

С.В.Генералов, Е.Г.Абрамова, А.К.Никифоров, Ж.В.Матвеева

## КЛЕТочНЫЕ КУЛЬТУРЫ В ПРОИЗВОДСТВЕ ГЕТЕРОЛОГИЧНОГО АНТИРАБИЧЕСКОГО ИММУНОГЛОБУЛИНА

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

В обзоре обозначены основные современные направления получения антирабического иммуноглобулина с улучшенными свойствами. Проанализированы результаты исследований, связанные с применением вируса бешенства, выращенного на клеточных культурах, в производстве гетерологичного антирабического иммуноглобулина.

*Ключевые слова:* гетерологичный антирабический иммуноглобулин, культура клеток, профилактика бешенства, рабический антиген.

S.V.Generalov, E.G.Abramova, A.K.Nikiforov, Zh.V.Matveeva

### Cell Structures in Heterologous Anti-Rabies Immunoglobulin Production

*Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov*

This paper reviews basic modern trends in obtainment of anti-rabies immunoglobulin with enhanced properties. One of these trends is associated with the substitution of organ-tissue antigen by cultural antigen at the stage of producer immunization. Analyzed are the results of research connected with the use of the cell-cultures grown Rabies virus in production of heterologous anti-rabies immunoglobulin. The study testifies of applicability of the transferred *Vero* cell culture as a substrate for rabies antigen preparation. In addition to this, specified are the advantages of the rabies cultural antigen usage over the organ-tissue one at the stage of hyper-immune serum production.

*Key words:* heterologous anti-rabies immunoglobulin, cell culture, rabies prophylaxis, rabies antigen.

Бешенство относится к группе особо опасных инфекционных болезней человека и животных, характеризующихся поражением центральной нервной системы и абсолютной летальностью. Несмотря на проведение профилактических мероприятий, бешенство по-прежнему остается одним из наиболее распространенных зооантропонозов, угрожающим здоровьем людей. По оценке ВОЗ, в мире ежегодно получают укусы и имеют контакты с подозреваемыми на бешенство животными около 10 млн чел., 4 млн из их числа получают специальную медицинскую помощь, количество летальных случаев составляет от 35000 до 55000 [36]. В России, по данным Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, число ежегодных обращений за антирабической помощью составляет более 400000 чел., на детей в возрасте до 14 лет приходится около 25 %. На протяжении последних лет инфекцию регистрировали в семидесяти субъектах страны.

В случаях нанесения повреждения человеку больным или подозрительным на бешенство животным необходимо использование антирабического иммуноглобулина (АИГ) [36]. В основе методики комбинированных прививок АИГ и вакциной лежит идея удлинения инкубационного периода бешенства за счет пассивного введения антител и формирования активного иммунитета в результате курса вакцинации. В настоящее время в мировой практике здравоохранения применяют препараты АИГ, полученные

из иммунных сывороток человека или животных.

Гомологичный АИГ, получаемый из сыворотки крови человека, отличается хорошей переносимостью и редкими случаями возникновения аллергических реакций. Высокая стоимость и небольшой объем препарата, связанный с трудностями иммунизации волонтеров, ограничивает спрос на препараты гомологичного антирабического иммуноглобулина в развивающихся странах с низким доходом населения [36].

За рубежом на стадии изучения находится вопрос получения моноклональных антител к вирусу бешенства, а также молекул иммуноглобулинов и их фрагментов, созданных методами генной инженерии [27, 28, 37]. Их использование должно способствовать снижению развития постэкспозиционного анафилактического шока. Вместе с тем, обладая узкой специфичностью действия, препараты нового поколения могут быть недостаточно эффективными в результате возможной мутации антигенного состава вируса бешенства. Сложные методы получения и контроля максимально очищенных препаратов ведут к их высокой себестоимости.

Производством гетерологичных препаратов АИГ в основном занимаются национальные фармацевтические компании развивающихся стран. Данное обстоятельство связано со сравнительно низкой стоимостью производимого препарата. Некоторые мировые фармацевтические компании (Behring, Sclavo, Verba) отказались от производства гетерологичного

АИГ, причиной тому является давление, которое оказывают на них защитники прав животных [35], поскольку в качестве продуцентов в большинстве стран используют лошадей [11].

В России зарегистрировано два препарата АИГ из сыворотки крови лошади – производства Российского научно-исследовательского противочумного института «Микроб» (Россия) и ЗАО «Биолек» (Украина). Оба препарата успешно применяются на территории Российской Федерации и стран СНГ.

На сегодняшний день гетерологичный АИГ можно считать приемлемой и безопасной альтернативой гомологичному препарату, так как современные методы очистки иммуноглобулиновых препаратов позволяют значительно снизить частоту побочных эффектов, проявляющихся в результате применения АИГ животного происхождения, до 1–2 % [1, 36]. В середине прошлого столетия значение данного показателя составляло около 46 % [20], а в конце восьмидесятых годов – около 6 % [34].

Вопрос дальнейшего усовершенствования гетерологичных препаратов АИГ, даже при такой сравнительно небольшой доле возникновения побочных эффектов, остается актуальным. Перспективны разработки более совершенных способов концентрации и очистки антирабической сыворотки, значительно повышающие специфическую активность и безопасность готового препарата. Отечественные и зарубежные исследователи предлагают использовать различные варианты осаждения, хроматографии, ферментативной обработки, фильтрации [1, 3, 10, 18, 23]. По мнению некоторых исследователей, использование в качестве продуцентов сыворотки вместо лошадей других домашних животных, антитела которых являются менее аллергенными, позволит получать более безопасный в иммунологическом отношении препарат [9, 26, 31]. Продуцентами иммунной сыворотки могут быть крупный рогатый скот, свиньи, овцы, домашняя птица.

Другим направлением совершенствования препарата гетерологичного АИГ является применение для иммунизации продуцентов антигена, полученного на культуре животных клеток. В настоящее время многие производители гетерологичного антирабического иммуноглобулина для иммунизации продуцентов сыворотки применяют инактивированный фиксированный вирус бешенства, полученный из мозговой ткани животных. Органотканевой антиген характеризуется не только более низким уровнем иммуногенности по сравнению с культуральным, но и содержанием в нем балластной мозговой ткани, вызывающей образование в сыворотке продуцентов антител-нейротоксинов [8, 36]. В связи с этим применение клеточных культур в качестве основной системы для репродукции вирусов вполне обосновано возможностью получать стандартизированный препарат антигена, максимально очищенный, с небольшим числом чужеродных антигенов в виде клеточных компонентов.

На сегодняшний день репродукцию вируса бе-

шенства успешно осуществляют на различных клеточных системах. Для производства вакцин используют первично-трипсинизированные и перевиваемые клетки почек сирийского хомяка (ПСХ) [4, 8, 19, 22], куриные и перепелиные фибробласты [6, 25], зародышевые клетки свиньи, собаки [30], диплоидные клетки человека [14], клетки почечного эпителия зеленой мартышки (Vero) [12, 13, 16, 21]. В настоящее время выявлено бесспорное преимущество перевиваемых клеток в качестве клеточного субстрата для репродукции вируса бешенства по сравнению с первично-трипсинизированными, что связано с высокой потенцией роста клеток, стандартностью биологических свойств и возможностью крупномасштабного культивирования в ферментерах большого объема. Необходимо отметить, что в России из всего разнообразия перевиваемых клеточных культур для производства МИБП официально разрешена только клеточная линия Vero (Ишкильдин И.Б. и соавт., 2005; Петрова И.И. и соавт., 2005). Она не представляет опасности для человека при производстве биопрепаратов, существенным моментом является отсутствие онкогенных свойств у данной клеточной линии [30, 32]. За рубежом клеточная линия Vero успешно применяется при производстве вакцин против бешенства, полиомиелита, японского энцефалита. Отечественные исследователи также предлагают использование клеточной линии Vero для производства антирабической концентрированной клеточной вакцины [12].

Вирус бешенства, репродуцированный на культуре первично-трипсинизированных клеток ПСХ, был предложен для иммунизации продуцентов антирабической сыворотки P.Lepine и P.Atanasiu в конце шестидесятых годов прошлого века [4, 5]. Вирус бешенства в клеточной культуре ПСХ накапливался в меньшем титре и обладал меньшей иммуногенностью, чем вирус, полученный на мозговом субстрате. Поэтому для иммунизации требовалось либо применение больших доз антигена, что индуцировало образование низкоафинных антител в течение длительного времени, либо введение в организм продуцента живого вируса.

Более эффективным оказался способ получения профилактической лошадиной антирабической сыворотки, предложенный С.А.Consales *et al.* [15]. Для иммунизации продуцентов авторы использовали вирус бешенства (штамм Пастера), репродуцированный на перевиваемой культуре клеток почек хомяка (ВНК). В результате применения культурального антигена накопление необходимого титра антител в организме продуцента происходило в два раза быстрее, объем иммунизирующей дозы удалось сократить в пять раз.

Вирус, репродуцированный на клеточной линии ВНК, также предложен для получения активной овечьей антирабической сыворотки [2]. Авторами разработана схема комбинированной иммунизации овец органотканевым и культуральным антигеном (штамм Щелково-51С). В сравнении с предложенным ранее способом, не предусматривавшим применения куль-

турального антигена [7], такой подход позволяет получать сыворотку с более высоким титром антител.

Однако наибольшие успехи в области применения культурального вируса бешенства в производстве гетерологичного иммуноглобулина были получены при использовании перевиваемой линии клеток Vero. Отечественными исследователями установлено, что антиген вируса бешенства полученный на перевиваемой культуре клеток Vero, при равной иммуногенности с вирусом, репродуцированным на первичной культуре клеток ПСХ, позволяет получать более высокий титр вируснейтрализующих антител (Ситник Н.П. и соавт., 2005). После цикла иммунизации морских свинок нативной антирабической вакциной, полученной на культуре перевиваемых клеток Vero, титр антител в сыворотке составил 46,2 МЕ/мл. При использовании вакцины, полученной на культуре клеток ПСХ, титр антител в сыворотке морских свинок был равен 11,7 МЕ/мл. При сравнении гуморального ответа лошадей показано, что титр защитных антител был выше в 1,5 раза в иммунной сыворотке лошади, иммунизированной антирабической вакциной, полученной на культуре перевиваемых клеток Vero, по сравнению с титром в сыворотке лошади, иммунизированной вакциной, полученной на культуре клеток ПСХ. Подобный эффект позволил рассматривать возможность использования клеточной линии Vero для репродукции вируса бешенства при производстве антирабического иммуноглобулина [9]. Иммунизация лошадей инактивированным, очищенным и концентрированным культуральным вирусом бешенства (штамм Внуково-32) с адьювантами фосфатом алюминия и нуклеинатом натрия позволяет получать антирабическую сыворотку со специфической активностью 133,0–211,2 МЕ/мл и содержанием гамма-глобулина 44,5–58,2%. Активность иммуноглобулина, полученного из такой сыворотки, составила  $(439,4 \pm 17,3)$  МЕ/мл [10].

Предложены способы получения антирабической сыворотки с использованием коммерческих культуральных вакцин Rabipur (Индия), полученных на клетках куриных эмбрионов, и PVRV (Франция) – на клетках Vero [17]. В качестве продуцентов использовали мулов. Преимущество иммунизации животных культуральными вакцинами установлено в сравнении с органотканевым антигеном из ткани головного мозга лошади. Значения титров антител сывороток, полученных при использовании антигена на основе культуральных вакцин Rabipur и PVRV, а также вирусной мозговой суспензии к 56-му дню эксперимента составили соответственно 139, 118, 18 МЕ/мл.

T.Luekrajan сообщает о практическом применении культурального антигена в серийном производстве АИГ в Таиланде [24]. К 8-й неделе иммунизации титр антител достигает значения 70 МЕ/мл. Активность антирабического иммуноглобулина, производимого в Таиланде с использованием вакцины, полученной на клеточной линии Vero, соответствует требованиям ВОЗ и составляет не менее 200 МЕ/мл.

O.Ozkan *et al.* при иммунизации лошадей предлагают использовать не подкожный, а внутрикожный способ введения культурального рабического антигена [29]. В отличие от подкожного введения рабического антигена, при внутрикожном и внутримышечном накопление антител происходит быстрее и в большем количестве. Подобное явление может быть связано с более эффективным взаимодействием компонентов вируса с сетью нервных рецепторов (Иванов В.С., 2001). Значение титра антител полученной сыворотки составило 320 МЕ/мл уже через пять недель после первой иммунизации.

Таким образом, несомненна перспектива применения перевиваемой клеточной линии Vero для изготовления культурального рабического антигена в производстве гетерологичного АИГ.

Применение высокоактивного препарата антирабического иммуноглобулина, полученного с использованием культурального антигена, позволит улучшить качество оказываемой антирабической помощи за счет снижения риска возникновения побочных эффектов в виде нейропаралитических осложнений у пациентов.

Следует отметить, что получение более активного и безопасного в аллергическом отношении препарата далеко не единственное преимущество использования культурального антигена. Например, небольшой объем вводимой дозы антигена упрощает рутинную процедуру иммунизации [17, 29]. При использовании культурального антигена у животных практически не происходит возникновения абсцессов в месте введения в отличие от применения органотканевого. Использование культурального рабического антигена на этапе получения гипериммунной сыворотки является альтернативой трудоемким процессам интрацеребрального заражения животных, их вскрытия и приготовления вирусосодержащей мозговой суспензии, и позволит не только сделать производство препарата более этичным, но и соответствовать рекомендациям ВОЗ по исключению применения органотканевого антигена в производстве антирабического иммуноглобулина [36]. Систематизировав вышеуказанные материалы и определив направление научного поиска сотрудники ФГУЗ РосНИПЧИ «Микроб» начали разработку технологии получения культурального рабического антигена для производства гетерологичного АИГ.

Работа выполнена по государственному контракту № 63-Д от 29.06.2010 в рамках реализации федеральной целевой программы «Национальная система биологической и химической безопасности Российской Федерации 2009–2013 годы».

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамова Е.Г., Никифоров А.К., Лобовикова О.А., Еремин С.А., Васин Ю.Г., Михеева Т.А. и др. Производство гетерологичного антирабического иммуноглобулина – итоги первых пяти лет. Пробл. особо опасных инф. 2010; 3(105):58–62.
2. Бабкин М.В., Стегний Б.Т., Ничик С.А., Прохорятова Е.В., Кучерявенко Р.А., Годовский А.В. Способ получения гипериммунной антирабической сыворотки. Патент UA 19403.

3. Генералов С.В., Абрамова Е.Г., Никифоров А.К., Храмова Е.М., Шенелёв И.А., Савицкая Л.В. и др. Получение препарата F(ab')<sub>2</sub>-фрагментов антирабического иммуноглобулина с использованием иммобилизованного пепсина. Пробл. особо опасных инф. 2008; 3(97):53–6.
4. Каплан М.М., Копровски Х., редакторы. Методы лабораторных исследований по бешенству. Женева: ВОЗ; 1975. 360 с.
5. Карпов С.П., Прегер С.М., Синельников Г.Е., Федоров Ю.В. Гипериммунные сыворотки. Томск; 1976. 380 с.
6. Нагичева Ф.Г., Бектемирова М.С., Матевосян К.Ш., Бектемиров Т.А., Пиле Э.Р. Репродукция фиксированного вируса бешенства в культуре перепелиных фибробластов, растущих в суспензии. Вopr. вирусол. 1980; 4:429–31.
7. Недосеков В.В., Сливко И.А., Куриннов В.В., Луницин А.В., Груздев К.Н. Способ получения гипериммунной антирабической сыворотки. Патент РФ 2196607.
8. Селимов М.А. Бешенство. М.: Медицина; 1978. 336 с.
9. Ситник Н.П., Загидуллин Н.В., Исрафилов А.Г., Еникеева Л.Ф., Мухачева А.В., Шафеева Р.С. и др. Способ получения высокоспецифичной гетерологичной антирабической сыворотки. Патент РФ 2322503.
10. Ситник Н.П., Исрафилов А.Г., Загидуллин Н.В., Алсынбаев М.М., Тимербаева Р.Х. Препарат гетерологичного антирабического иммуноглобулина для внутривенного и внутримышечного введения и способ его получения. Патент РФ 2339401.
11. Тихонов И.В., Рубан Е.А., Грязнёва Т.Н. Биотехнология. СПб.: ГИОРД; 2005. 792 с.
12. Шафеева Р.С., Фролова А.В., Муллагулова М.Н. Получение в эксперименте концентрированной очищенной культуральной антирабической вакцины на основе перевиваемых клеток Веро. В кн.: Роль иммунобиологических препаратов в современной медицине. Уфа; 1995. Т. 1. С. 191–4.
13. Barrett P., Mundi W., Kistner O., Howard M. Vero cell platform in vaccine production: moving towards cell culture-based viral vaccines. Expert. Rev. Vaccines. 2009; 8:607–18.
14. Brookes S., Parsons G., Johnson N., McElhinney L., Fooks A. Rabies human diploid cell vaccine elicits cross-neutralising and cross-protecting immune responses against European and Australian bat lyssaviruses. Vaccine. 2005; 23:4101–9.
15. Consales C.A., Valentini E.J.G., Albas A., Mendonca R., Fuches R., Soares M.A. et al. The preparation of cultured rabies virus and the production of antiserum for human use. Journal of Biological Standardization. 1988; 16:27–32.
16. Costa W., Cunha R., Bolzan V., Silva Ade C., Caporale G., Chaves L. et al. Immunogenicity and safety of a new Vero cell rabies vaccine produced using serum-free medium. Vaccine. 2007; 25:8140–5.
17. Goel S.K., Sharma S., Singh U. Antibody response to purified chick embryo cell vaccine in equines for production of equine rabies immune globulin. Biologicals. 2003; 31:233–6.
18. Hong H., Rooijackers E., Ke N., Groen J., Osterhaus A. Methods for the purification of equine rabies immunoglobulin: effects on yield and biological activity. Biological. 1994; 22:1–6.
19. Kallel H., Rourou S., Majoul S., Loukil H. A novel process for the purification of veterinary rabies vaccine in BHK-21 cells grown on microcarriers in 20-l bioreactor. Appl. Microbiol. Biotechnol. 2003; 61:441–6.
20. Karliner J.S., Belaval G.S. Incidence of reactions following administration of antirabies serum: a study of 526 cases. JAMA. 1965; 193:359–62.
21. Kumar A., Mani K., Palaniappan C., Bhau L., Swaminathan K. Purification, potency and immunogenicity analysis of Vero cell culture-derived rabies vaccine: a comparative study of single-step column chromatography and zonal centrifuge purification. Microbes Infect. 2005; 7:1110–6.
22. Lalosević D., Lalosević V., Lazarević-Ivanc Lj., Knezević I. BHK-21 cell culture rabies vaccine: immunogenicity of a candidate vaccine for humans. Dev. Biol. (Basel). 2008; 131:421–9.
23. Lang J., Attanath P., Quiambao B., Singhasivanon V., Chanthavanich P., Montalban C. et al. Evaluation of the safety, immunogenicity, and pharmacokinetic profile of a new, highly purified, heat-treated equine rabies immunoglobulin, administered either alone or in association with a purified, Vero-cell rabies vaccine. Acta Tropica. 1998; 70:317–33.
24. Luekrajana T., Wangsai J., Phanuphak P. Production of antirabies serum of equine origin. In: Meslin F.-X., Kaplan M.M., Koprowsky H., editors. Laboratory techniques in rabies. Geneva: WHO; 1996. P. 401–4.
25. Madhusudana S., Anand N., Shamsundar R. Economical multi-site intradermal regimen with purified chick embryo cell vaccine (Rabipur) prevents rabies in people bitten by confirmed rabid animals. Int. J. Infect. Dis. 2002; 6:210–4.
26. Motoi Y., Sato K., Hata H., Morimoto K., Inoue S., Yamada A. Production of rabies neutralizing antibody in hen's eggs using a part of the G protein expressed in Escherichia coli. Vaccine. 2005; 23:3026–32.
27. Müller T., Dietzschold B., Ertl H., Fooks A.R., Freuling C., Fehner-Gardiner C. et al. Development of a mouse monoclonal antibody cocktail for post-exposure rabies prophylaxis in humans. PLoS. Negl. Trop. Dis. 2009; 3(11):e542.
28. Nagarajan T., Rupprecht C.E., Dessain S.K., Rangarajan P.N., Thiagarajan D., Srinivasan V.A. Human monoclonal antibody and vaccine approaches to prevent human rabies. Curr. Top. Microbiol. Immunol. 2008; 317:67–101.
29. Ozkan O., Aylan O., Ates C., Celebi B. Production of heterolog anti-rabies immune sera. Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi. 2004; 15:49–54.
30. Perez O., Paolazzi C. Production methods for rabies vaccine. Journal of industrial microbiology & biotechnology. 1997; 18:340–7.
31. Redwan el-R.M., Fahmy A., El Hanafy A., Abd El-Baky N., Sallam S.M. Ovine anti-rabies antibody production and evaluation. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. 2009; 32:9–19.
32. Rourou S., van der Ark A., van der Velden T., Kallel H. A microcarrier cell culture process for propagating rabies virus in Vero cells grown in a stirred bioreactor under fully animal component free conditions. Vaccine. 2007; 25:3879–89.
33. Satoru Y., Akira N., Tadasuke A. Human Fab antibody gene cluster for effectively neutralizing rabies virus. Patent JP № 2006166905. IPC C12N15/09, 29.06.2006.
34. Wilde H., Chomchey P., Prakongsri S., Puyaratabanhu, Chutivongse S. Adverse effects of equine rabies immune globulin. Vaccine. 1989; 7:10–11.
35. Wilde H., Khawplod P., Hemachudha T., Sitprija V. Postexposure treatment of rabies infection: can it be done without immunoglobulin? Clin. Infect. Dis. 2002; 34:477–80.
36. WHO Expert Consultation on Rabies: first report. WHO technical report series 931. Geneva; 2004. 121 p.
37. Yunde H., Shizen Zh., Mifang L. Humanized genetically engineered neutralizing antibody of rabies virus. Patent CN № 1355253. IPC C07K16/08. 26.06.2002.

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

1. Abramova E.G., Nikiforov A.K., Lobovikova O.A., Eremin S.A., Vasin Yu.G., Mikheeva T.A. et al. [Heterologous anti-rabies immunoglobulin – results of the first five years of production]. Probl. Osobo Opasn. Infek. 2010; 105:58–62.
2. Babkin M.V., Stegny B.T., Nichik S.A., Prokhoryatova E.V., Kucheryavenko R.A., Godovsky A.V. [Method of obtainment of hyper-immune anti-rabies serum]. UA Patent 19403.
3. Generalov S.V., Abramova E.G., Nikiforov A.K., Khrankova E.M., Shepelev I.A., Savitskaya L.V. et al. [F(ab')<sub>2</sub>-fragments of anti-rabies immunoglobulin production using immobilized pepsin]. Probl. Osobo Opasn. Infek. 2008; 97:53–6.
4. Kaplan M.M., Koprovsky Kh., editors. [Methods for Laboratory Investigations of Rabies Virus]. Geneva: WHO; 1975. 360 p.
5. Karpov S.P., Preger S.M., Sinelnikov G.E., Fedorov Yu.V. [Hyper-Immune Sera]. Tomsk; 1976. 380 p.
6. Nagieva F.G., Bektemirova M.S., Matevosyan K.Sh., Bektemirov T.A., Pile E.R. [Reproduction of the fixed rabies virus in the culture of quail fibroblasts that grow in suspension]. Vopr. Virusol. 1980; 4:429–31.
7. Nedosekov V.V., Slivko I.A., Kurinnov V.V., Lunitsin A.V., Gruzdev K.N. [Method of obtainment of hyper-immune antirabic serum]. RF patent 2196607.
8. Selimov M.A. [Rabies Virus]. M.: Meditsina; 1978. 336 p.
9. Sitnik N.P., Zagidullin N.V., Israfilov A.G., Enikeeva L.F., Mukhacheva A.V., Shafieva R.S. et al. [Method of obtainment of highly specific heterologous anti-rabies serum]. RF patent 2322503.
10. Sitnik N.P., Israfilov A.G., Zagidullin N.V., Alsynbaev M.M., Timerbaeva R.Kh. [Preparation of heterologous anti-rabies immunoglobulin for intravenous and intramuscular injections, and method of its obtainment]. RF patent 2339401.
11. Tikhonov I.V., Ruban E.A., Gryazneva T.N. [Biotechnology]. St. Petersburg.: GIORД; 2005. 792 p.
12. Shafieva R.S., Frolova A.V., Mullagulova M.N. [Production of concentrated purified cultural anti-rabies vaccine within the frames of experiment on the basis of transferred Vero cells]. In: [Role of Immunobiological Preparations in Modern Medicine]. Ufa; 1995. Vol. 1. P. 191–4.

**Authors:**

Generalov S.V., Abramova E.G., Nikiforov A.K., Matveeva Zh.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". Universitetskaya St., 46, Saratov, 410005, Russia. E-mail: rusrapi@microbe.ru

**Об авторах:**

Генералов С.В., Абрамова Е.Г., Никифоров А.К., Матвеева Ж.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Поступила 15.10.10.