



Определение критериев для исследования флокулирующих свойств полисепта (полигексаметиленгуанидин гидрохлорида)

М. Н. Гусева¹, М. И. Доронин², М. А. Шевченко³, Д. В. Михалишин⁴, Ы. М. Гочмурадов⁵, В. В. Михалишин⁶, Ю. С. Елькина⁷

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия

¹ <https://orcid.org/0000-0002-3997-3390>, e-mail: guseva_mn@arriah.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-4682-6559>, e-mail: doronin@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0001-5436-0042>, e-mail: shvchenko_ma@arriah.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0003-1718-1955>, e-mail: mihalishindv@arriah.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0002-2508-8411>, e-mail: gochmuradov@arriah.ru

⁶ AuthorID: 768290, Scopus Author ID: 14027142200, e-mail: mihalishin@arriah.ru

⁷ <https://orcid.org/0000-0002-2986-8992>, e-mail: elkina_ys@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

При производстве вакцин важную роль играет очистка вирусной суспензии от балластных белков и жиров, высокая концентрация которых вызывает угнетение организма животных или аллергические реакции. На протяжении длительного времени для этих целей применяли полигуанидин и его производные. В настоящее время на рынке предлагают катионный полиэлектролит полигексаметиленгуанидин гидрохлорид, обладающий уникальным сочетанием физико-химических и биоцидных свойств, которые позволяют использовать его практически во всех сферах народного хозяйства. Партии полисепта (полигексаметиленгуанидин гидрохлорида) отличаются друг от друга по флокулирующим свойствам, поэтому возникла необходимость разработать тест-систему для определения качества поступающей продукции, существенно влияющего на потерю антигена вируса при производстве вакцин. Были изучены как флокулирующие свойства, так и потеря иммуногенных компонентов вируса ящура из вирусосодержащей суспензии, а также осмоляемость растворов разной процентной концентрации семи серий полигексаметиленгуанидин гидрохлорида. Установлены критерии пригодности поступающей продукции для производства противоящурных вакцин: проверка в динамике флокулирующих качеств партий полимера при разных его концентрациях (0,007; 0,0105; 0,01575%) на протяжении 24 ч. Через указанное время мутность раствора должна быть не более 30 FNU (формазиновая степень мутности) при концентрациях 0,0105 и 0,01575%. Также необходимо определять осмоляемость растворов полисепта разной процентной концентрации (6, 8, 10, 12, 14%). Значение осмоляемости должно укладываться в следующие границы: 6%-й раствор – 260 ± 20 mOsm; 8%-й – 330 ± 25 mOsm; 10%-й – 400 ± 25 mOsm; 12%-й – 460 ± 30 mOsm; 14%-й – 520 ± 20 mOsm.

Ключевые слова: полигексаметиленгуанидин гидрохлорид, антиген вируса ящура, иммуногенные компоненты, флокуляция, мутность, осмоляемость

Благодарности: Работа выполнена за счет средств ФГБУ «ВНИИЗЖ» в рамках тематики научно-исследовательских работ «Ветеринарное благополучие».

Для цитирования: Гусева М. Н., Доронин М. И., Шевченко М. А., Михалишин Д. В., Гочмурадов Ы. М., Михалишин В. В., Елькина Ю. С. Определение критериев для исследования флокулирующих свойств полисепта (полигексаметиленгуанидин гидрохлорида). *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (3): 254–261. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-254-261.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Гусева Марина Николаевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: guseva_mn@arriah.ru.

Determination of indicators for tests of polysept (polyhexamethylene guanidine hydrochloride) for flocculation properties

M. N. Guseva¹, M. I. Doronin², M. A. Shevchenko³, D. V. Mikhailishin⁴, Y. M. Gochmuradov⁵, V. V. Mikhailishin⁶, Yu. S. El'kina⁷

FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH"), Vladimir, Russia

¹ <https://orcid.org/0000-0002-3997-3390>, e-mail: guseva_mn@arriah.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-4682-6559>, e-mail: doronin@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0001-5436-0042>, e-mail: shvchenko_ma@arriah.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0003-1718-1955>, e-mail: mihalishindv@arriah.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0002-2508-8411>, e-mail: gochmuradov@arriah.ru

© Гусева М. Н., Доронин М. И., Шевченко М. А., Михалишин Д. В., Гочмурадов Ы. М., Михалишин В. В., Елькина Ю. С., 2022

⁶ AuthorID: 768290, Scopus Author ID: 14027142200, e-mail: mihalishin@arriah.ru

⁷ <https://orcid.org/0000-0002-2986-8992>, e-mail: elkina_ys@arriah.ru

SUMMARY

In vaccine production, it is particularly important to purify the virus-containing suspension in order to remove ballast proteins and fats, which, when present in high concentrations, are responsible for depression or allergic reactions in animals. Polyguanidine and its derivatives have long been used for such purposes. At present, the market offers polyhexamethylene guanidine hydrochloride, a cationic polyelectrolyte with a unique combination of physico-chemical and biocidal properties allowing for it to be used in nearly all spheres of economy. Flocculation properties of polysept (polyhexamethylene guanidine hydrochloride) vary from batch to batch, and this has necessitated the development of a test system for determination of the incoming material quality, which has a significant impact on virus antigen concentration during vaccine production. Seven batches of polyhexamethylene guanidine were tested for flocculation properties, changes in FMDV immunogenic component concentration in the virus-containing suspension, osmolality of solutions at different percentage concentrations. Indicators of incoming material suitability for FMD vaccine production were determined. The batches of polysept should be tested for flocculation properties at different concentrations of the polymer (0.007, 0.0105 and 0.01575%) in dynamics during 24 hours. After this period, the turbidity of solutions should not exceed 30 FNU (formazin turbidity) at concentrations of 0.0105 and 0.01575%. It is also necessary to determine the osmolality of polysept solutions at different percentage concentrations (6, 8, 10, 12, 14%). Osmolality values should be within the following ranges: 260 ± 20 mOsm for a 6% solution; 330 ± 25 mOsm for an 8% solution; 400 ± 25 mOsm for a 10% solution; 460 ± 30 mOsm for a 12% solution; 520 ± 20 mOsm for a 14% solution.

Keywords: polyhexamethylene guanidine hydrochloride, foot-and-mouth disease virus antigen, immunogenic components, flocculation, turbidity, osmolality

Acknowledgements: The study was funded by the FGBI "ARRIAH" within the framework of "Veterinary Welfare" research work.

For citation: Guseva M. N., Doronin M. I., Shevchenko M. A., Mihalishin D. V., Gochmuradov Y. M., Mihalishin V. V., El'kina Yu. S. Determination of indicators for tests of polysept (polyhexamethylene guanidine hydrochloride) for flocculation properties. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (2): 254–261. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-254-261.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

For correspondence: Marina N. Guseva, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: guseva_mn@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

При производстве вакцин важную роль играет очистка вирусной суспензии. На протяжении длительного времени для этих целей применяли полигуанидин и его производные. В настоящее время на рынке предлагают полигексаметиленгуанидин гидрохлорид (ПГМГ-гидрохлорид) – катионный полиэлектролит, обладающий уникальным сочетанием физико-химических и биоцидных свойств, которые позволяют использовать его практически во всех сферах народного хозяйства [1–8].

Полигексаметиленгуанидин гидрохлорид представляет собой водорастворимый хлорсодержащий полимер с молекулярной массой 10 000 Да с формулой $[-NH-C=(NH \times HCl)-NH-(CH_2)_6]_n$, в котором хлор находится в виде комплексной соли хлористого водорода с сильным основным азотом соединения. Препарат с эмпирической формулой $(C_7H_{16}N_3Cl)_n$, выпускаемый промышленностью под торговой маркой «Полисепт» (ООО «Фарма-Покров», Россия), представляет собой водорастворимый полимерный продукт, который благодаря качествам катионного электролита в сочетании с полимерностью, а также наличию полярной гуанидиновой и неполярной гексаметиленовой группировкам, придающим адгезивные и поверхностно-активные свойства, имеет широкий спектр применения в народном хозяйстве. ПГМГ-гидрохлорид обладает высокой бактерицидной и фунгицидной активностью. Растворы препарата в 0,05%-й концентрации вызывают гибель грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов в течение 5–25 мин. Продукт является абсолют-

но безопасным для здоровья людей и животных и экологически безвредным для окружающей среды [8–10].

Физико-химические свойства ПГМГ-гидрохлорида: не имеет цвета и запаха (некоторые не очень качественные образцы продукта имеют запах аммиака), пожаробезопасен, взрывобезопасен, полностью растворим в воде, растворим в спирте, не теряет своих свойств при отрицательных температурах, не разлагается, сохраняет свои физико-химические и биоцидные свойства при нагревании до 120 ± 5 °C. Срок годности 20%-го водного раствора – не менее 5 лет, 100%-го концентрата – не менее 7 лет.

Биоцидные свойства ПГМГ-гидрохлорида: относится к биоцидам широкого спектра антимикробной активности в отношении грамотрицательных и грамположительных бактерий (включая микобактерии туберкулеза, легионеллеза), вирусов (в том числе вирусов энтеральных и парентеральных гепатитов, иммунодефицита человека, полиомиелита, гриппа, герпеса и др.), грибов, в том числе плесневых, дрожжевых и дрожжеподобных, грибов рода *Candida*, дерматофитов.

Форма выпуска: в виде кусков (гранул) с содержанием ПГМГ-гидрохлорида от 95–98% или в виде водного раствора с содержанием ПГМГ-гидрохлорида 20%. При необходимости можно получить водные растворы с содержанием действующего вещества до 50% [4].

Получают ПГМГ-гидрохлорид путем взаимодействия гексаметилендиамина с гуанидингидрохлоридом [11, 12].

Отмечена флокулирующая способность полисепта. Его применяют в виде 9%-го раствора в количестве 1,5–2,0 мг сухого вещества на 1 л сточных вод [13].

Таблица 1
Референс-значения формазиновой степени мутности

Table 1
Formazin turbidity reference values

Степень мутности, FNU				
< 0,10	0,1–15	16–100	101–750	> 750
сверхнизкая	низкая	средняя	высокая	сверхвысокая

В производстве инактивированных противоящурных вакцин полисепт добавляют в виде 5 или 10%-го водного раствора до конечной концентрации 0,005–0,03% (рН 7,6–8,0). Флокулированные балластные белки отделяют центрифугированием, сепарированием или отстаем. Увеличение концентрации ПГМГ-гидрохлорида в суспензии выше 0,03% приводит к значительным потерям вируса, наблюдается снижение титра инфекционной активности и количества 146S компонента вируса ящура [10, 14].

К сожалению, иногда партии полисепта отличаются друг от друга флокулирующими и другими свойствами, что приводит к потерям вирусного белка при производстве вакцин, поэтому разработка тест-системы для определения флокулирующих свойств партий ПГМГ-гидрохлорида является актуальной задачей.

Цель исследования – подобрать тест-систему для определения флокулирующих свойств полисепта (ПГМГ-гидрохлорида).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клеточная линия. В работе использовали суспензионную перевиваемую культуру клеток из почки новорожденного сирийского хомячка ВНК-21/SUSP/ARRIAN [15]. Клетки выращивали согласно «Промышленному регламенту на производство вакцины против ящура различных типов» в культиваторах металлических с рабочим объемом до 1800 дм³.

ПГМГ-гидрохлорид получен из ООО «Фарма-Покров» (Россия), ТУ 9392-001-32963622-99, партии: № 343 от 09.07.2020; № 522 от 20.11.2020; № 48 от 21.02.2021; № 57 от 26.02.2021; № 71 от 26.03.2021; № 219 от 27.08.2019; № 168 от 27.08.2021.

Для работы с использованием деминерализованной воды в эмалированной таре готовили 10 и 20%-й растворы, нагревая до 90–100 °С при постоянном помешивании до полного растворения полимера. Полученную смесь охлаждали при температуре 18–25 °С, затем помещали в холодильную камеру (4–8 °С).

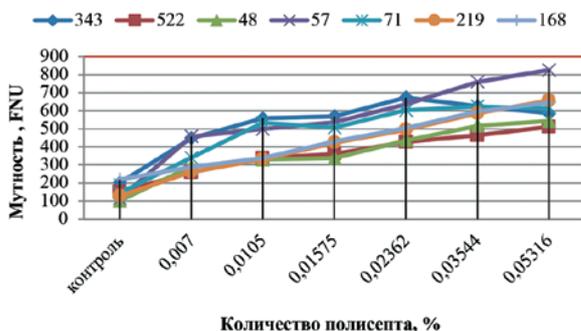


Рис. 1. Динамика изменения мутности в нулевой пробе при добавлении разного количества полисепта

Fig. 1. Turbidity dynamics in the zero-hour sample at different polysept concentrations

Мутность готового раствора ПГМГ-гидрохлорида измеряли на портативном турбидиметре с ИК-диодом HI 98713 (Hanna Instruments, Германия) в соответствии с инструкцией производителя. Значения мутности выражали в FNU (формазинная единица мутности).

В таблице 1 приводятся значения разной степени мутности [16].

Определение осмоляльности испытуемых растворов разной концентрации (6, 8, 10, 12, 14%) проводили с помощью осмометра криоскопического медицинского ОСКР-1М (Россия).

Измерение концентрации общего вирусного белка и компонентов вируса ящура осуществляли согласно «Методическим рекомендациям по определению концентрации 146S, 75S, 12S компонентов вакцинных штаммов культурального вируса ящура в реакции связывания комплемента (РСК)» [17].

Исследование флокулирующих свойств. Испытания проводили следующим образом: во флаконы объемом 0,5 дм³ отбирали инактивированную суспензию вируса ящура по 0,4 дм³, затем вносили 10%-й раствор полисепта до конечных концентраций 0,007; 0,0105; 0,01575; 0,02362; 0,03544; 0,05316% (шаг 1:5). Пробы для измерения мутности отбирали через 0 (нулевая проба), 2, 4, 6, 8 и 24 ч. Концентрации общего вирусного белка и его компонентов определяли через 24 ч после внесения полисепта.

Статистическая обработка данных. Цифровой материал статистически обрабатывали на персональном компьютере общепринятыми методами вариационной статистики с использованием программы Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первых этапах работы исследовали флокулирующую способность различных партий полисепта. Для этого в инактивированную суспензию вируса ящура вносили 10%-й раствор полисепта в различных концентрациях к общему объему. Пробы отбирали через разные промежутки времени. Установлено, что в нулевой пробе с увеличением процента флокулянта происходил рост показателей мутности (рис. 1, табл. 2). В контроле показатели варьировали от $101,5 \pm 19,9$ до $219,3 \pm 10,8$ FNU, а в суспензии с полимером наблюдался рост значений мутности от $258,0 \pm 32,9$ до $826,0 \pm 61,6$ FNU в зависимости от партии полисепта и концентрации вещества (различия существенны, $p < 0,005$).

В литературе отмечается, что адсорбция флокулянта на частицах дисперсной фазы может происходить за счет электростатических, химических взаимодействий, ионного обмена, сил Ван-дер-Ваальса. Эффективность процесса флокуляции, размер и плотность образующихся хлопьев во многом зависят от интенсивности и продолжительности перемешивания и от количества флокулянта. Добавление небольшого количества флокулянтов резко увеличивает прочность хлопьев.

Образование агрегатов частиц, т. е. связывание частиц полимерными мостиками, происходит в результате взаимодействия макромолекул, адсорбированных на частицах дисперсной фазы, со свободными частицами. Адсорбция ионогенных флокулянтов на частицах дисперсной фазы, имеющих противоположный по знаку заряд, происходит главным образом за счет электростатического притяжения. Максимальная скорость флокуляции наблюдается при одинаковой

Таблица 2
Динамика изменения мутности при внесении разного количества полимера ($n = 3$)

Table 2
Turbidity dynamics at different polymer concentrations ($n = 3$)

№ п/п	Номера партий ПГМГ	Время	Значение мутности (FNU)						Контроль
			0,007%	0,0105%	0,01575%	0,02362%	0,03544%	0,05316%	
1	343	0	448,2 ± 12,0	557,8 ± 41,3	568,8 ± 8,6	672,8 ± 17,7	625,4 ± 34,6	585,4 ± 9,5	200,6 ± 69,5
		2	354,2 ± 9,2	238,8 ± 24,6	109,0 ± 15,0	85,6 ± 11,7	88,7 ± 3,0	69,3 ± 4,7	180,0 ± 60,0
		4	307,6 ± 12,6	117,5 ± 29,5	71,2 ± 11,4	53,3 ± 8,2	59,4 ± 5,7	49,4 ± 3,8	173,6 ± 51,3
		6	304,6 ± 11,2	85,5 ± 10,4	51,2 ± 12,8	38,2 ± 8,8	30,6 ± 8,3	19,0 ± 1,4	169,2 ± 52,7
		8	294,4 ± 14,0	70,0 ± 20,5	35,3 ± 10,6	25,8 ± 3,7	24,9 ± 2,3	19,3 ± 3,1	170,4 ± 51,8
		24	54,4 ± 22,4	47,2 ± 11,3	19,6 ± 3,5	13,1 ± 1,5	15,1 ± 2,3	12,5 ± 3,1	142,8 ± 30,1
2	522	0	258,0 ± 32,9	337,3 ± 38,8	361,0 ± 27,6	426,3 ± 29,5	464,0 ± 26,2	511,3 ± 22,3	150,7 ± 27,0
		2	223,3 ± 25,2	216,7 ± 20,8	340,7 ± 24,0	111,3 ± 3,2	85,7 ± 4,5	74,2 ± 3,3	163,0 ± 37,5
		4	184,7 ± 32,3	243,7 ± 40,5	108,7 ± 9,9	70,4 ± 5,1	58,0 ± 2,4	56,6 ± 3,6	163,7 ± 42,7
		6	183,0 ± 28,2	222,0 ± 23,6	70,7 ± 12,1	47,6 ± 0,4	38,4 ± 1,4	34,7 ± 0,29	160,3 ± 39,0
		8	181,0 ± 27,5	147,3 ± 29,7	68,5 ± 18,7	38,1 ± 1,1	29,3 ± 2,6	23,0 ± 3,0	127,0 ± 26,9
		24	155,0 ± 24,5	99,9 ± 0,2	34,9 ± 4,5	23,4 ± 5,2	18,7 ± 1,8	12,5 ± 1,5	124,3 ± 29,9
3	48	0	290,7 ± 37,4	330,0 ± 35,8	337,7 ± 33,3	435,3 ± 55,5	517,7 ± 58,5	543,7 ± 40,9	101,5 ± 19,9
		2	236,67 ± 16,7	88,6 ± 11,3	90,9 ± 19,1	79,3 ± 34,4	102,9 ± 11,5	85,2 ± 13,9	110,7 ± 10,1
		4	159,7 ± 25,9	62,0 ± 8,3	47,8 ± 14,3	49,4 ± 4,0	47,5 ± 8,0	49,7 ± 9,3	101,3 ± 1,5
		6	74,5 ± 21,1	44,4 ± 8,4	40,4 ± 2,7	30,0 ± 3,7	46,0 ± 13,4	35,4 ± 1,5	104,8 ± 9,9
		8	49,1 ± 16,4	29,1 ± 9,9	26,3 ± 8,0	25,0 ± 1,7	32,3 ± 8,8	30,0 ± 3,0	102,4 ± 5,6
		24	41,3 ± 1,6	19,8 ± 5,8	12,7 ± 2,2	15,9 ± 6,7	17,2 ± 4,4	18,6 ± 10,8	101,0 ± 4,6
4	57	0	457,7 ± 40,2	498,3 ± 34,3	536,7 ± 55,9	634,7 ± 37,2	760,0 ± 23,9	826,0 ± 61,6	114,0 ± 16,6
		2	136,0 ± 7,9	105,8 ± 11,6	99,4 ± 5,5	97,0 ± 15,1	90,3 ± 9,5	90,6 ± 2,5	118,7 ± 3,2
		4	81,0 ± 7,9	66,5 ± 3,3	75,2 ± 13,1	69,3 ± 11,8	79,7 ± 13,8	85,8 ± 2,3	101,7 ± 7,6
		6	59,4 ± 0,6	58,2 ± 3,3	46,8 ± 2,2	47,1 ± 1,8	43,3 ± 2,9	38,3 ± 2,9	110,0 ± 10,0
		8	48,5 ± 2,0	37,0 ± 4,0	30,9 ± 0,9	35,2 ± 4,6	31,3 ± 5,5	31,0 ± 1,7	106,7 ± 5,8
		24	23,3 ± 7,5	21,9 ± 1,9	18,8 ± 1,2	15,8 ± 2,7	18,2 ± 1,7	19,6 ± 2,5	76,2 ± 7,7
5	71	0	339,7 ± 10,0	533,3 ± 41,6	506,3 ± 11,85	602,0 ± 13,1	623,3 ± 25,2	613,3 ± 18,6	144,0 ± 30,4
		2	263,7 ± 23,7	110,3 ± 11,9	79,2 ± 4,6	90,3 ± 3,2	102,2 ± 6,9	126,0 ± 4,6	119,0 ± 14,5
		4	83,7 ± 3,3	65,1 ± 3,2	47,9 ± 4,6	62,6 ± 6,2	59,0 ± 8,1	55,0 ± 8,7	105,7 ± 12,5
		6	84,3 ± 4,0	44,6 ± 5,9	35,4 ± 2,4	44,5 ± 4,0	45,6 ± 13,2	57,8 ± 0,4	123,0 ± 21,1
		8	91,7 ± 7,6	41,8 ± 2,2	29,8 ± 6,9	36,0 ± 4,2	40,0 ± 7,9	45,4 ± 11,3	116,7 ± 14,6
		24	39,6 ± 15,9	19,6 ± 2,1	12,9 ± 1,5	12,9 ± 1,5	14,7 ± 1,3	15,1 ± 3,1	111,7 ± 15,5
6	219	0	260,3 ± 11,7	331,7 ± 17,2	423,3 ± 25,2	495,0 ± 59,1	585,0 ± 43,9	657,3 ± 30,6	128,0 ± 19,2
		2	214,3 ± 16,2	101,9 ± 15,0	81,7 ± 11,7	77,4 ± 9,8	82,2 ± 8,1	96,0 ± 3,0	155,3 ± 34,0
		4	82,7 ± 8,3	66,5 ± 19,2	50,5 ± 8,1	47,6 ± 1,9	57,9 ± 6,4	74,0 ± 4,9	114,6 ± 21,6
		6	124,7 ± 70,5	61,8 ± 5,5	44,0 ± 2,6	40,4 ± 7,8	43,7 ± 7,0	59,5 ± 13,0	112,5 ± 17,7
		8	69,8 ± 10,4	46,5 ± 6,0	29,0 ± 3,4	31,0 ± 1,7	32,2 ± 2,8	44,1 ± 4,4	107,5 ± 21,0
		24	34,9 ± 10,9	19,2 ± 5,5	12,0 ± 2,2	10,2 ± 3,6	13,9 ± 1,0	12,6 ± 3,7	117,0 ± 20,7
7	168	0	289,3 ± 7,0	339,3 ± 22,5	429,7 ± 20,0	505,3 ± 26,8	595,7 ± 6,7	645,3 ± 41,3	219,3 ± 10,8
		2	210,0 ± 13,1	99,55 ± 8,0	82,4 ± 10,8	83,1 ± 16,4	86,5 ± 13,8	82,5 ± 2,3	115,7 ± 9,6
		4	76,2 ± 18,1	65,8 ± 14,7	53,2 ± 11,9	54,3 ± 12,8	60,1 ± 4,8	57,4 ± 10,9	110,3 ± 6,4
		6	69,8 ± 7,6	44,7 ± 2,5	42,7 ± 9,1	42,8 ± 8,3	46,4 ± 4,3	54,3 ± 16,3	101,3 ± 4,2
		8	58,0 ± 13,9	34,8 ± 0,8	32,2 ± 5,4	28,7 ± 2,2	34,4 ± 9,6	36,0 ± 13,5	111,0 ± 15,8
		24	30,6 ± 12,5	17,0 ± 0,8	17,5 ± 3,5	16,7 ± 1,6	14,9 ± 1,5	15,8 ± 3,8	99,0 ± 22,3

концентрации покрытых флокулянт и непокрытых частиц [18–20].

Как следует из представлений о химической природе флокулирующих процессов, логично, что с увеличением содержания флокулянта происходило более интенсивное образование хлопьев, что и отмечалось в исследованиях.

При изучении возможности осаждения детрита при концентрации полисепта 0,007% (рис. 2А, табл. 2) установили, что через 4 ч при использовании четырех партий мутность уменьшалась на 68,3–82,0% (в 3,1–5,7 раза) до средних значений степени мутности (различия существенны, $p < 0,005$). При исследовании партии № 48 мутность понижалась через 6 ч на 74% (в 3,9 раза), а партии № 343 – через 24 ч на 88% (в 8,2 раза). При проверке партии полисепта

№ 522 даже через 24 ч не обнаружили осаждения клеточного детрита.

При увеличении в 1,5 раза (0,0105%) количества вносимого флокулянта уже через 2 ч мутность суспензии с полимером шести партий падала на 57–81% (в 2,3–5,3 раза), но все равно оставалась высокой (рис. 2В, табл. 2). Через 4 ч мутность снижалась на 80–87% до средних значений (16–100 FNU) при исследовании пяти партий ПГМГ-гидрохлорида. При использовании партии № 343 при данной концентрации мутность уменьшалась через 6 ч, а при внесении партии № 522 достаточного осаждения клеточного детрита не наблюдали и через 24 ч.

В дальнейших исследованиях при увеличении процентного содержания полисепта до 0,05316% (в 7,5 раза) отмечали быстрое осаждение детрита уже через 2 ч. Через 24 ч (согласно технологическому процессу производства противоящурной вакцины) мутность суспензии была в пределах 10–20 FNU, что являлось хорошим показателем флокуляции (рис. 2С–Е, табл. 2).

Отмечено, что в контрольных образцах без флокулянта также происходило осаждение детрита (рис. 2Г, табл. 2), однако уменьшение мутности за счет естественной седиментации было только в 1,1–2,2 раза, и через 24 ч значение степени мутности оставалось преимущественно более 100 FNU, что является недостаточным для технологического процесса.

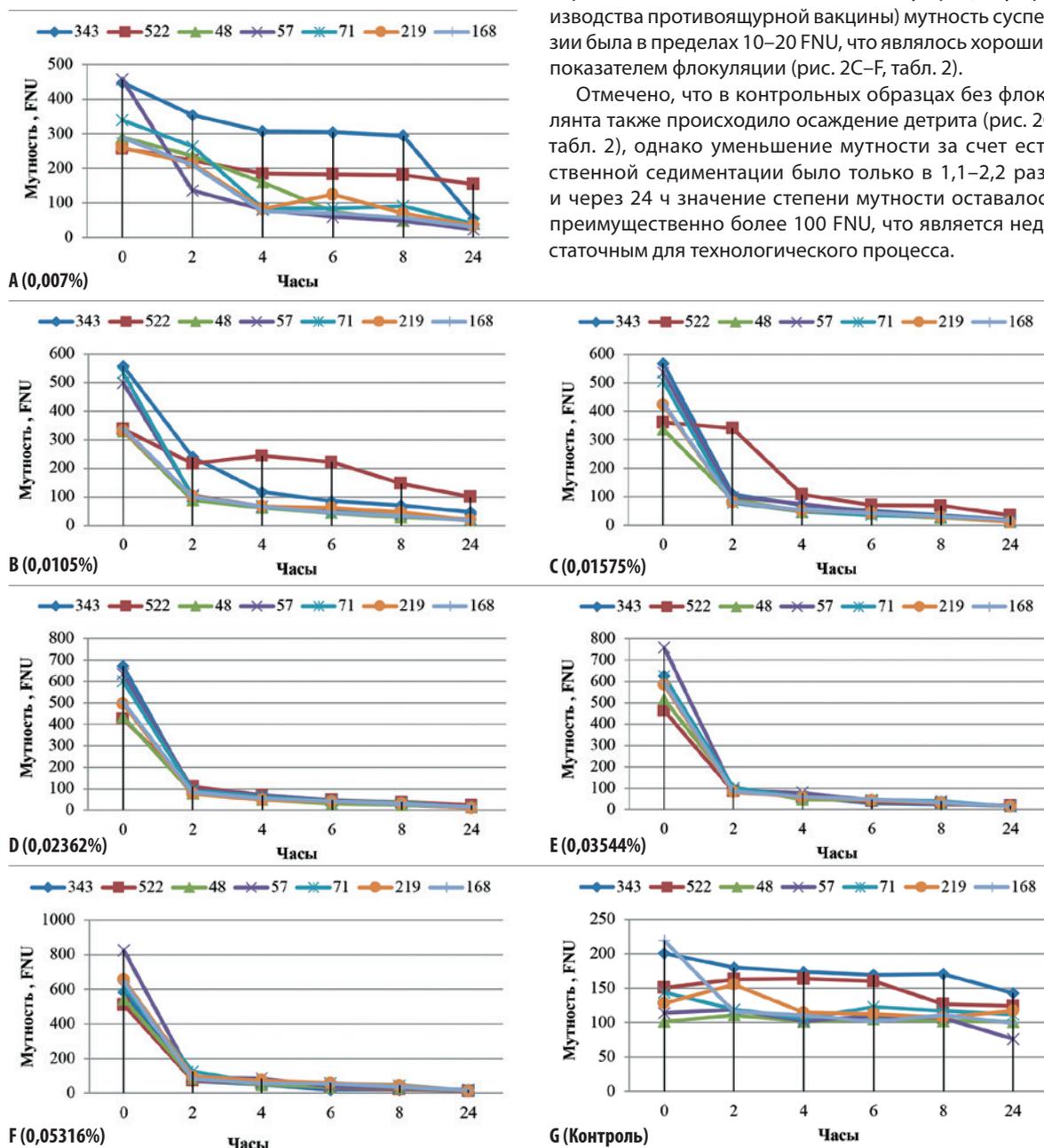


Рис. 2. Динамика изменения флокулирующих свойств партий полисепта при внесении разного количества полимера

Fig. 2. Dynamics of flocculation properties of polysept batches at different polymer concentrations

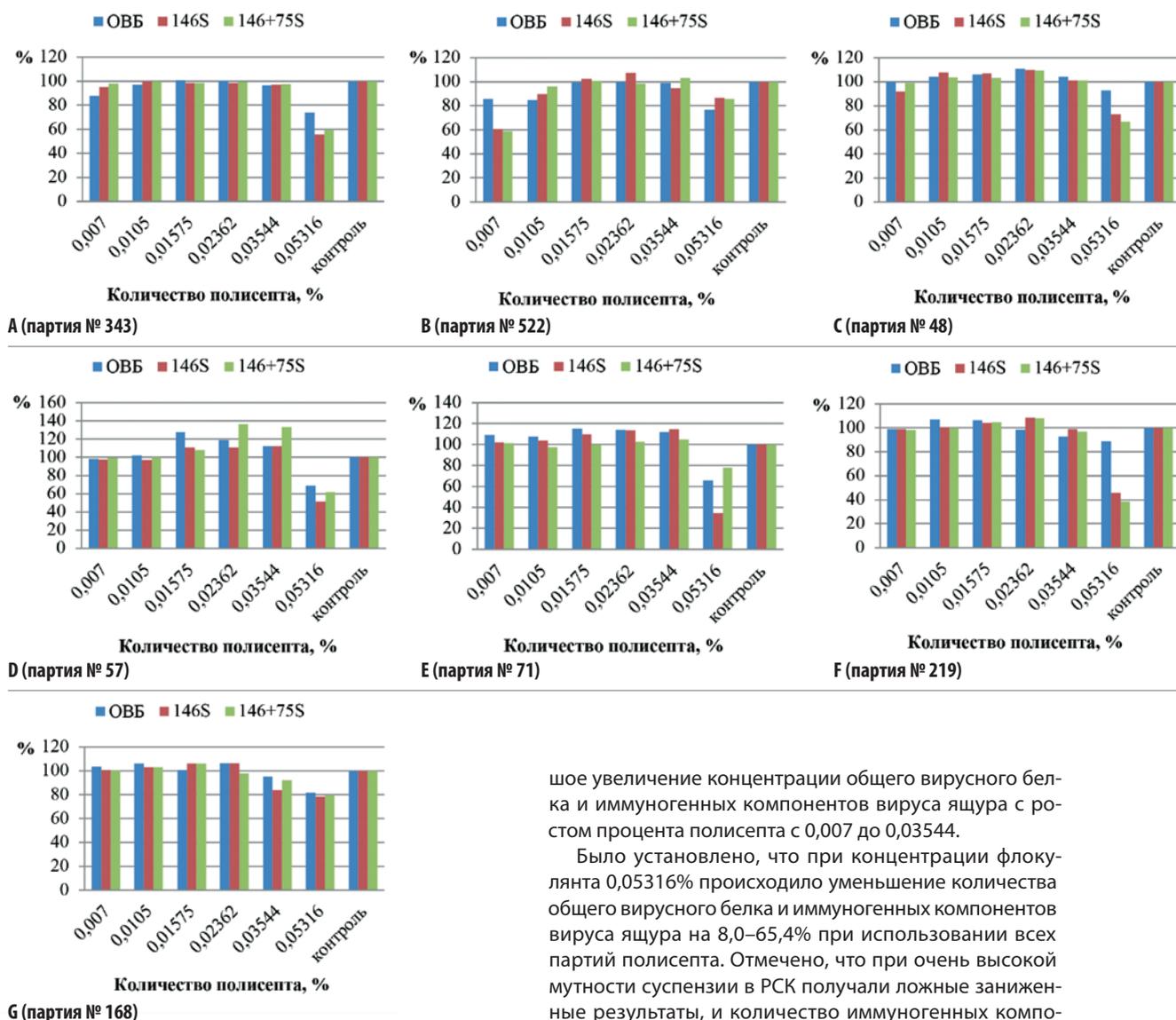


Рис. 3. Динамика относительных изменений общего вирусного белка (ОВБ) и иммуногенных компонентов вируса ящура при использовании разных партий полисепта

Fig. 3. Relative changes in concentrations of total viral protein (TVP) and immunogenic components of FMD virus supplemented with polysept of different batches

На следующих этапах работы контролировали концентрации общего вирусного белка и компонентный состав антигена вируса ящура.

Так как в исследовании применяли антигены разных штаммов вируса ящура, то вычислять потери в абсолютных показателях при использовании разного процентного содержания ПГМГ-гидрохлорида было некорректно. Исходя из этого, потери учитывали в относительных показателях, принимая за 100% показатели в контрольном производственном образце (0,01% полисепта). Результаты исследований представлены на рисунке 3.

Поскольку с повышением процентного содержания флокулянта происходило более качественное осветление антигена, а также снижение антикомплемментарности препаратов антигена вируса при исследовании в РСК, вероятно, этим можно было объяснить неболь-

шое увеличение концентрации общего вирусного белка и иммуногенных компонентов вируса ящура с ростом процента полисепта с 0,007 до 0,03544.

Было установлено, что при концентрации флокулянта 0,05316% происходило уменьшение количества общего вирусного белка и иммуногенных компонентов вируса ящура на 8,0–65,4% при использовании всех партий полисепта. Отмечено, что при очень высокой мутности суспензии в РСК получали ложные заниженные результаты, и количество иммуногенных компонентов было ниже контроля на 14,5–39,3% (рис. 3).

На заключительном этапе проводили измерение осмоляльности растворов флокулянта разной концентрации всех исследуемых партий (рис. 4). Осмоляльность полисепта партии № 522 значительно отличалась от других при всех процентных соотношениях веществ (различия существенны, $p < 0,001$). Так, при использовании 6%-го ПГМГ-гидрохлорида осмоляльность данной партии была 324 ± 4 mOsm, в то время как в других она варьировала от 241 ± 3 до 288 ± 4 mOsm. При содержании в растворе 14% полимера различия были еще выше: 664 ± 8 mOsm – в партии № 522 и 482 ± 5 и 573 ± 10 mOsm – в остальных партиях.

Таким образом, при проверке пригодности партий полисепта для производства противоящурных вакцин целесообразно проверять флокулирующие качества полимера при разных его концентрациях (0,007; 0,0105; 0,01575%) на протяжении 24 ч. Использование более высоких концентраций ПГМГ-гидрохлорида экономически невыгодны.

При производстве противоящурных вакцин используют 10%-й раствор полисепта. Осмоляльность данной процентной концентрации ПГМГ-гидрохлорида всех пригодных для производства партий была в границах 370–440 mOsm. Осмоляльность полимера партии № 522 была выше и составила 504 ± 5 mOsm.

Таблица 3
Границы осмоляльности для определения пригодности полигексаметиленгуанидин гидрохлорида в производстве противоящурных вакцин

Table 3
Osmolality reference values for determination of polyhexamethylene guanidine hydrochloride suitability for FMD vaccine production

Концентрация ПГМГ-гидрохлорида, %	Значение осмоляльности, mOsm
6	260 ± 20
8	330 ± 25
10	400 ± 25
12	460 ± 30
14	520 ± 20

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлены критерии пригодности ПГМГ-гидрохлорида для производства противоящурных вакцин:

- динамика флокулирующих свойств партии полимера при использовании различных концентраций (0,0105 и 0,01575%) в течение 24 ч. Спустя это время при использовании полисепта в данных концентрациях мутность должна быть не более 30 FNU (табл. 2);
- определение осмоляльности растворов ПГМГ-гидрохлорида разной процентной концентрации (6, 8, 10, 12, 14%), которая должна укладываться в диапазон референс-значений, указанных в таблице 3.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Воинцева И. И., Нижник Т. Ю., Стрикаленко Т. В., Баранова А. И. Антикоррозийные свойства обеззараживающих реагентов на основе полигексаметиленгуанидина гидрохлорида. *Вода: химия и экология*. 2018; 10–12 (117): 99–108. eLIBRARY ID: 36759773.
2. Оробец К. С., Худокормов А. А., Карасева Э. В., Самков А. А., Волченко Н. Н., Джимаков С. С. Дезинфицирующее средство для защиты строительных материалов от биоповреждений. Патент № 2740197 Российская Федерация, МПК А61L 2/18 (2006.01), А61L 101/02 (2006.01), А61L 101/32 (2006.01), С09D 5/14 (2006.01). ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет». № 2020113857. Заявл. 03.04.2020. Оpubл. 12.01.2021. Бюл. № 2.
3. Хаширова С. Ю., Жанситов А. А., Хараева З. Ф., Хаширова С. С. Дезинфицирующий полимерный антисептик. Патент № 2754222 Российская Федерация, МПК А01N 33/12 (2006.01), А01N 37/04 (2006.01), А01P 1/00 (2006.01). ООО «Полимерные композиты». № 2021105456. Заявл. 03.03.2021. Оpubл. 30.08.2021. Бюл. № 25.
4. ПГМГ-гидрохлорид – полигексаметиленгуанидин гидрохлорид. Институт эколого-технологических проблем (РОО ИЭТП). Режим доступа: <http://polyguanidines.ru> (дата обращения: 01.12.2021).
5. Курицкая Т. О., Наумов Н. М., Железнякова А. А., Володин А. Д., Наумов М. М. Использование препаратов полигексаметиленгуанидин гидрохлорида (ПГМГ ГХ) в лечении ран. *Региональный вестник*. 2017; 1 (6): 2–9. eLIBRARY ID: 30607322.
6. Новиков М. Г., Иванов С. И., Малышев В. В., Кукушкин И. В. Новые бесхлорные технологии в очистке и обеззараживании питьевой воды. *Водоочистка. Водоподготовка. Водоснабжение*. 2012; 10 (58): 48–56. eLIBRARY ID: 17949253.
7. Очиров О. С., Разуваева Я. Г., Бадмаев Н. С., Стельмах С. А., Могнонов Д. М. Ранозаживляющее действие гидрогеля на основе полигуанидинов. *Acta Biomedica Scientifica*. 2016; 1 (5): 117–120. DOI: 10.12737/23405.
8. Вакуленко В. В., Гембицкий П. А. Способ защиты картофеля и овощей при хранении. Патент № 2048721 Российская Федерация, МПК А01N 47/44 (2006.01), А01С 1/00 (2006.01), А01N 57/20 (2006.01), А01P 15/00 (2006.01). Аграрное научно-техническое общество «Антекс-Биос». № 94001523/15. Заявл. 21.01.1994. Оpubл. 27.11.1995.
9. Пустовалов И. В., Емелин Е. А., Щерба В. Ю. Способ определения массовой доли основного вещества в полигексаметиленгуанидин-

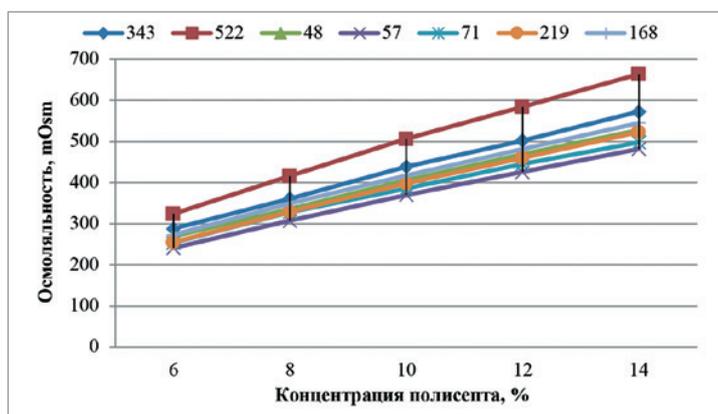


Рис. 4. Динамика роста осмоляльности с увеличением процента полисепта

Fig. 4. Osmolality dynamics at different polysept concentrations

гидрохлориде. Патент № 2336522 Российская Федерация, МПК G01N 31/16 (2006.01). Общество с ограниченной ответственностью «ФАРМА-ПЛОКРОВ». № 2007125199/04. Заявл. 03.07.2007. Оpubл. 20.10.2008. Бюл. № 29.

10. Лезова Т. Н., Улупов Н. А., Борисов В. В., Михалишин В. В., Дудников А. И., Гембицкий П. А. Способ очистки и стерилизации культурального вируса ящура. Патент № 2054039 Российская Федерация, МПК С12N 7/02, А61К 39/135. Всероссийский научно-исследовательский институт защиты животных. № 5026100/13. Заявл. 07.02.1992. Оpubл. 10.02.1996.

11. Половкин В. В., Глухов И. С., Антонов М. И. Способ получения полигексаметиленгуанидин гидрохлорида. Патент № 2489452 Российская Федерация, МПК С08G 73/00 (2006.01), А61L 2/16 (2006.01). Общество с ограниченной ответственностью «Компания Вереск». № 2012117497/04. Заявл. 26.04.2012. Оpubл. 10.08.2013. Бюл. № 22.

12. Соловьев В. М. Способ получения полигексаметиленгуанидин гидрохлорида. Патент № 2191606 Российская Федерация, МПК А61L 2/16 (2006.01), С07С 279/00 (2006.01). № 2001116239/14. Заявл. 18.06.2001. Оpubл. 27.10.2002.

13. Кондауров Б. П., Архипов Г. С., Захарова А. А., Чесунов В. М., Бахшиева Л. Т., Александров В. И. и др. Флокулянт для очистки хромосодержащих сточных вод. Патент № 2033394 Российская Федерация, МПК С02F 1/56 (2006.01), С02F 101/22 (2006.01), С02F 103/24 (2006.01). Акционерное общество «Рязанский кожевенный завод». № 4954072/26. Заявл. 25.06.1991. Оpubл. 20.04.1995.

14. Стариков В. А., Михалишин Д. В., Лезова Т. Н., Борисов В. В. Совершенствование методов очистки культурального вируса ящура. *Ветеринария и кормление*. 2014; 2: 21–22. Режим доступа: <http://vetkorm.ru/magazines/veterinariya-i-kormlenie-2-mart-aprel-2014g>.

15. Лозовой Д. А., Гусева М. Н., Михалишин Д. В., Доронин М. И., Манин Б. Л., Шишкова А. А. и др. ВНК-21/SUSP/ARRIAN – перевиваемая суспензионная сублиния клеток почки новорожденного сирийского хомячка, предназначенная для репродукции вирусов ящура, бешенства, парагриппа-3, болезни Ауески при производстве противоящурных вакцин, а также для изготовления диагностических и профилактических ветеринарных биопрепаратов. Патент № 2722671 Российская Федерация, МПК С12N 5/10 (2006.01). ФГБУ «ВНИИЗЖ». № 2019131190. Заявл. 01.10.2019. Оpubл. 02.06.2020. Бюл. № 16.

16. Instruction Manual: HI 98713 ISO Portable Turbidimeter. Hanna Instruments. Режим доступа: <https://www.manualslib.com/manual/464554/Hanna-Instruments-Hi-98713.html>.

17. Лозовой Д. А., Михалишин Д. В., Стариков В. А., Шишкова А. А., Доронин М. И., Медведева Н. Н. и др. Методические рекомендации по определению концентрации 146S, 75S, 12S компонентов вакцинных штаммов культурального вируса ящура в реакции связывания комплекта (РСК). Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2017.

18. Волков В. А. Коллоидная химия. Поверхностные явления и дисперсные системы: учебник. 2-е изд., испр. СПб.: Лань; 2015. 672 с. Режим доступа: https://www.rulit.me/data/programs/resources/pdf/Volkov_Kolloidnaya-himiya_RuLit_Me_566490.pdf.

19. Максимикина Л. М., Журавлев В. А. Применение метацида для очистки шахтных вод. *Водоснабжение и санитарная техника*. 1995; 10: 13.

20. Онищенко А. В., Кузьмин А. А., Старостин В. Н., Мазитова В. А., Косточко А. В. Влияние флокулянтов на электрокинетические и седиментационные свойства водных суспензий нитратов целлюлозы. *Химия и технология воды*. 1996; 18 (4): 352–355.

REFERENCES

- Vointseva I. I., Nizhnik T. Yu., Strikalenko T. V., Baranova A. I. Anticorrosive properties of disinfectant reagents based on polyhexamethylene guanidine hydrochloride. *Water: Chemistry and Ecology*. 2018; 10–12 (117): 99–108. eLIBRARY ID: 36759773. (in Russ.)
- Orobets K. S., Khudokormov A. A., Karaseva E. V., Samkov A. A., Volchenko N. N., Dzhimak S. S. Disinfectant for protecting building materials from bodily damages. Patent No. 2740197 Russian Federation, Int. A61L 2/18 (2006.01), A61L 101/02 (2006.01), A61L 101/32 (2006.01), C09D 5/14 (2006.01). FGBOU VO "Kubanskiy gosudarstvennyy universitet". No. 22020113857. Date of filing: 03.04.2020. Date of publication: 12.01.2021. Bull. No. 2. (in Russ.)
- Khashirova S. Yu., Zhansitov A. A., Kharaeva Z. F., Khashirova S. S. Disinfecting polymer antiseptic. Patent No. 2754222 Russian Federation, Int. A01N 33/12 (2006.01), A01N 37/04 (2006.01), A01P 1/00 (2006.01). OOO "Polimernye kompozity". No. 2021105456. Date of filing: 03.03.2021. Date of publication: 30.08.2021. Bull. No. 25. (in Russ.)
- PGMG-gidrokhlid – poligeksametilenguanidin gidrokhlid = PHMG hydrochloride – polyhexamethylene guanidine hydrochloride. Institute of Environmental and Technological Problems (ROO IETP). Available at: <http://polyguanidines.ru> (date of access: 01.12.2021). (in Russ.)
- Kuritskaya T. O., Naumov N. M., Zheleznyakova A. A., Volodin A. D., Naumov M. M. Ispol'zovanie preparatov poligeksametilenguanidin gidrokhlida (PGMG GKh) v lechenii ran = The use of polyhexamethylene guanidine hydrochloride (PHMG HCl) preparations in wound treatment. *Regional'nyy vestnik*. 2017; 1 (6): 2–9. eLIBRARY ID: 30607322. (in Russ.)
- Novikov M. G., Ivanov S. I., Malyshev V. V., Kukushkin I. V. Novye beskhlornyye tekhnologii v oчитstke i obezrazazhivanii pit'evoy vody = New chlorine-free technologies in potable water purification and decontamination. *Vodoочистка. Vodopodgotovka. Vodosnabzhenie*. 2012; 10 (58): 48–56. eLIBRARY ID: 17949253. (in Russ.)
- Ochirov O. S., Razuvaeva Y. G., Badmaev N. S., Stelmakh S. A., Mogonov D. M. Wound-healing effect of polyguanidine-based hydrogel. *Acta Biomedica Scientifica*. 2016; 1 (5): 117–120. DOI: 10.12737/23405. (in Russ.)
- Vakulenko V. V., Gembitskiy P. A. Method for protecting potatoes and vegetables in storage. Patent No. 2048721 Russian Federation, Int. A01N 47/44 (2006.01), A01C 1/00 (2006.01), A01N 57/20 (2006.01), A01P 15/00 (2006.01). Agrarnoe nauchno-tekhnicheskoe obshchestvo "Anteks-Bios". No. 94001523/15. Date of filing: 21.01.1994. Date of publication: 27.11.1995. (in Russ.)
- Pustovalov I. V., Emelin E. A., Shcherba V. Ju. Method of determination of main substance main fraction in polyhexamethyleneguanidinechloride. Patent No. 2336522 Russian Federation, Int. G01N 31/16 (2006.01). Obshchestvo s ogranichennoj otvetstvennost'ju "FARMA-POKROV". No. 2007125199/04. Date of filing: 03.07.2007. Date of publication: 20.10.2008. Bull. No. 29. (in Russ.)
- Lezova T. N., Ulupov N. A., Borisov V. V., Mikhailishin V. V., Dudnikov A. I., Gembitskiy P. A. Method of purification and sterilization of cultured foot-and-mouth virus. Patent No. 2054039 Russian Federation, Int. C12N 7/02, A61K 39/135. Vserossiyskiy nauchno-issledovatel'skiy institut zashchity zhivotnykh. No. 5026100/13. Date of filing: 07.02.1992. Date of publication: 10.02.1996. (in Russ.)
- Popovkin V. V., Glukhov I. S., Antonov M. I. Method of producing polyhexamethylene guanidine hydrochloride. Patent No. 2489452 Russian Federation, Int. C08G 73/00 (2006.01), A61L 2/16 (2006.01). Obshchestvo s ogranichennoj otvetstvennost'ju "Kompaniya Veresk". No. 2012117497/04. Date of filing: 26.04.2012. Date of publication: 10.08.2013. Bull. No. 22. (in Russ.)
- Solov'ev V. M. Method of synthesis of polyhexamethylene-guanidine hydrochloride. Patent No. 2191606 Russian Federation, Int. A61L 2/16 (2006.01), C07C 279/00 (2006.01). No. 2001116239/14. Date of filing: 18.06.2001. Date of publication: 27.10.2002. (in Russ.)
- Kondaurov B. P., Arkhipov G. S., Zakharova A. A., Chesunov V. M., Bakhshieva L. T., Aleksandrov V. I., et al. Flocculant for treatment of chrome-containing sewage. Patent No. 2033394 Russian Federation, Int. C02F 1/56 (2006.01), C02F 101/22 (2006.01), C02F 103/24 (2006.01). No. 4954072/26. Date of filing: 25.06.1991. Date of publication: 20.04.1995. (in Russ.)
- Starikov V., Mikhailishin D., Lyozova T., Borisov A. Improvement of methods of cultural FMD virus purification. *Veterinariya i kormlenie*. 2014; 2: 21–22. Available at: <http://vetkorm.ru/magazines/veterinariya-i-kormlenie-2-mart-aprel-2014g>. (in Russ.)
- Lozovoy D. A., Guseva M. N., Mikhailishin D. V., Doronin M. I., Manin B. L., Shishkova A. A., et al. BHK-21/SUSP/ARRIAH – continuous suspension subline of newborn syrian hamster kidney cells, intended for reproduction of foot-and-mouth disease viruses, rabies, parainfluenza-3, Aujeszky's disease in producing antiviral vaccines, as well as for making diagnostic and preventive veterinary biopreparations. Patent No. 2722671 Russian Federation, Int. C12N 5/10 (2006.01). FGBI "ARRIAH". No. 2019131190. Date of filing: 01.10.2019. Date of publication: 02.06.2020. Bull. No. 16. (in Russ.)
- Instruction Manual: HI 98713 ISO Portable Turbidimeter. Hanna Instruments. Available at: <https://www.manualslib.com/manual/464554/Hanna-Instruments-HI-98713.html>.
- Lozovoy D. A., Mikhailishin D. V., Starikov V. A., Shishkova A. A., Doronin M. I., Medvedeva N. N., et al. Methodical guidelines for determination of concentration of 146S, 75S, 12S components of vaccine strains of culture FMD virus with complement fixation test (CFT). Vladimir: FGBI "ARRIAH"; 2017. (in Russ.)
- Volkov V. A. Colloid chemistry. Surface phenomena and dispersed systems: a textbook. 2nd ed., revised. Saint Petersburg: Lan'; 2015. 672 p. Available at: https://www.rulit.me/data/programs/resources/pdf/Volkov_Kolloidnaya-himiya_RuLit_Me_566490.pdf. (in Russ.)
- Maksimkina L. M., Zhuravlev V. A. Primenenie metatsida dlya oчитstki shakhtnykh vod = The use of metacid for purification of mine waters. *Water Supply and Sanitary Technique*. 1995; 10: 13.
- Onishchenko A. V., Kuz'min A. A., Starostin V. N., Mazitova V. A., Kostochko A. V. The effect of flocculants on electrokinetic and sedimentation properties of aqueous suspensions of cellulose nitrates. *Journal of Water Chemistry and Technology*. 1996; 18 (4): 352–355. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 18.05.2022

Поступила после рецензирования / Revised 02.06.2022

Принята к публикации / Accepted 17.06.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Гусева Марина Николаевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Доронин Максим Игоревич, кандидат биологических наук, заведующий сектором биотехнологии лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Шевченко Максим Александрович, ведущий ветеринарный врач лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Михалишин Дмитрий Валерьевич, доктор ветеринарных наук, заведующий лабораторией профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Гочмурадов Ыкхлас Мурадович, аспирант, ветеринарный врач лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Михалишин Валерий Васильевич, доктор ветеринарных наук, профессор, главный эксперт информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Елькина Юлия Сергеевна, ведущий биолог лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Marina N. Guseva, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Maksim I. Doronin, Candidate of Science (Biology), Leading Researcher, Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Maksim A. Shevchenko, Leading Veterinarian, Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Dmitry V. Mikhailishin, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Gochmuradov Ykhlal Muradovich, Post-Graduate Student, Veterinarian, Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Valery V. Mikhailishin, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Chief Expert, Information and Analysis Centre, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Yulia S. El'kina, Leading Biologist, Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.