



# Изучение тератогенности вакцинного штамма вируса краснухи «Орлов-В» (*Matonaviridae: Rubivirus: Rubella virus*) в опыте на обезьянах макак-резус

Лаврентьева И.Н.<sup>1</sup>, Шамсутдинова О.А.<sup>2</sup>, Чугуева И.И.<sup>2</sup>, Карал-оглы Д.Д.<sup>2</sup>,  
Вышемирский О.И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора, 197101, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» Минобрнауки, 354376, Сочи, Россия

**Введение.** Вирус краснухи обладает выраженными тератогенными свойствами, способными вызывать генерализованную внутриутробную инфекцию плода персистирующего характера. В связи с этим необходимым этапом доклинического изучения вакцинного штамма для живой аттенуированной вакцины против краснухи является контроль утраты тератогенности, присущей диким штаммам вируса.

**Цель** исследования: комплексное изучение тератогенных свойств вакцинного штамма вируса краснухи «Орлов-В» в опыте на обезьянах макак-резус.

**Материал и методы.** В эксперименте использовали серонегативных к вирусу краснухи самок вида макак-резус (*Macaca rhesus*, *Macaca mulatta*) на ранних сроках беременности в возрасте 4–7 лет ( $n = 13$ ). Животных опытной группы ( $n = 9$ ) однократно внутримышечно иммунизировали препаратом из штамма «Орлов-В». Обезьян группы сравнения ( $n = 3$ ) иммунизировали коммерческим препаратом, содержащим вакцинный штамм Wistar RA27/3. Самке контрольной группы ( $n = 1$ ) вводили растворитель вакцины против краснухи.

Изучение возможных тератогенных свойств вакцинных штаммов вируса краснухи проводили с использованием комплекса клинических, иммунологических, патоморфологических и вирусологических методов. Клинические наблюдения осуществлялись в течение 3 месяцев после рождения детёнышей. Определение титров антител в сыворотке крови иммунизированных макак-резусов выполняли в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) на 28–30 сутки после заражения. Метод иммуноферментного анализа (ИФА) использовали для определения антител класса IgM в сыворотке обезьян первого месяца жизни. Выявление РНК вируса проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с электрофоретической детекцией продуктов амплификации.

**Результаты.** Установлено отсутствие маркёров врождённой краснушной инфекции у особей, родившихся от привитых во время беременности обезьян. Показано, что метод ПЦР может являться информативным тестом, подтверждающим отсутствие тератогенных свойств вакцинных штаммов вируса краснухи.

**Обсуждение.** Полученные данные охарактеризовали вакцинные штаммы вируса краснухи «Орлов-В» и Wistar RA27/3 как утратившие тератогенные свойства. Обсуждается возможность использования альтернативной по отношению к классическим патоморфологическим методам стратегии доклинической оценки специфической безопасности противовирусных вакцин с применением комплекса клинических, иммунологических, патоморфологических и вирусологических методов.

**Заключение.** Результаты, полученные в рамках настоящего исследования, показали отсутствие тератогенных свойств вакцинного штамма вируса краснухи «Орлов-В».

**Ключевые слова:** тератогенность; вирус краснухи; аттенуированный вакцинный штамм; обезьяны макак-резус; полимеразная цепная реакция.

**Для цитирования:** Лаврентьева И.Н., Шамсутдинова О.А., Чугуева И.И., Карал-оглы Д.Д., Вышемирский О.И. Изучение тератогенности вакцинного штамма вируса краснухи «Орлов-В» (*Matonaviridae: Rubivirus: Rubella virus*) в опыте на обезьянах макак-резус. *Вопросы вирусологии.* 2020; 65(6): 357–363

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-6-6>

**Для корреспонденции:** Шамсутдинова Ольга Анатольевна, научный сотрудник лаборатории иммунологии и биологии клетки ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» Минобрнауки, 354376, Сочи, Россия, e-mail: [shamsutdinova-o-a@yandex.ru](mailto:shamsutdinova-o-a@yandex.ru)

**Участие авторов:** Лаврентьева И.Н. – концепция и дизайн исследования, написание текста, экспериментальная работа; Карал-оглы Д.Д. – концепция и дизайн исследования; Шамсутдинова О.А. – написание текста, экспериментальная работа; Чугуева И.И. – клиническое наблюдение; Вышемирский О.И. – экспериментальная работа.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 25.06.2020  
Принята в печать 12.11.2020

## Study of the teratogenicity of the vaccine strain of the Rubella virus «Orlov-V» (*Matonaviridae: Rubivirus: Rubella virus*) in experience on rhesus macaques

Irina N. Lavrentjeva<sup>1</sup>, Ol'ga A. Shamsutdinova<sup>2</sup>, Irina I. Chugueva<sup>2</sup>, Djina D. Karal-ogly<sup>2</sup>, Oleg I. Vyshemirskiy<sup>2</sup>

<sup>1</sup>FSBI «Saint Petersburg Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology» of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 197101, Saint-Petersburg, Russia;

<sup>2</sup>FSBRI «Research Institute of Medical Primatology» of the Ministry of Education and Science of Russia, Sochi, 354376, Russia

**Introduction.** Rubella virus has pronounced teratogenic properties that can cause generalized and persistent intrauterine infection of the fetus. As a result, the control of the loss of teratogenicity inherent in «wild-type» virus strains is a necessary stage of a preclinical study of the vaccine strain for a live attenuated rubella vaccine.

**The purpose** of the study is to comprehensively study the teratogenic properties of the vaccine strain of rubella virus «Orlov-V» in the experiment on rhesus macaques.

**Material and methods.** Seronegative to rubella virus female rhesus macaques in early pregnancy at the age of 4–7 years ( $n = 13$ ) were used in the experiment. Animals of the experimental group ( $n = 9$ ) received single immunization intramuscularly with a preparation from the «Orlov-V» strain. The control group of the monkeys ( $n = 3$ ) were immunized with a commercial vaccine containing Wistar RA27/3 strain. The female of the control group ( $n = 1$ ) was injected with a solvent used in the rubella vaccine. Study of possible teratogenic properties of vaccine strains of rubella virus was carried out using a complex of clinical, immunological, pathomorphological and virological methods. Clinical observations were made within 3 months after the monkeys' birth. Determination of antibody titers in the blood serum of immunized monkeys was performed in HI test on the 28th–30th day after infection. The ELISA method was applied to determine IgM antibodies in the blood serum of newborns within the first month of life. Detection of rubella virus RNA was performed by PCR with electrophoretic detection of amplicons.

**Results.** No markers of congenital rubella infection were found in infants born from monkeys vaccinated during the pregnancy. It is shown that PCR can be an informative method to confirm the absence of teratogenic properties of vaccine strains of rubella virus.

**Discussion.** The obtained data demonstrated that vaccine strains of the «Orlov-V» rubella virus and Wistar RA27/3 have lost their teratogenic properties. The possibility of using an alternative strategy for preclinical assessment of specific safety of antiviral vaccines including a complex of clinical, immunological, pathologic and virological methods instead of the classical pathologic method is discussed.

**Conclusion.** The results obtained in this study showed the absence of teratogenic properties and high immunogenic activity of the vaccine strain of rubella virus «Orlov-V».

**Keywords:** *teratogenicity; rubella virus; attenuated vaccine strain; rhesus macaque monkeys; polymerase chain reaction.*

**For citation:** Lavrentjeva I.N., Shamsutdinova O.A., Chugueva I.I., Karal-ogly D.D., Vyshemirskiy O.I. Study of the teratogenicity of the vaccine strain of the Rubella virus «Orlov-V» (*Matonaviridae: Rubivirus: Rubella virus*) in experience on rhesus macaques. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2020; 65(6): 357–363 (In Russ., in Engl.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-6-6>

**For correspondence:** Shamsutdinova Ol'ga Anatolyevna, Researcher of the Laboratory of Immunology and Cell Biology, FSBRI «Research Institute of Medical Primatology» of the Ministry of Education and Science of Russia, 354376, Sochi, Russia. E-mail: [shamsutdinova-o-a@yandex.ru](mailto:shamsutdinova-o-a@yandex.ru)

### Information about authors:

Lavrentjeva I.N., <http://orcid.org/0000-0002-2188-6547>

Shamsutdinova O.A., <https://orcid.org/0000-0002-2742-3965>

Chugueva I.I., <https://orcid.org/0000-0002-1567-1929>

Karal-ogly D.D., <https://orcid.org/0000-0003-3606-1668>

Vyshemirskiy O.I., <https://orcid.org/0000-0002-5345-8926>

**Contribution:** Lavrentjeva I.N. – research concept and design, writing of the text, experimental research; Karal-ogly D.D. – research concept and design; Shamsutdinova O.A. – writing of the text, experimental research; Chugueva I.I. – clinical observation; Vyshemirskiy O.I. – experimental research.

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

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

Received 25 June 2020  
Accepted 12 November 2020

## Введение

В связи со значительной тератогенностью вируса краснухи и содержанием аттенуированного вакцинного штамма в составе живой вакцины беременность является противопоказанием для вакцинирования против этого заболевания [1, 2]. Имеется ряд публи-

каций, свидетельствующих о возможности проникновения вакцинных штаммов вируса краснухи через плаценту [3, 4].

Так, в Великобритании при обследовании 515 женщин, по тем или иным причинам привитых против краснухи в период беременности, у рождённых де-

тей не было выявлено признаков синдрома врождённой краснухи (СВК), хотя в 10,6% случаев определялось внутриутробное инфицирование плода [5]. В Иране в 2003 г. при обследовании новорождённых, родившихся от вакцинированных во время беременности матерей (при проведении массовой иммунизации против кори и краснухи), у 5 детей были обнаружены антитела класса IgM в пуповинной крови, однако ни у одного ребёнка не было выявлено пороков развития, аналогичных наблюдаемым при СВК [6]. По данным Mangtani P., Evans S.J.W. et al. теоретический риск поражения плода при вакцинации беременных против краснухи составляет от 0 до 0,6%, что значительно ниже, чем риск развития СВК вследствие первичного инфицирования женщины в течение первых 12 недель гестационного срока [7]. В связи с этим ряд учёных пришли к заключению, что непреднамеренная вакцинация при наличии беременности не является показанием к её прерыванию [1, 7–9].

Однако штаммы для живой рубеолярной вакцины, предназначенные для парентерального введения людям, должны тщательно изучаться в отношении возможного тератогенного действия [10]. Понятно, что изучение тератогенного потенциала вновь разрабатываемых медицинских иммунобиологических препаратов (МИБП) возможно лишь в эксперименте на соответствующей лабораторной модели [11].

Наиболее адекватной моделью для изучения вируса краснухи являются лабораторные приматы. Этот возбудитель патогенен, в частности, для обезьян макак-резус (*Macaca mulatta*; *Macaca rhesus*), чувствительных к интраназальному, внутримышечному и внутривенному заражению. Патогенез вызываемого им заболевания сходен с таковым у человека по таким параметрам, как продолжительность инкубационного периода и вирусовыделения, наличие вирусемии, динамика формирования вирусспецифических антител [12]. Экспериментально доказанное развитие вирусемии при заражении макак-резус патогенным штаммом вируса краснухи [13] свидетельствует о возможности проникновения возбудителя через плаценту, что, в свою очередь, позволяет использовать эту модель для контроля возможного тератогенного действия вакцинных штаммов.

Вакцинный штамм «Орлов-В» [14] был восстановлен в ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» («Санкт-Петербургский НИИЭМ им. Пастера») после многолетнего хранения исходного штамма «Орлов» при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$  проведением дополнительных пассажей в тканевом субстрате, использовавшемся для аттенуации исходного вируса, – первичной культуре клеток почки кролика (ППК). В таких условиях возможны различия сохранности основных биологических характеристик вирусных частиц, составляющих гетерогенную популяцию исходного пула культуральной вирусосодержащей жидкости (ВСЖ). В связи с этим тщательный контроль безопасности применения, в том числе кон-

троль утраты тератогенных свойств, присущих диким штаммам, рассматривается как необходимый этап доклинического изучения вакцинного штамма для живой аттенуированной вакцины против краснухи. В экспериментах подобного рода необходимым является использование препарата сравнения – вакцины однонаправленного действия, желателен коммерческого производства [10].

Целью исследования являлось комплексное изучение тератогенных свойств вакцинного штамма вируса краснухи «Орлов-В» в опыте на обезьянах макак-резус.

### Материал и методы

В работе использованы вакцинные штаммы вируса краснухи «Орлов-В» (39 пассажей в культуре клеток ППК) и Wistar RA27/3 (в составе живой аттенуированной вакцины производства ФГУП «НПО «Микроген», Москва, Россия). Лабораторные животные – самки макак-резус в возрасте 4–7 лет на ранних сроках (первая треть – первая половина) гестации в количестве 13 особей. Сформированы 3 группы: 9 самок иммунизировали препаратом из штамма «Орлов-В», 3 самок – препаратом сравнения (вакцинный штамм Wistar RA27/3) и 1 особи вводили плацебо (растворитель вакцины против краснухи).

Обращение с животными проводилось в строгом соответствии с Правилами содержания и ухода за нечеловекообразными приматами (ГОСТ 33216-2014).

Иммунизацию животных осуществляли однократным внутримышечным введением серонегативным к краснухе самкам 0,5 мл препаратов из исследуемых штаммов. Прививочная доза соответствовала 1 прививочной дозе для человека (не менее 1000 ТЦД<sub>50</sub>).

Изучение потенциальных тератогенных свойств вакцинных штаммов вируса краснухи проводили с использованием комплекса клинических, иммунологических, патоморфологических и вирусологических методов.

Клиническое наблюдение за новорождёнными проводили ежедневно. Результаты его регистрировали дважды: сразу после рождения и через 90 суток наблюдения. У новорождённых особей изучали двигательную активность (объём и силу движений в конечностях, способность сопротивляться извлечению из клетки и насильственному разгибанию и сгибанию конечностей); мышечную активность (самостоятельное удерживание на матери); сосательный рефлекс. Степень формирования скелета регистрировали однократно рентгенологически. На протяжении периода наблюдения проводили периодическое взвешивание детёнышей. Через 90 суток наблюдения оценивали двигательные функции, координацию движений (по способности животных совершать координированные движения конечностями при захватывании предметов). Мышечный тонус определяли при пальпировании мышц конечностей в спокойном состоянии и при сгибании–разгибании. Фиксировали также наличие тремора, гиперкинезы; остроту зрения и слуха; аппетит, стул, динамику прибавки массы тела.

Определение титров антител в сыворотке крови иммунизированных беременных обезьян проводили

в РТГА через 28–30 суток после иммунизации, используя «Диагностикум краснушный антигенный сухой для РТГА» производства ОНТ ФБУН «Санкт-Петербургский НИИЭМ им. Пастера» (Санкт-Петербург, Россия) в соответствии с инструкцией по применению препарата.

Имуноглобулины класса IgM определяли в сыворотке крови детёнышей первого месяца жизни, родившихся от иммунизированных во время беременности самок. Для определения IgM-антител применяли ИФА-тест-систему «Вектор-Рубелла-IgM-стрип» (Новосибирск, Россия) в соответствии с инструкцией по применению. Все образцы сыворотки были зашифрованы и исследовались одновременно.

У 2 новорождённых, погибших в родах, производили аутопсию, патоморфологическое изучение внутренних органов. Исследование тканей и органов обезьян проведено в лаборатории патоморфологии ФГБНУ «НИИ медицинской приматологии». Гистологическому исследованию (с окраской гематоксилином и эозином и по методу Ниссля) были подвергнуты головной мозг, лёгкое, печень, почка, поджелудочная железа, селезёнка новорождённых, а также плацента самок.

Для установления возможного наличия РНК вируса краснухи в образцах тканей погибших в родах особей, плаценте и пуповинной крови использовали метод ПЦР с электрофоретической детекцией продуктов амплификации. Экстракцию РНК из исследуемого материала производили при помощи набора реагентов «РИБО-сорб» (ООО «ИнтерЛабСервис», Москва, Россия), для проведения реакции обратной транскрипции – «РЕВЕРТА-Л» (ООО «ИнтерЛабСервис», Москва, Россия); амплификацию комплементарной ДНК (кДНК) выполняли с использованием набора реагентов «АмплиСенс Rubella virus-EPh» (ФГУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Россия). Все этапы реакции проводили по стандартной схеме в соответствии с инструкцией по применению. Процедуру амплификации осуществляли на программируемом термостате ТП4-ПЦР-01-«Терцик» (ООО «НПО ДНК-Технология», Протвино, Россия).

### Результаты

Беременность 11 из 13 самок разрешилась нормальными срочными родами; в 2 случаях (1 – самка, иммунизированная препаратом из штамма «Орлов-В», 1 – препаратом из штамма Wistar RA27/3) беременность завершилась мертворождением вследствие родовой травмы.

На протяжении 90 суток после рождения детёныши ежедневно осматривались врачом-ветеринаром для оценки наличия или отсутствия отставания в развитии, клинических симптомов поражения центральной нервной системы, дыхательной системы, органов слуха и зрения. Ни у одной из особей, родившихся живыми и получавших грудное вскармливание, внешних пороков и аномалий развития выявлено не было. Детёныши развивались активно;

их поведение, масса тела, слух, зрение и структура костного аппарата соответствовали возрастной норме. При рентгенологическом исследовании скелета у 2 из них (по 1 из групп «Орлов-В», инвентарный №40066, и плацебо, инвентарный №39978) были выявлены рахитоподобные изменения, однако они не являлись вирусспецифическими и связаны с особенностями питания животных.

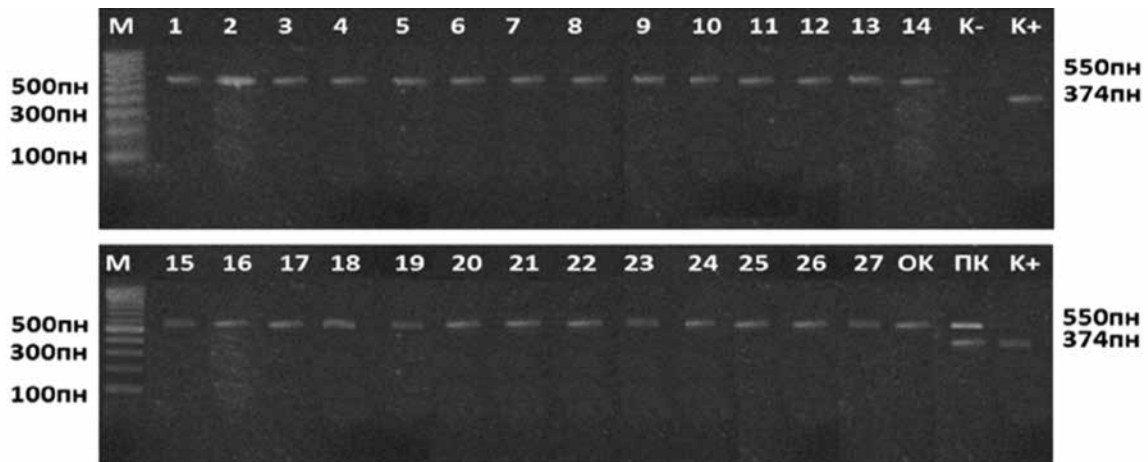
Для определения возможной связи смерти 2 детёнышей с вакцинацией их матерей во время беременности было проведено патоморфологическое и вирусологическое исследование их органов и тканей, а также плаценты самок. Ни в одном случае вирусспецифических поражений у погибших новорождённых выявлено не было. Гистологическая картина головного мозга и периферических органов соответствовала норме. Таким образом, в обоих случаях смерть наступила по причинам, не связанным с материнской иммунизацией против краснухи во время беременности.

При проведении вирусологического исследования с целью сравнения использовали аутопсийный материал детёныша, не включённого в настоящий эксперимент и погибшего от алиментарной дистрофии из-за отсутствия грудного вскармливания (агалактия у матери) (инвентарный №32771).

Ни в одном из исследованных образцов РНК вируса краснухи обнаружена не была (**рисунок**), что свидетельствует об отсутствии проникновения вакцинных штаммов вируса через плаценту и, соответственно, отсутствию внутриутробного инфицирования плода в каждом из исследованных случаев гибели новорождённого.

Изучение сывороток крови самок, однократно иммунизированных против краснухи во время беременности, показало 100%-ную сероконверсию, т.е. все подопытные животные ответили на введение вакцинных препаратов образованием специфических антител в высоких титрах. В то же время по окончании периода наблюдения в сыворотке обезьяны группы плацебо специфические антитела не определялись (**таблица**).

Е. Miller и соавт. показали, что частота выявления антител класса IgM в сыворотках крови детей с внутриутробной инфекцией рубеолярной этиологии максимальна в первый месяц жизни, когда она составляет 100% [15]. На основании этих данных исследование сывороток детёнышей на наличие IgM-фракции противокраснушных антител проводили, собирая образцы крови в течение первых 30 суток после рождения. В качестве положительного и отрицательного контроля (помимо контролей, заложенных в тест-системе) были исследованы сыворотки крови 2 людей: одна, полученная от больного с лабораторно подтверждённой краснухой, другая – от больного с отрицательным результатом на IgM-антитела к вирусу краснухи. Ни в одном случае в сыворотке крови детёнышей, родившихся от иммунизированных во время беременности матерей, не было выявлено противокраснушных IgM.



Детекция РНК вируса краснухи (Rubella virus) в клиническом материале методом ПЦР с электрофоретической детекцией продуктов амплификации в 2% агарозном геле.

**Примечание.** М – маркер длин фрагментов пар нуклеотидов; 1–27 – образцы клинического материала; К– – отрицательный контроль ПЦР амплификации кДНК; К+ – положительный контроль ПЦР амплификации кДНК; ОК – отрицательный контроль экстракции РНК; ПК – положительный контроль экстракции РНК, пн – пары нуклеотидов.

Detection of rubella virus RNA in clinical material by PCR with electrophoretic detection of amplicons in 2% agarose gel.

**Note.** M – DNA size marker; 1–27 – clinical samples; K– – negative PCR control of cDNA amplification; K+ – positive PCR control of cDNA amplification; OK – negative RNA extraction control; PK – positive RNA extraction control, пн – nucleotide pairs.

### Обсуждение

Учитывая способность вируса краснухи проникать через плаценту и вызывать множественные системные поражения плода, контроль утраты тератогенных свойств у вакцинных штаммов для живой краснушной вакцины представляется необходимым и важным этапом доклинического изучения таких препаратов. Моделью для проведения настоящего исследования стал вакцинный штамм вируса краснухи «Орлов-В», полученный путём аттенуации дикого вируса серийными пассажами в культуре клеток почки кролика. В качестве препарата сравнения использован штамм Wistar RA27/3, входящий в состав всех используемых в настоящее время коммерческих вакцин против краснухи.

В ходе эксперимента получены данные по клиническому наблюдению за детёнышами, родившимися от вакцинированных во время беременности макак-резусов. Все 11 особей были оценены врачом-ветеринаром как клинически здоровые; первый месяц ежедневного клинического наблюдения не выявил ни в одном случае задержки в развитии условных рефлексов. Периодическое взвешивание не обнаружило отставания в физическом развитии. В дальнейшем в течение 3 месяцев наблюдения каких-либо патологических состояний ни у одного из подопытных животных выявлено не было.

Учитывая, что одним из частых проявлений СВК является повышенная проницаемость тканей костного аппарата [16], было проведено рентгенологическое обследование новорождённых для установления возможных несоответствий развития скелета физиологической возрастной норме. Ни в одном случае не было выявлено характерных для СВК костных поражений. Обнаруженные у 2 особей (1 иммунизированной штаммом «Орлов-В» и 1 – растворителем вакцины

Титры антител в РТГА в сыворотке крови иммунизированных и не иммунизированной против краснухи обезьян

Antibody titers in HI test in serum of monkeys immunized and not immunized against rubella

№ обезьяны Monkey No.	Штамм, использованный для иммунизации Strain used for immunization	Титры антител в РТГА Antibody titers in HI test
34086	«Орлов-В» «Orlov-V»	1 : 320
33605	«Орлов-В» «Orlov-V»	1 : 160
37085	«Орлов-В» «Orlov-V»	1 : 640
37174	«Орлов-В» «Orlov-V»	1 : 1280
37686	«Орлов-В» «Orlov-V»	1 : 320
32771	«Орлов-В» «Orlov-V»	1 : 160
37721	«Орлов-В» «Orlov-V»	1 : 640
33276	«Орлов-В» «Orlov-V»	1 : 1280
37988	«Орлов-В» «Orlov-V»	1 : 640
31939	Wistar RA27/3 Wistar RA27/3	1 : 640
37301	Wistar RA27/3 Wistar RA27/3	1 : 320
33992	Wistar RA27/3 Wistar RA27/3	1 : 640
36518	Плацебо Placebo	<1 : 10

против краснухи) рахитоподобные изменения в ростовых зонах наиболее быстро растущих костей оценены врачом-рентгенологом как неспецифические.

Вирусологическое исследование тканей плаценты (методом ПЦР) для определения возможного наличия РНК вируса краснухи удалось провести в 3 случаях. Ни в одном из исследованных образцов плаценты (2 группы «Орлов-В» и 1 – группы Wistar RA27/3), а также пуповинной крови (1 образец группы «Орлов-В»), не было выявлено вирусной РНК.

Тщательное и всестороннее патоморфологическое исследование тканей и органов детёнышей, погибших во время родов (1 – группа «Орлов-В»; 1 – Wistar RA27/3), также не выявило вирусспецифических поражений органов и тканей.

В конечной стадии эксперимента сыворотки крови самок были исследованы в РТГА на наличие противокраснушных антител; детёнышей – на наличие IgM-фракции антител.

Результаты РТГА свидетельствуют о развитии выраженного иммунного ответа на вакцинацию препаратами из штаммов «Орлов-В» и Wistar RA27/3 и подтверждают факт иммунизации животных.

Известно, что в отличие от противовирусных IgG-антител, передающихся от матери к плоду и обеспечивающих пассивный противовирусный иммунитет на протяжении первых месяцев жизни, иммуноглобулины класса IgM не проходят через плаценту [17]. Их присутствие в крови новорождённых свидетельствует о развитии внутриутробной инфекции. Это обстоятельство было убедительно доказано E. Miller и соавт. в когортных исследованиях детей, рождённых с внутриутробными инфекциями (ВУИ) рубеолярной этиологии [15]. В связи с этим согласно классификации ВОЗ диагноз «врождённая краснуха» устанавливается только на основании обнаружения в крови младенца IgM-антител к вирусу краснухи даже без наличия клинической симптоматики заболевания [18]. Следовательно, обнаружение иммуноглобулинов этого класса в крови особей, родившихся от иммунизированных против краснухи матерей, было бы безусловным свидетельством сохранения тератогенных свойств вакцинного вируса. И напротив, отсутствие таковых – убедительное доказательство того, что штаммы, использованные в настоящем исследовании, не вызывают внутриутробного инфицирования плода. Важно, что такие результаты получены без умерщвления детёнышей, что полностью отвечает принципам гуманного обращения с лабораторными животными.

Следует особо отметить, что использование ПЦР для детекции РНК вируса краснухи в аутопсийном материале, плаценте и пуповинной крови может служить объективным маркером для оценки потенциального тератогенного действия [19] испытываемых препаратов на этапе их доклинического изучения.

### Заключение

В ходе изучения возможного тератогенного действия вакцинных штаммов вируса краснухи

в опыте на обезьянах макак-резус ни в одном случае не было получено каких-либо данных, свидетельствующих о внутриутробном инфицировании плода иммунизированных во время беременности самок. Таким образом, результаты проведённого исследования показали отсутствие тератогенных свойств в условиях данного эксперимента как у вакцинного штамма вируса краснухи «Орлов-В», так и у штамма Wistar RA27/3, использованного в качестве препарата сравнения и входящего в состав коммерческих вакцин против краснухи. Показана информативность ПЦР как теста, подтверждающего специфическую безопасность вакцинных штаммов для живых вирусных вакцин на этапе их доклинического изучения.

### ЛИТЕРАТУРА

- Castillo-Solórzano C., Reef S.E., Morice A., Vascones N., Chevez A.E., Castalia-Soares R., et al. Rubella vaccination of unknowingly pregnant women during mass campaigns for rubella and congenital rubella syndrome elimination, the Americas 2001–2008. *J. Infect. Dis.* 2011; 204 (Suppl. 2): S713–7. <https://doi.org/10.1093/infdis/jir489>.
- Шамсутдинова О.А. Живые аттенуированные вакцины для иммунопрофилактики. *Инфекция и иммунитет.* 2017; 7(2): 107–116. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2017-2-107-116>.
- Hofmann J., Kortung M., Pustowoit B., Faber R., Piskazec U., Liebert U.G. Persistent fetal rubella vaccine virus infection following inadvertent vaccination during early pregnancy. *J. Med. Virol.* 2000; 61(1): 155–8. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9071\(200005\)61:1%3C155::aid-jmv25%3E3.0.co;2-o](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9071(200005)61:1%3C155::aid-jmv25%3E3.0.co;2-o).
- Da Silva e Sá G.R., Camacho L.A., Stavola M.S., Lemos X.R., Basílio de Oliveira C.A., Siqueira M.M. Pregnancy outcomes following rubella vaccination: A prospective study in the State of Rio de Janeiro, Brazil, 2001–2002. *J. Infect. Dis.* 2011; 204(2): S722–8. <https://doi.org/10.1093/infdis/jir408>.
- Keller-Stanislawski B., Englun J.A., Kang G., Mangtani P., Neuzil K., Nohynek H., et al. Safety of immunization during pregnancy: A review of the evidence of selected inactivated and live attenuated vaccines. *Vaccine.* 2014; 32(52): 7057–64. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.09.052>.
- Hamkar R., Jalilvand S., Abdolbaghi M.H., Esteghamati A.R., Hagh-Goo A., Jelyani K.N., et al. Inadvertent rubella vaccination of pregnant women: Evaluation of possible transplacental infection with rubella vaccine. *Vaccine.* 2006; 24(17): 3558–63. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.02.001>.
- Mangtani P., Evans S.J.W., Lange B., Oberle D., Smith J., Drechsel-Baeuerle U., et al. Safety profile of rubella vaccine administered to pregnant women: A systematic review of pregnancy related adverse events following immunisation, including congenital rubella syndrome and congenital rubella infection in the foetus or infant. *Vaccine.* 2020; 38(5): 963–78. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.11.070>.
- Regan A.K. The safety of maternal immunization. *Hum. Vacc. Immunother.* 2016; 12(12): 3132–6. <https://doi.org/10.1080/21645515.2016.1222341>.
- Nasiri R., Yoseffi J., Khajedaloe M., Sarafraz Yazdi M., Delgoshaei F. Congenital rubella syndrome after rubella vaccination in 1–4 weeks periconceptual period. *Indian J. Pediatr.* 2009; 76(3): 279–82. <https://doi.org/10.1007/s12098-009-0053-x>.
- Миронов А.Н., Бунатян Н.Д. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Том 1. М.: Гриф и К; 2012.*
- СП 3.3.2.561-96. Государственные испытания и регистрация новых иммунобиологических препаратов. М.: 1998.
- Knipe D.M., Howley P.M., eds. *Fields Virology*. Philadelphia: Williams & Wilkins; 2013.
- Лаврентьева И.Н. Молекулярно-биологические свойства аттенуированных штаммов вируса краснухи. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2008; 85(4): 55–9.

- Лаврентьева И.Н., Сухобаевская Л.П., Жебрун А.Б. Штамм вируса краснухи для получения медицинских иммунобиологических препаратов (МИБИ). Патент РФ №2081912; 1995.
- Miller E., Cradock-Watson J.E., Pollock T.M. Consequences of confirmed maternal rubella at successive stage of pregnancy. *Lancet*. 1982; 2(8302): 781–4. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(82\)92677-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(82)92677-0).
- Yazigi A., Eldin De Pecoulas A., Vauloup-Fellous C., Grangeot-Keros L., Ayoubi J.M., Picone O. Fetal and neonatal abnormalities due to congenital rubella syndrome: a review of literature. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 2017; 30(3): 274–8. <https://doi.org/10.3109/14767058.2016.1169526>.
- Best J.M. Rubella. *Semin. Fetal Neonat. Med.* 2007; 12(3): 182–92. <https://doi.org/10.1016/j.siny.2007.01.017>.
- Sampedro Martínez A., Martínez L.A., Teatino P.M., Rodríguez-Granger J. Diagnosis of congenital infection. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 2011; 29 (Suppl. 5): 15–20. [https://doi.org/10.1016/s0213-005x\(11\)70039-8](https://doi.org/10.1016/s0213-005x(11)70039-8) (in Spanish).
- Mace M., Cointe D., Six C., Levy-Bruhl D., Parent du Chatelet I., Ingrand D., et al. Assessment of the diagnostic value of RT-PCR on amniotic fluid for prenatal diagnosis of congenital rubella infection. *Pathol. Biol. (Paris)*. 2004; 52(9): 540–3. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2004.06.004> (in French).
- of pregnant women: Evaluation of possible transplacental infection with rubella vaccine. *Vaccine*. 2006; 24(17): 3558–63. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.02.001>.
- Mangtani P., Evans S.J.W., Lange B., Oberle D., Smith J., Drechsel-Baeuerle U., et al. Safety profile of rubella vaccine administered to pregnant women: A systematic review of pregnancy related adverse events following immunisation, including congenital rubella syndrome and congenital rubella infection in the foetus or infant. *Vaccine*. 2020; 38(5): 963–78. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.11.070>.
- Regan A.K. The safety of maternal immunization. *Hum. Vacc. Immunother.* 2016; 12(12): 3132–6. <https://doi.org/10.1080/21645515.2016.1222341>.
- Nasiri R., Yoseffi J., Khajedaloe M., Sarafraz Yazdi M., Delgoshaei F. Congenital rubella syndrome after rubella vaccination in 1–4 weeks periconceptional period. *Indian J. Pediatr.* 2009; 76(3): 279–82. <https://doi.org/10.1007/s12098-009-0053-x>.
- Mironov A.N., Bunatjan N.D. *Guidelines for Conducting Preclinical Research of Medicinal Products. Volume 1 [Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Tom 1]*. Moscow: Grif i K; 2012 (in Russian).
- SP 3.3.2.561-96. State tests and registration of new immunobiological drugs. Moscow: 1998 (in Russian).
- Knipe D.M., Howley P.M., eds. *Fields Virology*. Philadelphia: Williams & Wilkins; 2013.
- Lavrentjeva I.N. Molecular and biologic characteristics of attenuated rubella viruses. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2008; 85(4): 55–9 (in Russian).
- Lavrentjeva I.N., Sukhobaevskaya L.P., Zhebrun A.B. *Rubella virus strain for medical immunobiological preparations (MIBP)*. Patent RF №2081912; 1995 (in Russian).
- Miller E., Cradock-Watson J.E., Pollock T.M. Consequences of confirmed maternal rubella at successive stage of pregnancy. *Lancet*. 1982; 2(8302): 781–4. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(82\)92677-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(82)92677-0).
- Yazigi A., Eldin De Pecoulas A., Vauloup-Fellous C., Grangeot-Keros L., Ayoubi J.M., Picone O. Fetal and neonatal abnormalities due to congenital rubella syndrome: a review of literature. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 2017; 30(3): 274–8. <https://doi.org/10.3109/14767058.2016.1169526>.
- Best J.M. Rubella. *Semin. Fetal Neonat. Med.* 2007; 12(3): 182–92. <https://doi.org/10.1016/j.siny.2007.01.017>.
- Sampedro Martínez A., Martínez L.A., Teatino P.M., Rodríguez-Granger J. Diagnosis of congenital infection. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 2011; 29(Suppl. 5): 15–20. [https://doi.org/10.1016/s0213-005x\(11\)70039-8](https://doi.org/10.1016/s0213-005x(11)70039-8) (in Spanish).
- Mace M., Cointe D., Six C., Levy-Bruhl D., Parent du Chatelet I., Ingrand D., et al. Assessment of the diagnostic value of RT-PCR on amniotic fluid for prenatal diagnosis of congenital rubella infection. *Pathol. Biol. (Paris)*. 2004; 52(9): 540–3. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2004.06.004> (in French).

## REFERENCES

- Castillo-Solórzano C., Reef S.E., Morice A., Vascones N., Chevez A.E., Castalia-Soares R., et al. Rubella vaccination of unknowingly pregnant women during mass campaigns for rubella and congenital rubella syndrome elimination, the Americas 2001–2008. *J. Infect. Dis.* 2011; 204 (Suppl. 2): S713–7. <https://doi.org/10.1093/infdis/jir489>.
- Shamsutdinova O.A. Live attenuated vaccines for the immunoprophylaxis. *Infektsiya i immunitet*. 2017; 7(2): 107–16. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2017-2-107-116> (in Russian).
- Hofmann J., Kortung M., Pustowoit B., Faber R., Piskazec U., Liebert U.G. Persistent fetal rubella vaccine virus infection following inadvertent vaccination during early pregnancy. *J. Med. Virol.* 2000; 61(1): 155–8. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9071\(200005\)61:1%3C155::aid-jmv25%3E3.0.co;2-o](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9071(200005)61:1%3C155::aid-jmv25%3E3.0.co;2-o).
- Da Silva e Sá G.R., Camacho L.A., Stavola M.S., Lemos X.R., Basilio de Oliveira C.A., Siqueira M.M. Pregnancy outcomes following rubella vaccination: A prospective study in the State of Rio de Janeiro, Brazil, 2001–2002. *J. Infect. Dis.* 2011; 204(2): S722–8. <https://doi.org/10.1093/infdis/jir408>.
- Keller-Stanislawski B., Englund J.A., Kang G., Mangtani P., Neuzil K., Nohynek H., et al. Safety of immunization during pregnancy: A review of the evidence of selected inactivated and live attenuated vaccines. *Vaccine*. 2014; 32(52): 7057–64. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.09.052>.
- Hamkar R., Jalilvand S., Abdolbaghi M.H., Esteghamati A.R., Hagh-Goo A., Jelyani K.N., et al. Inadvertent rubella vaccination