



## ОЦЕНКА МОЛЕКУЛЯРНЫХ ПАРАМЕТРОВ ИММУНОГЛОБУЛИНА АНТИРАБИЧЕСКОГО МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

С.В. Генералов<sup>1,\*</sup>, А.А. Савенкова<sup>1</sup>, М.Н. Киреев<sup>1</sup>, Е.Г. Абрамова<sup>1,2</sup>,  
И.В. Шульгина<sup>1</sup>, О.А. Лобовикова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора  
410005, Российская Федерация, Саратов, ул. Университетская, 46

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики,  
биотехнологии и инженерии им. И.Н. Вавилова»  
410012, Российская Федерация, Саратов, пр-кт им. Петра Столыпина, 4, стр. 2

В Российской Федерации ежегодно риску заражения бешенством подвергается более 400 тыс. человек, в связи с чем антирабический иммуноглобулин является одним из наиболее часто применяемых противовирусных сывороточных препаратов. Для повышения лекарственной безопасности при использовании гетерологичного иммуноглобулина целесообразным является введение показателя качества «молекулярные параметры», отражающего распределение в препарате одиночных молекул иммуноглобулина, их димеров, агрегатов и фрагментов. Исследование содержания указанных фракций в препарате методом высокоэффективной жидкостной хроматографии определяется требованиями XIV издания Государственной Фармакопеи Российской Федерации. Цель работы состояла в определении условий проведения высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения молекулярных параметров гетерологичного антирабического иммуноглобулина. В статье предложена методика определения показателя «молекулярные параметры» с использованием колонки BioSep-SEC-s3000 («Phenomenex Inc.», США) и хроматографической системы Biologic Duoflow («BioRad», США). В качестве объекта исследования использовали производственные образцы антирабического иммуноглобулина из сыворотки крови лошади. При исследовании хроматографических параметров (разрешения между пиками, времени удерживания, симметрии пиков и др.) подобраны условия проведения анализа, удовлетворяющие фармакопейным требованиям. Значения разрешения составили: между пиками мономеров и димеров — 1,42; между пиками агрегатов и мономеров — 3,9; между пиками мономеров и фрагментов — не менее 4,46. Результаты эксперимента показали специфичность и повторяемость методики. Дополнительно показана высокая степень очистки исследуемых коммерческих образцов антирабического иммуноглобулина, которую характеризует отсутствие фракций агрегатов и фрагментов. Полученные результаты позволяют сделать вывод о возможности применения предлагаемой методики с использованием колонки BioSep-SEC-s3000 и хроматографической системы Biologic Duoflow для контроля качества гетерологичного антирабического иммуноглобулина по показателю «молекулярные параметры».

**Ключевые слова:** антирабический иммуноглобулин, контроль качества, молекулярные параметры, высокоэффективная жидкостная хроматография

**Конфликт интересов:** авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

**Для цитирования:** Генералов С.В., Савенкова А.А., Киреев М.Н., Абрамова Е.Г., Шульгина И.В., Лобовикова О.А. Оценка молекулярных параметров иммуноглобулина антирабического методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. *Биомедицина*. 2024;20(4):8–17. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-4-8-17>

Поступила 15.02.2024

Принята после доработки 22.04.2024

Опубликована 10.12.2024

## EVALUATION OF THE MOLECULAR SIZE DISTRIBUTION OF RABIES IMMUNOGLOBULIN USING HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

Sergey V. Generalov<sup>1,\*</sup>, Anastasia A. Savenkova<sup>1</sup>, Mikhail N. Kireev<sup>1</sup>,  
Elena G. Abramova<sup>1,2</sup>, Irina V. Shulgina<sup>1</sup>, Oksana A. Lobovikova<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe" of the Federal Service for Supervision  
of Consumer Rights Protection and Human Welfare  
410005, Russian Federation, Saratov, Universitetskaya Str., 46

<sup>2</sup> Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov  
410012, Russian Federation, Saratov, Petra Stolypina Ave., 4, building 3

Rabies immunoglobulin is one of the most commonly used antiviral serum drugs. In the Russian Federation, more than 400,000 people are at risk of contracting rabies every year. In order to improve the drug safety when using heterologous immunoglobulin, it is advisable to introduce such a quality indicator as molecular size distribution. This indicator reflects the distribution of single immunoglobulin molecules, their dimers, aggregates, and fragments in the drug. The study of the content of these fractions in the drug using high-performance liquid chromatography is determined by the requirements of the XIV edition of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation. The aim of the present study was to establish the conditions for high-performance liquid chromatography when determining the molecular size distribution of heterologous rabies immunoglobulin. A method for determining the indicator of molecular size distribution using a BioSep-SEC-s3000 ("Phenomenex Inc.", USA) column and a Biologic Duoflow ("BioRad", USA) chromatographic system is proposed. Commercial and experimental samples of rabies immunoglobulin obtained from horse blood serum were used. When studying chromatographic parameters (resolution between peaks, retention time, peak symmetry, etc.), analysis conditions in accordance with the pharmacopoeial requirements were selected. The resolution values were: between the peaks of monomers and dimers — 1.42; between the peaks of aggregates and monomers — 3.9, between the peaks of monomers and fragments — at least 4.46. The experiment showed the specificity and repeatability of the technique. Additionally, a high degree of purification of the studied commercial samples of rabies immunoglobulin was shown, which is characterized by the absence of fractions of aggregates and fragments. The results obtained allow us to conclude that the proposed method can be used using a BioSep-SEC-s3000 column and a Biologic Duoflow chromatographic system to control the quality of heterologous rabies immunoglobulin in terms of molecular size distribution.

**Keywords:** rabies immunoglobulin, quality control, molecular size distribution, high-performance liquid chromatography

**Conflict of interest:** the authors declare no conflict of interest.

**For citation:** Generalov S.V., Savenkova A.A., Kireev M.N., Abramova E.G., Shulgina I.V., Lobovikova O.A. Evaluation of the Molecular Size Distribution of Rabies Immunoglobulin Using High-Performance Liquid Chromatography. *Journal Biomed.* 2024;20(4):8–17. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-4-8-17>

Submitted 15.02.2023

Revised 22.04.2024

Published 10.12.2024

### Введение

Антирабический иммуноглобулин представляет собой иммунобиологический лекарственный препарат, применяемый для постэкспозиционной профилактики

бешенства, заболевания с абсолютной летальностью. Риск заражения возникает после укусов подозрительных на бешенство животных, попадания слюны на раневые поверхности. В России ежегодное число

пострадавших от укусов дикими и домашними животными составляет около 400 тыс. человек [6]. Введение антирабического иммуноглобулина позволяет обеспечить защиту организма от действия вируса до начала появления собственных антител, образующихся в ответ на введение антирабической вакцины. В России зарегистрирован единственный выпускаемый препарат отечественного производства — иммуноглобулин антирабический из сыворотки крови лошади; а также зарубежные препараты иммуноглобулина, получаемого из сыворотки крови человека (Китай, Израиль) [5].

Одним из критериев иммунобиологической безопасности и эффективности препаратов иммуноглобулина является отсутствие или допустимое содержание агрегированных молекул антител либо их фрагментов. Распределение фракций препарата иммуноглобулина по молекулярной массе отражает показатель качества «молекулярные параметры» [13]. В настоящее время в России показатель «молекулярные параметры» определяют только для иммуноглобулиновых препаратов, полученных из сыворотки крови человека. Среди гетерологичных сывороточных препаратов таковому контролю подлежит лишь противосибирезвенный иммуноглобулин из сыворотки крови лошади (ФС.3.3.2.00015.18 «Имуноглобулин противосибирезвенный из сыворотки крови лошади»). Разрабатываемый препарат гетерологичного иммуноглобулина против лихорадки Эбола также предложено контролировать по этому параметру [2, 3]. Подобная инициатива связана с повышением безопасности применения гетерологичных сывороточных препаратов, а также необходимостью гармонизации российской и зарубежной фармакопейной документации. Следует отметить, что согласно Европейской Фармакопее, контролю по показателю «молекулярные параметры» подлежат все иммуноглобулиновые препа-

раты, предназначенные для парентерального введения, независимо от происхождения. Исследования, включающие обоснование показателя «молекулярные параметры» для различных иммуноглобулиновых препаратов и разработку методов его определения, также актуальны и за рубежом [7, 8, 14].

Ранее для контроля по показателю «молекулярные параметры» гетерологичного антирабического иммуноглобулина российского производства был предложен метод, основанный на гель-фильтрации низкого давления [1]. В настоящее время требования действующей Государственной Фармакопеи (ГФ РФ XIV изд.) для определения данного показателя подразумевают применение высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

**Целью** настоящего исследования являлись экспериментальный поиск условий проведения ВЭЖХ и оценка их эффективности для определения молекулярных параметров гетерологичного антирабического иммуноглобулина.

### **Материалы и методы**

Объектом исследования явились образцы производственных серий антирабического иммуноглобулина, полученного из сыворотки крови лошади риванольно-спиртовым методом осаждения [4].

Для анализа фракций использовали колонку BioSep-SEC-s3000 («Phenomenex Inc.», США; длина колонки — 300 мм, диаметр — 7,8 мм), наполненную гидрофильным силикагелем с размером частиц 5 мкм и диаметром пор 29 нм, и хроматографическую систему Biologic Duoflow («BioRad», США) с ультрафиолетовым детектором с длиной волны 280 нм. Для подготовки проб и элюирования использовали натрий-фосфатный буферный р-р (pH=7,4±0,1) с концентрацией 0,1 моль/л. Концентрация белка в подготовленных образцах соответствовала значению 1,0±0,2 мг/мл.

Элюирование осуществляли со скоростью потока 1 мл/мин при температуре  $25 \pm 5^\circ\text{C}$ . Температура проб и элюирующего буферного р-ра соответствовали температуре проведения анализа. Максимальное давление в системе соответствовало значению  $4,5 \pm 0,5$  МПа. Объём наносимого образца составлял  $10 \pm 2$  мкл, что соответствовало условиям, рекомендованным производителями колонки. Каждый образец исследовали не менее трёх раз.

Для проверки разделяющей способности хроматографической системы использовали набор молекулярных маркеров для эксклюзионной ВЭЖХ, содержащий вещества с молекулярной массой в диапазоне от 29 до 700 кДа (Sigma, MWGF1000-1KT). Указанный набор соответствовал требованиям ОФС 1.8.2.0006.15 «Определение молекулярных параметров методом ВЭЖХ».

Запись и анализ хроматограмм осуществляли с применением программного обеспечения Biologic Duoflow Software, version 5.2. Анализ хроматограмм осуществляли в соответствии с ГФ РФ XIV изд., ОФС 1.2.1.2.0001.15 «Хроматография». Содержание каждой фракции в процентах определяли методом нормирования. Для расчёта содержания фракций использовали формулу:

$$X_i = \frac{S_i \times 100\%}{\sum_{i=1}^n S_i}$$

где  $X_i$  — содержание фракции, %;  $S_i$  — площадь пика, соответствующего определяемой фракции,  $\text{мм}^2$ ;  $\sum_{i=1}^n S_i$  — сумма площадей всех пиков хроматограммы.

С целью установления специфичности предлагаемой методики осуществляли искусственную модификацию фракционного состава исследуемого препарата. Для этого использовали метод «ускоренного старения» в соответствии с ОФС 1.1.0009.15 «Сроки годности лекарственных средств». Образец выдерживали при температуре  $41 \pm 1^\circ\text{C}$  в течение 30 сут, что эквивалентно двум годам хранения

при условиях хранения, указанных в нормативной документации.

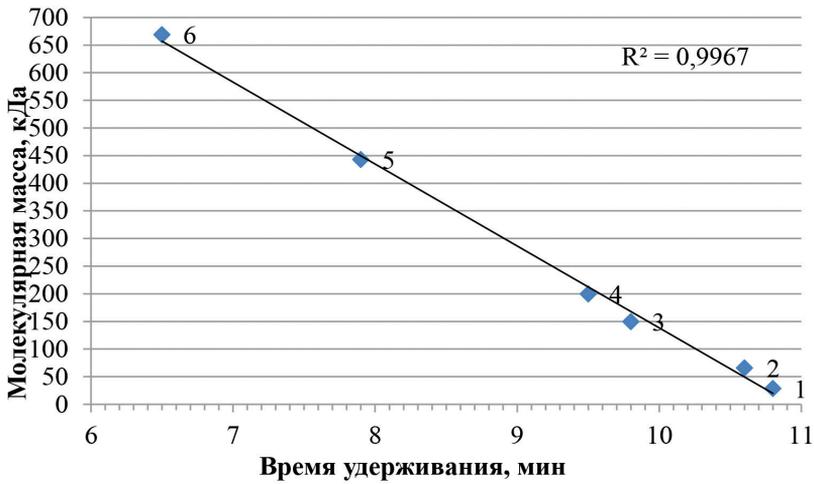
## Результаты исследований

Для оценки разделяющей способности используемой хроматографической системы осуществляли анализ компонентов набора молекулярных маркеров как по отдельности, так и их смеси. Для определения времени удерживания компонентов, входящих в набор молекулярных маркеров, элюировали натрий-фосфатным буфером (концентрация — 0,1 моль/л,  $\text{pH} = 7,4 \pm 0,1$ ) со скоростью потока от 1,0 мл/мин. На основании результатов этих исследований определены значения времени удерживания белка в зависимости от его молекулярной массы (рис. 1).

Хроматографический профиль элюции, характерный для образцов производственных серий антирабического иммуноглобулина, изображён на рис. 2.

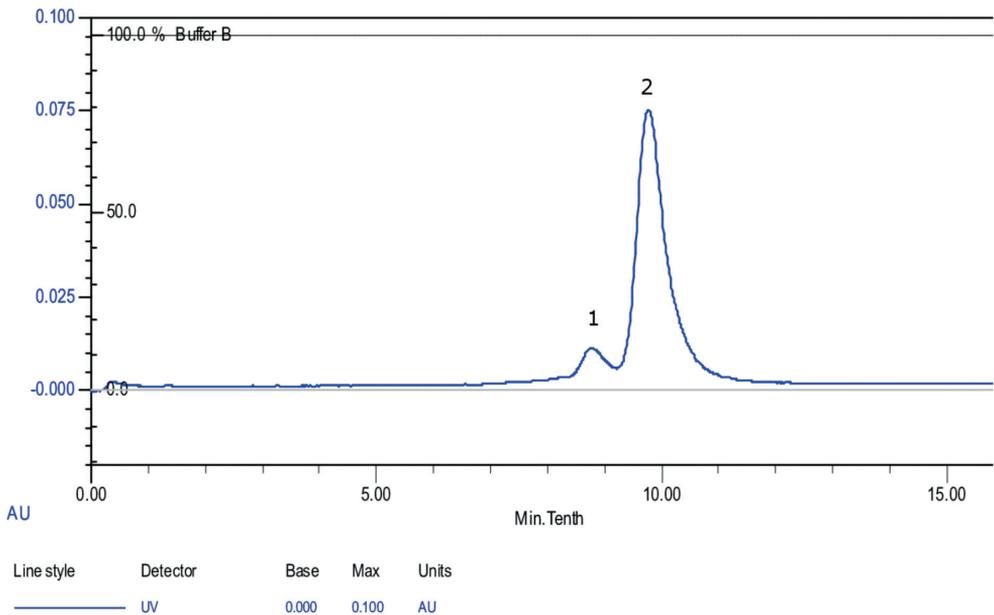
При этом основному пику соответствует фракция мономеров (время удерживания —  $9,8 \pm 0,03$  мин, коэффициент распределения —  $K_0 = 0,52$ ). Пик димеров выходит непосредственно перед пиком мономеров (время удерживания —  $8,6 \pm 0,03$  мин, коэффициент распределения —  $K_0 = 0,52$ ). Фактор симметрии для основного пика составил  $A_s = 1,6$ . Эффективность хроматографической системы по числу теоретических тарелок соответствовала значению  $N = 1640$ .

На рис. 3 представлен профиль элюции препарата антирабического иммуноглобулина, подвергнутого искусственной модификации. Результатом явилось появление в профиле элюции агрегированных молекул и фракций фрагментов, которые отсутствовали в образцах коммерческих серий. При этом фракции полимеров и агрегатов с молекулярной массой более 300 кДа соответствуют пики с временем удерживания меньшим, чем у димеров. Фракции, выходящие после основного пика, соответству-



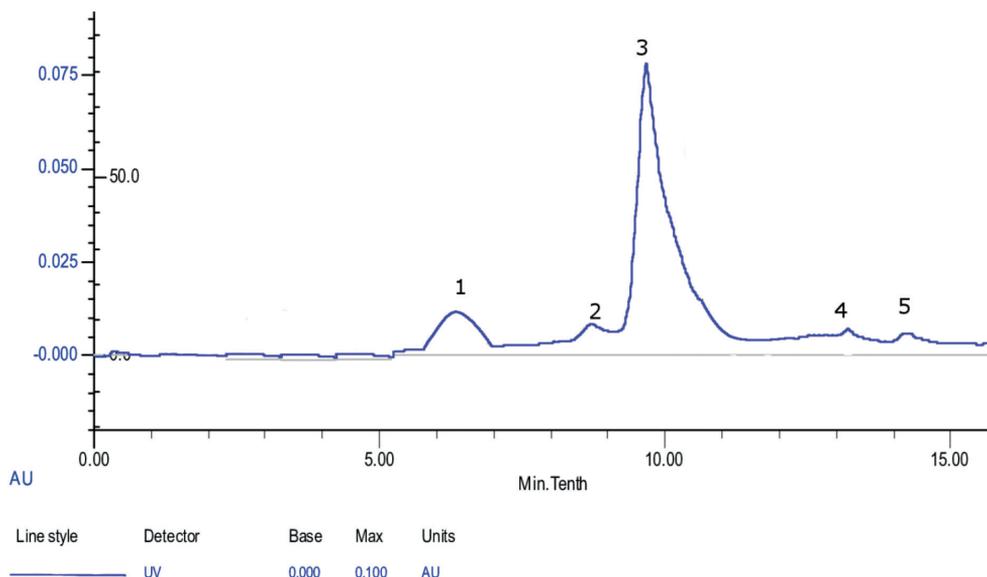
**Рис. 1.** Зависимость времени удерживания от молекулярной массы: 1 — карбоангидраза (29 кДа), 2 — бычий сывороточный альбумин (66 кДа), 3 — алкогольдегидрогеназа (150 кДа), 4 — бета-амилаза (200 кДа), 5 — апоферритин (443 кДа), 6 — тиреоглобулин (669 кДа).

**Fig. 1.** Dependence of retention time on molecular weight: 1 — carbonic anhydrase (29 kDa), 2 — bovine serum albumin (66 kDa), 3 — alcohol dehydrogenase (150 kDa), 4 — beta-amylase (200 kDa), 5 — apoferritin (443 kDa), 6 — thyroglobulin (669 kDa).



**Рис. 2.** Профиль элюции антирабического иммуноглобулина: 1 — фракция димеров, 2 — фракция мономерных молекул. Ось абсцисс — время удерживания, мин; ось ординат — величина оптического поглощения, AU.

**Fig. 2.** Elution profile of rabies immunoglobulin: 1 — fraction of dimers, 2 — fraction of monomer molecules. Abscissa axis — retention time, min; ordinates axis — optical absorption value, AU.



**Рис. 3.** Профиль элюции модифицированного антирабического иммуноглобулина: 1 — фракция агрегированных молекул, 2 — фракция димеров, 3 — фракция мономерных молекул, 4, 5 — фракции фрагментированных молекул. Ось абсцисс — время удерживания, мин; ось ординат — величина оптического поглощения, AU.

**Fig. 3.** Elution profile of modified rabies immunoglobulin: 1 — fraction of aggregated molecules, 2 — fraction of dimers, 3 — fraction of monomer molecules, 4, 5 — fractions of fragmented molecules. Abscissa axis — retention time, min; ordinates axis — optical absorption value, AU.

ют фрагментированным молекулам с молекулярной массой менее 150 кДа.

После проведения исследований получили результаты молекулярно-массового распределения (табл.) производственных серий гетерологичного антирабического иммуноглобулина (образцы 1–8), а также образцов, подвергшихся воздействию внешних факторов (образцы 9–11).

### Обсуждение результатов

Результаты испытаний сывороточных препаратов на содержание агрегированных и фрагментированных молекул иммуноглобулина являются одним из критериев качества и безопасности их применения. В растворе гамма-глобулина образуют устойчивые комплексы из двух и более молекул. Подобные комплексы, с одной стороны, могут усиливать иммунный ответ, а с другой, могут быть причиной развития

побочных реакций, таких как гиперчувствительность замедленного типа или анафилактиксия. Фрагментация молекул иммуноглобулина может снижать его специфичную активность и приводить к ускоренному выведению из организма [10, 12].

Необходимо отметить, что требования Государственной Фармакопеи РФ к иммуноглобулиновым препаратам по показателю «молекулярные параметры» отличаются в зависимости от их применения и способа введения. Для препаратов иммуноглобулина человека, предназначенных для внутримышечного и подкожного введения, общее содержание мономеров и димеров должно составлять не менее 85%, полимеров — не более 10% (ФС.3.3.2.0007.15 «Имуноглобулин человека нормальный», ФС.3.3.2.0009.18 «Имуноглобулин человека противостафилококковый», ФС.3.3.2.00010.18 «Имуноглобулин человека проти-

**Таблица.** Результаты исследования фракционного состава антирабического иммуноглобулина  
**Table.** Fractional composition of rabies immunoglobulin

Номер образца	Мономеры IgG, %		Димеры IgG, %		Агрегаты IgG, %		Фрагменты IgG, %	
	Содержание, %	Площадь пика, 10 <sup>-3</sup> АУ×с	Содержание, %	Площадь пика, 10 <sup>-3</sup> АУ×с	Содержание, %	Площадь пика, 10 <sup>-3</sup> АУ×с	Содержание, %	Площадь пика, 10 <sup>-3</sup> АУ×с
1	96,73±0,682	197,0±1,43	3,27±0,682	7,0±1,43	0,0	0	0,0	0
2	99,02±0,839	169±2,87	0,98±0,839	2,0±1,43	0,0	0	0,0	0
3	92,44±0,605	187±1,43	7,56±0,605	15,0±1,43	0,0	0	0,0	0
4	93,77±0,813	161±1,43	6,23±0,813	11,0±1,43	0,0	0	0,0	0
5	92,42±0,766	195±2,87	7,58±0,766	13,0±1,43	0,0	0	0,0	0
6	97,02±0,043	192±4,97	2,98±0,043	6,0±1,43	0,0	0	0,0	0
7	98,81±0,078	168±1,43	1,19±0,078	2,0±0,14	0,0	0	0,0	0
8	83,25±0,462	144±1,43	7,85±0,806	12,0±1,43	0,0	0	0,0	0
9	81,55±0,543	192±1,43	6,67±0,616	15,0±1,43	3,7±0,52	9±1,24	6,38±0,636	15±1,43
10	81,82±1,4	144±1,43	4,33±0,813	8,0±1,43	6,03±0,74	11±1,43	8,1±0,712	14±1,43
11	84,49±1,753	163±1,43	5,86±0,564	11,0±1,43	2,27±0,257	6±1,43	6,38±0,549	12±1,43

востолбнячный», ФС.3.3.1.0039.15 «Иммуноглобулин человека противооспенный, р-р для внутримышечного введения»). В отношении иммуноглобулиновых препаратов, предназначенных для внутривенного введения, общее содержание мономеров и димеров должно составлять не менее 90%, а содержание агрегатов — не более 3% (ФС.3.3.2.0008.15 «Иммуноглобулин человека нормальный для внутривенного введения», ФС.3.3.2.00011.18 «Иммуноглобулин человека против гепатита В для внутривенного введения»). При этом требования к фрагментированным молекулам не регламентируются. Однако в отношении противоаллергического иммуноглобулина человека предъявляются требования к содержанию не только фрагментов (не более 5%), но и мономеров и димеров в качестве отдельных фракций: не менее 85% и не более 15% (ФС.3.3.2.00013.18 «Иммуноглобулин человека противоаллергический»). Для противосибиреязвенного иммуноглобулина, единственного гетерологичного иммуноглобулинового препарата, контролируемого по показателю «молекулярные параметры», XIV изд. ГФ РФ устанавливает сле-

дующие требования: содержание мономеров и димеров должно быть не менее 85%, полимеров и агрегатов — не более 15%, фрагменты должны отсутствовать (ФС.3.3.2.00015.18 «Иммуноглобулин противосибиреязвенный из сыворотки крови лошади»).

Для гетерологичного антирабического иммуноглобулина требования к его молекулярному составу не установлены, но существуют значения, рекомендованные экспертами Научного центра экспертизы средств медицинского применения: содержание мономеров и димеров в исследуемом образце должно соответствовать 80%, содержание агрегатов и фрагментов — не более 20% [1]. При этом необходимо отметить, что разработанный ранее метод определения молекулярных параметров антирабического иммуноглобулина не позволял оценивать содержание димеров вследствие особенностей метода гель-фильтрации низкого давления.

В настоящей работе на первом этапе показана оценка разделяющей способности используемой хроматографической системы. Проведённые исследования по-

зволили оценить время выхода белков в зависимости от их молекулярной массы и спрогнозировать хроматографические параметры для фракционных компонентов препарата иммуноглобулина, которые были подтверждены на дальнейших этапах исследования (рис. 2, 3). Для агрегированных молекул (более 300 кДа) время удерживания составляет менее 8 мин, для димеров (300 кДа) —  $8,6 \pm 0,1$  мин, для фрагментов иммуноглобулина — более 10 мин. При расчёте относительного содержания агрегатов и фрагментов учитывали те пики, площадь которых в три раза превышала площадь пиков, соответствующих шуму базовой линии [11].

Анализ хроматограмм (рис. 2 и 3) позволяет сделать выводы о достаточном разделении агрегированных и фрагментированных молекул иммуноглобулина по отношению к основному пику на основании требований ГФ РФ в соответствии с ОФС 1.2.1.2.0001.15 «Хроматография». Для пика, соответствующего димерам, относительное время удерживания составляет 0,87. Следует отметить, что 11-е издание фармакопеи Европейского Союза устанавливает указанное значение около 0,85 [9]. Эти справочные данные позволяют подтвердить специфичность метода, предлагаемого в настоящем исследовании.

Также следует подчеркнуть, что в исследуемых коммерческих сериях не обнаружено присутствия агрегированных или фрагментированных молекул (табл.), при этом предел обнаружения для фракций агрегатов и фрагментов на основании анализа дрейфа

базовой линии при исследовании образцов, подвергшихся изменению, составил 0,3%.

Образцы, представленные в таблице, также были исследованы повторно, через 24 ч после их приготовления и хранения при  $20,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$ . Результаты определения молекулярных параметров при этом не отличались от результатов, полученных ранее ( $\text{RSD} < 2,0\%$ ). Подобные исследования позволяют оценить робастность метода, что необходимо в практическом отношении.

## Выводы

Таким образом, для оценки показателя «молекулярные параметры» лекарственного средства «Имуноглобулин антирабический из сыворотки крови лошади, жидкий» методом ВЭЖХ подобраны необходимые условия, предполагающие использование колонки, наполненной гидрофильным силикагелем с размером частиц 5 мкм и диаметром пор 29 нм, с размерами  $300 \times 7,8$  мм, натрий-фосфатного буферного р-ра ( $\text{pH} = 7,4 \pm 0,1$ ) с концентрацией 0,1 моль/л для приготовления и элюции исследуемых образцов с концентрацией белка  $1,0 \pm 0,2$  мг/мл.

Выявленные методом ВЭЖХ значения содержания фракций мономеров, димеров и полимеров в антирабическом иммуноглобулине свидетельствуют о высоком качестве очистки препарата и соответствии в целом требованиям Государственной Фармакопеи РФ по показателю «молекулярные параметры», предъявляемым к препаратам иммуноглобулинов другой специфичности для внутримышечного и подкожного введения.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

- 1 Абрамова Е.Г., Никифоров А.К., Киреев М.Н., Кочкалова Н.Н., Генералов С.В., Селезнёва А.Г., Савицкая Л.В., Иванов Ю.В. Определение молекулярных параметров препарата гетерологичного антирабического иммуноглобулина методом гель-фильтрации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2010;106(4):54–57. [Abramova E.G., Nikiforov A.K., Kireev M.N., Kochkalova N.N., Generalov S.V., Selezneva A.G., Savitskaya L.V., Ivanov Yu.V. *Opredelenie molekulyarnykh parametrov preparata geterologichnogo antirabicheskogo immunoglobulina metodom gel'-fil'tratsii* [Determination of the molecular parameters of heterologous anti-rabies immunoglobulin using gel-filtration]. *Problemy osobo opasnykh infektsiy* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2010;106(4):54–57. (In Russian)]. DOI: 10.21055/0370-1069-2010-4(106)-54-57

2. Мельников С.А., Борисевич И.В., Рождественский Е.В., Пантюхов В.В., Черникова Н.К., Гордеев Е.В., Нимирская С.А., Хмелев А.Л., Сыромятникова С.И., Шатохина И.В., Плеханова Т.М., Тиманькова Г.Д., Борисевич С.В., Кутаев Д.А., Стомба Л.Ф., Мишалова Е.Ю. Свойства гетерологичного иммуноглобулина против лихорадки Эбола после длительного хранения. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2020;20(1):50–59. [Melnikov S.A., Borisevich I.V., Rozhdvestvensky E.V., Pantyukhov V.V., Chernikova N.K., Gordeev E.V., Nimirska-ya S.A., Khmelev A.L., Syromyatnikova S.I., Shatokhina I.V., Plekhano-va T.M., Timankova G.D., Borisevich S.V., Kutaev D.A., Stovba L.F., Mishalova E.Yu. Svoystva geterologichnogo immunoglobulina protiv likhoradki Ebola posle dlitel'nogo khraneniya [Properties of heterologous anti-ebola immunoglobulin after long storage]. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie* [BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment]. 2020;20(1):50–59. (In Russian)]. DOI: 10.30895/2221-996X-2020-20-1-50-59
3. Мишалова Е.Ю., Гордеев Е.В., Лебедев В.Н., Мельников С.А., Нимирская С.А., Борисевич С.В. Апробация методики эксклюзионной хроматографии для оценки молекулярных параметров иммуноглобулина против лихорадки Эбола из сыворотки крови лошадей. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2019;19(4):261–267. [Mishalova E.Yu., Gordeev E.V., Lebedev V.N., Melnikov S.A., Nimirska-ya S.A., Borisevich S.V. Aprobatsiya metodiki eksklyuzionnoy khromatografii dlya otsenki molekulyarnykh parametrov immunoglobulina protiv likhoradki Ebola iz syvorotki krovi loshadey [Experimental testing of a size-exclusion chromatography method used for evaluation of molecular parameters of equine anti-Ebola immunoglobulin]. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie* [BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment]. 2019;19(4):261–267. (In Russian)]. DOI: 10.30895/2221-996X-2019-19-4-261-267
4. Мовсесянц А.А., Бутырский А.Ю., Бондарев В.П., Олефир Ю.В., Постнова Е.Л., Мухачева А.В. К вопросу о применении гетерологичного антирабического иммуноглобулина для специфической профилактики бешенства у людей. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2015;14(5):85–89. [Movsesyants A.A., Butyrskiy A.Yu., Bondarev V.P., Olefir Yu.V., Postnova E.L., Mukhacheva A.V. K voprosu o primeneniі geterologichnogo antirabicheskogo immunoglobulina dlya spetsificheskoy profilaktiki beshenstva u lyudey [On the issue of using heterologous anti-rabies immunoglobulin for specific prophylaxis of rabies in humans]. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika* [Epidemiology and Vaccinal Prevention]. 2015;14(5):85–89. (In Russian)]. DOI: 10.31631/2073-3046-2015-14-5-85-89
5. *Регистр лекарственных средств России*. [Registrl lekarstvennykh sredstv Rossii [Register of Medicines of the Russian Federation]. (In Russian)].
6. Репина И.Б., Феклисова Л.В., Скляр Л.Ф., Ушакова А.Ю., Россосанская Н.В., Соловьёва Н.П. Бешенство: обзор литературы и случай из практики. *Медицинский оппонент*. 2023;3(23):73–80. [Repina I.B., Feklisova L.V., Sklyar L.F., Ushakova A.Yu., Rossoshanskaya N.V., Solovyova N.P. Beshenstvo: obzor literatury i sluchay iz praktiki. [Rabies: literature review and case study]. *Meditsinskiy opponen*t [Medical Opponent]. 2023;3(23):73–80. (In Russian)].
7. Choi C.W., Jang W., Shim S.B., Song H.J., Cho J., Moon H., Park S.M., Han K., Sohn K.H. Collaborative study for the establishment of national reference standard for molecular size distribution test of human immunoglobulin products. *Yahhak HoeJi*. 2021;65:223–227. DOI: 10.17480/psk.2021.65.3.223
8. Christians S., Schluender S., van Treel N.D., Behr-Gross M.E. Interpretation of size-exclusion chromatography for the determination of molecular-size distribution of human immunoglobulins. *Pharmeuropa Bio & Scientific Notes*. 2016;2016:115–128.
9. *Human normal immunoglobulin (intramuscular administration)*, monograph 0338. (In Russian). Eur. Eur. 11th ed. Strasbourg, France: Council of Europe, 2023.
10. Jiskoot W., Randolph T.W., Volkin D.B., Middaugh C.R., Schöneich C., Winter G., Friess W., Crommelin D.J., Carpenter J.F. Protein instability and immunogenicity: Roadblocks to clinical application of injectable protein delivery systems for sustained release. *J. Pharm. Sci*. 2012;101(3):946–954. DOI: 10.1002/jps.23018
11. Lee J.K., Deluccia F.J., Kelly E.L., Davidson C., Borger F.R. Determination of the molecular size distribution of immunoglobulin G (IgG) in intravenous IgG-albumin formulations by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr*. 1988;444:141–152. DOI: 10.1016/s0021-9673(01)94017-8
12. Roberts C.J. Therapeutic protein aggregation: Mechanisms, design, and control. *Trends Biotechnol*. 2014;32(7):372–380. DOI: 10.1016/j.tibtech.2014.05.005
13. Woznichak M., Vandeberg P., Russ C., Talton Ch., Srivastava J., Arora V., Merritt W.K., Jose M. Application of a caprylate/chromatography purification process for production of a high potency rabies immune globulin from pooled human plasma. *J. Immunol. Methods*. 2021;499:113–164. DOI: 10.1016/j.jim.2021.113164
14. Wang H., Levi M.S., Del Grosso A.V., McCormick W.M., Bhattacharyya L. An improved size exclusion-HPLC method for molecular size distribution analysis of immunoglobulin G using sodium perchlorate in the eluent. *J. Pharm. Biomed. Anal*. 2017;138:330–343. DOI: 10.1016/j.jpba.2017.02.025

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

---

**Генералов Сергей Вячеславович\***, к.б.н.,  
ФКУН Российский противочумный институт  
«Микроб» Роспотребнадзора;  
**e-mail: [svgeneraloff@gmail.com](mailto:svgeneraloff@gmail.com)**

**Sergey V. Generalov\***, Cand. Sci. (Biol.), Rus-  
sian Research Anti-Plague Institute “Microbe”  
of the Federal Service for Supervision of Consumer  
Rights Protection and Human Welfare;  
**e-mail: [svgeneraloff@gmail.com](mailto:svgeneraloff@gmail.com)**

**Савенкова Анастасия Александровна**, ФКУН  
Российский противочумный институт «Микроб»  
Роспотребнадзора;  
**e-mail: [rusrapi@microbe.ru](mailto:rusrapi@microbe.ru)**

**Anastasia A. Savenkova**, Russian Research Anti-  
Plague Institute “Microbe” of the Federal Service  
for Supervision of Consumer Rights Protection  
and Human Welfare;  
**e-mail: [rusrapi@microbe.ru](mailto:rusrapi@microbe.ru)**

**Киреев Михаил Николаевич**, к.м.н., ФКУН  
Российский противочумный институт «Микроб»  
Роспотребнадзора;  
**e-mail: [rusrapi@microbe.ru](mailto:rusrapi@microbe.ru)**

**Mikhail N. Kireev**, Cand. Sci. (Med.), Russian  
Research Anti-Plague Institute “Microbe”  
of the Federal Service for Supervision of Consumer  
Rights Protection and Human Welfare;  
**e-mail: [rusrapi@microbe.ru](mailto:rusrapi@microbe.ru)**

**Абрамова Елена Геннадьевна**, д.б.н., проф.,  
ФКУН Российский противочумный инсти-  
тут «Микроб» Роспотребнадзора, ФГБОУ ВО  
«Саратовский государственный университет ге-  
нетики, биотехнологии и инженерии им. И.Н. Ва-  
вилова»;  
**e-mail: [rusrapi@microbe.ru](mailto:rusrapi@microbe.ru)**

**Elena G. Abramova**, Dr. Sci. (Biol.), Prof.,  
Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”  
of the Federal Service for Supervision of Consumer  
Rights Protection and Human Welfare, Saratov  
State University of Genetics, Biotechnology  
and Engineering named after N.I. Vavilov;  
**e-mail: [rusrapi@microbe.ru](mailto:rusrapi@microbe.ru)**

**Шульгина Ирина Витальевна**, к.м.н., ФКУН  
Российский противочумный институт «Микроб»  
Роспотребнадзора;  
**e-mail: [rusrapi@microbe.ru](mailto:rusrapi@microbe.ru)**

**Irina V. Shulgina**, Cand. Sci. (Med.), Russian  
Research Anti-Plague Institute “Microbe” of the Fe-  
deral Service for Supervision of Consumer Rights  
Protection and Human Welfare;  
**e-mail: [rusrapi@microbe.ru](mailto:rusrapi@microbe.ru)**

**Лобовикова Оксана Александровна**, к.б.н.,  
ФКУН Российский противочумный институт  
«Микроб» Роспотребнадзора;  
**e-mail: [rusrapi@microbe.ru](mailto:rusrapi@microbe.ru)**

**Oksana A. Lobovikova**, Cand. Sci. (Biol.),  
Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”  
of the Federal Service for Supervision of Consumer  
Rights Protection and Human Welfare;  
**e-mail: [rusrapi@microbe.ru](mailto:rusrapi@microbe.ru)**

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author