

МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ MICROBIOLOGY AND VIROLOGY

ПОЛУЧЕНИЕ ГИПЕРИММУННЫХ ПСЕВДОТУБЕРКУЛЕЗНЫХ СЫВОРОТОК

РЕЗЮМЕ

Загоскина Т.Ю.,
Марков Е.Ю.,
Андреевская Н.М.,
Климов В.Т.,
Николаев В.Б.,
Крюкова А.В.,
Игумнова С.В.,
Долгова Т.М.,
Гаврилова О.В.,
Колесникова В.Ю.,
Чеснокова М.В.,
Попова Ю.О.,
Балахонов С.В.

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
(664047, г. Иркутск, ул. Трилиссера, 78, Россия)

Автор, ответственный за переписку:

**Загоскина
Татьяна Юрьевна,**
e-mail: t_y_z_@mail.ru

Актуальность. Псевдотуберкулез остается серьезной проблемой здравоохранения, что диктует необходимость разработки простых и экспрессных методов диагностики этого заболевания. Эффективность последних во многом зависит от активности и специфичности диагностических сывороток. В настоящее время у нас в стране выпускается сыворотка диагностическая к *Yersinia pseudotuberculosis* O-моновалентная (серотип I, III) с регламентированной областью применения: для ориентировочной реакции агглютинации на стекле (ФБУН НИИЭМ им. Пастера, г. Санкт-Петербург). Получение псевдотуберкулезных сывороток для более широкой сферы их использования, в частности, в качестве источника специфических антител при конструировании диагностических иммунобиологических препаратов и тест-систем на псевдотуберкулез, является актуальным и востребованным в практике здравоохранения.

Цель исследования: получение гипериммунных псевдотуберкулезных сывороток, перспективных для использования в практике лабораторных исследований на псевдотуберкулез.

Материалы и методы. Животными-продуцентами псевдотуберкулезных сывороток служили кролики породы шиншилла в возрасте 3–6 мес., весом 2,5–3,0 кг. В качестве иммуногенов использовали корпускулярный антиген (КАг) – инактивированную кипячением суспензию клеток эпидемически значимого штамма *Yersinia pseudotuberculosis* 3704 O:1b, выделенного при вспышке псевдотуберкулеза в г. Зима Иркутской области, и препарат наружных мембран, содержащий липополисахарид, как основной поверхностный иммуноген данного штамма. Для адсорбции экспериментальных сывороток, с целью минимизации неспецифического реагирования, использовали гетерологичные микроорганизмы *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri* и *Y. enterocolitica* O:3, имеющие сходство поверхностных антигенных структур с возбудителем псевдотуберкулеза. Наличие специфических антител в экспериментальных псевдотуберкулезных сыворотках определяли в развернутой реакции агглютинации (РА).

Результаты. Подобраны оптимальные схемы иммунизации кроликов, позволившие получить гипериммунные сыворотки против антигенов *Y. pseudotuberculosis* 3704 O:1b с активностью в развернутой реакции агглютинации 1:3200–1:6400. В невысоких разведениях экспериментальных сывороток (1:100–1:400), полученных против корпускулярного антигена и антигенов наружных мембран, в РА наблюдалось перекрестное реагирование с гетерологичными штаммами (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*, *Y. enterocolitica* O:3, *S. enteritidis* Gartner). После адсорбции экспериментальных псевдотуберкулезных сывороток клетками гетерологичных штаммов перекрестное реагирование с указанными микроорганизмами в реакции агглютинации отсутствовало.

Заключение. Полученные гипериммунные адсорбированные сыворотки против инактивированного кипячением корпускулярного антигена *Y. pseudotuberculosis* 3704 O:1b и антигенов наружных мембран, могут быть использованы в качестве источника специфических антител при конструировании диагностических иммунобиологических препаратов для выявления псевдотуберкулезного микроба, а также при мониторинге эпидситуации по заболеванию.

Ключевые слова: *Yersinia pseudotuberculosis*, псевдотуберкулезный микроб, гипериммунные сыворотки, иммунизация, реакция агглютинации.

Для цитирования: Загоскина Т.Ю., Марков Е.Ю., Андреевская Н.М., Климов В.Т., Николаев В.Б., Крюкова А.В., Игумнова С.В., Долгова Т.М., Гаврилова О.В., Колесникова В.Ю., Чеснокова М.В., Попова Ю.О., Балахонов С.В. Получение гипериммунных псевдотуберкулезных сывороток. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6 (3): 86–94. doi: 10.29413/ABS. 2021-6.3.9

Статья получена: 24.05.2021

Статья принята: 30.06.2021

Статья опубликована: 13.08.2021

THE PRODUCTION OF HYPERIMMUNE PSEUDOTUBERCULOSIS SERA

ABSTRACT

Zagoskina T.Yu.,
 Markov E.Yu.,
 Andreevskaya N.M.,
 Klimov V.T.,
 Nikolaev V.B.,
 Kryukova A.V.,
 Igumnova S.V.,
 Dolgova T.M.,
 Gavrilo O.V.,
 Kolesnikova V.Yu.,
 Chesnokova M.V.,
 Popova Yu.O.,
 Balakhonov S.V.

Irkutsk Antiplague Research
 Institute of Siberia and Far East
 of Rospotrebnadzor
 (Trilissera str. 78, 664047, Irkutsk,
 Russian Federation)

Corresponding author:
Tatyana Yu. Zagoskina,
 e-mail: t_y_z_@mail.ru

Background. Pseudotuberculosis remains a serious public health problem, which dictates the need to develop simple and rapid diagnostic methods for this disease. The effectiveness of the latter largely depends on the activity and specificity of the diagnostic sera. Currently, in our country, a diagnostic serum for *Yersinia pseudotuberculosis* O-monovalent (serotype I, III) is produced with a regulated area of application: for an approximate agglutination reaction on glass (Pasteur NIIEM, St. Petersburg). Preparation of pseudotuberculosis sera for a wider scope of their use, in particular, as a source of specific antibodies in the design of diagnostic immunobiological preparations and test systems for pseudotuberculosis, is relevant and in demand in healthcare practice.

Aims. To obtain hyperimmune pseudotuberculosis sera, promising for use in the practice of laboratory studies for pseudotuberculosis.

Materials and methods. Chinchilla rabbits aged 3–6 months, weighing 2.5–3.0 kg served as animal producers of pseudotuberculosis sera. As immunogens, we used a corpuscular antigen (CAg) - a suspension of cells of the epidemically significant *Yersinia pseudotuberculosis* 3704 O: 1b strain isolated by an outbreak of pseudotuberculosis in the town of Zima, Irkutsk region, inactivated by boiling, and a preparation obtained from the outer membranes, containing the main surface immunogen of the strain. For the adsorption of experimental sera, in order to minimize the nonspecific response, we used heterologous microorganisms *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri* and *Y. enterocolitica* O:3, which have a similarity of surface antigenic structures with the causative agent of pseudotuberculosis. The presence of specific antibodies in experimental pseudotuberculosis sera was determined in a volumetric agglutination reaction.

Results. Optimal schemes of rabbit immunization were selected, which made it possible to obtain hyperimmune sera against *Y. pseudotuberculosis* 3704 O:1b antigens with an agglutination activity of 1:3200-1:6400. In low dilutions of experimental sera (1:100–1:400), obtained against corpuscular antigen and outer membrane antigens (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*, *Y. enterocolitica* O:3, *S. enteritidis* Gartner) was observed in the agglutination reaction (AR). After the adsorption of experimental pseudotuberculosis sera by cells of heterologous strains, there was no cross-reaction with the indicated microorganisms in the agglutination reaction.

Conclusions. The obtained hyperimmune adsorbed sera against the boiling-inactivated *Y. pseudotuberculosis* 3704 O: 1b corpuscular antigen and outer membrane antigens can be used as a source of specific antibodies in the design of diagnostic immunobiological preparations for the detection of pseudotuberculosis microbe, as well as in the monitoring of the epidemic situation.

Key words: *Yersinia pseudotuberculosis*, pseudotuberculosis microbe, hyperimmune sera, immunization, agglutination reaction.

For citation: Zagoskina T.Yu., Markov E.Yu., Andreevskaya N.M., Klimov V.T., Nikolaev V.B., Kryukova A.V., Igumnova S.V., Dolgova T.M., Gavrilo O.V., Kolesnikova V.Yu., Chesnokova M.V., Popova Yu.O., Balakhonov S.V. The production of hyperimmune pseudotuberculosis sera. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(3): 86-94. doi: 10.29413/ABS.2021-6.3.9

Received: 24.05.2021

Accepted: 30.06.2021

Published: 13.08.2021

В настоящее время около 70% всех регистрируемых болезней человека имеют инфекционную этиологию. Контроль над распространением инфекций в мире актуален в условиях современных темпов и масштабов миграции населения. Псевдотуберкулез относится к «эмерджентным» (от англ. *emergens* – непредвиденность, чрезвычайность) пищевым зоонозам [1, 2], эпидемические проявления которых возникают внезапно, без видимых предвестников. Важнейшей предпосылкой эффективности мероприятий, проводимых при возникновении эпидемических очагов, является своевременное обнаружение возбудителя с использованием экспресс-методов диагностики. В этом плане методы, направленные на детекцию специфических антигенов патогена как при исследовании клинического материала от больных, так и проб из объектов окружающей среды (пищевые продукты, вода, смывы и др.), являются наиболее перспективными. Достижение высокой чувствительности и специфичности подобных диагностических тест-систем в значительной мере зависит от качества используемых псевдотуберкулезных сывороток, которое в свою очередь обеспечивается надлежащим подбором животного-продуцента, иммуногена, схемы иммунизации. Получение псевдотуберкулезных сывороток осложняется высокой патогенностью возбудителя, что требует тщательного подбора антигена, его дозы и схемы иммунизации. Имеются литературные данные о перспективности получения гипериммунных сывороток крови кроликов к разным поверхностным антигенам *Yersinia pseudotuberculosis*, извлекаемым различными способами [3–6]. В настоящее время у нас в стране выпускается сыворотка диагностическая к *Yersinia pseudotuberculosis* O-моновалентная (серотип I, III) кроличья сухая для реакции агглютинации (РА) (ФБУН НИИЭМ им. Пастера г. Санкт-Петербург), однако она предназначена для серологической идентификации O-серовариантов представителей вида *Y. pseudotuberculosis* в РА на стекле (ориентировочная РА).

В связи с этим, цель настоящего исследования заключалась в получении гипериммунных специфичных псевдотуберкулезных сывороток для более широкой сферы их использования, в частности, для получения специфических антител, необходимых при конструировании диагностических иммунобиологических препаратов и тест-систем на псевдотуберкулез, востребованных в практике здравоохранения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работу с животными проводили, руководствуясь:

– ГОСТ 34088-2017 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за сельскохозяйственными животными». Применяется с 01.08.2018;

– директивой 2010/63/ЕИ Европарламента европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях; международными ре-

комендациями (этический кодекс) по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (CIOMS, Geneva, 1985);

– Европейской Конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18.03.1986 г.);

– решением Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 г. № 79 «Об утверждении правил надлежащей клинической практики Евразийского экономического союза», Минздрава РФ от 01.04.2016 г. № 199н «Об утверждении Правил лабораторной практики».

При выборе животного-продуцента гипериммунных сывороток исходили, прежде всего, из тропности микроорганизма к определенному виду животного, доступности модели, удобства работы с ним, подходящих условий содержания зараженных животных в специализированном подразделении института с учетом соблюдения требований биологической безопасности и экономичности процесса изготовления конечного продукта. Для получения псевдотуберкулезных сывороток использовали кроликов породы шиншилла, отбирая клинически здоровых животных в возрасте 3–6 мес. весом 2,5–3,0 кг. Перед иммунизацией кроликов выдерживали в течение месяца в карантине с последующим повторным клиническим обследованием.

Клетки штамма *Yersinia pseudotuberculosis* 3704 O:1b (музей живых культур ФКУЗ НИПЧИ Роспотребнадзора, Иркутск, Россия) выращивали при 28°C в течение 48 ч на агаре Хоттингера (рН 7,2), смывали забуференным (рН 7,2) физиологическим раствором (ЗФР). Препарат наружных мембран (НМ) получали из обработанных 9 М раствором мочевины клеток указанного штамма по описанной нами ранее методике [7].

Для проверки специфичности полученных сывороток, использовали штаммы *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* 21, *Shigella flexneri* 170, *Y. enterocolitica* O:3 И-76, *S. enteritidis* Gartner (музей живых культур ФКУЗ НИПЧИ Роспотребнадзора, Иркутск, Россия), инактивированные кипячением на водяной бане в течение 20 мин.

В качестве антигенов для иммунизации животных апробированы два препарата, с целью выбора наиболее иммуногенного: 1-й – суспензия клеток эпидемически значимого штамма *Y. pseudotuberculosis* 3704 O:1b выделенного при вспышке псевдотуберкулеза в г. Зима Иркутской области, инактивированная кипячением на водяной бане в течение 60 мин (КАГ); 2-й – препарат наружных мембран (НМ), изолированных дифференциальным центрифугированием лизатов клеток указанного штамма, содержащий липополисахариды, как основные иммуногенные компоненты микробной клетки возбудителя.

При иммунизации животных каждым препаратом апробировали две схемы, ранее положительно рекомендовавшие себя при получении гипериммунных иерсиниозных и бруцеллезных гипериммунных сыво-

роток [8–11]. Кроликов-продуцентов разделили на четыре группы, по две группы на каждую схему.

Животным первой (кролики № 15, 16) и второй групп (кролики № 17, 18) применяли схему иммунизации №1. Для этого перед иммунизацией им вводили полный адъювант Фрейнда (ПАФ) по 0,5 мл в подушечки задних лап. Через 5–7 дней кроликам первой группы вводили НМ по 1,0 мг сухого вещества (по белку 0,55 мг) в объеме 0,4 мл в забуференном (рН 7,2) физиологическом растворе (ЗФР) с 1,2 мл ПАФ в каждый подколенный лимфатический узел, 2^{ой} группы – суспензию КАг в концентрации 10⁹ м. к./мл в объеме 0,4 мл ЗФР (рН 7,2) с 1,2 мл ПАФ в каждый подколенный лимфатический узел. Через 3–5 дней кроликов иммунизировали в передние лапы в тех же дозах, но без добавления ПАФ.

Животным третьей (кролики № 19, 20) и четвертой групп (кролики № 21, 22) использовали схему иммунизации №2. Для этого инъекции препаратов осуществляли подкожно двукратно в четыре точки спины вдоль позвоночника с интервалом 3 дня в дозе из расчета по 1,0 мг НМ в 1,0 мл ЗФР (рН 7,2) с 1,0 мл ПАФ (группа №3), инъекции КАг – в концентрации 10⁹ м. к./мл в 1,0 мл ЗФР (рН 7,2) с 1,0 мл ПАФ (группа №4). Через 7 дней после последнего введения антигенов, у всех животных проводили забор крови для приготовления сыворотки, в которой определяли титр специфических антител в развернутой реакции агглютинации и их специфичность с использованием гетерологичных микроорганизмов.

Для адсорбции экспериментальных сывороток использовали гетерологичные микроорганизмы *E. coli*, *S. typhimurium*, *S. flexneri*, *Y. enterocolitica* O:3, лиофилизированные в пенициллиновых флаконах на аппарате LP-10 в течение 25 ч с предварительным 3-х часовым замораживанием при температуре минус 45°C. Адсорбцию проводили из расчета 7,5 мг каждого штамма на 1 мл сыворотки с 30 минутной экспозицией при 37°C и последующим центрифугированием сывороток при 3000 об./мин в течение 30 мин [12–13].

Наличие специфических антител в экспериментальных псевдотуберкулезных сыворотках определяли в развернутой РА, постановку которой осуществляли традиционным способом [14]. Для сравнения использовали сыворотку диагностическую к *Yersinia pseudotuberculosis* O-моновалентную (серотип I, III) кроличью сухую для реакции агглютинации на стекле (ФБУН НИИЭМ им. Пастера, г. Санкт-Петербург).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как известно, антигенную специфичность псевдотуберкулезного микроба определяет термостабильный соматический O-антиген, который содержится в наружной мембране бактериальной клетки [15, 16]. При этом, говоря об антигенном спектре псевдотуберкулезного микроба, нельзя не отметить наличие структурного сходства отдельных поверхностных компонентов микробной клетки возбудителя с аналогами –

чными макромолекулами некоторых других представителей семейства *Enterobacteriaceae*, что объясняет возможное перекрестное реагирование с близкородственными в антигенном отношении взятыми в работу гетерологичными микроорганизмами [17–21].

Нами проведена оценка активности (определен титр антител) и специфичности полученных экспериментальных сывороток против КАг и НМ псевдотуберкулезного микроба в развернутой РА.

Установлено, что специфическая активность экспериментальных псевдотуберкулезных сывороток, полученных от всех животных по обеим схемам иммунизации против КАг и НМ, в развернутой РА с гомологичным штаммом *Y. pseudotuberculosis* 3704 O:1b оказалась высокой, титр антител составил 1:3200–1:6400. Сыворотка производства ФБУН НИИЭМ им. Пастера (серии 3, 7) была менее активна – титр антител составил 1:800–1:1600 (таблица). Кроме того, результаты свидетельствуют о том, что использованная нами иммунизация кроликов по схеме №1 была эффективнее, так как получены сыворотки с более высоким титром специфических антител. Из двух апробированных для иммунизации антигенов наибольшая иммуногенная активность отмечена у КАг (таблица).

Анализ активности полученных сывороток в РА показал, что в невысоких разведениях экспериментальных сывороток (1:100–1:400), полученных по обеим схемам иммунизации против КАг и НМ в РА наблюдалось перекрестное реагирование с гетерологичными штаммами (таблица). Псевдотуберкулезная сыворотка производства ФБУН НИИЭМ им. Пастера (серии 3, 7) перекрестно реагировала только со штаммом *Escherichia coli* ATCC 25922 в разведении 1:100. На наш взгляд, это связано с тем, что при производстве указанной сыворотки этап адсорбции входит в технологическую схему получения препарата, которая, по коммерческим соображениям, не разглашается. По этой же причине сложно установить антиген возбудителя псевдотуберкулеза, используемый для получения сыворотки.

Для уменьшения перекрестного реагирования полученных экспериментальных псевдотуберкулезных сывороток, было принято решение об их адсорбции схожими по структуре поверхностных антигенов гетерологичными микроорганизмами. Данный этап необходим для минимизации риска получения ложноположительных результатов при дальнейшем их использовании в серологической диагностике псевдотуберкулеза.

В результате адсорбции специфичность всех экспериментальных псевдотуберкулезных сывороток в развернутой РА оказалась абсолютной (100%), перекрестное реагирование с гетерологичными микроорганизмами отсутствовало (таблица).

Исходя из полученных данных установлено, специфические антитела к возбудителю псевдотуберкулеза регистрировались в пределах 1:3200–1:6400; процесс адсорбции улучшил качество экспериментальных сы-

ТАБЛИЦА

СПЕЦИФИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ПСЕВДОТУБЕРКУЛЕЗНЫХ СЫВОРОТОК В РЕАКЦИИ АГГЛЮТИНАЦИИ ДО И ПОСЛЕ АДсорбЦИИ ГЕТЕРОЛОГИЧНЫМИ МИКРОБНЫМИ КУЛЬТУРАМИ

TABLE

SPECIFIC ACTIVITY OF EXPERIMENTAL PSEUDOTUBERCULOSIS SERA IN THE AGGLUTINATION REACTION BEFORE AND AFTER ADSORPTION BY HETEROLOGOUS MICROBIAL CULTURES

Исследованные штаммы	Активность экспериментальных псевдотуберкулезных сывороток в реакции агглютинации до (1) и после адсорбции (2)														
	1:100		1:200		1:400		1:800		1:1600		1:3200		1:6400		
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	
Кролик 15. Схема иммунизации № 1 НМ															
<i>Y. ptbc</i> 3704 O:1b	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	3+	3+	2+	2+	±	1+
<i>E. coli</i> ATCC 25922	3+	-	2/1+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Sh. flexneri</i> 170	3+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. typhimurium</i> 21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Кролик 16. Схема иммунизации № 1 НМ															
<i>Y. ptbc</i> 3704	4+	4+	4+	4+	4+	4+	3+	4+	3+	3+	2+	2+	-	1+	
<i>E. coli</i> ATCC 25922	2/1+	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Кролик 17. Схема иммунизации № 1 КАг															
<i>Y. ptbc</i> 3704	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4/3+	4/3+	3/2+	3/2+	2/1+	2/1+	
<i>E. coli</i> ATCC 25922	2+	-	1+	-	1+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>S. flexneri</i> 170	3+	-	3+	-	2+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>S. typhimurium</i> 21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Кролик 18. Схема иммунизации № 1 КАг															
<i>Y. ptbc</i> 3704	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	3/2+	3+	2+	3/2+	+	2/1+	
<i>E. coli</i> ATCC 25922	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>S. flexneri</i> 170	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>S. typhimurium</i> 21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Кролик 19. Схема иммунизации № 2 НМ															
<i>Y. ptbc</i> 3704	4+	4+	4+	4+	4+	4+	3/2+	4/3+	2+	3/2+	1+	2/1+	-	-	
<i>E. coli</i> ATCC 25922	2/1+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Кролик 20. Схема иммунизации № 2 НМ															
<i>Y. ptbc</i> 3704	4+	4+	4+	4+	3+	4+	3/2+	3+	2/1+	3/2+	1+	2/1+	-	-	
<i>E. coli</i> ATCC 25922	2+	-	1+	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>S. flexneri</i> 170	1+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>S. typhi murium</i> 21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Кролик 21. Схема иммунизации № 2 КАг															
<i>Y. ptbc</i> 3704	4+	4+	4+	4+	3+	4+	3+	3+	2+	3/2+	1+	2/1+	-	-	
<i>E. coli</i> ATCC 25922	1+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Кролик 22. Схема иммунизации № 2 КАг															
<i>Y. ptbc</i> 3704	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	3+	3+	2+	2+	-	±	
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>S. flexneri</i> 170	3+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>S. typhi murium</i> 21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Сыворотка производства ФБУН НИИЭМ им. Пастера г. Санкт-Петербург (серия 3)															
<i>Y. ptbc</i> 3704	4+	Н	4+	Н	3/2	Н	2+	Н	±	Н	-	Н	-	Н	
<i>E. coli</i> ATCC 25922	2/1+	Н	±	Н	-	Н	-	Н	-	Н	-	Н	-	Н	

<i>S. flexneri</i> 170	-	H	-	H	-	H	-	H	-	H	-	H	-	H
<i>S. typhi murium</i> 21	-	H	-	H	-	H	-	H	-	H	-	H	-	H
Сыворотка производства ФБУН НИИЭМ им. Пастера г. Санкт-Петербург (серия 7)														
<i>Y. ptbc</i> 3704	4+	H	4+	H	4+	H	2+	H	1+	H	±	H	-	H
<i>E. coli</i> ATCC 25922	1+	H	-	H	-	H	-	H	-	H	-	H	-	H
<i>S. flexneri</i> 170	-	H	-	H	-	H	-	H	-	H	-	H	-	H
<i>S. typhi murium</i> 21	-	H	-	H	-	H	-	H	-	H	-	H	-	H

Примечание – «H» адсорбция сывороток не проводилась

вороток; перекрестное реагирование с гетерологи – чными микроорганизмами отсутствовало. Полученные нами сыворотки превосходили по качеству псевдотуберкулезную сыворотку (серии 3,7) производства ФБУН НИИЭМ им. Пастера г. Санкт-Петербург, предназначенную для постановки РА на стекле.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приведенные данные свидетельствуют о высокой чувствительности и специфичности полученных экспериментальных псевдотуберкулезных адсорбированных сывороток против корпускулярного антигена *Y. pseudotuberculosis* 3704 O:1b и антигенов наружных мембран, что позволяет расценивать их, как перспективные для использования в лабораторной диагностике заболевания, в том числе, при оперативном осуществлении микробиологического мониторинга эпидситуации по псевдотуберкулезу, а также в качестве источника специфических антител при конструировании диагностических иммунобиологических препаратов и тест-систем для детекции специфического патогена.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сомова Л.М., Андрюков Б.Г., Плехова Н.Г. Проблема иерсиниозов в современном мире. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2015; 12 (4): 661–667.
2. Сомова Л.М., Андрюков Б.Г. К 60-летию открытия и изучения дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2019; (6): 85–89. doi: 10.36233/0372-9311-2019-6-85-89
3. Кокорина Г.И. Генотипы штаммов *Yersinia pseudotuberculosis* и их клиническое и диагностическое значение: Автореф. дис. канд. мед. наук. СПб., 2012. 22 с.
4. Хаджу А., Иващенко С.В., Козлов С.В., Щербakov А.А., Волков А.А., Староверов С.А. Сравнительный анализ антительной активности экспериментальной и коммерческих диагностических кишечной иерсиниозных сывороток // *Аграрный научный журнал*. 2015; 4: 45–48.

5. Иващенко С.В., Маниесон В.Э. Получение антител к диметилсульфоксид-антигену *Yersinia pseudotuberculosis* // *Новости науки в АПК*. 2018; 2–1 (11): 340–342. doi: 10.25930/b6qq8005

6. Симакова Д.И. Конструирование видоспецифического антигенного полимерного препарата для серологической диагностики псевдотуберкулеза: Автореф. дис. канд. биол. наук. Ростов-на-Дону, 2019; 22 с.

7. Крюкова А.В., Марков Е.Ю., Николаев В.Б., Попова Ю.О., Климов В.Т., Игумнова С.В. и др. Использование бактерицидного действия мочевины для выделения поверхностных структур *Yersinia pseudotuberculosis* O:1b и их физико-химические и антигенные свойства. *Дальневосточный журнал инфекционной патологии*. 2019; (37): 92–94.

8. Тюменцев С.Н., Андреевская Н.М., Тюменцева И.С., Калиновский А.И., Репина Л.П., Загоскина Т.Ю. Способ получения диагностических сывороток. Патент на изобретение 2010577 С15 А 61 К 39/40. Иркутский н.-и. противочум. ин-т Сибири и ДВ. Заявка № 5023123/13, 09.07.1991; Оpubл. 15.04.94. Бюл. № 7. 4 с.

9. Михайлов Л.М., Андреевская Н.М., Михайлова В.А., Баранникова Н.Л., Токарева Л.Е., Ястремская К.Ю., Балахонов С.В. Получение гипериммунных сывороток к термоэкстрактам из бруцелл в S- и L-формах // *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; 4: 98–101. doi: 10.21055/0370-1069-2016-4-98-101

10. Михайлов Л.М., Баранникова Н.Л., Токарева Л.Е., Андреевская Н.М., Михайлова В.А., Кузнецов В.И., Ястремская К.Ю., Балахонов С.В. Получение моноспецифической бруцеллезной anti-abortus сыворотки на основе термоэкстракта из бруцелл в S-форме. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2017; 2: 78–80. doi: 10.21055/0370-1069-2017-2-78-80

11. Гефан Н.Г., Андреевская Н.М., Климов В.Т., Каретникова Э.С. Моноспецифические O-сыворотки для диагностики *Yersinia enterocolitica*. *Медицинская иммунология*. 1999; 3–4: 57.

12. Перетрухина А.Т., Блинова Е.И. Бактерийные и вирусные препараты. М.: Академия Естествознания, 2011; 311 с.

13. Смирнов В.В., Чаплинский В.Я., Андреева З.Н., Богдавленская Л.Б. Научные основы производства диагностических препаратов. Киев: Наукова Думка, 1980. С. 77, 94.

14. Никитин В.М. Справочник методов иммунологии. – Кишнев: Штиинца, 1982. – С. 8–15.

15. Kenyon JJ, Reeves PR. The Wzy O-antigen polymerase of *Yersinia pseudotuberculosis* O:2a has a dependence on the Wzz chain-length determinant for efficient polymerization. *FEMS Microbiol Lett.* 2013; 349 (2): 163–170. doi: 10.1111/1574-6968.12311

16. Kenyon JJ, Cunneen MM, Reeves PR. Genetics and evolution of *Yersinia pseudotuberculosis* O-specific polysaccharides: a novel pattern of O-antigen diversity. *FEMS Microbiol Rev.* 2017; 41 (2): 200–217. doi: 10.1093/femsre/fux002

17. Смирнов И.В. Возбудитель иерсиниоза и близкие к нему микроорганизмы. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2004; 6 (1): 10–21.

18. Chart H, Cheasty T. The serodiagnosis of human infections with *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis*. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2006; 47 (3): 391–397. doi: 10.1111/j. 1574-695X. 2006.00100. x

19. Ogasawara M, Kobayashi S, Arai S, Laheji K, Hill JL, Kono DH, Yu DT. A heat-modifiable outer membrane protein carries an antigen specific for the species *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis*. *J Immunol.* 1985; 135 (2): 1430–1436

20. Whittington RJ, Saunders VF, Egerton JR. Antigenic cross-reactions between the causative agent of ovine footrot, *Dichelobacter nodosus*, and other bacteria. *Small Ruminant Research.* 1996; 22 (1): 55–67. doi: 10.1016/0921-4488 (96) 00862-0

21. Jain R, Tuteja U, Batra HV. Characterization and utilization of monoclonal antibodies reactive to *Yersinia pseudotuberculosis*. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health.* 2003; 34 (4): 839–844.

REFERENCES

1. Somova LM, Andrukov BG, Plekhova NG. The *Yersinia*-caused infections problem in modern world. *International Journal of Applied and Basic Research.* 2015; 12 (4): 661–667. (In Russ.)

2. Somova LM, Andryukov BG. On the 60th anniversary of discovery and study of the far eastern scarlet-like fever. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii. (Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology)* 2019; (6):85–89. doi: 10.36233/0372-9311-2019-6-85-89 (In Russ.)

3. Kokorina GI. Genotypes of *Yersinia pseudotuberculosis* strains and their clinical and diagnostic significance: Abstract of the dissertation of the candidate of medical sciences. SPb., 2012. 22 p. (In Russ.)

4. Hadjou A, Ivaschenko SV, Kozlov SV, Scherbakov AA, Volkov AA, Staroverov SA. Comparative analysis of the antibody activity of experimental and commercial diagnostic intestinal yersiniosis sera // *Agrarnyy nauchnyy zhurnal (Agrarian Scientific Journal).* 2015; 4: 45–48 (In Russ)

5. Ivaschenko SV, Manieson VE. Obtaining antibodies of bimethylsulfoxide-antigen *Yersinia pseudotuberculosis* // *Novosty nauki v APK (Science news in the Agro-Industrial Complex)* 2018; 2–1 (11):340–342.

6. Simakova DI. Construction of a species-specific antigenic polymer preparation for serological diagnosis of pseudotuberculosis: Abstract of the dissertation of the candidate of biological sciences. Rostov-on-Don, 2019. 22 p.

7. Kryukova AV, Markov EYu, Nikolaev VB, Popova YuO, Klimov VT, Igumnova SV et al. Using of the urea bactericidal effect for isolation of *Yersinia pseudotuberculosis* O:1b surface structures and their physicochemical and antigenic properties. *The Far Eastern Journal of Infectious Pathology.* 2019; (37): 92–94. (In Russ.)

8. Tjumentsev SN, Andreevskaja NM, Tjumentseva IS, Kalinovskij AI, Repina LP, Zagoskina TJu. Method for preparation of diagnostic serum. Patent 2010577 C15 A 61 K39/40. Irkutskij nauchno-issledovatel'skij protivochumnyj institut Sibiri i Dal'nego Vostoka. Application: 5023123/13, 09.07.1991. Date of publication: 15.04.1994. Bul. N 7. 4 p.

9. Mikhailov LM, Andreevskaya NM, Mikhailova VA, Barannikova NL, Tokareva LE, Yastremskaya KYu, Balakhonov SV. Preparation of hyperimmune sera to thermoextracts of *Brucella* S- and L-forms. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii (Problems of Particularly Dangerous Infections).* 2016; 4: 98–101. (In Russ.). doi: 10.21055/0370-1069-2016-4-98-101

10. Mikhailov L.M., Barannikova N.L., Tokareva L.E., Andreevskaya N.M., Mikhailova V.A., Kuznetsov V.I., Yastremskaya K.Yu., Balakhonov S.V. Preparation of Monospecific *Brucella* Anti-Abortus Serum Based on Thermoextract From S-Form *Brucella*. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii (Problems of Particularly Dangerous Infections).* 2017; 2: 78–80. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2017-2-78-80

11. Gefan NG, Andreevskaya NM, Klimov VT, Karetnikova ES. Monospecific O-sera for the diagnosis of *Yersinia enterocolitica*. *Meditinskaya Immunologiya. (Medical Immunology).* 1999; 3–4: 57. (In Russ.)

12. Peretruxhina A.T., Blinova E.I. Bacterial and viral preparations. Moscow: Academy of Natural Sciences, 2011; 311 p. (In Russ.)

13. Smirnov VV, Chaplinsky VYa, Andreeva ZN, Bogoyavlenskaya LB. Scientific basis for the production of diagnostic products. Kiev: Naukova Dumka, 1980. S. 77, 94. (In Russ.)

14. Nikitin VM. Handbook of immunological methods. Kishenev: Shtiintsa, 1982. 8–15. (In Russ.)

15. Kenyon JJ, Reeves PR. The Wzy O-antigen polymerase of *Yersinia pseudotuberculosis* O:2a has a dependence on the Wzz chain-length determinant for efficient polymerization. *FEMS Microbiol Lett.* 2013; 349 (2): 163–170. doi: 10.1111/1574-6968.12311

16. Kenyon JJ, Cunneen MM, Reeves PR. Genetics and evolution of *Yersinia pseudotuberculosis* O-specific polysaccharides: a novel pattern of O-antigen diversity.

FEMS Microbiol Rev. 2017; 41 (2): 200–217. doi: 10.1093/femsre/fux002

17. Smirnov IV. *Yersinia enterocolitica* and related microorganisms // *Kliničeskâ mikrobiologiâ i antimikrobnâ himioterapiâ (Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy)*. 2004; 6 (1): 10–21. (In Russ.)

18. Chart H, Cheasty T. The serodiagnosis of human infections with *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis*. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2006; 47 (3): 391–397. doi: 10.1111/j. 1574-695X. 2006.00100. x

19. Ogasawara M, Kobayashi S, Arai S, Laheji K, Hill JL, Kono DH, Yu DT. A heat-modifiable outer membrane

protein carries an antigen specific for the species *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis*. *J Immunol.* 1985; 135 (2): 1430–1436

20. Whittington RJ, Saunders VF, Egerton JR. Antigenic cross-reactions between the causative agent of ovine footrot, *Dichelobacter nodosus*, and other bacteria. *Small Ruminant Research.* 1996; 22 (1): 55–67. doi: 10.1016/0921-4488 (96) 00862-0

21. Jain R, Tuteja U, Batra HV. Characterization and utilization of monoclonal antibodies reactive to *Yersinia pseudotuberculosis*. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2003; 34 (4): 839–844.

Сведения об авторах

Загоскина Татьяна Юрьевна – доктор медицинских наук, старший научный сотрудник, заведующая отделом подготовки и усовершенствования специалистов, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, e-mail: t_y_z@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0002-9302-7143>

Марков Евгений Юрьевич – доктор биологических наук, старший научный сотрудник, заведующий биохимическим отделом, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, e-mail: mark_evgenii@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0002-3693-7407>

Андреевская Нина Михайловна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник научно-производственного отдела, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru. <https://orcid.org/0000-0002-8051-1809>

Климов Валерий Тимофеевич – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела эпидемиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, e-mail: 41klimov@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0003-0036-0017>

Николаев Валерий Борисович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник биохимического отдела, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, e-mail: balera58.58@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0001-7282-3696>

Крюкова Анна Витальевна – младший научный сотрудник биохимического отдела, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, e-mail: anjakrukova@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0002-4850-0886>

Игумнова Светлана Викторовна – врач эпидемиолог отдела эпидемиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru. <https://orcid.org/0000-0002-0785-686x>

Долгова Татьяна Михайловна – научный сотрудник отдела подготовки и усовершенствования специалистов, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Гаврилова Ольга Владимировна – кандидат биологических наук, научный сотрудник отдела подготовки и усовершенствования специалистов, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Колесникова Валентина Юрьевна – младший научный сотрудник отдела подготовки и усовершенствования специалистов, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, e-mail: valyusha.kolesnikova.92@mail.ru

Чеснокова Маргарита Валентиновна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделом научного и учебно-методического обеспечения, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, e-mail: mar_chumin@mail.ru. <http://orcid.org/0000-0001-5489-9363>

Попова Юлия Олеговна – лаборант биохимического отдела, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Балахонov Сергей Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, директор, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, e-mail: balakhonov.irk@mail.ru. <http://orcid.org/0000-0003-4201-5828>

Information about the authors

Tatyana Yu. Zagoskina – Dr. Sc. (Med.), Head of department of professional and advanced training, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор, e-mail: t_y_z@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0002-9302-7143>

Evgeny Yu. Markov – Dr. Sc. (Biol.), Head of Biochemistry Department, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор, e-mail: mark_evgenii@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0002-3693-7407>

Nina M. Andreevskaya – Cand. Sc. (Biol.), Senior Researcher, Research and Production Department, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru. <http://orcid.org/0000-0002-8051-1809>

Valery T. Klimov – Cand. Sc. (Med.), Senior Researcher, Epidemiology Department, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: 41klimov@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0003-0036-0017>

Valery B. Nikolaev – Cand. Sc. (Med.), Senior Researcher, Biochemistry Department, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: balera58.58@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0001-7282-3696>

Anna V. Ulanskaya – Veterinary physician, Research and Production Department, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru. <https://orcid.org/0000-0003-0277-9161>

Anna V. Kryukova – Junior Researcher, Biochemistry Department, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: anjakrukova@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0002-4850-0886>

Svetlana V. Igumnova – Physician Epidemiologist, Epidemiology Department, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru. <https://orcid.org/0000-0002-0785-686x>

Tatyana M. Dolgova – Researcher, Department of professional and advanced training, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Olga V. Gavrilova – Cand. Sc. (Biol.), Researcher, Department of professional and advanced training, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Valentina Yu. Kolesnikova – Junior Researcher, Department of professional and advanced training, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Margarita V. Chesnokova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Scientific and Academic Support, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: mar_chumin@mail.ru. <http://orcid.org/0000-0001-5489-9363>

Yulia O. Popova – Laboratory assistant, Biochemistry Department, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Sergey V. Balakhonov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Director, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru. <https://orcid.org/0000-0003-4201-5828>

Вклад авторов

Загоскина Т. Ю. – планирование эксперимента, анализ результатов, написание статьи

Марков Е. Ю. – планирование эксперимента, анализ результатов, написание статьи

Андреевская Н. М. – проведение эксперимента, учёт и анализ результатов, написание статьи

Климов В. Т. – проведение эксперимента, учёт и анализ результатов

Николаев В. Б. – проведение эксперимента, учёт и анализ результатов

Уланская А. В. – проведение эксперимента, учёт и анализ результатов

Крюкова А. В. – проведение эксперимента, учёт и анализ результатов

Игумнова С. В. – проведение эксперимента, учёт и анализ результатов

Долгова Т. М. – проведение эксперимента, учёт и анализ результатов

Гаврилова О. В. – проведение эксперимента, учёт и анализ результатов

Колесникова В. Ю. – проведение эксперимента, учёт и анализ результатов

Чеснокова М. В. – планирование эксперимента, анализ результатов, написание статьи

Попова Ю. О. – проведение эксперимента, учёт и анализ результатов

Балахонov С. В. – планирование эксперимента, анализ результатов, написание статьи.