

Методические подходы к доклинической оценке побочного действия сывороточных иммунобиологических лекарственных препаратов

В. Н. Подкуйко¹, А. К. Яковлев², В. П. Краснянский¹, С. В. Борисевич¹, Н. К. Черникова¹,
Э. А. Яковлев¹, А. П. Пирожков¹, Д. Н. Лега¹, С. В. Назаров¹, Е. В. Гордеев¹, Я. В. Полянский¹,
Е. В. Рождественский¹, С. А. Нимирская¹

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

² Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
127051, Российская Федерация, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2

Поступила 26.04.2017 г. Принята к публикации 04.07.2017 г.

Анализ методических подходов к доклиническому изучению сенсибилизирующей активности иммунобиологических препаратов из сыворотки крови лошадей показывает, что национальные руководящие документы рекомендуют использование ограниченной шкалы анафилактиченности, которая не позволяет в полной мере прогнозировать безопасность клинического применения препаратов. Обоснован другой методический подход к доклинической оценке сенсибилизирующей активности сывороточных гетерологичных иммунобиологических препаратов по расчету сенсибилизирующей дозы, вызывающей анафилактическую реакцию у 50 % морских свинок, что позволит более объективно прогнозировать побочное действие как уже существующих, так и разрабатываемых гетерологичных иммуноглобулинов, а также индивидуально выбирать тактику их клинического применения.

Ключевые слова: сенсибилизирующая активность; сывороточные иммунобиологические лекарственные препараты; иммуноглобулины из сыворотки крови лошадей; анафилактиченность; методический подход.

Библиографическое описание: Подкуйко ВН, Яковлев АК, Краснянский ВП, Борисевич СВ, Черникова НК, Пирожков АП, Яковлев ЭА, Пирожков АП, Лега ДН, Назаров СВ, Гордеев ЕВ, Полянский ЯВ, Рождественский ЕВ, Нимирская СА. Методические подходы к доклинической оценке побочного действия сывороточных иммунобиологических лекарственных препаратов. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение 2017; 17(3): 187–192.

Сывороточные гетерологичные препараты как иммунобиологические лекарственные средства до сих пор не утратили своей значимости, особенно при защите людей от экзотических опасных и особо опасных инфекций [1–6]. Необходимым условием обращения иммунобиологических лекарственных препаратов (ИЛП) является минимальный риск развития их побочного действия. Одним из путей его снижения может быть индивидуальный подход к иммунопрофилактике и иммунотерапии [1]. Сенсибилизирующие (анафилактические) свойства сывороточных ИЛП являются основной причиной серьезных осложнений при серопротекции и терапии. Основными клиническими проявлениями антигенспецифической реакции организма на введение гетерологичных иммуноглобулинов являются анафилаксия и сывороточная болезнь, частота развития которой достигает 16 % [7]. Анафилаксия на введение гетерологичных сывороточных ИЛП — проявление иммунного ответа организма на чужеродный белок, представляющее угрозу для жизни и здоровья пациентов, поэтому в ряде случаев, в зависимости от аллергенного статуса человека, предусмотрено введение гетерологичных иммуноглобулинов под прикрытием десенсибилизирующей терапии [6, 8, 9]. Помимо уровня сенсибилизации пациента к белкам сыворотки крови лошади, частота и степень тяжести побочного действия сывороточного препа-

рата находятся в прямой зависимости от дозы и степени его очистки [1, 2].

При доклинических исследованиях сенсибилизирующую активность ИЛП оценивают по развитию гиперчувствительности немедленного типа (анафилактической реакции) у морских свинок. Учет интенсивности анафилактического шока проводят в индексах по формуле Вейгеля (Weigle) [10]. Уровень аллергенных свойств, выявляемый при доклинической оценке сывороточных ИЛП, позволяет прогнозировать степень риска развития осложнений (сывороточной болезни, анафилактического шока и других аллергических реакций) при клиническом применении препаратов. Для снижения риска развития побочного действия сывороточных ИЛП необходим выбор схемы и тактики их применения на основе результатов доклинической оценки [1]. Однако национальные руководящие документы (РД) не дифференцируют препараты в зависимости от величины индекса Вейгеля: в качестве критерия безвредности выдвигается единственное требование — препарат не должен вызывать смертельного анафилактического шока у морских свинок [10].

Целью работы является обоснование более объективной оценки сенсибилизирующей активности гетерологичных сывороточных ИЛП для обоснования безопасности эффективной дозы препарата.

Материалы и методы

В основу нового подхода положен метод оценки алергизирующего действия при доклиническом изучении ИЛП [10].

В работе использовали беспородных морских свинок обоих полов массой 200–250 г. Оценивали ИЛП из сыворотки крови лошадей против геморрагических лихорадок (Эбола, Ласса, Боливианская) и венесуэльского энцефаломиелита лошадей (ВЭЛ) производства ФГБУ 48 ЦНИИ [11–14] в сравнении с нормальной сывороткой крови лошади (положительный контроль — образец анафилактической активности), а также одним из трех выпускаемых в настоящее время или производимых ранее коммерческих лошадиных иммуноглобулинов против бешенства, клещевого или японского энцефалитов (препараты сравнения) [1, 15]. Иммуноглобулины и сыворотка крови лошадей содержали $(10 \pm 1) \%$ и $(7 \pm 1) \%$ белка соответственно. В качестве отрицательного контроля вводили 0,9 % раствор хлорида натрия. По истечению 2–4 недель воспроизводили анафилаксию путем внутривенного введения исследуемого иммуноглобулина в количестве $(0,1 \pm 0,01)$ мл. После разрешающей инъекции за морскими свинками наблюдали в течение 30 мин, фиксируя появление клинических симптомов анафилактической реакции. Клинические проявления анафилаксии учитывали раздельно в соответствии с методикой, изложенной в национальных руководящих документах, и вычисляли сенсibilизирующие дозы (SD_{50}), как указано в статье Н. М. Зубовичане с соавт. [10, 16]. Статистическую обработку данных проводили общепринятыми методами. Сенсibilизирующую дозу, вызывающую алергическую реакцию у 50 % морских свинок (SD_{50}), вычисляли по модифицированной формуле Кербера [17]:

$$\lg SD_{50} = \lg D_n - G (\Sigma L_i - 0,5),$$

где $\lg D_n$ — десятичный логарифм максимальной из испытанных доз, G — десятичный логарифм кратности испытанных разведений (в нашем случае равен 1), ΣL_i — сумма отношений числа животных, у которых развилась выраженная анафилактическая реакция от введения каждого из испытанных разведений препарата, к числу животных, которым эти разведения были введены (в $\lg$).

Результаты и обсуждение

Необходимость разработки нового подхода к оценке алергенных свойств сывороточных ИЛП была обусловлена анализом результатов их определения по РД [10]. В таблице 1 представлены результаты единичных определений индекса Вейгла для иммуноглобулинов из сыворотки крови лошадей. Его значения колеблются от 1,9 до 3,0 для иммуноглобулинов против геморрагических лихорадок и от 3,4 до 3,6 — для коммерческих сывороточных ИЛП. Средняя величина индекса Вейгла во второй группе в 1,3 раза больше, чем в первой и практически не отличается от показателя для лошадиной сыворотки крови. Поскольку относительная безопасность коммерческих препаратов доказана в ходе их клинического применения, данный факт указывает на несовершенство метода оценки сенсibilизирующих свойств по индексу Вейгла. Для его оптимизации необходимо либо расширить в шкале градацию признаков сенсibilизации в области максимальных степеней анафилаксии, либо перейти на способ определения доз препаратов, вызывающих клинически достоверные алергические реакции у 50 % животных. Исходя из цифровой индикации выраженности синдромов в крестах [10], доверительный интервал средней величины индекса разработанных в 48 ЦНИИ иммуноглобулинов (от 2,1 до 3,1) включает диапазон от ++ до +++, коммерческих препаратов (от 3,4 до 3,6) — от +++ до +++, а по двум группам (от 2,3 до 3,5) — от ++ до +++. Другими словами, с вероятностью 95 % достоверные реакции характеризуются указанной степенью выраженности, и шкала достоверной оценки по двум группам охватывает интервал от ++ до +++++.

Показатели средних величин индексов Вейгла при исследовании расширенного списка иммуноглобулинов (табл. 2) подтверждают выявленные закономерности. Анафилактогенность коммерческих гетерологичных иммуноглобулинов также в 1,3 раза выше, чем препаратов, разработанных в 48 ЦНИИ. Интервалы индексов Вейгла в обеих группах иммуноглобулинов, выраженные в крестах, колеблются от ++ до +++++. В целом из данных, представленных в таблицах 1 и 2, следует, что реакции со степенью клинической выраженности А (+) не входят в область достоверных значений при оценке уровня сенсibilизации обеих групп препаратов, а следовательно, их можно не учитывать в последующем при расчете SD_{50} .

Таблица 1. Изучение сенсibilизирующих свойств иммуноглобулинов из сыворотки крови лошадей на морских свинках

Препарат	Количество животных в группе с проявлениями реакции					Индекс Вэйгла (интервал) ¹		
	Д	А (+)	Б (++)	В (+++)	Г (++++)	И ²	$X_{cp} \pm J_{95}$	$X_{cp} \pm J_{95}$
Иммуноглобулин против геморрагических лихорадок	2	3	1	2	2	1,9	2,6±0,8 (от ++ до +++)	2,9±0,6 (от ++ до +++)
	1	1	2	3	3	2,6		
	0	1	2	3	4	3,0		
	0	1	2	3	4	3,0		
Иммуноглобулин против бешенства	0	0	2	2	6	3,4	3,5±0,2 (от +++ до +++)	
Иммуноглобулин против клещевого энцефалита	0	0	1	2	8	3,6		
Сыворотка крови лошади нормальная	0	0	0	0	8	4,0	—	—

Примечания. 1 — интервал указан в соответствии с цифровой индикацией клинической выраженности синдрома в крестах согласно [10]; 2 — И (индекс по РД) при единичном определении.

В серии опытов с использованием нового способа оценки сенсибилизирующих свойств (табл. 3) SD_{50} определяли для четырех пар исходных сывороток крови лошади и приготовленных на их основе иммуноглобулинов.

Для каждого препарата рассчитывали четыре величины SD_{50} с учетом в качестве минимальных реакции выраженностью +, ++, +++ или ++++ и всех последующих более сильных. Затем рассчитали средние этих величин и среднеквадратическое отклонение. В колонке справа представлены разницы между средними величинами и каждой из рассчитанных SD_{50} по каждой серии препаратов; показан минимальный уровень выраженности реакций, при учете которых вкупе с более сильными величина SD_{50} менее всего отличается от среднего значения. Из данных, представленных в таблице 3, видно, что такие реакции характеризуются выраженностью ++ или +++. Вместе с тем, наибольшие различия аллергенных свойств между сывороткой крови и иммуноглобулином в каждой паре выявлены при подсчете SD_{50} , начиная с реакций выраженностью ++. Они составили от 1,0 до 1,8lg. В этом случае способ испытаний показал себя как наиболее дифференцирующий.

Таким образом, на основании проведенного исследования обоснован способ расчета SD_{50} , вызывающий у 50 % животных реакции выраженностью ++ и более. Предложенный способ после прохождения апробации в ходе

доклинических исследований ИЛП позволит более точно установить безопасную дозу сывороточного препарата и обеспечить индивидуальный подход к серопротекции и терапии. Результаты количественного определения сенсибилизирующей активности гетерологичных ИЛП по SD_{50} указывают на точность определения их сенсибилизирующих свойств по клинически достоверным степеням анафилактической реакции Б (++) , В (+++) и Г (++++) и дифференцирование свойств препаратов, характеризующихся высокой анафилактогенностью. Безопасность клинического применения иммуноглобулина Эбола [8, 9] подтвердила прогностическую ценность нового подхода к доклинической оценке побочного действия ИЛП из сыворотки крови лошадей.

Выводы

1. Анализ методических подходов к доклиническому изучению сенсибилизирующей активности ИЛП из сыворотки крови лошадей показывает, что национальные РД рекомендуют использование для этих целей ограниченной шкалы анафилактогенности, которая в области высоких степеней неопределенна и не позволяет в полной мере прогнозировать безопасность клинического применения препаратов.

Таблица 2. Выраженность анафилаксии у морских свинок при изучении иммуноглобулинов из сыворотки крови лошадей, разработанных в 48 ЦНИИ, и коммерческих препаратов

ИЛП из сыворотки крови лошадей			Анафилактогенность		
Группа	Иммуноглобулины против ... или сыворотка		Индекс Вейгла, $X_{cp} \pm \delta$ (интервал в крестах) ¹		
Испытуемые (48 ЦНИИ)	геморрагических лихорадок	Эбола	2,5±0,5 (от ++ до +++)	2,7±0,3 (от ++ до +++)	3,2±0,5 (от +++ до ++++)
		Боливийская	2,5±0,6 (от ++ до +++)		
		Ласса	3,1±0,4 (от +++ до ++++)		
	венесуэльского энцефаломиелимита лошадей		3,1±0,7 (от ++ до ++++)		
Коммерческие	японского энцефалита		3,7±0,7 (от +++ до ++++)	3,6±0,2 (от +++ до ++++)	
	клещевого энцефалита		3,6±0,7 (от +++ до ++++)		
	бешенства		3,4±0,8 (от +++ до ++++)		
Контроль	Сыворотка крови лошадей		4,0 (++++)	—	—

Примечание. 1 — интервал представлен в соответствии с цифровой индикацией клинической выраженности синдрома в крестах, согласно [10].

Таблица 3. Результаты исследований сенсибилизирующей активности ИЛП из сыворотки крови лошадей с расчетом сенсибилизирующей дозы (SD_{50})

Препарат		Сенсибилизирующая активность с учетом реакций выраженностью ... и более, lg SD_{50} /мл $X_{cp} \pm \sigma$				Средняя SD_{50} , lg $X_{cp} \pm \sigma$	Разница между средней и каждой из рассчитанных SD_{50} , lg				Выраженность реакции при min разнице ¹
вид	серия	+	++	+++	++++		+	++	+++	++++	
Сыворотка крови	1	6,5±0,4	6,0±0,2	5,7±0,3	5,0±0,4	5,8±0,6	-0,7	-0,2	-0,1	0,8	+++
	2	5,5±0,2	5,3±0,2	4,5±0,4	3,0±0,3	4,6±1,1	-1,1	-0,7	-0,1	1,6	+++
	3	5,8±0,4	4,5±0	3,3±0,4	3,3±0,4	4,2±1,2	-1,6	-0,3	0,9	0,9	++
	4	5,0±0,2	4,5±0,3	3,5±0,4	3,3±0,4	4,0±0,9	-1,0	-0,5	0,5	1,0	++/+++
Иммуноглобулин	1	5,3±0,4	4,8±0,5	4,8±0,5	4,5±0,5	4,9±0,3	-0,4	0,1	0,1	0,4	++/+++
	2	4,5±0,3	3,5±0,3	3,0±0,2	2,5±0,3	3,4±0,9	-1,1	-0,1	0,4	0,9	++
	3	4,7±0,3	3,3±0,4	2,7±0,3	2,0±0,3	3,2±1,1	-0,9	-0,1	0,5	1,2	++
	4	4,5±0,5	3,5±0,4	3,5±0,4	3,0±0,4	3,7±0,5	-0,8	0,2	0,2	0,7	++/+++

Примечание. 1 — Разница между средней SD_{50} и SD_{50} при учете реакций, начиная с указанной степени выраженности, минимальна по сравнению с остальными.

2. Определение дозы гетерологичных сывороточных ИЛП, вызывающей анафилактическую реакцию у 50 % морских свинок, начиная с минимально достоверного проявления тяжести Б (++), позволяет более точно количественно оценить их аллергенные свойства.

3. Предложенный метод оценки перспективен для адекватного прогнозирования безопасности для людей вновь разрабатываемых гетерологичных иммуноглобулинов и уже существующих препаратов из сыворотки крови животных при совершенствовании технологии их получения, а также для выработки индивидуальной тактики их клинического применения.

Литература

1. Медуницын НВ, Миронов АН, Мовсенянц АА. Теория и практика вакцинологии. М.: Ремедиум; 2015.
2. Пенъевская НА, Рудаков НВ. Эффективность применения препаратов иммуноглобулина для постэкспозиционной профилактики клещевого энцефалита в России (обзор полувекского опыта). Медицинская паразитология и паразитарные болезни 2010; (1): 53–9.
3. 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.
4. Краснянский ВП, Михайлов ВВ, Борисевич ИВ, Потрываева НВ, Мельников СА, Тиманькова ГД. Препарат, содержащий иммуноглобулин против лихорадки Марбург из сыворотки крови лошадей жидкий (иммуноглобулин лошадиный Марбург). Патент Российской Федерации (RU) № 2257916; 2003.
5. Pyankov OV, Setoh YX, Bodnev SA, Edmonds JH, Pyankova OG, Pyankov SA, et al. Successful post-exposure prophylaxis of Ebola infected non-human primates using Ebola glycoprotein-specific equine Ig G. Scientific reports 2017. Available from: <http://www.nature.com/articles/srep41537>.
6. Zheng X, Wong G, Zhao Y, Wang H, He Sh, Bi Y, et al. Treatment with hyperimmune equine immunoglobulin or immunoglobulin fragments completely protects rodents from Ebola virus infection. Scientific reports 2016. Available from: <http://www.nature.com/articles/srep24179>.
7. Синяк КМ, Жарко ТР, Вернер ОМ. Пособие по медицинским иммунобиологическим препаратам. Киев: 1992.
8. Хмелев АЛ, Борисевич ИВ, Черникова НК, Махлай АА, Михайлов ВВ, Яковлев АК и др. Оценка безопасности профилактики
- ческого использования иммуноглобулинов против вирусных геморрагических лихорадок из сывороток крови лошадей. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии 2012; (6): 103–6.
9. Борисевич ИВ, Черникова НК, Марков ВИ, Краснянский ВП, Борисевич СВ, Рождественский ЕВ. Опыт клинического применения специфического иммуноглобулина из сыворотки крови лошадей в качестве средства экстренной профилактики лихорадки Эбола. Вопросы вирусологии 2017; (1): 25–9.
10. Миронов АН, ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (иммунобиологические лекарственные препараты). Часть вторая. М.: Гриф и К; 2012. С. 235–6.
11. 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.
12. Краснянский ВП, Михайлов ВВ, Лукин ЕН, Борисевич ИВ, Потрываева НВ, Мельников СА и др. Препарат, содержащий иммуноглобулин против венозного энцефаломиелимита лошадей из сыворотки крови лошадей жидкий (иммуноглобулин лошадиный ВЭЛ): Патент Российской Федерации (RU) № 2261113; 2003.
13. Михайлов ВВ, Борисевич ИВ, Тиманькова ГД, Краснянский ВП, Потрываева НВ, Лебединская ЕВ, Черникова НК. Препарат, содержащий иммуноглобулин против лихорадки Эбола из сыворотки крови лошадей, жидкий (иммуноглобулин Эбола): Патент Российской Федерации (RU) № 2130318; 1996.
14. Хмелев АЛ, Пантюхов ВВ, Сыромятникова СИ, Потрываева НВ, Мельников СА, Пирожков АП, и др. Препарат, содержащий иммуноглобулин против Боливийской геморрагической лихорадки из сыворотки крови лошадей, раствор для внутримышечного введения. Патент Российской Федерации (RU) № 2342952; 2007.
15. Медицинские иммунобиологические препараты. Т. 2. Иммуноглобулины человека, сыворотки, иммуноглобулины гетерологичные, моноклональные антитела, пробиотики, бактериофаги, аллергены, цитокины (вводимые людям). М.: Гелла-Принт; 2011.
16. Зубовичане НМ, Дедкова ЛМ, Сергеев НН, Офицеров ВИ. Сенсибилизирующие и вируснейтрализующие свойства козьих иммуноглобулинов против вируса Эбола. Вопросы вирусологии 2002; (2): 45–8.
17. Ашмарин ИП, Воробьев АА. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л.; 1962.

Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, г. Сергиев Посад-6, ул. Октябрьская, д. 11.

Подкуйко Валерий Николаевич. Ведущий научный сотрудник научно-исследовательского отдела, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник.

Краснянский Владимир Павлович. Ведущий научный сотрудник научно-исследовательского отдела, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник.

Борисевич Сергей Владимирович. Начальник ФГБУ, доктор биологических наук, профессор.

Черникова Наталья Константиновна. Старший научный сотрудник научно-исследовательского отдела, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник.

Яковлев Эдуард Андреевич. Руководитель группы научно-исследовательского отдела, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник.

Пирожков Алексей Петрович. Ведущий научный сотрудник Управления, кандидат медицинских наук

Лега Дмитрий Николаевич. Младший научный сотрудник научно-исследовательского отдела.

Назаров Станислав Викторович. Старший научный сотрудник научно-исследовательского отдела.

Гордеев Евгений Васильевич. Заместитель начальника научно-исследовательского отдела.

Полянский Ярослав Владимирович. Старший научный сотрудник научно-исследовательского отдела.

Рождественский Евгений Всеволодович. Начальник научно-исследовательского отдела, кандидат биологических наук.

Нимирская Светлана Александровна. Научный сотрудник научно-исследовательского отдела, кандидат биологических наук.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127051, Российская Федерация, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2.

Яковлев Алексей Константинович. Ведущий микробиолог лаборатории иммунологии Испытательного центра экспертизы качества МИБП.

Адрес для переписки: Борисевич Сергей Владимирович; cnii@mail.ru

Methodological approaches to preclinical evaluation of immunobiological serum products and their side effects

V. N. Podkuyko¹, A. K. Yakovlev², V. P. Krasnyansky¹, S. V. Borisevich¹, N. K. Chernikova¹, E. A. Yakovlev¹, A. P. Pirozhkov¹, D. N. Lega¹, S. V. Nazarov¹, E. V. Gordeev¹, Ya. V. Polyansky¹, E. V. Rozhdestvensky¹, S. A. Nimirskaya¹

¹ The 48th Central Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation,

11 Otyabrskaya street, Sergiev Posad-6, Russian Federation

² Federal State Budgetary Institution

«Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»

of the Ministry of Health of the Russian Federation,

Petrovsky boulevard 8, bld. 2, Moscow 127051, Russian Federation

Analysis of methodological approaches to preclinical evaluation of sensitizing activity of horse serum products shows that the anaphylactogenicity scale recommended in national regulatory documents is imperfect as it is not capable of fully predicting the safety of the clinical use of products. The article demonstrates feasibility of another methodological approach to preclinical evaluation of sensitizing activity of heterologous serum products which is based on calculation of a sensitizing dose inducing anaphylactic reactions in 50 % of guinea pigs. This approach will make it possible to more effectively predict side effects of already authorized heterologous immunoglobulins and drugs currently under development, and to select a clinical use strategy on a case-by-case basis.

Key words: sensitizing activity; immunobiological serum products; horse serum immunoglobulins; anaphylactogenicity; methodological approach.

For citation: Podkuyko VN, Yakovlev AK, Krasnyansky VP, Borisevich SV, Chernikova NK, Yakovlev EA, Pirozhkov AP, Lega DN, Nazarov SV, Gordeev EV, Polyansky YaV, Rozhdestvensky EV, Nimirskaya SA. Methodological approaches to preclinical evaluation of immunobiological serum products and their side effects. *BIOPreparation. Prevention, Diagnosis, Treatment* 2017; 17(3): 187–192.

References

1. Medunitsyn NV, Mironov AN, Movsesyants AA. Theory and practice of vaccinology. Moscow: Remedium; 2015 (in Russian).
2. Penyevskaya NA, Rudakov NV. The effectiveness of immunoglobulin preparations for post-exposure prophylaxis of tick-borne encephalitis in Russia (Review a half-century of experience). *Medical Parasitology and Parasitic Diseases* 2010; (1): 53–9 (in Russian).
3. Borisevich IV, Potryvaeva NV, Melnikov SA, Yevseyev AA, Krasnyansky VP, Maksimov VA. Design of equine serum-based Marburg virus immunoglobulin. *Voprosy virusologii* 2008; 53(1): 39–41 (in Russian).
4. Krasnyansky VP, Mikhaylov VV, Borisevich IV, Potryvaeva NV, Melnikov SA, Timankova GD. Liquid preparation containing immunoglobulin efficient against Marburg fever from horse blood serum (horse immunoglobulin Marburg). Patent RUS. 2257916 04. 12.2003 (in Russian).
5. Pyankov OV, Setoh YX, Bodnev SA, Edmonds JH, Pyankova OG, Pyankov SA, et al. Successful post-exposure prophylaxis of Ebola infected non-human primates using Ebola glycoprotein-specific equine Ig G. *Scientific reports* 2017. Available from: <http://www.nature.com/articles/srep41537>.
6. Zheng X, Wong G, Zhao Y, Wang H, He Sh, Bi Y, et al. Treatment with hyperimmune equine immunoglobulin or immunoglobulin fragments completely protects rodents from Ebola virus infection. *Scientific reports* 2016. Available from: <http://www.nature.com/articles/srep24179>.
7. Synyak KM, Zharko TR, Werner OM. Guidebook on medical immunobiological drugs. Kiev: 1992 (in Russian).
8. Khmelev AL, Borisevich IV, Chernikova NK, Makhlay AA, Mikhaylov VV, Yakovlev AK, et al. Evaluation of safety of prophylactic use of immunoglobulins against viral hemorrhagic fevers from horse blood sera. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology* 2012; (6): 103–6 (in Russian).
9. Borisevich IV, Chernikova NK, Markov VI, Krasnyanskiy VP, Borisevich SV, Rozhdestvenskiy EV. An experience in the clinical use of specific immunoglobulin from horse blood serum for prophylaxis of Ebola haemorrhagic fever. *Voprosy virusologii* 2017; 62(1): 25–9 (in Russian).
10. Mironov AN, ed. Guidelines for preclinical studies of medicines (immunobiological medicines). Part 2. Moscow: Grifi K; 2012. P. 235–6 (in Russian).
11. 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* 1997; 42(4): 168–71 (in Russian).
12. Krasnyansky VP, Mikhaylov VV, Lukin EP, Borisevich IV, Potryvaeva NV, Melnikov SA, et al. The preparation containing immunoglobulin against VEE from horse blood serum liquid (immunoglobulin against VEE from horse blood serum). Patent RUS 2261113 04.12.2003 (in Russian).
13. Mikhaylov VV, Borisevich IV, Timankova GD, Krasnyansky VP, Potryvaeva NV, Lebedinskaya EV, Chernikova NK. The preparation containing immunoglobulin against Ebola fever from horse blood serum liquid (immunoglobulin Ebola). Patent RUS 2130318 05.07.1996 (in Russian).
14. Khmelev AL, Pantyukhov VB, Syromyatnikova SI, Potryvaeva NV, Melnikov SA, Pirozhkov AP, et al. The preparation containing immunoglobulin against Bolivian hemorrhagic fever from horse blood serum, intramuscular solution. Patent of the Russian Federation № 2342952; 2007 (in Russian).
15. Medical immunobiological preparations. V. 2. Human immunoglobulins, sera, heterologous immunoglobulins, monoclonal antibodies, probiotics, bacteriophages, allergens, cytokines (administered to humans). Moscow: Gella-Print; 2011 (in Russian).
16. Zubavichene NM, Dedkova LM, Sergeev NN, Ofitserov VI. Sensitizing and virus-neutralizing characteristics of goat immunoglobulins to Ebola virus. *Voprosy virusologii* 2002; 47(2): 45–8 (in Russian).
17. Ashmarin IP, Vorobyev AA. Statistical methods in microbiological studies. Leningrad; 1962 (in Russian).

Authors

The 48th Central Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, 11 Otyabrskaya street, Sergiev Posad-6, Russian Federation.

Podkuyko VN. Leading research associate of the Research Department. Doctor of Medical Sciences, senior research fellow.

Krasnyansky VP. Leading research associate of the Research Department. Candidate of Medical Sciences, senior research fellow.

Borisevich SV. Director. Doctor of Biological Sciences, professor.

Chernikova NK. Senior research associate of the Research Department. Candidate of Biological Sciences, senior research fellow.

Yakovlev EA. Team leader at the Research Department. Candidate of Medical Sciences, senior research fellow.

Pirozhkov AP. Leading research associate of the Directorate. Candidate of Medical Sciences.

Lega DN. Junior research associate of the Research Department.

Nazarov SV. Senior research associate of the Research Department.

Gordeev EV. Deputy head of the Research Department.

Polyansky YaV. Senior research associate of the Research Department.

Rozhdestvensky EV. Head of the Research Department.

Nimirskaia SA. Research associate of the Research Department.

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Petrovsky boulevard 8, bld. 2, Moscow 127051, Russian Federation.

Yakovlev AK. Lead microbiologist of the Immunology Laboratory of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality.

Contact e-mail: *Borisevich Sergei Vladimirovich;* cnii@mil.ru