

Нұрмуханбет Е.О., Нұрғазы К.Ш.

ШЫҒЫС ҚАЗАҚСТАНДАҒЫ ҚАЗАҚТЫҢ АҚБАС ТҰҚЫМЫНЫҢ ЭТИОЛОГИЯЛЫҚ ЖӘНЕ РЕПРОДУКТИВТІ ҚАСИЕТТЕРІ

Аннотация

Бұл мақалада Шығыс Қазақстандағы қазақтың ақбас тұқымының этиологиялық және репродуктивті зерттеу нәтижелері көрсетілген. Тірі салмақ арасында мүйізсіз бұқалар мүйізді құрдастарынан 8 айлығында 11кг (5,7%), 15 айлығында 13,9кг (3,8%) асып түсті. Мүйізді бұқалар көп қозғалады 1,2% арналған уақыттан, 54,4% жатат, мүйізсіздерден 3,4% (57,8%) кем көрсеткішті көрсетеді. Мүйізсіздердің күйіс қайтаруы мен ұйқы уақыты өте ұзақ 1,9 және 1,2%. Интенсивті технологиямен өсіргенде қашар сиырларды 14-16 айларында тірі салмағы 340-360кг жинағанда немесе екі айға ертерек қашыру керек.

Кілт сөздер: қазақтың ақбас тұқымы; мүйізді; мүйізсіз.

Нурмуханбет Е.О., Нургазы К.Ш.

ЭТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНЫЕ КАЧЕСТВА КАЗАХСКОЙ БЕЛОГОЛОВОЙ ПОРОДЫ В УСЛОВИЯХ ВОСТОЧНОГО КАЗАХСТАНА

Аннотация

В статье приводятся результаты исследований этологических особенностей и воспроизводительные качества казахской белоголовой породы в условиях восточного Казахстана. По живой массе комолые бычки превосходят рогатых сверстников в 8 месячном возрасте на 11кг (5,7%), 15 месяцев на 13.9 кг (3,8%). Рогатые бычки больше двигаются на 1,2% от затраченного времени, лежат 54,4%, то есть на 3,4% меньше, чем комолые (57,8%). Жвачка и сон были более продолжительны у комолых на 1,9 и 1,2%. При интенсивном выращивании телок целесообразно случать в возрасте 14-16 месяцев по достижении живой массы 340-360 кг или на два месяца раньше.

Ключевые слова: комолый; рогатый скот; казахская белоголовая; порода.

УДК 616.921.5:351.774.7:615.076.9

Нурпейсова А.С., Хайруллин Б.М., Касенов М.М., Богданов Н.В., Исагулов Т.Е.

*Научно - исследовательский институт проблем биологической безопасности (НИИПББ)
КН МОН РК, п.г.т. Гвардейский, Жамбылская область, РК*

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПО ОЦЕНКЕ ПИРОГЕННОСТИ ПОЛУФАБРИКАТА ПЕРВОЙ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ «KAZFLUVAC®» ПРОТИВ ГРИППА А/Н5N1

Аннотация

В работе представлены результаты по определению пирогенности и бактериальных эндотоксинов в полуфабрикате экспериментальных серий первой отечественной вакцины «Kazfluvac®» для здравоохранения против гриппа А/Н5N1 из штамма А/АстанаRG/6:2/2009. Испытание на пирогены на кроликах состояло в измерении повышения температуры тела, вызываемого у кроликов внутривенным введением

испытуемого препарата. Для подтверждения апиrogenности испытуемых образцов был проведен анализ по определению содержания бактериальных эндотоксинов с помощью ЛАЛ - теста. В результате полученный полуфабрикат вакцины не обладает пирогенностью и концентрация бактериальных эндотоксинов в испытуемом полуфабрикате меньше чем расчетного предельного содержания бактериальных эндотоксинов.

Ключевые слова: грипп, вакцина, пирогенность, бактериальные эндотоксины.

Введение

С конца 2003 года существует вероятность развития пандемии птичьего гриппа. По данным ВОЗ на 2009 год в мире случаи заражения вирусом гриппа типа А/Н5N1 зафиксированы у 442 человек, из них смертью закончились 262 (60 %) случая [1]. ВОЗ считает, что птичий грипп Н5N1 может перерасти во всемирную пандемию, если вирус подвергнется рекомбинации генов с вирусом гриппа человека, то есть приобретёт новые свойства - способность, передаваться от человека к человеку и др. Перестройка может случиться, если природный хозяин Н5N1, скажем свинья, послужит т. н. передаточным звеном или живой окружающей средой, в которой смогут перемешаться широко распространённый субтип гриппа типа А (например Н1N1, Н1N2, или Н3N2) и высоко патогенный субтип гриппа типа А Н5N1. Этот процесс создал бы новый контагиозный субтип гриппа типа А, сохраняющий смертоносный характер вируса Н5N1. Врождённой невосприимчивости против этого нового субтипа гриппа среди людей не было бы вообще [2].

В связи с территориальным расположением и природно-климатическими условиями Республику Казахстан следует рассматривать как регион высокого риска по гриппу птиц [3].

Грипп остается единственной инфекцией, вызывающей в современном мире пандемии [4]. Одним из наиболее эффективных способов предотвращения распространения эпидемических вариантов вируса гриппа, является своевременная широкомасштабная вакцинация. В связи с этим, в Научно - исследовательском институте проблем биологической безопасности Комитета Науки Министерство образования и науки Республик Казахстан разработана технология изготовления первой отечественной инактивированной вакцины против гриппа А/Н5N1 [5].

Казахстанская противогриппозная инактивированная вакцина «Kazfluvac®» была приготовлена на основе полученного совместно с российскими учеными рекомбинантного штамма А/АстанаRG/6:2/2009 Н5N1. Для достижения целей настоящих исследований были проведены доклинические испытания на лабораторных животных, что является одним из основных и обязательных этапов при разработке и внедрении в медицинскую практику иммунобиологических препаратов [6]. Доклинические исследования разработанной вакцины проводили по критериям безопасности.

Инактивированные гриппозные вакцины по качеству гарантируется во всем мире правилами национальных контролирующих органов, которые единообразно основаны в требованиях ВОЗ [7]. Основные требования этих правил касаются количества гемагглютинина, антигенного состава, чистоты и безопасности.

Вышеуказанные качественные параметры вакцинных препаратов устанавливаются в процессе доклинических и клинических исследований, проводимых в соответствии с международными и национальными требованиями, изложенными в регламентирующих документах [8, 9].

Как известно, при разработке и внедрении иммунобиологических препаратов в медицинскую практику [10] основным и обязательным этапом является доклиническое испытание безопасности на лабораторных животных, что являлось нашей целью в настоящей работе. Безопасность иммунобиологических препаратов в первую очередь

обеспечивается токсикологическими испытаниями. Важным критерием безопасности инъекционных иммунобиологических препаратов является его апиrogenность.

Материалы и методы исследований

В работе использованы полуфабрикаты экспериментальных серий отечественной вакцины «Kazfluvac®» для здравоохранения против гриппа А/Н5N1 инактивированной, приготовленной из штамма А/АстанаRG/6:2/2009.

Испытание на пирогены на кроликах состояло в измерении повышения температуры тела, вызываемого у кроликов внутривенным введением экспериментальных трех серий вакцины «Kazfluvac®» против гриппа А/Н5N1. Для подтверждения апиrogenности испытуемых образцов вакцин был проведен анализ по определению содержания бактериальных эндотоксинов с помощью ЛАЛ - теста. Оба метода проводили согласно Государственной фармакопеи Республики Казахстан (ГФ РК) [11].

Пирогенность на кроликах определяли после введения препарата. Температуру измеряли 3 раза с промежутками в 1 час. Исследуемый препарат считают апиrogenным, если после введения суммарная реакция температур у 3-х кроликов не превышает 1,15 °С. Если у одного из трех кроликов отмечено повышение температуры более, чем на 0,5 °С, образец подлежит повторному испытанию независимо от суммарного результата.

При контроле на содержание БЭ полуфабриката вакцины использовали ЛАЛ - реактив (Limulus Amebocyte Lysate – лизат амебиоцита - Limulus polyphemus) производства Charles River Laboratories, Inc. США, предназначенный для проведения фармакопейного анализа с помощью гель-тромб теста. Чувствительность реактива (λ) выражена в единицах эндотоксина [ЕЭ/мл] и соответствует минимальной концентрации согласно Международного стандарта эндотоксина, которая вызывает образование плотного геля при реакции с данным реактивом.

В настоящем исследовании необходимо было изучить пирогенность полуфабриката вакцины «Kazfluvac®» против гриппа А/Н5N1. Согласно санитарным правилам для изучения пирогенности сорбированных иммунобиологических препаратов необходимо использовать полуфабрикат препарата без сорбента [12].

Результаты исследований и их обсуждение

Результаты исследования пирогенности полуфабриката трех экспериментальных серий инактивированной вакцины «Kazfluvac®» против гриппа А/Н5N1 представлены в графике (рис. 1).

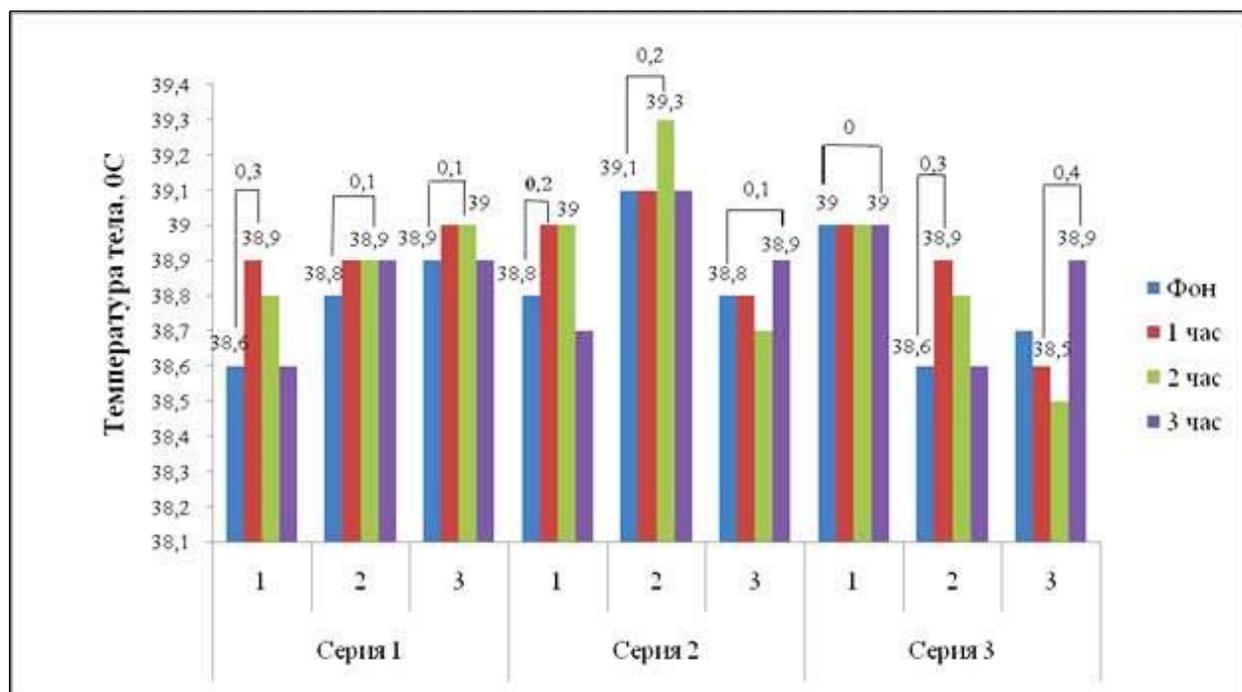


Рисунок 1. Результаты колебания температуры тела кроликов

Из данных рисунка 1 видно, что суммарное повышение температуры тела составило от 0,5 до 0,7 °С, а подопытные кролики оставались клинически здоровыми на протяжении всего срока наблюдения. Согласно ГФ РК данные исследования позволяют утверждать, что полуфабрикат трех экспериментальных серии инактивированной вакцины «Kazfluvac®» против гриппа А/Н5N1 апиrogenны [11].

В требованиях ВОЗ, Государственной фармакопеи Республики Казахстан и Российской Федерации апиrogenность иммунобиологических биопрепаратов определяется с помощью измерения температуры тела у кроликов в ответ на внутривенное введение испытуемых препаратов и ЛАЛ-теста. ЛАЛ-тест характеризуется высокой специфической чувствительностью и позволяет выявлять эндотоксины в количестве в 100 раз ниже их минимальной пирогенной дозы на кроликах.

В следующей серии опытов подтверждали апиrogenность испытуемых образцов в ЛАЛ-тесте. Для подтверждения достоверности и точности результатов определения бактериальных эндотоксинов, проводимых с помощью ЛАЛ-реактива необходимо было убедиться в том, что испытуемое лекарственное средство не содержит факторов, мешающих проведению реакции, которые могут усиливать и/или ингибировать реакцию ЛАЛ-реактива с бактериальными эндотоксинами. Обнаружить эти явления можно, сравнив способность используемого ЛАЛ-реактива реагировать с раствором контрольного стандарта эндотоксина (КСЭ) в воде для ЛАЛ-теста и в растворе испытуемого лекарственного средства в стандартных условиях проведения эксперимента.

Используемые в данном анализе полуфабрикат вакцины (или его разведения) не должны были содержать мешающих факторов в определяемых в тесте количествах. Для определения отсутствия мешающих факторов исследовали 1:1500 и 1:5000 кратные разведения полуфабриката вакцины.

По результатам, при 1:1500 кратном разведении полуфабриката вакцины получены положительные результаты, что говорит о наличии в выбранном разведении мешающих факторов, способных усиливать реакцию ЛАЛ-реактива с БЭ.

Так как присутствие мешающих факторов было обнаружено в испытуемом полуфабрикате вакцины, который проверялся в разведении, меньшем расчетного максимально-допустимого разведения, анализ повторяли в большем разведении, при котором снималось действие мешающих факторов. В 3 повторности полуфабриката исследуемой вакцины чувствительность исследуемой вакцины в разведении 1:5000 составила 0.03 ЕЭ/мл, 1 λ, что свидетельствовало об отсутствии мешающих факторов способных ингибировать /или усиливать реакцию ЛАЛ - реактива с БЭ.

Для подтверждения, что содержание БЭ в испытуемом образце не превышает значения предельного содержания, провели исследование согласно описанной в методике по определению бактериальных эндотоксинов [11]. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 — Результаты качественного анализа ЛАЛ-теста

Раствор	Исходный раствор	Конечная концентрация эндотоксина (КСЭ) в испытуемом растворе	Количество повторностей			
			1	2	3	4
А (1)	Kazfluvac® серия №1	—	-	-	-	-
А (2)	Kazfluvac® серия №2	—	-	-	-	-
А (3)	Kazfluvac® серия №3	—	-	-	-	-
В(1)	Kazfluvac® серия №1 содержащий КСЭ в концентрации 2 λ	2 λ	+	+	+	+
В(2)	Kazfluvac® серия №2 содержащий КСЭ в концентрации 2 λ	2 λ	+	+	+	+
В(3)	Kazfluvac® серия №3 содержащий КСЭ в концентрации 2 λ	2 λ	+	+	+	+
С	Раствор КСЭ в воде для ЛАЛ-теста с концентрацией 2 λ	2 λ	+	+	+	+
Д	Вода для ЛАЛ-теста	—	-	-	-	-
Примечания: «-» - отрицательный результат теста; «+» - положительный результат теста.						

Как видно, из данных таблицы 2 в четырёх повторностях растворов полуфабриката вакцины «Kazfluvac®» в разведении 1:1500 получены отрицательные результаты, таким образом, концентрация БЭ в испытуемом полуфабрикате вакцины равна произведению фактора разведения полуфабриката вакцины на величину чувствительности ЛАЛ - реактива, т.е. $5000 \times 0.03 \text{ ЕЭ/мл} = 150 \text{ ЕЭ/мл}$ (5 ЕЭ/мкг), что является в 4 раза меньше расчетного предельного содержания бактериальных эндотоксинов (20 ЕЭ/мкг).

Заключение

В производстве иммунологических препаратов одним из важнейших показателей качества конечного продукта в технологическом процессе, является содержание БЭ. Совершенствование различных видов метода в контроле лекарственных средств в настоящее время имеет особое значение. Разработка и внедрение таких методов является составной частью проблемы перехода к организации производства в соответствии с

требованиями «Правил производства и контроля лекарственных средств (ГОСТ Р 52249 - 2004)» (GMP), национального центра Российской Федерации. Контроль качества на всех стадиях производства – одно из главных требований GMP.

В настоящее время в Республике Казахстан впервые проведены работы по тестированию, контролю и безопасности первой отечественной вакцины «Kazfluvac®» против гриппа из отечественного штамма A/AstanaRG/6:2/2009 (H5N1) для здравоохранения.

В странах ближнего и дальнего зарубежья доклиническим испытаниям вакцин занимаются в Российской Федерации Государственный НИИ стандартизации и контроля медицинских препаратов им. Л.А. Тарасевича, НИИ – гриппа РАМН, г. Санкт – Петербург, НИИ эпидемиологии РАМН, г. Москва, НПО «Микроген» г. Москва. В Соединённых Штатах Америки аналогичные работы проводятся в Центре по контролю заболеваемости, г. Атланта, Национальном институте аллергии и инфекционных заболеваний (NIAD), во Вьетнаме - Национальном институте гигиены и эпидемиологии, в Австралии в исследовательском институте Murdoch Children's Research Institute и т.д.

Анализ полученных результатов проведенных доклинических исследований по определению пирогенности полуфабриката экспериментальных серий вакцины «Kazfluvac®» против гриппа H5N1 свидетельствует, что внутривенное введение препарата не оказывает пирогенного действия на организм теплокровных лабораторных животных. Иммунобиологический препарат «Kazfluvac®» не обладает пирогенностью.

Содержания бактериальных эндотоксинов с помощью ЛАЛ реактива показал, что концентрация БЭ в испытуемом полуфабрикате вакцины 150 ЕЭ/мл (5ЕЭ/мкг), что меньше расчетного предельного содержания БЭ (20 ЕЭ/мкг) в соответствии Европейской фармакопеей [13]. Результаты проведенных исследований позволяют сделать заключение, что испытанные экспериментальные серий вакцины «Kazfluvac®» против гриппа из штамма A/AstanaRG/6:2/2009 (H5N1) являются апиrogenными и соответствуют международным и национальным требованиям, изложенным в регламентирующих документах.

Литература

1. Миронов А.Н., Романова А.А., Дылдина Н.В., Бушменков Д.С., Цаан А.А., Алсынбаев М.М., Загидуллин Н.В., Колбасов С.Е. Результаты доклинического изучения гриппозной инактивированной субъединичной адсорбированной моновалентной вакцины «ПАНДЕФЛЮ» // Журнал микробиологии эпидемиологии и иммунологии. – 2010. — №3. – С.27 – 32.
2. Belser J.A., Szretter K.J., Katz J.M., Tumpey T.M. Use of Animal Models to Understand the Pandemic Potential of Highly Pathogenic Avian Influenza Viruses // Advances in Virus Research. — 2009. — V. 73. — P. 55 — 97.
3. Kassenov M.M., Khairullin B.M., Kydyrbayev Zh.K., Mamadaliyev S.M., Zaitsev V.L., Sultankulova K. T., Ryskeldinova Sh. Zh., Volgin Y. N., Issagulov T. Ye. «Influenza monitoring among birds in Kostanaiskaya Oblast, Republic of Kazakhstan» // Agriculture and biology journal of North America. — 2010 — №1 (5). — P.737 - 739.
4. Зверев В.В., Коровкин С.А., Миронов А.Н., Мельников С.Я., Михайлова Н.А., Костинов М.П., Дылдина Н.В., Жирова С.Н. Оценка реактогенности, безопасности и иммуногенности виросомальной расщепленной инактивированной гриппозной вакцины «Гриффор®» в I фазе клинического исследования // Журнал микробиологии эпидемиологии и иммунобиологии – 2009. — №1. – С. 26-31
5. Mamadaliyev S.M., Sandybayev N.T., Kydyrbayev Zh.K., Khairullin B.M., Zaitsev V.L., Mambetaliyev M.M., Kassenov M.M., Cheryyakova O.V., Ryskeldinova Sh.Zh., Volgin Y.N.,

Nurpeissova A.S., Bogdanov N.V., Sarsenbayeva G.Zh. et al. Basic Results of Developing a Technology for Production of a Pandemic Influenza A/ H5N1 Vaccine// Influenza and other respiratory viruses — 2010. — №5 (1) — P. 350-353.

6. *Кукес В.Г., Булаев В.М., Колхир В.К., и др.* Методические указания по доклиническому изучению новых препаратов, разрабатываемых из природного сырья. // В сб. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармацевтических веществ М., Минздрав РФ — 2000. — С. 346 – 348.

7. Commission of the European Communities. Harmonization of requirements for influenza vaccines. EEC document. – 1991. - V. III. P. 3118.

8. *Kanra G, Marchisio P, Feiterna-Sperling C, et al.* Comparison of immunogenicity and tolerability of a virosome-adjuvanted and a split influenza vaccine in children. // Pediatric Infectious Disease Journal. – 2004. – №23. – P. 300 – 306.

9. WHO/ VSQ Методические рекомендации по разработке лабораторией контроля качества руководства по системам обеспечения качества. – 1998. – P. 36 (<http://www.who.int/gpv-documents>)

10. *Кукес В.Г., Булаев В.М., Колхир В.К. и др.* Методические указания по доклиническому изучению новых препаратов, разрабатываемых из природного сырья // В сб. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармацевтических веществ // Минздрав РФ. - 2000. — С. 346 – 348.

11. Государственная фармакопея Республики Казахстан ГФС РК // Жибек жолы — 2008. – I том. — С. 173 – 175, 195 - 207.

12. СП 3.3.2.561-96 «Государственные испытания и регистрация новых медицинских иммунобиологических препаратов» РФ.

13. European pharmacopoeia 5.0 – 01/2005:0869. P. 671 – 673.

Нурпейсова А.С., Хайруллин Б.М., Касенов М.М., Богданов Н.В., Исагулов Т.Е.

А/Н5N1 ҚҰС ТҰМАУЫНА ҚАРСЫ ОТАНДЫҚ ИНАКТИВТЕЛГЕН ВАКЦИНА ПОЛУФАБРИКАТЫНЫҢ ПИРОГЕНДІГІН САЛЫСТЫРМАЛЫ САРАПТАМАСЫ

Андатпа

Бұл мақалада тұмаудың А/АстанаRG/6:2/2009 штамнан жасалған тұмаудың А/Н5N1 типіне қарсы адамға арналған бірінші отандық «Kazfluvac®» вакцинасының полуфабрикатының эксперименталдық серияларының пирогендік әсері мен бактериалдық эндотоксиндер санын анықтау нәтижелері көрсетілген. Пирогендік әсер қоян венасына зерттелініп отырған препарат егілгеннен сон дене температурасын өлшеу арқылы анықталды. Зерттелініп отырған вакцина полуфабрикат сынамаларының апиогендік әсерін растау мақсатта зерттелініп отырған полуфабрикат сынамаларының құрамындағы бактериалдық эндотоксиндер мөлшері ЛАЛ – тесті арқылы жүргізілді. Жүргізілген зерттеулердің нәтижесі бойынша «Kazfluvac®» вакцинасының полуфабрикатының пирогендік әсері жоқ және құрамындағы бактериалдық эндотоксиндер мөлшері тұрақты болу керек санынан аз болып шықты.

Кілт сөздер: тұмау, екпе, пирогендік әсер, бактериалды эндотоксиндер.

Nurpeisova A.S., Khairullin B.M., Kassenov M.M., Bogdanov N.B., Issagulov T.Ye.

COMPARATIVE ANALYSIS OF ASSESSMENT PYROGENICITY SEMI - FINISHED PRODUCTS FIRST DOMESTIC INACTIVATED VACCINE «KAZFLUVAC®» AGAINST INFLUENZA A/H5N1

Annotation

The paper presents the results of studies on determination of pyrogenicity and content of bacterial endotoxins in a semi-finished experimental batch of the first domestic vaccine «Kazfluvac ®» prepared from kazakhstani strain A/AstanaRG/6: 2/2009 for the healthcare service. Pyrogens were determined by measuring the body temperature of rabbits injected intravenously with investigational product. It was analyzed the content of bacterial endotoxins using LAL - test for confirmation of the apyrogenicity of the semi-finished product under test.. As a result of these studies it had been established that the semi-finished vaccine has no pyrogenicity. As well as it had been revealed that the concentration of bacterial endotoxins in the semi-finished vaccine, which is less than the calculated content limit of bacterial endotoxins.

Key words: vaccine, vaccine, pyrogenicity, bacterial endotoxins.

UDC 664.6/.7

Ospanov A., Muslimov N., Timurbekova A., Jumabekova G., Kamzabekov S.

*Kazakh national agrarian university,
Taraz innovation and humanities university*

RESEARCH POLY-CEREAL ENERGY VALUE OF FOOD PRODUCTS BY EXTRUDING

Annotation

As a result of the conducted experimental studies on the extruding process of poly-cereal mixtures for the preparation of the high readiness products "Fitness" and "Zdorovie", there has been established the dependence of changes in their nutritive value on the variable values of the humidity of the poly-cereal mixture and the frequency of rotation of the extruder working body. The obtained dependences may adequately predict the change in the nutritive value \mathcal{E}_{u_1} and \mathcal{E}_{u_2} (kcal) in the range of the values of factors W (%) and n (min^{-1}) being under the study.

Keywords: poly-cereal mixtures, extrusion technology, extrusion, twin screw extruder, humidity, nutritive value, rotation rate.

Introduction

The modern methods for the formation of free running mass allow shortening the high readiness product manufacturing process. One of the promising areas of technological development as mentioned earlier is the extrusion of the poly-cereal mixture in order to obtain finished food [1, 2].

The meaning of the extrusion process is as follows. In the melting zone of the extruder under the action of the rotating extrusion screw with the increasing of the pressure P (hot extrusion up to 25 MPa), there are the destruction of the polymer structure of the main components of the starch-containing raw materials, the gelatinization and its subsequent gelification caused by the high temperature t (up to 120÷250 °C) occurring when mechanical energy (energy of the friction of the material on the extruder surface, and energy of the internal friction of the material while its moving between the working surfaces of the working body) converses to thermal energy. It results in an active thermomechanical disrupture. After that,