

DOI 10.18551/biotika.2022-01.05
УДК / UDC 619:615

**ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И ЛЕЧЕБНЫЕ СВОЙСТВА ГЛОБУЛИНА
ПРОТИВОСИБИРЕЯЗВЕННОГО ИЗ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЛОШАДЕЙ
В ПРОЦЕССЕ ХРАНЕНИЯ**
PHYSICOCHEMICAL AND MEDICINAL PROPERTIES OF ANTHRAX GLOBULIN
FROM HORSE BLOOD SERUM DURING STORAGE

Шморгун Б.И.

Shmorgun B.I.

ФГБУ ВГНКИ, Москва, Россия

Federal State Budgetary Institution «The Russian State Center for Animal Feed and Drug
Standardization and Quality», Moscow, Russia

Мятечкин Н.Н.

Myatechkin N.N.

ФКП Орловская биофабрика, Орловская область, Россия

Oryol Biofactory, Orel Region, Russia

Галиакбарова А.А.*

Galiakbarova A.A.

ФГБУ ВГНКИ, Москва, Россия

Federal State Budgetary Institution «The Russian State Center for Animal Feed and Drug
Standardization and Quality», Moscow, Russia

*E-mail: alsu.anvarovna.st@mail.ru

АННОТАЦИЯ

Эпизоотическое благополучие и результативность ветеринарных мероприятий во многом зависит от качества и эффективности иммунобиологических препаратов. Одним из таких препаратов является глобулин противосибиреязвенный. Эффективность лечения во многом зависит от правильно выбранного терапевтического препарата, что в свою очередь является вектором сохранения молодняка и продуктивности сельскохозяйственных животных. В данной работе приводятся данные по длительному исследованию эффективности 13-ти серий глобулина противосибиреязвенного повторно через 2,5-6,5 лет после их изготовления. Проверку данных образцов проводили по следующим показателям качества: стерильность, безвредность, активность и апиrogenность.

ABSTRACT

Epizootic well-being and the effectiveness of veterinary measures largely depend on the quality and effectiveness of immunobiological preparations. One of these drugs is anthrax globulin. The effectiveness of treatment largely depends on the correctly selected therapeutic drug, which in turn is a vector for the preservation of young animals and the productivity of farm animals. This paper presents data on a long-term study of the effectiveness of 13 series of anthrax globulin repeatedly 2.5-6.5 years after their manufacture. These samples were tested according to the following quality indicators: sterility, safety, activity and non-pyrogenicity.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

Сибирская язва, глобулин противосибиреязвенный, особо опасные инфекции, глобулин, средства для лечения сибирской язвы.

KEY WORDS

Anthrax, anti-anthrax globulin, especially dangerous infections, globulin, drugs for the treatment of anthrax.

Сибирская язва наносит огромный ущерб животноводству и представляет большую угрозу для человека. В России регистрируются спорадические случаи заболевания животных, а иногда и отдельные вспышки болезни [1-16].

Глобулин противосибиреязвенный эффективно применяется в ветеринарии и медицине при лечении и профилактике сибирской язвы у животных и людей. В России глобулин производится на ФКП Орловская биофабрика. Его получают методом осаждения этиловым спиртом гамма-бета-глобулиновых белковых фракций противосибиреязвенной сыворотки. Срок годности данного препарата составляет 2 года, и поэтому очень часто возникает вопрос о возможности его продления у медицинских и ветеринарных работников.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При исследовании использовали 13 серий (№24 (05.2015), №25 (08.2015), №26 (12.2015), №27 (08.2016), №28 (03.2017), №29 (09.2017), №30 (10.2017), №31 (04.2018), №32 (08.2018), №33 (09.2018), №34 (03.2019), №35 (05.2019), №36 (09.2019)) глобулина после истечения инструктивного срока годности. С этой целью были отобраны образцы 10%-ного раствора глобулина, которые исследовали вторично через 2,5- 6,5 лет после их изготовления. Проверку данных образцов проводили на стерильность, безвредность, активность и апиrogenность по описанным ниже методам.

Стерильность глобулина определяли путем его высева на следующие питательные среды: МПА, МПБ, МПБ с 0,5% глюкозы, МПБ с 0,1% агара и кусочками мяса, и среду Сабуро. Посевы на среде Сабуро и МПБ с 0,1% агара и кусочками мяса выдерживали при температуре 20-22 °С, а остальные посевы при температуре 37°С в течении 10 суток.

Безвредность противосибиреязвенного глобулина каждой серии проверяли на морских свинках массой 350-400 г., по 2 головы на каждую серию, которым вводили по 10см³ препарата подкожно. Наблюдение за свинками вели в течении 10 дней.

Специфическую активность 10-% раствора глобулина каждой серии отдельно проверяли на 10 морских свинках массой 350-400г, которым внутрибрюшинно вводили препарат по 2,0см³. Через 24 часа этим же морским свинкам вводили подкожно контрольную заражающую культуру возбудителя сибирской язвы в дозе 1млн. в объеме 0,5 см³, одновременно эту же культуру вводили 10 контрольным морским свинкам. Наблюдение за опытными животными проводили в течении 5 дней после заражения.

Наличие пирогена в глобулине исследуемых серий определяли на 3 кроликах массой 1,5- 2,5кг. Глобулин вводили кроликам в ушную вену стерильно, используя отдельный шприц для каждой серии. Глобулин подогревали до температуры 37°С и вводили из расчета каждому кролику по 1см³ на 1кг массы животного. Измерение температуры у кроликов проводили через один, два и три часа после введения препарата.

Определение содержания общего белка (по Лоури), количества и чистоты глобулиновых фракций проводили с помощью метода диск-электрофореза в ПАГе, используя соответствующие биохимические методы анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты контроля показали, что глобулин исследованных серий после истечения инструктивного срока хранения оказался стерильным, безвредным, активным и апиrogenным.

При проверке безвредности глобулина все свинки остались живыми, местная и общая реакция у них была в пределах нормы.

При проверке специфической активности глобулина все его 13 исследуемых серий различных сроков хранения сохранили свойства на первоначальном уровне (таблица 1).

Таблица 1 – Специфическая превентивная активность глобулина с разными сроками хранения

№ п/п	№ серии	Срок хранения	Результаты контроля иммунизированные животные	
			Пало	Выжило
1	24	6 лет 9 мес	2	8
2	25	6 лет 6 мес	2	8
3	26	6 лет 2 мес	2	8
4	27	5 лет 6 мес	1	9
5	28	4 года 11 мес	1	9
6	29	4 года 5 мес	-	10
7	30	4 года 4 мес	-	10
8	31	3 года 10 мес	1	9
9	32	3 года 6 мес	1	9
10	33	3 года 5 мес	1	9
11	34	2 года 11 мес	-	10
12	35	2 года 9 мес	-	10
13	36	2 года 4 мес	-	10

Биохимические исследования проведенные в лаборатории также показали, что все проверенные 13 серий глобулина сохранили свои показатели (Таблица 2).

Таблица 2 – Результаты биохимических исследований глобулина в процессе хранения

№ п/п	№ серии	Срок хранения	Кол-во общего белка в препарате, %	Фракции глобулина
1	24	6 лет 9 мес	9,7	Гамма
2	25	6 лет 6 мес	9,7	Гамма+бета
3	26	6 лет 2 мес	9,8	Гамма+бета
4	27	5 лет 6 мес	9,88	Гамма
5	28	4 года 11 мес	9,87	Гамма+бета
6	29	4 года 5 мес	9,76	Гамма+бета
7	30	4 года 4 мес	9,67	Гамма+бета
8	31	3 года 10 мес	10,1	Гамма+бета
9	32	3 года 6 мес	10,3	Гамма+бета
10	33	3 года 5 мес	10,45	Гамма+бета
11	34	2 года 11 мес	10,31	Гамма+бета
12	35	2 года 9 мес	10,43	Гамма+бета
13	36	2 года 4 мес	10,12	Гамма+бета

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные при повторном исследовании препарата позволяют сделать вывод, что глобулин противосибирезвенный из сыворотки крови лошадей сохраняет свою первоначальную специфическую активность, безвредность, апиrogenность и стерильность свыше 6 лет (срок наблюдения). На основании этого, в случае необходимости, возможно продлить срок годности данного биопрепарата для ветеринарного и медицинского применения при условии соблюдения правил его хранения.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Абрамова Е. Г., Комиссаров А. В., Синицына Н. В., Жулидов И. М., Никифоров А. К. Получение твердых лекарственных форм препаратов иммуноглобулиновой природы // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2021. №4.
2. Бабич М.А., Плотникова В.А., Лукьянченко А.В., Казак Н.А. Изучение активности альфа+бета, бета- и гамма-глобулинов, выделенных из гиперимунной сыворотки против рожи свиней. М., Тр. ВГНКИ, 1961, Т. IX.
3. Бабич М.А., Плотникова В.А., Михайлов Н.А., Преснов И.Н., Казак Н.А. Выделение и испытание иммуноактивных глобулиновых фракций сыворотки против сибирской язвы. М., Тр. ВГНКИ, 1962, Т. XI.
4. Долматов В. Ю., Дробкова А. В., Лютов А. Г., Мальцева О. В., Шевцов А. Н., Боровской Д. В., Елагин Г. Д., Карпова М. В., Вершинина О. А., Блинова Е. А., Шарыгин С. Л. Возможность получения противосибирезвенного иммуноглобулина человека для внутривенного введения // Проблемы особо опасных инфекций.

2008. №2.

5. Задорина И.И. Получение и очистка противосибиреязвенных иммуноглобулинов // Ученые записки КГАВМ им. Н.Э. Баумана. 2019. №4.
6. Микшис Н. И., Кудрявцева О. М., Болотникова М. Ф., Новикова Л. В., Попов Ю. А., Дроздов И. Г., Щуковская Т. Н., Фирстова В. В., Ключева С. Н. Иммунологическая эффективность генетически сконструированных бациллярных штаммов, продуцирующих протективный антиген сибиреязвенного микроба // Проблемы особо опасных инфекций. 2005. №2.
7. Попова П. Ю., Микшис Н. И., Гончарова А. Ю., Каштанова Т. Н., Попов Ю. А. Особенности образования антител у лабораторных животных, иммунизированных препаратом сибиреязвенного протективного антигена, рекомбинантным или вакцинным штаммами *Bacillus anthracis* // Проблемы особо опасных инфекций. 2012. №2.
8. Попова П. Ю., Микшис Н. И., Кудрявцева О. М., Гончарова А. Ю., Новикова Л. В., Каштанова Т. Н., Попов Ю. А., Смолькова Е. А., Кравцов А. Л., Щуковская Т. Н. Влияние протективного антигена, синтезируемого аспорогенным рекомбинантным штаммом *Bacillus anthracis*, на иммунную систему экспериментальных животных // Проблемы особо опасных инфекций. 2012. №1.
9. Силкина М. В., Карцева А. С., Зенинская Н. А., Марьин М. А., Рябко А. К., Мунтян Я. О., Фирстова В. В., Шемякин И. Г., Дятлов И. А. Анализ содержания плазмабластов в крови людей в разные сроки после иммунизации вакциной сибиреязвенной живой сухой // Иммунология. 2019. №2.
10. Супотницкий М.В., Борисевич И.В., Климов В.И., Шевцов А.Н., Луб М.Ю., Туманов А.С. Роль российских и советских ученых в разработке сибиреязвенных вакцин // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2015. №2 (54).
11. Щербинин Д. Н., Есмагамбетов И. Б., Носков А. Н., Селянинов Ю. О., Тутыхина И. Л., Шмаров М. М., Логунов Д. Ю., Народицкий Б. С., Гинцбург А. Л. Индукция иммунного ответа к *Bacillus anthracis* при интраназальном введении рекомбинантного аденовируса, экспрессирующего протективный антиген, слитый с Fc-фрагментом антитела IgG2a // Acta Naturae (русскоязычная версия). 2014. №1 (20).
12. Smith K., Crowe S.R., Garman L., Guthridge C.J. et al. Human monoclonal antibodies generated following vaccination with AVA provide neutralization by blocking furin cleavage but not by preventing oligomerization. *Vaccine*. 2012; 30 (28): 4276-83.
13. Chi X., Li J., Liu W., Wang X. et al. Generation and characterization of human monoclonal antibodies targeting anthrax protective antigen following vaccination with a recombinant protective antigen vaccine. *Clin. Vaccine Immunol.* 2015; 22 (5): 553-60.
14. Kelly-Cirino C.D., Mantis N.J. Neutralizing monoclonal antibodies directed against defined linear epitopes on domain 4 of anthrax protective antigen. *Infect. Immun.* 2009; 77 (11): 4859-67.
15. Caraux A., Klein B., Paiva B., Bret C. et al. Circulating human B and plasma cells. Age-associated changes in counts and detailed characterization of circulating normal CD138- and CD138+ plasma cells. *Haematologica*. 2010; 95 (6): 1016-20.
16. Qian Y., Wei C., Eun-Hyung Lee F., Campbell J. et al. Elucidation of seventeen human peripheral blood B-cell subsets and quantification of the tetanus response using a density-based method for the automated identification of cell populations in multidimensional flow cytometry data. *Cytometry B Clin. Cytometry*. 2010; 78 (Suppl 1): 69-82.