



УДК 579.842.23:615.373.34:616-097:599
<https://doi.org/10.26516/2073-3372.2024.48.3>

Использование бесклеточных антигенных фракций возбудителя псевдотуберкулёза для получения диагностических сывороток

Т. Ю. Загоскина, Е. Ю. Марков, Н. М. Андреевская, В. Т. Климов,
В. Б. Николаев, А. В. Крюкова, А. А. Дорощенко, Т. М. Долгова,
О. Б. Колесникова, О. В. Гаврилова, О. А. Старикова, И. И. Баертуева,
И. Б. Вершинская, Ю. О. Попова, С. В. Балахонов*

*Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
г. Иркутск, Россия
E-mail: t_y_z_@mail.ru*

Аннотация. Описаны схемы получения и характеристика кроличьих гипериммунных специфических сывороток против бесклеточных фракций (мочевинные экстракты, наружные мембраны и белково-липополисахаридный комплекс) возбудителя псевдотуберкулёза. Отмечено, что наличие специфических антител в экспериментальных псевдотуберкулёзных сыворотках определяли в объёмной реакции агглютинации, специфичность – в реакции иммунодиффузии в геле. Подчёркивается, что апробированные иммуногены и предложенная схема иммунизации кроликов позволяют получить гипериммунные сыворотки с активностью в объёмной реакции агглютинации $\geq 1:1600$. Указано, что перекрёстная реактивность антител в реакции иммунодиффузии в геле с гетерологичными близкородственными в антигенном отношении микроорганизмами (*Yersinia enterocolitica* 628, *Salmonella typhi* 21, *Shigella flexneri* 1964) отсутствовала. Сделан вывод об эффективности применения поверхностных бесклеточных фракций возбудителя для получения высокоактивных специфических псевдотуберкулёзных сывороток, пригодных для использования в качестве источника специфических антител при конструировании диагностических иммунобиологических препаратов и тест-систем на псевдотуберкулёз.

Ключевые слова: *Yersinia pseudotuberculosis*, псевдотуберкулёзный микроб, бесклеточные фракции, иммунизация, сыворотки.

Для цитирования: Использование бесклеточных антигенных фракций возбудителя псевдотуберкулёза для получения диагностических сывороток / Т. Ю. Загоскина, Е. Ю. Марков, Н. М. Андреевская, В. Т. Климов, В. Б. Николаев, А. В. Крюкова, А. А. Дорощенко, Т. М. Долгова, О. Б. Колесникова, О. В. Гаврилова, О. А. Старикова, И. И. Баертуева, И. Б. Вершинская, Ю. О. Попова, С. В. Балахонов // Известия Иркутского государственного университета. Серия Биология. Экология. 2024. Т. 48. С. 3–15. <https://doi.org/10.26516/2073-3372.2024.48.3>

Use of Cell-Free Antigenic Fractions of the Causative Agent of Pseudotuberculosis for the Production of Diagnostic Sera

T. Yu. Zagoskina, E. Yu. Markov, N. M. Andreevskaya, V. T. Klimov, V. B. Nikolaev, A. V. Kryukova, A. A. Doroshchenko, T. M. Dolgova, O. B. Kolesnikova, O. V. Gavrilova, O. A. Starikova, I. I. Baertueva, I. B. Vershinskaya, Yu. O. Popova, S. V. Balakhonov*

Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russian Federation

Abstract. The development of simple, express, and at the same time sensitive and selective methods for diagnosing pseudotuberculosis remains an urgent task of practical public health. The effectiveness of the test systems largely depends on the activity and the specificity of a diagnostic pseudotuberculous sera. Achieving high sensitivity and specificity of diagnostic test systems largely depends on the presence of specific pseudotuberculous sera with a high antibody titer, which, in turn, is ensured by the proper selection of the animal producer, the physicochemical properties of the immunogen, its dose, multiplicity and duration. introduction and use of adjuvants. Currently, diagnostic serum for *Yersinia pseudotuberculosis* for an approximate agglutination test on a glass slides is produced in the Russian Federation (FSUE SPbNIIVS FMBA of RUSSIA). Obtaining of pseudotuberculous sera for a wider scope of their use, in particular, in the design of diagnostic immunobiological preparations and test systems for pseudotuberculosis, is relevant and in demand in healthcare practice. The purpose of this study was to obtain and characterize hyperimmune specific sera against cell-free antigenic fractions of the causative agent of pseudotuberculosis. Chinchilla rabbits were used as sera producers. Cell-free antigenic fractions (urea extract, outer membranes, and protein-lipopolysaccharide complex) obtained by treating *Yersinia pseudotuberculosis* 3704 O:1b strain cells with a 9 M urea solution followed by differential centrifugation were used as immunogens. The presence of specific antibodies in experimental pseudotuberculosis sera was determined in the test tube agglutination reaction, passive hemagglutination reaction and agarose gel double immunodiffusion test. The proposed schemes of immunization of rabbits with subcellular fractions of the pseudotuberculosis microbe make it possible to prepare hyperimmune sera with activity in the standard tube-agglutination test $\geq 1:1600$, in the indirect hemagglutination test $\geq 1:3200$. There was no cross-reactivity of antibodies in the immunodiffusion test with heterologous, closely related antigenically microorganisms (*Yersinia enterocolitica* 628, *Salmonella typhi* 21, *Shigella flexneri* 1964). The most important antigenic material is concentrated in the surface structures of pathogens of bacterial infectious diseases, against which, during immunization of laboratory animals, specific antibodies are produced that can interact with antigenic epitopes of outer membrane proteins and O-specific side chains of lipopolysaccharide (O-antigen) exposed on the surface of the microorganism. The data obtained confirm the effectiveness of the use of surface cell-free antigenic fractions of the pathogen to produce highly active specific pseudotuberculosis sera, suitable for use as a source of specific antibodies in the design of diagnostic immunobiological preparations and test systems for pseudotuberculosis.

Keywords: *Yersinia pseudotuberculosis*, pseudotuberculosis microbe, subcellular fractions, immunization, diagnostic sera.

For citation: Zagoskina T.Yu., Markov E.Yu., Andreevskaya N.M., Klimov V.T., Nikolaev V.B., Kryukova A.V., Doroshchenko A.A., Dolgova T.M., Kolesnikova O.B., Gavrilova O.V., Starikova O.A., Baertueva I.I., Vershinskaya I.B., Popova Yu.O., Balakhonov S.V. Use of Cell-Free Antigenic Fractions of the Causative Agent of Pseudotuberculosis for the Production of Diagnostic Sera. *The Bulletin of Irkutsk State University. Series Biology. Ecology*, 2024, vol. 48, pp. 3-15. <https://doi.org/10.26516/2073-3372.2024.48.3> (in Russian)

Введение

К важным методам лабораторной диагностики псевдотуберкулёза относятся иммуносерологические исследования, в частности, направленные на обнаружение антигенов возбудителя. Достижение высокой чувствительности и специфичности диагностических тест-систем в значительной мере зависит от наличия специфических псевдотуберкулёзных сывороток с высоким титром антител, что, в свою очередь, обеспечивается надлежащим подбором животного-продуцента, физико-химическими свойствами иммуногена, его дозы, кратности и продолжительности введения и использования адъювантов. Получение псевдотуберкулёзных сывороток осложняется высокой патогенностью возбудителя, наличием возможности содержания заражённых животных, необходимостью соблюдения требований противоэпидемического режима работы с культурой. Имеются данные о перспективности получения гипериммунных сывороток крови кроликов к разным поверхностным антигенам *Yersinia pseudotuberculosis*, извлекаемым различными способами [Куляшова, Ценева, Буйневич, 1997; Получение антител ... , 2003; Исследование поверхностных антигенных ... , 2014; The effect of synthetic adjuvant ... , 2016; Иващенко, Маниесон, 2018; Lipopolysaccharide of the *Yersinia* ... , 2021; Иммунохимическая активность ... , 2022]. В настоящее время в Российской Федерации выпускается диагностическая сыворотка к *Y. pseudotuberculosis* О-моновалентная (серотип I, III) (СПбНИИВС ФМБА России) с регламентированной областью применения: для ориентировочной реакции агглютинации на стекле. Получение псевдотуберкулёзных сывороток для более широкой сферы использования, в частности в качестве источника специфических антител при конструировании диагностических иммунобиологических препаратов и тест-систем на псевдотуберкулёз, является актуальным и востребованным в практике здравоохранения.

Цель настоящей работы – получение и характеристика гипериммунных специфических сывороток против поверхностных субклеточных фракций возбудителя псевдотуберкулёза.

Материалы и методы

Работы с лабораторными животными проводили, руководствуясь указаниями нормативных документов¹.

При выборе животного – продуцента гипериммунных сывороток исходили прежде всего из тропности микроорганизма к определённому виду животного, доступности модели, удобства работы с ним, подходящих условий содержания заражённых животных в специализированном подразделении

¹ ГОСТ 34088-2017. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за сельскохозяйственными животными. М. : Стандартинформ, 2018. 30 с.; Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 79 Об утверждении правил надлежащей клинической практики Евразийского экономического союза; Международные рекомендации (этический кодекс) по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (CIOMS, Geneva, 1985); Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18.03.1986). ETS N 123. Приложение А. Руководство по содержанию и уходу за животными; Директива Европарламента и Совета Европейского союза 2010/63/ЕИ от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях.

института с учётом соблюдения требований биологической безопасности и экономичности процесса изготовления конечного продукта. Для получения псевдотуберкулёзных сывороток использовали кроликов породы шиншилла, отбирая клинически здоровых животных в возрасте 3–6 мес. весом 3,0–3,5 кг. Перед иммунизацией животных выдерживали в течение месяца в карантине с последующим повторным клиническим обследованием.

Общеизвестно, что для повышения эффективности иммунизации животных широко прибегают к использованию стимуляторов и пролонгаторов антигенного воздействия, не обладающих каким-либо специфическим биологическим действием на организм. Наиболее часто в этом качестве используют полный адьювант Фрейнда (ПАФ). Поскольку антигенные фракции *Y. pseudotuberculosis* (в частности, наружные мембраны (НМ) и белково-липополисахаридный комплекс (БЛПК)) в нативном состоянии не обладают высокой иммуногенностью, для иммунизации применяли совместное введение иммуногенов с полным адьювантом Фрейнда.

Для изоляции поверхностных иммунологически активных антигенных фракций использовали эпидемически значимый штамм *Y. pseudotuberculosis* 3704 O:1b, выделенный при вспышке псевдотуберкулёза в г. Зиме Иркутской области (коллекция отдела эпидемиологии НИПЧИ Роспотребнадзора, г. Иркутск), выращенный при 28 °С в течение 48 ч на агаре Хоттингера, обработанный 9,0 М раствором мочевины для обеззараживания и одновременного экстрагирования поверхностных иммунологически активных биомолекул возбудителя, сохраняющих нативные иммунобиологические свойства [Физико-химические и антигенные ... , 2022]. Полученную взвесь с концентрацией 40 млрд микр. кл/мл подвергали последовательному центрифугированию при 10 000 g для удаления неразрушенных микробных клеток и получения мочевинового экстракта (МЭ) и при 40 000 g для осаждения фракции фрагментов НМ. Для выделения БЛПК препарат МЭ обрабатывали раствором «Тритон X-114» с получением фракции, растворимой в детергенте [Aida, Rabst, 1990]. Концентрацию белка в полученных препаратах определяли по методу О. Н. Lowry с соавторами [Protein measurement ... , 1951] с применением бычьего сывороточного альбумина (Sigma-Aldrich, США) в качестве стандарта.

Наличие специфических антител в экспериментальных псевдотуберкулёзных сыворотках определяли в объёмной реакции агглютинации (ОРА), специфичность – в реакции иммунодиффузии (РИД) в 1%-ном агарозном геле с последующей окраской белков кумасси ярко-синим [Hornbeck, 2017]. Для сравнения использовали сыворотку диагностическую к *Y. pseudotuberculosis* кроличью сухую для реакции агглютинации (РА) (серотип I) производства СПбНИИВС ФМБА России (серия 7). ОРА ставили общепринятым способом [Никитин, 1982].

Результаты

Для получения кроличьих гипериммунных псевдотуберкулёзных сывороток апробирована разработанная нами ранее схема иммунизации². Оригинальным моментом явилось введение кроликам комплекса антиген – антитело (Аг + Ат), сформированного путём смешивания сыворотки гомологичного животного с иммуногеном (Аг). В качестве антигенных фракций для иммунизации животных апробировали следующие бесклеточные фракции *Y. pseudotuberculosis*: препараты МЭ, НМ и БЛПК.

Кроликам – продуцентам сывороток перед иммунизацией препаратами МЭ, НМ и БЛПК вводили по 0,5 мл полного адьюванта Фрейнда в подушечки задних лап. Через 5–7 сут. животным проводили инъекцию каждого препарата из расчёта 1 мг (по сухому весу) в смеси с 0,5 мл ПАФ в подколенный лимфатический узел. Через 3–5 сут. продолжали иммунизацию антигенами в той же дозировке, ресуспендированными в 0,5 мл физиологического раствора, в передние лапы уже без ПАФ. Через 15 сут. осуществляли второй цикл иммунизации, который предусматривал трёхкратное внутривенное введение комплекса антиген – антитело (Аг + Ат). С этой целью у животных забирали 1 мл крови для получения сыворотки и добавляли к ней антигенный препарат в количестве 1 мг (по белку). Полученный комплекс Аг + Ат вводили внутривенно каждому кролику, от которого была получена сыворотка, с интервалом между инъекциями 5 сут. Одновременно каждому животному дополнительно делали инъекцию соответствующего антигена (1 мг по белку в 1 мл стерильного физиологического раствора) внутримышечно. Через 7 сут. после последнего введения иммуногенов у всех животных проводили забор крови, определяли активность и специфичность сывороток с помощью иммуносерологических методов, используя в качестве антигенов выделенные препараты МЭ, НМ, БЛПК и исходный штамм *Y. pseudotuberculosis* 3704 (O:1b). Специфичность полученных сывороток устанавливали по способности взаимодействовать с тест-штаммами гетерологичных микроорганизмов (*Y. enterocolitica* 628, *Salmonella typhi* 21, *Shigella flexneri* 1964) (отдел коллекций патогенных бактерий НИПЧИ Роспотребнадзора, г. Иркутск) в РИД. Сравнение качества полученных экспериментальных сывороток проводили с коммерческой псевдотуберкулёзной сывороткой для РА на стекле производства СПбНИИВС ФМБА России (серия 7).

Как известно, антигенную специфичность псевдотуберкулёзного микроба определяет соматический О-антиген, который содержится в поверхностных структурах бактериальной клетки. При этом, говоря об антигенном спектре псевдотуберкулёзного микроба, нельзя не отметить наличие структурного сходства отдельных поверхностных компонентов микробной клетки возбудителя с аналогичными макромолекулами некоторых других представителей семейств *Yersiniaceae* и *Enterobacteriaceae*, что объясняет возможное перекрестное реагирование со взятыми в работу гетерологичными

² Способ получения диагностических сывороток: пат. Рос. Федерации 5023123/13. Тюменцев С. Н., Андреевская Н. М., Тюменцева И. С., Калиновский А. И., Репина Л. П., Загоскина Т. Ю. № RU 2010577 С1; заявл. 09.07.1991; опубл. 15.04.1994. Бюл. № 7.

микроорганизмами. Специфическая активность полученных сывороток против бесклеточных фракций возбудителя псевдотуберкулёза (МЭ, НМ и БЛПК) в ряде случаев оказалась более высокой по сравнению с коммерческой сывороткой (СПБНИИВС) (табл.).

Таблица

Специфическая активность полученных кроличьих псевдотуберкулёзных сывороток в объёмной реакции агглютинации

Штамм	Титры антител			
	Сыворотка против МЭ	Сыворотка против НМ	Сыворотка против БЛПК	Коммерческая сыворотка
<i>Yersinia enterocolitica</i> 628	1:200	1:200	1:200	1:100
<i>Salmonella typhi</i> 21	1:200	1:100	1:100	1:50
<i>Shigella flexneri</i> 1964	1:200	1:100	1:100	1:50
<i>Y. pseudotuberculosis</i> 3704 (O:1b)	1:3200	1:3200	1:3200	1:3200

Установлено, что в сыворотках, полученных при иммунизации кроликов препаратами МЭ, НМ и БЛПК, регистрировались перекрёстно-реагирующие антитела с гетерологичными микроорганизмами (*Y. enterocolitica* 628, *S. typhi* 21, *Sh. flexneri* 1964) в более высоких разведениях по сравнению с сывороткой производства СПБНИИВС. На наш взгляд, это может быть 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 псевдотуберкулёза, используемый для получения сыворотки. При проверке специфичности полученных экспериментальных сывороток против поверхностных субклеточных фракций возбудителя псевдотуберкулёза в РИД установлено, что все экспериментальные сыворотки в разведении 1:10 не реагировали с взятыми в работу гетерологичными тест-штаммами в концентрации $1 \cdot 10^9$ микробных клеток в 1 мл (м.к/мл), проявляя серологическую активность только в отношении использованных для иммунизации бесклеточных антигенных фракций (МЭ, НМ и БЛПК), изолированных из штамма *Y. pseudotuberculosis* 3704 (1 мг/мл) (рис. 1–3).

Аналогичные результаты получены в РИД с коммерческой псевдотуберкулёзной сывороткой из набора для РА (серия 7, СПБНИИВС ФМБА России). МЭ, НМ, БЛПК были активны в РИД с антителами из коммерческой псевдотуберкулёзной сыворотки, с гетерологичными микроорганизмами в концентрации $1 \cdot 10^9$ м.к/мл (*Sh. flexneri* 1964, *Y. enterocolitica* 628, *S. typhi* 21) преципитаты не формировались (рис. 4).

Таким образом, установлено, что сыворотки, полученные путём гипериммунизации кроликов препаратами МЭ, НМ и БЛПК, по специфической активности практически не отличались между собой. Титры антител в ОРА составляли 1:1600–1:3200.

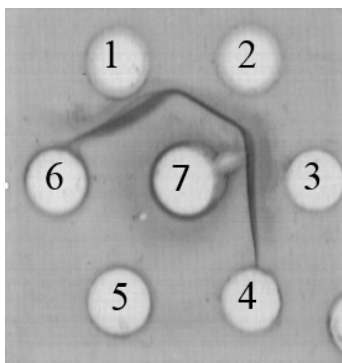


Рис. 1. Реакция иммунодиффузии антигенных препаратов из *Y. pseudotuberculosis* 3704 и гетерологичных микробных взвесей в 1%-ном агарозном геле с антителами, выделеными из коммерческой диагностической сыворотки для реакции агглютинации на стекле. 1 – препарат наружных мембран, 2 – препарат БЛПК, 3 – препарат МЭ, 4 – микробная взвесь *Y. enterocolitica* 628, 5 – микробная взвесь *S. typhi* 21, 6 – микробная взвесь *Sh. flexneri* 1964, 7 – коммерческая диагностическая сыворотка для РНГА

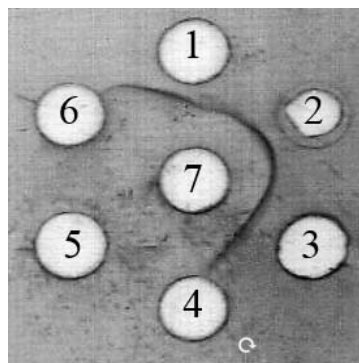


Рис. 2. Реакция иммунодиффузии антигенных препаратов из *Y. pseudotuberculosis* 3704 и гетерологичных микробных взвесей в 1%-ном агарозном геле с экспериментальной кроличьей сывороткой против препарата НМ. 1 – препарат НМ, 2 – препарат МЭ, 3 – препарат БЛПК, 4 – микробная взвесь *S. flexneri* 1964, 5 – микробная взвесь *Sh. typhi* 21, 6 – микробная взвесь *Y. enterocolitica* 628, 7 – псевдотуберкулёзная кроличья сыворотка против препарата НМ

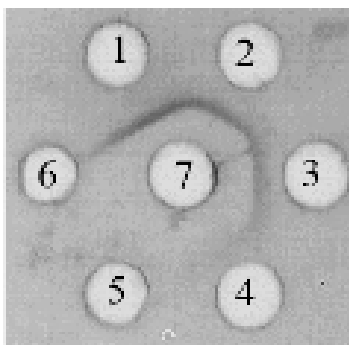


Рис. 3. Реакция иммунодиффузии антигенных препаратов из *Y. pseudotuberculosis* 3704 и гетерологичных микробных взвесей в 1%-ном агарозном геле с экспериментальной кроличьей сывороткой против препарата МЭ. 1 – препарат НМ, 2 – препарат БЛПК, 3 – препарат МЭ, 4 – микробная взвесь *Y. enterocolitica* 628, 5 – микробная взвесь *S. typhi* 21, 6 – микробная взвесь *Sh. flexneri* 1964, 7 – экспериментальная псевдотуберкулёзная кроличья антисыворотка против препарата МЭ

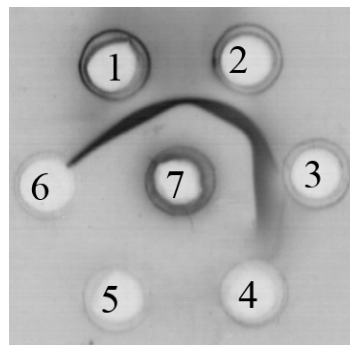


Рис. 4. Реакция иммунодиффузии антигенных препаратов из *Y. pseudotuberculosis* 3704 (O:1b) и гетерологичных микробных взвесей в 1%-ном агарозном геле с кроличьей сывороткой против препарата БЛПК. 1 – препарат НМ, 2 – препарат БЛПК, 3 – препарат МЭ, 4 – микробная взвесь *Y. enterocolitica* 628, 5 – микробная взвесь *S. typhi* 21, 6 – микробная взвесь *Sh. flexneri* 1964, 7 – псевдотуберкулёзная кроличья сыворотка против БЛПК

В РИД между экспериментальными псевдотуберкулёзными сыворотками, разведенными в 10 раз, и корпускулярными антигенами гетерологичных микроорганизмов в концентрации 10^9 м. к/мл (*S. typhi* 21, *Sh. flexneri* 1964, *Y. enterocolitica* 628) преципитаты не формировались. Серологическая активность проявлялась только в отношении изолированных из *Y. pseudotuberculosis* 3704 препаратов МЭ, НМ и БЛПК (1 мг/мл) (см. рис. 1–3).

Обсуждение

В поверхностных структурах возбудителей бактериальных инфекционных заболеваний сосредоточен наиболее важный антигенный материал, на который при иммунизации лабораторных животных вырабатываются специфические антитела, способные взаимодействовать с экспонируемыми на поверхности микроорганизма антигенными эпитопами белков наружной мембраны и О-специфических боковых цепей липополисахарида (О-антигена) [Chart, Cheasty, 2006]. Полученные против поверхностных структур и антигенов *Y. pseudotuberculosis* сыворотки и выделенные из них иммуноглобулины G могут с успехом быть использованы и используются при создании разнообразных диагностических препаратов для выявления возбудителя псевдотуберкулёза в различных серологических реакциях [Использование диагностических тест-систем ... , 2020; Иващенко, 2013; Лабораторная диагностика псевдотуберкулёза ... , 2021].

Одно из важных требований к диагностическим сывороткам – их специфичность. Для получения экспериментальных кроличьих гипериммунных сывороток в данной работе в качестве иммуногенов использованы поверхностные структуры возбудителя, полученные обработкой живых клеток псевдотуберкулёзного микроба, обеззараженных и лизированных раствором мочевины. При оценке специфичности полученных гипериммунных сывороток крови отмечено их перекрёстное реагирование в ОРА с тест-штаммами гетерологичных микроорганизмов (*Y. enterocolitica* 628, *S. typhi* 21, *Sh. flexneri* 1964) в титрах 1:100–1:200. Однако положительные титры специфических антител против *Y. pseudotuberculosis* 3704 (O:1b) были значительно выше (1:1600 – 1:3200). Коммерческая псевдотуберкулёзная сыворотка для РА на стекле производства СПБНИИВС также показала присутствие перекрёстно-реагирующих антител, но в гораздо меньших разведениях (1:50 – 1:100). Вероятно, это связано с тем, что при производстве указанной сыворотки этап адсорбции входит в технологическую схему получения препарата. Перекрёстная реактивность антител в реакции иммунодиффузии в геле с клетками использованных гетерологичных близкородственных в антигенном отношении микроорганизмов отсутствовала.

Применённая нами техника гипериммунизации животных-продуцентов субклеточными фракциями *Y. pseudotuberculosis* для получения высокоактивных псевдотуберкулёзных сывороток объясняет наличие перекрёстного реагирования с гетерологичными микроорганизмами в ОРА. В связи этим для эффективного использования в диагностических целях полученных псевдотуберкулёзных сывороток и минимизации риска получения ложнополо-

ложительных результатов необходимо дальнейшее продолжение работы по оптимизации способа получения высокоспецифичных АТ. Одним из направлений повышения специфичности экспериментальных псевдотуберкулёзных сывороток является их адсорбция близкородственными в антигенном отношении гетерологичными микроорганизмами.

Заключение

Полученные результаты позволяют сделать заключение о том, что для получения псевдотуберкулёзных сывороток допустимо использование в качестве иммуногена любой из апробированных бесклеточных антигенных фракций возбудителя псевдотуберкулёза (МЭ, НМ, БЛПК), позволяющих получать специфичные сыворотки с высоким титром антител, пригодные для конструирования различных диагностических иммунобиологических препаратов и тест-систем на псевдотуберкулёз.

Список литературы

Иващенко С. В. Применение мембранных белков в диагностике иерсиниозов // Вестник Саратовского государственного университета им. Н. И. Вавилова. 2013. № 2. С. 17–18.

Иващенко С. В., Маниссон В. Э. Получение антител к диметилсульфоксид-антигену *Yersinia pseudotuberculosis* // Новости науки в АПК. 2018. № 2(11). С. 340–342.

Иммунохимическая активность ompF и ompC поринов *Yersinia pseudotuberculosis*, оцененная методом лазерной ловушки / И. В. Коньшев, О. Д. Новикова, О. Ю. Портнягина, А. А. Бывалов // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 6. С. 1163–1168. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-IAO-2007>

Использование диагностических тест-систем на основе специфических антивидовых антител, меченных наночастицами серебра, для скрининга исследуемого материала на наличие антигенов возбудителя псевдотуберкулёза и антител к ним в дот-иммуноанализе / Т. Ю. Загоскина, Е. Ю. Марков, В. Т. Климов, Н. М. Андреевская, В. Б. Николаев, А. В. Крюкова, М. В. Чеснокова, Т. М. Долгова, О. В. Гаврилова, Ю. О. Попова, О. А. Старикова, С. В. Балахонов // Polish J. Sci. 2020. N 33, Vol. 1. P. 22–28.

Исследование поверхностных антигенных эпитопов *Yersinia pseudotuberculosis* с помощью моноклональных антител / А. А. Бывалов, Л. Г. Дудина, С. Г. Литвинец, О. Д. Новикова, В. А. Хоменко, О. Ю. Портнягина, Ю. С. Оводов // Прикладная биохимия и микробиология. 2014. Т. 50, № 2. С. 203–210. <https://doi.org/10.7868/S055510991402007X>

Куляшова Л. Б., Ценева Г. Я., Буйневич Ю. Б. Роль антигенов наружной мембраны *Yersinia pseudotuberculosis* в патогенезе и диагностике псевдотуберкулёза // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 1997. № 1. С. 14–18.

Лабораторная диагностика псевдотуберкулёза и кишечного иерсиниоза / М. В. Чеснокова, В. Т. Климов, Т. В. Каримова, Т. Ю. Загоскина, А. Л. Панин // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2021. Т. 26, № 5. С. 224–237. <https://doi.org/10.17816/EID108746>

Никитин В. М. Справочник методов иммунологии. Кишинёв : Штиинца, 1982. 304 с.

Получение антител к антигенам *Yersinia pseudotuberculosis* с использованием в качестве адьюванта частиц коллоидного золота / С. А. Староверов, Д. Н. Ермилов, А. А. Щербаков, С. В. Семенов, С. Ю. Щеголев, Л. А. Дыкман // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2003. № 3. С. 54–57.

Физико-химические и антигенные свойства извлекаемых мочевиной поверхностных структур *Yersinia pseudotuberculosis* O:1b / А. В. Крюкова, Е. Ю. Марков, В. Б. Николаев, Ю. О. Попова, В. Т. Климов, С. В. Игумнова, А. В. Уланская, Н. М. Андреевская, Т. Ю. Загоскина, М. В. Чеснокова // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 4. С. 659–667. <http://doi.org/10.15789/2220-7619-РАА-1602>

Aida Y., Pabst M. J. Removal of endotoxin from protein solutions by phase separation using Triton X-114 // *J. Immunol. Meth.* 1990. Vol. 132, N 2. P. 191–192. [http://doi.org/10.1016/0022-1759\(90\)90029-u](http://doi.org/10.1016/0022-1759(90)90029-u)

Chart H., Cheasty T. The serodiagnosis of human infections with *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* // *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2006. Vol. 47, N 3. P. 391–397. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2006.00100.x>

Hornbeck P. Double-immunodiffusion assay for detecting specific antibodies (Ouchterlony) // *Curr. Protoc. Immunol.* 2017. Vol. 116. P. 2.3.1–2.3.4. <https://doi.org/10.1002/cpim.18>

Lipopolysaccharide of the *Yersinia pseudotuberculosis* complex / Y. A. Knirel, A. P. Anisimov, A. A. Kislichkina, A. N. Kondakova, O. V. Bystrova, A. S. Vagaiskaya, K. Y. Shatalin, A. S. Shashkov, S. V. Dentovskaya // *Biomolecules.* 2021. Vol. 11, N 10, 1410. <https://doi.org/10.3390/biom11101410>

Protein measurement with the folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, R. J. Randall // *J. Biol. Chem.* 1951. Vol. 193, N 1. P. 265–275. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6)

The effect of synthetic adjuvant on the formation of the immune response / S. V. Savina, S. V. Ivashchenko, V. M. Skornyakov, V. S. Murtaeva // *Int. Res. J.* 2016. Vol. 8–2. N 50. P. 42–44. <https://doi.org/10.18454/IRJ.2016.50.013>

References

Ivaschenko S.V. Primeneniye membrannykh belkov v diagnostike iyersiniozov [Application of membrane proteins in the yersiniosis examination]. *Agr. Sci. J.*, 2013, no. 2, pp. 17-18. (in Russian)

Ivaschenko S.V., Manieson V.E. Poluchenie antitel k dimetilsul'foksid-antigenu *Yersinia pseudotuberculosis* [Obtaining antibodies of bimethylsulfoxide-antigen *Yersinia pseudotuberculosis*]. *Novosty nauki v APK* [Science News in the Agro-Industrial Complex], 2018, no. 2 (11), pp. 340-342. (in Russian)

Konyshov I.V., Novikova O.D., Portnyagina O.Y., Byvalov A.A. Immunokhimicheskaya aktivnost' ompF i ompC porinov *Yersinia pseudotuberculosis*, otsennaya metodom lazernoi lovushki [Immunochemical activity of *Yersinia pseudotuberculosis* ompF and ompC porins evaluated by optical trapping]. *Russ. J. Inf. Imm.*, 2022, vol. 12, no. 6, pp. 1163-1168. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-IAO-2007> (in Russian)

Zagoskina T., Markov E., Klimov V., Andreevskaya N., Nikolaev V., Kryukova A., Chesnakova M., Dolgova T., Gavrilova O., Popova Yu., Starikova O., Balakhonov S. Ispolzovanie diagnosticheskikh test-sistem na osnove spetsificheskikh antitidovyykh antitel, mechennykh nanochastitsami serebra, dlya skrininga issleduemogo materiala na nali-chie antigenov vzbuditelya psevdotuberkuleza i antitel k nim v dot-immunoanalize [Use of diagnostic test systems based on specific antispecies antibodies labeled with silver nanoparticles for screening of study material for the presence of antigens of the pseudotuberculosis causative agent and antibodies against them in the dot immunoassay]. *Polish J. Sci.* 2020, no. 33, pp. 22-28. (in Russian)

Byvalov A.A., Dudina L.G., Litvinets S.G., Novikova O.D., Khomenko V.A., Portnyagina O.Yu., Ovodov Yu.S. Issledovanie poverkhnostnykh antigennykh epitopov *Yersinia pseudotuberculosis* c pomoshch'yu monoklonalnykh antitel [Study of *Yersinia pseudotuberculosis* surface antigen epitopes using monoclonal antibodies]. *Appl. Biochem. Microbiol.*, 2014, vol. 50, no. 2, pp. 179-186. <https://doi.org/10.1134/s0003683814020070> (in Russian)

Kulyashova L.B., Tseneva G.Ya., Buinevich Yu.B. Rol antigenov naruzhnoi membrany *Yersinia pseudotuberculosis* v patogeneze i diagnostike psevdotuberkuleza [Role of *Yersinia pseudotuberculosis* outer membrane antigens in the pathogenesis and diagnostics of pseudotuberculosis]. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii* [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology], 1997, no. 1, pp. 14-18. (in Russian)

Chesnokova M.V., Klimov V.T., Karimova T.V., Zagoskina T.Yu., Panin A. Laboratory diagnostics of *Yersinia pseudotuberculosis* and *Yersinia enterocolitica*. *Epidemiology and Infectious Diseases*, 2021, vol. 26, no. 5, pp. 224-237. <https://doi.org/10.17816/EID108746> (in Russian)

Nikitin V.M. *Spravochnik metodov immunologii* [Handbook of methods of immunology]. Kishinev, Shtiintsa Publ., 1982, 304 p. (in Russian)

Staroverov S.A., Ermilov D.N., Shcherbakov A.A., Semenov S.V., Shchegolev S.Yu., Dykman L.A. Poluchenie antitel k antigenam *Yersinia pseudotuberculosis* s ispolzovaniem v kachestve

ad"yuvanta chastits kolloidnogo zolota Producing antibodies to Yersinia pseudotuberculosis antigens with the use of colloid gold particles as adjuvant. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii* [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology], 2003, no. 3, pp. 54-57. (in Russian)

Kryukova A.V., Markov E.Yu., Nikolaev V. B., Popova Yu. O., Klimov V. T., Igumnova S. V. Andreevskaya N.M., Ulanskaya A.V., Zagoskina T.Yu., Chesnokova M.V. Fiziko-khimicheskie i antigennye svoystva izvlekaemykh mochevinoi poverkhnostnykh struktur Yersinia pseudotuberculosis O:1b [Physicochemical and antigenic properties of the urea-extracted surface structures of *Yersinia pseudotuberculosis* O:1b]. *Russ. J. Infection and Immunity*, 2022, vol. 12, no. 4, pp. 659-667. <http://doi.org/10.15789/2220-7619-PAA-1602> (in Russian)

Aida Y., Pabst M.J. Removal of endotoxin from protein solutions by phase separation using Triton X-114. *J. Immunol. Meth.* 1990, vol. 132, no. 2, pp. 191-192. [http://doi.org/10.1016/0022-1759\(90\)90029-u](http://doi.org/10.1016/0022-1759(90)90029-u)

Chart H., Cheasty T. The serodiagnosis of human infections with *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis*. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2006, vol. 47, no. 3, pp. 391-397. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2006.00100.x>

Hornbeck P. Double-immunodiffusion assay for detecting specific antibodies (Ouchterlony). *Curr. Protoc. Immunol.* 2017, vol. 116, no. 1, pp. 2.3.1-2.3.4. <https://doi.org/10.1002/cpim.18>

Knirel Y.A., Anisimov A.P., Kislichkina A.A., Kondakova A.N., Bystrova O.V., Vagaiskaya A.S., Shatalin K.Y., Shashkov A.S., Dentovskaya S.V. Lipopolysaccharide of the *Yersinia pseudotuberculosis* complex. *Biomolecules*, 2021, vol. 11, no. 10, 1410. <https://doi.org/10.3390/biom11101410>

Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 1951, vol. 193, no. 1, pp. 265-275. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6)

Savina S.V., Ivashchenko S.V., Skornyakov V.M., Murtaeva V.S. The effect of synthetic adjuvant on the formation of the immune response. *Int. Res. J.*, 2016, vol. 8-2, no. 50, pp. 42-44, <https://doi.org/10.18454/IRJ.2016.50.013>

Сведения об авторах

Зagoskina Татьяна Юрьевна

доктор медицинских наук, заведующая
отделом

Иркутский научно-исследовательский
противочумный институт
Роспотребнадзора
Россия, 664047, г. Иркутск, Трилиссера, 78
e-mail: t_y_z@mail.ru

Марков Евгений Юрьевич

доктор биологических наук,
старший научный сотрудник

Иркутский научно-исследовательский
противочумный институт
Роспотребнадзора
Россия, 664047, г. Иркутск, Трилиссера, 78
e-mail: mark_evgenii@mail.ru

Андреевская Нина Михайловна

кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник

Иркутский научно-исследовательский
противочумный институт
Роспотребнадзора
Россия, 664047, г. Иркутск, Трилиссера, 78
e-mail: andreevskaya45@mail.ru

Information about the authors

Zagoskina Tatiana Yuriyevna

Doctor of Sciences (Medicine),
Head of Department

Irkutsk Anti-Plague Research Institute of Siberia
and Far East of Rosпотребнадзор
78, Trilisser st., Irkutsk, 664047,
Russian Federation
e-mail: t_y_z@mail.ru

Markov Evgeniy Yurievich

Doctor of Sciences (Biology),
Senior Research Scientist

Irkutsk Anti-Plague Research Institute of Siberia
and Far East of Rosпотребнадзор
78, Trilisser st., Irkutsk, 664047,
Russian Federation
e-mail: mark_evgenii@mail.ru

Andreevskaya Nina Mikhailovna

Candidate of Sciences (Biology),
Senior Research Scientist

Irkutsk Anti-Plague Research Institute of Siberia
and Far East of Rosпотребнадзор
78, Trilisser st., Irkutsk, 664047,
Russian Federation
e-mail: andreevskaya45@mail.ru

Климов Валерий Тимофеевич

кандидат медицинских наук, старший
научный сотрудник
Иркутский научно-исследовательский
противочумный институт
Роспотребнадзора
Россия, 664047, г. Иркутск, Трилиссера, 78
e-mail: 41klimov@mail.ru

Николаев Валерий Борисович

кандидат медицинских наук,
старший научный сотрудник
Иркутский научно-исследовательский
противочумный институт
Роспотребнадзора
Россия, 664047, г. Иркутск, Трилиссера, 78
e-mail: eaverschinin@mail.ru

Крюкова Анна Витальевна

младший научный сотрудник
Иркутский научно-исследовательский
противочумный институт
Роспотребнадзора
Россия, 664047, г. Иркутск, Трилиссера, 78
e-mail: anjakrukova@gmail.ru

Дорощенко Антон Александрович

младший научный сотрудник
Иркутский научно-исследовательский
противочумный институт
Роспотребнадзора
Россия, 664047, г. Иркутск, Трилиссера, 78
e-mail: yashik.genry@mail.ru

Долгова Татьяна Михайловна

научный сотрудник
Иркутский научно-исследовательский
противочумный институт
Роспотребнадзора
Россия, 664047, г. Иркутск, Трилиссера, 78
e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Колесникова Ольга Борисовна

кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник
Иркутский научно-исследовательский
противочумный институт
Роспотребнадзора
Россия, 664047, г. Иркутск, Трилиссера, 78
e-mail: 89500884440@mail.ru

Гаврилова Ольга Владимировна

кандидат биологических наук,
научный сотрудник

Klimov Valeriy Timofeyevich

Candidate of Sciences (Medicine),
Senior Research Scientist
Irkutsk Anti-Plague Research Institute of Siberia
and Far East of Rospotrebnadzor
78, Trilisser st., Irkutsk, 664047,
Russian Federation
e-mail: 41klimov@mail.ru

Nikolaev Valeriy Borisovich

Candidate of Sciences (Medicine),
Senior Research Scientist
Irkutsk Anti-Plague Research Institute of Siberia
and Far East of Rospotrebnadzor
78, Trilisser st., Irkutsk, 664047,
Russian Federation
e-mail: eaverschinin@mail.ru

Kryukova Anna Vital'yevna

Junior Research Scientist
Irkutsk Anti-Plague Research Institute of Siberia
and Far East of Rospotrebnadzor
78, Trilisser st., Irkutsk, 664047,
Russian Federation
e-mail: anjakrukova@gmail.ru

Doroschenko Anton Aleksandrovich

Jnior Research Scientist
Irkutsk Anti-Plague Research Institute of Siberia
and Far East of Rospotrebnadzor
78, Trilisser st., Irkutsk, 664047,
Russian Federation
e-mail: yashik.genry@mail.ru

Dolgorva Tatyana Mikhailovna

Research Scientist
Irkutsk Anti-Plague Research Institute of Siberia
and Far East of Rospotrebnadzor
78, Trilisser st., Irkutsk, 664047,
Russian Federation
e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Kolesnikova Olga Borisovna

Candidate of Sciences (Biology),
Senior Research Scientist
Irkutsk Anti-Plague Research Institute of Siberia
and Far East of Rospotrebnadzor
78, Trilisser st., Irkutsk, 664047,
Russian Federation
e-mail: 89500884440@mail.ru

Gavrilova Olga Viktorovna

Candidate of Sciences (Biology),
Research Scientist

*Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора
Россия, 664047, г. Иркутск, Трилиссера, 78
e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru*

*Irkutsk Anti-Plague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор
78, Trilisser st., Irkutsk, 664047,
Russian Federation
e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru*

Старикова Ольга Андреевна
кандидат биологических наук,
младший научный сотрудник
Иркутский научно-исследовательский противочумный институт
Роспотребнадзора
Россия, 664047, г. Иркутск, Трилиссера, 78
e-mail: o.starickova@yandex.ru

Starikova Olga Andreevna
Candidate of Sciences (Biology),
Junior Research Scientist
Irkutsk Anti-Plague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор
78, Trilisser st., Irkutsk, 664047,
Russian Federation
e-mail: o.starickova@yandex.ru

Вершинская Ирина Борисовна
младший научный сотрудник
Иркутский научно-исследовательский противочумный институт
Роспотребнадзора
Россия, 664047, г. Иркутск, Трилиссера, 78
e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Vershinskaya Irina Borisovna
Junior Research Scientist
Irkutsk Anti-Plague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор
78, Trilisser st., Irkutsk, 664047,
Russian Federation
e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Баертueva Инна Ивановна
младший научный сотрудник
Иркутский научно-исследовательский противочумный институт
Роспотребнадзора
Россия, 664047, г. Иркутск, Трилиссера, 78
e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Baertueva Inna Ivanovna
Junior Research Scientist
Irkutsk Anti-Plague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор
78, Trilisser st., Irkutsk, 664047,
Russian Federation
e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Попова Юлия Олеговна
лаборант
Иркутский научно-исследовательский противочумный институт
Роспотребнадзора
Россия, 664047, г. Иркутск, Трилиссера, 78
e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Popova Julia Olegovna
Research Assistant
Irkutsk Anti-Plague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор
78, Trilisser st., Irkutsk, 664047,
Russian Federation
e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Балахонov Сергей Владимирович
доктор медицинских наук, профессор,
директор института
Иркутский научно-исследовательский противочумный институт
Роспотребнадзора
Россия, 664047, г. Иркутск, Трилиссера, 78
e-mail: balakhonov.irk@mail.ru

Balakhonov Sergey Vladimirovich
Doctor of Sciences (Medicine), Professor,
Director
Irkutsk Anti-Plague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор
78, Trilisser st., Irkutsk, 664047,
Russian Federation
e-mail: balakhonov.irk@mail.ru