

DOI: 10.21055/0370-1069-2021-4-79-83

УДК 616.98:579.841.95:616-07

А.Г. Кошкидько, С.А. Курчева, И.В. Жарникова, А.А. Зайцев, О.А. Гнусарева, О.Л. Старцева,
А.Ю. Газиева, Е.В. Жданова, Т.В. Жарникова, Д.В. Русанова

ОЦЕНКА ПРИМЕНЕНИЯ ЭРИТРОЦИТАРНОГО ДИАГНОСТИКУМА (ЛИОФИЛИЗАТА) ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУЛЯРЕМИИ В ПРИРОДНЫХ ОЧАГАХ

ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», Ставрополь, Российская Федерация

Туляремия – зоонозная болезнь, имеющая широкое географическое распространение, а ее возбудитель *Francisella tularensis* может быть использован в качестве биотеррористического агента. Цель исследования – оценка применения набора реагентов «Диагностикум эритроцитарный туляреминый иммуноглобулиновый сухой» («ДЭТ-Иг») с использованием контрольных тест-штаммов и полевого материала из природных очагов туляремии. **Материалы и методы.** С использованием предложенного эритроцитарного диагностикума проведено исследование обеззараженных культур тест-штаммов (*F. tularensis* Miura, *F. tularensis* 55, *F. tularensis* Schu, *F. tularensis* 15 НИИЭГ, *Brucella abortus* 544, *B. melitensis* 16-M, *B. suis* 1330 и *Yersinia enterocolitica* 64, *Y. enterocolitica* 178, *Y. enterocolitica* 383) и проб объектов окружающей среды, подозрительных на содержание *F. tularensis*. **Результаты и обсуждение.** Доказано, что разработанный диагностикум специфичен, чувствителен, прост в использовании при осуществлении рутинной диагностики туляремии. В ходе лабораторных испытаний экспериментальных серий набора реагентов «ДЭТ-Иг» показана возможность качественного определения возбудителя туляремии в бактериальных культурах, биологическом материале и объектах окружающей среды в реакции непрямой гемагглютинации. Сравнение результатов применения эритроцитарных диагностикумов в жидкой и лиофилизированной формах показало преимущества препаратов после лиофилизации: возможность транспортирования и длительного хранения при любых температурных режимах в различных климатических условиях; постановка реакции возможна без применения специальной разводящей жидкости. Установлен гарантийный срок хранения в течение двух лет (срок наблюдения). Полученные результаты указывают на перспективность внедрения разработанного препарата в практику здравоохранения.

Ключевые слова: реакция непрямой гемагглютинации, возбудитель туляремии, *Francisella tularensis*, природные очаги.

Корреспондирующий автор: Курчева Светлана Александровна, e-mail: stavnipchi@mail.ru.

Для цитирования: Кошкидько А.Г., Курчева С.А., Жарникова И.В., Зайцев А.А., Гнусарева О.А., Старцева О.Л., Газиева А.Ю., Жданова Е.В., Жарникова Т.В., Русанова Д.В. Оценка применения эритроцитарного диагностикума (лиофилизата) при выявлении возбудителя туляремии в природных очагах. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021; 4:79–83. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-4-79-83

Поступила 26.04.2021. Отправлена на доработку 17.05.2021. Принята к публ. 09.07.2021.

A.G. Koshkid'ko, S.A. Kurcheva, I.V. Zharnikova, A.A. Zaitsev, O.A. Gnusareva, O.L. Startseva,
A.Yu. Gazieva, E.V. Zhdanova, T.V. Zharnikova, D.V. Rusanova

Assessment of the Application of Erythrocytal Diagnosticum (Lyophilizate) in Detecting Tularemia Agent in Natural Foci

Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Abstract. Tularemia is a zoonotic disease with a wide geographical dissemination, and its causative agent *Francisella tularensis* can be used as a bioterrorism agent. **The aim** of the study was to evaluate the use of a set of reagents “Erythrocytic immunoglobulin dry tularemia diagnosticum” (“DET-Ig”) with the help of control test strains and field material from natural tularemia foci. **Materials and methods.** Using the introduced erythrocyte diagnosticum, we studied the decontaminated cultures of test strains (*F. tularensis* Miura, *F. tularensis* 55, *F. tularensis* Schu, *F. tularensis* 15 NIEG, *Brucella abortus* 544, *B. melitensis* 16-M, *B. suis* 1330, and *Yersinia enterocolitica* 64, *Y. enterocolitica* 178, *Y. enterocolitica* 383) and environmental samples suspected of containing *F. tularensis*. **Results and discussion.** It has been proven that the developed diagnosticum is specific, sensitive, and easy to use for routine diagnostics of tularemia. In the course of laboratory tests of the experimental series of the DET-Ig reagent kit, the possibility of qualitative determination of the tularemia agent in bacterial cultures, biological material and environmental samples in the reaction of indirect hemagglutination was demonstrated. Comparison of the results of use of erythrocyte diagnosticum in liquid and lyophilized forms showed the advantages of drugs after lyophilization: the possibility of transportation and long-term storage at any temperature conditions in various climatic conditions; the setting of the reaction is possible without the use of special diluents. The guaranteed storage term is set for two years (observation period). The results obtained indicate the prospects of introducing the developed drug into healthcare practice.

Key words: indirect hemagglutination reaction, tularemia agent, *Francisella tularensis*, natural foci.

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

Corresponding author: Svetlana A. Kurcheva, e-mail: stavnipchi@mail.ru.

Citation: Koshkid'ko A.G., Kurcheva S.A., Zharnikova I.V., Zaitsev A.A., Gnusareva O.A., Startseva O.L., Gazieva A.Yu., Zhdanova E.V., Zharnikova T.V., Rusanova D.V. Assessment of the Application of Erythrocytal Diagnosticum (Lyophilizate) in Detecting Tularemia Agent in Natural Foci. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; 4:79–83. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2021-4-79-83

Received 26.04.2021. Revised 17.05.2021. Accepted 09.07.2021.

Koshkid'ko A.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6617-9504>
Kurcheva S.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3564-0791>
Zhamnikova I.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8443-4089>
Zaitsev A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2516-4813>
Gnusareva O.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2516-4813>

Startseva O.L., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5493-5296>
Gazieva A.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8775-0087>
Zhdanova E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5360-3786>
Zhamnikova T.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0801-5077>
Rusanova D.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2229-6570>

Francisella tularensis – возбудитель зоонозной болезни туляремии, которая характеризуется высокими показателями заболеваемости и смертности более чем у 190 различных видов млекопитающих, включая человека [1]. Согласно международной классификации бактерий вид *F. tularensis* включает четыре подвида с разнообразным географическим распределением, ареалами обитания и вирулентностью: subsp. *tularensis* (тип А), subsp. *holarctica* (тип В), subsp. *mediasiatica* и subsp. *novicida* [2]. *F. tularensis* subsp. *tularensis* встречается преимущественно в Северной Америке [3]. Штаммы *F. tularensis* subsp. *holarctica* распространены в Европе, Азии (в том числе Японии), Северной Америке, Австралии (включая Тасманию) [4, 5]. Географическое распространение *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* – Средняя Азия, а также территория Алтайского и Красноярского края Российской Федерации [5]. *F. tularensis* subsp. *novicida* выделен в Северной Америке, Австралии и Таиланде и считается неvirulentным для человека, единичные случаи выделения туляремийного микроба этого подвида от людей касались только лиц со сниженным иммунным статусом [5, 6]. В последнее время в 31 стране Европы, а также в Турции и Японии проводится обязательная регистрация случаев заболевания туляремией в связи с возможностью использования возбудителя в качестве агента биотерроризма, следовательно, это заболевание требует особого внимания [5, 7]. Естественным резервуаром инфекции являются мелкие млекопитающие, такие как мыши, полевки, белки и кролики. Передача инфекции людям происходит при контакте с инфицированными животными или загрязненной окружающей средой, употреблении зараженной пищи или воды, либо через укусы переносчиков – членистоногих [8, 9].

Учитывая неблагоприятную обстановку по туляремийной инфекции в РФ, актуальным вопросом является разработка чувствительных и специфичных препаратов для лабораторной диагностики туляремии, которая основывается на обнаружении в сыворотке крови специфических антител и/или индикации *F. tularensis* в объектах окружающей среды и биологическом материале.

Иммуноанализ с помощью реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) позволяет получать предварительный результат через 3–4 ч от начала исследования [10]. Применяемые в настоящее время эритроцитарные диагностикумы в жидкой форме имеют ограниченный срок годности (1 год), с возможностью транспортирования только при строго определенном температурном режиме, хранение при минусовой температуре не допускается. Кроме того, для постановки РНГА с таким диагностикумом необходимы специальные растворы в качестве разводящей

жидкости, содержащие в своем составе нормальную кроличью сыворотку или Tween 80. Специалистами Ставропольского противочумного института разработан набор реагентов «Диагностикум эритроцитарный туляремийный иммуноглобулиновый сухой» («ДЭТ-Иг»). Для получения сухой формы диагностикума применен метод лиофильного высушивания, способствующий стабилизации основных диагностических характеристик компонентов. Это позволило увеличить срок годности набора до двух лет с возможностью его транспортировки в любых температурных режимах без потери специфической активности. Набор предназначен для обнаружения возбудителя туляремии в выделенных культурах, а также биологических пробах и пробах окружающей среды.

Цель исследовательской работы – оценка применения набора реагентов «Диагностикум эритроцитарный туляремийный иммуноглобулиновый сухой» с использованием контрольных тест-штаммов и левого материала из природных очагов туляремии.

Материалы и методы

В работе использовали коммерческие и экспериментальные диагностические наборы производства Ставропольского противочумного института: набор реагентов «Диагностикум эритроцитарный туляремийный иммуноглобулиновый жидкий» («РНГА-Тул-Иг-СтавНИПЧИ»), набор реагентов «Тест-система диагностическая для выявления возбудителя туляремии в иммуноферментном анализе (ИФА)» («ИФА-Тул-СтавНИПЧИ») и экспериментальные серии набора реагентов «Диагностикум эритроцитарный туляремийный иммуноглобулиновый сухой» («ДЭТ-Иг»).

Лиофилизацию препарата проводили по отработанному рентабельному режиму лиофилизации в глубоком вакууме: при 15–20 Па, температуре конденсатора минус 85 °С и плавном (до 25 °С) подводе тепла в течение 12–13 ч [11]. В состав среды высушивания входили полиглюкин, Tween 80 и азид натрия в дистиллированной воде.

Постановку РНГА и реакции торможения непрямой гемагглютинации (РТНГА) осуществляли по традиционной методике макро- и микрометодом. Полученный лиофилизат восстанавливали в 1,0 мл физиологического раствора рН (6,2±0,2). РТНГА ставят обязательно параллельно с РНГА для подтверждения ее специфичности. Для постановки РТНГА использовали сыворотку туляремийную агглютинирующую кроличью, входящую в состав набора, в разведении 1:500. Учет результатов РНГА и РТНГА (микрометод) проводили через 2 ч. Если в РТНГА титр реакции по сравнению с РНГА снижен на 4–6 лунок, значит, подтверждается специфичность РНГА [12].

При проведении контрольных исследований на чувствительность и специфичность разработанного лиофилизированного препарата использовали 10 штаммов: *F. tularensis holarctica* Miura, *F. tularensis mediaasiatica* 55, *F. tularensis nearctica* Schu, *F. tularensis holarctica* 15 НИИЭГ, *B. abortus* 544, *B. melitensis* 16-М, *B. suis* 1330 и *Y. enterocolitica* 64, *Y. enterocolitica* 178, *Y. enterocolitica* 383 – из лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов» Ставропольского противочумного института. При апробации в межлабораторных испытаниях исследовали пробы из объектов окружающей среды, взятые из природных очагов туляремии Ставропольского края:

- 10 проб экскрементов мышевидных грызунов, погадок хищных птиц, отобранных в период проведения эпизоотологического обследования Петровского района Ставропольского края с 14 по 15 января 2020 г.;

- 10 проб помета хищных млекопитающих, мумифицированный труп полевки, отобранные в период проведения эпизоотологического обследования Кировского и Минераловодского районов Ставропольского края с 27 по 30 марта 2020 г.;

- 26 проб экскрементов мышевидных грызунов, отобранных в период проведения эпизоотологического обследования Кировского, Советского, Георгиевского районов Ставропольского края с 21 по 31 июля 2020 г.;

- 7 проб погадок хищных птиц, отобранных в период проведения эпизоотологического обследования Кировского, Советского, Георгиевского районов Ставропольского края с 21 по 31 июля 2020 г.

Вследствие того, что идентификация *F. tularensis* subsp. *novicida* не регистрировалась у диких животных (здоровых или умирающих), а единственным источником изолятов *F. tularensis* subsp. *novicida* до настоящего времени являлась соленая вода, при оценке применения набора реагентов «ДЭТ-Иг» с использованием полевого материала из природных очагов туляремии (погадки хищных птиц, экскременты мышевидных грызунов, помет хищных млекопитающих) штаммы данного подвида не были представлены.

Результаты и обсуждение

В состав экспериментального набора «ДЭТ-Иг» входят: лиофилизированный в защитной среде высушивания диагностикум эритроцитарный туляремийный иммуноглобулиновый 10 % сухой, положительный контроль (инактивированная взвесь туляремийного микроба) и сыворотка туляремийная 1:10. Среда высушивания содержит не только ингредиенты, предохраняющие препарат от разрушения при замораживании и лиофилизации, но и Tween 80, позволяющий осуществлять постановку РНГА без разводящей жидкости, а также азид натрия – консервант, предотвращающий микробный

пророст при длительном хранении растворенного препарата.

Контроль качества экспериментальных серий «ДЭТ-Иг» производили после проведения процедуры лиофильного высушивания по следующим параметрам:

1. Растворимость – при добавлении 1 мл 0,9 % раствора хлорида натрия диагностикум растворяется в течение 20 сек, имеет вид гомогенной суспензии красно-коричневого цвета; при отстаивании образуются два слоя: прозрачная бесцветная или светло-желтого цвета надосадочная жидкость и плотный осадок красно-коричневого цвета.

2. Потеря в массе при высушивании – не более 2,5 %.

3. Отсутствие спонтанной агглютинации – при добавлении к 2,5 % взвеси диагностикума 0,9 % раствора хлорида натрия (1:1) через 3 ч формируется осадок в виде «пуговки».

4. Количество эритроцитов – при подсчете в камере Горяева в 1 мм³ 2,5 % диагностикума содержится $(5,6 \pm 0,5) \cdot 10^5$ эритроцитов.

5. Чувствительность – диагностикум обеспечивает выявление в РНГА *F. tularensis* в концентрациях, эквивалентных по отраслевому стандарту мутности ОСО 42-28-85 ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, $3,9 \cdot 10^5$ м.к./мл макрометодом и $1,56 \cdot 10^6$ м.к./мл микрометодом.

6. Специфичность – при постановке РНГА с использованием диагностикума не выявляются гетерологичные микроорганизмы в концентрациях, эквивалентных по отраслевому стандарту мутности ОСО 42-28-85 ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, $1 \cdot 10^8$ м.к./мл [13].

При положительном результате реакции сенсibilизированные эритроциты выпадают на дно лунки равномерным слоем в виде «зонтика», при отрицательном результате и контроле эритроциты оседают на дно лунки в виде «пуговки» или кольца [12].

При проведении контрольных лабораторных испытаний на чувствительность разработанного лиофилизированного препарата использовали обеззараженные микробные суспензии указанных выше штаммов *F. tularensis*, показавшие четкую агглютинацию эритроцитов в последнем разведении с концентрацией $1,95 \cdot 10^5$ – $3,9 \cdot 10^5$ м.к./мл макрометодом и $7,8 \cdot 10^5$ – $1,56 \cdot 10^6$ м.к./мл микрометодом. В постановке реакции с гетерологичными микроорганизмами получен отрицательный ответ в 100 % случаях (табл. 1). После лиофилизации качественные характеристики сухого эритроцитарного диагностикума остались без изменений. Внутривыставочная, межвыставочная и межсерийная воспроизводимость для всех положительных образцов составила 100 %.

Для подтверждения диагностической ценности проведены исследования полевого материала из природных очагов туляремии (табл. 2). Подготовку к исследованию проб проводили согласно инструкции по применению к препаратам.

Таблица 1 / Table 1

Контроль чувствительности и специфичности эритроцитарного туляремийного иммуноглобулинового диагностикума сухого (макрометод)
Control of the sensitivity and specificity of erythrocyte tularemia immunoglobulin dry diagnosticum (macro method)

Штаммы микроорганизмов Microorganism strains	№ серии / набора Batch / set No.								
	C-1			C-2			C-3		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
	Количество, м.к./мл (n·10 ⁵) Quantity, m.c. / ml (n·10 ⁵)								
<i>F. tularensis</i> Schu	1,95	1,95	1,95	3,9	3,9	3,9	1,95	1,95	1,95
<i>F. tularensis</i> Miura	3,9	3,9	3,9	3,9	3,9	3,9	3,9	3,9	3,9
<i>F. tularensis</i> 55	3,9	3,9	3,9	3,9	3,9	3,9	1,95	1,95	1,95
<i>F. tularensis</i> 15 НИИЭГ	1,95	1,95	1,95	1,95	1,95	1,95	1,95	1,95	1,95
<i>B. melitensis</i> 16-M, <i>B. abortus</i> 544, <i>B. suis</i> 1330, <i>Y. enterocolitica</i> 64, <i>Y. enterocolitica</i> 178, <i>Y. enterocolitica</i> 383	Результаты отрицательные Negative results								
Контроль диагностикума Diagnosticum control	Гемагглютинация отсутствует No hemagglutination								

При исследовании проб объектов окружающей среды (всего 53 пробы), отобранных в период проведения эпизоотологического обследования Ставропольского края (Петровский, Кировский, Советский, Минераловодский, Георгиевский районы) в 2020 г., в двух пробах обнаружен антиген возбудителя туляремии.

Параллельно с РНГА и РТНГА выявление возбудителя туляремии в чистых культурах и пробах из объектов окружающей среды проводили в иммуноферментном анализе. Результаты, полученные при исследованиях, подтверждают наличие туляремийного антигена в положительных пробах.

При изучении стабильности основных показателей качества разработанных эритроцитарных препаратов (лиофилизатов) учитывали температуры различ-

ных климатических зон, в которых предполагаются их реализация и использование. Проведены контрольные исследования полученных экспериментальных серий диагностикумов при хранении в потребительской упаковке с учетом регламентированной температуры от 2 до 8 °С, а также в условиях повышенных и пониженных температур при (30±2) °С и минус 18 °С соответственно. При постановке РНГА в контролируемых образцах отмечено полное сохранение первоначальных физико-химических свойств препарата, его чувствительности и специфичности на протяжении всего периода испытаний. Отрицательного влияния вышеуказанных температур на результаты контролируемых показателей не выявлено.

В ходе лабораторных испытаний экспериментальных серий набора реагентов «ДЭТ-Иг» установ-

Таблица 2 / Table 2

Положительные результаты серологического исследования полевого материала
Positive results of a serological study of field material

№ пробы Sample No.	Дата сбора Date of sample collection	Адрес сбора Site of sample collection	Биотоп, станция Biotope, station	Вид пробы Type of sample	Результат исследования Research result	
					«ДЭТ-Иг» “DET-Ig” reagent kit	«РНГА-Тул-Иг-СтавНИПЧИ» Conventional reagent kit
Петровский район Petrovsky district						
1	14.01.2020 January 14, 2020	с. Рогатая Балка Rogataya Balka 90° (В) N 4519737 E 043.02311	Разнотравно-злаковая степь Herb-cereal steppe	Экскременты полевков Vole excrements	РНГА – 1:320 РТНГА – 1:40 ИНАР – 1:320 ИНАИР – 1:40	РНГА – 1:320 РТНГА – 1:40 ИНАР – 1:320 ИНАИР – 1:40
2	14.01.2020 January 14, 2020	с. Рогатая Балка Rogataya Balka 90° (В) 6,53 km N 4520501 E 042.97536	Граница лесополосы и поля озимой пшеницы Border of the forest belt and the field of winter wheat	Погадка хищной птицы Regurgitate of a bird of prey	РНГА – 1:320 РТНГА – 1:80 ИНАР – 1:320 ИНАИР – 1:80	РНГА – 1:320 РТНГА – 1:80 ИНАР – 1:320 ИНАИР – 1:80

лено его соответствие назначению, а именно обнаружение возбудителя туляремии в выделенных бактериальных культурах, а также биологических пробах и объектах окружающей среды в реакции непрямой гемагглютинации микро- и макрометодом.

На основе сравнительной характеристики результатов применения эритроцитарных диагностикумов в жидкой и лиофилизированной формах можно сделать заключение, что препараты после лиофилизации имеют ряд преимуществ: реализуется возможность транспортирования и длительного хранения диагностикума при любых температурных режимах в различных климатических условиях; постановка реакции возможна без применения специальной разводящей жидкости; также установлен гарантийный срок хранения в течение двух лет (срок наблюдения).

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

Список литературы

- Zellner B., Huntley J.F. Ticks and tularemia: Do we know what we don't know? *Front Cell Infect. Microbiol.* 2019; 9:146. DOI: 10.3389/fcimb.2019.00146.
- Sarva S.T., Waldo R.H., Belland R.J., Klose K.E. Comparative transcriptional analyses of *Francisella tularensis* and *Francisella novicida*. *PLoS One.* 2016; 11(8):e0158631. DOI: 10.1371/journal.pone.0158631.
- Farlow J., Wagner D.M., Dukerich M., Stanley M., Chu M., Kubota K., Petersen J., Keim P. *Francisella tularensis* in the United States. *Emerg. Infect. Dis.* 2005; 11(12):1835–41. DOI: 10.3201/eid1112.050728.
- Champion M.D., Zeng Q., Nix E.B., Nano F.E., Keim P., Kodira C.D., Borowsky M., Young S., Koehrsen M., Engels R., Pearson M., Howarth C., Larson L., White J., Alvarado L., Forsman M., Bearden S.W., Sjöstedt A., Titball R., Michell S.L., Birren B., Galagan J. Comparative genomic characterization of *Francisella tularensis* strains belonging to low and high virulence subspecies. *PLoS Pathog.* 2009; 5(5):e1000459. DOI: 10.1371/journal.ppat.1000459.
- Kudryavtseva T.Yu., Mokrievich A.N. [Tularemia in the world]. *Infektsiya i Immunitet [Infection and Immunity]*. 2021; 11(2):249–64. DOI: 10.15789/2220-7619-TTW-1380.
- Leelaporn A., Yongyod S., Limsrivanichakorn S., Yungyuen T., Kiratisin P. *Francisella novicida* bacteremia, Thailand. *Emerg. Infect. Dis.* 2008; 14(12):1935–7. DOI: 10.3201/eid1412.080435.
- Chaignat V., Djordjevic-Spasic M., Ruettger A., Otto P., Klimpel D., Müller W., Sachse K., Araj G., Diller R., Tomaso H. Performance of seven serological assays for diagnosing tularemia. *BMC Infect. Dis.* 2014; 14:234. DOI: 10.1186/1471-2334-14-234.
- Yanes H., Hennebique A., Pelloux I., Boisset S., Bicot D.J., Caspar Y., Maurin M. Evaluation of in-house and commercial serological tests for diagnosis of human tularemia. *J. Clin. Microbiol.* 2017; 56(1):e01440-17. DOI: 10.1128/JCM.01440-17.
- Petersen J.M., Mead P.S., Schriefer M.E. *Francisella tularensis*: an arthropod-borne pathogen. *Vet. Res.* 2009; 40(2):7. DOI: 10.1051/vetres:2008045.
- Onishchenko G.G., Kutyrëv V.V., editors. [Specific Indication of Pathogenic Biological Agents. Practice Guidelines]. 2nd ed., rev. and add. Saratov: LLC "Bukva"; 2014. 284 p.
- Koshkid'ko A.G., Kurcheva S.A., Zharnikova I.V., Startseva O.L. [Development of a protective drying medium to stabilize erythrocyte antigenic tularemia diagnosticum]. *Vestnik Biotekhnologii i Fiziko-Khimicheskoy Biologii Imeni Yu.A. Ovchinnikova [Bulletin of Biotechnology and Physical-Chemical Biology Named after Yu.A. Ovchinnikov]*. 2020; 16(4):12–6.
- Onishchenko G.G., Kutyrëv V.V., editors. [Laboratory Diagnostics of Dangerous Infectious Diseases. Practice Guidelines]. 2nd ed., rev. and add. Moscow: JSC "Shiko"; 2013. 560 p.
- Zharnikova I.V., Koshkid'ko A.G., Kurcheva S.A., Zhdanova E.V., Startseva O.L., Tyumentseva I.S., Afanas'ev E.N., Semirchova A.A., Geogdzhayana A.S., Krasovskaya T.L. [Method for the production of erythrocyte immunoglobulin tularemia diagnosticum]. RF patent No. 2747420, publ. 04.05.2021. Bul. No. 13.

Authors:

Koshkid'ko A.G., Kurcheva S.A., Zharnikova I.V., Zaitsev A.A., Gmusareva O.A., Startseva O.L., Gazieva A.Yu., Zhdanova E.V., Zharnikova T.V., Rusanova D.V. Stavropol Research Anti-Plague Institute, 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

Об авторах:

Кошкидько А.Г., Курчева С.А., Жарникова И.В., Зайцев А.А., Гнусарева О.А., Старцева О.Л., Газиева А.Ю., Жданова Е.В., Жарникова Т.В., Русанова Д.В. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: stavnipchi@mail.ru.