

DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-106-110

УДК 579.842:616-07

Д.М. Фролов, Т.В. Сенина, Т.В. Замарина, Н.П. Храпова

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕАКЦИИ ЛАТЕКС-АГГЛЮТИНАЦИИ В УСКОРЕННОМ ОПРЕДЕЛЕНИИ ПАТОГЕННЫХ БУРКХОЛЬДЕРИЙ

ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Волгоград, Российская Федерация

Цель. Разработка препарата для идентификации *Burkholderia pseudomallei* и *Burkholderia mallei*, выращенных на плотной питательной среде, на этапе экспресс-диагностики патогенных буркхольдерий. **Материалы и методы.** За основу взят метод латекс-агглютинации, в котором в качестве носителя агглютининов применяют взвеси полимеров. Агент, распознающий антиген клеток-мишеней, представлял собой моноклональные антитела, направленные к эпитопам гликопротеина капсулы возбудителя мелиоидоза. Жидкий латексный диагностикум готовили из взвеси полимерного полистирола с диаметром микросфер 0,8–1,1 мкм, поверхность которого нагружали предварительно подобранной концентрацией антител. В работе использовали типичные штаммы возбудителей мелиоидоза и сапа с полноценной антигенной структурой, а также близкородственные и гетерологичные микроорганизмы. Из бактериальных культур готовили взвеси с концентрацией $1,0 \cdot 10^9$ м.к./мл. Реакцию проводили на подогретых до 37 °С стеклянных чашках Петри с визуальной регистрацией результатов по 4-крестовой системе. **Результаты и обсуждение.** Реакция латекс-агглютинации основана на агглютинации микробных клеток (*B. pseudomallei* и *B. mallei*) моноклональными антителами, узнающими эпитопы гликопротеина капсулы патогенных буркхольдерий. Проверено 14 моноклональных антител различных по классу и эпитопной направленности. Определяющими факторами для выбора антитела являлись специфичность их в реакции агглютинации со штаммы возбудителей мелиоидоза и сапа, а также сохранение агглютинирующей активности после иммобилизации на полимерном носителе. В итоге, в качестве агента, распознающего антиген клеток-мишеней, выбрали моноклональные антитела иммуноглобулина класса G к эпитопам гликопротеина капсулы (АГ 8) возбудителя мелиоидоза. В результате после смешивания проб с диагностикумом в образцах, содержащих бактерии *B. pseudomallei* и *B. mallei*, через 10–15 мин образовывался агглютинат, видимый невооруженным глазом. Пробы с близкородственными и гетерологичными микроорганизмами агглютината не имели и регистрировались как отрицательные. Полученный диагностикум характеризуется высокой специфичностью.

Ключевые слова: моноклональные антитела (МКА), латексные микрочастицы, патогенные буркхольдерии, реакция латекс-агглютинации (РЛА), чувствительность, специфичность.

Корреспондирующий автор: Фролов Дмитрий Михайлович, e-mail: vari2@sprint-v.com.ru.

Для цитирования: Фролов Д.М., Сенина Т.В., Замарина Т.В., Храпова Н.П. Использование реакции латекс-агглютинации в ускоренном определении патогенных буркхольдерий. Проблемы особо опасных инфекций. 2019; 3:106–110. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-106-110

D.M. Frolov, T.V. Senina, T.V. Zamarina, N.P. Khrapova

Application of Latex-Agglutination for Rapid Detection of Pathogenic Burkholderia

Volgograd Anti-Plague Research Institute, Volgograd, Russian Federation

Abstract. The aim. Development of a drug for the identification of *Burkholderia pseudomallei* and *Burkholderia mallei* grown in solid nutrient medium at the stage of rapid diagnosis of pathogenic burkholderia. **Materials and methods.** Latex agglutination method, in which suspensions of polymers are used as a carrier of agglutinins. The agent recognizing the antigen of the target cells is a monoclonal antibody directed to the epitopes of the glycoprotein capsule of melioidosis causative agent. A liquid latex diagnosticum was prepared from a suspension of polymer polystyrene with a microsphere diameter of 0.8–1.1 μm , the surface of which was loaded with a pre-selected concentration of antibodies. We used typical strains of melioidosis and glanders agents with a full antigenic structure, as well as closely related and heterologous microorganisms. Suspensions with a concentration of $1.0 \cdot 10^9$ m.c./ml were prepared from bacterial cultures. The reaction was carried out on glass Petri dishes heated to 37 °C with visual recording of the results using four cross system. **Results and discussion.** The latex agglutination reaction is based on agglutination of microbial cells (*B. pseudomallei* and *B. mallei*) with monoclonal antibodies that recognize the epitopes of the glycoprotein capsule of pathogenic burkholderia. 14 monoclonal antibodies of different class and epitope orientation were checked. The determining factors for antibody selection was their specificity in agglutination reaction with strains of melioidosis and glanders agents, as well as preservation of agglutinating activity after immobilization on a polymer carrier. As a result, monoclonal antibodies of class G immunoglobulin to capsule glycoprotein epitopes (AG 8) of the melioidosis agent were selected as an agent recognizing the target cell antigen. As a result, after mixing the samples with the diagnosticum, in samples containing *B. pseudomallei* and *B. mallei* bacteria, visible agglutinate generates in 10–15 min. Samples with closely related and heterologous microorganisms lacked agglutinate and were registered as negative. The obtained diagnosticum is characterized by high specificity.

Key words: monoclonal antibodies (MAbs), latex microparticles, *Burkholderia*, latex agglutination test, sensitivity, specificity.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Corresponding author: Dmitry M. Frolov, e-mail: vari2@sprint-v.com.ru.
Citation: Frolov D.M., Senina T.V., Zamarina T.V., Khrapova N.P. Application of Latex-Agglutination for Rapid Detection of Pathogenic Burkholderia. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; 3:106–110. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-106-110
Received 10.06.19. Revised 17.09.19. Accepted 24.09.19.

Грамотрицательные бактерии *Burkholderia pseudomallei* и *Burkholderia mallei* являются этиологическими агентами мелиоидоза и сапа соответственно. Обе буркхольдерии относят к вероятным агентам биотерроризма [1]. Возбудитель мелиоидоза – это микроорганизм, входящий в состав микробиоты почвы и воды стоячих водоемов. В настоящее время эндемичными по мелиоидозу считаются страны Юго-Восточной Азии, Бразилия, Пуэрто-Рико и Северная Австралия. Заражение людей обычно происходит алиментарным путем при употреблении инфицированной воды и пищи, аэрогенным путем при вдыхании бактерий с частицами пыли и контактным путем в случае попадания контаминированного материала на поврежденные участки кожи. Особенностью мелиоидоза считается оппортунистический характер инфекции, когда болезнь не проявляет себя длительное время, а потом быстро развивается до пневмонии и септицемии с высокой степенью летальности. Сап – зоонозная инфекция, регистрируемая в странах Аравийского полуострова, Турции, Монголии, Индии, Китае, Индонезии и Филиппинах [2]. В основном случаи заражения человека связаны с профессиональной деятельностью (ветеринары, сотрудники лабораторий и др.).

В неэндемичных странах возможность инфицирования возбудителями мелиоидоза и сапа обуславливается туристическим, миграционным и торгово-экономическим факторами, что не исключает опасности завоза этих инфекций на территорию нашей страны. В России достоверного случая заболевания мелиоидозом не зафиксировано. Сап считается ликвидированной инфекцией (не учитывая случаи внутрилабораторного заражения), поэтому микробиологи различных лабораторных служб не имеют достаточного опыта в части практической работы с этими патогенами, что препятствует эффективному обнаружению возбудителей. При этом своевременная диагностика мелиоидоза и сапа снижает вероятность тяжелых последствий для здоровья заболевшего, лечение которого требует специальной схемы антибиотикотерапии [3]. Согласно зарубежной градации *B. pseudomallei* and *B. mallei* также классифицируют как «агенты выбора первого уровня» (Tier 1 select agent) в качестве биологических агентов биотерроризма, поэтому методы быстрого определения этих бактерий необходимы для обеспечения эффективного реагирования при возникновении чрезвычайной ситуации.

Лабораторное подтверждение присутствия микроорганизмов *B. pseudomallei* и *B. mallei* в пробах, поступивших на исследование, опирается на схему выявления патогенных биологических агентов II группы патогенности, которая занимает от 48 до 72 ч [4]. Успешное выполнение всех этапов регла-

ментированной схемы идентификации зависит от многих факторов, например наличия селективных сред для культивирования предполагаемого патогена, специальных лабораторных условий (боксовые помещения с ламинарными шкафами биологической безопасности III класса защиты) и подготовка персонала [5]. Коммерчески доступные системы автоматизированных методов определения микроорганизмов (API 20NE, Phoenix и VITEK) также используют в идентификации инфекционных агентов, однако для биохимического тестирования следует использовать свежеприготовленные взвеси культур, при этом важно отметить разброс точности результатов от 63 до 81 % в зависимости от региональной принадлежности исследуемых бактериальных образцов [6]. Ускоряющие получение результата методы идентификации, такие как полимеразная цепная реакция и секвенирование, используются лишь в специализированных лабораториях или референс-центрах. Современные схемы индикации и идентификации *B. pseudomallei* и *B. mallei* включают в себя как высокотехнологичные, так и относительно простые в исполнении методы. В последнее время возрастает интерес к экспресс-методам, доступным для применения как в стационарных лабораториях любой степени оснащенности, так и в полевых условиях, однако стоит помнить, что они позволяют получить лишь предварительный ответ.

Реакция латекс-агглютинации является качественным методом экспресс-диагностики изолятов *B. pseudomallei* и *B. mallei*, выращенных на плотной или жидкой питательной среде. Сообщают о высокой чувствительности (до 95,1 %) и специфичности (до 99,7 %) метода при условии культивирования бактерий на кровяном агаре [7, 8].

Целью работы явилась Разработка препарата для идентификации *Burkholderia pseudomallei* и *Burkholderia mallei*, выращенных на плотной питательной среде, на этапе экспресс-диагностики патогенных буркхольдерий.

Материалы и методы

В работе использовали моноклональные антитела (МКА) из коллекции лаборатории иммунодиагностики ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт». Отобраны следующие варианты МКА: к эпитопам экспонированным на Ag 8 (гликопротеин капсулы), общим для Ag 8 и Ag 6 (фрагмент липополисахарида клеточной стенки) и, взаимодействующие с эпитопом 200 kDa в составе капсулы возбудителя мелиоидоза. Накопление препаративных количеств иммуноглобулинов производили *in vivo*.

Латексный диагностикум готовили из взвеси

коммерческого полимерного полистирола с диаметром микрочастиц 0,8–1,1 мкм. Для этого 10 % суспензию латексных частиц дважды отмывали центрифугированием в 0,9 % растворе NaCl (pH 7,2±0,2) при 5000 об./мин 10 мин. Затем микрочастицы сенсибилизировали антителами в количестве 100 мкг на 500 мкл 1 % суспензии полимера в 0,9 % растворе NaCl (pH 7,2±0,2), в течение 2 ч при температуре (37±1) °С. Далее нагруженный латекс дважды отмывали 1 % раствором бычьего сывороточного альбумина (БСА) при 5000 об./мин 10 мин. До конечной 1 % концентрации препарат доводили раствором 1 % БСА и оставляли на 16 ч при (4±1) °С.

Использовали типичные штаммы возбудителей мелиоидоза и сапа с полноценной антигенной структурой из коллекции Волгоградского научно-исследовательского противочумного института, а также штаммы двух близкородственных (*B. thailandensis*, *B. cepacia*) и двух гетерологичных (*Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*) видов микроорганизмов.

Выбраны 4 штамма возбудителя сапа, 12 штаммов возбудителя мелиоидоза, 6 – близкородственных и 4 – гетерологичных микроорганизма для контроля специфичности диагностикума. Бактериальные культуры высевали в бульон Хоттингера с 5 % глицерина, pH (7,0±0,2) и инкубировали при температуре (37±1) °С в течение 18–24 ч. Затем подросшие культуры высевали на агар Хоттингера с 5 % глицерина и инкубировали в течение 24–48 ч при температуре (37±1) °С. Опыт проводили с суточными бактериальными культурами, из которых готовили взвеси в концентрации 1–2 · 10⁹ м.к./мл.

Реакцию латекс-агглютинации проводили на подогретых в термостате до (37±1) °С стеклянных чашках Петри. К бактериальным взвесям и контролю (0,9 % раствор NaCl (pH 7,2±0,2)), предварительно нанесенным на поверхность чашки в виде капли, добавляли экспериментальный препарат латекса в соотношении 1:1 (капля 20 мкл). Учет реакции осу-

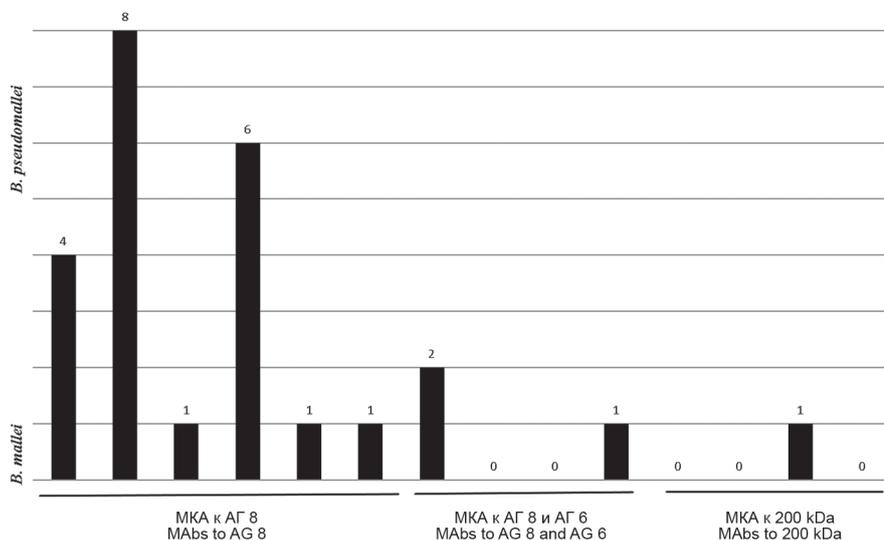
ществляли через 10–15 мин, степень агглютинации оценивали по 4-крестовой системе, положительной считали реакцию на 3 и 4 креста.

Результаты и обсуждение

Латекс-тесты благодаря своим аналитическим характеристикам, удобству и простоте в использовании получили широкое распространение в практике лабораторной диагностики, в том числе экспресс-диагностики возбудителей инфекционных заболеваний. Они не требуют дорогостоящего оборудования и реактивов, позволяют проводить как единичные, так и серийные исследования, обладают достаточной чувствительностью и специфичностью.

На сегодняшний период времени существуют как отечественные, так и зарубежные коммерческие медицинские изделия для постановки реакции латекс-агглютинации, имеющие различные области применения, например индикация, идентификация и типирование микроорганизмов [9–11]. Латексные диагностикумы изготавливают по методам, основанным на сенсибилизации полимерных частиц антигенами или антителами, затем регистрируют формирование агглютината – продукта взаимодействия антигена с гомологичным антителом в ходе серологической реакции.

Разработку диагностикума начали с проверки агглютинационной активности МКА в отношении взвесей с концентрацией 1·10⁹ м.к./мл, приготовленных из семи штаммов *B. pseudomallei* и одного *B. mallei*, выращенных на плотной питательной среде, обладающих типичными для этих микроорганизмов культуральными и биохимическими свойствами. Всего проверено 14 МКА в концентрации 10 мг/мл различных по классу и эпитопной направленности (рисунок). Определяющим фактором для выбора антитела являлась специфичность в реакции агглютинации со штаммами возбудителей мелиоидоза и сапа. В итоге, в качестве распознающего антиген



Агглютинация семи штаммов *B. pseudomallei* и одного штамма *B. mallei*, в концентрации 1·10⁹ м.к./мл, моноклональными антителами, в концентрации 10 мг/мл, различными по классу и эпитопной направленности

Agglutination of 7 *B. pseudomallei* and 1 *B. mallei* strains at a concentration of 1·10⁹ cfu/ml, by monoclonal antibodies at a concentration of 10 mg/ml, different in class and epitope orientation

клеток-мишеней агента выбрали МКА иммуноглобулина класса G к эпитомам гликопротеина капсулы (АГ 8) возбудителя мелиоидоза.

Реакция латекс-агглютинации (РЛА) основана на агглютинации микробных клеток моноклональными антителами, узнающими эпитопы гликопротеина капсулы патогенных буркхольдерий. Антитела иммобилизованы на поверхности частиц полистирольного латекса. При взаимодействии диагностикума с бактериями *B. pseudomallei* и *B. mallei* образуется агглютинат, видимый невооруженным глазом. Результаты РЛА со штаммами, исследованных в работе микроорганизмов, представлены в таблице.

По результатам исследования можно сделать вывод о целесообразности применения реакции латекс-агглютинации на основе моноклональных антител на этапе экспресс-диагностики для идентификации патогенных буркхольдерий. Экспериментальный препарат показал высокую специфичность в РЛА – все 16 опытных штамма *B. pseudomallei* и *B. mallei* агглютинировали, в отличие от гетерологичных микроорганизмов – с ними реакция была отрицательной.

Подтверждение возможности применения РЛА на основе МКА в ускоренном определении патогенных буркхольдерий открывает перспективы и в определении видовой принадлежности бактерий. Возбудители мелиоидоза и сапа являются близкородственными микроорганизмами, поэтому при их идентификации в серологических реакциях могут быть получены ложноположительные результаты.

Однако существуют методы, такие как метод флюоресцирующих антител и твердофазного иммуноферментного анализа, при постановке которых возможность перекрестных реакций сведена до минимума за счет использования МКА к специфическим эпитомам, свойственным конкретному виду микроорганизма. Применение подобных антител в РЛА делает актуальными дальнейшие разработки диагностикумов для быстрого выявления уже конкретного возбудителя. Существуют такие возможности по снижению времени проведения реакции практически в 2 раза, что обеспечивается использованием в качестве носителя полимерных латексных частиц с различными активными группами на их поверхности.

Результаты реакции агглютинации чистых культур *B. pseudomallei*, *B. mallei*, близкородственных и гетерологичных микроорганизмов

Results of agglutination reaction of *B. pseudomallei*, *B. mallei* cultures, closely related and heterologous microorganisms

Микроорганизм Microorganism	Положительный результат / общее количество штаммов Positive result / total number of strains
<i>B. pseudomallei</i>	12/12
<i>B. mallei</i>	4/4
<i>B. thailandensis</i>	0/3
<i>B. cepacia</i>	0/3
<i>P. aeruginosa</i>	0/3
<i>P. putida</i>	0/1

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Список литературы

- Gilad J., Schwartz D., Amsalem Y. Clinical features and laboratory diagnosis of infection with the potential bioterrorism agents *Burkholderia mallei* and *Burkholderia pseudomallei*. *Int. J. of Biomed. Sci.* 2007; 3:144–52. PMID: 23675037. PMCID: PMC3614684.
- Van Zandt K.E., Greer M.T., Gelhaus H.C. Glanders: an overview of infection in humans. *Orphanet. J. Rare Dis.* 2013; 8:131. DOI: 10.1186/1750-1172-8-131.
- Dance D. Treatment and prophylaxis of melioidosis. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2014; 43(4):310–18. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2014.01.005.
- Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней. Практическое руководство. М.: ЗАО «Шико»; 2013. 560 с.
- Hoffmaster A.R., AuCoin D., Baccam P., Baggett H.C. Baird R., Bhengsi S., Blaney D.D., Brett P.J., Brooks T.J., Brown K.A., Chantratita N., Cheng A.C., Dance D.A., Decuyper S., Defenbaugh D., Gee J.E., Houghton R., Jorakate P., Lertmemongkolchai G., Limmathurotsakul D., Merlin T.L., Mukhopadhyay C., Norton R., Peacock S.J., Rolim D.B., Simpson A.J., Steinmetz I., Stoddard R.A., Stokes M.M., Sue D., Tuanyok A., Whistler T., Wuthiekanun V., Walke H.T. Melioidosis diagnostic workshop, 2013. *Emerg. Infect. Dis.* 2015; 21(2). DOI: 10.3201/eid2102.141045.
- Zakharova I.B., Lopasteyskaya Y.A., Toporkov A.V., Viktorov D.V. Influence of biochemical features of *Burkholderia pseudomallei* strains on identification reliability by Vitek 2 system. *J. Glob. Infect. Dis.* 2018; 10(1):7–10. DOI: 10.4103/jgid.jgid.39.17.
- Hantrakun V., Thaipadungpanit J., Rongkard P., Srirohasin P., Amornchai P., Langla S., Mukaka M., Chantratita N., Wuthiekanun V., Dance D.A.B., Day N.P.J., Peacock S.J., Limmathurotsakul D. Presence of *B. thailandensis* and *B. thailandensis* expressing *B. pseudomallei*-like capsular polysaccharide in Thailand, and their associations with serological response to *B. pseudomallei*. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2018; 12(1):e0006193. DOI: 10.1371/journal.pntd.0006193.
- Peeters M., Chung P., Lin H., Mortelmans K., Phe C., San C., Kuijpers L.M.F., Teav S., Phe T., Jacobs J. Diagnostic accuracy of the InBioS AMD rapid diagnostic test for the detection of *Burkholderia pseudomallei* antigen in grown blood culture broth. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2018; 37(6):1169–77. DOI: 10.1007/s10096-018-3237-3.
- Бровкина А.Н. Разработка метода и тест-системы выявления бактерий рода *Salmonella* на основе латекс-агглютинации. *Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета.* 2011; 72:516–24.
- Волина Е.Г., Слугин И.В., Верховский О.А., Яшина Н.В., Шкарлат П.Е., Прокопов Н.И., Грнцкова И.А. Способ приготовления лептоспирозного диагностикума для постановки реакции латекс-агглютинации. Патент РФ № 2177617, опубл. 27.12.2001.
- Хлынцева А.Е., Лунева Н.М., Белова Е.В., Дятлов И.А., Шемкин И.Г. Разработка и испытания диагностикума на основе моноклональных антител для определения спор возбудителя сибирской язвы в реакции латекс-агглютинации. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2011; 4(110):71–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2011-4(110)-71-75.

References

- Gilad J., Schwartz D., Amsalem Y. Clinical features and laboratory diagnosis of infection with the potential bioterrorism agents *Burkholderia mallei* and *Burkholderia pseudomallei*. *Int. J. of Biomed. Sci.* 2007; 3:144–52. PMID: 23675037. PMCID: PMC3614684.
- Van Zandt K.E., Greer M.T., Gelhaus H.C. Glanders: an overview of infection in humans. *Orphanet. J. Rare Dis.* 2013; 8:131. DOI: 10.1186/1750-1172-8-131.
- Dance D. Treatment and prophylaxis of melioidosis. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2014; 43(4):310–18. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2014.01.005.
- Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors. Laboratory diagnostics of dangerous infectious diseases. Practical guide. M.: “Shiko”; 2013. 560 с.
- Hoffmaster A.R., AuCoin D., Baccam P., Baggett H.C. Baird R., Bhengsi S., Blaney D.D., Brett P.J., Brooks T.J., Brown K.A., Chantratita N., Cheng A.C., Dance D.A., Decuyper S., Defenbaugh D., Gee J.E., Houghton R., Jorakate P., Lertmemongkolchai G., Limmathurotsakul D., Merlin T.L., Mukhopadhyay C., Norton R.,

Peacock S.J., Rolim D.B., Simpson A.J., Steinmetz I., Stoddard R.A., Stokes M.M., Sue D., Tuanyok A., Whistler T., Wuthiekanun V., Walke H.T. Melioidosis diagnostic workshop, 2013. *Emerg. Infect. Dis.* 2015; 21(2). DOI: 10.3201/eid2102.141045.

6. Zakharova I.B., Lopasteyskaya Y.A., Toporkov A.V., Viktorov D.V. Influence of biochemical features of *Burkholderia pseudomallei* strains on identification reliability by Vitek 2 system. *J. Glob. Infect. Dis.* 2018; 10(1):7–10. DOI: 10.4103/jgid.jgid_39_17.

7. Hantrakun V., Thaipadungpanit J., Rongkard P., Srirohasin P., Amornchai P., Langla S., Mukaka M., Chantratita N., Wuthiekanun V., Dance D.A.B., Day N.P.J., Peacock S.J., Limmathurotsakul D. Presence of *B. thailandensis* and *B. thailandensis* expressing *B. pseudomallei*-like capsular polysaccharide in Thailand, and their associations with serological response to *B. pseudomallei*. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2018; 12(1):e0006193. DOI: 10.1371/journal.pntd.0006193.

8. Peeters M., Chung P., Lin H., Mortelmans K., Phe C., San C., Kuijpers L.M.F., Teav S., Phe T., Jacobs J. Diagnostic accuracy of the InBiOS AMD rapid diagnostic test for the detection of *Burkholderia pseudomallei* antigen in grown blood culture broth. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2018; 37(6):1169–77. DOI: 10.1007/s10096-018-3237-3.

9. Brovkina A.N. Development of a method and test system for detecting bacteria of the genus *Salmonella* based on latex agglutination. [*Polythematic Internet electronic scientific journal of the Kuban State Agrarian University*]. 2011; 72:516–24.

10. Volina E.G., Slugin I.V., Verkhovsky O.A., Yashina N.V.,

Shkarlat P.E., Prokopov N.I., Gritskova I.A. A method of preparing a leptospirosis diagnosticum for the formulation of the latex-agglutination reaction. RF patent No. 2177617, publ. 27.12.2001.

11. Khlyntseva A.E., Luneva N.M., Belova E.V., Dyatlov I.A., Shemyakin I.G. Development and testing of a diagnosticum based on monoclonal antibodies to determine anthrax pathogen spores in latex agglutination reaction. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2011; 4(110):71–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2011-4(110)-71-75.

Authors:

Frolov D.M., Senina T.V., Zamarina T.V., Khrapova N.P. Volgograd Research Anti-Plague Institute, 7, Golubinskaya St., Volgograd, 400131, Russian Federation. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru.

Об авторах:

Фролов Д.М., Сенина Т.В., Замарина Т.В., Храпова Н.П. Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 400131, Волгоград, ул. Голубинская, 7. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru.

Поступила 10.06.19.

Отправлена на доработку 17.09.19.

Принята к публ. 24.09.19.