

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Научная статья

УДК 57.083.3:577.11:579.6

1.5.11. Микробиология (медицинские науки)

doi: 10.17021/1992-6499-2024-2-54-61

**ВЫДЕЛЕНИЕ ОЧИЩЕННЫХ ГЕТЕРОГЕННЫХ АНТИГЕНОВ,  
ОБЩИХ ДЛЯ ЧЕЛОВЕКА, ЖИВОТНЫХ И МИКРООРГАНИЗМОВ,  
С ПРИМЕНЕНИЕМ МЕТОДОВ МАГНОИММУНОСОРБЦИИ**

Анна Александровна Ефременко<sup>1</sup>, Игорь Александрович Базиков<sup>1</sup>,  
Владимир Александрович Зеленский<sup>1</sup>, Виталий Иванович Ефременко<sup>2</sup>,  
Ирина Викторовна Жарникова<sup>2</sup>, Вероника Анатольевна Шульженко<sup>2</sup>,  
Дмитрий Витальевич Ефременко<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь, Россия

<sup>2</sup>Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт, Ставрополь, Россия

**Аннотация.** Цель – разработать методические подходы для получения гетерогенных антигенов, общих для человека, животного (морская свинка) и микроорганизмов (возбудители чумы и бруцеллеза), и антител к ним с использованием магнитных аффинных сорбентов. В нашем исследовании были использованы следующие материалы и методы: выделение тканевых (паренхиматозные органы) и бактериальных водорастворимых антигенов; приготовление иммунных кроличьих сывороток; создание антигенных и антительных аффинных сорбентов; создание иммунофлуоресцентного и иммуноферментного диагностикумов для контрольных реакций; очистка антигенов и антител с помощью методов магноиммуносорбции, разработанных авторами. Результаты и заключение. В итоге были определены и изолированы антигены мимикрии, общие у человека и морской свинки с возбудителями чумы и бруцеллеза, и антитела к ним. При постановке контрольных иммунохимических реакций на этапе выделения очищенных тканевых гетерогенных антигенов показатели опытных проб превышали контрольные в 2–3 раза при использовании иммуносорбентов, приготовленных из коммерческих бруцеллезной и чумной сывороток, и в 3–5 раз – из экспериментальных бруцеллезных сывороток.

**Ключевые слова:** гетерогенные антигены, антитела, аффинные магносорбенты, препаративное выделение и очистка, иммунофлуоресцентный и иммуноферментный диагностикумы

**Для цитирования:** Ефременко А. А., Базиков И. А., Зеленский В. А., Ефременко В. И., Жарникова И. В., Шульженко В. А., Ефременко Д. В. Выделение очищенных гетерогенных антигенов, общих для человека, животных и микроорганизмов, с применением методов магноиммуносорбции // Астраханский медицинский журнал. 2024. Т. 19, № 2. С. 54–61. doi: 10.17021/1992-6499-2024-2-54-61.

ORIGINAL ARTICLE

Original article

**ISOLATION OF PURIFIED HETEROGENEOUS ANTIGENS COMMON TO HUMANS,  
ANIMALS AND MICROORGANISMS USING MAGNOIMMUNOSORPTION METHODS**

Anna A. Efremenko<sup>1</sup>, Igor' A. Bazikov<sup>1</sup>,  
Vladimir A. Zelenskiy<sup>1</sup>, Vitaliy I. Efremenko<sup>2</sup>,  
Irina V. Zharnikova<sup>2</sup>, Veronika A. Shul'zhenko<sup>2</sup>,  
Dmitriy V. Efremenko<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia

<sup>2</sup>Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia

**Abstract.** The aim of the study was to develop methodological approaches for the production of heterogeneous antigens common to humans, animals (guinea pig) and microorganisms (pathogens of plague and brucellosis), and antibodies to them using magnetic affinity sorbents. Materials and methods: isolation of tissue (parenchymal organs) and bacterial water-soluble antigens, preparation of immune rabbit sera, creation of antigenic and antibody affinity sorbents, creation of immunofluorescence and immunoenzyme antigens for control reactions, purification of antigens and antibodies using magnoimmunosorption methods, developed by us. Results and conclusion. Mimicry antigens common in humans and guinea pig with pathogens of plague and brucellosis and antibodies to them were determined and isolated.

---

Ефременко А. А., Базиков И. А., Зеленский В. А., Ефременко В. И., Жарникова И. В., Шульженко В. А., Ефременко Д. В., 2024

The control immunochemical reactions at the stage of isolation of purified tissue heterogeneous antigens, the test samples exceeded the control by 2–3 times using immunosorbents prepared from commercial brucellosis and plague antisera, and by 3–5 times – from experimental brucellosis antisera.

**Keywords:** heterogeneous antigens, antibodies, affinity magnosorbents, preparative isolation and purification, immunofluorescence and enzyme immunosorbent antigens

**For citation:** Efremenko A. A., Bazikov I. A., Zelenskiy V. A., Efremenko V. I., Zharnikova I. V., Shul'zhenko V. A., Efremenko D. V. Isolation of purified heterogeneous antigens common to humans, animals and microorganisms using magnosorption methods. *Astrakhan Medical Journal*. 2024; 19 (2): 54–61. doi: 10.17021/1992-6499-2024-2-54-61. (In Russ.).

**Введение.** Обнаружение шведским ученым Дж. Форсманом в 1911 г. общего антигена в тканях морской свинки и эритроцитах барана привело к поиску и изучению роли подобных структур и у других живых систем. В дальнейшем было установлено наличие идентичных гетерогенных антигенов (или как еще их называют антигенов мимикрии) у различных организмов, в том числе находящихся на значительном отдалении друг от друга в эволюционном и таксономическом отношении. Были найдены общие антигены и у человека, при этом не только с разными видами млекопитающих, но и с простейшими, бактериями и вирусами [1–3]. По химической природе антигены мимикрии весьма разнообразны и представлены белками, полисахаридами, липидами и их комплексами, отдельными отрицательно заряженными фосфолипидами. В настоящее время известна роль некоторых из них в формировании патологических состояний у человека [4–6]. Например, в патогенезе острой ревматической лихорадки (ревматизма) одно из ведущих значений имеет наличие общих антигенных структур у некоторых штаммов стрептококка с тканями сердца, что определяет их тропность к сердечной мышце. Они же способствуют преодолению иммунологической толерантности, в результате чего даже после элиминации возбудителя могут вырабатываться аутоантитела уже к собственным компонентам клеточных структур, оказывая повреждающее действие [7].

Однако роль гетерогенных антигенов в механизме развития многих инфекционных болезней, а также аутоиммунных процессов, являющихся следствием прямого и опосредованного воздействия патогена на макроорганизм, еще только предстоит определить.

Изучение природы антигенов мимикрии *in vitro* становится возможным при получении их в чистом виде. Вместе с тем общее их количество среди других биополимеров живых клеточных систем и вирусных частиц ничтожно мало. Таким образом, важной задачей становится разработка щадящих методов выделения и очистки комплекса гетерогенных антигенов и антител к ним, а также средств для их обнаружения в различных объектах.

**Цель:** разработать методические подходы к получению гетерогенных антигенов, общих для человека, животного (морская свинка) и микроорганизмов (возбудители чумы и бруцеллеза), и антител к ним с использованием магнитных аффинных сорбентов.

В рамках исследования необходимо было решить следующие задачи:

- выделить антигены из паренхиматозных органов человека и животного;
- изолировать иммуноглобулины из чумной и бруцеллезной иммунных сывороток;
- получить антигенные и антительные магнитные сорбенты;
- приготовить иммунофлуоресцентный и иммуноферментный диагностикумы;
- провести аффинную очистку гетерогенных антигенов и антител к ним.

**Материалы и методы.** Антигенный материал выделяли из паренхиматозных органов (печень, селезенка, легкое) морской свинки и трупа человека с группой крови O (1) Rh, погибшего от случайной травмы (трупный материал получен из Ставропольского государственного медицинского университета), где могут локализоваться возбудители чумы и бруцеллеза при инфекционном процессе, а также из стерильных ацетонвысушенных бактерий – *Brucella melitensis* Rev 1, *B. abortus* 19, *B. suis* 64 (штаммы получены из лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов» Ставропольского научно-исследовательского противочумного института). Предварительно кусочки органов промывали 0,1 М фосфатным буфером pH 7,2, измельчали и гомогенизировали путем растирания в ступке. Тканевый материал и густые бактериальные суспензии, взвешенные в 0,1 М фосфатном буфере pH 7,2, замораживали и пропускали через лабораторный клеточный дезинтегратор FRENCH PRESS (“Thermo Fisher Scientific Inc.”, Финляндия), обеспечивая механическое разрушение клеток.

Водорастворимый бруцеллезный антиген изолировали комплексным методом: водно-солевой экстракцией и дезинтеграцией микроорганизмов [8]. Экстракцию проводили 2,5 % раствором хлорида натрия. Дезинтегрирование осуществляли разрушением под высоким давлением в X-прессе (“Thermo Fisher Scientific Inc.”, Финляндия) и ультразвуковым методом на аппарате УЗДН-2Т (НПП «УкрРосПрибор», Россия) при частоте колебаний 22 кГц. Фракцию I чумного микроба изолировали по методу Е. Ф. Вакер с соавторами [9].

Экстракты отделяли от осадка центрифугированием при 10 000 оборотах в течение 40 мин с последующим пропусканием надосадка через мембранные фильтры и лиофильно высушивали. Бактериальные антигены в дальнейшем применяли для иммунизации кроликов с целью получения иммунных сывороток. Тканевые антигены использовали для выделения из них гетерогенных очищенных антигенов и приготовления антигенных магнитных сорбентов. В работе применяли коммерческие препараты «Имуноглобулины диагностические чумные адсорбированные лошадиные для реакции агглютинации на стекле, лиофилизат для диагностических целей»

(ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора, Россия) и «Сыворотку диагностическую поливалентную бруцеллезную сухую для реакции агглютинации (РА)» (ФКУЗ Иркутский противочумный институт Роспотребнадзора, Россия). Экспериментальные бруцеллезные сыворотки, имеющие более высокую иммунохимическую активность, получали, используя общепринятую схему иммунизации кроликов, путем последовательных инъекций смеси экстрагированных антигенных комплексов возбудителя бруцеллеза с иммуномодулятором феракрилом (НПО «Пуск», Россия). Применение феракрила приводит к увеличению иммуногенных свойств антигенов и выработке антител. В результате были приготовлены поливалентные сыворотки, позволяющие определить род возбудителя бруцеллеза без установления его видовой принадлежности. С применением каприловой кислоты из коммерческих и экспериментальных иммунных сывороток выделяли иммуноглобулины, которые формировали зоны преципитации в реакциях встречной иммунодиффузии в геле с гомологичными бактериальными и тканевыми антигенами. В дальнейшем их использовали для приготовления магноиммосорбентов (МИС), иммунохимических диагностикумов и в качестве сырья при выделении очищенных антител к гетерогенным антигенам.

Для обнаружения антигенов мимикрии и антител к ним были приготовлены иммунофлуоресцентный и иммуноферментный диагностикумы. Для этого часть чумных и бруцеллезных иммуноглобулинов, выделенных каприловым методом из сывороток по G. Steibuch, R. Andran [10] метили общепринятыми методами флуорохромным (флуоресцеинизотиоцианат – “Merck”, США) и ферментным (пероксидаза хрена с активностью 250 ед./мг – «Диаэм», Россия) маркерами.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программы “Microsoft Excel 2010”. С учетом малой выборки ( $n < 30$ ) для выявления статистической значимости различий результатов использовали *t*-критерий Стьюдента.

**Результаты и их обсуждение.** Оценивая методологические подходы к препаративной очистке комплекса гетерогенных антигенов, общих для теплокровных и микроорганизмов, следовало учитывать их малое количество среди множества других биополимеров исследуемых клеточных систем и ограниченность сведений по физико-химическим свойствам их отдельных компонентов. В связи с этим очистка гетерогенных антигенов с использованием методов фракционирования биополимеров по молекулярному весу, электростатическому заряду, способности взаимодействовать с различными ионообменниками представлялась недостаточно эффективной. С учетом этого был выбран одноэтапный аффинный метод очистки гетерогенных антигенов и антител к ним, основанный на их специфическом взаимодействии в реакции антиген-антитело, один из компонентов которой иммобилизован на твердофазном носителе. Последующая щадящая десорбция позволяла получать высокоочищенные комплексы гетерогенных антигенов без примеси сопутствующих биополимеров. Иммуноглобулиновые МИС получали в двух формах. В одном варианте в качестве твердой фазы использован полиакриламидный гель [11, 12], в другом – алюмосиликат [13–15]. Антигенные МИС готовили только на основе алюмосиликата.

В первом варианте чумные и бруцеллезные иммуноглобулины, полученные как описано ранее, в количестве 3 мл, содержащих 3 мг белка, включали физическим способом в решетку 20 % полиакриламидного геля прямым внесением, без активирующих реагентов. Для придания ему магнитоуправляемых свойств добавляли 1,5 г магнитного материала ( $Fe_3O_4$ ), а затем вносили катализаторы полимеризации геля (200 мг персульфата аммония или натрия и 0,2 мл N, N, N1, N1-тетраметилэтилендиамина). Общий объем реакционной смеси доводили буфером, содержащим 0,95 % хлорида натрия в 0,1 М фосфатном буфере pH 7,2 (ЗФР), до объема 10 мл и тщательно перемешивали, помещая пробирку с реакционной смесью в емкость с кусочками льда. После формирования полимера его измельчали стеклянной палочкой, затем пропускали через шприц с иглой № 0840 и многократно отмывали ЗФР до тех пор, пока в промывной жидкости спектрофотометрически на приборе UV-1800 (“Shimadzu”, Япония) при длине волны 280 нм переставали определяться следы белка, высвобождающегося при измельчении геля [16].

Другой тип сорбента представлял собой неорганические гранулы пористого алюмосиликата, активированного декстраном (ООО «ПК Химпром», Россия), содержащего внутри гранул магнитный материал ( $Fe_3O_4$ ) (рис. 1).

На его поверхности после предварительной обработки сорбента периодатом натрия ковалентно фиксировали чумные и бруцеллезные иммуноглобулины из расчета 100 мкг белка на 50 мг твердой фазы, а также тканевые антигены, полученные, как описано ранее, из паренхиматозных органов морской свинки и человека из расчета 20 мг белка в объеме 10 мл на 1 г активированного пористого алюмосиликата (рис. 2).

После инкубации и промывания ЗФР от несвязавшихся компонентов, для нейтрализации свободных химически активных функциональных групп сорбент обрабатывали 1 % раствором бычьего сывороточного альбумина в течение 1 ч и вновь отмывали ЗФР. Все манипуляции, включая фиксацию биомолекул на гранулах магносорбента, их промывание и извлечение из водной фазы, осуществляли с использованием магнитного поля [17].

Сравнивая свойства двух типов иммосорбентов, имеющих примерно одинаковую количественную активность специфически связывать тканевые антигены, предпочтение следует отдать твердой фазе на основе алюмосиликата, активированного полигликозином. При его приготовлении требовалось меньшее количество иммуноглобулинов, благодаря ковалентной фиксации, он одинаково подходит для удерживания на своей поверхности как антител, так и антигенов, в отличие от полиакриламидного сорбента, связывающего только крупные биомолекулы (например, иммуноглобулины) механически в ячеистой решетке геля, в результате чего основной объем неоднородного по размеру антигенного материала может быть потерян. Кроме того, только алюмосиликатные иммунные сорбенты характеризуются возможностью длительного хранения после лиофилизации без потери свойств.

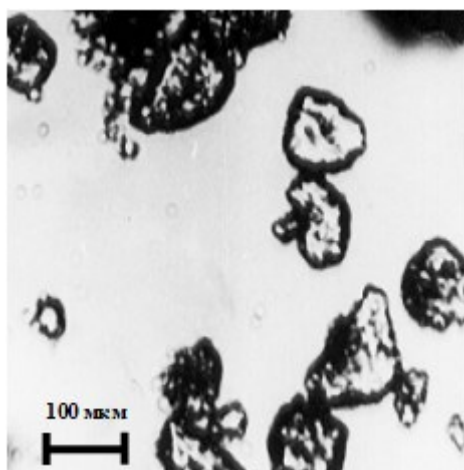


Рисунок 1. Микрофотография МИС на основе алюмосиликата при увеличении  $\times 100$  под световым микроскопом (темные включения – магнитный материал  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ )  
 Figure 1. Aluminosilicate MIS micrograph, magnification  $\times 100$ , light microscope (dark inclusions – magnetic material  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ )

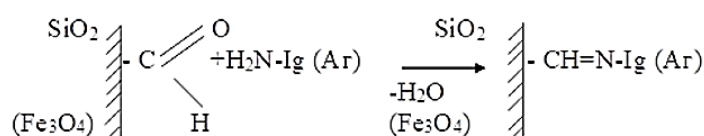


Рисунок 2. Схема получения антительного (Ig) и антигенного (Ag) МИС на алюмосиликатном носителе  
 Figure 2. Scheme of production of antibody (Ig) and antigenic (Ag) MIS on aluminosilicate base

Постановку иммунных реакций проводили с 10 % взвесью МИС, приготовленных по методикам, описанным выше. К исследуемому образцу вносили 100 мкл МИС, инкубировали 60 мин, отмывали от несвязавшихся лигандов. Образовывался комплекс антитело-антиген в количестве 500 мкл, который помещали во флаконы, куда затем вносили 500 мкл флуоресцирующих иммуноглобулинов или пероксидазного конъюгата в рабочем разведении, указанном на этикетке ампулы. После инкубирования опытных (МИС с исследуемым материалом) и контрольных проб (МИС без исследуемого материала) при  $37^\circ\text{C}$  в течение 1 ч МИС тщательно промывали ЗФР, удерживая его постоянным магнитом на дне флаконов.

Количественный иммунофлуоресцентный анализ (КИФА) для обнаружения гетерогенных антигенов осуществляли путем помещения гранул иммуносорбента на предметное стекло с последующим учетом уровня их свечения с помощью люминесцентного микроскопа МЛ 3 с фотометрической насадкой ФМЭЛ 1, источника питания УБПВ 1 и цифрового вольтметра Ф4833 («Микромед», Россия). Разницу свечения опытных, контрольных гранул и фона определяли с помощью зонда диаметром 0,5 мм, последовательно наводимого на исследуемые объекты. Положительным считали уровень свечения опытных гранул в 1,5 и более раз превышающий интенсивность свечения контрольных сорбентов [11, 12]. При иммуноферментном анализе (ИФА) интенсивность окрашивания субстрата (о-фенилендиамина) после его внесения во флаконы с иммуносорбентом оценивали с помощью фотометрии жидкой фазы, помещаемой в лунки пластикового планшета, останавливая реакцию 0,4 N раствором серной кислоты. Для учета результатов производили измерение оптической плотности на приборе «Multiscan FC» («Thermo Fisher Scientific Inc.», Финляндия) при длине волны 492 нм. Отрицательным контролем служили МИС, не контактировавшие с антигеном. Положительными считали пробы, превышающие уровень окрашивания контрольных образцов более чем в 1,5 раза [11].

Для обнаружения очищенных антител использовали конкурентные КИФА и ИФА. Антигенные магносорбенты предварительно обрабатывали выделенными очищенными антителами, после чего применяли иммунофлуоресцентный и иммуноферментный диагностикумы, как было описано ранее. Результат считали положительным, если свечение (окрашивание) у опытных образцов отсутствовало полностью, или их уровень был ниже, чем у контрольных.

С использованием антительных сорбентов были осуществлены аффинные методы препаративного получения очищенных тканевых гетерогенных антигенов. С этой целью к МИС добавляли экстрагированные из паренхиматозных органов человека или животных антигенные комплексы из расчета на 1 г сорбента вносили 10 мл антигенного экстракта, содержащего 2 мг белка в 1 мл. После инкубации смеси при  $37^\circ\text{C}$  в течение 1 ч в условиях перемешивания МИС отмывали ЗФР от несвязавшихся компонентов до тех пор, пока в промывной жидкости переставали спектрофотометрически обнаруживаться следы белка. При этом во всех случаях при постановке КИФА и ИФА показатели опытных проб превышали контрольные более чем в 2 раза. Однако при использовании

иммуноглобулинов, выделенных из коммерческих бруцеллезной и чумной сывороток, результаты опытных образцов были выше контрольных не более чем в 3 раза, тогда как у различных серий экспериментальных бруцеллезных сывороток – в пределах 3–5 раз (табл.).

После получения положительных результатов в иммунохимических реакциях к 1 г МИС на 5–10 мин добавляли 5 мл 3 М роданистого калия (натрия), подкисленного концентрированной соляной кислотой до pH 5,0. Данный раствор вызывал диссоциацию комплекса антиген-антитело, не денатурируя биополимеры, с отделением от МИС аффинно очищенных тканевых антигенов. Все типы МИС после отмывания ЗФР могли вновь многократно использоваться без заметного снижения их иммуносорбционной емкости.

Удаление из элюирующего раствора роданистого калия (натрия) и соляной кислоты проводили путем его диализа против ЗФР. Отсутствие в препаратах роданистого калия (натрия) подтверждали с помощью качественной реакции с 1 % раствором хлорида железа (III). Очищенные таким образом антигены, содержащие до 0,1 мг белка в 1 мл, сохраняли способность вновь фиксироваться на МИС и выявляться иммунохимическими методами с чувствительностью  $3\text{--}5 \cdot 10^3$  мг ( $t = 0,68$ ) белка в объеме проб от 1 до 10 мл.

Таблица. Результаты контроля активности чумного МИС и бруцеллезного МИС  
Table. Results of control of activity of plague MIS and brucellosis MIS

Образец	МИС чумной (коммерческая сыворотка), $n = 25$		МИС бруцеллезный (коммерческая сыворотка), $n = 25$		МИС бруцеллезный (экспериментальная сыворотка), $n = 27$	
	ИФА	КИФА	ИФА	КИФА	ИФА	КИФА
	Диапазон показателей оптической плотности для разных серий препарата: опыт / отрицательный контроль					
<i>Yersinia pestis 461</i>	$2,6 \pm 0,2$ ( $t = 0,74$ )	$2,75 \pm 0,05$ ( $t = 0,79$ )	–	–	–	–
<i>Brucella melitensis Rev-1</i>	–	–	$2,7 \pm 0,1$ ( $t = 0,78$ )	$2,75 \pm 0,05$ ( $t = 0,81$ )	$4,8 \pm 0,2$ ( $t = 0,73$ )	$4,65 \pm 0,25$ ( $t = 0,73$ )
Смесь тканевых антигенов морской свинки	$2,25 \pm 0,05$ ( $t = 0,8$ )	$2,25 \pm 0,15$ ( $t = 0,76$ )	$2,25 \pm 0,15$ ( $t = 0,76$ )	$2,35 \pm 0,15$ ( $t = 0,75$ )	$3,8 \pm 0,4$ ( $t = 0,71$ )	$3,75 \pm 0,35$ ( $t = 0,72$ )
Смесь тканевых антигенов человека	$2,2 \pm 0,1$ ( $t = 0,79$ )	$2,3 \pm 0,1$ ( $t = 0,77$ )	$2,45 \pm 0,25$ ( $t = 0,72$ )	$2,7 \pm 0,2$ ( $t = 0,74$ )	$3,45 \pm 0,35$ ( $t = 0,7$ )	$3,45 \pm 0,45$ ( $t = 0,7$ )
ЗФР	$0,5 \pm 0,1$ ( $t = 0,77$ )	$0,5 \pm 0,1$ ( $t = 0,77$ )	$0,5 \pm 0,1$ ( $t = 0,76$ )	$0,55 \pm 0,05$ ( $t = 0,81$ )	$0,6 \pm 0,1$ ( $t = 0,77$ )	$0,55 \pm 0,05$ ( $t = 0,8$ )

Примечание:  $t$ -критерий Стьюдента.

Note: Student's  $t$ -test.

Используя аффинные магнитные сорбенты на основе алюмосиликата, активированного полиглобулином, было осуществлено выделение очищенных антител из антибактериальных иммуноглобулинов. С этой целью твердую фазу с ковалентно фиксированными тканевыми антигенами в количестве 1 г перемешивали при 37 °С с 10 мл чумных или бруцеллезных иммуноглобулинов, содержащих 1 мг белка в 1 мл, после чего сорбенты тщательно отмывали ЗФР. Далее иммуноглобулины диссоциировали от твердой фазы с помощью ЗФР, содержащего 3 М роданистый калий (натрий), в который для сохранения биологической активности антител добавляли белковый стабилизатор (1 % бычий сывороточный альбумин). После проведенного диализа получали очищенные антитела с сохраненными свойствами (способностью связываться со специфическими гетерогенными антигенами), что было подтверждено при постановке конкурентных иммунохимических реакций (КИФА и ИФА).

Таким образом, разработанная методика выделения гетерогенных антигенов, общих для человека, животных и микроорганизмов, и антител к ним, основанная на магноиммуносорбентной очистке препаратов, включает в себя ряд последовательных процессов:

- получение водорастворимых тканевых антигенов;
- получение водорастворимых бактериальных антигенов и приготовление на их основе иммунных кроличьих сывороток (как альтернатива – использование коммерческих сывороток);
- создание антигенных и антительных аффинных сорбентов;
- создание иммунофлуоресцентного и иммуноферментного диагностикумов для контрольных реакций;
- очистка антигенов и антител с помощью сконструированных магносорбентов.

В результате проведенных исследований удалось обнаружить присутствие общих гетерогенных антигенов у возбудителей чумы, бруцеллеза и в паренхиматозных органах человека и морской свинки.

**Заключение.** Вышеописанные методические подходы могут использоваться при последующем изучении качественного состава и химической природы антигенов мимикрии, мест их локализации в клетках микро- и макроорганизмов, определении роли в патогенезе различных инфекционных болезней, в формировании иммунитета, его напряженности и развитии аутоиммунных процессов. Разработанные антигенные и иммуноглобулиновые

твердофазные магнитные сорбенты, иммунофлуоресцентный и иммуноферментный препараты продемонстрировали свою эффективность при применении в диагностических целях.

**Раскрытие информации.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Disclosure.** The authors declare that they have no competing interests.

**Вклад авторов.** Авторы декларируют соответствие своего авторства международным критериям ICMJE. Все авторы в равной степени участвовали в подготовке публикации: разработка концепции статьи, получение и анализ фактических данных, написание и редактирование текста статьи, проверка и утверждение текста статьи.

**Authors' contribution.** The authors declare the compliance of their authorship according to the international ICMJE criteria. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

**Источник финансирования.** Авторы декларируют отсутствие внешнего финансирования для проведения исследования и публикации статьи.

**Funding source.** The authors declare that there is no external funding for the exploration and analysis work.

### Список источников

1. Roze N. R. Autoimmunity, infection and adjuvants // *Lupus*. 2010. No. 19. P. 354–358.
2. Shoenfeld Y. 'ASIA' – autoimmune inflammatory syndrome induced by adjuvants // *Journal of Autoimmunity*. 2011. No. 36. P. 4–8.
3. Москалец О. В. Роль инфекций в развитии аутоиммунных заболеваний // *Казанский медицинский журнал*. 2017. № 4. С. 586–591.
4. Симонова А. В., Кузьменко Л. Г., Лебедева И. С., Баранова И. Д., Арязмова В. В. Хронические инфекции: инновационные идеи в области патогенеза, лечения, вакцинации // *Лечащий врач*. 2012. № 4. С. 16–20.
5. Pendegraft W. F., Badhwar A. K., Preston G. A. Autoantigen complementarity and its contributions to hallmarks of autoimmune disease // *Journal of Theoretical Biology*. 2015. Vol. 375. P. 88–94.
6. Nielsen P. R., Kragstrup T. W., Deleuran B. W., Benrose M. E. Infections as risk factor for autoimmune disease – A nationwide study // *Journal of Autoimmunity*. 2016. Vol. 74. P. 176–181.
7. Sakkas L. I., Bogdanos D. P. Infections as a cause of autoimmune rheumatic diseases // *Autoimmunity Highlights*. 2016. Vol. 7 (1). P. 13.
8. А. с. № 1425910 от 22.05.1988. Способ получения туляремийного антигена / Василенко Н. Ф., Кронгауз И. В., Лопаткин О. Н. и др.
9. Baker E. E., Sommer H., Foster L. E., Meyer E., Meyer K. F. Studies on immunization against plague. I. The isolation and characterization of the soluble antigen of the *Pasteurella pestis* // *Journal of Immunology*. 1952. Vol. 68, no. 2. P. 131–145.
10. Steibuch G., Andran R. The isolation of IgG from imanalion serra with the acid of caprylic // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1969. Vol. 139. P. 279–284.
11. Ефременко В. И. Магносорбенты в микробиологических исследованиях. Ставрополь: Ставрополье, 1996. 131 с.
12. Пат. 2196335 Рос. Федерация, МПК G01N 33/53. Способ определения гетерогенных антигенов, сходных для микроорганизмов и органов человека и животного / Ефременко В. И., Кантеева Е. А., Борздова И. Ю.; заявитель и патентообладатель – Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Заявл. 30.07.2001; опубл. 10.01.2003, № 2001121413/14;
13. Пат. 2215295 Рос. Федерация, МПК G01N 33/569 Способ выделения фракций гетерогенных антигенов, сходных между антигенами микроорганизмов рода *Brucella* и паренхиматозными тканями человека // Ефременко В. И., Кантеева Е. А., Борздова И. Ю., Зарубин В. В., Шевченко О. А.; заявитель и патентообладатель Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Заявл. 30.07.2001; опубл. 27.10.2003, №2001121436/14.
14. Тюменцева И. С., Жарникова И. В., Афанасьев Е. Н., Ефременко В. И., Коготкова О. И., Кальной С. М., Куличенко А. Н. Научно-методические разработки биотехнологий производства иммунобиологических препаратов для экспресс-диагностики инфекционных заболеваний и детекции их возбудителей // *Биопрепараты. Профилактика. Диагностика. Лечение*. 2015. № 7. С. 21–25.
15. Тюменцева И. С., Курчева С. А., Афанасьев Е. Н., Жарникова И. В., Жданова Е. В., Старцева О. Л., Гаркуша Ю. Ю., Семирчева А. А. Особенности пробоподготовки с использованием иммуномагнитного сорбента при исследовании полевого материала на наличие возбудителя чумы // *Военно-медицинский журнал*. 2018. Т. 339, № 5. С. 42–46.
16. Гаркуша Ю. Ю., Тюменцева И. С., Курчева С. А., Старцева О. Л., Жарникова И. В., Кошкидько А. Г., Геогджян А. С. Определение стабильности основных показателей качества стандартного образца магносорбента // *Здоровье населения и среда обитания*. 2018. № 7. С. 48–51.
17. Пат. на изобретение № 2102134 от 20.01.1998. Способ получения иммуносорбента / Брыкалов А. В., Жарникова И. В. Заявка № 95121203.

## References

1. Roze N. R. Autoimmunity, infection and adjuvants. *Lupus*. 2010; 19: 354–358. doi: 10.1177/0961203309360670.
2. Shoenfeld Y. 'ASIA' – autoimmune/inflammatory syndrome induced by adjuvants. *Journal of Autoimmunity*. 2011; 36: 4–8. doi: 10.1016/j.jaut.2010.07.003.
3. Moskalets O. V. Role of infections in the development of autoimmune diseases. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal = Kazan Medical Journal*. 2017; 4: 586–591. (In Russ.).
4. Simonova A. V., Kuzmenko L. G., Lebedeva I. S., Baranova I. D., Arzyamova V. V. Chronic infections: innovative ideas in the field of pathogenesis, treatment, vaccination. *Lechaschiy Vrach Journal = The Attending Physician*. 2012; 4: 16–20. (In Russ.).
5. Pendegraft W. F., Badhwar A. K., Preston G. A. Autoantigen complementarity and its contributions to hallmarks of autoimmune disease. *Journal of Theoretical Biology*. 2015; 375: 88–94. doi: 10.1016/j.jtbi.2014.12.006.
6. Nielsen P. R., Kragstrup T. W., Deleuran B. W., Benrose M. E. Infections as risk factor for autoimmune disease – A nationwide study. *Journal of Autoimmunity*. 2016; 74: 176–181. doi: 10.1016/j.jaut.2016.05.013.
7. Sakkas L. I., Bogdanos D. P. Infections as a cause of autoimmune rheumatic diseases. *Autoimmunity Highlights*. 2016; 7 (1): 13. doi: 10.1007/s13317-016-0086-x.
8. Vasilenko N. F., Krongauz I. V., Lopatkin O. N. et al. Author's certificate No. 1425910 dated 22.05.1988. Method for preparing tularemium antigen.
9. Baker E. E., Sommer H., Foster L. E., Meyer E., Meyer K. F. Studies on immunization against plague. I. The isolation and characterization of the soluble antigen of the *Pasteurella pestis*. *Journal of Immunology*. 1952; 68 (2): 131–145.
10. Steibuch G., Andran R. The isolation of IgG from imanalion serra with the acid of caprilic. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1969; 139: 279–284.
11. Efremenko V. I. Magnosorbenty v mikrobiologicheskikh issledovaniyakh = Magnosorbents in microbiological studies. Stavropol: Stavropolye; 1996: 131 p. (In Russ.).
12. Efremenko V. I., Kanteeva E. A., Borzdova I. Yu. Patent 2196335 Rossiyskaya Federatsiya, MPK G01N 33/53. Sposob opredeleniya geterogennykh antigenov, skhodnykh dlya mikroorganizmov i organov cheloveka i zhivotnogo = Patent RF, no. 2196335. 2003. A method for determining heterogeneous antigens similar to microorganisms and organs of humans and animals. (In Russ.).
13. Efremenko V. I., Kanteeva E. A., Borzdova I. Yu., Zarubin V. V., Shevchenko O. A. Patent 2215295 Rossiyskaya Federatsiya, MPK G01N 33/569 Sposob vydeleniya fraktsiy geterogennykh antigenov, skhodnykh mezhdru antigenami mikroorganizmov roda *Brucella* i parenkhimatoznymi tkanyami cheloveka = Patent RF, no. 2215295. 2003. A method for isolating fractions of heterogeneous antigens similar to antigens of microorganisms of the genus *brucella* and human parenchymal tissues. (In Russ.).
14. Tyumentseva I. S., Zharnikova I. V., Afanas'ev E. N., Efremenko V. I., Kogotkova O. I., Kal'noy S. M., Kulichenko A. N. Scientific and methodological development of biotechnologies for the production of immunobiological preparations for the express diagnosis of infectious diseases and the detection of their pathogens. *Biopreparaty. Profilaktika. Diagnostika. Lechenie = Biopreparations. Prevention. Diagnosis. Treatment*. 2015; 7: 21–25. (In Russ.).
15. Tyumentseva I. S., Kurcheva S. A., Afanas'ev E. N., Zharnikova I. V., Zhdanova E. V., Startseva O. L., Garkusha Yu. Yu., Semircheva A. A. Peculiarities of sample preparation using an immunomagnetic sorbent when examining field material for the plague agent. *Voenno-meditsinskiy zhurnal = Military Medical Journal*. 2018; 339 (5): 42–46. (In Russ.).
16. Garkusha Yu. Yu., Tyumentseva I. S., Kurcheva S. A., Startseva O. L., Zharnikova I. V., Koshkid'ko A. G., Geogdzhayan A. S. Determination of the stability of the main quality indicators of the magnosorbent reference standard. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya = Public Health and Life Environment*. 2018; 7: 48–51. (In Russ.).
17. Brykalov A. V., Zharnikova I. V. Patent na izobreteniyе No. 2102134 ot 20.01.1998. Sposob polucheniya immunosorbenta = Patent No. 2102134 dated 20.01.1998. Method for preparing immunosorbent. (In Russ.).

## Информация об авторах

**А. А. Ефременко**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры микробиологии, Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь, Россия, e-mail: anna\_efremenko\_26@mail.ru.

**И. А. Базиков**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии, Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь, Россия, e-mail: bazikov@list.ru.

**В. А. Зеленский**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой стоматологии общей практики и детской стоматологии, Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь, Россия, e-mail: moon175@yandex.ru.

**В. И. Ефременко**, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник, Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт, Ставрополь, Россия, e-mail: efremenko26@mail.ru.

**И. В. Жарникова**, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник, Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт, Ставрополь, Россия, e-mail: efremenko26@mail.ru.

**В. А. Шульженко**, врач-эпидемиолог, Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт, Ставрополь, Россия, e-mail: veronika\_kb@mail.ru.

*Д. В. Ефременко*, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник, Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт, Ставрополь, Россия, e-mail: efremenko26@mail.ru.

#### **Information about the authors**

*A. A. Efremenko*, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia, e-mail: anna\_efremenko\_26@mail.ru.

*I. A. Bazikov*, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department, Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia, e-mail: bazikov@list.ru.

*V. A. Zelensky*, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department, Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia, e-mail: moon175@yandex.ru.

*V. I. Efremenko*, Dr. Sci. (Med.), Professor, Chief Researcher, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia, e-mail: efremenko26@mail.ru.

*I. V. Zharnikova*, Dr. Sci. (Med.), Leading Researcher, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia, e-mail: efremenko26@mail.ru.

*V. A. Shul'zhenko*, epidemiologist, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia, e-mail: veronika\_kb@mail.ru.

*Д. В. Ефременко*, Cand. Sci. (Med.), Leading Researcher, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russia, e-mail: efremenko26@mail.ru.

---

Статья поступила в редакцию 31.05.2023; одобрена после рецензирования 13.05.2024; принята к публикации 28.05.2024.

The article was submitted 31.05.2023; approved after reviewing 13.05.2024; accepted for publication 28.05.2024.