

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ INFECTIOUS DISEASES

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДОТ-ИММУНОАНАЛИЗА ПРИ РАСШИФРОВКЕ ВСПЫШКИ ПСЕВДОТУБЕРКУЛЁЗА В ТОМСКОЙ ОБЛАСТИ

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

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Псевдотуберкулёз остаётся серьёзной проблемой здравоохранения, что определяет целесообразность разработки экспрессных методов его ранней диагностики. Для обнаружения патогена нами сконструирована тест-система для дот-иммуноанализа (ДИА) на основе меченых наночастицами серебра (НЧС) антител, изолированных из гипериммунной кроличьей сыворотки, полученной против убитых клеток *Yersinia pseudotuberculosis* сероварианта O:1b.

Цель исследования. Оценка возможности использования дот-иммуноанализа для экспресс-идентификации культур *Y. pseudotuberculosis*, выделенных из клинического материала и объектов окружающей среды, на начальном этапе бактериологического исследования при проведении лабораторной диагностики заболевания.

Методы. В работе использованы материалы по вспышке псевдотуберкулёза в МКОУ «Крыловская школа-интернат» Бакчарского района Томской области в 2021 г. Специфические антитела из кроличьих гипериммунных сывороток, полученных против корпускулярного антигена *Y. pseudotuberculosis* 3704 серотипа O:1b, метили НЧС и использовали в ДИА на нитроцеллюлозных мембранах. О наличии в исследуемом материале возбудителя псевдотуберкулёза судили по формированию пятен серого цвета разной интенсивности (от 4+ до 1+).

Результаты. Все исследованные штаммы *Y. pseudotuberculosis*, выделенные бактериологическим методом из клинического материала от больных людей и объектов окружающей среды, обнаруживались в ДИА в концентрациях $\geq 3,1 \times 10^4$ микробных клеток в 1 мл (м.к./мл).

Заключение. Разработанная тест-система для ДИА с использованием НЧС в качестве маркера специфических антител для обнаружения *Y. pseudotuberculosis* в культурах, выделенных из смывов с овощей и клинического материала от больных, в том числе с микст-инфекцией, позволяет с высокой чувствительностью ($\geq 3,1 \times 10^4$ м.к./мл) обнаруживать возбудитель псевдотуберкулёза, обеспечивая экспрессную идентификацию изолированных культур на начальном этапе бактериологического исследования.

Ключевые слова: *Yersinia pseudotuberculosis*, псевдотуберкулёз, специфическая гипериммунная сыворотка, наночастицы коллоидного серебра, дот-иммуноанализ

Для цитирования: Загоскина Т.Ю., Марков Е.Ю., Андреевская Н.М., Климов В.Т., Николаев В.Б., Долгова Т.М., Колесникова О.Б., Гаврилова О.В., Крюкова А.В., Попова Ю.О., Старикова О.А., Дорощенко А.А., Чеснокова М.В., Балахонов С.В. Использование дот-иммуноанализа при расшифровке вспышки псевдотуберкулёза в Томской области. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(1): 51-57. doi: 10.29413/ABS.2023-8.1.6

Статья поступила: 23.06.2022

Статья принята: 17.01.2023

Статья опубликована: 02.03.2023

USING DOT-IMMUNOASSAY IN DECODING THE OUTBREAK OF PSEUDOTUBERCULOSIS IN THE TOMSK REGION

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

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

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

ABSTRACT

Background. Pseudotuberculosis remains a serious healthcare problem, which determines the expediency of developing the express methods for its early diagnosis. To detect the pathogen, we designed test system for dot-immunoassay (DIA) based on antibodies labeled with silver nanoparticles (SNPs) isolated from hyperimmune rabbit serum obtained against killed cells of *Yersinia pseudotuberculosis* of O:1b serovariant.

The aim. To assess the possibility of using dot-immunoassay for express identification of *Y. pseudotuberculosis* cultures isolated from clinical material and environmental objects at the initial stage of bacteriological study during laboratory diagnosis of the disease.

Methods. We used the materials from the outbreak of pseudotuberculosis in the Krylovskaya Boarding School of the Bakcharsky district of the Tomsk region in 2021. Specific antibodies from hyperimmune rabbit sera obtained against *Y. pseudotuberculosis* 3704 particulate antigen of O:1b serotype were labeled with SNPs and used in DIA on nitrocellulose membranes with visualization of reaction results with a solution of a physical developer. The presence of the causative agent of pseudotuberculosis in the test material was inferred by the formation of gray spots of different intensity (from 4+ to 1+).

Results. All *Y. pseudotuberculosis* strains isolated using bacteriological method on the second day of the study from clinical material obtained from sick people and environmental objects were detected in DIA at concentrations $\geq 3.1 \times 10^4$ microbial cells per milliliter (m.c./ml).

Conclusion. The designed test system for dot-immunoassay using SNPs as a marker of specific antibodies for the detection of *Y. pseudotuberculosis* in cultures isolated from swabs from vegetables and clinical material from patients, including those with mixed infection, allows us to detect a specific corpuscular antigen with a high sensitivity ($\geq 3.1 \times 10^4$ m.c./ml), providing express identification of isolated cultures at the initial stage of bacteriological study.

Key words: *Yersinia pseudotuberculosis*, pseudotuberculosis, specific hyperimmune serum, colloidal silver nanoparticles, dot immunoassay

Received: 23.06.2022
Accepted: 17.01.2023
Published: 02.03.2023

For citation: Zagoskina T.Yu., Markov E.Yu., Andreevskaya N.M., Klimov V.T., Nikolaev V.B., Dolgova T.M., Kolesnikova O.B., Gavrilova O.V., Kryukova A.V., Popova Yu.O., Starikova O.A., Doroshchenko A.A., Chesnokova M.V., Balakhonov S.V. Using dot-immunoassay in decoding the outbreak of pseudotuberculosis in the Tomsk region. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(1): 51-57. doi: 10.29413/ABS.2023-8.1.6

Экономический ущерб от 35 наиболее актуальных для Российской Федерации болезней человека, имеющих инфекционную природу, в 2015 г. составил 549 млрд рублей [1]. Псевдотуберкулёз – природно-очаговый сапрозооноз с фекально-оральным механизмом передачи [2], который реализуется через инфицированные продукты питания, употребляемые в пищу в сыром или недостаточно термически обработанном виде [3–6]. Являясь психрофильным микроорганизмом, псевдотуберкулёзный микроб способен размножаться при низкой температуре [7], формировать биоплёнку на холодильном оборудовании и пищевых продуктах, накапливаться на сырых овощах при их хранении с осени до зимы [8], что обуславливает потенциальную биологическую опасность для человека [9].

Энтеропатогенные иерсинии как этиологический фактор занимают третье место в Европейском союзе после возбудителей сальмонеллёза и кампилобактериоза [10]; в России псевдотуберкулёз в виде спорадической и вспышечной заболеваемости регистрируется практически повсеместно [11]. Возникновение массовых эпидемических проявлений этой инфекции возможно также при чрезвычайных ситуациях природного и техногенного характера в связи с возникновением эпизоотий среди грызунов и, как следствие, контаминацией возбудителем воды и пищевых продуктов в местах размещения пострадавшего населения [12].

Эффективность проводимых противоэпидемических мероприятий в очагах определяется своевременным обнаружением этиологического агента, экспрессностью и достоверностью лабораторной диагностики. Наиболее перспективными являются методы, направленные на обнаружение возбудителя в биологическом материале, пищевых продуктах, воде, смывах с объектов окружающей среды [13]. Дот-иммуноанализ (ДИА) с использованием меченых наночастицами серебра (НЧС) антител характеризуется высокой чувствительностью, компактностью аналитической системы (объём пробы ~1–2 мкл), простотой выполнения и скоростью получения результатов (~1,5–2 ч), возможностью неинструментального использования во внелабораторных условиях. Разработанные нами для ДИА тест-системы на основе специфических антител, меченных НЧС, успешно апробированы для обнаружения возбудителей чумы, бруцеллёза, туляремии и ботулотоксина [14, 15].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка возможности использования дот-иммуноанализа для экспресс-идентификации культур *Y. pseudotuberculosis*, выделенных из клинического материала и объектов окружающей среды, на начальном этапе бактериологического исследования при проведении лабораторной диагностики заболевания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальные исследования проводили, руководствуясь решением Совета Евразийской экономи-

ческой комиссии № 79 от 03.11.2016 «Об утверждении правил надлежащей клинической практики Евразийского экономического союза», Приказом Минздрава России № 199н от 01.04.2016 «Об утверждении Правил лабораторной практики».

При работе с животными руководствовались: 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 рекомендациями (этический кодекс) по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (CIOMS, Женева, 1985); Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18.03.1986).

В работе использованы материалы по этиологической расшифровке вспышки псевдотуберкулёза (с 25.01.2021 по 02.02.2021) в МКУЗ «Крыловская общеобразовательная школа-интернат для обучающихся воспитанников с ограниченными возможностями здоровья» Бакчарского района Томской области. Сообщается о 34 пострадавших с окончательным диагнозом «Псевдотуберкулёзная инфекция». Вместе с тем у двух детей зарегистрирована микст-инфекция псевдотуберкулёз + ротавирусная инфекция; у одного ребёнка – микст-инфекция псевдотуберкулёз + ассоциированная вирусная инфекция (ротавирусная + норовирусная инфекция). Сопутствующий диагноз: у одного ребёнка – носительство ротавируса; у 2 детей – носительство энтеровируса.

Все заболевшие были обследованы на наличие возбудителей актуальных кишечных инфекций бактериологическим методом, методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) (АмплиСенс® ОКИ скрин-FL, «АмплиСенс *Yersinia enterocolitica/pseudotuberculosis*-FL», АмплиСенс® Enterovirus-FL). Исследования проводились специалистами лабораторий ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Томской области» и бактериологической лаборатории ОГАУЗ «Томская областная клиническая больница».

По результатам исследования в 7 пробах методом ПЦР обнаружены специфические фрагменты ДНК *Y. pseudotuberculosis*. В двух случаях выявлена РНК ротавируса, в одном – РНК норовируса, двух случаях – РНК энтеровируса. Бактериологическим методом в 6 случаях из проб кала и в 1 случае из пробы мочи изолирована *Y. pseudotuberculosis*.

В Референс-центр по мониторингу за иерсиниозами ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» было направлено 27 проб копрофильтратов от больных (материал в пептонно-калиевой среде). Пробы после «холодового обогащения» исследовали методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® *Yersinia enterocolitica/pseudotuberculosis*-FL» (ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии», Москва) с применением набора реагентов для выявления и дифференциации ДНК вирулентных

и авирулентных штаммов *Yersinia enterocolitica* и штаммов *Yersinia pseudotuberculosis* в объектах окружающей среды и клиническом материале. В результате во всех пробах, где обнаружена ДНК *Y. pseudotuberculosis*, бактериологическим методом выделена культура псевдотуберкулёзного микроба.

Специфические гипериммунные сыворотки получали путём иммунизации кроликов породы Шиншилла инактивированным штаммом *Y. pseudotuberculosis* № 3704 серотипа O:1 [15]. Иммуноглобулины G (IgG), изолированные из полученных сывороток [16], метили НЧС размером 5–9 нм [17] и использовали в ДИА, постановку которого осуществляли традиционным способом [14], предполагающим адсорбцию исследуемого материала на нитроцеллюлозной мембране (НЦМ), блокирование свободных участков твёрдой фазы раствором инертного белка. Выявление адсорбированных на НЦМ антигенов проводили с помощью меченых IgG с последующей визуализацией результатов реакции раствором фотопроявителя, состоящего из метола, лимонной кислоты и азотнокислого серебра [18]. О наличии в исследуемом материале возбудителя псевдотуберкулёза судили по формированию в местах нанесения проб пятен серого цвета разной интенсивности (от 4+ до 1+) в зависимости от используемого разведения исследуемого материала.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В работе представлены результаты исследования 8 культур *Y. pseudotuberculosis*, изолированных от больных, и 3 культур, выделенных из смывов с овощей в период эпидемической вспышки в Томской области, поступивших в Центр индикации и лабораторной диагностики Иркутского научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока для окончательной идентификации. Учитывая, что классическое бактериологическое исследование проводится на протяжении 15 (материал от больных) и 21 суток (материал из объектов окружающей среды) с периодическими высевами на 2–3-и, 5-е, 7-е, 10–15-е и 21-е сутки [19], мы применили дот-иммуноанализ в качестве метода экспресс-идентификации при исследовании выделенных культур на начальном этапе бактериологического исследования. Посев культур осуществляли на среду СБТС (ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск) и инкубировали в термостате при +28 °C в течение 48 часов. На этапе первичной идентификации из отобранных подозрительных колоний (2–3-и сут.) для анализа в ДИА готовили суспензию концентрацией $\sim 10^7$ микробных клеток в 1 мл (м.к./мл), инактивировали кипячением на водяной бане в течение 20 мин, и после контроля специфической стерильности каждый образец титровали для определения минимальной концентрации патогена, детектируемой в дот-иммуноанализе, и каждое разведение материала наносили на мембрану в объёме 1 мкл.

Обнаружение в ДИА адсорбированных на НЦМ штаммов *Y. pseudotuberculosis* (№ 1–11, № 12 – *Y. pseudotuberculosis* 3704 O:1) проводили в разных кон-

центрациях. Время проведения анализа не превышало двух часов. Пробы, содержащие псевдотуберкулёзный микроб, обнаруживались на НЦМ в виде серых пятен с интенсивностью от 4+ до 1+ в концентрациях $12,5 \times 10^4$ – $3,1 \times 10^4$ м.к./мл (рис. 1).

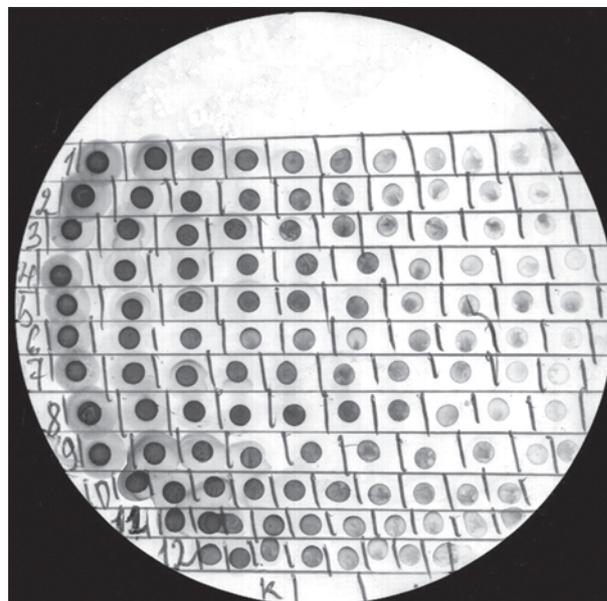


РИС. 1. Обнаружение возбудителя псевдотуберкулёза в инфекционном материале в дот-иммуноанализе: горизонтальные ряды 1–8 – разведение исследуемых корпускулярных антигенов от больных людей; горизонтальные ряды 9–11 – разведение исследуемых корпускулярных антигенов из смывов с овощей; горизонтальный ряд 12 – *Y. pseudotuberculosis* 3704 O:1; «к» – отрицательные контроли

FIG. 1. Detection of the causative agent of pseudotuberculosis in infectious material in dot-immunoassay: horizontal rows 1–8 – titrations of the studied corpuscular antigens from sick people; horizontal rows 9–11 – titrations of the studied corpuscular antigens from vegetables wipe samples; horizontal row 12 – *Y. pseudotuberculosis* 3704 O:1; “к” – negative controls

Исследуемые образцы определялись в ДИА в следующих концентрациях: штамм № 1 – $12,5 \times 10^4$ м.к./мл; штамм № 2 – $12,5 \times 10^4$ м.к./мл; штамм № 3 – $3,1 \times 10^4$ м.к./мл; штамм № 4 – $3,1 \times 10^4$ м.к./мл; штамм № 5 – $12,5 \times 10^4$ м.к./мл; штамм № 6 – $6,2 \times 10^4$ м.к./мл; штамм № 7 – $6,2 \times 10^4$ м.к./мл; штамм № 8 – $3,1 \times 10^4$ м.к./мл; штамм № 9 – $3,1 \times 10^4$ м.к./мл; штамм № 10 – $6,2 \times 10^4$ м.к./мл; штамм № 11 – $3,1 \times 10^4$ м.к./мл. Контрольный штамм *Y. pseudotuberculosis* 3704 O:1 из коллекции отдела эпидемиологии Иркутского научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока выявлялся в концентрации $3,1 \times 10^4$ м.к./мл. В качестве отрицательных контролей исследовали образец смыва с капусты из супермаркета и буфер для титрования. Все положительные результаты, полученные в дот-иммуноанализе, полностью коррелировали с ПЦР и подтверждены дальнейшим выделением *Y. pseudotuberculosis* бактериологическим методом, проведённым по классической схеме анализа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, достоверно установленная возможность применения дот-иммуноанализа в качестве экспрессного метода определения *Y. pseudotuberculosis* в биологическом материале и объектах окружающей среды на этапе первичной идентификации отобранных подозрительных колоний (2–3 и сут.) в ходе бактериологического анализа представляет практический интерес при проведении лабораторной диагностики заболевания в более короткие сроки и, следовательно, ускоренной верификации диагноза псевдотуберкулеза, протекающего с разнообразием симптомов и синдромов, а также при проведении микробиологического мониторинга с целью контроля эффективности проведения противоэпидемических мероприятий, в том числе при возникновении биологических угроз.

Полученные результаты свидетельствуют о высокой чувствительности разработанной тест-системы для выявления возбудителя псевдотуберкулеза в ДИА в минимальном объеме исследуемого образца (1 мкл) в течение двух часов.

Представленные данные демонстрируют высокую эффективность ДИА при экспресс-идентификации возбудителя псевдотуберкулеза на первых этапах выделения культур из нативного материала, что подтверждается результатами параллельного исследования поступивших образцов в ПЦР и дальнейшим выделением *Y. pseudotuberculosis* бактериологическим методом, проведённым по классической схеме анализа.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Шестакова И.В., Ющук Н.Д. Инфекционные болезни. Заболеваемость и смертность. В: Ющук Н.Д., Венгеров Ю.А. (ред.). *Инфекционные болезни: национальное руководство*; 3-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2021: 21-31.
- Литвин В.Ю., Сомов Г.П., Пушкарева В.И. Сапронозы как природно-очаговые болезни. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2010; (1): 10-16.
- Махнев М.В. Антропургические очаги псевдотуберкулеза: механизмы формирования в воинских коллективах. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2006; (2): 11-17.
- Galindo CL, Rosenzweig JA, Kirtley ML, Chopra AK. Pathogenesis of *Y. enterocolitica* and *Y. pseudotuberculosis* in human yersiniosis. *J Pathog*. 2011; 2011: 182051. doi: 10.4061/2011/182051
- Vasala M, Hallanvuoto S, Ruuska P, Suokas R, Siitonen A, Hakala M. High frequency of reactive arthritis in adults after *Yersinia pseudotuberculosis* O:1 outbreak caused by contaminated grated carrots. *Ann Rheum Dis*. 2014; 73(10): 1793-1796. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-203431
- Pärn T, Hallanvuoto S, Salmenlinna S, Pihlajasaari A, Heikkinen S, Telkki-Nykänen H, et al. Outbreak of *Yersinia pseudotuberculosis* O:1 infection associated with raw milk consumption, Finland, spring 2014. *Euro Surveill*. 2015; 20(40): 30033. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2015.20.40.30033
- Keto-Timonen R, Pontinen A, Aalto-Araneda M, Korkeala H. Growth of *Yersinia pseudotuberculosis* strains at different temperatures, pH values, and NaCl and ethanol concentrations. *J Food Prot*. 2018; 81(1): 142-149. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-17-223
- Тимченко Н.Ф., Персиянова Е.В. Роль растений в экологии *Yersinia pseudotuberculosis*. *Фундаментальные исследования*. 2013; (6): 1442-1448.
- Пушкарева В.И., Литвин В.Ю., Дробященко М.А., Поляков В.Ю., Мухачев А.А. Эпидемиологическая опасность формирования биопленок в условиях пищевого производства. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2011. (2): 17-23.
- The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. *EFSA J*. 2018; 16(12): e05500. doi: 10.2903/j.efsa.2018.5500
- Чеснокова М.В., Климов В.Т., Никитин А.А., Ярыгина М.Б., Иннокентьева Т.И., Балахонов С.В. Анализ эпидемиологической ситуации по псевдотуберкулезу и кишечному иерсиниозу в России и прогноз заболеваемости на среднесрочную перспективу. *Здоровье населения и среда обитания*. 2018; (9): 59-64. doi: 10.35627/2219-5238/2018-306-9-59-64
- Бренёва Н.В., Балахонов С.В., Никитин А.А., Мельцов И.В., Шаракшанов М.Б., Кузьменков В.В., и др. Выявление и прогнозирование рисков распространения природно-очаговых инфекций на пострадавших от паводка территориях Иркутской области. *Анализ риска здоровью*. 2021; (2): 94-104. doi: 10.21668/health.risk/2021.2.09
- Онищенко Г.Г., Кутырев В.В. (ред.). *Специфическая индикация патогенных биологических агентов: практическое руководство*; 2-е изд., перераб. и доп. Саратов: ООО ПКФ «Буква» (Ижевск); 2014.
- Загоскина Т.Ю., Балахонов С.В., Марков Е.Ю., Николаев В.Б., Субычева Е.Н., Чапоргина Е.А., и др. Апробация диагностических тест-систем с использованием наночастиц серебра в качестве маркеров специфических антител для скрининга исследуемого материала на наличие антигенов возбудителей чумы, бруцеллеза, туляремии и ботулотоксина в дот-иммуноанализе. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2014; 23(4): 61-64.
- Загоскина Т.Ю., Марков Е.Ю., Андреевская Н.М., Климов В.Т., Николаев В.Б., Крюкова А.В., и др. Получение гипериммунных псевдотуберкулезных сывороток. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(3): 86-94. doi: 10.29413/ABS.2021-6.3.9
- McKinney MM, Parkinson A. A simple, non-chromatographic procedure to purify immunoglobulins from serum and ascites fluid. *J Immunol Meth*. 1987; 96(2): 271-278. doi: 10.1016/0022-1759(87)90324-3
- Загоскина Т.Ю., Чеснокова М.В., Климов В.Т., Попова Ю.О., Марков Е.Ю., Старикова О.А. Конструирование тест-системы с наночастицами коллоидного серебра для обнаружения возбудителей псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза в дот-иммуноанализе. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2017; (1): 55-61. doi: 10.36233/0372-9311-2017-1-55-61
- Полтавченко А.Г., Яковченко А.М., Кривенчук Н.А., Карпышев Н.Н. Многопрофильная серодиагностика инфекционных заболеваний. 3. Визуализация результатов анализа. *Биотехнология*. 2007; (2): 63-71.
- Бургасова О.А., Кожевникова Г.М., Чеснокова М.В., Климов В.Т., Тетова В.Б., Королюк А.М., и др. *Иерсиниозы: псевдо-*

туберкулез и кишечный иерсиниоз. М.: Российский университет дружбы народов; 2021.

REFERENCES

1. Shestakova IV, Yushchuk ND. Infectious diseases. Morbidity and mortality. In: Yushchuk ND, Vengerov YuYa (eds). *Infectious diseases: National guidelines*; 3rd ed. Moscow: GEOTAR-Media; 2021: 21-31. (In Russ.).
2. Litvin VYu, Somov GP, Pushkareva VI. Sapronoses as the natural focal diseases. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2010; (1): 10-16. (In Russ.).
3. Makhnev MV. Anthropurgic foci of pseudotuberculosis and the mechanisms of their formation in groups of servicemen. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2006; (2): 11-17. (In Russ.).
4. Galindo CL, Rosenzweig JA, Kirtley ML, Chopra AK. Pathogenesis of *Y. enterocolitica* and *Y. pseudotuberculosis* in human yersiniosis. *J Pathog*. 2011; 2011: 182051. doi: 10.4061/2011/182051
5. Vasala M, Hallanvuo S, Ruuska P, Suokas R, Siitonen A, Hakala M. High frequency of reactive arthritis in adults after *Yersinia pseudotuberculosis* O:1 outbreak caused by contaminated grated carrots. *Ann Rheum Dis*. 2014; 73(10): 1793-1796. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-203431
6. Pärn T, Hallanvuo S, Salmenlinna S, Pihlajasaari A, Heikkinen S, Telkki-Nykänen H, et al. Outbreak of *Yersinia pseudotuberculosis* O:1 infection associated with raw milk consumption, Finland, spring 2014. *Euro Surveill*. 2015; 20(40): 30033. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2015.20.40.30033
7. Keto-Timonen R, Pontinen A, Aalto-Araneda M, Korkeala H. Growth of *Yersinia pseudotuberculosis* strains at different temperatures, pH values, and NaCl and ethanol concentrations. *J Food Prot*. 2018; 81(1): 142-149. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-17-223
8. Timchenko NF, Persiyanova EV. The role of plants in the ecology of *Yersinia pseudotuberculosis*. *Fundamentalnye issledovaniya*. 2013; (6): 1442-1448. (In Russ.).
9. Pushkareva VI, Litvin VYu, Drobyashchenko MA, Polyakov VYu, Mukhachev AY. Epidemiological danger of biofilm formation in food production. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2011. (2): 17-23. (In Russ.).
10. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. *EFSAJ*. 2018; 16(12): e05500. doi: 10.2903/j.efsa.2018.5500
11. Chesnokova MV, Klimov VT, Nikitin AY, Yarygina MB, Innokentieva TI, Balakhonov SV. Analysis of the epidemiological situation on pseudotuberculosis and intestinal yersiniosis in Russia and forecast of the incidence rate in the medium-term perspective. *Public Health and Life Environment*. 2018; (9): 59-64. (In Russ.). doi: 10.35627/2219-5238/2018-306-9-59-64
12. Breneva NV, Balakhonov SV, Nikitin AY, Meltsov IV, Sharakshanov MB, Kuzmenkov VV, et al. Detecting and predicting risks relayed to spread of natural foci infections on flood-affected territories in Irkutsk region. *Health Risk Analysis*. 2021; (2): 94-104. (In Russ.). doi: 10.21668/health.risk/2021.2.09
13. Onishchenko GG, Kutyrev VV (eds). *Specific indication of pathogenic biological agents: A practical guideline*; 2nd ed., revised and enlarged. Saratov: OOO PKF "Bukva" (Izhevsk); 2014. (In Russ.).
14. Zagoskina TYu, Balakhonov SV, Markov EYu, Nikolaev VB, Subycheva EN, Chaporgina EA, et al. Approbation of diagnose test-systems with use of silver nano-particles as markers of specific antibodies for screening of the investigated material for presence of antigens of plague, brucellosis, tularemia causative agents and botulotoxin in dot-immunoassay. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2014; 23(4): 61-64. (In Russ.).
15. Zagoskina TYu, Markov EYu, Andreevskaya NM, Klimov VT, Nikolaev VB, Ulan'skaya AV, Kryukova AV, et al. The production of hyperimmune pseudotuberculosis sera. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(3): 86-94. (In Russ.). doi: 10.29413/ABS.2021-6.3.9
16. McKinney MM, Parkinson A. A simple, non-chromatographic procedure to purify immunoglobulins from serum and ascites fluid. *J Immunol Meth*. 1987; 96(2): 271-278. doi: 10.1016/0022-1759(87)90324-3
17. Zagoskina TYu, Chesnokova MV, Klimov VT, Popova YuO, Markov EYu, Starikova OA. Construction of a test-system with nanoparticles of colloid silver for detection of pseudotuberculosis and intestinal yersiniosis for causative agents in dot-immunoassay. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2017; (1): 55-61. (In Russ.). doi: 10.36233/0372-9311-2017-1-55-61
18. Poltavchenko AG, Yakovchenko AM, Krivenchuk NA, Karpyshev NN. Multidisciplinary serodiagnosis of infectious diseases. 3. Visualization of the analysis results. *Biotechnology*. 2007; (2): 63-71. (In Russ.).
19. Burgasova OA, Kozhevnikova GM, Chesnokova MV, Klimov VT, Tetova VB, Korolyuk AM, et al. *Yersiniosis: pseudotuberculosis and intestinal yersiniosis*. Moscow: RUDN; 2021. (In Russ.).

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: andreevskaya45@mail.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>

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: t.dolgova.56@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1136-7468>

Колесникова Ольга Борисовна – кандидат биологических наук, старший 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: 89500884440@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-83-88-159x>

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: sibteh-07@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8349-2431>

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>

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, <https://orcid.org/0000-0003-4955-0751>

Старикова Ольга Андреевна – лаборант 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: o.starickova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3416-695X>

Дорощенко Антон Александрович – 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: yashik.genry@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5796-4260>

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, <https://orcid.org/0000-0001-5489-9363>

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: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4201-5828>

Information about the authors

Tatyana Yu. Zagoskina – Dr. Sc. (Med.), Senior Research Officer, Head of the 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 the Department of Biochemistry, 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 Research Officer at the Research and Production Department, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8051-1809>

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

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

Tatyana M. Dolgova – Research Officer at the Department of Professional and Advanced Training, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1136-7468>

Olg B. Kolesnikova – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Department of Professional and Advanced Training, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор, e-mail: 89500884440@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-83-88-159x>

Olg V. Gavrilova – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Department of Professional and Advanced Training, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8349-2431>

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

Yulia O. Popova – Laboratory Assistant at the Department of Biochemistry, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4955-0751>

Olg A. Starikova – Laboratory Assistant at the Department of Professional and Advanced Training, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор, e-mail: o.starickova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3416-695X>

Anton A. Doroshchenko – Junior Research Officer at the Department of Biochemistry, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор, e-mail: yashik.genry@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5796-4260>

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 Rosпотребнадзор, e-mail: mar_chumin@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5489-9363>

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