

УДК 57.088.3:534.321.9: 616 – 097

## ПРИМЕНЕНИЕ УЛЬТРАЗВУКА ДЛЯ ДЕЗИНТЕГРАЦИИ МИКРОБНЫХ КЛЕТОК

Исаенко Е.Ю.

ГУ «Институт микробиологии и иммунологии  
им. И.И. Мечникова АМНУ»

Биологическому действию ультразвука посвящено большое число исследований. Это связано с тем, что при ультразвуковом облучении биообъектов возникают различные явления (диспергирование, кавитация, термическое и окислительное действие), которые могут оказывать существенное влияние на живые организмы [1 - 10]. Если учесть, что в ультразвуковом поле частицы среды совершают интенсивные колебательные движения с большими ускорениями и что в облучаемой жидкости на малых расстояниях (равных половине длины звуковой волны) возникают разности давлений в несколько атмосфер, то легко себе представить насколько перспективным является применение данного физического фактора в областях биологии, микробиологии, в частности в разделении микробных клеток на антигенные комплексы для разработки нового класса вакцин из нативных клеточных компонентов [11 - 13].

Ультразвуковой фактор широко используется при получении различных клеточных структур эукариот и прокариот, в качестве мутагенного фактора при селекции растений, а также в цитологии для изучения структуры и функций митохондрий и хлоропластов [2, 4, 10, 11, 14 - 18].

С помощью ультразвуковых акустических волн (УАВ) разработан метод получения из природных ароматических аминокислот L-фенилаланин,

L-тирозин и L-триптофан их меченных модификаций [19].

Перспективным оказалось применение ультразвука для выделения из продуцента *Erwinia carotovora* модифицированной аспарагиназы, которая характеризовалась высокой противоопухолевой способностью [20].

Причинами изменений, возникающих в биологических объектах под действием ультразвука, могут быть вторичные эффекты физико-химического характера. Так, под действием акустических волн происходит энергичное перемешивание внутриклеточных микроструктур, а кавитация в среде приводит к разрыву молекулярных связей.

Ультразвуковые низкочастотные поля ускоряют процессы диффузии, повышают проницаемость клеточных оболочек. В результате увеличивается выход белков, что используется для получения пептидов [2, 17, 21]. Поскольку получаемый материал содержит большое число белковых и биополимерных комплексов, возникают трудности при получении высокоочищенных препаратов. Данный технологический прием имеет

преимущества над другими менее щадящими физико-химическими методами в том, что не вызывает денатурацию полипептидных цепей и сохраняет нативность их химической структуры [21].

В литературе широко освещено влияние ультразвуковых полей на микроорганизмы [4, 7, 9, 13, 19, 20, 22 - 35]. Степень разрушающего действия ультразвука находится в зависимости от его мощности, частотного диапазона, экспозиции, а также от морфологических и функциональных особенностей облученных микроорганизмов [12, 16, 36].

Как правило, ультразвуковые колебания приводят бактериальные клетки к гибели, при этом данная микробная суспензия не теряет своих иммуногенных и антигенных свойств [2, 13, 16, 37 - 41]. Изменяя интенсивность УАВ можно добиться снижения токсичности бактериальной суспензии, сохраняя ее антигенность [18, 19]. Эти положительные качества ультразвука используют в научных разработках для получения высокоэффективных бактериальных вакцинных препаратов [13, 20, 22, 30, 31 - 35, 37, 42 - 47].

Интересные данные приведены учеными, которые предложили использовать ультразвуковую обработку биообъектов для усовершенствования рекомбинантных технологий. Облучение оказалось эффективным на этапе экспрессии в клетки *E.coli* гена, ответственного за продукцию НВс-антигена. На основе этих результатов разработана тест - система для диагностики вирусного заболевания [48].

Отдельным направлением изучения применения ультразвукового фактора является разработка методов дезинтеграции микроорганизмов для получения иммунобиологических препаратов.

Исследователями дана положительная оценка методу выделения белковых антигенов из патогенных и не патогенных трепонем (*Treponema pallidum*) с помощью ультразвуковой дезинтеграции (УЗД). В антигенном отношении указанные клеточные фракции оказались более перспективными, чем белки, полученные с помощью рекомбинантного метода. Использование их позволило повысить чувствительность тест – системы до 99,3%. [22, 47].

Ультразвуковые колебания успешно применяют также для получения белковых антигенов из таких бактерий как *Bacillus subtilis*, *Halobacterium halobium*, *Methylobacillus flagellatum* [26].

Физические методы получения антигенов привлекают исследователей простыми технологиями, которые легко поддаются стандартизации. Низкочастотное озвучивание (22 кГц и 44 кГц) клеток *Escherichia coli* при температуре 2 - 4°C в течении 5 минут в режиме 30" воздействия с тридцатисекундной паузой с последующим хроматографическим разделением полученных фракций позволило получить эндотоксин [4, 41].

Интерес представляет влияние ультразвука высокой интенсивности (частота – 2 МГц, мощность 0,5 – 3 Вт/см<sup>2</sup>) на антигенные свойства бараньих

эритроцитов и супернатанта. Учеными показано освобождение части антигенов с поверхности эритроцитов с помощью УАВ. Важным моментом является то, что иммуногенность поверхностных облученных антигенов и иммуногенность самих эритроцитов не уступают друг другу [1, 16].

Высокочастотный ультразвук (830 кГц) слабой мощности (0,4 – 2,0 Вт/см<sup>2</sup>) вызывает стимуляцию роста *Proteus vulgaris*. Исследователями предложено использовать данный физический фактор для интенсификации процессов накопления микробной биомассы [49].

Большое количество работ посвящено комбинированным методам получения антигенов. Так, низкочастотной ультразвуковой обработке подвергали клетки *Mycobacterium tuberculosis*. Дезинтеграцию проводили при частоте колебаний 22 и 44 кГц в течение 5 - 30 мин при температуре 0-40С. О степени повреждения микробных клеток судили по изменению оптической плотности, которую регистрировали фотоэлектроколориметрически (ФЭК-4, зеленый светофильтр), по количеству белка в надосадочных жидкостях и с помощью микроскопии. Авторы работы считают, что оптимальным методом получения антигенов микобактерий является облучение их при частоте 22 кГц в течение 20 минут с последующим проведением водно-солевой экстракции разрушенных структур. Выделенные клеточные комплексы обладали достаточно выраженными антигенными свойствами [50].

В литературе приведены данные относительно успешного использования низкочастотного ультразвукового фактора для получения антигенов из клеток мицелиальных грибов (*Aspergillus fumigatus*, *Mucor gascemosus*) и дрожжей (*Candida albicans*). К особенностям исследований следует отнести применение дезинтеграторов значительной мощности (100Вт/см<sup>2</sup>), длительную обработку биообъектов (60 минут) и фильтрование разрушенных клеток через мембраны типа «Владипор» МФА №3 при помощи вакуумнасоса. Полученные фильтраты содержали полипептиды и полисахариды, которые оказались высокоактивными антигенами и были рекомендованы в качестве [«вакцин – кандидатов»] [13].

Согласно данным исследователей ультразвуковую дезинтеграцию можно усилить, если облучение (частота колебаний - 22 кГц, мощность – 100 Вт, экспозиция - 10 мин) биообъектов проводить в камере с волокнистым наполнителем. В присутствии стеклянного волокна выход белка увеличивается в 1,5 - 3 раза [28].

В серии работ изучали действие ультразвука на *Bordetella pertussis* [31 – 34, 37, 39, 40, 44 - 46]. Большинство ученых использовали низкие частоты УАВ для разрушения клеток коклюша [31 – 33, 39, 44 - 46]. Меньше работ посвящено изучению влияния ультразвуковых волн высокой интенсивности [39, 40]. Так, для выделения активных антигенных комплексов с помощью низкочастотных колебаний были подобраны оптимальные режимы УЗД (частота 44

кГц, амплитуда 70 мкм - 15 минут). Предложен новый способ трехкратного ультразвукового воздействия на микробную взвесь с поэтапным извлечением антигенов, позволяющий в 2,6 раза увеличить выход коклюшных антигенных компонентов [31]. Подобные режимы УАВ (частота - 42-50 кГц, экспозиция - 15 мин) также позволили получить антигены с высокой серологической активностью в РПГА и стимулировать ростовые свойства коклюшных бактерий при облучении микробной взвеси в физиологическом растворе с последующим высевом в питательную среду [32, 33].

При высокочастотной ультразвуковой обработке использовали следующие режимы: а) непрерывный (частота 1000 кГц, интенсивность 210 Вт/см<sup>2</sup>, экспозиция по 10 сек 20 раз с интервалом 2 - 3 мин); б) импульсивный (частота 1000 кГц, интенсивность 500 Вт/см<sup>2</sup> дробная экспозиция по 12 сек 10 раз с интервалами по 4 с). Облученные микробные взвеси возбудителя коклюша обладали высокими иммуногенными свойствами [40]. Позднее авторами получен ультразвуковой сорбированный коклюшный антиген, который вводили привитым детям подкожно по 0,5 мл с интервалом 3 - 4 недели [45]. Реактогенность полученного монопрепарата оказалась значительно ниже, чем у корпускулярной вакцины – он реже вызывал аллергию и обладал высокими иммуногенными свойствами. Эти результаты были подтверждены при изучении ультразвукового коклюшного антигена в ассоциации с дифтерийным и столбнячным анатоксинами. Данный комплекс оказался эффективным для детей и не вызывал побочных реакций. Авторами установлено, что коклюшный антиген содержит только 1-2 антигенные фракции, которые играют ведущую роль в формировании иммунитета против данной инфекции. Полученный препарат не связан с О-антигеном коклюшного микроба; обладает способностью вызывать у иммунизированных животных образование агглютининов и преципитинов, в то же время не проявляет гемагглютинирующую активность. Дальнейшие разработки позволили исследователям получить отдельные протеиновые фракции (79-92,5%), обладающие защитной активностью [44]. Данный метод не нашел практического применения из-за не стабильности химического состава дезинтегрированных антигенов [40].

С целью получения клеточных компонентов применяли также ультразвук с колебаниями 1 МГц, интенсивностью 20-25 Вт/см<sup>2</sup> и экспозицией воздействия 1, 5, 15, 30, 45, 60, 120, 180 мин.. Изучение морфологии дезинтегрируемых коклюшных бактерий проводили с помощью электронной микроскопии. В первые 5 минут наблюдалось сжатие цитоплазмы, потеря гомогенности, а в дальнейшем – деструкция оболочек с выходом цитоплазмы. Установлено, что процесс дезинтеграции коклюшных микробов возрастал прямопропорционально увеличению времени экспозиции. Полная дезинтеграция микробных клеток наступала после 3-х часового облучения УАВ [37, 39].

Положительную оценку получил комбинированный метод выделения поверхностных антигенов возбудителя коклюша с помощью ультразвуковой дезинтеграции микробной массы с последующим осаждением клеточных фракций этиловым спиртом. Взятые в качестве вакцин – кандидаты нативные комплексы характеризовались менее выраженными токсичными свойствами, чем корпускулярные препараты [44].

В литературе представлены материалы об успешном разрушении клеток возбудителя коклюша с помощью физико-химических методов [51 - 56]. Для этого использовали ультразвуковую дезинтеграцию бактерий в сочетании с различными химическими детергентами (дезоксихолат, додецилсульфат натрия). Применение данной комбинированной технологии позволяет получать высокоочищенные антигены, которые обладают низкой реактогенностью и отличаются активностью в серологических реакциях [45, 46, 52].

Перспективность результатов приведенной серии работ в отношении получения коклюшных антигенов можно оценить только после определения: какие по химической структуре выделяются клеточные комплексы, и в какой степени они сопоставимы по биологическим свойствам с аналогичными фракциями, выделенными с помощью химических методов.

Опираясь на вышеизложенное, следует выделить основные выводы, к которым пришли исследователи. Применение ультразвукового метода для получения микробных антигенов перспективно вследствие простоты осуществления дезинтеграции клеток, получения в стандартных условиях нативных химически не измененных комплексов, которые характеризуются низкими аллергенными свойствами и обеспечивают высокую специфическую защиту.

**УДК: 616 - 097:534.321.9+620.179.16**  
**ПРИМЕНЕНИЕ УЛЬТРАЗВУКА ДЛЯ**  
**ДЕЗИНТЕГРАЦИИ МИКРОБНЫХ КЛЕТОК**  
**ИСАЕНКО Е.Ю.**

Представлен анализ данных литературы об использовании ультразвука в биологии, медицине, промышленности. Выделены аспекты воздействия звукового фактора на бактерии в частности. Охарактеризовано применение акустических волн низких и средних частот для дезинтеграции микробных клеток с целью получения различных антигенных комплексов для разработки вакцинных препаратов.

**Ключевые слова:** ультразвук, антигены, дезинтеграция, микробная клетка, вакцины.

**УДК 57.088.3:534.321.9: 616 - 097**  
**ВИКОРИСТАННЯ УЛЬТРАЗВУКА ДЛЯ**  
**ДЕЗИНТЕГРАЦІЇ МІКРОБНИХ КЛІТИН**  
**ІСАЄНКО О.Ю.**

Представлен аналіз даних літератури о використанні ультразвука в біології, медицині, промисловості. Виділені аспекти діяння звукового фактора на бактерії зокрема. Охарактеризовано застосування акустичних хвиль низьких та середніх частот для

дезінтеграції мікробних клітин з метою одержання всіляких антигенних комплексів для розробки вакцинних препаратів.

**Ключові слова:** ультразвук, антигени, дезинтеграція, микробна клітина, вакцини.

**UDC 57.088.3:534.321.9: 616 - 097**  
**ULTRASOUND USE FOR MICROBIAL CELLS**  
**DECOMPOSITION**  
**ISAENKO E. YU.**

The analysis of the data of the literature about ultrasound used in biology, medicine and industry is presented in the article. The aspects of the sound factor influence on bacteria is chosen. The application of the low and medium frequency acoustic waves for microbial cell decomposition with the purpose of getting of the different antigen complexes for vaccine preparation elaboration is described.

**Key words:** ultrasound, antigens, decomposition, microbial cell, vaccines.

**Література**

1. Шапхаев Э.Г., Цыренов В.Ж., Чебунина Е.И. Основы биотехнологии. Дезинтеграция микробных клеток. Улан – Уде, 2005.-С. 53-65.
2. Сорока С.А. Влияние акустических колебаний на биологические объекты. // Вибрация в технике и технологиях, 2005.-№1.-С. 39-41.
3. Дегтярев О.В. Новые диагностические алгоритмы активности лепрозного процесса и мониторинг эффективности лечения больных лепрой в амбулаторных условиях. // Автореф. дис. докт. мед. наук.-Москва. НИИ по изучению лепры Росздрава, 2006.- 18 с.
4. Соколов Н.Н., Александрова С.С., Омелянюк Н.М., Кирсанова И.Д., Чупырина И.В., Солодарь Л.И., Арчаков А.И. Выделение и очистка рекомбинантного «усеченного» (дельта 2-27) цитохрома P450 2B4, экспрессированного в клетках E.coli в составе гибридного белка с глутатион-S-трансферазой // [Вопросы медицинской химии.](#), 1999.-№1.- С. 17-19.
5. Пат. 50002 С2. Україна, МКВ6 С10G15/08. Пристрій для ультразвукової обробки органічних сполук і система здійснення крекінгу органічних сполук / Прібищин В.І. (Україна). №2001107122, Заявл.19.10.2001, Опубл.15.10.2002.
6. Пат. 36047 А. Україна, МКВ6 С08F2/56. Спосіб інтенсифікації звукохімічних реакцій та пристрій для його здійснення / Розіна О.Ю (Україна). №99105863, Заявл.27.10.1999, Опубл.16.04.2001.
7. Пат. 53011 А. Україна, МКВ7 С12N1/00. Спосіб одержання імунних сироваток проти антигенів грамнегативних бактерій / Пархоменко Л.В., Грутман М.І., Паршиков О.В., Сопіль Г.В (Україна). №2002010780, Заявл.31.01.2002, Опубл.15.01.2003.
8. Филоненко Е.А., Хохлова В.А. Моделирование тепловых процессов в биологических тканях при воздействии сфокусированным ультразвуком // Вестник Московского университета. серия 3.Физика астрономия, 1999.-№6.-С. 29-30.
9. Clara M. Ausiello, Giorgio Fedele, Francesca Urbani, Roberto Lande, a Beatrice Di Carlo, and Antonio Cassone.

Native and Genetically Inactivated Pertussis Toxins Induce Human Dendritic Cell Maturation and Synergize with Lipopolysaccharide in Promoting T Helper Type 1 Responses. // The Journal of Infectious Diseases, 2002.- Vol.60.-p186-351.

10. Буц В.А., Скибенко К.П. Изменение иммуногенности клеток и супернатанта под воздействием ультразвука. // Биофизика, 1991г. том 36. вып.-№5.-С. 263-265.

11. Борисов М.С. Применение терапевтического ультразвука в ветеринарии и хирургии в сочетании с ферментами и глюкокортикоидами 16.06.2006. // Моп 16 Jan 2006 by [Doctor](#).

12. Сотников Д.В., Гендриксон О.Д., Приев А., Мартынов А.А., Жердев А.В., Дзантиев Б. Б. Регистрация ферментативных и иммунохимических реакций на основании изменений акустических свойств среды. // Биотехнология будущего. Сб. статей. Москва. ОАО «Авиаиздат», 2006.-С. 87-89.

13. Агольцов В.А. Кандидоз, аспергиллез и мукозоз животных (диагностика и меры борьбы) // Автореф. дис. ... докт. ветер. наук.-Н. Новгород, ФГОУ ВПО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина (МГАВМиБ), – 2006.- 51 с.

14. Акопян В.Б., Хлюпкин В.М., Коновалов Н.Т. Использование физических и биологических факторов в ветеринарии и животноводстве. М. МВА. 1992. - 29с.

15. Хмелев В.Н., Савин И. И. Повышение эффективности ультразвукового воздействия на обрабатываемые среды за счет оптимизации электрического согласования в ультразвуковом технологическом аппарате // Электронный журнал "Техническая акустика".- 2005.- №36.- 15с.  
<http://ejta.org>.

16. Дрейд А.И. Применение ультразвука, 2000. // [www.rezonans-npk.ru](http://www.rezonans-npk.ru)

17. Чизмаджев Ю.А. Перенос нуклеиновых кислот в ткани и клетки // Соросовский образовательный журнал, 2004.-№2.том 8.-С. 24-29.

18. Акопян В.Б. Простая модель реакции организма на внешние воздействия. // [akopyan@edunet.ru](mailto:akopyan@edunet.ru)

19. Мосин О.В. Получение мембранного белка бактериородопсина, меченного дейтерием по остаткам ароматических аминокислот L-фенилаланина,

L-тирозина, и L-триптофана. // -Москва, Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова, 2006. // [mosin-oleg@yandex.ru](mailto:mosin-oleg@yandex.ru).

20. Кучумова А.В. Пегилирование рекомбинантной L-аспарагиназы Egrwina Carotovorа с целью усиления ее терапевтически значимых свойств // Автореф дис. ... канд. биол. наук. Москва, ГУ НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН, 2007.-С. 25.

21. Сова В.В., Кусайкин М.И. Выделение и очистка белков. Методическое пособие по курсу «Химия и биохимия белков и ферментов» // Методическое пособие к практическим занятиям по очистке белков. - Владивосток: Изд-во Дальневост. ун-та, 2006.-42с.

22. Беличенко А. В. Получение атипичных форм *Treponema pallidum* и детекция антител к ним в

эксперименте: Автореф. дис. ... канд. мед. наук – Ставрополь, 2006.- 16 с.

23. Пат.12647 Україна, МКВ3 Л39/10 Спосіб видалення ендотоксину з культуральної рідини штаму фази I *Bordetella pertussis* / . Ісао Фудайта, Хідео Ватанабе, Масатосі Міяното (Японія). №96240081, Заявл.20.05.1988, Опубл.28.02.1997.

24. Пат. 75068 С2. Україна, МКВ1/2 С12Р 19/26. Ліпополісахариди из *Escherichia Coli* / Пропперт Ханс, Малінка Йюрген, Шульдц Йюрген, Зонненборн Ульріх, Церінгер Ульріх, Улмер Артур, Рітшель Ернст Теодор (Данія). № 2002108256, Заявл. 20.03.2001. Опубл. 15.01.2003.

25. Борискина К.И. Иммуногенные свойства озвученных микробных антигенов // В сб. Вопросы иммунологии и микробиологии. Куйбышев, 1971.-С. 15.

26. Мосин О.В. Исследование процесса физиологической адаптации бактерий к тяжелой воде // Биотехнология, 2006.-№2.- С. 7-13.

27. Семёнов С.Н. Фотон – квант биологической (клеточной) мембраны // 23 марта 2004, Источник: [SciTecLibrary.ru /;](http://SciTecLibrary.ru/) [margys@softel.ru](mailto:margys@softel.ru).

28. Шестаковский Л.Я., Хохлов А.М. Ультразвуковая дезинтеграция биологического приборостроения РАН, 142292 Пушино.

29. Карасева Е.И., Курченко В.П., Метелица Д.И. Флавоноиды – эффективные протекторы глюкозо - 6 – фосфат – дегидрогеназы от инактивации ультразвуковой кавитацией // Прикладная биохимия и микробиология.-2007. том 43.-№2.-С. 158-168.

30. Яговкина В.В., Бубуненко М.Г. Физико-химические и антигенные свойства коклюшного ультразвукового диализатного антигена // Иммунологические аспекты патологии детского возраста, 1985.-С. 4-5.

31. Литвинова Н.К. Пути повышения эффективности ультразвукового воздействия для выделения коклюшных антигенов и конструирования эритроцитарных диагностикумов // Автореф. дис. канд. биол. наук.- Ростов – на – Дону, 1982.- 29 с.

32. Москаленко Е.П., Литвинова Н.К., Вернигора П.Ф. К характеристике растворимых антигенов, выделенных методом ультразвуковой дезинтеграции // Актуальные вопросы иммунологии и иммунопатологии, 1975.-С. 5-10.

33. Москаленко Е.П., Чернавская Л.Н., Хмара Л.Е., Ильина С.И.,

Гогоберидзе А.А., Кушнир Л.П. Характеристика коклюшных и паракклюшных растворимых антигенов, полученных различными методами // Острые детские инфекции, том XVI 1975.-С. 157-160.

34. Борискина К.И. Озвученные микробные антигены в реакциях иммунитета. // Вопросы иммунологии и микробиологии, 1971.-С. 8-11.

35. Бугин П.И., Борискина К.И. Иммуногенные свойства озвученных микробных эмульсий в свете влияния ультразвука на антигенные структуры бактериальных клеток. // В сб. Тез. Докл 1 науч. конф «Ультразвук в физиологии и медицине». Ростов-на-Дону, «Молот», 1972.-С. 1-107.

36. Кудрявцев А.А., Об оптимальном времени дезинтеграции клеток микроорганизмов // Дезинтеграция микроорганизмов. Материалы Всесоюзной конференции, Пушино-на-Оке, 1972.-С. 298-304.
37. Мошиашвили И.Я. Изменение антигенной активности бордетелл при воздействии ультразвука // Журнал микробиологии., 1969.-№7.- С. 143.
38. Бергольцева Л.Г., Гальчук Н.А Влияние ультразвука на токсигенность // В сб. науч. тр. Харьковского государственного мед. ин-та, 1960.-С. 53-73.
39. Мошиашвили И.Я., Селезнева С.Н., Сандулова С.Л. Электронномикроскопическое изучение морфологии коклюшных микробов, обработанных ультразвуком. // Журн. микроб., эпид. и иммунобиологии, 1969.-№6.-С. 126-128.
40. Захарова М.С., Андреевская Г.Д., Ацерава И.С., Буачидзе И.Д., Зеленский Э.С. Методы получения и экспериментальное изучение основных биологических свойств защитных антигенов коклюшного микроба. // Специфическая профилактика коклюша «Труды научной конференции 5-6 марта 1958», Москва.,1958.-С. 34-37.
41. Susanne Tartz, 1 Jana Kamanova, 4 Marcela Simsova, 4 Peter Sebo, 4 Stefanie Bolte, 2 Volker Heussler, 2 Bernhard Fleischer, 1, 3 and Thomas Jacobs1 Immunization with a Circumsporozoite Epitope Fused to Bordetella pertussis Adenylate Cyclase in Conjunction with Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated Antigen 4 Blockade Confers Protection against Plasmodium berghei Liver-Stage Malaria // Infection and immunity, 2006.-Vol.74.-№4.-p2277-2285.
42. Чупринина Р.П. Сравнительная характеристика иммуногенных, антигенных и токсических свойств препаратов коклюшных и паракоклюшных микробов, полученных методом ультразвуковой дезинтеграции. // Труды Ташкентского научно-исследовательского института вакцин и сывороток, 1970. том VIII (22).-С. 63-70.
43. Чернявская Л.Н., Бурика Н.П., Литвинова Н.К., Гогоберидзе А.А. Химический состав коклюшных и паракоклюшных антигенов // Актуальные вопросы иммунологии и иммунопатологии, 1979. выпV.-С. 9-14.
44. Ширко Г.Н, Захарова М.С Вакцина из клеточных фрагментов В. pertussis // Журн. микроб., эпид. и иммунобиологии, 1978.-№7.-С. 68-73.
45. Лапаева И.А., Захарова М.С, Павлова И.Б Защитные антигены коклюшного микроба, выделенные разными методами // Журн. микроб., эпид. и иммунобиологии, 1966.-№8.-С. 72-77.
46. Москаленко Е.П., Чернавская Л.Н., Литвинова Н.К. Оптимизация условий получения ультразвукового коклюшного и паракоклюшного растворимых антигенов // Актуальные вопросы иммунологии и иммунопатологии, 1976.-С. 8-12.
47. Обрядина А.П., Фриго Н.В., Комарова В.Д., Чепурченко Н.В., Абалкина Л.М., Бурков А.Н. Ультразвученные белки T.pallidum и их рекомбинативные аналоги в иммуноферментной диагностике сифилиса // НПО «Диагностические системы.» // e-mail: oap7@npods.ru.
48. Пузырев В.Ф., Дрецова И.Н., Бурков А.Н., Уланова Т.И. Применение рекомбинантного НВcore антигена, экспрессированного с использованием вектора рLEX в клетках Escherichia coli, для создания диагностического теста.- 14с. // e-mail: tau5@npods.ru.
49. Баранов А.П. Некоторые особенности развития Proteus vulgaris, подвергнутому воздействию ультразвуковых колебаний // Микробиология,1974. т.XLIII Вып.3.-С. 475-478.
50. Ефременко Д.В. Совершенствование экспрессных методов индикации микобактерий туберкулеза // Дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук.- Ставрополь, Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2005.- 178 с.
51. Rapid purification of pertussis toxin (PT) and filamentous hemagglutinin (FHA) by cation – exchange chromatography. // Ozcengiz E., Kilinc K., Buyuktanir O., Gunalp A. // Vaccine. 2004. Vol.22(11-12), -p1570-1575
52. Zakharova N.S., Remova T.N., Bazhanova I.G., Ozeretskova M.V., Britsina M.V., Shmeleva E.I., Mertsalova N.U., Ermolova E.I., Sukhinova E.E., Bulk V.F., Sirotinskii A.V., Poluiianova A.G., Sviridov V.V., Varlatian IuP // An acellular pertussis vaccine based on the natural complex of antigens isolated from the supernatant of a synthetic culture medium. // Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol., 1997 May – Jun; (3):67-70.
53. Skelton S.K, Wong K.H // Simple, efficient purification of filamentous hemagglutinin and pertussis toxin from Bordetella pertussis by hydrophobic and affinity interaction. // J Clin Microbiol, 1990 May, 28(5), -p1062-5.
54. Tan L.U., Fahim R.E., Jackson G., Wah P., Alkema D., Zobrist G., Herbert A. // A novel process for preparing an acellular pertussis vaccine composed of non-purogenic toxoids of pertussis toxin and filamentous hemagglutinin. // Mol Immuno, 1991 Mar, 28930, -p251-5.
55. Чупринина Р.П., Алексеева И.А., Озерецковский Н.А. Профилактика коклюша: разработка и применение бесклеточной коклюшной вакцины // Журн. микроб., эпид. и иммунобиологии, 2006.-№1.-С. 99-105.
56. Дентовская С.В., Шайхутдинова Р.З., Книрель Ю.А., Иванов С.Л., Анисимов А.П. Конструирование вакцинных штаммов грамотрицательных бактерий со сниженной реактогенностью // Молекул. генетика, 2006.-№2.-С. 3-8.