



УДК 579.869.1+616-078

<https://doi.org/10.26516/2073-3372.2021.37.43>

Получение и оценка эффективности диагностической агглютинирующей сыворотки для идентификации возбудителя листериоза

Н. М. Хаптанова¹, Н. М. Андреевская¹, Ж. А. Коновалова¹,
Н. Г. Гефан¹, С. В. Лукьянова¹, А. С. Остяк¹, Н. Н. Карцев²,
В. Н. Борзенков², С. В. Балахонов¹

¹ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Иркутск, Россия

² Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, пос. Оболенск, Московская область, Россия
E-mail: khaptnat@mail.ru

Аннотация. Описаны методы получения диагностической агглютинирующей сыворотки для реакции агглютинации (РА), применяемой при качественной идентификации возбудителя листериоза. Разработана схема иммунизации животных-продуцентов для получения сыворотки. Представлены результаты оценки клинической информативности сыворотки по показателям диагностической чувствительности в отношении гомологичных штаммов *L. monocytogenes* и диагностической специфичности с близкородственными и гетерологичными штаммами в пробирочной РА и на стекле. Показан 14%-ный уровень допустимого расхождения внутривидовой внутрисерийной воспроизводимости исследований для всех положительных проб.

Ключевые слова: *Listeria monocytogenes*, листериозная агглютинирующая сыворотка, диагностическая чувствительность, диагностическая специфичность, диагностика.

Для цитирования: Получение и оценка эффективности диагностической агглютинирующей сыворотки для идентификации возбудителя листериоза / Н. М. Хаптанова, Н. М. Андреевская, Ж. А. Коновалова, Н. Г. Гефан, Лукьянова С. В., А. С. Остяк, Н. Н. Карцев, В. Н. Борзенков, С. В. Балахонов // Известия Иркутского государственного университета. Серия Биология. Экология. 2021. Т. 37. С. 43–53. <https://doi.org/10.26516/2073-3372.2021.37.43>

Введение

В настоящее время листериоз представляет собой актуальную проблему как пищевая инфекция человека [Ефимочкина, 2013]. Согласно данным медицинской статистики, с употреблением продуктов питания в последние годы связаны крупные вспышки листериоза с высоким процентом летальных исходов [Matle, Mbatha, Madoroba, 2020; *Listeria monocytogenes* contamination ... , 2018; The public health ... , 2020]. Ввиду полиморфизма симптомов клиническая диагностика заболевания бывает затруднительна. При идентификации возбудителя листериоза (*Listeria monocytogenes*) наряду с определением морфологических, культуральных и биохимических свойств широко

используются серологические исследования [Частная медицинская микробиология ... , 2020].

Одним из специфичных, простых и доступных методов является реакция агглютинации (РА), для постановки которой необходимы диагностические агглютинирующие сыворотки [Перетрухина, Блинова, 2010]. Использование РА предпочтительно для быстрого выявления наличия или отсутствия в биологическом материале возбудителя листериоза [Тартаковский, 2000]. К факторам, определяющим диагностическую ценность, аналитическую надежность и клиническую информативность результатов РА, относятся чувствительность и специфичность сыворотки. В связи с этим актуальны разработка и оценка эффективности листериозной сыворотки.

Цель работы – получить гипериммунную агглютинирующую сыворотку для идентификации возбудителя листериоза и оценить её эффективность.

Материалы и методы

Для проведения исследований в качестве животных-продуцентов листериозной сыворотки выбрали 54 экземпляра кролика породы шиншилла массой 2,5–3,0 кг, полученных из лаборатории подопытных животных ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора» (Иркутский НИПЧИ). Все стадии исследования с использованием животных проведены в соответствии с нормативами¹. Специфическую стерильность иммуногена проверяли согласно методическим указаниям². Для этого иммуноген высевали по 0,3 мл в пробирки с мясо-пептонным бульоном (МПБ) с 1%-ной глюкозой и по 0,1 мл на чашки Петри с мясо-пептонным агаром (МПА) с 1%-ной глюкозой (ГОСТ-10444.1, п. 5.12³). Посевы инкубировали при (37±1) °С в течение 6 сут. с ежедневным просмотром. Затем из накопительной среды, после трёх суток инкубации, делали посевы на две чашки с МПА с 1%-ной глюкозой с последующей инкубацией до трёх суток. Содержание белка в иммуногене определяли с применением бычьего сывороточного альбумина (Sigma-Aldrich, США) в качестве стандарта [Protein measurement ... , 1951].

Для определения чувствительности и специфичности листериозной сыворотки ампулы с лиофилизированными культурами *L. monocytogenes* и *Listeria* spp. (*L. grayi*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. welschimerii*, *L. murrayi*), полученными из Иркутского НИПЧИ (отдел «Коллекция патогенных бактерий»), вскрывали и вносили по 0,3 мл 0,9%-ного раствора натрия хлорида. После растворения микробную взвесь культур высевали на МПБ с 1%-ной глюкозой и инкубировали при 37±1 °С в течение 24 ч. Далее

¹ ГОСТ 33216-2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами. М., 2019, 10 с.

² Методические указания МУК 4.1/4.2.588-96. Методы контроля медицинских иммунобиологических препаратов, вводимых людям // Противоэпидемические мероприятия. Т. 2 / ред.: Г. Г. Онищенко, Б. Л. Черкасский. М., 2006. С. 858-934.

³ ГОСТ 10444.1-84. Консервы. Приготовление растворов реактивов, красок, индикаторов и питательных сред, применяемых в микробиологическом анализе. М., 2010. 228 с.

пересевали на две чашки Петри со средой для культивирования листерий (СКЛ) и инкубировали при 37 ± 1 °С в течение 24 ч.

Лиофилизированные культуры гетерологичных микроорганизмов *Escherichia coli*, *Salmonella enterica enteritidis*, *S. e. typhimurium*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, предварительно разведённые в 0,3 мл 0,9%-ного раствора натрия хлорида, высевали на бульон Хоттингера (рН 7,2) (ГОСТ-10444.1, п. 5.20) и инкубировали при 37 ± 1 °С в течение 24 ч. Далее пересевали на две чашки Петри с агаром Хоттингера (рН 7,2) (ГОСТ-10444.1, п. 5.20.3) с последующей инкубацией при 37 ± 1 °С в течение 24 ч.

Чувствительность полученной листериозной сыворотки определяли в пробирочной РА и на стекле с 25 штаммами *L. monocytogenes*; на специфичность – с 22 штаммами *Listeria* spp. и гетерологичными микроорганизмами. Антигены готовили в 2 мл 0,9%-ного раствора натрия хлорида по отраслевому стандартному образцу (ОСО) мутности 10 МЕ, что соответствовало $0,93 \cdot 10^9$ м. к./мл. Учёт результатов в пробирочной РА проводили через 21 ч по 4-крестовой схеме: 4 креста – крупно- или мелкозернистая агглютинация при полном просветлении жидкости; 3 креста – крупно- или мелкозернистая агглютинация при легкой опалесценции жидкости; 2 креста – слабая мелкозернистая агглютинация на фоне мутной жидкости; 1 крест – следы агглютинации на фоне мутной жидкости. «–» – отрицательная, отсутствие просветления и зонтика. Реакция считалась положительной на 3–4 креста в разведении 1:400. Учёт результатов РА на стекле считали положительной при появлении мелко- или крупнозернистого агглютината, ясно видимого невооружённым глазом в течение 3 мин.

При оценке результатов рассчитывали процентную частоту попаданий в выборке, определяли нижнюю границу доверительного интервала, в котором находится истинная доля признака (вероятность) в зависимости от числа независимых опытов, и сходимость внутривыставочных, воспроизводимость межвыставочных и межсерийных испытаний определяли путём сравнения двух вероятностей биномиальных распределений при статистической надёжности 95 % [Методические рекомендации ... , 2018].

Исследования листериозной сыворотки проведены на базе Иркутского НИПЧИ и ФГБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» (пос. Оболенск) с использованием в работе штаммов, полученных из коллекций патогенных микроорганизмов этих учреждений.

Результаты и обсуждение

При проведении исследований использовали две серии экспериментальной листериозной сыворотки, полученной по разработанной схеме иммунизации кроликов-продуцентов с применением корпускулярного антигена (иммуногена).

Для получения иммуногена штамм *L. monocytogenes* 766 выращивали во флаконах на экспериментальной среде СКЛ (Иркутский НИПЧИ) при температуре 37 ± 1 °С в течение 48 ч. Бактериальную массу смывали забуфе-

ренным физиологическим раствором, определяли концентрацию микробных клеток по отраслевому стандартному образцу мутности 10 МЕ (ОСО 42-28-85 соответствующего года выпуска), далее инактивировали кипячением в течение 1 ч. На среде СКЛ получена микробная масса *L. monocytogenes* 766, обладающая типичными культурально-морфологическими и антигенными свойствами без признаков диссоциации культуры [Конструирование питательной среды ... , 2020].

Проверка специфической стерильности листериозного иммуногена в течение 6 сут. показала отсутствие роста листерий. Содержание белка в иммуногене составило $5,2 \pm 0,13$ мг/мл.

Схема иммунизации кроликов-продуцентов включала трёхкратное введение иммуногена с интервалом в три дня в возрастающей концентрации внутривенно 6; 16 и 25 млрд м. к./мл и внутримышечно 500 млн м. к./мл. На седьмой день после третьей иммунизации в пробах крови от каждого кролика определяли титр антител в сыворотках, который соответствовал значениям не ниже 1:400.

Для получения сыворотки кровь помещали в термостат при температуре 37 ± 1 °С на 1 ч для свертывания, образовавшийся сгусток отделяли от стенок пробирки, после чего сыворотку выдерживали в течение 18–20 ч в холодильнике при температуре 7 ± 1 °С. На следующий день все сыворотки объединяли и вновь ставили РА. Затем полученную сыворотку консервировали борной кислотой (массовая доля основного вещества не менее 99,8 %) из расчёта 1,5 %, далее добавляли стабилизатор, смешивая сахарозу (массовая доля кислот в пересчёте на уксусную кислоту не более 0,005 %) и натрий тиосульфат 5-водный (массовая доля основного вещества не менее 99,5–100,5 %). Сыворотку фильтровали через фильтр Sartobran (Sartoris, Германия) и разливали по 1 мл в ампулы (ШП-5-НС-1 по ОСТ 64-2-485-85⁴), лиофилизировали и запаивали. Получено 47 серий листериозной агглютинирующей сыворотки, для проведения исследований в работу взяты две серии (43, 44).

Для оценки диагностической чувствительности листериозной сыворотки готовили пробы бактериальных суспензий штаммов *L. monocytogenes* в концентрации $0,93 \times 10^9$ м. к./мл и проводили постановку пробирочной РА и на стекле (табл. 1).

При исследовании 25 штаммов *L. monocytogenes* I и II серогрупп (серотипы 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4b, 4c, 7), выделенных на территории Российской Федерации из различных источников (клинический материал, пищевые продукты, сточные воды) в пробирочной РА титр сыворотки не отличался и составлял 1:800, на стекле получен положительный результат в 100 % случаев. Таким образом, исследуемая листериозная сыворотка обладала высокой диагностической чувствительностью, истинная доля сероположительных случаев составляла 89 %, что определяли расчётом нижней границы доверительного интервала со статистической надёжностью 95 %.

⁴ ОСТ 64 2-485-85. Ампулы стеклянные для лекарственных средств. Технические условия. М., 1985. 36 с.

Таблица 1

Результаты определения диагностической чувствительности листериозных сывороток в РА со штаммами *L. monocytogenes*

№ п/п	Штаммы <i>L. monocytogenes</i>	Серотип	Место выделения	Источник выделения	Результаты реакции	
					РА на стекле серии 43/44	Пробирочная РА (1:800) серии 43/44
1	BB-1	1/2a, 3a	г. Ярославль	Клинический материал	4+/4+	4+/4+
2	TVe11985	1/2a, 3a	г. Тверь	Мясной полуфабрикат	3+/4+	4+/4+
3	TVe12269	1/2a, 3a	г. Тверь	Рыбный полуфабрикат	4+/4+	4+/4+
4	Bel-1	1/2a, 3a	г. Белгород	Клинический материал	4+/4+	4+/4+
5	V23w	1/2a, 3a	г. Вологда	Мясной полуфабрикат	4+/4+	4+/4+
6	V30w	1/2a, 3a	г. Вологда	Полуфабрикат	4+/4+	4+/4+
7	V40w	1/2a, 3a	г. Вологда	Полуфабрикат	4+/4+	4+/4+
8	V44w	1/2a, 3a	г. Вологда	Полуфабрикат	4+/4+	4+/4+
9	V59w	1/2a, 3a	г. Вологда	Мясной полуфабрикат	4+/4+	4+/4+
10	V299w	1/2a, 3a	г. Вологда	Клинический материал	4+/4+	4+/4+
11	Water 3	1/2a, 3a	г. Вологда	Сточные воды	4+/4+	4+/4+
12	Water 4	1/2a, 3a	г. Вологда	Сточные воды	4+/4+	4+/4+
13	766	1/2a, 3a	Нет данных	Клинический материал	4+/4+	4+/4+
14	И-76	1/2a, 3a	Иркутская обл.	Клинический материал	4+/4+	4+/4+
15	MIB-871	1/2c, 3c	г. Москва	Клинический материал	4+/3+	4+/4+
16	MO-Ob	1/2c, 3c	г. Москва	Клинический материал	4+/4+	4+/4+
17	OR-513	4b	г. Орел	Клинический материал	4+/4+	4+/4+
18	OR-517	4b	г. Орел	Клинический материал	4+/4+	4+/4+
19	MO-um	4b	г. Москва	Клинический материал	4+/4+	4+/4+
20	ROS150-1	1/2b, 3b, 7	г. Ростов-на-Дону	Мясной полуфабрикат	4+/4+	4+/4+
21	V41w	1/2b, 3b, 7	г. Вологда	Рыбный полуфабрикат	4+/4+	4+/4+
22	И-71	1/2b, 3b, 7	г. Иркутск	Мясной полуфабрикат	4+/4+	4+/4+
23	И-72	1/2b, 3b, 7	г. Иркутск	Мясной полуфабрикат	4+/4+	4+/4+
24	V276-2w	4a, 4c	г. Вологда	Клинический материал	4+/4+	4+/4+
25	Water 5	4a, 4c	г. Вологда	Сточные воды	4+/4+	4+/4+

Для определения диагностической специфичности листериозной сыворотки готовили бактериальные суспензии 22 штаммов, включающие близкородственные и гетерологичные микроорганизмы (*L. grayi*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. welschimerii*, *L. murrayi*, *E. coli*, *S. e. enteritidis*, *S. e. typhimurium*, *Sh. flexneri*, *S. aureus*, *Y. enterocolitica*) в концентрации $0,93 \cdot 10^9$ м. к./мл. В результате проведённых исследований в пробирочной РА и на стекле с листериозными сыворотками (с. 43, 44) получены отрицательные результаты со всеми штаммами (табл. 2).

Таблица 2

Результаты определения диагностической специфичности листериозных сывороток с. 43/44 в РА с *Listeria* spp. и гетерологичными штаммами

№ п/п	Вид микроорганизмов	Название штамма	Результаты реакции	
			РА на стекле с. 43/44	Пробирочная РА (1:800) с. 43/44
1	<i>L. grayi</i>	ATCC25400	-/-	-/-
2	<i>L. grayi</i>	МКМ2	-/-	-/-
3	<i>L. grayi</i>	ИП	-/-	-/-
4	<i>L. innocua</i>	ATCC33090	-/-	-/-
5	<i>L. innocua</i>	В-64	-/-	-/-
6	<i>L. innocua</i>	М4	-/-	-/-
7	<i>L. ivanovii</i>	ATCC19119	-/-	-/-
8	<i>L. ivanovii</i>	7842	-/-	-/-
9	<i>L. ivanovii</i>	11840	-/-	-/-
10	<i>L. seeligeri</i>	ATCC35967	-/-	-/-
11	<i>L. seeligeri</i>	SLSC5981	-/-	-/-
12	<i>L. seeligeri</i>	LSC3954	-/-	-/-
13	<i>L. welschimerii</i>	В-107	-/-	-/-
14	<i>L. welschimerii</i>	4911	-/-	-/-
15	<i>L. welschimerii</i>	Ярославль3	-/-	-/-
16	<i>L. murrayi</i>	G-44	-/-	-/-
17	<i>E. coli</i>	ATCC25952	-/-	-/-
18	<i>S. enteritidis</i>	Gartneri	-/-	-/-
19	<i>S. typhimurium</i>	21	-/-	-/-
20	<i>Sh. flexneri</i>	170	-/-	-/-
21	<i>S. aureus</i>	6538	-/-	-/-
22	<i>Y. enterocolitica</i> O3	628/1	-/-	-/-

Примечание: «-» – РА отрицательна.

Истинная доля отрицательных результатов определения диагностической специфичности листериозной сыворотки в РА с близкородственными и гетерологичными штаммами составила 87 % (нижняя граница доверительного интервала) со статистической надежностью 95 %.

Разработанная схема иммунизации кроликов-продуцентов позволяет в короткие сроки получить высокоактивную гипериммунную листериозную агглютинирующую сыворотку и исключает этап адсорбции гетерологичных антител.

Заключение

В результате проведённых исследований получена листериозная агглютинирующая сыворотка и выполнена оценка её диагностической чувствительности и специфичности в пробирочной РА и на стекле с культурами *Listeria* spp. и гетерологичными штаммами. Диагностическая чувствительность с 25 штаммами *L. monocytogenes* определена в титре 1:800 в пробирочной РА и на стекле, получен положительный результат в 100 % случаев. При

исследовании диагностической специфичности 22 образцов близкородственных и гетерологичных штаммов получены отрицательные результаты.

При проведении испытаний наблюдалась полная внутривидовая сходимость, а также межвидовая и межсерийная воспроизводимость. Полученные результаты свидетельствуют о высокой эффективности листериозной агглютинирующей сыворотки и возможности её применения в клинической лабораторной диагностике для выявления возбудителя листериоза. Исследования показали высокую эффективность полученной листериозной сыворотки, которая обладает высокой диагностической чувствительностью к *L. monocytogenes* и специфичностью в отношении близкородственных и гетерологичных микроорганизмов.

Список литературы

Ефимочкина Н. Р. Микробиология пищевых продуктов и современные методы детекции патогенов. М. : Изд-во РАМН, 2013. 518 с.

Методические рекомендации по порядку проведения экспертизы качества, эффективности и безопасности медицинских изделий для государственной регистрации. М. : ВНИИИМТ Росздравнадзора, 2018. 158 с.

Петрухина А. Т., Блинова Е. И. Бактерийные и вирусные препараты. М. : Акад. естествознания, 2010. 311 с.

Тартаковский И. С. Листерии: роль в инфекционной патологии человека и лабораторная диагностика // Клиническая микробиология антимикробная химиотерапия. 2000. Т. 2, № 2. С. 20–30.

Конструирование питательной среды для культивирования листерий / Н. М. Хаптанова, С. В. Лукьянова, В. И. Кузнецов, Н. Г. Гефан, Н. М. Андреевская, Ж. А. Коновалова, А. С. Остяз, В. С. Косилко // *Acta biomedica scientifica*. 2020. Т. 5, № 4. С. 60–66. <https://doi.org/10.29413/ABS.2020-5.4.8>

Частная медицинская микробиология с техникой микробиологических исследований. / ред.: А. С. Лабинская, Л. П. Блинкова, А. С. Ещина, А. С. Анкирская. СПб. : Лань, 2020. 608 с.

Listeria monocytogenes contamination of ready-to-eat foods and the risk for human health in the EU / A. Ricci, A. Allende, D. Bolton, M. Chemaly, R. Davies, P. S. Fernández Escámez, R. Girones, L. Herman, K. Koutsoumanis, B. Nørrung, L. Robertson, G. Ru, M. Sanaa, M. Simmons, P. Skandamis, E. Snary, N. Speybroeck, B. Ter Kuile, J. Threlfall, H. Wahlström, J. Takkinen, M. Wagner, D. Arcella, M. T. Da Silva Felicio, M. Georgiadis, W. Messens, R. Lindqvist // *EFSA Journal*. 2018. Vol. 16, N 1. 170 p. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5134>

Matle I., Mbatha K. R., Madoroba E. A review of *Listeria monocytogenes* from meat and meat products: Epidemiology, virulence factors, antimicrobial resistance and diagnosis // *Onderstepoort J. Vet Res*. 2020. Vol. 87, N 1. P. 1–20. <https://doi.org/10.4102/ojvr.v87i1.1869>

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 public health risk posed by *Listeria monocytogenes* in frozen fruit and vegetables including herbs, blanched during processing / K. Koutsoumanis, A. Alvarez-Ordóñez, D. Bolton, S. Bover-Cid, M. Chemaly, R. Davies, A. De Cesare, L. Herman, F. Hilbert, R. Lindqvist, M. Nauta, L. Peixe, G. Ru, M. Simmons, P. Skandamis, E. Suffredini, K. Jordan, I. Sampers, M. Wagner, M. T. Da Silva Felicio, M. Georgiadis, W. Messens, O. Mosbach-Schulz, A. Allende // *EFSA Journal*. 2020. Vol. 18, N 4. 101 p. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6092>

Obtaining and Efficiency Assessment of Diagnostic Agglutinating Serum for Identifying the Causative Agent of Listeriosis

N. M. Khaptanova¹, N. M. Andreevskaya¹, Zh. A. Konovalova¹,
N. G. Gefan¹, S. V. Luk'yanova¹, A.S. Ostyak¹, N. N. Kartsev²,
V. N. Borzenkov², S. V. Balakhonov¹

¹*Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russian Federation*

²*State Scientific Center of Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russian Federation*

Abstract. Listeriosis is a saprozoontic natural anthroponotic infectious disease caused by *Listeria monocytogenes*, with multiple pathways and factors of its transmission, characterized by pronounced clinical polymorphism from carriage and subclinical to severe generalized forms, meningitis and meningoencephalitis, and high mortality among newborn children and individuals with immunodeficiency. Express diagnostics of listeriosis is based on the use of immunochromatographic (immunodiffusion reaction, enzyme immunoassay) and molecular genetic (polymerase chain reaction) methods. In the practice of laboratory diagnostics, serological methods for the study of listeriosis remain in high demand for verifying the clinical diagnosis. One of the specific, reliable and available serological methods for laboratory diagnostics of causative agents of infectious diseases remains the agglutination test (AT), to conduct which, listeria agglutinating serum is required. Obtaining diagnostic agglutinating listeria serum with a high level of diagnostic sensitivity and specificity will allow timely identification of the pathogen in the test tube AT and on glass, based on the specific interaction of the antigen with the antibody, with the formation of agglutinate visible to the naked eye. In this study a scheme has been developed for immunization of animal producers to obtain diagnostic listeria agglutinating serum. Evaluation of the clinical efficiency of two series of the serum was carried out based on the indices of diagnostic sensitivity with different serovariants of *L. monocytogenes* and diagnostic specificity with closely related and heterologous strains in the test tube AT and on glass. During the study of 25 strains of *L. monocytogenes* serogroups I and II (serotypes 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4b, 4c, 7) isolated on the territory of the Russian Federation from various sources (clinical material, food products, wastewater), the serum titer did not differ and amounted to 1:800 in the course of in vitro agglutination reaction; a positive result was obtained on glass in 100% of cases. The assessment of the statistical reliability of the obtained test results was at least 89 % with a statistical significance of 95 %, which indicates a high diagnostic efficiency of the serum. In order to establish intra-stage convergence and inter-series reproducibility of studies, two probabilities of binomial distributions were compared. The convergence of staged studies for all positive samples has been proven. Based on the results obtained, listeriosis serum can be used as a medical preparation for in vitro diagnostics of the causative agent of listeriosis.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, listeria agglutinating serum, diagnostic sensitivity, diagnostic specificity, diagnosis.

For citation: Khaptanova N.M., Andreevskaya N.M., Konovalova Zh.A., Gefan N.G., Luk'yanova S.V., Ostyak A.S., Kartsev N.N., Borzenkov V.N., Balakhonov S.V. Obtaining and Efficiency Evaluation of Diagnostic Agglutinating Serum for Identifying the Causative Agent of Listeriosis. *The Bulletin of Irkutsk State University. Series Biology. Ecology*, 2021, vol. 37, pp. 43-53. <https://doi.org/10.26516/2073-3372.2021.37.43> (in Russian)

References

Efimochkina N.R. *Mikrobiologiya pishchevykh produktov i sovremennye metody detektsii patogenov* [Microbiology of food products and modern methods of detection of pathogens]. Moscow, RAMS Publ., 2013, 518 p. (in Russian)

Metodicheskie rekomendatsii po poryadku provedeniya ekspertizy kachestva, effektivnosti i bezopasnosti meditsinskikh izdelii dlya gosudarstvennoi registratsii [Methodological recommendations on the procedure for conducting an examination of the quality, effectiveness and safety of medical devices for state registration]. Moscow, VNIIMT Publ., 2018. 158 p. (in Russian)

Peretrukhina A.T., Blinova E.I. *Bakteriinye i virusnye preparaty* [Bacterial and viral drugs]. Moscow, Akademiya Estestvoznaniya Publ., 2011, 311 p.

Tartakovskij I.S. Listerii: rol v infektsionnoi patologii cheloveka i laboratornaya diagnostika [Listeria: role in human infectious pathology and laboratory diagnostics]. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya* [Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy], 2000, vol. 2, no. 2, pp. 20-30. (in Russian)

Khaptanova N.M., Lukyanova S.V., Kuznetsov V.I., Gefan N.G., Andreevskaya N.M., Konovalova Zh.A., Ostyak A.S., Kosilko V.S. Designing a nutrient medium for the accumulation of microbial mass of Listeria. *Acta Biomedica Scientifica*, 2020, vol. 5, no. 4, pp. 60-66. (in Russian) <https://doi.org/10.29413/ABS.2020-5.4.8>

Chastnaya meditsinskaya mikrobiologiya s tekhnikoï mikrobiologicheskikh issledovaniï [Partial medical microbiology with the technique of microbiological research]. Labinskaya A.S., Blinkova L.P., Eshchina A.S., Ankirskaya A.S. (Eds.). St.-Petersb., Lan' Publ., 2020, 608 p. (in Russian)

Ricci A., Allende A., Bolton D., Chemaly M., Davies R., Fernández Escámez P. S., Girones R., Herman L., Koutsoumanis K., Nørrung B., Robertson L., Ru G., Sanaa M., Simmons M., Skandamis P., Snary E., Speybroeck N., Ter Kuile B., Threlfall J., Wahlström H., Takkinen J., Wagner M., Arcella D., Da Silva Felicio M. T., Georgiadis M., Messens W., Lindqvist R. Listeria monocytogenes contamination of ready-to-eat foods and the risk for human health in the EU. *EFSA journal*, 2018, vol. 16, no. 1, 170 p. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5134>

Matle I., Mbatha K. R., Madoroba E. A review of Listeria monocytogenes from meat and meat products: Epidemiology, virulence factors, antimicrobial resistance and diagnosis. *Onderstepoort J. Vet Res.*, 2020, vol. 87, no. 1, pp. 1-20. <https://doi.org/10.4102/ojvr.v87il.1869>

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)

Koutsoumanis K., Alvarez-Ordóñez A., Bolton D., Bover-Cid S., Chemaly M., Davies R., De Cesare A., Herman L., Hilbert F., Lindqvist R., Nauta M., Peixe L., Ru G., Simmons M., Skandamis P., Suffredini E., Jordan K., Sampers I., Wagner M., Da Silva Felicio M. T., Georgiadis M., Messens W., Mosbach-Schulz O., Allende A. The public health risk posed by Listeria monocytogenes in frozen fruit and vegetables including herbs, blanched during processing. *EFSA Journal*, 2020, vol. 18, no. 4, 101 p. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6092>

Хаптанова Наталья Маркеловна
младший научный сотрудник
Иркутский научно-исследовательский
противочумный институт
Роспотребнадзора
Россия, 664047, г. Иркутск,
ул. Трилиссера, 78
e-mail: khaptanchik@mail.ru

Khaptanova Natalya Markelovna
Junior Research Scientist
Irkutsk Antiplague Research Institute
of Siberia and Far East
78, Trilisser St., Irkutsk, 664047,
Russian Federation
e-mail: khaptanchik@mail.ru

Андреевская Нина Михайловна
кандидат биологических наук
старший научный сотрудник
Иркутский научно-исследовательский
противочумный институт
Роспотребнадзора
Россия, 664047, г. Иркутск,
ул. Трилисера, 78
e-mail: andreevskaya45@mail.ru

Andreevskaya Nina Mikhailovna
Candidate of Sciences (Biology)
Senior Research Scientist
Irkutsk Antiplague Research Institute
of Siberia and Far East
78, Trilisser St., Irkutsk, 664047,
Russian Federation
e-mail: andreevskaya45@mail.ru

Коновалова Жанна Анатольевна
кандидат биологических наук
старший научный сотрудник
Иркутский научно-исследовательский
противочумный институт
Роспотребнадзора
Россия, 664047, г. Иркутск,
ул. Трилисера, 78
e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Konovalova Zhanna Anatol'evna
Candidate of Sciences (Biology)
Senior Research Scientist
Irkutsk Antiplague Research Institute
of Siberia and Far East
78, Trilisser St., Irkutsk, 664047,
Russian Federation
e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Гэфан Наталья Геннадьевна
кандидат медицинских наук
заведующая отделом
Иркутский научно-исследовательский
противочумный институт
Роспотребнадзора
Россия, 664047, г. Иркутск,
ул. Трилисера, 78
e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Gefan Natalya Gennadyevna
Candidate of Sciences (Medicine)
Head of Department
Irkutsk Antiplague Research Institute
of Siberia and Far East
78, Trilisser St., Irkutsk, 664047,
Russian Federation
e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Лукьянова Светлана Владимировна
кандидат биологических наук
научный сотрудник
Иркутский научно-исследовательский
противочумный институт
Роспотребнадзора
Россия, 664047, г. Иркутск,
ул. Трилисера, 78
e-mail: svetalukyan@mail.ru

Luk'yanova Svetlana Vladimirovna
Candidate of Sciences (Biology)
Research Scientist
Irkutsk Antiplague Research Institute
of Siberia and Far East
78, Trilisser St., Irkutsk, 664047,
Russian Federation
e-mail: svetalukyan@mail.ru

Остяк Александр Сергеевич
научный сотрудник
Иркутский научно-исследовательский
противочумный институт
Роспотребнадзора
Россия, 664047, г. Иркутск,
ул. Трилисера, 78
e-mail: ostyakalex@mail.ru

Ostyak Aleksandr Sergeevich
Research Scientist
Irkutsk Antiplague Research Institute
of Siberia and Far East
78, Trilisser St., Irkutsk, 664047,
Russian Federation
e-mail: ostyakalex@mail.ru

Карцев Николай Николаевич
кандидат медицинских наук
старший научный сотрудник

Kartsev Nikolay Nikolaevich
Candidate of Sciences (Medicine)
Senior Research Scientist

*Государственный научный центр
прикладной микробиологии и
биотехнологии Роспотребнадзора
Россия, 142279, Московская область,
р.п. Оболенск, з.о. Серпухов, территория
«Квартал А», 24
e-mail: kartsev@obolensk.org*

*State Research Center for Applied
Microbiology and Biotechnology
24, "Kvartal A" Territory, Obolensk setl.,
Moscow region, 142279, Russian Federation
e-mail: kartsev@obolensk.org*

*Борзенков Валерий Николаевич
кандидат биологических наук
старший научный сотрудник
Государственный научный центр
прикладной микробиологии и
биотехнологии Роспотребнадзора
Россия, 142279, Московская область, р.п.
Оболенск, з.о. Серпухов, территория
«Квартал А», 24
e-mail: vbn5314@mail.ru*

*Borzenkov Valerii Nikolaevich
Candidate of Sciences (Biology)
Senior Research Scientist
State Research Center for Applied
Microbiology and Biotechnology
24, "Kvartal A" Territory, Obolensk setl.,
Moscow region, 142279, Russian Federation
e-mail: vbn5314@mail.ru*

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

*Balakhonov Sergei Vladimirovich
Doctor of Sciences (Medicine),
Professor, Director
Irkutsk Antiplague Research Institute
of Siberia and Far East
78, Trilisser St., Irkutsk, 664047,
Russian Federation
e-mail: balakhonov.irk@mail.ru*