

СТАБИЛИЗАЦИЯ ХИМИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ

Зайцева А.В., УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Среди всех заболеваний молодняка сельскохозяйственных животных наиболее широко распространены желудочно-кишечные и респираторные болезни (В.П. Урбан, И.Л. Найманов, 1984). При этом установлено, что они наиболее часто возникают в критические иммунологические периоды в жизни молодняка (И.М. Карпуть, 1993). В первый возрастной иммунный дефицит – период новорожденности – возникают, преимущественно, желудочно-кишечные заболевания, во второй – возрастной иммунный дефицит, который связан с расходом колостральных факторов защиты и слабой активностью собственной иммунной системы, наряду с желудочно-кишечными заболеваниями возникают респираторные. С целью снижения отрицательных последствий возрастной и приобретенной иммунной недостаточности применяют различные стимуляторы, полученные из крови, красного костного мозга, тимуса и микроорганизмов (И.М. Карпуть и др., 1997; Д.И. Лазарев, Е.К. Алехин, 1985).

В последние годы значимое внимание уделяется изучению иммуномодулирующей активности микробных полисахаридов. Это объясняется их низкой токсичностью и побочным действием по сравнению с корпускулярными препаратами. Препараты, полученные на основе полисахаридов микробиологического синтеза, обладают высокой и пролонгированной биологической активностью (В.И. Земсков и др., 1989; А.В. Санин и др., 1988).

Ограниченное количество иммуномодуляторов, применяемых в ветеринарной практике, требует изыскания новых, эффективных и доступных препаратов.

Следует отметить, что ранее созданные препараты на основе микробных полисахаридов и липополисахаридов (продигиозан, пирогенал и сальмозан) дорогостоящие, сложны в применении и оказывают ряд побочных действий.

Целью нашей работы явилась разработка способа изготовления нового микробного полисахаридсодержащего препарата для профилактики и лечения иммунной недостаточности у животных.

Для приготовления препаратов на основе полисахаридных антигенов мы использовали биомассу *Sal. enteritidis*, *Sal. pullorum* и *Sal. typhimurium*. Биомассу вышеуказанных бактерий для снижения пирогенности и чистоты целевого продукта химически модифицировали специальным методом.

Для характеристики полученных препаратов проводили определение сухих веществ, общего и аминного азота, pH, а также других показателей, свойственных для полисахаридсодержащих препаратов из бактерий.

Для определения безвредности препаратов использовали 5 белых мышей массой 18-20 г. Подготовленную тест-дозу вводили животным подкожно в область спины.

Контрольным мышам ($n = 5$) подкожно вводили по 0,5 см³ 0,9%-ного раствора натрия хлорида.

Ежедневно регистрировали массу тела животных и симптомы интоксикации. Длительность жизни каждого животного рассчитывали от момента введения препарата. Определяли среднюю длительность жизни мышей опытной и контрольной группы и достоверность различий между показаниями.

Препараты считали выдержавшими испытание, если в течение предусмотренного срока наблюдения остались живыми все опытные животные.

В предварительных опытах нами установлено, что около 60% полисахаридного антигена теряется в процессе корректировки pH растворов, центрифугирования, ультрафильтрации и фильтрации и т.д. В процессе хранения в растворе препарата образуются агрегаты.

Вместе с тем к основным показателям качества и безопасности применения препаратов на основе полисахаридных антигенов сальмонелл относятся низкая Реактогенность и токсичность, отсутствие агрегатов, более высокое содержание мономеров, низкое содержание димеров и фрагментов, а также стабильность указанных свойств во время хранения и транспортировки.

Таким образом, технология получения полисахаридсодержащих препаратов должна гарантировать получение мономерного препарата с наиболее выраженной биологической активностью и стабильными физико-химическими свойствами.

В настоящее время отсутствуют какие-либо сообщения по стабилизации бактериальных полисахаридсодержащих препаратов.

Для стабилизации биологических препаратов, т.е. для предупреждения агрегации и сохранения низкой антикомплементарной активности при хранении в жидком состоянии и в процессе лиофилизации, применяется ограниченное число соединений – глицин, глюкоза, сахароза, мальтоза, сорбитол, альбумин и др.

Вносимые в состав препарата стабилизаторы должны обладать определенными качественными характеристиками: кроме главного – обеспечения стабильности препаратов во время получения и последующего хранения, не нести антигенности, не вносить, по возможности, новой специфической биологической активности. в частности, при использовании белков в качестве стабилизаторов (альбумин, трансферрин), быть доступными по стоимости.

На хорошую переносимость внутривенных иммуноглобулинов, содержащих в качестве стабилизатора глицин, указывают S. Hanzen-Schmidt, I. Sllomon, F. Keller (1996).

В работе нами были испытаны в качестве стабилизатора следующие соединения: глюкоза (2-5%), натрия хлорид (0,5-0,9%), натрия тиосульфат (0,5-1,0%) и глицин (0,25-0,5%), а также их некоторые сочетания.

Тест на термостабильность, который является аналогом условий хранения, осуществляли путем прогрева стерильных растворов полисахаридов в течение 24 часов при температуре 57°C (W.O. Weigle, C.G. Cochram, E. Y. Dixon, 1960).

В ходе эксперимента нами было установлено, что полисахаридсодержащие растворы с pH 7,6 более стабильны, чем с ее значениями 6,8 и 5,5.

Натрия тиосульфат и натрия хлорид обладают низкой стабилизирующей активностью (табл. 1). Напротив, глицин и глюкоза, в максимально изученных кон-

центрациях, обеспечивали высокую стабилизацию растворов полисахаридов, при этом выход целевого продукта составлял 78% и 82%. При введении в состав полисахаридсодержащих растворов до конечной концентрации 0,25% глицина и 2% глюкозы или 0,5% натрия хлорида и 5% глюкозы обеспечивали выход продукта 92-94%.

Таблица 1. Влияние разных соединений на стабильность жидких полисахаридсодержащих препаратов рН 7,6

Номер серии препарата	Наименование соединений				Выход целевого продукта, %
	натрия тиосульфат, %	глицин, %	глюкоза, %	натрия хлорид, %	
Серия 1 (контроль)	-	-	-	-	42
Серия 2	0,5	-	-	-	45
Серия 3	1,0	-	-	-	56
Серия 4	-	0,25	-	-	66
Серия 5	-	0,5	-	-	78
Серия 6	-	-	-	0,5	58
Серия 7	-	-	-	0,9	40
Серия 8	-	-	2	-	74
Серия 9	-	-	5	-	82
Серия 10	-	0,25	2	-	92
Серия 11	-	-	5	0,5	94

Важным при использовании биологических препаратов является их осмолярность, которая определяется количеством всех растворенных частиц в 1 дм³ воды, создающих осмотическое давление. Осмотическое давление, которое играет важную роль в переносе растворенных соединений и жидкостей через полупроницаемую мембрану, пропорционально количеству всех растворенных частиц.

Стандартный изотонический раствор натрия хлорида имеет осмолярность 300 м осм/кг.

Осмолярность, согласно Европейской Фармакопее, определяется методом осмометрии с помощью специального прибора по снижению точки замерзания раствора. Это связано с тем, что растворенные субстанции понижают точку замерзания раствора, а понижение точки замерзания пропорционально осмотическому давлению раствора.

Ориентировочно осмолярность может определяться теоретическим способом – методом расчета миллимолярности раствора.

В Европейской Фармакопее (1994) заложен нижний предел осмолярности – 240 м осм/кг.

Следовательно, растворы полисахаридов, содержащих 2% глюкозы и 0,25% глицина, являются гипосмолярными (144 мосм/кг). При использовании 0,5% натрия хлорида и 5% глюкозы для стабилизации растворов обеспечивается нормальная осмолярность (445 м осм/кг).

Вклад каждого компонента составляет: глюкоза (2-5%) – 112-278 мосм/кг, натрия хлорид (0,5%) – 167 мосм/кг и глицин (0,5%) – 66 мосм/кг.

Таким образом, использование в производстве препаратов на основе бактериальных полисахаридов в качестве стабилизаторов 5% глюкозы и 0,5% натрия хлорида обеспечивает высокий выход продукта и его осмоосмомолярность.

Литература

1. Исследование иммуностимулирующих свойств сальмозана / Земсков В.М., Барсуков А.А., Безюсенко С.А. и др. // *Иммунология*. 1989. № 5. С. 29-32.
2. Карпуть И.М. *Иммунология и иммунопатология болезней молодняка*. Мн.: Ураджай. 1993. 288 с.
3. Лазарев Д.И., Алехин Е.К. *Стимуляторы иммунитета*. М.: Медицина. 1985. 256 с.
4. Санин А.В., Краснянская Т.А., Мысягин Е.Б. Стимуляция регенерации гемопоэза и изменения в кроветворной системе мышей под влиянием бактериального полисахарида – сальмозана // *Иммунология*. 1988. № 1. С. 54-56.
5. Урбан В.П., Найманов И.Л. *Болезни молодняка в промышленном животноводстве*. М.: Колос. 1984. 207 с.
6. Экологически безопасный способ коррекции иммунной недостаточности у телят и поросят / Карпуть И.М., Ковзов В.В., Бабина М.П., Проценко В.М. // *Экологические проблемы патологии, фармакологии и терапии животных: Мат-лы между. координац. совещ. Воронеж*. 1997. С. 318-320.
7. Hanzen-Schmidt S., Sllomon I., Keller F. *Osmotic nephrosis due to high – dose immunoglobulin therapy containing sucrose (but not with glycine) in a patient with immunoglobulin A nephritis* // *Am. J. Kidney Dis*. 1996. Vol. 28. № 3. P. 451-454.
8. Weigle W.O., Cochram C.G., Dixon E.Y. *Anaphylactogenic properties of soluble antigen – antibody complexes in the guinea pig and rabbit* // *J. Immunol*. 1960. Vol. 85. № 5. P. 469-477.

УДК 619 : 576 : 616. 993. 195

ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОЦЕССА КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ДЕРМАТОФИТОВ

Зайцева В.В., УО «Витебский государственный университет им. П.М. Машерова»; Дремач Г.Э., УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»

Несовершенные грибы, к которым относятся дерматофиты, весьма склонны к изменчивости под действием физико-химических факторов, компонентов питательных сред, условий культивирования и т.д.

В литературе имеются многочисленные и разноречивые сообщения об изменчивости культурально-морфологических свойств дерматофитов при выращивании на искусственных питательных средах с добавлением сыворотки крови.