

И.М.Жулидов, Е.Г.Абрамова, А.К.Никифоров, М.В.Антонычева, И.В.Шульгина, О.А.Лобовикова, Н.И.Вахрушина, А.Д.Белоусов, С.А.Еремин, М.Н.Киреев, Н.А.Шарапова, Л.В.Савицкая, Т.А.Михеева, Л.Н.Минаева, М.В.Галкина, Р.А.Свинцов, Т.В.Аленкина, Ю.Г.Васин, Г.В.Базлов

БЕЗОТХОДНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ПРОИЗВОДСТВЕ ГЕТЕРОЛОГИЧНОГО АНТИРАБИЧЕСКОГО ИММУНОГЛОБУЛИНА

ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов

Предложен комплексный подход к утилизации отходов производства гетерологичного антирабического иммуноглобулина – эритроцитарной массы, фибрина, спиртосодержащего стока. Методом десорбции с поверхности эритроцитов выделен специфический иммуноглобулин. Выявлено, что дополнительный выход иммуноглобулина после обработки эритроцитов неионными детергентами составляет от 10 до 19 %. Из высушенной методом распыления эритроцитарной массы получена ценная белковая подкормка для лошадей-производителей. Из фибрина методом ферментативного гидролиза получена питательная основа для изготовления микробиологических сред. В результате масштабированного выращивания штаммов *Vibrio cholerae* способом глубинного культивирования установлено, что показатель эффективности сред на основе гидролизата фибрина в 1,5–2 раза выше по сравнению со средами на основе гидролизата мяса и казеина. Разработана технология регенерации этилового спирта после цикла риванол-спиртового осаждения гамма-глобулина. Объемная доля этилового спирта после регенерации составила (93±1) %. Показано, что восстановленный спирт пригоден в качестве осадителя при фракционировании антирабической сыворотки. Таким образом, разработанные технологии позволяют утилизировать отходы производства антирабического иммуноглобулина и предусматривают дальнейшее использование продуктов переработки в производстве МИБП.

Ключевые слова: гетерологичный антирабический иммуноглобулин, отход производства, эритроциты, гидролизат фибрина, питательная среда, регенерация, десорбция.

I.M.Zhulidov, E.G.Abramova, A.K.Nikiforov, M.V.Antonycheva, I.V.Shul'gina, O.A.Lobovikova, N.I.Vakhrushina, A.D.Belousov, S.A.Eremin, M.N.Kireev, N.A.Sharapova, L.V.Savitskaya, T.A.Mikheeva, L.N.Minaeva, M.V.Galkina, R.A.Svintsov, T.V.Alenkina, Yu.G.Vasin, G.V.Bazlov

Non-Waste Alternative Technologies in the Production of Heterologous Anti-Rabies Immunoglobulin

Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov

Presented is a comprehensive approach to utilization of the wastes that appear in the process of heterologous anti-rabies immunoglobulin production (packed red cells, fibrin, and alcohol-containing products). Specific immunoglobulin is extracted from the surface of red blood cells using desorption technique. Additional yields of immunoglobulin after exposure of erythrocytes to non-ionic detergent amount to 10–19 % of the output. Rich protein supplement feeding for horses-producers is obtained from spray-dried packed red cells. Solid nutritious substrate for microbiological media production is obtained from fibrin using enzymic hydrolysis method. The efficiency of the fibrin hydrolysate-based media is 1.5–2 times higher in comparison with that of the media based on the digest of meat and casein, as demonstrated by the results of *Vibrio cholerae* scaled cultivation. Furthermore, worked out is the technology of ethanol regeneration after the rivanol-ethanolic precipitation of gamma globulin, alcohol content by volume being (93±1) % after the regeneration. It is demonstrated that the regenerated alcohol can be used as a precipitator in the process of anti-rabies serum fractioning. All in all, the developed techniques make it possible to utilize the wastes of anti-rabies immunoglobulin production and provide for further use of derivatives while producing medical immunobiological preparations.

Key words: heterologous anti-rabies immunoglobulin, wastes, erythrocytes, fibrin hydrolysate, nutrient medium, regeneration, desorption.

Проблема охраны окружающей среды от загрязнения отходами в последние десятилетия привлекает все большее внимание. На предприятиях Российской Федерации ежегодно образуется около 7 млрд т твердых и 90 млн т токсичных промышленных отходов, из которых 87 млн т относятся к III и IV классам опасности. Количество отходов потребления, или твердых бытовых отходов (ТБО), ежегодно возрастает в России на 30 млн т. После вступления в силу Федерального закона от 27.12.2002 г. № 184-ФЗ «О техническом регулировании» идет процесс наработки общих и специальных технических регламентов. Одним из серьезных вопросов, требующих должного отражения в регламентируемых документах, является решение

вопросов обращения с отходами производства.

На предприятиях по производству медицинских иммунобиологических препаратов (МИБП) образуется значительное количество отходов, в том числе биологических, которые перерабатываются в значительной степени и используются в качестве кормовых добавок или утилизируются как отходы производства и вывозятся на полигон ТБО, что способствует ухудшению экологической обстановки.

Проблему утилизации некоторых отходов производства МИБП пытались решить во Всесоюзном государственном научно-исследовательском институте контроля, стандартизации и сертификации ветеринарных препаратов, где была разработана техно-

логия выделения белков – серопротеина и альбумина из отходов глобулинового производства с помощью полиэтиленгликолевого метода для получения гидролизатов. Доказана возможность использования отходов вакцинно-сывороточного производства (туши животных, лошадиные эритроциты, фибрин, «отработанные» куриные эмбрионы) в качестве основы питательных сред для культивирования микроорганизмов [7, 11, 12]. Из отхода производства холерной вакцины был выделен ферментный комплекс для получения гидролизата белкового сырья [3]. В литературе описан упрощенный и удешевленный способ выделения С4 и С3 компонентов компонента человека из отходов промышленного фракционирования плазмы крови по Кону [4, 5]. Из отходов промышленного фракционирования человеческой плазмы был получен противогерпетический иммуноглобулин человека, состоящий на 97 % из IgG [2]. Имеются данные о получении трансфер-факторного препарата «Аффинолейкин» из лейкоцитарной массы – не утилизируемого отхода производства альфа-интерферона человека [6].

Однако комплексные программы по утилизации основных типов отходов, образующихся в процессе производства МИБП, в частности, гетерологичного антирабического иммуноглобулина (АИГ), в литературе не описаны.

Целью работы явилась разработка эффективных, ресурсосберегающих и экономичных методов переработки отходов производства АИГ за счет внедрения оригинальных биотехнологических способов.

Материалы и методы

В работе использовали отходы производства гетерологичного АИГ – фибрин и эритроцитарную массу из гипериммунной сыворотки крови лошадей-продуцентов, а также спиртосодержащий сток после риванол-спиртового осаждения гамма-глобулина.

Фибрин образуется на этапе дефибринации из иммунной плазмы крови лошадей. Плазму смешивали с 30 % раствором кальция хлорида из расчета 2,6 см³ на 1 дм³ плазмы и выдерживали в течение 18 ч при температуре (6±2) °С. Сгусток фибрина разрушали с помощью гомогенизатора и отделяли на сепараторе АСГ-3М при (9000±200) об./мин.

Гидролизат фибрина для использования в качестве основы питательных сред готовили методом ферментации фаршем из поджелудочной железы КРС [12]. Физические свойства и химический состав гидролизата фибрина определяли по методикам, изложенным в Государственной Фармакопее (ГФ) Российской Федерации XII, ч. 1, ФС 42-3874-99 «Физико-химические, химические и иммунохимические методы контроля медицинских иммунобиологических препаратов», МУК 4.1/4.2588-96 «Методы контроля медицинских иммунобиологических препаратов, вводимых людям» и МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических пита-

тельных сред».

Биологические показатели питательной среды контролировали в соответствии МУ 3.3.2.2124-06 «Контроль диагностических питательных сред по биологическим показателям для возбудителей чумы, холеры, сибирской язвы, туляремии, бруцеллеза, легионеллеза».

Эффективность применения питательных сред, приготовленных на основе гидролизата фибрина, оценивали по результатам экспериментального масштабированного выращивания производственных штаммов *Vibrio cholerae* O1 М-41 и *V. cholerae* не O1 105. Выращивание микроорганизмов в жидкой питательной среде из гидролизата фибрина проводили способом глубинного культивирования с принудительной аэрацией, перемешиванием и подкормкой 40 % раствором глюкозы.

Эритроцитарную массу высушивали методом распыления на установке КЯУЛ 101325.002. Для выделения иммуноглобулина с поверхности эритроцитов использовали метод десорбции [8]. В десорбционных растворах и полученном из них иммуноглобулине определяли содержание белка биуретовым методом и его однородность – электрофоретически на пленках из ацетатцеллюлозы согласно ФС 42-3874-99, а также значение рН потенциометрическим методом согласно ГФ XII, ч. 1.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием программы «STATISTICA».

Уровень специфической активности десорбированного АИГ и иммуноглобулина, выделенного с использованием регенерированного этилового спирта, определяли двумя способами: *in vivo* – биологическим методом в реакции нейтрализации вируса бешенства на белых мышах [15], и *in vitro* – в дот-иммуноанализе [14]. Статистическую обработку результатов реакции нейтрализации проводили по методу Reed и Muench [15].

Спиртосодержащий отход (фугат) собирали в накопитель на конечном этапе выделения гамма-глобулина после прохождения смеси фильтрата антирабической сыворотки и 25 % этилового спирта через сверхцентрифугу СГО 100 и перерабатывали на сконструированной оригинальной регенерационной установке. Определение концентрации этилового спирта проводили ареометрическим методом на ареометре АСП-3 с погрешностью спирта по объему 0,5 %.

Результаты и обсуждение

Согласно биотехнологической схеме получения гетерологичного АИГ, на этапе взятия гипериммунной крови у лошадей-продуцентов отходом являются форменные элементы крови, в том числе эритроциты; на этапе фракционирования – фибрин, получаемый из иммунной плазмы; после осаждения гамма-глобулина риванол-спиртовым методом – спиртосодержащий сток. Данная схема не предусматривает

переработку вышеперечисленных отходов и они уничтожаются путем сжигания эритроцитов, вывоза фибрина на свалку ТБО и сброса спиртосодержащих стоков в очистные сооружения. Между тем, первые два отхода являются ценными биологическими продуктами и могут быть использованы в качестве пищевой подкормки для продуцентов и дополнительного источника выхода иммуноглобулинов [1, 8, 13], а также в производстве питательных сред [9, 10]. Регенерированный этиловый спирт может применяться в производстве АИГ в качестве осадителя гамма-глобулиновой фракции или дезинфектанта.

Предложенный нами комплексный подход к утилизации отходов производства АИГ включает в себя как их переработку, так и дальнейшее использование продуктов переработки в производстве препарата. Так, для получения качественной белковой подкормки продуцентов была разработана биотехнологическая схема высушивания эритроцитарной массы методом распыления на установке марки КЯУЛ 101325.002, где высокая температура обеспечивается нагнетаемым в сушильную камеру горячим воздухом. В ходе экспериментов подобран оптимальный температурный режим высушивания эритроцитов, предохраняющий их от обугливания: на входе в камеру – 120 °С, на выходе – 95 °С. Для лучшей адсорбции эритроцитов на наполнителе был подобран оптимальный размер фторопластовых частиц, который соответствовал $(0,4 \pm 0,1)$ см³ и обеспечивал эффект «псевдокипящего слоя» при конвекционной сушке. Предварительно перед высушиванием проводили разбавление сырца-эритроцитарной массы водой, очищенной до конечной концентрации 20 %. Скорость высушивания составила 5 кг/ч из расчета по сухой массе. Получены 3 экспериментальные серии сухих эритроцитов общим весом 19,2 кг из 300 дм³ жидкой эритроцитарной массы.

Второе направление использования эритроцитов иммунной крови продуцентов связано с их высокой сорбционной емкостью. Опыт производств МИБП (столбнячных, дифтерийных, стафилококковых сывороток и иммуноглобулинов) свидетельствует, что эритроциты крови с сорбированными на их поверхности белками могут являться резервным источником дополнительных количеств специфических иммуноглобулинов. Использование метода десорбции позволяет увеличить выпуск МИБП на 20–35 %. Для обработки эритроцитарной массы предложен метод десорбции с использованием неионных детергентов Tween 80 и Span 20 с последующим выделением гамма-глобулина риванол-спиртовым методом. Показано, что оптимальным является десорбционный раствор, содержащий 0,9 % натрия хлорида с 0,5 % неионного детергента Tween 80 (рН 8,2). Были получены три экспериментальные серии АИГ, десорбированного с поверхности эритроцитов. При изучении основных качественных характеристик десорбированного иммуноглобулина зарегистрированы показатели, соответствующие таковым в фармакопейной

статье на коммерческий препарат АИГ. Так, значение специфической активности препарата серии № 1, выявленное *in vivo*, составило 345 МЕ/мл (титр антител – 1:3094) при участии в реакции 527 LD₅₀ вируса бешенства, в то время как фармакопейный показатель составляет не менее 150 МЕ/мл при участии в реакции 100–1000 LD₅₀; активность, определенная *in vitro* в иммунозолотом анализе, соответствовала титру 1:5000 для серий № 1, 2 и 1:2500 для серии № 3 (активность коммерческого АИГ в иммунозолотом анализе 1:2500–1:10000). Содержание белка в препарате экспериментальных серий № 1–3 составило $(9,1 \pm 0,1)$ %, что также соответствовало регламентируемому показателю – $(10,0 \pm 1,0)$ %. Результаты электрофореза подтвердили однородность десорбированного иммуноглобулина – была получена практически 100 % фракция гамма-глобулина без примесей альбумина, α , β -глобулинов.

Следовательно, для увеличения выпуска антирабического иммуноглобулина без повышения численности лошадей-продуцентов имеется резерв – иммуноглобулины, сорбированные на поверхности форменных элементов иммунной крови. Выявлено, что дополнительный выход иммуноглобулина после обработки эритроцитов десорбирующим раствором составляет от 10 до 19 %.

Еще одним отходом после фракционирования гипериммунной плазмы является фибрин – ценнейшее белоксодержащее сырье. Фибрин содержит полноценный по аминокислотному составу белок, близкий к белку мышечной ткани – миозину, а также необходимые для питания бактерий соли натрия, калия, железа, фосфора, кальция. В отличие от белков мяса животных, фибрин состоит только из аминокислот и свободен от небелковых включений, что ускоряет расщепление белков на аминокислоты. В связи с этим вполне обосновано использование фибрина как альтернативы мясному сырью и казеину для изготовления питательных сред.

Для получения питательной основы фибрин подвергали гидролизу ферментами поджелудочной железы крупного рогатого скота при рН $(8,0 \pm 0,1)$. Предварительно проводили термическую обработку фибрина при 100 °С в течение 30 мин и для лучшей денатурации белка применяли механическое измельчение. Содержание аминного азота в гидролизате фибрина составило от 0,5 до 0,7 %. Физико-химические показатели экспериментальной и контрольных основ представлены в таблице.

Полученный гидролизат использовали в качестве основы для приготовления питательных сред. По физико-химическим и биологическим показателям питательные среды на основе гидролизата фибрина при выращивании на них тест-штаммов холерного вибриона и чумного микроба удовлетворяли требованиям МУК 4.2.2316-08.

Об эффективности применения питательных сред, приготовленных на основе гидролизата фибрина, свидетельствуют данные экспериментального

Сравнительная характеристика физико-химических свойств белковых гидролизатов

Показатель	Гидролизат фибрина (экспериментальные серии)	Гидролизат мяса КРС (производственные серии)	Гидролизат казеина (производственные серии)
Описание	Прозрачная жидкость темно-коричневого цвета	Прозрачная жидкость темно-коричневого цвета	Прозрачная жидкость темно-коричневого цвета
Сухой остаток, %	6,06±1,16	8,05±0,99	10,27±0,62
Пептон, %	1,84±0,12	2,49±0,93	2,51±0,11
Углеводы, мкг	425±0,00	*	*
Железо, мкг	393±12	404±171	438±138
Фосфор неорганический, %	0,03±0,01	0,05±0,01	0,045±0,01
Фосфор общий, %	0,048±0,01	0,08±0,02	0,1±0,005
Хлориды, %	0,26±0,01	0,08±0,00	*
Кальций, %	0,0005±0,00	0,0018±0,0006	0,01±0,00
Магний, %	0,0022±0,0002	0,0032±0,0021	0,017±0,02
Общий азот, %	1,1±0,17	1,16±0,12	1,43±0,11
Аминный азот, %	0,56±0,11	0,72±0,08	0,93±0,11
% расщепления белка	48,55±4,02	61,83±3,17	64,13±2,15

*Не определяли.

масштабированного выращивания производственных штаммов *V. cholerae* O1 M-41, используемого для изготовления холерной вакцины, и *V. cholerae* не O1 105, применяемого в качестве адсорбента при производстве холерной диагностической агглютинирующей сыворотки O1. При культивировании *V. cholerae* не O1 105 в ферментере объемом 0,250 м³ с использованием среды из гидролизата фибрина показатель эффективности составил 40 млрд м.к./мл, тогда как на традиционной среде из гидролизата мясного сырья – 18 млрд м.к./мл. При культивировании *V. cholerae* O1 M-41 в ферментере объемом 0,5 м³ на среде из гидролизата фибрина этот показатель имел значение 158 млрд м.к./мл, в то время как на традиционной среде из казеинового гидролизата – 111,4 млрд м.к./мл. Следовательно, показатель эффективности сред, полученных на основе гидролизата фибрина, в 1,5–2 раза выше по сравнению со средами, полученными на основе гидролизата мяса и казеина.

Если учесть, что для производства 100 дм³ питательной среды требуется 40 дм³ гидролизата фибрина, а за год от 80 лошадей возможно получить свыше 200 кг фибрина или 200 дм³ питательной основы, то, используя данный отход, можно ежегодно производить не менее 500 дм³ питательного бульона для глубинного культивирования микроорганизмов.

Переработку еще одного отхода производства АИГ – спиртосодержащего стока, образующегося после осаждения гамма-глобулина 96 % этиловым спиртом, проводили на оригинальной регенерационной установке, сконструированной на базе емкости-реактора РЗРЯ рн-6/0,63-1нж. Процесс регенерации спиртосодержащего отхода (фугата) проводили при максимальной температуре кипения 98 °С, в дефлегматоре на всем протяжении цикла температуру поддерживали в пределах (78,5±0,5) °С. Производительность регенерационной установки – (7±0,5) л/ч. Объемная доля этилового спирта после

процесса регенерации составила (93±1) %. Первые 3–5 дм³ легколетучих фракций (хлороформсодержащие соединения) и остатки после регенерации с 1 % содержанием спирта утилизировали в очистные сооружения.

Восстановленный спирт использовали в качестве осадителя при экспериментальном фракционировании антирабической сыворотки. АИГ трех экспериментальных серий, полученных с использованием регенерируемого спирта, по основным показателям полностью соответствовал требованиям спецификации на препарат.

За год при производстве АИГ образуется свыше 16000 дм³ спиртосодержащих стоков, из которых возможно получить методом регенерации более 2900 дм³ 92–94 % этилового спирта.

Таким образом, разработаны схемы переработки отходов производства АИГ – эритроцитарной массы, фибрина и спиртосодержащих стоков. Показано, что продукты переработки отходов могут быть включены в биотехнологическую схему производства АИГ, а также служить сырьем для производства питательных сред. Помимо экономических приоритетов, настоящие разработки имеют и другие значимые аспекты, так как ведут к снижению экологической нагрузки на окружающую среду.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Емельянов Б.А., Чепулис Г-К.С., Соколов Я.А. Способ получения иммуноглобулинов. Патент РФ № 2128508.
2. Кострова О.М., Алешкин В.А. Способ получения препарата противогерпетического иммуноглобулина человека. Патент РФ № 2051054.
3. Кузьмиченко И.А., Громова О.В., Киреев М.Н., Плотников О.П., Грачева И.В., Виноградова Н.А. и др. Способ получения питательной основы и питательная среда для культивирования микроорганизмов рода *Yersinia* и *Vibrio*. Патент РФ № 2360962.
4. Матвеевская Н.С., Алешкин В.А. Способ выделения С4-компонента комплемента человека. Патент РФ № 94025651.
5. Матвеевская Н.С., Алешкин В.А. Способ выделения фрагмента 3СD компонента С3 комплемента человека. Патент РФ № 2068694.
6. Мац А.Н., Перепечкина Н.П., Воейкова Е.С., Райхер Л.И.,

Райхер И.И., Старкова Б.А., Пархоменко Т.Г., Майчук Ю.Ф., Позднякова В.В. Способ получения препарата «Аффинолейкин» для противоинойфекционной иммунотерапии. Патент РФ № 2076715.

7. Николаева Г.И. Опыт применения гидролизатов ферментных элементов крови в вакцинном производстве. Ученые записки Казанского Ветеринарного Института им. Н.Э.Баумана. 1976; 123:64–8.

8. Перишин Б.Б., Кузьмин С.Н., Филатов Н.Н. Сорбированные иммуноглобулины животных – резерв для увеличения выпуска лечебных антитоксических и диагностических сывороток. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 1994; 4:96–100.

9. Равилов А.З., Гильмутдинов Р.Я., Хусаинов М.Ш. Микробиологические среды. Казань: Фен; 1999. 398 с.

10. Раскин Б.М. Отечественные сухие питательные среды и перспективы их разработки. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 1985; 5:25–32.

11. Ситьков В.И., Заерко В.И., Сурмило А.П., Тутов И.К., Колпакова Р.Г. Способ получения гидролизатов и использование их при изготовлении питательных сред для культивирования микроорганизмов. Патент РФ № 2103345.

12. Телишевская Л.Я. Белковые гидролизаты. Получение, состав, применение. Аграрная наука. 2000; 295 с.

13. Файвишевский М.Л. Переработка крови убойных животных. М.: Колос; 1993. 726 с.

14. Шарاپова Н.А., Абрамова Е.Г., Никифоров А.К. и др. Определение активности антирабических сывороток и препарата гетерологичного антирабического иммуноглобулина *in vitro* в дот-иммуноанализе. Пробл. особо опасных инф. 2010; 1(103):63–6.

15. Meslin F.-X., Kaplan M.M., Koprowski H., editors. Laboratory techniques in rabies. 4th ed. Geneva: WHO; 1996. 469 p.

References (Presented are the Russian sources in the order of citation in the original article)

1. Emel'yanov B.A., Chepulis G.K.S., Sokolov Ya.A. [Method of immunoglobulin obtainment]. RF Patent № 2128508.

2. Kostrova O.M., Aleshkin V.A. [Method of obtainment of the humanized zoster immunoglobulin preparation]. RF Patent № 2051054.

3. Kuz'michenko I.A., Gromova O.V., Kireev M.N., Plotnikov O.P., Gracheva I.V., Vinogradova N.A. et al. [Method of obtainment of the nutrient substrate. Nutrient medium for *Yersinia* and *Vibrio* microorganism cultivation]. Patent № 2360962.

4. Matveevskaya N.S., Aleshkin V.A. [Method of segregation of C4 component of the human complement]. RF Patent № 94025651.

5. Matveevskaya N.S., Aleshkin V.A. [Method of segregation of the 3CD component of C3 human complement]. RF Patent № 2068694.

6. Mats A.N., Perepechikina N.P., Voeikova E.S., Raikher L.I., Raikher I.I., Starkova B.A., Parkhomenko T.G., Maichuk Yu.F., Pozdnyakova V.V. [Method of obtainment of "Affine-endolysin" preparation for anti-infective immune therapy]. RF Patent № 2076715.

7. Nikolaeva G.I. [Experience in Application of Blood Corpuscle Hydrolysates in the Process of Vaccine Production]. Uch. Zapiski N.E. Bauman Kazan Vet. Institute. 1976; 123:64–8.

8. Pershin B.B., Kuz'min S.N., Filatov N.N. [Immobilized animal immunoglobulins as a reserve supply for the increase in output of therapeutic anti-toxin and diagnostic sera]. Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. 1994; 4:96–100.

9. Ravilov A.Z., Gil'mutdinov R.Ya., Khusainov M.Sh. [Microbiological Media]. Kazan: Fen; 1999. 398 p.

10. Raskin B.M. [Domestic dry nutrient media and their future developments]. Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. 1985; 5:25–32.

11. Sit'kov V.I., Zaerko V.I., Surmilo A.P., Tutov I.K., Kolpakova R.G. [Method of hydrolysate obtainment and its use in the process of nutrient media production for microorganism cultivation]. RF Patent № 2103345.

12. Telishevskaya L.Ya. [Protein Hydrolysates. Obtainment, Chemical Composition/Formula, Application]. Agrarnaya Nauka. 2000; 295 p.

13. Faivishvsky M.L. [Blood Processing of Slaughter Animals]. M.: Kolos; 1993. 726 p.

14. Sharapova N.A., Abramova E.G., Nikiforov A.K. et al. [Determination of the activity of the anti-rabies sera and heterologous anti-rabies immunoglobulin *in vitro* in the dot immunoassay]. Probl. Osobo Opasn. Infek. 2010; 103:63–6.

Authors:

Zhulidov I.M., Abramova E.G., Nikiforov A.K., Antonycheva M.V., Shul'gina I.V., Lobovikova O.A., Vakhrushina N.I., Belousov A.D., Eremin S.A., Kireev M.N., Sharapova N.A., Savitskaya L.V., Mikheeva T.A., Minaeva L.N., Galkina M.V., Svintsov R.A., Alenkina T.V., Vasin Yu.G., Bazlov G.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". Universitetskaya St., 46, Saratov, 410005, Russia. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Об авторах:

Жулидов И.М., Абрамова Е.Г., Никифоров А.К., Антоньчева М.В., Шульгина И.В., Лобовикова О.А., Вахрушина Н.И., Белоусов А.Д., Еремин С.А., Киреев М.Н., Шарাপова Н.А., Савицкая Л.В., Михеева Т.А., Минаева Л.Н., Галкина М.В., Свинцов Р.А., Аленикина Т.В., Васин Ю.Г., Базлов Г.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Поступила 11.11.10.