех вирулентных серотипов и нейтрализовать оба типа энтеротоксинов. Гетерогенность антигенов ETEC определяет необходимость разработки вакцины против преобладающих клинически значимых серотипов возбудителя [46]. В настоящее время разработаны и находятся в процессе разработки прото-

типы вакцин против ETEC, представляющие собой как убитые цельноклеточные препараты, так и живые аттенуированные штаммы [47]. Эффективность их варьирует, некоторые вызывают побочные эффекты. Для разработки прототипов субъединичных вакцин против ETEC используют технологию MEFA (multiepitope-fusion-antigen – мультиэпитопные слитые антигены), когда на основе общего для целевых серотипов возбудителя иммуногенного белка конструируют поливалентный антиген для прецизионной вакцины, обеспечивающей перекрестную защиту против гетерогенных серотипов и патотипов [48].

N. Arshadi *et al.* [49] при пероральной вакцинации мышей комбинированным препаратом из инактивированных клеток вирулентного штамма *E. coli* O157:H7 и рекомбинантного белка Stx2B, покрытого хитозаном, показали появление системного и мукозального иммунного ответа, а также защиту животных от гибели после орального заражения животных штаммом *E. coli* O157:H7 (10¹⁰ CFU).

Вакцины против хеликобактериоза. Для создания пероральных вакцин могут использоваться аттенуированные рекомбинантные штаммы *Helicobacter pylori*, синтезирующие *in situ* или доставляющие антигены, ДНК-вакцины и адъюванты к антигенпрезентирующим клеткам слизистой оболочки желудка. Данный микроорганизм эффективно колонизирует желудок человека, может проникать в лимфатические узлы желудка и пейеровы бляшки тонкого кишечника. Накоплены обширные данные о факторах патогенности *H. pylori*, к которым относятся уреазу, жгутиковую субъединицу, каталазу, белки CagA, VacA, NapA, HpaA, белки иммунного ускользания OipA и GGT, белки адгезии BabA, SabA и Omp, и, следовательно, кодирующие их синтез гены могут быть делетированы для конструирования полностью аттенуированных рекомбинантных штаммов, способных к колонизации и размножению в слизистой оболочке желудка. В настоящее время несколько хеликобактериозных вакцин для перорального применения находятся в стадии доклинических и клинических испытаний [50].

Вакцины против чумы. В ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны РФ создана вакцина чумная живая в форме таблеток на основе лиофилизированной живой культуры вакцинного штамма *Y. pestis* EV линии НИИЭГ (40 млрд живых микробных клеток в таблетке). Вакцина вызывает формирование иммунного ответа к возбудителю чумы через 14–20 суток после однократного применения длительностью до одного года, обладает высокой иммуногенностью и низкой реактогенностью. В случае чрезвычайных ситуаций при необходимости проведения массовой вакцинации данная вакцина позволяет быстро иммунизировать большое количество людей [34].

Кроме того, ведутся разработки оральных вакцин против чумы на основе живых аттенуированных

штаммов *Yersinia pseudotuberculosis*, возможность использования которых обусловлена высокой степенью идентичности генома *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis*, меньшей патогенностью и большей генетической стабильностью *Y. pseudotuberculosis* по сравнению с *Y. pestis* [51].

Результатом пероральной вакцинации *dam*⁻ (DNA, adenine methylase) мутантом *Y. pseudotuberculosis* IP32953, утратившим плазмиду кальцийзависимости, была эффективная защита Balb/c мышей от бубонной формы чумы [52]. По данным M. Simonet *et al.* [53], полученным ранее, внутривенное введение штамма *Y. pseudotuberculosis* с элиминированной плазмидой кальцийзависимости также обеспечивало защиту 50 % лабораторных животных от бубонной формы чумы.

B. Quintard *et al.* [54] сравнили протективные свойства живого аттенуированного штамма *Y. pseudotuberculosis* 32680 (*hpi*⁻) с применяемой в зоопарках и природных парках Европы убитой цельноклеточной вакциной Pseudovac (Нидерланды). Кандидатный аттенуированный штамм *Y. pseudotuberculosis* 32680 (*hpi*⁻) индуцировал высокие защитные титры IgG у перорально вакцинированных морских свинок и защищал животных от гибели после заражения 2200 LD₅₀ высоковирулентного штамма *Y. pseudotuberculosis* IP32953. Убитая цельноклеточная вакцина Pseudovac в аналогичных условиях не защищала морских свинок от гибели.

Группа французских исследователей [55] отобрала штамм *Y. pseudotuberculosis*, у которого отсутствовал суперантиген YPM, но присутствовала плаزمида кальцийзависимости pYV. Данный штамм после интрагастрального введения персистировал в кишечнике мышей в течение двух месяцев. У вакцинированных животных обнаруживали антитела, эффективно нейтрализующие антигены вирулентных штаммов *Y. pseudotuberculosis* и *Y. pestis* CO92. Однократная пероральная вакцинация защищала от гибели 75 % мышей, двукратная вакцинация – 88 % животных. Однако отобранный штамм не имел перспективы применения для вакцинации человека, так как причина его аттенуации осталась неизвестна, что не исключало возможности реверсии к дикому типу.

A. Derbise *et al.* [56] получили инкапсулированный F1⁺ вариант аттенуированного делеционно-го мутанта *Y. pseudotuberculosis* (*hpi*⁻, *psaA*⁻, *yopK*⁻). При этом *caf*-оперон вводили в составе плазмидного вектора. В связи с нестабильной продукцией F1-антигена позднее исследователи получили штамм *Y. pseudotuberculosis* VTnF1 с хромосомной локализацией *caf*-оперона, характеризующийся стабильной продукцией F1-антигена и обеспечивающий защиту лабораторных животных от легочной и бубонной форм чумы [57]. Позднее С.Е. Demeure *et al.* [58] экспериментально показали, что для протективной активности полученного штамма одинаково важна стимуляция и гуморального, и клеточного звеньев иммунитета.

Параллельно разработка оральных вакцин против бубонной и легочной формы чумы на основе живых аттенуированных штаммов *Y. pseudotuberculosis* ведется группой исследователей под руководством профессора Wei Sun (США). По данным авторов, пероральная вакцинация аттенуированным штаммом *Y. pseudotuberculosis* χ 10068 с делециями *ΔyopK ΔyopJ* и хромосомной инсерцией *caf1R-caf1M-caf1A-caf1* оперона *Y. pestis* для доставки F1-антигена защищала от гибели 70 % мышей при подкожном введении $\sim 2,6 \cdot 10^5$ LD₅₀ штамма *Y. pestis* KIM6+ и обеспечивала 90 % защиты против интраназального заражения ~ 500 LD₅₀ KIM6+ [59]. Затем авторы использовали сконструированный штамм *Y. pseudotuberculosis* χ 10069(pYA5199) с тройной делецией *Δasd ΔyopK ΔyopJ* для доставки слитого белка YopE_{N138}-LcrV чумного микроба посредством системы секреции III типа. Однократная пероральная вакцинация штаммом *Y. pseudotuberculosis* χ 10069(pYA5199) индуцировала антигенспецифичный гуморальный и клеточный иммунный ответ у иммунизированных мышей, ведущий к значимому уровню защиты от интраназального заражения средними инфицирующими дозами *Y. pestis*. При использовании высоких заражающих доз уровень защиты был недостаточным. Для повышения протекции против легочной чумы исследователи совместили две предварительно использованные стратегии мутагенеза и сконструировали новый штамм *Y. pseudotuberculosis* Yptb1(pYA5199) с тройной мутацией *Δasd ΔyopK ΔyopJ*, хромосомной инсерцией *caf1R-caf1M-caf1A-caf1* оперона, также несущий *Asd*⁺ плазмиду pYA5199, кодирующую LcrV *Y. pestis*. Двукратная оральная иммунизация штаммом Yptb1(pYA5199) индуцировала более сильный антигенспецифичный гуморальный и клеточный иммунный ответ по сравнению с однократным введением и обеспечивала полноценную защиту мышей от гибели после интраназального заражения высокой дозой *Y. pestis*. Кроме того, двукратная иммунизация обеспечивала существенную защиту от гибели крыс после аэрозольного заражения, что свидетельствует о высоком потенциале рассматриваемого штамма для использования в качестве вакцинного с оральной доставкой против легочной формы чумы [60].

Вакцина против бруцеллеза. S. Zhang *et al.* [61] разрабатывают бруцеллезную S2-Ag85A ДНК-вакцину с использованием CRISPR/CAS-технологии. В качестве носителя авторы использовали антиген 85A (Ag85A) – иммуногенный внеклеточно секретируемый белок *Mycobacterium tuberculosis*. Доставляемая перорально S2-Ag85A ДНК-вакцина индуцировала гуморальный и Th1-клеточный иммунный ответ, а также секрецию IgA в кишечнике мышей и оказалась более эффективной и безопасной, чем живая аттенуированная бруцеллезная вакцина на основе штамма *Brucella suis* S2.

Вакцина против сибирской язвы. Показано, что пероральное введение рекомбинантного штамма

Lactobacillus gasseri, экспрессирующего протективный антиген *Bacillus anthracis*, слитый с коротким пептидом, связывающимся с рецепторами дендритных клеток, полностью защищало от гибели животных, зараженных летальной дозой штамма *B. anthracis* Sterne. Известно, что липотейхоевая кислота и неметилированная ДНК *L. gasseri* активируют дендритные клетки слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта и стимулируют продукцию провоспалительных цитокинов (IL-12), что смещает иммунный ответ по направлению Th1. Таким образом, пробиотические молочнокислые бактерии являются еще и безопасными адъювантами [62].

Несомненно, пероральный способ введения вакцин удобен, особенно для массовой вакцинации. Среди лицензированных и разрабатываемых оральных вакцин есть живые аттенуированные, убитые цельноклеточные и субъединичные. Аттенуированные вакцины иммуногенны, но их разработка – многоэтапный процесс, который зачастую влияет на безопасность и стабильность препарата. Субъединичные вакцины менее иммуногенны и требуют добавления адъювантов. Выбор адъюванта – важнейшая задача после выбора антигена, от которой зависит качество иммунного ответа. В настоящее время получены и разрабатываются новые системы доставки антигенов для оральных вакцин, обладающие одновременно и свойствами адъювантов. Оральные вакцины, в которых антигены заключены в капсулу и представляют собой микро- или наночастицы, более эффективно стимулируют иммунный ответ, чем растворимые формы антигенов. Системы доставки оральных вакцин, например, на основе липосом и полимеров обеспечивают стабильность препарата и эффективную доставку в кишечник, но не всегда – индукцию сильного иммунного ответа. Повышение биодоступности вакцин, индукция напряженного иммунитета без индукции иммунологической толерантности – основные задачи, решаемые исследователями в процессе разработки оральных вакцин. М-клетки являются крайне привлекательной мишенью для связывания с системой доставки вакцин, поэтому разработанная *in vitro* модель М-клеток человека необходима и уже используется для идентификации их рецепторов. Использование живых непатогенных бактерий, например лактобактерий, в качестве вектора для доставки антигенов – перспективное направление разработки оральных вакцин.

На сегодняшний день кроме уже лицензированных оральных вакцин в мире имеется большое количество разработок и технологий, направленных на получение новых эффективных и безопасных оральных вакцин. Учитывая вышесказанное, несмотря на трудности, возникающие при разработке вакцин с пероральным способом введения, данное направление вакцинологии развивается и является перспективным.

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Финансирование. Работа выполнена в рамках отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора на 2021–2025 гг. «Научное обеспечение эпидемиологического надзора и санитарной охраны территории Российской Федерации. Создание новых технологий, средств и методов контроля и профилактики инфекционных и паразитарных болезней».

Список литературы

1. Медуницын Н.В., Катлинский А.В., Ворслов Л.О. Вакцинология. М.: Практическая медицина; 2022. 480 с.
2. Lycke N., Bemark M. Mucosal adjuvants and long-term memory development with special focus on CTA1-DD and other ADP-ribosylating toxins. *Mucosal Immunol.* 2010; 3(6):556–66. DOI: 10.1038/mi.2010.54.
3. Pietrzak B., Tomela K., Olejnik-Schmidt A., Mackiewicz A., Schmidt M. Secretory IgA in intestinal mucosal secretions as an adaptive barrier against microbial cells. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21(23):9254. DOI: 10.3390/ijms21239254.
4. Mowat A.M. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nat. Rev. Immunol.* 2003; 3(4):331–41. DOI: 10.1038/nri1057.
5. Chen Y., Kuchroo V.K., Inobe J., Hafler D.A., Weiner H.L. Regulatory T cell clones induced by oral tolerance: suppression of autoimmune encephalomyelitis. *Science.* 1994; 265(5176):1237–40. DOI: 10.1126/science.7520605.
6. Groux H., O'Garra A., Bigler M., Rouleau M., Antonenko S., de Vries J.E., Roncarolo M.G. A CD4⁺ T-cell subset inhibits antigen-specific T-cell responses and prevents colitis. *Nature.* 1997; 389(6652):737–42. DOI: 10.1038/39614.
7. Polanski M., Melican N.S., Zhang J., Weiner H.L. Oral administration of the immunodominant B-chain of insulin reduces diabetes in a co-transfer model of diabetes in the NOD mouse and is associated with a switch from Th1 to Th2 cytokines. *J. Autoimmun.* 1997; 10(4):339–46. DOI: 10.1006/jaut.1997.0148.
8. Thornton A.M., Shevach E.M. CD4⁺CD25⁺ immunoregulatory T cells suppress polyclonal T cell activation *in vitro* by inhibiting interleukin 2 production. *J. Exp. Med.* 1998; 188(2):287–96. DOI: 10.1084/jem.188.2.287.
9. Kang S.H., Hong S.J., Lee Y.K., Cho S. Oral vaccine delivery for intestinal immunity-biological basis, barriers, delivery system, and M cell targeting. *Polymers (Basel).* 2018; 10(9):948. DOI: 10.3390/polym10090948.
10. Marasini N., Skwarczynski M., Toth I. Oral delivery of nanoparticle-based vaccines. *Expert Rev. Vaccines.* 2014; 13(11):1361–76. DOI: 10.1586/14760584.2014.936852.
11. Kunisawa J., Kurashima Y., Kiyono H. Gut-associated lymphoid tissues for the development of oral vaccines. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2012; 64(6):523–30. DOI: 10.1016/j.addr.2011.07.003.
12. Ensign L.M., Cone R., Hanes J. Oral drug delivery with polymeric nanoparticles: the gastrointestinal mucus barriers. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2012; 64(6):557–70. DOI: 10.1016/j.addr.2011.12.009.
13. Mowat A.M., Agace W.W. Regional specialization within the intestinal immune system. *Nat. Rev. Immunol.* 2014; 14(10):667–85. DOI: 10.1038/nri3738.
14. Cruz L.J., Tacke P.J., Rueda F., Domingo J.C., Albericio F., Figgdor C.G. Targeting nanoparticles to dendritic cells for immunotherapy. *Methods Enzymol.* 2012; 509:143–63. DOI: 10.1016/B978-0-12-391858-1.00008-3.
15. Jepson M.A., Clark M.A., Hirst B.H. M cell targeting by lectins: a strategy for mucosal vaccination and drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2004; 56(4):511–25. DOI: 10.1016/j.addr.2003.10.018.
16. Roth-Walter F., Bohle B., Schöll I., Untersmayr E., Scheiner O., Boltz-Nitulescu G., Gabor F., Brayden D.J., Jensen-Jarolim E. Targeting antigens to murine and human M-cells with *Aleuria aurantia* lectin-functionalized microparticles. *Immunol. Lett.* 2005; 100(2):182–8. DOI: 10.1016/j.imlet.2005.03.020.
17. Hase K., Kawano K., Nochi T., Pontes G.S., Fukuda S., Ebisawa M., Kadokura K., Tobe T., Fujimura Y., Kawano S., Yabashi A., Waguri S., Nakato G., Kimura S., Murakami T., Iimura M., Hamura K., Fukuoka S., Lowe A.W., Itoh K., Kiyono H., Ohno H. Uptake through glycoprotein 2 of FimH(+) bacteria by M cells initiates mucosal immune response. *Nature.* 2009; 462(7270):226–30. DOI: 10.1038/nature08529.
18. Garinot M., Fiévez V., Pourcelle V., Stoffelbach F., des Rieux A., Plapied L., Theate I., Freichels H., Jérôme C., Marchand-Brynaert J., Schneider Y.J., Prêat V. PEGylated PLGA-based nanoparticles targeting M cells for oral vaccination. *J. Control. Release.* 2007; 120(3):195–204. DOI: 10.1016/j.jconrel.2007.04.021.
19. Tyrer P., Foxwell A.R., Cripps A.W., Apicella M.A., Kyd J.M. Microbial pattern recognition receptors mediate M-cell uptake

- of a gram-negative bacterium. *Infect. Immun.* 2006; 74(1):625–31. DOI: 10.1128/IAI.74.1.625-631.2006.
20. Nochi T., Yuki Y., Matsumura A., Mejima M., Terahara K., Kim D.Y., Fukuyama S., Iwatsuki-Horimoto K., Kawaoka Y., Kohda T., Kozaki S., Igarashi O., Kiyono H. A novel M cell-specific carbohydrate-targeted mucosal vaccine effectively induces antigen-specific immune responses. *J. Exp. Med.* 2007; 204(12):2789–96. DOI: 10.1084/jem.20070607.
21. Payne K.J., Crooks G.M. Immune-cell lineage commitment: translation from mice to humans. *Immunity.* 2007; 26(6):674–7. DOI: 10.1016/j.immuni.2007.05.011.
22. Fievez V., Plapied L., Plaideu C., Legendre D., des Rieux A., Pourcelle V., Freichels H., Jérôme C., Marchand J., Prêat V., Schneider Y.J. *In vitro* identification of targeting ligands of human M cells by phage display. *Int. J. Pharm.* 2010; 394(1–2):35–42. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2010.04.023.
23. Vela Ramirez J.E., Sharpe L.A., Peppas N.A. Current state and challenges in developing oral vaccines. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2017; 114:116–31. DOI: 10.1016/j.addr.2017.04.008.
24. Franchi L., Amer A., Body-Malapel M., Kanneganti T.D., Ozören N., Jagirdar R., Inohara N., Vandenabeele P., Bertin J., Coyle A., Grant E.P., Núñez G. Cytosolic flagellin requires Ipaf for activation of caspase-1 and interleukin 1 β in salmonella-infected macrophages. *Nat. Immunol.* 2006; 7(6):576–82. DOI: 10.1038/ni1346.
25. Uematsu S., Fujimoto K., Jang M.H., Yang B.G., Jung Y.J., Nishiyama M., Sato S., Tsujimura T., Yamamoto M., Yokota Y., Kiyono H., Miyasaka M., Ishii K.J., Akira S. Regulation of humoral and cellular gut immunity by lamina propria dendritic cells expressing Toll-like receptor 5. *Nat. Immunol.* 2008; 9(7):769–76. DOI: 10.1038/ni.1622.
26. Zhu Q., Talton J., Zhang G., Cunningham T., Wang Z., Waters R.C., Kirk J., Eppler B., Klinman D.M., Sui Y., Gagnon S., Belyakov I.M., Mumper R.J., Berzofsky J.A. Large intestine-targeted, nanoparticle-releasing oral vaccine to control genitoretal viral infection. *Nat. Med.* 2012; 18(8):1291–6. DOI: 10.1038/nm.2866.
27. Holmgren J., Czerkinsky C. Mucosal immunity and vaccines. *Nat. Med.* 2005; 11(4 Suppl.):S45–53. DOI: 10.1038/nm1213.
28. Sánchez J., Wallerström G., Fredriksson M., Angström J., Holmgren J. Detoxification of cholera toxin without removal of its immunoadjuvanticity by the addition of (STa-related) peptides to the catalytic subunit. A potential new strategy to generate immunostimulants for vaccination. *J. Biol. Chem.* 2002; 277(36):33369–77. DOI: 10.1074/jbc.M112337200.
29. Jazayeri S.D., Poh C.L. Development of universal influenza vaccines targeting conserved viral proteins. *Vaccines (Basel).* 2019; 7(4):169. DOI: 10.3390/vaccines7040169.
30. Silva A.L., Soema P.C., Slütter B., Ossendorp F., Jiskoot W. PLGA particulate delivery systems for subunit vaccines: Linking particle properties to immunogenicity. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2016; 12(4):1056–69. DOI: 10.1080/21645515.2015.1117714.
31. Wang D., Xu J., Feng Y., Liu Y., Mchenga S.S., Shan F., Sasaki J., Lu C. Liposomal oral DNA vaccine (mycobacterium DNA) elicits immune response. *Vaccine.* 2010; 28(18):3134–42. DOI: 10.1016/j.vaccine.2010.02.058.
32. Poorhassan F., Nemat F., Saffarian P., Mirhosseini S.A., Motamedi M.J. Design of a chitosan-based nano vaccine against epsilon toxin of *Clostridium perfringens* type D and evaluation of its immunogenicity in BALB/c mice. *Res. Pharm. Sci.* 2021; 16(6):575–85. DOI: 10.4103/1735-5362.327504.
33. Kang S.H., Hong S.J., Lee Y.K., Cho S. Oral vaccine delivery for intestinal immunity-biological basis, barriers, delivery system, and M cell targeting. *Polymers (Basel).* 2018; 10(9):948. DOI: 10.3390/polym10090948.
34. Шаров Д.А., Лешенко А.А., Багин С.В., Логвинов С.В., Мохов Д.А., Ежов А.В., Лазыкин А.Г., Крупин В.В., Косенков И.В. Усовершенствование технологии концентрирования микробных клеток в производстве вакцины чумной живой, таблетки для рассасывания. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 4:139–45. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-139-145.
35. Holmgren J., Svennerholm A.M., Jertborn M., Clemens J., Sack D.A., Salenstedt R., Wigzell H. An oral B subunit: whole cell vaccine against cholera. *Vaccine.* 1992; 10(13):911–4. DOI: 10.1016/0264-410x(92)90324-d.
36. Freedman D.O. Re-born in the USA: Another cholera vaccine for travellers. *Travel Med. Infect. Dis.* 2016; 14(4):295–6. DOI: 10.1016/j.tmaid.2016.07.008.
37. Herzog C. Successful comeback of the single-dose live oral cholera vaccine CVD 103-HgR. *Travel Med. Infect. Dis.* 2016; 14(4):373–7. DOI: 10.1016/j.tmaid.2016.07.003.
38. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., Шуковская Т.Н., Смирнова Н.И., Никифоров А.К., Еремин С.А., Топорков В.П. Специфическая профилактика холеры в современных условиях. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2011; 1:5–12. DOI: 10.21055/0370-1069-2011-1(107)-5-12.
39. Shaikh H., Lynch J., Kim J., Excler J.L. Current and future cholera vaccines. *Vaccine.* 2020; 38(Suppl. 1):A118–A126. DOI: 10.1016/j.vaccine.2019.12.011.
40. Germanier R., Fürer E. Isolation and characterization of Gal E mutant Ty 21a of *Salmonella typhi*: a candidate strain for a live, oral typhoid vaccine. *J. Infect. Dis.* 1975; 131(5):553–8. DOI: 10.1093/infdis/131.5.553.
41. Cohen D., Green M.S., Block C., Slepon R., Ofek I. Prospective study of the association between serum antibodies to lipopolysaccharide O antigen and the attack rate of shigellosis. *J. Clin. Microbiol.* 1991; 29(2):386–9. DOI: 10.1128/jcm.29.2.386-389.1991.
42. Kotloff K.L., Pasetti M.F., Barry E.M., Nataro J.P., Wasserman S.S., Sztein M.B., Picking W.D., Levine M.M. Deletion in the *Shigella* enterotoxin genes further attenuates *Shigella flexneri* 2a bearing guanine auxotrophy in a phase I trial of CVD 1204 and CVD 1208. *J. Infect. Dis.* 2004; 190(10):1745–54. DOI: 10.1086/424680.
43. McKenzie R., Walker R.I., Nabors G.S., Van De Verg L.L., Carpenter C., Gomes G., Forbes E., Tian J.H., Yang H.H., Pace J.L., Jackson W.J., Bourgeois A.L. Safety and immunogenicity of an oral, inactivated, whole-cell vaccine for *Shigella sonnei*: preclinical studies and a Phase I trial. *Vaccine.* 2006; 24(18):3735–45. DOI: 10.1016/j.vaccine.2005.07.014.
44. Sagi S., Konduru B., Parida M. Heterologous expression of Intimin and IpaB fusion protein in *Lactococcus lactis* and its mucosal delivery elicit protection against pathogenicity of *Escherichia coli* O157 and *Shigella flexneri* in a murine model. *Int. Immunopharmacol.* 2020; 85:106617. DOI: 10.1016/j.intimp.2020.106617.
45. Harutyunyan S., Neuhauser I., Mayer A., Aichinger M., Szijártó V., Nagy G., Nagy E., Girardi P., Malinoski F.J., Henics T. Characterization of ShigE Δ TEC, a novel live attenuated combined vaccine against *Shigellae* and ETEC. *Vaccines (Basel).* 2020; 8(4):689. DOI: 10.3390/vaccines8040689.
46. Walker R.I. An assessment of enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Shigella* vaccine candidates for infants and children. *Vaccine.* 2015; 33(8):954–65. DOI: 10.1016/j.vaccine.2014.11.049.
47. Harro C., Sack D., Bourgeois A.L., Walker R., DeNearing B., Feller A., Chakraborty S., Buchwaldt C., Darsley M.J. A combination vaccine consisting of three live attenuated enterotoxigenic *Escherichia coli* strains expressing a range of colonization factors and heat-labile toxin subunit B is well tolerated and immunogenic in a placebo-controlled double-blind phase I trial in healthy adults. *Clin. Vaccine Immunol.* 2011; 18(12):2118–27. DOI: 10.1128/CVI.05342-11.
48. Seo H., Garcia C., Ruan X., Duan Q., Sack D.A., Zhang W. Preclinical characterization of immunogenicity and efficacy against diarrhea from MecVax, a multivalent enterotoxigenic *E. coli* vaccine candidate. *Infect. Immun.* 2021; 89(7):e0010621. DOI: 10.1128/IAI.00106-21.
49. Arshadi N., Mousavi Gargari S.L., Amani J., Nazarian S. Immunogenicity of inactivated *Escherichia coli* O157:H7 with Stx2B microparticle in mice. *Iran J. Basic Med. Sci.* 2022; 25(9):1069–76. DOI: 10.22038/IJBMS.2022.63775.14053.
50. Zhang L., Chen X., Ren B., Zhou X., Cheng L. *Helicobacter pylori* in the oral cavity: current evidence and potential survival strategies. *Int. J. Mol. Sci.* 2022; 23(21):13646. DOI: 10.3390/ijms232113646.
51. Chain P.S., Carniel E., Larimer F.W., Lamerdin J., Stoutland P.O., Regala W.M., Georgescu A.M., Vergez L.M., Land M.L., Motin V.L., Brubaker R.R., Fowler J., Hinnebusch J., Marceau M., Medigue C., Simonet M., Chenal-Francisque V., Souza B., Dacheux D., Elliott J.M., Derbise A., Hauser L.J., Garcia E. Insights into the evolution of *Yersinia pestis* through whole-genome comparison with *Yersinia pseudotuberculosis*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2004; 101(38):13826–31. DOI: 10.1073/pnas.0404012101.
52. Taylor V.L., Titball R.W., Oyston P.C.F. Oral immunization with a dam mutant of *Yersinia pseudotuberculosis* protects against plague. *Microbiology (Reading).* 2005; 151(Pt. 6):1919–26. DOI: 10.1099/mic.0.27959-0.
53. Simonet M., Berche P., Mazigh D., Veron M. Protection against *Yersinia* infection induced by non-virulence-plasmid-encoded antigens. *J. Med. Microbiol.* 1985; 20(2):225–31. DOI: 10.1099/00222615-20-2-225.
54. Quintard B., Petit T., Ruvoen N., Carniel E., Demeure C.E. Efficacy of an oral live vaccine for veterinary use against pseudotuberculosis. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 2010; 33(6):e59–65. DOI: 10.1016/j.cimid.2009.12.001.
55. Blisnick T., Ave P., Huerre M., Carniel E., Demeure C.E. Oral vaccination against bubonic plague using a live avirulent *Yersinia pseudotuberculosis* strain. *Infect. Immun.* 2008; 76(8):3808–16. DOI: 10.1128/IAI.00034-08.
56. Derbise A., Cerdà Marin A., Ave P., Blisnick T., Huerre M., Carniel E., Demeure C.E. An encapsulated *Yersinia pseudotuberculosis* is a highly efficient vaccine against pneumonic plague. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2012; 6(2):e1528. DOI: 10.1371/journal.pntd.0001528.
57. Derbise A., Hanada Y., Khalifé M., Carniel E., Demeure C.E. Complete protection against pneumonic and bubonic plague after a single oral vaccination. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9(10):e0004162. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004162.

58. Demeure C.E., Derbise A., Guillas C., Gerke C., Cauchemez S., Carniel E., Pizarro-Cerdá J. Humoral and cellular immune correlates of protection against bubonic plague by a live *Yersinia pseudotuberculosis* vaccine. *Vaccine*. 2019; 37(1):123–9. DOI: 10.1016/j.vaccine.2018.11.022.
 59. Sun W., Sanapala S., Rahav H., Curtiss R. 3rd. Oral administration of a recombinant attenuated *Yersinia pseudotuberculosis* strain elicits protective immunity against plague. *Vaccine*. 2015; 33(48):6727–35. DOI: 10.1016/j.vaccine.2015.10.074.
 60. Majumder S., Olson R.M., Singh A., Wang X., Li P., Kittana H., Anderson P.E., Anderson D.M., Sun W. Protection induced by oral vaccination with a recombinant *Yersinia pseudotuberculosis* delivering *Yersinia pestis* LcrV and F1 antigens in mice and rats against pneumonic plague. *Infect. Immun.* 2022; 90(8):e0016522. DOI: 10.1128/iai.00165-22.
 61. Zhang S., Chao L., She L., Sui H., Niu H., Chen Z., Li X., Zhai J. Ag85A, as an S2 vaccine carrier, reduces the toxicity of the S2 vaccine and enhances the protective ability of mice against *Brucella*. *J. Immunol. Res.* 2022; 2022:4686541. DOI: 10.1155/2022/4686541.
 62. Mohamadzadeh M., Durmaz E., Zadeh M., Pakanati K.C., Gramarossa M., Cohran V., Klenhammer T.R. Targeted expression of anthrax protective antigen by *Lactobacillus gasseri* as an anthrax vaccine. *Future Microbiol.* 2010; 5(8):1289–96. DOI: 10.2217/fmb.10.78.
- ## References
1. Medunitsyn N.V., Katlinsky A.V., Vorslov L.O. [Vaccinology]. Moscow: "Practical Medicine"; 2022. 480 p.
 2. Lycke N., Bemark M. Mucosal adjuvants and long-term memory development with special focus on CTA1-DD and other ADP-ribosylating toxins. *Mucosal Immunol.* 2010; 3(6):556–66. DOI: 10.1038/mi.2010.54.
 3. Pietrzak B., Tomela K., Olejnik-Schmidt A., Mackiewicz A., Schmidt M. Secretory IgA in intestinal mucosal secretions as an adaptive barrier against microbial cells. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21(23):9254. DOI: 10.3390/ijms21239254.
 4. Mowat A.M. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nat. Rev. Immunol.* 2003; 3(4):331–41. DOI: 10.1038/nri1057.
 5. Chen Y., Kuchroo V.K., Inobe J., Hafler D.A., Weiner H.L. Regulatory T cell clones induced by oral tolerance: suppression of autoimmune encephalomyelitis. *Science*. 1994; 265(5176):1237–40. DOI: 10.1126/science.7520605.
 6. Groux H., O'Garra A., Bigler M., Rouleau M., Antonenko S., de Vries J.E., Roncarolo M.G. A CD4⁺ T-cell subset inhibits antigen-specific T-cell responses and prevents colitis. *Nature*. 1997; 389(6652):737–42. DOI: 10.1038/39614.
 7. Polanski M., Melican N.S., Zhang J., Weiner H.L. Oral administration of the immunodominant B-chain of insulin reduces diabetes in a co-transfer model of diabetes in the NOD mouse and is associated with a switch from Th1 to Th2 cytokines. *J. Autoimmun.* 1997; 10(4):339–46. DOI: 10.1006/jaut.1997.0148.
 8. Thornton A.M., Shevach E.M. CD4⁺CD25⁺ immunoregulatory T cells suppress polyclonal T cell activation *in vitro* by inhibiting interleukin 2 production. *J. Exp. Med.* 1998; 188(2):287–96. DOI: 10.1084/jem.188.2.287.
 9. Kang S.H., Hong S.J., Lee Y.K., Cho S. Oral vaccine delivery for intestinal immunity-biological basis, barriers, delivery system, and M cell targeting. *Polymers (Basel)*. 2018; 10(9):948. DOI: 10.3390/polym10090948.
 10. Marasini N., Skwarczynski M., Toth I. Oral delivery of nanoparticle-based vaccines. *Expert Rev. Vaccines*. 2014; 13(11):1361–76. DOI: 10.1586/14760584.2014.936852.
 11. Kunisawa J., Kurashima Y., Kiyono H. Gut-associated lymphoid tissues for the development of oral vaccines. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2012; 64(6):523–30. DOI: 10.1016/j.addr.2011.07.003.
 12. Ensign L.M., Cone R., Hanes J. Oral drug delivery with polymeric nanoparticles: the gastrointestinal mucus barriers. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2012; 64(6):557–70. DOI: 10.1016/j.addr.2011.12.009.
 13. Mowat A.M., Agace W.W. Regional specialization within the intestinal immune system. *Nat. Rev. Immunol.* 2014; 14(10):667–85. DOI: 10.1038/nri3738.
 14. Cruz L.J., Tacken P.J., Rueda F., Domingo J.C., Albericio F., Fígdo C.G. Targeting nanoparticles to dendritic cells for immunotherapy. *Methods Enzymol.* 2012; 509:143–63. DOI: 10.1016/B978-0-12-391858-1.00008-3.
 15. Jepson M.A., Clark M.A., Hirst B.H. M cell targeting by lectins: a strategy for mucosal vaccination and drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2004; 56(4):511–25. DOI: 10.1016/j.addr.2003.10.018.
 16. Roth-Walter F., Bohle B., Schöll I., Untermayr E., Scheiner O., Boltz-Nitulescu G., Gabor F., Brayden D.J., Jensen-Jarolim E. Targeting antigens to murine and human M-cells with *Aleuria aurantia* lectin-functionalized microparticles. *Immunol. Lett.* 2005; 100(2):182–8. DOI: 10.1016/j.imllet.2005.03.020.
 17. Hase K., Kawano K., Nochi T., Pontes G.S., Fukuda S., Ebisawa M., Kadokura K., Tobe T., Fujimura Y., Kawano S., Yabashi A., Waguri S., Nakato G., Kimura S., Murakami T., Iimura M., Hamura K., Fukuoka S., Lowe A.W., Itoh K., Kiyono H., Ohno H. Uptake through glycoprotein 2 of FimH(+) bacteria by M cells initiates mucosal immune response. *Nature*. 2009; 462(7270):226–30. DOI: 10.1038/nature08529.
 18. Garinot M., Fiévez V., Pourcelle V., Stoffelbach F., des Rieux A., Plapied L., Theate I., Freichels H., Jérôme C., Marchand-Brynaert J., Schneider Y.J., Prêat V. PEGylated PLGA-based nanoparticles targeting M cells for oral vaccination. *J. Control. Release*. 2007; 120(3):195–204. DOI: 10.1016/j.jconrel.2007.04.021.
 19. Tyrer P., Foxwell A.R., Cripps A.W., Apicella M.A., Kyd J.M. Microbial pattern recognition receptors mediate M-cell uptake of a gram-negative bacterium. *Infect. Immun.* 2006; 74(1):625–31. DOI: 10.1128/IAI.74.1.625-631.2006.
 20. Nochi T., Yuki Y., Matsumura A., Mejima M., Terahara K., Kim D.Y., Fukuyama S., Iwatsuki-Horimoto K., Kawaoka Y., Kohda T., Kozaki S., Igarashi O., Kiyono H. A novel M cell-specific carbohydrate-targeted mucosal vaccine effectively induces antigen-specific immune responses. *J. Exp. Med.* 2007; 204(12):2789–96. DOI: 10.1084/jem.20070607.
 21. Payne K.J., Crooks G.M. Immune-cell lineage commitment: translation from mice to humans. *Immunity*. 2007; 26(6):674–7. DOI: 10.1016/j.immuni.2007.05.011.
 22. Fievez V., Plapied L., Plaideau C., Legendre D., des Rieux A., Pourcelle V., Freichels H., Jérôme C., Marchand J., Prêat V., Schneider Y.J. *In vitro* identification of targeting ligands of human M cells by phage display. *Int. J. Pharm.* 2010; 394(1–2):35–42. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2010.04.023.
 23. Vela Ramirez J.E., Sharpe L.A., Peppas N.A. Current state and challenges in developing oral vaccines. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2017; 114:116–31. DOI: 10.1016/j.addr.2017.04.008.
 24. Franchi L., Amer A., Body-Malapel M., Kanneganti T.D., Özören N., Jagirdar R., Inohara N., Vandenabeele P., Bertin J., Coyle A., Grant E.P., Núñez G. Cytosolic flagellin requires Ipaf for activation of caspase-1 and interleukin 1β in salmonella-infected macrophages. *Nat. Immunol.* 2006; 7(6):576–82. DOI: 10.1038/ni1346.
 25. Uematsu S., Fujimoto K., Jang M.H., Yang B.G., Jung Y.J., Nishiyama M., Sato S., Tsujimura T., Yamamoto M., Yokota Y., Kiyono H., Miyasaka M., Ishii K.J., Akira S. Regulation of humoral and cellular gut immunity by lamina propria dendritic cells expressing Toll-like receptor 5. *Nat. Immunol.* 2008; 9(7):769–76. DOI: 10.1038/ni.1622.
 26. Zhu Q., Talton J., Zhang G., Cunningham T., Wang Z., Waters R.C., Kirk J., Eppler B., Klinman D.M., Sui Y., Gagnon S., Belyakov I.M., Mumper R.J., Berzofsky J.A. Large intestine-targeted, nanoparticle-releasing oral vaccine to control genitoretal viral infection. *Nat. Med.* 2012; 18(8):1291–6. DOI: 10.1038/nm.2866.
 27. Holmgren J., Czerkinsky C. Mucosal immunity and vaccines. *Nat. Med.* 2005; 11(4 Suppl.):S45–53. DOI: 10.1038/nm1213.
 28. Sánchez J., Wallerström G., Fredriksson M., Angström J., Holmgren J. Detoxification of cholera toxin without removal of its immunoadjuvanticity by the addition of (STa-related) peptides to the catalytic subunit. A potential new strategy to generate immunostimulants for vaccination. *J. Biol. Chem.* 2002; 277(36):33369–77. DOI: 10.1074/jbc.M112337200.
 29. Jazayeri S.D., Poh C.L. Development of universal influenza vaccines targeting conserved viral proteins. *Vaccines (Basel)*. 2019; 7(4):169. DOI: 10.3390/vaccines7040169.
 30. Silva A.L., Soema P.C., Slütter B., Ossendorp F., Jiskoot W. PLGA particulate delivery systems for subunit vaccines: Linking particle properties to immunogenicity. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2016; 12(4):1056–69. DOI: 10.1080/21645515.2015.1117714.
 31. Wang D., Xu J., Feng Y., Liu Y., Meng S.S., Shan F., Sasaki J., Lu C. Liposomal oral DNA vaccine (mycobacterium DNA) elicits immune response. *Vaccine*. 2010; 28(18):3134–42. DOI: 10.1016/j.vaccine.2010.02.058.
 32. Poorhassan F., Nemati F., Saffarian P., Mirhosseini S.A., Motamed M.J. Design of a chitosan-based nano vaccine against epsilon toxin of *Clostridium perfringens* type D and evaluation of its immunogenicity in BALB/c mice. *Res. Pharm. Sci.* 2021; 16(6):575–85. DOI: 10.4103/1735-5362.327504.
 33. Kang S.H., Hong S.J., Lee Y.K., Cho S. Oral vaccine delivery for intestinal immunity-biological basis, barriers, delivery system, and M cell targeting. *Polymers (Basel)*. 2018; 10(9):948. DOI: 10.3390/polym10090948.
 34. Sharov D.A., Leshchenko A.A., Bagin S.V., Logvinov S.V., Mokhov D.A., Ezhov A.V., Lazykin A.G., Krupin V.V., Kosenkov I.V. [Improvement of microbial cell concentration technology in the production of live plague vaccine in the form of rod-dispersible tablets]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (4):139–45. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-139-145.
 35. Holmgren J., Svennerholm A.M., Jertborn M., Clemens J., Sack D.A., Salenstedt R., Wigzell H. An oral B subunit: whole cell vaccine against cholera. *Vaccine*. 1992; 10(13):911–4. DOI: 10.1016/0264-410x(92)90324-d.

36. Freedman D.O. Re-born in the USA: Another cholera vaccine for travellers. *Travel Med. Infect. Dis.* 2016; 14(4):295–6. DOI: 10.1016/j.tmaid.2016.07.008.
37. Herzog C. Successful comeback of the single-dose live oral cholera vaccine CVD 103-HgR. *Travel Med. Infect. Dis.* 2016; 14(4):373–7. DOI: 10.1016/j.tmaid.2016.07.003.
38. Onishchenko G.G., Kuttyrev V.V., Shchukovskaya T.N., Smirnova N.I., Nikiforov A.K., Eremin S.A., Toporkov V.P. [Cholera specific prophylaxis in modern conditions]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2011; (1):5–12. DOI: 10.21055/0370-1069-2011-1(107)-5-12.
39. Shaikh H., Lynch J., Kim J., Excler J.L. Current and future cholera vaccines. *Vaccine*. 2020; 38(Suppl. 1):A118–A126. DOI: 10.1016/j.vaccine.2019.12.011.
40. Germanier R., Fürer E. Isolation and characterization of Gal E mutant Ty 21a of *Salmonella typhi*: a candidate strain for a live, oral typhoid vaccine. *J. Infect. Dis.* 1975; 131(5):553–8. DOI: 10.1093/infdis/131.5.553.
41. Cohen D., Green M.S., Block C., Slepon R., Ofek I. Prospective study of the association between serum antibodies to lipopolysaccharide O antigen and the attack rate of shigellosis. *J. Clin. Microbiol.* 1991; 29(2):386–9. DOI: 10.1128/jcm.29.2.386-389.1991.
42. Kotloff K.L., Pasetti M.F., Barry E.M., Nataro J.P., Wasserman S.S., Sztein M.B., Picking W.D., Levine M.M. Deletion in the *Shigella* enterotoxin genes further attenuates *Shigella flexneri* 2a bearing guanine auxotrophy in a phase I trial of CVD 1204 and CVD 1208. *J. Infect. Dis.* 2004; 190(10):1745–54. DOI: 10.1086/424680.
43. McKenzie R., Walker R.I., Nabors G.S., Van De Verg L.L., Carpenter C., Gomes G., Forbes E., Tian J.H., Yang H.H., Pace J.L., Jackson W.J., Bourgeois A.L. Safety and immunogenicity of an oral, inactivated, whole-cell vaccine for *Shigella sonnei*: preclinical studies and a Phase I trial. *Vaccine*. 2006; 24(18):3735–45. DOI: 10.1016/j.vaccine.2005.07.014.
44. Sagi S., Konduru B., Parida M. Heterologous expression of Intimin and IpaB fusion protein in *Lactococcus lactis* and its mucosal delivery elicit protection against pathogenicity of *Escherichia coli* O157 and *Shigella flexneri* in a murine model. *Int. Immunopharmacol.* 2020; 85:106617. DOI: 10.1016/j.intimp.2020.106617.
45. Harutyunyan S., Neuhauser I., Mayer A., Aichinger M., Szijártó V., Nagy G., Nagy E., Girardi P., Málinoski F.J., Henics T. Characterization of ShigE_{TEC}, a novel live attenuated combined vaccine against *Shigellae* and E_{TEC}. *Vaccines (Basel)*. 2020; 8(4):689. DOI: 10.3390/vaccines8040689.
46. Walker R.I. An assessment of enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Shigella* vaccine candidates for infants and children. *Vaccine*. 2015; 33(8):954–65. DOI: 10.1016/j.vaccine.2014.11.049.
47. Harro C., Sack D., Bourgeois A.L., Walker R., DeNearing B., Feller A., Chakraborty S., Buchwaldt C., Darsley M.J. A combination vaccine consisting of three live attenuated enterotoxigenic *Escherichia coli* strains expressing a range of colonization factors and heat-labile toxin subunit B is well tolerated and immunogenic in a placebo-controlled double-blind phase I trial in healthy adults. *Clin. Vaccine Immunol.* 2011; 18(12):2118–27. DOI: 10.1128/CVI.05342-11.
48. Seo H., Garcia C., Ruan X., Duan Q., Sack D.A., Zhang W. Preclinical characterization of immunogenicity and efficacy against diarrhea from MecVax, a multivalent enterotoxigenic *E. coli* vaccine candidate. *Infect. Immun.* 2021; 89(7):e0010621. DOI: 10.1128/IAI.00106-21.
49. Arshadi N., Mousavi Gargari S.L., Amani J., Nazarian S. Immunogenicity of inactivated *Escherichia coli* O157:H7 with Stx2B microparticle in mice. *Iran J. Basic Med. Sci.* 2022; 25(9):1069–76. DOI: 10.22038/IJBMS.2022.63775.14053.
50. Zhang L., Chen X., Ren B., Zhou X., Cheng L. *Helicobacter pylori* in the oral cavity: current evidence and potential survival strategies. *Int. J. Mol. Sci.* 2022; 23(21):13646. DOI: 10.3390/ijms232113646.
51. Chain P.S., Carniel E., Larimer F.W., Lamerdin J., Stoutland P.O., Regala W.M., Georgescu A.M., Vergez L.M., Land M.L., Motin V.L., Brubaker R.R., Fowler J., Hinnebusch J., Marceau M., Medigue C., Simonet M., Chenal-Francisque V., Souza B., Dacheux D., Elliott J.M., Derbise A., Hauser L.J., Garcia E. Insights into the evolution of *Yersinia pestis* through whole-genome comparison with *Yersinia pseudotuberculosis*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2004; 101(38):13826–31. DOI: 10.1073/pnas.0404012101.
52. Taylor V.L., Titball R.W., Oyston P.C.F. Oral immunization with a dam mutant of *Yersinia pseudotuberculosis* protects against plague. *Microbiology (Reading)*. 2005; 151(Pt. 6):1919–26. DOI: 10.1099/mic.0.27959-0.
53. Simonet M., Berche P., Mazigh D., Veron M. Protection against *Yersinia* infection induced by non-virulence-plasmid-encoded antigens. *J. Med. Microbiol.* 1985; 20(2):225–31. DOI: 10.1099/00222615-20-2-225.
54. Quintard B., Petit T., Ruvoen N., Carniel E., Demeure C.E. Efficacy of an oral live vaccine for veterinary use against pseudotuberculosis. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 2010; 33(6):e59–65. DOI: 10.1016/j.cimid.2009.12.001.
55. Blisnick T., Ave P., Huerre M., Carniel E., Demeure C.E. Oral vaccination against bubonic plague using a live avirulent *Yersinia pseudotuberculosis* strain. *Infect. Immun.* 2008; 76(8):3808–16. DOI: 10.1128/IAI.00034-08.
56. Derbise A., Cerdà Marín A., Ave P., Blisnick T., Huerre M., Carniel E., Demeure C.E. An encapsulated *Yersinia pseudotuberculosis* is a highly efficient vaccine against pneumonic plague. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2012; 6(2):e1528. DOI: 10.1371/journal.pntd.0001528.
57. Derbise A., Hanada Y., Khalife M., Carniel E., Demeure C.E. Complete protection against pneumonic and bubonic plague after a single oral vaccination. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9(10):e0004162. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004162.
58. Demeure C.E., Derbise A., Guillas C., Gerke C., Cauchemez S., Carniel E., Pizarro-Cerdá J. Humoral and cellular immune correlates of protection against bubonic plague by a live *Yersinia pseudotuberculosis* vaccine. *Vaccine*. 2019; 37(1):123–9. DOI: 10.1016/j.vaccine.2018.11.022.
59. Sun W., Sanapala S., Rahav H., Curtiss R. 3rd. Oral administration of a recombinant attenuated *Yersinia pseudotuberculosis* strain elicits protective immunity against plague. *Vaccine*. 2015; 33(48):6727–35. DOI: 10.1016/j.vaccine.2015.10.074.
60. Majumder S., Olson R.M., Singh A., Wang X., Li P., Kittana H., Anderson P.E., Anderson D.M., Sun W. Protection induced by oral vaccination with a recombinant *Yersinia pseudotuberculosis* delivering *Yersinia pestis* LcrV and F1 antigens in mice and rats against pneumonic plague. *Infect. Immun.* 2022; 90(8):e0016522. DOI: 10.1128/iai.00165-22.
61. Zhang S., Chao L., She L., Sui H., Niu H., Chen Z., Li X., Zhai J. Ag85A, as an S2 vaccine carrier, reduces the toxicity of the S2 vaccine and enhances the protective ability of mice against *Brucella*. *J. Immunol. Res.* 2022; 2022:4686541. DOI: 10.1155/2022/4686541.
62. Mohamadzadeh M., Durmaz E., Zadeh M., Pakanati K.C., Gramarossa M., Cohran V., Klaenhammer T.R. Targeted expression of anthrax protective antigen by *Lactobacillus gasseri* as an anthrax vaccine. *Future Microbiol.* 2010; 5(8):1289–96. DOI: 10.2217/fmb.10.78.

Authors:

Svetoch T.E., Trunyakova A.S., Dentovskaya S.V. State Scientific Center of Applied Microbiology and Biotechnology. 24 “Block A” Territory, Obolensk, urban district Serpukhov, Moscow Region, 142279, Russian Federation. E-mail: info@obolensk.org.

Об авторах:

Светоч Т.Э., Трунякова А.С., Дентовская С.В. Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии. Российская Федерация, 142279, Московская область, г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24. E-mail: info@obolensk.org.