

УДК 615.076.9

DOI: 10.14427/jipai.2019.2.56

## Изучение специфической активности гранулированной формы микст-аллергена из клещей домашней пыли *Dermatophagoides pteronyssinus* и *Dermatophagoides farinae* для пероральной иммунотерапии

В.М. Бержец, Е.А. Коренева, С.В. Хлгатын, О.Ю. Емельянова, С.Ю. Петрова, А.В. Васильева  
ФГБНУ НИИВС имени И. И. Мечникова, Москва

## Study of the specific activity of the granulated form of the mixed-allergen from house dust mites *Dermatophagoides pteronyssinus* and *Dermatophagoides farinae* for oral immunotherapy

V.M. Berzhets, S.V. Koreneva, S.V. Khlgatian, O.Yu. Emelyanova, S.Yu. Petrova, A.V. Vasilyeva  
Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow

### Аннотация

**Цель.** Изучить свойства гранулированной формы микст-аллергена из *Dermatophagoides pteronyssinus* (Der.p.) и *Dermatophagoides farinae* (Der.f.).

**Методы.** Для определения наличия аллергенов в экспериментальном препарате был использован микроточечный иммуноблот. Для изучения иммуногенных свойств экспериментального аллергена (ЭА) проводилась иммунизация морских свинок с последующим изучением сывороток крови животных методом ИФА.

**Результаты.** Доказано, что гранулированная форма микст-аллергена из клещей Der.p. и Der.f. обладает аллергенспецифической активностью. ЭА вызывает статистически достоверный прирост специфических к Der.p. и Der.f. IgG антител у иммунизированных морских свинок по сравнению с контрольной группой.

**Выводы.** Полученные результаты свидетельствуют о возможности применения препарата для иммунотерапии.

### Ключевые слова

Гранулированная форма аллергена, клещи домашней пыли, *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, сублингвальная иммунотерапия

### Summary

**Objective:** To study the properties of the granulated form of the mixed-allergen from *Dermatophagoides pteronyssinus* (Der.p.) and *Dermatophagoides farinae* (Der.f.).

**Methods:** Immunodot was used for determination of allergens in the experimental preparation. Guinea pigs were immunized to study the immunogenic properties of the experimental allergen (EA), this was followed by the study of animal blood serum by ELISA.

**Results:** It has been proved, that the granulated form of the mixed-allergen from Der.p. and Der.f. has an allergen specific activity. The EA causes a statistically significant increase of specific IgG antibodies to Der.p. and Der.f. among immunized Guinea pigs compared to the control group.

**Conclusion:** The results indicate possible therapeutic efficacy of the EA in sublingual immunotherapy.

### Keywords

Granular form of allergen, house dust mites, *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, sublingual immunotherapy

### Введение

Значимая роль в развитии, поддержании и провоцировании обострений аллергических заболеваний, вызванных бытовыми аллергенами, принадлежит клещам домашней пыли семейства *Pyroglyphidae* *Dermatophagoides pteronyssinus*

(*Der.p.*) и *Dermatophagoides farinae* (*Der.f.*). Главные аллергены Der p 1/ Der f 1 и Der p /3 Der f 3 являются цистеиновыми протеазами, а Der p 6/ Der f 6 и Der p 9 /Der f 9 – сериновыми протеазами [1, 2]. Наличие протеазной активности у данных белков обуславливает их воздействие на

рецепторы, активируемые протеазами (PARs-2) клеток врожденной иммунной системы, а также их повышенную способность проникать через барьерные ткани организма. Доказано, что Der p 2 /Der f 2 взаимодействуют с TLR4 эпителиальных клеток. В ответ на активацию клещевыми аллергенами вышеперечисленных рецепторов клеток врожденной иммунной системы происходит изменение характера и количественных соотношений выделяемых клетками цитокинов и хемокинов (IL-6, IL-8, IL25, IL-33, тимусный стромальный лимфопоэтин, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор и другие), что способствует формированию Th2 иммунного ответа и продукции IgE В-клетками [2, 3].

Распространённость самих клещей, их видовое соотношение, концентрация аллергенных компонентов, а, следовательно, и развитие клещевой сенсибилизации у пациентов с атопией, зависят от географического положения региона, ряда микроклиматических характеристик помещения (температура, влажность воздуха), биотических факторов, а также социальных, национальных, гигиенических и бытовых особенностей населения страны [1]. Согласно данным литературы в разных регионах Российской Федерации отмечается вариабельность видового состава и процента клещевой сенсибилизации населения. В Дагестане 50,2% больных бронхиальной астмой имеют сенсибилизацию к Der.p. В Алтайском крае у детей дошкольного возраста с бронхиальной астмой сенсибилизация к Der.p составляет 42,9% [4, 5]. Среди пациентов Башкирии с аллергическими ринитами 41,3% сенсибилизированы к Der.f [6]. У жителей Санкт-Петербурга и городов Ленинградской области по всем нозологическим формам лидирует сенсибилизация к Der.f [7], а в Москве и Московской области - сенсибилизация к Der.p. [1].

В настоящее время единственно возможным лечением, затрагивающим все патогенетические звенья атопической аллергии, является аллерген-специфическая иммунотерапия (АСИТ). Сублингвальная иммунотерапия (СЛИТ) является не только клинически эффективным, но и безопасным. СЛИТ связан с экспозицией аллергена в сублингвальной слизи. Клинически это проявляется ранним повышением уровня антиген-специфических IgE и умеренным увеличением антиген-специфических IgG4, блокирующих активность IgE; повышением периферического Т-клеточного IL-10 и трансформирующего фактора роста  $\beta$ . По окончании лечения отмечается

стойкое повышение секреторного IgA в секрете слизистых [8, 9, 10, 11]. В то же время не следует забывать, что добиться «чистоты» экспозиции аллергена в сублингвальной полости, как в экспериментальных моделях на животных, так и в условиях клинических испытаний, практически невозможно. Следовательно, феномен иммунологической толерантности к аллергенам вероятнее всего обусловлен пероральными механизмами, пока недостаточно изученными [8].

Аллергены для СЛИТ выпускают в капельной или таблетированной формах [12]. В настоящее время в России не производят лечебных форм аллергенов, предназначенных для СЛИТ. Ранее в нашей лаборатории был разработан препарат для СЛИТ из клещей Der.f. В доклинических испытаниях доказано, что препарат не токсичен и обладает сниженными аллергенными и выраженными антигенными и иммуногенными свойствами [13].

По проведённым нами исследованиям более чем у половины пациентов с IgE-опосредованными аллергическими реакциями выявлена сенсибилизация сразу и к Der.p. и к Der.f [14]. Для СЛИТ данной категории пациентов нами разработана технология приготовления гранулированной формы микст-аллергена из клещей Der.p. и Der.f. Проведено изучение физико-химических свойств созданного экстракта микст-аллергена. Доказано наличие главных аллергенов пылевых клещей рода *Dermatophagoides* в полученном препарате. На основе стандартного экстракта микст-аллергена из клещей Der.p. и Der.f. разработана технология приготовления гранулированной лечебной формы для сублингвального применения. Данная лечебная форма представляет собой набор из восьми последовательных десятичных разведений (Д1-Д8) стандартного экстракта микст-аллергена, нанесенного на сахарную крупку [15].

Целью настоящего исследования являлось изучение иммуногенных свойств полученной гранулированной формы микст-аллергена из клещей домашней пыли Der.p. и Der.f.

### Материалы и методы

Препарат изготовлен из смеси бесфенольных водно-солевых экстрактов аллергенов из клещей Der.p. и Der.f. (соотношение 1:1). Содержание белкового азота в микст-растворе составило  $5000 \pm 2000$  PNU, рН раствора –  $7,0 \pm 0,25$ . Получение гранулированной формы микст-аллергена проводили в два этапа: первый этап - последовательное десятичное разведение экстракта

микст-аллергена Der.p. и Der.f. до концентрации  $10^{-8}$  (Д1-Д8), второй этап - нанесение каждого полученного разведения на носитель. В качестве носителя в экспериментальном препарате использовали сахарную крупку, по химическому составу - сахароза.

Для определения аллергенной активности в экспериментальных препаратах использовали метод микроочечного иммуноблота (иммунодот). На нитроцеллюлозную мембрану Immobilon® PVDF были нанесены следующие препараты: 1) гранулированная форма микст-аллергена из клещей Der.p. и Der.f. (концентрация белка 1мкг/мл; первое десятичное разведение - 20 гранул исследуемого аллергена растворяли в 1 мл разводящей жидкости); 2) стандартный водно-солевой экстракт аллергенов (BCA) Der.p. или Der.f. (концентрация белка 0,5 мкг/мл); 3) чистая сахарная крупка (20 гранул на 1 мл). В качестве положительного контроля использовали цельный аллерген из Der.p. или Der.f. (5000 PNU в 1 мл; 312,5 мкг/мл); в качестве отрицательного - разводящую жидкость с ТВИН-80 и цельный аллерген берёзы висячей (5000 PNU в 1 мл; 368,5 мкг/мл). В иммуноблоте использовали сыворотки крови 6-ти пациентов: трех - с моносенсибилизацией к Der.p. и трех - с моносенсибилизацией к Der.f. Сыворотки были отобраны на основании определения специфических IgE методом RIDA AllergyScreen (Германия). Отобранные сыворотки имели уровень специфических IgE 4 класс. Критерием исключения были сыворотки пациентов, с полисенсибилизацией (в выборке из 20 респираторных и пищевых аллергенов) и с сенсibilизацией одновременно к двум видам клещей. В качестве проявляющих антител использовали конъюгаты анти-IgE антител человека с щелочной фосфатазой (Dr. Fooke, Германия). Исследовали три серии ЭА. Каждая серия включала по пять определений специфического IgE к Der.p. и к Der.f. Данные иммуноблота оценивались денситометрическим методом с использованием программного обеспечения «ImageQuant 5.2» в условных единицах (у.е.).

Исследование иммуногенных свойств гранулированного микст-аллергена проводили на морских свинках. Используются здоровые особи мужского пола в возрасте от 1,5 до 2 лет, весом - 1000—1500 г. Содержание и уход за животными проводился согласно ГОСТ 33216-2014. В процессе эксперимента животные были поделены на две группы. 1-ой группе (10 животных) вводили испытуемый препарат перорально в виде раствора по 7 гранул (0,25 г) ежедневно 1 раз в день

в 8 разведениях. Каждое разведение аллергена вводилось в течение 7 дней. Общая продолжительность приёма препарата составила 60 дней. 2 контрольной группе (10 животных) вводили чистую сахарную крупку по 7 гранул ежедневно 1 раз в день - 60 дней.

Уровень специфических IgG к Der.p. и Der.f. в сыворотках животных определяли методом твёрдофазного ИФА. Стандартный ВСА Der.p. или стандартный ВСА Der.f. сорбировали в лунках полистиролового планшета. Перед постановкой реакции проводили обработку планшетов раствором бычьего сывороточного альбумина для нейтрализации неспецифической сорбции. На аллергосорбент наносили образцы сывороток крови морских свинок. Фиксировали образование комплекса антиген-антитело (АГ-АТ). К образовавшемуся в лунке планшета комплексу (АГ-АТ) добавляли диагностические антитела против IgG(H+L) морских свинок, меченные пероксидазой хрена (НИИ ЭМ предприятие по производству бакпрепаратов им. Н.Ф. Гамалеи, Россия) и индикатор - тетраметилбензидин (ТМБ) в субстратном буфере. ИФА на обнаружение IgG, специфических к Der.p. и Der.f. проводили по отдельности. Оценку результатов осуществляли по оптической плотности (D) на спектрофотометре «Dynatech MR-5000».

### Статистическая обработка полученных данных

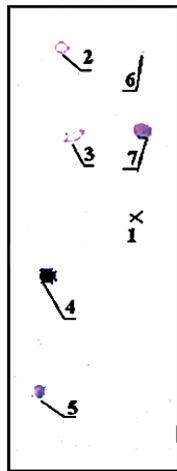
Результаты обрабатывали с помощью пакета прикладных статистических программ «Microsoft Excel» версия 2010 с анализом количественных признаков. Вычисляли следующие величины: выборочное среднее ( $\bar{X}$ ), выборочное стандартное отклонение (s). Достоверность различий в группах узнавали методом дисперсионного анализа Фишера (F), с вычислением дисперсии совокупности, оценённой по выборочным средним ( $S^2_{\text{меж}}$ ) и дисперсии совокупности, оценённой по выборочным дисперсиям ( $S^2_{\text{вну}}$ ). Достоверность различий между более чем двумя группами изучали с помощью 95% доверительного интервала для среднего (95%ДИ). Критической величиной уровня значимости считали  $\alpha = 0,05$  [16].

### Результаты и обсуждение

Изучение специфической активности гранулированной формы микст-аллергена из клещей Der.p. и Der.f.

Специфическую активность гранулированной формы микст-аллергена из клещей Der.p. и Der.f.

определяли методом иммуноблота, проводя сравнительный анализ со стандартным BSA Der.p. или Der.f. по отдельности (рис. 1).



**Рис. 1. Иммунодот**

1. Фоновая мембрана; 2. Отрицательный контроль: разводящая жидкость с ТВИН-80; 3. Отрицательный контроль: цельный аллерген берёзы висячей; 4. Положительный контроль: цельный аллерген из Der.p. или Der.f (312,5 мкг/мл); 5. Стандартный BSA Der.p. или Der.f (0,5 мкг/мл); 6. Чистая сахарная крупка; 7. Гранулированная форма микст-аллергена Der.p. и Der.f (1 мкг/мл).

Реакцию оценивали по визуальному окрашиванию положительного контроля (цельный аллерген Der.p. или Der.f.) и отсутствию визуального окрашивания отрицательных контролей. Денситометрическая обработка результатов позволила количественно оценить аллергенспецифическую активность изученных образцов (табл. 1).

Из таблицы 1 видно, что полученные в результате реакции окрашенные пятна, в местах нанесения гранулированной формы микст-аллергена и стандартного BSA Der.p. или Der.f. по интенсивности цвета не имеют статистически значимых различий во всех сериях опытов. Отмечено, что в месте нанесения сахарной крупки также присутствует слабое окрашивание, статистически значимо отличающееся по своей интенсивности как от стандартного BSA, так и от изучаемой гранулированной формы микст-аллергена из клещей Der.p. и Der.f. Данное окрашивание, вероятно, вызвано наличием в носителе полисахаридов, которые затрудняют вымывание антител, конъюгированных с щелочной фосфатазой из пор нитроцеллюлозной мембраны. Полученные результаты доказывают, что в гранулированной форме микст-аллергена из клещей Der.p. и Der.f. действительно присутствуют специфиче-

ски-активные белковые компоненты из клещей домашней пыли Der.p. и Der.f. Отмечено также отсутствие значительных колебаний денситометрических показаний в сериях экспериментального микст-аллергена из клещей Der.p. и Der.f., что может свидетельствовать о равномерности распределения аллергена на носителе.

#### Изучение иммуногенных свойств гранулированной формы микст-аллергена из клещей Der.p. и Der.f.

Для обнаружения специфических IgG к Der.p. и специфических IgG к Der.f. проведён ИФА с сыворотками крови 10 морских свинок, подвергшихся пероральной иммунизации гранулированной формой изучаемого микст-аллергена и с 10 морскими свинками контрольной группы.

В ИФА минимальное значение оптической плотности специфических IgG к Der.f. в контрольной группе составило 0,180 у.е; максимальное – 1,088 у.е. Среднее значение оптической плотности специфических IgG к Der.f. – 0,515±0,28 у.е. Минимальное значение оптической плотности специфических IgG к Der.f. в основной группе составило 0,887 у.е.; максимальное – 1,861 у.е. Среднее значение оптической плотности специфических IgG к Der.f. – 1,381±0,322 у.е. В ИФА с сыворотками животных, получавших экспериментальный препарат отмечено статистически значимое повышение уровня оптической плотности специфических IgG к Der.f. по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,01$ ).

При исследовании уровня оптической плотности специфических IgG к Der.p. методом ИФА обнаружены сходные результаты. Минимальное значение оптической плотности в контрольной группе составило 0,112 у.е; максимальное – 0,993 у.е. Среднее значение D – 0,549±0,305 у.е. Минимальное значение оптической плотности в основной группе составило 0,777 у.е.; максимальное – 2,045 у.е. Среднее значение D – 1,434±0,4 у.е. Выявлено статистически значимое повышение уровня оптической плотности специфических IgG к Der.p. в ИФА с сыворотками животных, получавших экспериментальный препарат (табл. 2).

Следовательно, можно предположить, что гранулированная форма микст-аллергена Der.p. и Der.f. обладает иммуногенной активностью при введении в организм подопытных животных.

#### Заключение

Методом микроточечного иммунодота доказано, что полученная лечебная гранулированная форма микст-аллергена из клещей Der.p. и Der.f.

**Таблица 1. Результаты обработки данных иммунодота денситометрическим методом**

Серия ЭА	стандартный ВСА 0,5 мкг/мл (уе)			чистая сахарная крупка (уе)			ЭА 1мкг/мл (уе)		
	$\bar{X}$	s	95%ДИ*	$\bar{X}$	s	95%ДИ*	$\bar{X}$	s	95%ДИ*
<b>Реакция со специфическими IgE к Der.f.</b>									
1 (n=5)	57	2,1	54-60	32	15,3	13-51	61	5,8	54-68
2 (n=5)	59	4,1	54-64	34	4,1	29-39	50	6,8	42-58
3 (n=5)	60	3,5	56-64	30	3,5	26-34	58	2,1	55-61
<b>Реакция со специфическими IgE к Der.p</b>									
1 (n=5)	55	4,3	50-60	30	5,3	23-37	59	2,1	56-62
2 (n=5)	57	5,4	50-64	32	5,8	25-39	60	2,2	57-63
3 (n=5)	58	5,3	51-65	31	5,8	24-38	58	8,9	47-69

\* критическое значение  $t = 2,776$ , при уровне значимости  $\alpha = 0,05$  и числе степеней свободы  $v=4$ .

**Таблица 2. Сравнительный анализ уровней оптической плотности специфических IgG к Der.p. у морских свинок**

Группы	$\bar{X}$	s	$s^2_{\text{меж}}$	$s^2_{\text{вну}}$	F
	у.е.	у.е.			
основная (n=10)	1,434	0,4	3,88	0,127	30,68
контрольная (n=10)	0,549	0,305			

Критическое значение  $F = 8,29$ , при  $\alpha = 0,01$

и стандартные водно-солевые экстракты Der.p. или Der.f. обладают аллергенспецифической активностью. Следовательно, при нанесении на сахарную крупку стандартного водно-солевого микст-аллергена, последний сохраняет частично свои аллергенные свойства. Количественно оценить остаточный белок на крупке не представляется возможным, т.к. в данном случае речь идет о нанограммах. Кроме того, снижение или отсутствие аллергенной активности у полученного лечебного препарата может свидетельствовать в пользу его безопасного применения для АСИТ. Наши результаты показали, что гранулированная форма микст-аллергена из клещей Der.p. и Der.f. вызывает статистически достоверный прирост специфических IgG антител у морских свинок к Der.p. и Der.f. по сравнению с контрольной группой. Полученный результат свидетельствует о высокой иммуногенной активности исследуемого

препарата, что особенно важно для достижения высокого терапевтического эффекта при проведении АСИТ.

Гранулированная лечебная форма клещевого микста аллергена может быть использована для сублингвального применения, что особенно важно при лечении детского контингента.

В дальнейших исследованиях предполагается для определения подлинности препарата использовать метод иммуноферментного анализа. Учет результатов реакции проводить с помощью референс-системы, состоящей из референс-аллергена и референс-сыворотки. Количественное обнаружение главных аллергенов Der.p1. и Der.f1. в ИФА исследовать при помощи моноклональных антител IgG1 к данным алергокомпонентам в маточном растворе испытуемого препарата с использованием одноимённых стандартных тест-систем.

## Литература

- Петрова С.Ю., Хлгатян С.В., Бержец В.М. Значение клещей домашней пыли в развитии атопии. Российский аллергологический журнал. 2018;15(3):30-34.
- Matsumura Ya. Role of allergen source-derived proteases in sensitization via airway epithelial cells. Journal of Allergy. 2012;1-11. DOI:10.1155/2012/903659
- Грищенко Е.А. Дендритные клетки дыхательных путей и аллергические заболевания. Аллергология и иммунология в педиатрии. 2015;3(42):19-28.
- Гаджиева Т.А., Надирова З.А., Абусуева А.С. Оценка этиологических особенностей бронхиальной астмы в разных природно-климатических условиях Дагестана.

Вестник новых медицинских технологий. 2016; 23(4): 54-60.

5. Шахова Н.В., Камалтынова Е.М., Лобанов Ю.Ф. и соавт. Распространенность аллергической и неаллергической бронхиальной астмы и спектр сенсибилизации детей дошкольного возраста, проживающих в городских условиях Алтайского края: популяционное одномоментное исследование. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2019;64(1):88-93. DOI: 10.21508/1027-4065-2019-64-1-88-93

6. Еникеев О.А., Еникеев Д.А., Фаюршин А.З. и соавт. Латентная сенсибилизация и оценка роли аллергенспецифического иммуноглобулина Е у больных с поллинозом. Курский научно-практический вестник "Человек и его здоровье". 2008;2:74-79.

7. Аак ОВ, Соболев АВ. Особенности сенсибилизации к распространенным аллергенам жителей Санкт-Петербурга и городов Ленинградской области при основных аллергических заболеваниях. Российский Аллергологический Журнал. 2013;4:74-80.

8. С.Ю. Петрова, В.М. Бержец, Н.С. Петрова и др. Перспективы развития лечебных форм аллергенов. От абстрактных проблем к конкретным решениям. Иммунопатология, Аллергология, Инфектология. 2018;1:40-47. DOI: 10.14427/jirai.2018.1.40

9. Астафьева Н. Г., Гамова И. В., Удовиченко Е. Н. и соавт. Место аллерген-специфической иммунотерапии в лечении атопии. Consilium medicum. 2013;3: 55-61.

10. Балаболкин И.И. Эффективность специфической иммунотерапии при бронхиальной астме у детей. Материалы

2-й международной конференции и первого съезда БААКИ. 1998:57-58.

11. Балаболкин И.И., Геворкян Л.К., Ботвиньева В.В. Эффективность сублингвальной специфической иммунотерапии у детей с atopической бронхиальной астмой. Сборник резюме 8-го Национального конгресса по болезням органов дыхания. 1998:68.

12. Park KH., Son M., Choi SY., et al. In vitro evaluation of allergen potencies of commercial house dust mite sublingual immunotherapy reagents. Allergy Asthma Immunology Res 2015;7(2):124-129. DOI:10.4168/aaair.2015.7.2.124

13. Бержец В.М., Коренева Е.А., Петрова Н.С., и соавт. Способ получения гранулированной лекарственной формы из аллергена клещей рода *Dermatophagoides farinae*. Описание изобретения к патенту №2216353 от 16.10.2002:1-4.

14. Петрова С.Ю., Хлгатын С.В., Бержец В.М. Частота встречаемости сенсибилизации к клещам домашней пыли у пациентов с аллергопатологией. XI Международный форум дерматовенерологов и косметологов – IFDC 2018. Сборник тезисов 2018:103-104.

15. Бержец В.М., Хлгатын С.В., Петрова С.Ю. и соавт. Изучение свойств водно-солевого микст-аллергена из клещей домашней пыли с целью создания сублингвальной формы. Медицинская иммунология 2018;20(4):597-600. DOI: 10.15789/1563-0625-2018-4-597-600

16. Гланц С. Медико-биологическая статистика. - М.: Практика; 1999.1-213.

#### Сведения об авторах:

Бержец Валентина Михайловна Место работы: ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», лаборатория по разработке аллергенов, заведующая лабораторией, доктор биологических наук, профессор 105064, Россия, Москва, Малый Казенный пер., 5а.

Тел.: 8 (903) 789-54-28

E-mail: laball@yandex.ru

Коренева Елена Александровна Место работы: ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», лаборатория по разработке аллергенов, старший научный сотрудник, кандидат медицинских наук

Хлгатын Светлана Вагиановна Место работы: ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», лаборатория по разработке аллергенов, ведущий научный сотрудник, доктор биологических наук

Емельянова Ольга Юрьевна Место работы: ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», лаборатория по разработке аллергенов, старший научный сотрудник

Петрова Станислава Юрьевна Место работы: ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», лаборатория по разработке аллергенов, старший научный сотрудник, кандидат медицинских наук

Васильева Анна Васильевна Место работы: ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», лаборатория по разработке аллергенов, научный сотрудник

Поступила 27.12.2018 г.