

УДК 615.373:616.98:543.544
https://doi.org/10.30895/2221-996X-2020-20-1-50-59

ШИФР 03.01.06 СПЕЦИАЛЬНОСТЬ
Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)



Свойства гетерологичного иммуноглобулина против лихорадки Эбола после длительного хранения

С. А. Мельников¹, И. В. Борисевич², Е. В. Рождественский¹, В. Б. Пантюхов¹, Н. К. Черникова¹, Е. В. Гордеев¹,
С. А. Нимирская¹, А. Л. Хмелев¹, С. И. Сыромятникова¹, И. В. Шатохина¹, Т. М. Плеханова¹, Г. Д. Тиманькова¹,
С. В. Борисевич^{1,*}, Д. А. Кутаев¹, Л. Ф. Стомба¹, Е. Ю. Мишалова¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение
«48 Центральный научно-исследовательский институт»
Министерства обороны Российской Федерации,
ул. Октябрьская, д. 11, Сергиев Посад-6, Московская область,
141306, Российская Федерация

²Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
ул. Погодинская, д. 10, стр. 1, Москва, 119121, Российская Федерация

Вспышка геморрагической лихорадки Эбола в восточных районах Демократической Республики Конго в 2018–2020 гг. показала сохраняющуюся высокую опасность вируса для человечества, а вспышка в Западной Африке в 2014–2016 гг., самая крупная с момента обнаружения вируса, — возможность его ввоза в другие страны, в том числе в Россию. В ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России в 1993 г. разработан специфический лошадиный иммуноглобулин для экстренной профилактики лихорадки Эбола в группах риска. Изучение и совершенствование его защитных свойств является актуальным направлением разработки средств биологической защиты. **Цель работы:** оценить свойства иммуноглобулина против лихорадки Эбола из сыворотки крови лошадей после длительного хранения при температуре от 2 до 8 °С. **Материалы и методы:** серии гетерологичного иммуноглобулина против лихорадки Эбола, хранившиеся от 17 до 22 лет. Свойства иммуноглобулина оценивали согласно требованиям Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV издания (ГФ РФ XIV изд.). Специфическую активность препарата определяли в реакции нейтрализации с вирусом Эбола в культуре клеток почки африканской зеленой марышки (GMK-AN-1(Д)) методом подавления образования негативных колоний (бляшкообразования). Определение молекулярных параметров иммуноглобулина проводили методом эксклюзионной высокоэффективной жидкостной хроматографии согласно методикам, представленным в Европейской фармакопее 9.6 и ГФ РФ XIV изд. **Результаты:** хранение препарата иммуноглобулина против лихорадки Эбола в течение 17–22 лет при температуре от 2 до 8 °С привело к снижению уровня вируснейтрализующих антител к вирусу Эбола в 4 раза, уменьшению доли мономеров с 98 до 74–90%, увеличению доли димеров и полимеров, а также появлению фрагментов молекул иммуноглобулина. В одной из трех серий препарата была выявлена токсичность для белых нелинейных мышей. **Выводы:** полученные результаты свидетельствуют о целесообразности проведения дальнейших исследований по определению показателей качества серий иммуноглобулина против лихорадки Эбола, хранившихся менее продолжительные сроки, с целью оценки стабильности их исходных характеристик.

Ключевые слова: иммуноглобулин против лихорадки Эбола; геморрагическая лихорадка Эбола; срок годности; специфическая активность; молекулярные параметры

Для цитирования: Мельников СА, Борисевич ИВ, Рождественский ЕВ, Пантюхов ВБ, Черникова НК, Гордеев ЕВ, Нимирская СА, Хмелев АЛ, Сыромятникова СИ, Шатохина ИВ, Плеханова ТМ, Тиманькова ГД, Борисевич СВ, Кутаев ДА, Стомба ЛФ, Мишалова ЕЮ. Свойства гетерологичного иммуноглобулина против лихорадки Эбола после длительного хранения. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2020;20(1):50–59. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2020-20-1-50-59>

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

Properties of Heterologous anti-Ebola Immunoglobulin after Long Storage

S. A. Melnikov¹, I. V. Borisevich², E. V. Rozhdestvensky¹, V. B. Pantyukhov¹, N. K. Chernikova¹, E. V. Gordeev¹,
S. A. Nimirskaya¹, A. L. Khmelev¹, S. I. Syromyatnikova¹, I. V. Shatokhina¹, T. M. Plekhanova¹, G. D. Timankova¹,
S. V. Borisevich^{1,*}, D. A. Kutaev¹, L. F. Stovba¹, E. Yu. Mishalova¹

¹48 Central Scientific Research Institute,
11 Oktyabr'skaya St., Sergiev Posad-6, Moscow Region
141306, Russian Federation

²Centre for Strategic Planning and Biomedical Health Risk Management,
10/1 Pogodinskaya St., Moscow 119121, Russian Federation

Ebola outbreak in eastern parts of the Democratic Republic of the Congo in 2018–2020 proved that the virus remains highly hazardous for humans, and the outbreak in West Africa in 2014–2016, which was the largest Ebola outbreak in history, showed that it could be imported to other continents, including Russia. In 1993 the Federal State Budgetary Institution “48th Central Scientific Research Institute” of the Russian Ministry of Defence developed a specific equine immunoglobulin for emergency prophylaxis of Ebola in risk groups. The evaluation and improvement of the product’s properties is an important area in the development of biological defence technologies. **The aim of the study** was to examine the properties of the equine anti-Ebola immunoglobulin which had been stored for a long time at 2–8 °C. **Materials and methods:** the authors studied batches of heterologous anti-Ebola immunoglobulin that had been stored for 17–22 years. The properties of the product were evaluated according to the requirements of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, 14th ed. (Ph. Rus. 14 ed.). The specific activity of the product was determined in a plaque reduction neutralisation test using Ebola virus and African green monkey kidney cells (GMK-AH-1(D)). Immunoglobulin molecular parameters were determined by size-exclusion high-performance liquid chromatography using the test methods described in the European Pharmacopoeia 9.6 and Ph. Rus. 14 ed. **Results:** the storage of anti-Ebola immunoglobulin for 17–22 years at 2–8 °C resulted in a four-fold reduction of the level of virus-neutralising antibodies against Ebola, decrease in the proportion of monomers from 98 to 74–90%, increase in the proportion of dimers and polymers, and formation of immunoglobulin molecules’ fragments. Signs of toxicity for mice were observed in one of the three product batches. **Conclusions:** the obtained results suggest the need to perform more studies to test the quality of anti-Ebola immunoglobulin batches that were stored for shorter periods of time in order to assess the stability of their initial characteristics.

Key words: anti-Ebola immunoglobulin; Ebola haemorrhagic fever; shelf life; specific activity; molecular parameters

For citation: Melnikov SA, Borisevich IV, Rozhdestvensky EV, Pantyukhov VB, Chernikova NK, Gordeev EV, Nimirskaya SA, Khmelev AL, Syromyatnikova SI, Shatokhina IV, Plekhanova TM, Timankova GD, Borisevich SV, Kutaev DA, Stovba LF, Mishalova EYu. Properties of heterologous anti-Ebola immunoglobulin after long storage. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2020;20(1):50–59. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2020-20-1-50-59>

Corresponding author: Sergey V. Borisevich; 48cnii@mil.ru

Заболевание, вызванное вирусом Эбола рода *Ebolavirus* семейства *Filoviridae* (ЗВВЭ, ранее известное как геморрагическая лихорадка Эбола), является особо опасным инфекционным заболеванием, характеризующимся геморрагиями, мультиорганный недостаточностью, заканчивающимся летальным исходом в 50–90% случаев. Самая большая вспышка лихорадки Эбола в Африке в 2014–2016 гг., в результате которой умерли более 11 тыс. человек, включая завозные случаи заболевания в США и Испании, а также вспышка 2018–2020 гг.¹ ЗВВЭ в восточных районах Демократической Республики Конго подтвердили необходимость разработки средств профилактики и лечения этого заболевания² [1, 2].

В настоящее время активно ведутся исследования по созданию иммунобиологических препаратов для иммунизации людей против ЗВВЭ³ [3]. Реальная опасность завозных случаев ЗВВЭ, а также проведение исследований с вирусом Эбола в научных учреждениях Российской Федерации обуславливают необходимость наличия препаратов для лечения и экстренной профилактики указанного заболевания. Препаратов для эффективного специфического этиотропного лечения ЗВВЭ на сегодняшний день практически не существует [4].

В России имеется несколько специфических средств борьбы с лихорадкой Эбола [5]. Наряду с вакцинами отечественные ученые придавали и придают большое значение разработке средств экстренной профилактики на основе специфических антител, в частности в Государственном реестре лекарственных средств в 1996 г. был зарегистрирован

специфический иммуноглобулин из сыворотки крови лошадей, разработанный в ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России [6].

Опыт работы специалистов ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России свидетельствует о том, что залогом успеха приготовления эффективного лошадиного иммуноглобулина является иммунизация животных вирулентным штаммом живого вируса, поскольку наибольшими протективными свойствами будет обладать препарат, содержащий антитела к полному набору полноценных антигенов вируса, вызвавшего заболевание [7, 8]. Получение суспензии возбудителя особо опасной вирусной инфекции и иммунизацию крупных животных производят в условиях, сопряженных с риском для жизни работающих сотрудников. Для получения сыворотки крови лошадей, содержащей вируснейтрализующие антитела (ВНА) к вирусу Эбола на достаточном для приготовления иммуноглобулина уровне, требуется не менее 3–4 месяцев. Кроме того, уровень ВНА зависит от индивидуального иммунного статуса лошади. В целом время приготовления препарата спиртовым фракционированием гамма-глобулинов по Кону с последующей паспортизацией составляет около 12 месяцев⁴. Вместе с тем появление случаев ЗВВЭ предсказать заранее не представляется возможным, поэтому и потребность в иммуноглобулине может возникнуть внезапно. В связи с этим ограничение срока годности иммуноглобулина 3 годами хранения, по нашему мнению, является нерациональным. В 1950–1970 гг., в период интенсивных разработок по созданию сывороточных противовирусных препаратов, в литературе нашли отражение резуль-

¹ <https://www.aerztezeitung.de/Medizin/Kein-Ende-des-Ebola-Ausbruchs-in-der-Demokratischen-Republik-Kongo-in-Sicht-405096.html>

² Ebola virus disease. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ebola-virus-disease>

³ Ebola vaccine candidates. <https://www.who.int/blueprint/priority-diseases/key-action/ebola-vaccine-candidates/en/>

Preliminary results on the efficacy of rVSV-ZEBOV-GP Ebola vaccine using the ring vaccination strategy in the control of an Ebola outbreak in the Democratic Republic of the Congo: an example of integration of research into epidemic response. <https://www.who.int/csr/resources/publications/ebola/ebola-ring-vaccination-results-12-april-2019.pdf?ua=1>

Вакцины против геморрагической лихорадки Эбола. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2015;14(1):55.

⁴ Экспериментально-производственный регламент № 1134-01. Иммуноглобулин против лихорадки Эбола из сыворотки крови лошадей жидкий (Иммуноглобулин лошадиный Эбола), утв. 15.06.2001 начальником ВЦ НИИМ Минобороны России, срок действия до 28.08.2004. Сергиев Посад; 2001.

таты исследований по стабильности их свойств⁵ [9]. Как правило, для сывороток и иммуноглобулинов были установлены короткие сроки годности, не превышающие 2–3 лет⁶. Так, для лошадиных сывороток против клещевого и японского энцефалитов срок годности составлял 2 года, жидкой противогриппозной сыворотки — от 2 до 3 лет, противокоревой сыворотки реконвалесцентов или взрослых — 1–1,5 года⁷.

Результаты изучения стабильности противовирусных антигенов в препаратах, хранившихся при 4 °С, по данным различных авторов, отличаются. Согласно результатам отечественных исследований [10–12], было установлено значительное снижение противовирусной активности в сыворотках или гамма-глобулинах, например против клещевого энцефалита и против гриппа уже через 2–16 месяцев⁸. Результаты исследователей, изучавших свойства иммуноглобулинов, хранившихся в течение 1–7 лет при аналогичных условиях⁹, свидетельствовали о том, что уровень содержания противокоревых, противополиомиелитных и противогриппозных антител оставался без изменений.

Ранее производители иммуноглобулинов рекомендовали по истечению срока годности сыворотки, сохранившие физические свойства, направлять на переконтроль в институт-изготовитель для продления срока годности при условии соответствия препарата требованиям нормативной документации¹⁰.

Разработанные в ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России гетерологичные иммуноглобулины (иммуноглобулин лошадиный против лихорадки Марбург, иммуноглобулин против веноульсезского энцефаломиелиита лошадей, противооспенный иммуноглобулин) могли использоваться после истечения срока годности при условии прохождения соответствующего

переконтроля¹¹. При сохранении индекса нейтрализации иммуноглобулина лошадиного против лихорадки Марбург на уровне не ниже 100 срок годности (2 года) продлевали еще на 1 год со дня переконтроля¹². Для иммуноглобулина против веноульсезского энцефаломиелиита лошадей срок годности был установлен 3 года, а при сохранении индекса нейтрализации не ниже 10 000 срок годности препарата продлевали еще на 2 года¹³. Окончательный срок хранения для указанных препаратов не регламентировали. Для противооспенного иммуноглобулина срок годности составлял 8 лет с возможностью продления на 2 года при сохранении специфического титра ВНА не ниже 1:625¹⁴. В настоящее время в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV изд. (ГФ РФ XIV изд.) для лекарственных средств возможно установление срока годности не более 5 лет¹⁵.

Цель работы — оценить свойства иммуноглобулина против лихорадки Эбола из сыворотки крови лошадей после длительного хранения при температуре от 2 до 8 °С.

Материалы и методы

Материалы. Иммуноглобулин против лихорадки Эбола, из сыворотки крови лошадей, жидкий (иммуноглобулин Эбола), приготовленный в ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России и хранившийся при температуре от 2 до 8 °С (табл. 1). Все серии иммуноглобулина Эбола приготовлены по экспериментально-производственному регламенту¹⁶ методом спиртового осаждения на холоду из сыворотки крови лошадей, которых иммунизировали вирусом Эбола, штамм Заир.

⁵ Готовые лекарственные препараты. М.: Медицина; 1965.

Соколов МИ, Павлов ИВ. Справочник по применению вакцин и сывороток. М.: Медгиз; 1961.

Сморodinцев АА. Итоги и задачи специфической профилактики и лечения гриппа. Вестник АМН СССР. 1958;3:20–30.

⁶ Соколов МИ, Павлов ИВ. Справочник по применению вакцин и сывороток. М.: Медгиз; 1961.

Руководство по вакцинному и сывороточному делу. М.: Медицина; 1978.

Кравченко АТ, Салтыков РА, Резепов ФФ. Практическое руководство по применению биопрепаратов. М.: Медицина; 1968.

⁷ Готовые лекарственные препараты. М.: Медицина; 1965.

Соколов МИ, Павлов ИВ. Справочник по применению вакцин и сывороток. М.: Медгиз; 1961.

Сморodinцев АА. Итоги и задачи специфической профилактики и лечения гриппа. Вестник АМН СССР. 1958;3:20–30.

⁸ Ефимова НП. Разработка и экспериментальное обоснование производства препаратов против анаэробных инфекций: дис. ... д-ра мед. наук. Пермь; 1970.

⁹ Бойчук ЛМ, Шикина ЕС, Писарева НА. Вирусные инфекции. В кн.: Труды, посвященные 60-летию чл.-корр. АМН А.А. Смородинцева. Л.; 1961. Т. 21. С. 64–78.

Федорович МИ. Методика изготовления и хранения диагностических сывороток: дис. ... канд. мед. наук. Томск; 1950.

Шадрин АС. Профилактика гриппа донорской сывороткой и плацентарным гамма-глобулином: дис. ... канд. мед. наук. Горький; 1960.

¹⁰ Руководство по вакцинному и сывороточному делу. М.: Медицина; 1978.

¹¹ Инструкция по изготовлению и контролю (Immunoglobulinum contra encephalomyelitidem equinum venesuelensem ex sero equi, fluidus) иммуноглобулина против веноульсезского энцефаломиелиита лошадей из сыворотки лошадей, жидкого, утв. 07.05.1992 начальником ВЦ НИИМ Минобороны России, срок действия до 28.08.2004. Сергиев Посад; 1992.

Лабораторный регламент получения противооспенного гамма-глобулина спиртовым методом, утв. 09.07.1966 председателем комитета вакцин и сывороток. Сергиев Посад; 1966.

Временная фармакопейная статья на иммуноглобулин против болезни Марбург из сыворотки лошадей, жидкий, утв. зам. министра здравоохранения СССР 16.07.1987.

Инструкция по изготовлению и контролю (Immunoglobulinum contra morbus Marburg ex sero equi, fluidum) иммуноглобулина против болезни Марбург из сыворотки лошадей, жидкого, утв. начальником 41 НИИИ и ВП СССР 27.02.1986.

¹² Временная фармакопейная статья на иммуноглобулин против болезни Марбург из сыворотки лошадей, жидкий, утв. зам. министра здравоохранения СССР 16.07.1987.

Инструкция по изготовлению и контролю (Immunoglobulinum contra morbus Marburg ex sero equi, fluidum) иммуноглобулина против болезни Марбург из сыворотки лошадей, жидкого, утв. начальником 41 НИИИ и ВП СССР 27.02.1986.

¹³ Инструкция по изготовлению и контролю (Immunoglobulinum contra encephalomyelitidem equinum venesuelensem ex sero equi, fluidus) иммуноглобулина против веноульсезского энцефаломиелиита лошадей из сыворотки лошадей, жидкого, утв. 07.05.1992 начальником ВЦ НИИМ Минобороны России, срок действия до 28.08.2004. Сергиев Посад; 1992.

¹⁴ Общая фармакопейная статья 1.1.0009.18 Стабильность и сроки годности лекарственных средств. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1; 2018.

¹⁵ Там же.

¹⁶ Экспериментально-производственный регламент № 1134-01. Иммуноглобулин против лихорадки Эбола из сыворотки крови лошадей жидкий (Иммуноглобулин лошадиный Эбола), утв. 15.06.2001 начальником ВЦ НИИМ Минобороны России, срок действия до 28.08.2004. Сергиев Посад; 2001.

Стандартный образец — нормальный лошадиный иммуноглобулин изотипа IgG, лиофилизат 50 мг/амп (Rockland, США), кат. № 008-0102, использовали для оценки молекулярно-массового распределения целевого белка в препаратах иммуноглобулина.

Методы. Показатели качества изучаемых серий иммуноглобулина Эбола оценивали согласно спецификации на препарат.

1. Аномальную токсичность иммуноглобулина серий № 26, 29 и 41 исследовали по методике, представленной в ГФ РФ XIV изд.¹⁷ Иммуноглобулин каждой испытуемой серии вводили 5 белым нелинейным мышам однократно по 1 мл внутривенно и по 3 мл подкожно в оба бока морским свинкам.

2. Специфическую активность препарата (серии № 26, 29 и 41) определяли в реакции нейтрализации с вирусом Эбола в культуре клеток почки африканской зеленой марышки (GMK-АН-1(Д)) методом подавления образования негативных колоний (бляшкообразования). Для постановки реакции нейтрализации использовали трехсуточный монослой указанной культуры на уровне 40–42 пассажа с посевной концентрацией клеток от 200×10^3 до 250×10^3 в 1 мл в культуральных флаконах объемом 25 мл.

3. Испытания на стерильность иммуноглобулина Эбола серий № 26, 29 и 41 проводили в соответствии с ОФС Стерильность¹⁸ методом прямого посева с использованием тигмолевой среды для выявления аэробных и анаэробных бактерий и грибов. Посевы проб инкубировали при двух температурных режимах ($32,5 \pm 2,5$) и ($22,5 \pm 2,5$) °C в течение 14 сут.

4. Пирогенность иммуноглобулина Эбола серий № 26, 29 и 41 оценивали биологическим методом в соответствии с ОФС Пирогенность¹⁹ на кроликах массой 2,0–3,5 кг.

5. Величину pH иммуноглобулина Эбола серий № 26, 29 и 41 определяли потенциометрически в соответствии с ОФС Ионометрия²⁰.

6. Прозрачность и цветность иммуноглобулина Эбола серий № 26, 29 и 41 определяли в соответствии с ФСП 42-0102-0242-00²¹, электрофоретическую однородность — с ОФС 1.8.2.0009.15²².

7. Содержание белка определяли колориметрическим методом с реактивом Бредфорда (Thermo Scientific) в соответствии с ОФС Определение белка²³.

8. Оценку молекулярно-массового распределения целевого белка в препаратах иммуноглобулина Эбола проводили, используя методику эксклюзионной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), описанную в работе Е. Ю. Мишаловой с соавт. [13].

Основные показатели качества препаратов с разными сроками хранения сравнивали с паспортными характеристиками, определенными на момент изготовления, молекулярные пара-

Таблица 1. Серии иммуноглобулина Эбола, используемые в исследовании

Table 1. Anti-Ebola immunoglobulin batches used in the study

| № п/п No. | Серия Batch | Год приготовления Production year | Продолжительность хранения, год Storage time, years |
|-----------|-------------|-----------------------------------|---|
| 1 | 26 | 1996 | 22 |
| 2 | 27 | | |
| 3 | 28 | | |
| 4 | 29 | | |
| 5 | 41 | 2001 | 17 |
| 6 | 1/09 | 2016 | 2 |
| 7 | 1/16 | | |

метры оценивали в сравнении с показателями препарата серии 1/16 с неистекшим сроком годности.

Животных содержали в стандартных условиях вивария в соответствии с Санитарно-эпидемиологическими требованиями к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)²⁴.

Результаты и обсуждение

На первом этапе изучили свойства трех серий иммуноглобулина Эбола из сыворотки крови лошадей, две из которых (№ 26, 29) были приготовлены в 1996 г. и одна серия (№ 41) — в 2001 г., на предмет соответствия требованиям нормативной документации (ФСП 42-0102-0242-00 и ФС 42-0030-00²⁵). Результаты исследований представлены в таблице 2.

На момент приготовления иммуноглобулин Эбола, серии № 26, 29 и 41, по своим характеристикам соответствовал требованиям нормативной документации. Специфическая активность этих серий по уровню ВНА к вирусу Эбола после длительного хранения снизилась в 4 раза. При этом в препаратах серий № 26 и 41 значения специфической активности оказались ниже значений, указанных в нормативной документации. Результаты исследования аномальной токсичности препарата на белых нелинейных мышках и морских свинок свидетельствовали о появлении токсичности для мышей (погибло 1 из 10 животных) в одной из серий (№ 41) иммуноглобулина Эбола. Анафилактиченность препарата соответствовала требованиям нормативной документации. По всем другим изученным показателям значения также соответствовали требованиям нормативной документации на препарат.

На следующем этапе исследований методом ВЭЖХ были изучены молекулярные параметры иммуноглобулина Эбола серий № 26–29, 41, 1/09, 1/16 с разными сроками хранения (табл. 3). Показано, что в процессе длительного хранения

¹⁷ Общая фармакопейная статья 1.2.4.0004.15 Аномальная токсичность. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1; 2018.

¹⁸ Общая фармакопейная статья 1.2.4.0003.15 Стерильность. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1; 2018.

¹⁹ Общая фармакопейная статья 1.2.4.0005.15 Пирогенность. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1; 2018.

²⁰ Общая фармакопейная статья 1.2.1.0004.15 Ионометрия. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1; 2018.

²¹ Фармакопейная статья предприятия Иммуноглобулин против лихорадки Эбола из сыворотки крови лошадей жидкий / Иммуноглобулин лошадиный Эбола / ФС 42-0030-00, утв. рук. Департамента гос. контроля качества, эффективности, безопасности лекарственных средств и медицинской техники Минздрава России 26.07.2000.

²² Общая фармакопейная статья 1.8.2.0009.15 Определение однородности лекарственных препаратов из сыворотки крови человека и животных методом электрофореза на пленках из ацетата целлюлозы. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2; 2018.

²³ Общая фармакопейная статья 1.2.3.0012.15 Определение белка. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1; 2018.

²⁴ СП 2.2.1.3218-14 Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев).

²⁵ Фармакопейная статья предприятия Иммуноглобулин против лихорадки Эбола из сыворотки крови лошадей жидкий / Иммуноглобулин лошадиный Эбола / ФС 42-0030-00, утв. рук. Департамента гос. контроля качества, эффективности, безопасности лекарственных средств и медицинской техники Минздрава России 26.07.2000.

Таблица 2. Результаты изучения качества иммуноглобулина Эбола серий № 26, 29, 41
Table 2. The results of quality control of anti-Ebola immunoglobulin (batches No. 26, 29, 41)

| Показатель качества Test parameter | Значение показателя качества Results of quality control | | | | | Требование ФС 42-0030-00, ФСП 42-0102-0242-00 Requirements of the monograph FS 42-0030-00, and the manufacturer's product specification FSP 42-0102-0242-00 | | | |
|---|--|--|--|--|--|--|---|--|--|
| | на момент приготовления для серии № ... immediately after production of batch No. ... | 26 | 29 | 41 | после хранения для серии № ... after storage of batch No. ... | | | | |
| Внешний вид Appearance | Прозрачная светло-желтого цвета жидкость с легко разбивающимся осадком Transparent light yellow liquid with easily breakable sediment | Прозрачная светло-желтого цвета жидкость с легко разбивающимся осадком Transparent light yellow liquid with easily breakable sediment | Прозрачная светло-желтого цвета жидкость с легко разбивающимся осадком Transparent light yellow liquid with easily breakable sediment | Бесцветная прозрачная жидкость с легко разбивающимся осадком Colourless transparent liquid with easily breakable sediment | 26 | 29 | 41 | Бесцветная прозрачная жидкость с легко разбивающимся осадком Colourless transparent liquid with easily breakable sediment | Прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость, бесцветная или с желтоватым оттенком. Допускается наличие незначительного осадка, легко разбивающегося при встряхивании Transparent or slightly opalescent liquid—colourless or yellowish. It may contain some sediment which is easily breakable upon shaking |
| Подлинность: Identification: - наличие гамма-глобулиновой фракции, % - presence of gamma globulin fraction, % - титр специфических антител к вирусу Эбола - titre of specific antibodies against Ebola virus | 93,0 1 : 8192 | 97,0 1 : 16384 | 98,0 1 : 8192 | 91,0 1 : 2048 | 96,0 1 : 4096 | 95,5 1 : 2048 | 95,5 1 : 2048 | Препарат должен представлять собой гамма-глобулиновую фракцию сыворотки крови лошади The product is a gamma globulin fraction of horse blood serum Должен быть не менее 1 : 4096 Not less than 1 : 4096 | |
| Прозрачность Clarity | 0,03 | 0,03 | 0,02 | 0,03 | 0,04 | 0,03 | 0,03 | При определении на фотоэлектроколориметре при длине волны 540 нм оптическая плотность препарата не должна превышать 0,05 Optical density of the product determined by a photoelectric colorimeter at 540 nm should not exceed 0.05 | |
| Цветность Colority | 0,06 | 0,09 | 0,07 | 0,05 | 0,10 | 0,08 | 0,08 | При определении на фотоэлектроколориметре при длине волны 400 нм оптическая плотность препарата должна быть не более 0,15 Optical density of the product determined by a photoelectric colorimeter at 400 nm should not exceed 0.15 | |
| Отсутствие механических включений Absence of particulate matter | Механические включения отсутствуют No particulate matter | Механические включения отсутствуют No particulate matter | Механические включения отсутствуют No particulate matter | Механические включения отсутствуют No particulate matter | Механические включения отсутствуют No particulate matter | Механические включения отсутствуют No particulate matter | Механические включения отсутствуют No particulate matter | Препарат не должен содержать механических включений The does not contain particulate matter | |
| pH | 7,20 | 7,10 | 7,20 | 7,15 | 7,00 | 7,10 | 7,10 | От 7,00 до 7,50 Between 7.00 and 7.50 | |

Свойства гетерологичного иммуноглобулина против лихорадки Эбола после длительного хранения
Properties of Heterologous anti-Ebola Immunoglobulin after Long Storage

Продолжение таблицы 2

| Показатель качества Test parameter | Значение показателя качества Results of quality control | | | | | Требование ФС 42-0030-00, ФС 42-0102-0242-00 Requirements of the monograph FS 42-0030-00, and the manufacturer's product specification FSP 42-0102-0242-00 |
|---|--|--|--|--|---|---|
| | на момент приготовления для серии № ... immediately after production of batch No. ... | 41 | 26 | 29 | после хранения для серии № ... after storage of batch No. ... | |
| Герметизация Integrity | Ампулы герметичны Ampoules are tightly sealed | Ампулы герметичны Ampoules are tightly sealed | Ампулы герметичны Ampoules are tightly sealed | Ампулы герметичны Ampoules are tightly sealed | Ампулы герметичны Ampoules are tightly sealed | Ампулы должны быть герметично запаяны в атмосфере стерильного воздуха Ampoules are tightly sealed under sterile air conditions |
| Белок Protein | 10,6 | 10,4 | 11,0 | 10,6 | 11,0 | 10,0 ± 1,0% |
| Электрофоретическая однородность Electrophoretic homogeneity | 93,0 | 97,0 | 98,0 | 91,0 | 96,0 | Содержание гамма-глобулиновой фракции должно быть не менее 90,0% от общего количества белка. Допустимо наличие в препарате альбумина, альфа- и бета-глобулинов сыворотки крови в количестве не более 10,0% The gamma globulin fraction is at least 90.0% of the total protein content. The product may contain albumin, blood serum alpha- and beta-globulins in the amount of not more than 10.0% |
| Примеси, %: Impurities, %: - этиловый спирт - ethyl alcohol - натрия хлорид - sodium chloride | 3,87 0,66 | 4,00 0,98 | 3,94 0,80 | Н.о. ND Н.о. ND | Н.о. ND Н.о. ND | Не более 4,0 Not more than 4,0 0,90 ± 0,05 |
| Стерильность Sterility | Стерилен Sterile | Стерилен Sterile | Стерилен Sterile | Стерилен Sterile | Стерилен Sterile | Препарат должен быть стерильным The product is sterile |
| Пирогенность Pyrogenicity | Апирогенен Pyrogen-free | Апирогенен Pyrogen-free | Апирогенен Pyrogen-free | Апирогенен Pyrogen-free | Апирогенен Pyrogen-free | Препарат должен быть апирогенным The product is pyrogen-free |
| Токсичность Toxicity | Не токсичен для мышей Non-toxic for mice | Не токсичен для мышей Non-toxic for mice | Не токсичен для мышей Non-toxic for mice | Не токсичен для мышей и морских свинок Non-toxic for mice and guinea pigs | Токсичен для мышей и морских свинок Toxic for mice and guinea pigs | Должен быть не токсичен для мышей и морских свинок The product is non-toxic for mice and guinea pigs |
| Специфическая активность (титр вируснейтрализирующих антител) Specific activity (titre of virus-neutralising antibodies) | 1 : 8192 | 1 : 16384 | 1 : 8192 | 1 : 2048 | 1 : 2048 | Должен быть не ниже 1 : 4096 Not less than 1 : 4096 |

Примечание. Серии иммуноглобулина Эбола № 26 и 29 хранились в течение 22 лет, серия № 41 — 17 лет. Все изучаемые серии препарата хранились при температуре от 2 до 8 °С. Представлены значения единичных определений. «Н.о.» — не определяли.
Note. Anti-Ebola immunoglobulin batches No. 26 and 29 were stored for 22 years, batch No. 41 was stored for 17 years. All the tested batches were stored at 2–8 °C. All data are from single determinations. ND—not determined.

Таблица 3. Результаты изучения молекулярных параметров иммуноглобулина Эбола
Table 3. The results of determination of molecular parameters of anti-Ebola immunoglobulin

| Параметр Test parameter | Значение параметра для серии иммуноглобулина № ... (срок хранения) Result for immunoglobulin batch No. ... (shelf life) | | | | | | | |
|---|--|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | Стандарт* Reference standard* | 26 (22 года) (22 years) | 27 (22 года) (22 years) | 28 (22 года) (22 years) | 29 (22 года) (22 years) | 41 (17 лет) (17 years) | 109 (17 лет) (17 years) | 1/16 (2 года) (2 years) |
| Время удерживания пика, мин: Peak retention time, min: | | | | | | | | |
| - полимеров - polymers | 10,044 | 9,943 | 9,929 | 10,011 | 10,019 | 10,049 | 10,122 | 10,087 |
| - димеров - dimers | 12,123 | 12,411 | 12,664 | 12,471 | 12,477 | 12,548 | 12,511 | Не выявлены Not identified |
| - мономеров - monomers | 14,583 | 14,974 | 14,979 | 14,910 | 14,982 | 15,032 | 15,191 | 15,07 |
| - фрагментов - fragments | Не выявлены Not identified | Не выявлены Not identified | 18,395 | Не выявлены Not identified | 18,309 | Не выявлены Not identified | Не выявлены Not identified | Не выявлены Not identified |
| Содержание компонента иммуноглобулина в растворе, %: The content of immunoglobulin component in the solution, %: | | | | | | | | |
| - полимеров - polymers | 3,399 | 7,290 | 9,216 | 12,798 | 6,256 | 3,919 | 3,050 | 1,559 |
| - димеров - dimers | 7,125 | 8,174 | 4,148 | 8,834 | 6,517 | 6,509 | 6,875 | Не выявлены Not identified |
| - мономеров - monomers | 89,476 | 84,536 | 73,743 | 78,368 | 76,674 | 89,572 | 90,075 | 98,441 |
| - фрагментов - fragments | Не выявлены Not identified | Не выявлены Not identified | 12,892 | Не выявлены Not identified | 10,553 | Не выявлены Not identified | Не выявлены Not identified | Не выявлены Not identified |

Примечание. Представлены значения единичных определений.

* Нормальный лошадиный иммуноглобулин.

Note. All data are from single determinations.

* Normal immunoglobulin from horse.

иммуноглобулина Эбола в составе исследованных серий препарата снизилась доля мономеров, возросли доли димеров и полимеров. Кроме того, в составе серий № 27 и 29 препарата, хранившихся в течение 22 лет, появились фрагменты молекул иммуноглобулина. Агрегация и фрагментация белковых молекул являются основными процессами, ухудшающими качество иммуноглобулинов при хранении, причем эти процессы в значительной степени обусловлены исходными свойствами препарата, в частности присутствием в нем лабильных липопротеидов, прооксидантов и остаточных количеств этилового спирта [14, 15]. Представленные в таблице 3 результаты по изменению молекулярных параметров хранившихся длительное время серий иммуноглобулина, с одной стороны, подтверждают наличие этих процессов [14], а с другой — свидетельствуют о достаточно высокой степени очистки и хорошем качестве изучаемого препарата, поскольку в аналогичном жидком гетерологичном антирабическом иммуноглобулине соотношение мономеров, агрегатов и фрагментов изменялось в значительной степени уже через 5 лет хранения при температуре от 2 до 8 °С [16]. Вероятно, изменение доли мономеров и конформационной структуры белка иммуноглобулина Эбола привело к снижению его исходной специфической активности, а в одном случае — к появлению токсических свойств (табл. 2). Примечательно, что одна из серий иммуноглобулина против лихорадки Эбола, приготовленного методом спиртового осаждения, после хранения в течение 17–22 лет при температуре от 2 до 8 °С полностью соответствовала требованиям нормативной документации (определение молекулярных параметров ранее не было предусмотрено, поскольку, согласно ГФ РФ XIV изд., данный показатель до сих пор не является обязательным для гетерологичных иммуноглобулинов), что ни в коем случае не является основанием для применения такого препарата по медицинским показаниям, за исключением экстраординарных ситуаций.

Результаты эксперимента подтверждают целесообразность включения оценки молекулярных параметров в будущем в перечень обязательно контролируемых для всех иммуноглобулинов, поскольку значения молекулярных параметров взаимосвязаны с биологическими свойствами препарата.

Одним из путей повышения стабильности иммунобиологических лекарственных препаратов, помимо увеличения степени их очистки, является также использование сублимационного высушивания²⁶, что следует иметь в виду при совершенствовании процессов производства специфических лошадиных иммуноглобулинов и в первую очередь гетерологичных иммуноглобулинов против особо опасных геморрагических лихорадок.

Выводы

Результаты изучения иммуноглобулина Эбола серий № 26, 29 и 41, хранившихся в течение 17–22 лет при температуре от 2 до 8 °С, свидетельствуют о снижении уровня специфической активности (титр ВНА) практически в 4 раза и о вероятности появления токсичности препарата. Титр ВНА иммуноглобулина серий № 26 и 41 (1:2048) был ниже допустимого (1:4096), а в препарате серии № 41 выявлена токсичность для белых нелинейных мышей и морских свинок. Иммуноглобулин серии № 29 после длительного хранения по всем характеристикам соответствовал требованиям нормативной документации. Применение эксклюзивной ВЭЖХ позволило определить направленность изменений молекулярных параметров. В процессе

хранения в составе иммуноглобулина Эбола снижалась доля мономеров, возрастали доли димеров и полимеров, а также появлялись фрагменты молекул иммуноглобулина.

Показана взаимосвязь уменьшения доли мономерной фракции и появления димеров в процессе хранения иммуноглобулина со снижением его исходной специфической активности.

Целесообразно продолжение исследований по изучению качества препарата, хранившегося менее продолжительные сроки, с целью оценки стабильности его свойств.

Вклад авторов. **С. А. Мельников** — иммунизация лошадей и приготовление серий иммуноглобулина в 2001 и 2016 гг., написание, доработка текста; **И. В. Борисевич** — иммунизация лошадей, разработка препарата иммуноглобулина, приготовление серий и оценка свойств в 1996 г.; **Е. В. Рождественский** — иммунизация лошадей и приготовление серий иммуноглобулина в 2016 г.; **В. Б. Пантюхов** — приготовление и паспортизация культуры вируса Эбола для иммунизации лошадей, иммунизация в 2001 г.; **Н. К. Черникова** — оценка биологических свойств серий иммуноглобулина в 1996 и 2016 гг., консультативная помощь в написании текста, доработка текста; **Е. В. Гордеев** — разработка метода ВЭЖХ для гетерологичных иммуноглобулинов и оценка их молекулярных параметров; **С. А. Нимирская** — выделение и очистка иммуноглобулина в 2016 г., определение физико-химических характеристик, стерильности и пирогенности хранившихся серий иммуноглобулина; **А. Л. Хмелев** — иммунизация лошадей в 2001 г., проведение анализа методом ВЭЖХ; **С. И. Сыромятникова** — определение специфической безопасности сыворотки и специфической активности серий иммуноглобулина в 2016 г.; **И. В. Шатохина** — определение специфической безопасности сыворотки и специфической активности серий иммуноглобулина в 2001 и 2016 гг.; **Т. М. Плеханова** — определение электрофоретической однородности серий иммуноглобулина; **Г. Д. Тиманькова** — выделение и очистка иммуноглобулина в 1996 г. и оценка его физико-химических свойств; **С. В. Борисевич** — разработка дизайна исследования, консультативная помощь в анализе результатов и оценке состояния проблемы, окончательное утверждение версии рукописи для публикации; **Д. А. Кутаев** — участие в разработке дизайна исследования и обсуждении полученных результатов; **Л. Ф. Стовба** — анализ литературы и участие в корректировке статьи; **Е. Ю. Мишалова** — проведение анализа ВЭЖХ серий иммуноглобулина.

Authors' contributions. **Sergey A. Melnikov**—immunisation of horses and preparation of immunoglobulin batches in 2001 and 2016, writing and revising the text; **Igor V. Borisevich**—immunisation of horses, development of the immunoglobulin product, preparation of batches and assessment of their properties in 1996; **Evgeniy V. Rozhdestvensky**—immunisation of horses and preparation of immunoglobulin batches in 2016; **Vladimir B. Pantyukhov**—preparation and certification of Ebola virus culture for immunisation of horses, performing immunisation in 2001; **Natalya K. Chernikova**—evaluation of biological properties of immunoglobulin batches in 1996 and 2016, consultation on writing the text, revising the text; **Evgeniy V. Gordeev**—development of the HPLC method for heterologous immunoglobulins and assessment of their molecular parameters; **Svetlana A. Nimirskaya**—isolation and purification of immunoglobulins in 2016, determination of physicochemical properties, sterility, and pyrogenicity of the stored immunoglobulin batches; **Aleksey L. Khmelev**—immunisation of horses in 2001, performing HPLC testing; **Svetlana I. Syromyatnikova**—determination of specific safety of the serum and specific activity of immunoglobulin batches in 2016; **Irina V. Shatokhina**—determination

²⁶ Кочкалова НН. Разработка технологии лиофильного высушивания гетерологичного антирабического иммуноглобулина: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Саратов; 2015.

of specific safety of the serum and specific activity of immunoglobulin batches in 2001 and 2016; **Tamara M. Plekhanova**—determination of electrophoretic homogeneity of immunoglobulin batches; **Galina D. Timankova**—isolation and purification of immunoglobulin in 1996 and determination of its physicochemical properties; **Sergey V. Borisevich**—development of the research design, consultation on and assistance in the analysis of the obtained results and the current state of the problem, final approval of the text for publication; **Dmitry A. Kutaev**—participation in the development of the research design and discussion of the obtained results; **Lyudmila F. Stovba**—literature review and participation in the finalisation of the text; **Ekaterina Yu. Mishalova**—performing HPLC testing of immunoglobulin batches.

Благодарности. Исследование проводилось без спонсорской поддержки.

Acknowledgements. This study was carried out with no external funding.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Литература/References

- Щелканов МЮ, Зуманиги Н, Буаро МЙ, Малеев ВВ. Пять мифов о лихорадке Эбола: где кончается вымысел? В кн.: Попова АЮ, ред. *Актуальные инфекции в Гвинейской Республике: эпидемиология, диагностика и иммунитет*. СПб.: Изд-во ФБУН НИИЭМ им. Пастера; 2017. С. 74–85. [Shchelkanov MYu, Zoumanigui N, Boiro MYe, Maleev VV. Five myths about Ebola: Where does fiction end? In: Popova AYU, ed. *Actual infections in the Republic of Guinea: Epidemiology, diagnosis and immunity*. St. Petersburg: Saint-Petersburg Pasteur Institute Press; 2017. P. 74–85 (In Russ.)]
- Щелканов МЮ, Магассуба НФ, Дедков ВГ, Шипулин ГА, Галкина ИВ, Попова АЮ, Малеев ВВ. Природный резервуар филловирюсов и типы связанных с ними эпидемиологических вспышек на территории Африки. В кн.: Попова АЮ, ред. *Актуальные инфекции в Гвинейской Республике: эпидемиология, диагностика и иммунитет*. СПб.: Изд-во ФБУН НИИЭМ им. Пастера; 2017. С. 46–55. [Shchelkanov MYu, Magassouba N, Dedkov VG, Shipulin GA, Galkina IV, Popova AYU, Maleev VV. Natural reservoir of filoviruses and types of associated epidemic outbreaks in Africa. In: Popova AYU, ed. *Actual infections in the Republic of Guinea: Epidemiology, diagnosis and immunity*. St. Petersburg: Saint-Petersburg Pasteur Institute Press; 2017. P. 46–55 (In Russ.)]
- Suschak JJ, Schmaljohn CS. Vaccines against Ebola virus and Marburg virus: recent advances and promising candidates. *Hum Vaccin Immunother*. 2019;15(10):2359–77. <https://doi.org/10.1080/21645515.2019.1651140>
- Никифоров ВВ, Шахмарданов МЗ. Клинико-эпидемиологическая характеристика лихорадки Эбола на современном этапе. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2016;21(1):51–7. [Nikiforov VV, Shakhmardanov MZ. Clinical and epidemiological characteristics of Ebola at the present stage. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni = Epidemiology and Infectious Diseases, Russian Journal*. 2016;21(1):51–7 (In Russ.)]
- Попова АЮ, Кутырев ВВ, ред. *Ликвидация эпидемии Эбола в Гвинейской Республике: опыт работы специализированной противэпидемической бригады Роспотребнадзора*. М.: ООО «Творческий информационно-издательский центр»; 2016. [Popova AYU, Kutuyrev VV, eds. *Containment of Ebola epidemic in the Republic of Guinea: operational experience of the specialized anti-epidemic team of the Rospotrebnadzor*. Moscow: ООО "Tvorcheskiy informacionno-izdatel'skiy tsent"; 2016 (In Russ.)]
- Борисевич ИВ, Краснянский ВП, Михайлов ВВ, Потрываева НВ, Градобоев ВН, Тиманькова ГД, Карелов ЮМ. Разработка и получение иммуноглобулина против лихорадки Эбола. *Межведомственная конференция «Изучение и профилактика особо опасных вирусных инфекций»* Коллецово, 7–8 апреля 1993 г. Новосибирск: изд-во НПО «Вектор»; 1993. [Borisevich IV, Krasnyansky VP, Mikhaylov VV, Potryvaeva NV, Gradoboev VN, Timankova GD, Karelov YuM. Development and production of anti-Ebola immunoglobulin. *Multi-agency conference "Study and prevention of highly hazardous viral infections"* Koltsovo, April 7–8, 1993. Novosibirsk: publishing house NPO "Vektor"; 1993 (In Russ.)]
- Борисевич ИВ, Потрываева НВ, Мельников СА, Евсеев АА, Краснянский ВП, Максимов ВА. Получение иммуноглобулина к вирусу Марбург на основе сыворотки крови лошадей. *Вопросы вирусологии*. 2008;53(1):39–41. [Borisevich IV, Potryvaeva NV, Melnikov SA, Yevseyev AA, Krasnyansky VP, Maksimov VA. Design of equine serum-based Marburg virus immunoglobulin. *Voprosy virusologii = Problems of virology*. 2008;53(1):39–41 (In Russ.)]
- Краснянский ВП, Градобоев ВН, Борисевич ИВ, Потрываева НВ, Лебединская ЕВ, Черникова НК, Тиманькова ГД. Разработка и изучение свойств иммуноглобулина против лихорадки Ласса. *Вопросы вирусологии*. 1997;42(4):168–71. [Krasnyansky VP, Gradoboev VN, Borisevich IV, Potryvaeva NV, Lebedinskaya EV, Chernikova NK, Timankova GD. Development and study of the properties of immunoglobulin against Lassa fever. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*. 1997;42(4):168–71 (In Russ.)]
- Васильева ОА, Турлянцева НГ, Матвеевко ММ. Влияние различных температур на стабильность титра гамма-глобулина против клещевого энцефалита. *Вопросы эпидемиологии, микробиологии и иммунологии*. 1964;15:280–2. [Vasilyeva OA, Turlyantseva NG, Matveenko MM. The influence of temperatures on immunoglobulin against tick-born encephalitis stability. *Voprosy epidemiologii, mikrobiologii i immunologii = Issues of Epidemiology, Microbiology and Immunology*. 1964;15:280–2 (In Russ.)]
- Тюшнякова МК. Хранение иммунных сывороток против клещевого энцефалита в сухом виде. *Вопросы вирусологии*. 1958;4:247–8. [Tyushnyakova MK. Storage of dry immune sera against tick-born encephalitis. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*. 1958;4:247–8 (In Russ.)]
- Алексеева ТН, Антонова ЛН, Захарьевская НС. Изучение содержания антител к вирусам гриппа, полиомиелита и к гемолитическому стрептококку в плацентарных сыворотках и гамма-глобулинах, выпускаемых горьковским институтом эпидемиологии и гигиены. В кн.: *Тезисы межинститутской научной конференции «Вопросы сывороточного производства»*. М.: Бюро научной информации; 1960. С. 61–2. [Alekseeva TN, Antonova LN, Zaharyevskaya NS. The study of the content of antibodies against influenza viruses, poliomyelitis and hemolytic streptococcus in placental sera and gamma globulins produced by Gorky Institute of Epidemiology and Hygiene. In: *Abstracts of the Inter-institutional Scientific Conference "Issues of sera production"*. Moscow: Vyuro nauchnoy informatsii; 1960. P. 61–2 (In Russ.)]
- Мельникова АИ, Ногичева МН, Шадрин АС. Изучение содержания противогриппозных антител на разных этапах изготовления противокоревой сыворотки и в процессе хранения. В кн.: *Тезисы межинститутской научной конференции «Вопросы сывороточного производства»*. М.: Бюро научной информации; 1960. [Melnikova AI, Nogicheva MN, Shadrin AS. The study of the content of anti-influenza antibodies at different stages of anti-measles serum production and storage. In: *Abstracts of the Inter-institutional Scientific Conference "Issues of sera production"*. Moscow: Vyuro nauchnoy informatsii; 1960 (In Russ.)]
- Мишалова ЕЮ, Гордеев ЕВ, Лебедев ВН, Мельников СА, Нимирская СА, Борисевич СВ. Апробация методики эксклюзионной хроматографии для оценки молекуляр-

- ных параметров иммуноглобулина против лихорадки Эбола из сыворотки крови лошадей. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2019;19(4):261–67. [Mishalova EYu, Gordeev EV, Lebedev VN, Melnikov SA, Nimirskaya SA, Borisevich SV. Experimental testing of a size-exclusion chromatography method used for evaluation of molecular parameters of equine anti-Ebola immunoglobulin. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2019;19(4):261–67] <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2019-19-4-261-267>
14. Благородов СГ, Шепелев АП, Воронин СС. Стабилизация физико-химических свойств препаратов иммуноглобулинов при хранении. В кн.: *Иммунобиологические препараты*. М.; 1989. С. 38–43. [Blagorodov SG, Shepelev AP, Voronin SS. Stabilisation of physico-chemical properties of immunoglobulin products during storage. In: *Immunobiologicheskie preparaty*. Moscow; 1989. P. 38–43 (In Russ.)]
15. Змачинская ТБ, Анастасиев ВВ. Оптимизация технологической схемы получения препаратов иммуноглобулинов для внутримышечного введения. *Вестник Нижегородского университета имени Н.И. Лобачевского. Серия: Биология*. 2001;(1):70–3. [Zmachinskaya TB, Anastasiev VV. Optimization of the technological scheme of production of immunoglobulin products for intramuscular injection. *Vestnik Nizhegorodskogo universiteta imeni N.I. Lobachevskogo. Seriya Biologiya = Vestnik of Lobachevsky University of Nizhni Novgorod. Series: Biology*. 2001;(1):70–3 (In Russ.)]
16. Абрамова ЕГ, Никифоров АК, Киреев МН, Кочкалова НН, Генералов СВ, Селезнева АГ и др. Определение молекулярных параметров препарата гетерологичного антирабического иммуноглобулина методом гель-фильтрации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2010;4(106):54–7. [Abramova EG, Nikiforov AK, Kireev MN, Kochkalova NN, Generalov SV, Selezneva AG, et al. Determination of the molecular parameters of heterologous anti-rabies immunoglobulin using gel-filtration. *Problemy osobo opasnykh infektsii = Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2010;4(106):54–7 (In Russ.)]

Об авторах / Authors

Мельников Сергей Алексеевич, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. *Sergey A. Melnikov*, Cand. Sci. (Biol.), Senior Research Associate

Борисевич Игорь Владимирович, д-р мед. наук, проф. *Igor V. Borisevich*, Dr. Sci. (Med.), Professor. **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-0713-7419>

Рождественский Евгений Всеволодович, канд. биол. наук. *Evgeniy V. Rozhdestvensky*, Cand. Sci. (Biol.)

Пантохов Владимир Борисович, канд. мед. наук. *Vladimir B. Pantukhov*, Cand. Sci. (Med.). **SPIN-код:** 8012-8156

Черникова Наталья Константиновна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. *Natalya K. Chernikova*, Cand. Sci. (Biol.), Senior Research Associate

Гордеев Евгений Васильевич. *Evgeniy V. Gordeev*

Нимирская Светлана Александровна, канд. мед. наук. *Svetlana A. Nimirskaya*, Cand. Sci. (Med.)

Хмелев Алексей Леонидович, канд. мед. наук. *Aleksey L. Khmelev*, Cand. Sci. (Med.)

Сыромятникова Светлана Ивановна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. *Svetlana I. Syromyatnikova*, Cand. Sci. (Biol.), Senior Research Associate

Шатохина Ирина Викторовна, канд. мед. наук. *Irina V. Shatokhina*, Cand. Sci. (Med.)

Плеханова Тамара Михайловна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. *Tamara M. Plekhanova*, Cand. Sci. (Biol.), Senior Research Associate

Тиманькова Галина Дмитриевна. *Galina D. Timankova*

Борисевич Сергей Владимирович, д-р биол. наук, проф., член-корр. РАН. *Sergey V. Borisevich*, Dr. Sci. (Biol.), Professor, Corr. Member of RAS. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-6742-3919>

Кутаев Дмитрий Анатольевич, канд. биол. наук. *Dmitry A. Kutaev*, Cand. Sci. (Biol.)

Стовба Людмила Федоровна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. *Lyudmila F. Stovba*, Cand. Sci. (Biol.), Senior Research Associate

Мишалова Екатерина Юрьевна. *Ekaterina Yu. Mishalova*

Поступила 25.12.2018

После доработки 10.02.2020

Принята к публикации 14.02.2020

Received 25 December 2018

Revised 10 February 2020

Accepted 14 February 2020