

DOI: 10.21055/0370-1069-2021-4-35-45

УДК 616.9:616-07

О.Ф. Кретенчук

**ОТЕЧЕСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА ДИАГНОСТИКИ ОСОБО ОПАСНЫХ ИНФЕКЦИЙ
НА ОСНОВЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ***ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт», Ростов-на-Дону, Российская Федерация*

В настоящее время большое значение придается получению диагностических препаратов на основе специфических иммунореагентов, к которым относятся и моноклональные антитела, продуцируемые гибридомами. Использование моноклональных антител является одним из важных подходов для диагностики возбудителей особо опасных инфекций: сибирской язвы, бруцеллеза, туляремии, чумы, холеры, сапа и мелиоидоза. В обзоре приведены основные результаты российских ученых по получению таких экспериментальных препаратов, а также уделено внимание тем наборам моноклональных реагентов, которые допущены к обращению на территории Российской Федерации. На сегодняшний день в нашей стране на основе моноклональных антител зарегистрированы три набора реагентов для выявления возбудителя сибирской язвы (латекс-агглютинация, иммунохроматографический метод, мультиплексный иммунофлуоресцентный анализ); четыре набора реагентов для определения возбудителя туляремии (латекс-агглютинация, иммунохроматографический метод, мультиплексный иммунофлуоресцентный анализ, дот-вариант иммуноферментного анализа); три набора для детекции чумного микроба (иммуноферментный и иммунохроматографические тесты); пять наборов для обнаружения холерных вибрионов (слайд-агглютинация, иммунофлуоресценция, иммунохроматографический и иммуноферментный методы); два набора для диагностики сапа и мелиоидоза (иммунофлуоресценция); наборы для выявления бруцелл не зарегистрированы, существуют лишь единичные экспериментальные разработки. Привлечение в диагностику особо опасных инфекций современных препаратов на основе моноклональных антител позволит повысить качество и достоверность лабораторного анализа.

Ключевые слова: моноклональные антитела, набор реагентов, холера, чума, туляремия, сибирская язва, бруцеллез, сап, мелиоидоз.

Корреспондирующий автор: Кретенчук Оксана Федоровна, e-mail: plague@aanet.ru.

Для цитирования: Кретенчук О.Ф. Отечественные средства диагностики особо опасных инфекций на основе моноклональных антител. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2021; 4:35–45. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-4-35-45

Поступила 28.05.2020. Отправлена на доработку 15.06.2020. Принята к публ. 22.01.2021.

O.F. Kretenchuk**Domestically-Produced Monoclonal-Antibody-Based Means of Diagnosing Particularly Dangerous Infections***Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation*

Abstract. Currently, great significance is attached to the preparation of diagnostic drugs based on specific immunoreagents, which include monoclonal antibodies produced by hybridomas. The use of monoclonal antibodies is one of the important approaches for the detection of pathogens of particularly dangerous infections – anthrax, brucellosis, tularemia, plague, cholera, glanders, and melioidosis. The review presents the main achievements of Russian scientists on obtaining such experimental drugs, and also pays attention to those sets of monoclonal reagents that are authorized in the Russian Federation. To date, three sets of reagents for detecting the causative agent of anthrax (latex agglutination, immunochromatographic method, multiplex immunofluorescence analysis) have been registered in our country on the basis of monoclonal antibodies; four sets of reagents for identifying the causative agent of tularemia (latex agglutination, immunochromatographic method, multiplex immunofluorescence analysis, dot-variant of enzyme immunoassay); three sets for the detection of plague microbe (enzyme immunoassay and immune chromatographic tests); five sets for cholera vibrios (slide agglutination, immunofluorescence, immune chromatographic method and enzyme immunoassay); two sets for the diagnosis of glanders and melioidosis (immunofluorescence); kits for detecting brucella have not been registered, there are only singular experimental designs. The involvement of modern drugs based on monoclonal antibodies in the diagnosis of particularly dangerous infections will improve the quality and reliability of laboratory analysis.

Key words: monoclonal antibodies, reagent panel, cholera, plague, tularemia, anthrax, brucellosis, glanders, and melioidosis.

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

Corresponding author: Oksana F. Kretenchuk, e-mail: plague@aanet.ru.

Citation: Kretenchuk O.F. Domestically-Produced Monoclonal-Antibody-Based Means of Diagnosing Particularly Dangerous Infections. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2021; 4:35–45. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2021-4-35-45

Received 28.05.2020. Revised 15.06.2020. Accepted 22.01.2021.

Kretenchuk O.F., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5299-0243>

Моноклональные антитела (МКА) широко используются для решения различных научных и практических задач. Более 43 тыс. публикаций на сайте Научной электронной библиотеки eLibrary.ru посвящены МКА, а основная часть работ – их применению в диагностике и терапии различных болезней. Эффективный метод получения МКА желаемой антигенной специфичности разработали еще в 1975 г. Георг Келер и Цезарь Мильштейн, что положило начало развитию гибридомной технологии. С тех пор метод гибридизации претерпел существенные изменения, но и сейчас используется многими лабораториями, несмотря на развитие в течение последних 15 лет технологии получения рекомбинантных антител [1]. Несомненным достоинством рекомбинантных технологий является то, что с их помощью можно не только получать аналоги уже существующих МКА путем разнообразных модификаций их биохимических и иммунохимических свойств, но и создавать новые, специфичные к различным антигенам [2]. На сегодняшний день можно выделить следующие типы МКА [3]: мышинные; химерные; гуманизированные; «полностью человеческие», полученные путем создания трансгенных мышей, которые производят антитела с «человеческой» первичной структурой антигенсвязывающего домена, или путем скрининга *in vitro* библиотек антител, отобранных из репертуара существующих или теоретически возможных человеческих антител (*in vitro* дисплей).

В настоящее время получение МКА из экзотики превратилось в один из стандартных промышленных процессов, что позволило создать технологическую платформу, унифицирующую их производство. Коммерческое производство МКА значительно увеличивает их стоимость, поэтому во многих лабораториях научно-исследовательских институтов до сих пор применяют именно гибридомную технологию.

В последние годы наблюдается рост использования МКА в качестве диагностических и лекарственных препаратов при онкологических, воспалительных, кардиометаболических и инфекционных заболеваниях [4], в том числе и особо опасных инфекций (ООИ). Необходимо отметить, что многие методы и препараты на основе МКА так и остались на стадии экспериментальных разработок и недоступны в виде коммерческих диагностикумов. Учитывая это, отдельное внимание в обзоре будет уделено зарегистрированным в Росздравнадзоре наборам моноклональных реагентов.

МКА в диагностике сибирской язвы. Сибирская язва является особо опасной инфекционной болезнью животных и человека, вызываемой спорообразующим грамположительным микроорганизмом *Bacillus anthracis*. Разработка современных диагностических систем для детекции возбудителя сибирской язвы представляла и представляет собой одну из наиболее актуальных задач в борьбе с этой инфекцией. На сегодняшний день в нашей стране зарегистрированы три набора реагентов на основе МКА

производства ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» (ФБУН ГНЦ ПМБ): «Набор реагентов иммунохроматографическая тест-система для экспресс-выявления и идентификации спор возбудителя сибирской язвы «ИХ тест-система *B. anthracis*» (ФСР 2009/05485), «Набор реагентов для определения спор *Bacillus anthracis* в реакции латекс-агглютинации» (ФСР 2011/12159) и «Набор реагентов для определения возбудителей сибирской язвы и туляремии методом мультиплексного иммунофлуоресцентного анализа (Тест-система ИФЛА-2BF)» (РЗН 2014/1468). Разработать данные препараты удалось благодаря гибридоме-продуценту МКА к спорам *B. anthracis* (1Е6), полученной по общепринятой методике и депонированной в коллекции микроорганизмов ФБУН ГНЦ ПМБ под номером Н10 [5].

Имунохроматографические (ИХ) тесты – портативные индикаторные полоски (стрипы), принцип действия которых состоит в том, что после погружения стрипа в раствор исследуемого материала, содержащего целевой антиген, происходит его связывание с первыми антителами, мечеными коллоидным золотом. Коллоидное золото визуализирует образовавшиеся иммунные комплексы в виде полосы в тестовой зоне [6]. Зарегистрированная «ИХ тест-система *B. anthracis*» позволяет выявлять 10^8 – 10^9 спор/мл, что явилось основанием для дальнейшей работы по поиску более чувствительных методов. Так, сконструированный латексный диагностикум (ФСР 2011/12159) обеспечивает детекцию споровой формы возбудителя сибирской язвы в количестве $1 \cdot 10^5$ – $2 \cdot 10^6$ спор/мл [7]. Показано, что наибольшая чувствительность реакции агглютинации наблюдалась при нагрузке МКА на латексные частицы в количестве 20 мкг на 50 мкл. Учет результатов как в первом, так и во втором методе проводят визуально.

Заслуживают внимания и экспериментальные тест-системы: иммуноферментная (ИФА) и магнимоносорбентная (МИС) для выявления возбудителя сибирской язвы в споровой форме, которые успешно прошли комиссионные испытания, но не зарегистрированы в качестве медицинских изделий. Для создания этих тест-систем требовались не только МКА 1Е6 [5], но и 3G3, 6B6, причем важным моментом являлось их одномоментное использование в комбинациях, не конкурирующих за общие сайты связывания и не теряющих специфической активности при конъюгировании с ферментом или иной меткой [8]. Разработанные таким образом тест-системы выявляли споры штаммов возбудителя сибирской язвы в концентрации $1 \cdot 10^6$ спор/мл в случае «сэндвич»-ИФА и $1 \cdot 10^3$ спор/мл при использовании МИС.

Подобные исследования проведены и в филиале ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Минобороны России (далее – филиал 48 ЦНИИ МО РФ) (г. Киров), в результате которых удалось вывести гибридные клеточные линии, продуцирующие специфические МКА к спорным анти-

генам *B. anthracis*, и на их основе разработать иммуоферментную тест-систему для выявления спор *B. anthracis* с пределом обнаружения $5,0 \cdot 10^5$ спор/мл. Показано отсутствие перекрестных реакций с близкородственными сапрофитами и гетерологичными микроорганизмами в концентрации $1,0 \cdot 10^8$ м.к./мл [9].

Говоря об ИФА с моноклональными реагентами, хотелось бы отметить перспективность его использования и для обнаружения токсина *B. anthracis*, в частности протективного антигена (ПА). Так, еще в 2005 г. М.Г. Романов (ФГУ «Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов») в своей диссертационной работе подробно описал не только получение коллекции гибридом-продуцентов МКА к ПА *B. anthracis*, но и предложил «сэндвич»-ИФА (чувствительность 5–7 нг/мл) для дифференциации возбудителя сибирской язвы от других представителей рода *Bacillus* по принципу токсинообразования [10]. Сотрудники института биорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН к 2011 г. получили панель из 20 моноклональных антител к ПА сибирской язвы, центральному компоненту экзотоксина патогена, на основе которых разработали «сэндвич»-ИФА для количественного определения ПА (чувствительность 1 нг/мл) [11]. В ФБУН ГНЦ ПМБ (2013 г.) предложили более чувствительный (1 пг/мл) способ иммуофлуоресцентного определения протективного антигена *B. anthracis* на основе МКА, специфичных к различным эпитопам протективного антигена, одно из которых, специфичное к III домену ПА, иммобилизовано на твердой фазе и служит для связывания ПА, содержащегося в исследуемых пробах, а второе биотинилированное антитело, специфичное к IV домену, детектирует ПА за счет взаимодействия с тетравалентной молекулой нейтравидина, конъюгированной с фикоэритрином, используемым для флуоресцентной детекции сигнала в режиме реального времени. Для проведения данного метода рекомендуется также использовать 96-луночные планшеты. Присутствие ПА в исследуемых образцах определяют по изменению уровня флуоресценции по сравнению с контролем [12]. Кроме того, специалисты ФБУН ГНЦ ПМБ разработали способ определения ПА [13] и летального фактора (ЛФ) сибирской язвы [14] на основе иммуодетекции, сопряженной с полимеразной цепной реакцией, благодаря которому в 2014 г. зарегистрированы два набора реагентов: «Тест-система ИПЦР-ПА» и «Тест-система ИПЦР-ЛФ». При конструировании данных тест-систем использовали пары МКА к различным эпитопам ПА (РЗН 2014/1464) и ЛФ (РЗН 2014/1470), что способствовало повышению чувствительности до 0,1 пМ.

В последние годы появились данные о получении и депонировании в ГКПМ-Оболенск тригибридной клеточной линии *H. sapiens/Mus musculus* с авторским названием 8D4E9-Ва-LF, продуцирующей человеческие МКА против летального фактора

возбудителя сибирской язвы [15]. Конечно, данные антитела не являются диагностическими, а эффективны для создания средств защиты человека от заражения или потенциального заражения сибирской язвой. Но работа вызывает интерес из-за метода получения гибридного штамма путем электрослияния в мультипораторе, эффективность которого, как правило, на один-два порядка выше, чем гибридизация химическим методом с использованием полиэтиленгликоля.

Таким образом, исследования по получению моноклональных препаратов, способных выявлять возбудителя сибирской язвы, продолжают в направлении совершенствования методов и средств диагностики, опираясь на современные достижения в этой уникальной области. Кроме того, перспективным является и создание комплексных тест-систем для одновременного выявления двух и более возбудителей ООИ. Подобный набор реагентов зарегистрирован для определения возбудителей сибирской язвы и туляремии методом мультиплексного иммуофлуоресцентного анализа (тест-система ИФЛА-2BF). Спектр таких препаратов необходимо расширять.

МКА в диагностике туляремии. Крупные вспышки и спорадические случаи туляремии периодически регистрируются во многих странах мира, в том числе и в России. Сохранение эпизоотически активных природных очагов, вероятность применения *Francisella tularensis* при биотеррористических актах, сложность постановки клинического диагноза обуславливают необходимость совершенствования лабораторной диагностики этой инфекции [16]. На сегодняшний день в нашей стране зарегистрированы четыре набора реагентов на основе МКА: три набора производства ФБУН ГНЦ ПМБ – для определения возбудителя туляремии в реакции латекс-агглютинации (ФСР 2011/12157), с помощью иммуохроматографической тест-системы (ФСР 2009/05486) и методом мультиплексного иммуофлуоресцентного анализа (РЗН 2014/1468), а также тест-система «ДИАТул-М» (ФСР 2012/13944) производства ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», позволяющая выявлять *F. tularensis* в дот-варианте ИФА. Последний метод характеризуется экспрессностью, экономичностью в отношении расхода реагентов, простотой постановки и учета результатов. Базовыми иммуореагентами тест-системы «ДИАТул-М» являются МКА к основному диагностически значимому антигену *F. tularensis* – ЛПС, что обеспечивает специфичность и стандартность разработанного препарата и позволяет выявлять туляремийный микроб в биологическом материале от людей и животных, в объектах окружающей среды и чистых культурах в минимальной концентрации $1 \cdot 10^6$ – $5 \cdot 10^6$ м.к./мл при отрицательной реакции с гетерологичными бактериями [17, 18].

Для конструирования диагностикумов в ФБУН ГНЦ ПМБ использовались гибридомы, продуцирующие высокоспецифичные МКА к ЛПС *F. tularensis* и

депонированные в ГКПМ-Оболенск под номерами H11 (11D6), H42 (1D6) [19, 20]. Основным реагентом набора для определения возбудителя туляремии в реакции латекс-агглютинации (ФСР 2011/12157) являются МКА 11D6, сенсibilизированные с полиакролеиновыми латексными частицами диаметром 1 и 1,2 мкм (Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва). Данный метод позволяет выявлять клетки штаммов *F. tularensis* в концентрации $9 \cdot 10^4$ – $7,5 \cdot 10^5$ м.к./мл при отрицательной реакции с гетерологичными микроорганизмами в концентрации $2 \cdot 10^8$ м.к./мл. Говоря об ИХ-тест-системах, отметим не только эффективность метода, простоту постановки реакций, возможность получения результата в течение 15–20 мин, но и невысокую чувствительность – $1 \cdot 10^8$ – $1 \cdot 10^9$ м.к./мл. Возможность применения ИХ-тест-систем (ФСР 2009/05486), разработанных и изготовленных в ФБУН ГНЦ ПМБ для экспресс-выявления ЛПС туляремийного микроба, оценили в Ставропольском научно-исследовательском противочумном институте при проведении мониторинга природных очагов Северного Кавказа. Исследователи рекомендовали использовать данный метод для изучения проб с заведомо большой концентрацией антигена (10^9 м.к./мл) [21].

Остановимся и на некоторых экспериментальных препаратах. Так, в 48 ЦНИИ МО РФ осуществили подбор МКА (31G1F10, 32E5D3, 35B11C8, 36C2F11), обладающих иммунохимической активностью к антигенам *F. tularensis*, для выявления данного возбудителя в иммуноферментном и иммунохроматографическом методе. Оценка чувствительности и специфичности разработанных тест-систем показала, что образцы обеспечивали выявление штаммов *F. tularensis* в концентрации от $5,0 \cdot 10^5$ м.к./мл до $1,0 \cdot 10^6$ м.к./мл и не давали ложноположительных результатов при исследовании гетерологичных микроорганизмов в концентрации $1,0 \cdot 10^8$ м.к./мл [22, 23]. Такие иммуноферментные средства детекции возбудителя туляремии могли бы расширить набор диагностикумов, используемых в России, так как на сегодняшний день зарегистрированы только поликлональные иммуноферментные тест-системы производства Ставропольского противочумного института [24], причем в одной из тест-систем предложен эффективный метод селективного концентрирования возбудителя на магнитной матрице, повышающий чувствительность до 10^2 – 10^3 м.к. Применение магноиммосорбентов может быть перспективным и в сочетании с МКА. Усилия разработчиков должны быть направлены не только на повышение порога чувствительности наборов реагентов и исключение неспецифических реакций, но и на упрощение процедуры постановки и учета реакции и доведение экспериментальных разработок до выпуска сертифицированного препарата [16].

МКА в диагностике бруцеллеза. На сегодняшний день в мире предложено много различных тестов

для диагностики бруцеллеза, но ни один из них не обладает оптимальной чувствительностью и специфичностью из-за ложноположительных реакций, которые обусловлены сходством строения гладкого липополисахаридного (s-ЛПС) антигена у грамотрицательных бактерий. Перекрестные реакции осложняют диагностику и могут препятствовать проведению программ по борьбе с бруцеллезом [25]. В настоящее время в Российской Федерации отсутствуют официально зарегистрированные и разрешенные к применению наборы реагентов на основе МКА для выявления бруцеллеза, а существуют лишь единичные экспериментальные разработки. В доступной нам литературе сведения об отечественных моноклональных препаратах для обнаружения бруцелл появились в 1990-е гг. Так, были получены и депонированы во Всесоюзной (ныне Всероссийской) специализированной коллекции перевиваемых клеточных культур (Санкт-Петербург) штаммы гибридом, вырабатывающие МКА против полисахаридных и белковых эпитопов бактерий рода *Brucella* [26] и являющиеся основой для создания высокоэффективных реагентов для диагностики возбудителя в биологическом материале методом ИФА, латекс-агглютинации. Для экспресс-обнаружения бруцеллезных антигенов в патологическом материале предложен эритроцитарный моноклональный диагностикум.

В Иркутском научно-исследовательском противочумном институте Сибири и Дальнего Востока к 1998 г. получена коллекция гибридом, синтезирующих МКА к антигенам *B. abortus* 19ВА, которые использовались для изучения антигенной структуры возбудителя бруцеллеза и разработки диагностических препаратов. На основе МКА 2АН10 сконструирована и испытана бруцеллезная латексная тест-система, усовершенствован ИФА для идентификации штаммов *B. abortus* и *B. suis* [27]. Модифицирован способ улучшения качества коммерческой эмбриональной телячьей сыворотки, являющейся одним из основных компонентов культуральных сред для выращивания клеток миеломных и гибридных линий.

В НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи создана высокоэффективная иммуноферментная тест-система на основе МКА против липополисахарида (ЛПС) *B. abortus*, с высокой чувствительностью (0,05–0,1 нг/мл) и специфичностью выявляющая ЛПС бактерий *B. abortus*, *B. melitensis* и *B. suis* и не реагирующая с ЛПС *Yersinia enterocolitica* 0:3, *Y. enterocolitica* 0:9, *Salmonella typhimurium* и *F. tularensis* [28].

В Специализированной коллекции перевиваемых соматических клеточных культур сельскохозяйственных и промысловых животных РКЖ (СХЖ РАСХН) ВИЭВ при Государственном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени Я.Р. Коваленко» Россельхозакадемии (ГНУ ВИЭВ Россельхозакадемии) Москвы под № 90 в 2015 г. депонирован штамм F26 – продуцент МКА к олигопо-

лисахаридному антигену *B. abortus*, который можно использовать при изготовлении иммуноферментной тест-системы для диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота [25]. Как отмечают разработчики, сотрудники ООО «Научно-производственная фирма ИММУНОБИОТЕХ», использование такой тест-системы позволяет не только выявлять специфические антитела у животных, инфицированных как *B. abortus*, так и *B. melitensis*, но и повышает эффективность противоэпизоотических мероприятий, сокращает сроки оздоровления неблагополучных по бруцеллезу хозяйств.

В филиале ФГБУ 48 ЦНИИ МО РФ в 2017 г. получены и охарактеризованы гибридомы-продуценты МКА к специфическим антигенам возбудителя бруцеллеза (232В6Н7, 232G12F7, 233В2С5), которые в сочетании с бруцеллезными кроличьими иммуноглобулинами позволяют выявлять микробные клетки типовых штаммов различных видов бруцелл в концентрации от $0,25 \cdot 10^6$ до $1,0 \cdot 10^6$ м.к./мл и не взаимодействуют с культурами гетерологичных микроорганизмов в концентрации $1,0 \cdot 10^8$ м.к./мл. Гибридомы-продуценты и препараты специфических бруцеллезных МКА могут быть использованы для разработки и производства иммуноферментных и иммунохроматографических тест-систем [29].

Все вышеизложенное свидетельствует об эффективности использования МКА в диагностике бруцеллеза, а также о необходимости проведения дальнейших разработок по созданию и внедрению в практическое здравоохранение новых препаратов для борьбы с этим особо опасным заболеванием. Быстрые и чувствительные тесты с возможностью детекции возбудителя у животных и в продуктах животноводства (молоко, молочные продукты, мясо, мясные продукты) помогут предотвратить распространение бруцеллеза среди людей, исключив контактный и алиментарный пути передачи инфекции [30].

МКА в диагностике чумы. Чума до настоящего времени остается серьезной проблемой для эндемичных районов и для мирового здравоохранения в целом, что диктует актуальность проведения научных исследований по совершенствованию диагностических препаратов, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию этой инфекции. МКА в силу своей высокой специфичности, стандартности и технологичности оказались исключительно удобным и широко применяемым диагностическим средством. Реагенты, приготовленные на их основе, обладают большим преимуществом. Так, в ФБУН ГНЦ ПМБ получены и депонированы в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск» под номерами Н19, Н13 и Н18 штаммы гибридных клеток *Mus musculus* 5G6 (МКА к V антигену *Yersinia pestis*), гибридных клеток *Mus musculus* 10G4 и 13P8 (МКА к капсульному F1 антигену *Y. pestis*) [31–33]. Синтезированные МКА оказались пригодными для

разработки диагностических реагентов. Так, гибридому 10G4 использовали для конструирования латексной тест-системы в качестве источника МКА (IgG), которые специфически взаимодействовали с F1-антигеном чумного микроба и не давали перекрестных реакций с антигенами других микроорганизмов. На основании выполненной работы разработан и утвержден комплект нормативной документации, включающий инструкцию по применению и ТУ 9388-136-78095326-2011 на диагностикум «Набор реагентов для определения капсульного F1-антигена *Yersinia pestis* в реакции латекс-агглютинации», который успешно прошел комиссионные испытания на базе Иркутского противочумного института. Показано, что иммуноанализ на основе цветных латексов позволяет существенно сократить и упростить процедуру тестирования, не требуя сложного лабораторного оборудования и специально обученного персонала. В целом полученные характеристики и результаты апробации свидетельствуют о высокой чувствительности и специфичности высушенной латексной суспензии, которая выявляет штаммы возбудителя чумы в концентрации 10^5 – $2,0 \cdot 10^6$ м.к./мл и выше и не имеет перекрестной активности в отношении гетерологичных микроорганизмов. Предел обнаружения капсульного F1-антигена составил 4 нг/мл [34]. При разработке описанного набора использовались стандартные иммунологические подходы, основывающиеся на выявлении F1-антигена или антител к нему. Вместе с тем некоторые штаммы *Y. pestis* не продуцируют F1-антиген, сохраняя при этом вирулентность, что свидетельствует о несовершенстве использования этого антигена в качестве мишени для определения возбудителя. В связи с этим Т.А. Иващенко с соавт. [35] на основе пары МКА 5G6 и 2B8 сконструирована иммуноферментная моноклональная тест-система для выявления V-антигена (предел обнаружения – 2 нг/мл), которая также успешно прошла межлабораторные медицинские испытания на базе Иркутского противочумного института, что позволило рекомендовать ее в качестве альтернативы или в дополнение к другим диагностическим методам. Кроме экспериментальных препаратов на основе МКА, в ФБУН ГНЦ ПМБ есть и зарегистрированные – иммунохроматографические тест-системы, предназначенные для экспресс-выявления и идентификации возбудителя чумы. Одна из них обеспечивает специфическое обнаружение *Y. pestis* в концентрации 10^7 м.к./мл и капсульного антигена F1 в концентрации 0,01 мг/мл.

В РосНИПЧИ «Микроб» разработана и зарегистрирована диагностическая иммуноферментная тест-система (РЗН 2013/711), основу которой составили МКА к капсульному антигену *Y. pestis*. Набор «Тест-система иммуноферментная для детекции чумного микроба моноклональная (ИФАПестФ1-М)» характеризуется высокой специфичностью и позволяет выявлять капсулосодержащие штаммы возбудителя чумы в образцах биологического мате-

риала и проводить идентификацию чистых культур с чувствительностью $5 \cdot 10^5 - 1 \cdot 10^6$ м.к./мл. Важным преимуществом тест-системы ИФА является объективный учет результатов анализа и возможность их документирования [36].

В Ростовском-на-Дону научно-исследовательском противочумном институте еще в 1990-е гг. проводились исследования по разработке экспериментальных препаратов для диагностики типичных и атипичных штаммов *Y. pestis* на основе МКА, специфичных к капсульному антигену F1 возбудителя чумы (гибридома Г4-В8/Е5) и к поверхностному белку чумного микроба FV (гибридома Г4-Е6/Н8). Позже эти МКА А.Л. Трухачев с соавт. [37] предложили использовать для идентификации видов *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis* путем определения продукции видоспецифических антигенов F1 и FV чумного микроба в реакции непрямой иммунофлуоресценции. В настоящее время отсутствуют диагностические тест-системы на основе МКА, имеющие высокую степень достоверности, для проведения идентификации штаммов возбудителей чумы и псевдотуберкулеза, в том числе и антигенизмененных штаммов, выделенных от больных людей, животных и из объектов окружающей среды. Это дает основания совершенствовать данное направление с использованием МКА и расширять спектр зарегистрированных препаратов для выявления *Y. pestis*.

МКА в диагностике холеры. Одной из актуальных опасных инфекционных болезней является холера, прогноз по которой в мире и для России остается неблагоприятным. Эффективность исследований на выявление возбудителя зависит от наличия высокочувствительных и специфичных реагентов для лабораторной диагностики холеры. Создание таких наборов возможно с использованием МКА. Сведения о холерных моноклональных препаратах, имеющих диагностическую значимость, появились в 1990-е гг. в публикациях сотрудников Ростовского-на-Дону противочумного института. В диссертационных работах О.С. Бурлаковой (1992 г.) и Л.П. Алексеевой (1993 г.) подробно описаны гибридомы-продуценты МКА к О-антигену ЛПС и их использование в качестве диагностических реагентов при проведении тонкого эпитопного анализа липополисахарида, а также при выяснении функциональной роли отдельных О-антигенных детерминант ЛПС и комплементарных им иммуноглобулинов в иммуногенезе инфекции. К 2000 г. получен набор гибридом, продуцирующих МКА к R-формам холерных вибрионов, которые в слайд-агглютинации взаимодействовали с атипичными штаммами *Vibrio cholerae* O1. Для расширения спектра выявляемых детерминант применяли смеси моноклональных иммуноглобулинов. С момента появления в 1992 г. нового возбудителя холеры актуальными стали исследования по получению гибридом-продуцентов МКА, направленных к антигенным детерминантам *V. cholerae* O139. Так, Л.П. Алексеевой с соавт. [38] удалось вывести стабильные гибридо-

мы, синтезирующие МКА O139, на основе которых разработали экспериментальные серии люминесцирующих препаратов. Созданная в институте к 2012 г. коллекция гибридом-продуцентов МКА явилась отправной точкой для регистрации в Росздравнадзоре наборов реагентов «Иммуноглобулины моноклональные диагностические сухие для серологической идентификации *V. cholerae* O1 и O139 (*in vitro*) методом РА «ИГ-*V. cholerae* O1/O139-РА» (РЗН 2015/2336) и «Иммуноглобулины моноклональные диагностические флуоресцирующие сухие для серологической идентификации *V. cholerae* O1 и O139 (*in vitro*) методом РИФ «ИГ-*V. cholerae* O1/O139-РИФ» (РЗН 2014/2142). Применение наборов для реакции слайд-агглютинации и иммунофлуоресценции перспективно как в стационарных, так и мобильных лабораториях, в том числе и при проведении мониторинга объектов окружающей среды в случае постановки реакции с набором «ИГ-*V. cholerae* O1/O139-РИФ» (РЗН 2014/2142), который можно использовать для выявления возбудителя холеры не только после выделения чистой культуры, но и в нативном материале различного происхождения.

Для планирования рационального объема противохолерных мероприятий большое значение имеет своевременное определение токсигенности холерных вибрионов. Так, в Ростовском-на-Дону противочумном институте получены гибридомы-продуценты МКА, направленных к расположенным вблизи ганглиозид-связывающего участка эпитопам В-субъединицы холерного токсина и блокирующих связывание токсина с рецепторами GM1. В результате проведенных исследований О.В. Маркина с соавт. [39] оптимизировали ИФА двойных антител, который позволил оценить токсинопродукцию штаммов холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп с чувствительностью метода 50 нг/мл, а также рекомендовали использовать нитроцеллюлозную мембрану для постановки GM1-дот-ИФА, что повышало чувствительность метода до 10 нг/мл. Позже были получены моноклональные пероксидазные конъюгаты для выявления *V. cholerae* O1, O139 [40] и tcr+ штаммов в прямом варианте твердофазного иммуноферментного анализа (ТИФА) и в дот-варианте (ДИА) [41].

Работы по совершенствованию ИФА с использованием МКА проводились и в РосНИПЧИ «Микроб». Сконструированы экспериментальные иммуноферментные тест-системы, предназначенные для детекции *V. cholerae* O139 в концентрации от $7,5 \cdot 10^4$ до $2,3 \cdot 10^6$ м.к./мл в зависимости от штамма, для контроля биосинтеза типоспецифического О-антигена при производстве бивалентной химической вакцины, для обнаружения холерного токсина в ИФА и ДИА [42, 43]. А в 2016 г. предложены способ и набор для определения продукции холерного токсина и дифференциации эпидемически значимых штаммов холерных вибрионов классического и Эль Тор биоваров с использованием МКА, специ-

фичных к В-субъединице холерного токсина [44]. Тест-система для определения продукции холерного токсина штаммами *V. cholerae* (ИФАХолХТ-М) зарегистрирована в качестве изделия медицинского назначения (РЗН 2016/5013).

Специалисты ФБУН ГНЦ ПМБ, владеющие технологией и большим опытом в разработке иммунохроматографических тестов, сконструировали и зарегистрировали в качестве медицинских изделий ИХ-полоски для быстрой идентификации возбудителя холеры О1 группы «Тест-полоска *V. cholerae* О1» (РЗН 2013/270) и для быстрой идентификации токсигенных штаммов возбудителя холеры «Тест-полоска *V. cholerae* tox+» (РЗН 2015/2650) [45]. Чувствительность ИХ-тест-полосок – 10^8 – 10^9 м.к./мл.

Несмотря на уже достигнутые успехи в получении холерных моноклональных диагностикумов, работа должна продолжаться не только по пути расширения спектра наборов реагентов, но и с привлечением современных технологий. В последнее десятилетие существенное развитие получила технология анализа сложных биологических систем с помощью биологических микрочипов (биочипов), при создании которых сочетаются принцип миниатюризации и многофакторного анализа, что приводит к повышению производительности исследований и снижению себестоимости анализа [46]. Перспективным является и создание комплексных тест-систем для одновременного выявления двух и более возбудителей ООИ [23]. Специалисты ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт биологического приборостроения» разработали иммунохроматографическое устройство для индикации пяти видов токсинов (ботулинические токсины типов А и В в концентрации 5 и 10 нг/мл соответственно, стафилококковый энтеротоксин типа В – 40 нг/мл, холерный экзотоксин – 500 нг/мл, рицин – 80 нг/мл) в едином цикле анализа, что увеличивает производительность за счет уменьшения промежуточных манипуляций и уменьшает количество расходных материалов. Вышесказанное позволяет рассматривать мультианалитный анализ как эффективный и удобный инструмент экспресс-индикации [47]. Однако подобные наборы пока не внедрены в лабораторную практику.

МКА в диагностике сапа и мелиоидоза. Сап и мелиоидоз – особо опасные инфекционные болезни, вызываемые патогенными *Burkholderia mallei* и *B. pseudomallei*. На сегодняшний день в нашей стране не зарегистрировано ни одного достоверного случая заболеваний, вызванных этими возбудителями. Но сведения о возможном их распространении за пределы эндемичных регионов и вероятность заноса инфекции привели к росту исследований в области диагностики сапа и мелиоидоза [48, 49]. В Волгоградском научно-исследовательском противочумном институте создана коллекция гибридом-продуцентов к антигенным детерминантам *B. mallei* и *B. pseudomallei*, которая использовалась для создания иммунодиагностических препаратов. В разные годы получены

экспериментальные реагенты для реакции агглютинации, иммунодиффузии, ТИФА, метода флуоресцирующих антител (МФА) [50]. Важным результатом проведенных исследований является регистрация двух наборов «Имуноглобулины диагностические флуоресцирующие мелиоидозные моноклональные сухие» (ФСР 2011/11615) и «Имуноглобулины диагностические флуоресцирующие сапные моноклональные сухие» (ФСР 2011/11614), которые используются в лабораторной диагностике.

В ФБУН ГНЦ ПМБ получены гибридомы (3D3, 2D11), продуцирующие МКА к ЛПС *B. mallei* и *B. pseudomallei*. На их основе сконструированы экспериментальные ИХ-тесты, которые можно использовать в качестве одного из инструментов детекции возбудителей сапа и мелиоидоза, причем результат будет известен через 10 мин [51]. Также С.С. Ветчинин с соавт. [52] успешно применили МКА 3D3 и 2D11 для выявления и внутривидовой дифференциации штаммов патогенных буркхолдерий в дот-блот анализе при совместном использовании ПЦР-РВ. При этом МКА 3D3, связываясь с клетками штаммов обоих возбудителей, демонстрируют родоспецифичность, а МКА 2D11 – штаммоспецифичность, избирательно не взаимодействуя с клетками штаммов Р1 *B. mallei* и 100 *B. pseudomallei*. Сделан вывод о том, что сочетание видоспецифичной амплификации ДНК (ПЦР-РВ) и иммунного анализа (дот-блот) с использованием набора МКА различного профиля взаимодействия со штаммами перспективно для внутривидовой дифференциации патогенных буркхолдерий.

В 48 ЦНИИ МО РФ (г. Киров) были получены препараты МКА, выделенные и очищенные из асцитных жидкостей, на основе которых изготовлены специфические компоненты для иммуноферментных моноклональных тест-систем ($0,5 \cdot 10^6$ м.к./мл). Показана принципиальная возможность проведения дифференциации *B. mallei* и *B. pseudomallei* методом ИФА при отсутствии перекрестных реакций с близкородственными сапрофитами и гетерологичными микроорганизмами в концентрации $1,0 \cdot 10^8$ м.к./мл. Тест-системы перспективны для последующей регистрации в качестве медицинских изделий для диагностики *in vitro* [53, 54].

Осуществление мониторинга заболеваний мелиоидозом и сапом на территории РФ требует не только эффективного взаимодействия между медицинскими учреждениями и организациями, но и обеспечения эффективными средствами диагностики.

Таким образом, МКА в силу своей высокой специфичности, стандартности и технологичности оказались исключительно удобным и широко применяемым в настоящее время диагностическим средством, в том числе и для выявления возбудителей ООИ. В связи с этим исследования, направленные на разработку и регистрацию новых наборов моноклональных реагентов в качестве медицинских изделий, не утратили своей актуальности и прак-

тической значимости. Привлечение в диагностику ООИ современных более эффективных препаратов на основе МКА позволит повысить качество и достоверность лабораторного анализа, при этом обязательным условием является их внедрение в практическое здравоохранение. Наиболее перспективными представляются дот-иммуноанализ, изготовление иммунохроматографических тестов и создание иммуночипов. Усилия разработчиков должны быть направлены на повышение порога чувствительности тест-систем, полное исключение неспецифических реакций, упрощение процедуры постановки и учета реакции и доведение экспериментальных разработок до выпуска сертифицированного препарата.

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

Список литературы

- Альшулер Е.П., Серебряная Д.В., Катруха А.Г. Получение рекомбинантных антител и способы увеличения их аффинности. *Успехи биологической химии*. 2010; 50:203–58.
- Самарцева Т.Г., Оксанич А.С., Гаврилова Н.Ф., Яковлева И.В., Свиридов В.В., Зверев В.В. Применение универсальных плазмидных конструкций для получения полноразмерных рекомбинантных антител заданной специфичности в эукариотических клетках. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2018; 3:32–9. DOI: 10.36233/0372-9311-2018-3-32-39.
- Луговской А.А. Инженерия терапевтических антител: теория и практика. *Молекулярная биология*. 2017; 51(6):886–98. DOI: 10.7868/S0026898417060027.
- Карабельский А.В., Неманкин Т.А., Улитин А.Б., Ваганов А.С., Мосина Е.А., Иванов Р.А. Разработка инновационных препаратов моноклональных антител. *Биотехнология*. 2017; 33(1):10–29. DOI: 10.21519/0234-2758-2017-33-1-10-29.
- Белова Е.В., Хлынцева А.Е., Дятлов И.А., Шемякин И.Г. Штамм гибридных культивируемых клеток животных *Mus musculus* 1E6 – продуцент моноклональных антител, специфичных к спорам *Bacillus anthracis*. Патент РФ № 2439148, опублик. 10.01.2012. Бюл. № 1.
- Кравец Е.В., Дугаржапова З.Ф., Родзиковский А.В., Хлынцева А.Е., Лунева Н.М., Белова Е.В., Колосова Н.В., Рудницкий С.Ю., Соловьев П.В., Баранова Е.В., Бикетов С.Ф. Применение методов латекс-агглютинации и иммунохроматографии для ускоренной идентификации культур *Bacillus anthracis* при эпидемиологических расследованиях вспышек. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2011; 1(107):81–2. DOI: 10.21055/0370-1069-2011-1(107)-81-82.
- Хлынцева А.Е., Лунева Н.М., Белова Е.В., Дятлов И.А., Шемякин И.Г. Разработка и испытания диагностикума на основе моноклональных антител для определения спор возбудителя сибирской язвы в реакции латекс-агглютинации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2011; 4(110):71–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2011-4(110)-71-75.
- Хлынцева А.Е., Белова Е.В., Жарникова И.В., Тюменцева И.С., Куличенко А.Н., Дятлов И.А., Шемякин И.Г. Конструирование тест-системы для селективного концентрирования спор *Bacillus anthracis* на основе магнитных частиц с иммобилизованными моноклональными антителами. *Биотехнология*. 2010; 4:81–8.
- Печенкин Д.В., Фоменков О.О., Еремкин А.В., Елагин Г.Д., Кукулина Г.В., Барамзина Г.В., Ипатов С.С. Разработка иммуноферментной тест-системы для выявления *Bacillus anthracis*. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 3:78–82. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-78-82.
- Романов М.Г., Кириллов Л.В., Яковлева И.В., Свиридов В.В. ИФА для определения протективного антигена *Bacillus anthracis*. *Ветеринария*. 2005; 5:27–9.
- Руденко Н.В., Аббасова С.Г., Гришин Е.В. Получение и характеристика моноклональных антител к протективному антигену *Bacillus anthracis*. *Биоорганическая химия*. 2011; 37(3):316–21.
- Белова Е.В., Лунева Н.М., Колесников А.В., Козырь А.В., Шемякин И.Г., Дятлов И.А. Способ иммунофлуоресцентного определения протективного антигена возбудителя сибирской язвы. Патент РФ № 2478970, опублик. 10.04.2013. Бюл. № 10.
- Козырь А.В., Колесников А.В., Хлынцева А.Е., Белова Е.В., Шемякин И.Г. Способ определения наличия протективного антигена сибирской язвы на основе иммунодетекции, сопряженной с полимеразной цепной реакцией. Патент РФ № 2470307, опублик. 20.12.2012. Бюл. № 35.
- Козырь А.В., Колесников А.В., Хлынцева А.Е., Белова Е.В., Шемякин И.Г. Способ определения летального фактора сибирской язвы на основе иммунодетекции, сопряженной с полимеразной цепной реакцией. Патент РФ № 2486524, опублик. 27.06.2013. Бюл. № 18.
- Рябо А.К., Марын М.А., Карцева А.С., Зенинская Н.А., Силкина М.В., Мунтян Я.О., Фирстова В.В., Шемякин И.Г. Штамм гибридных культивируемых клеток *H. sapiens/Mus musculus* 8D4E9-BA-LF-продуцент человеческих моноклональных антител против летального фактора возбудителя сибирской язвы. Патент РФ № 2699193, опублик. 03.09.2019. Бюл. № 25.
- Сырова Н.А., Терешкина Н.Е., Девдариани З.Л. Современное состояние иммунодиагностики туляремии. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2008; 3(97):12–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2008-3(97)-12-15.
- Сырова Н.А., Терехова И.В., Терешкина Н.Е., Девдариани З.Л., Исляева М.Н., Голова А.Б., Гусева Н.П., Плотнова Е.А., Волох О.А., Ермаков Н.М., Киреев М.Н. Культивирование гибридом – продуцентов диагностически значимых моноклональных антител к *Francisella tularensis*. *Биотехнология*. 2012; 2:66–72.
- Терешкина Н.Е., Терехова И.В., Сырова Н.А., Девдариани З.Л., Ляшова О.Ю., Григорьева Г.В., Лобовикова О.А., Шульгина И.В., Иваненко И.Л., Захарова Н.Б., Безрукова Г.А., Спиринов В.Ф. Конструирование и медицинские испытания моноклональной дот-иммуноферментной тест-системы для детекции туляремиального микроба «ДИАТул-М». *Проблемы особо опасных инфекций*. 2013; 2:42–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-2-42-45.
- Белова Е.В., Хлынцева А.Е., Благодатских С.А., Шемякин И.Г. Штамм гибридных культивируемых клеток животных *Mus musculus* 11D6-продуцент моноклональных антител, специфичных к липополисахаридам *Francisella tularensis*. Патент РФ № 2451078, опублик. 20.05.2012. Бюл. № 14.
- Терехова И.В., Сырова Н.А., Терешкина Н.Е., Михеева Е.А., Девдариани З.Л. Штамм гибридных культивируемых клеток животных *Mus musculus* *Francisella tularensis* 1D6 – продуцент моноклональных антител к липополисахариду туляремиального микроба. Патент РФ № 2621379, опублик. 05.06.2017. Бюл. № 16.
- Зайцев А.А., Гнусарева О.А., Царева Н.С., Остапович В.В., Борздова И.Ю., Куличенко А.Н. Применение иммунохроматографических тест-систем для экспресс-выявления липополисахарида *Francisella tularensis* при мониторинге природных очагов. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2013; 1:78–80. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-1-78-80.
- Еремкин А.В., Елагин Г.Д., Печенкин Д.В., Фоменков О.О., Богачева Н.В., Кытманов А.А., Кукулина Г.В., Тихвинская О.В. Разработка иммуноферментной и иммунохроматографической моноклональных тест-систем для выявления возбудителя туляремии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016; 61(3):184–7. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-3-184-187.
- Туманов А.С., Воробьев К.А., Печенкин Д.В., Елагин Г.Д., Кукулина Г.В., Еремкин А.В., Кытманов А.А., Богачева Н.В., Шурупов С.А., Ипатов С.С. Разработка иммуноферментных моноклональных тест-систем, предназначенных для выявления возбудителей туляремии, сапа, мелиоидоза и сибирской язвы. *Вестник войск РХБ защиты*. 2017; 1(2):21–7.
- Жарникова И.В., Ефременко В.И., Жарникова Т.В., Курчева С.А., Кальной С.М., Ефременко Д.В., Исакова А.А., Инденбом А.В. Серологические методы выявления возбудителя туляремии и их оценка. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2019; 4:32–8. DOI: 10.36233/0372-9311-2019-4-32-8.
- Юдин В.И., Быкова Н.Н., Косарева Т.В., Ванин С.В., Гулюкин М.И., Скляр О.Д., Коромылова И.А. Штамм F26 постоянной гибридной линии клеток мыши *Mus musculus* – продуцент моноклональных антител к олигополисахаридному (ОПС) антигену *B. abortus*. Патент РФ № 2560260, опублик. 20.08.2015. Бюл. № 23.
- Ескендирирова С.З., Булашев А.К., Боровиков С.Н., Барамова М.А. Получение моноклональных антител к бактериям рода *Brucella*. *Вестник сельскохозяйственной науки Казахстана*. 1990; 10:68–71.
- Михайлов Л.М., Титенко А.М., Захлебная О.Д., Лаукнер И.В. Штамм гибридных культивируемых клеток животных *Mus musculus* L. – продуцент моноклональных антител, специфичных к препарату белков бруцелл с молекулярным весом 18 и 38 кД. Патент РФ № 2113475. Опублик. 20.06.1998.
- Фельдшерова А.А., Эльгорт Д.А., Коноплева М.В., Хац Ю.С., Третьяков О.Ю., Кулаков Ю.К., Толмачева Т.А., Желудков М.М., Суслев А.П. Высокоэффективная иммуноферментная тест-система на основе моноклональных антител для выявления антигенов бруцелл. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2007; 1:52–6.

29. Куклина Г.В., Елагин Г.Д., Фоменков О.О., Печенкин Д.В., Еремкин А.В., Кытманов А.А. Получение гибридом-продуцентов моноклональных антител к антигену возбудителя бруцеллеза. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2017; 2:67–71. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-2-67-71.

30. Пономаренко Д.Г., Русанова Д.В., Хачатурова А.А., Бердникова Т.В., Манин Е.А., Семенов О.В., Малещкая О.В., Куличенко А.Н. Бруцеллез в Российской Федерации в 2018 году. Информационный бюллетень. Ставрополь; 2019. 38 с.

31. Белова Е.В., Иващенко Т.А., Игнашина Е.Н., Шемякин И.Г. Штамм гибридных культивируемых клеток животных *Mus musculus* 3F8 – продуцент моноклональных антител, специфичных к капсульному F1 антигену *Yersinia pestis*. Патент РФ № 2460788, опубл. 10.09.2012. Бюл. № 25.

32. Белова Е.В., Иващенко Т.А., Куценко А.К., Дятлов И.А., Шемякин И.Г. Штамм гибридных клеток животных *Mus musculus* 5G6 – продуцент моноклональных антител, специфичных к V антигену *Yersinia pestis*. Патент РФ № 2478703, опубл. 10.04.2013. Бюл. № 10.

33. Белова Е.В., Иващенко Т.А., Игнашина Е.Н., Шемякин И.Г. Штамм гибридных клеток животных *Mus musculus* 10G4 – продуцент моноклональных антител, специфичных к капсульному FL антигену *Yersinia pestis*. Патент РФ № 2460787, опубл. 10.09.2012. Бюл. № 25.

34. Иващенко Т.А., Белова Е.В., Дентовская С.В., Белькова С.А., Балахонов С.В., Шемякин И.Г. Разработка латекс-агглютинационной тест-системы для выявления капсульного антигена F1 *Yersinia pestis*. *Биотехнология*. 2012; 6:76–85.

35. Иващенко Т.А., Белова Е.В., Дентовская С.В., Белькова С.А., Балахонов С.В., Игнатов С.Г., Шемякин И.Г. Разработка и испытание иммуноферментной моноклональной тест-системы для выявления V антигена *Yersinia pestis*. *Прикладная биохимия и микробиология*. 2014; 50(2):211–8.

36. Девдариани З.Л., Сырова Н.А., Михеева Е.А., Терехова И.В., Ермаков Н.М., Григорьева Г.В., Лобовикова О.А., Шульгина И.В. Конструирование и медицинские испытания моноклональной иммуноферментной тест-системы для выявления капсулосодержащих штаммов чумного микроба «ИФА ПестФ1-М». *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; 3:85–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-3-85-89.

37. Трухачев А.Л., Арсеньева Т.Е., Лебедева С.А., Алексеева Л.П., Васильева Е.А. Способ идентификации штаммов вида *Yersinia pestis* и *Yersinia pseudotuberculosis*. Патент РФ № 2422535, опубл. 27.06.2011. Бюл. № 18.

38. Алексеева Л.П., Мазрухо Б.Л., Чемисова О.С., Сальникова О.И., Маркина О.В., Лобанов В.В. Изучение с помощью моноклональных антител полисахаридных антигенов *Vibrio cholerae* O139 различного происхождения. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2002; 4:25–9.

39. Маркина О.В., Алексеева Л.П., Телесманич Н.Р., Чемисова О.С., Акулова М.В., Маркин Н.В. GM1-ДОТ-ИФА для выявления токсинпродуцирующих штаммов *Vibrio cholerae*. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2011; 5:49–52.

40. Алексеева Л.П., Козлова Г.А., Маркина О.В., Кретенчук О.Ф., Яговкин М.Э., Бурша О.С. Использование моноклональных пероксидазных конъюгатов для идентификации холерных вибрионов O1, O139 в реакции доп-иммуноанализа. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2013; 3:26–9.

41. Евдокимова В.В., Алексеева Л.П., Зюзина В.П., Кретенчук О.Ф., Яговкин М.Э. Изучение диагностических возможностей моноклональных антител, специфичных к мембранному белку возбудителя холеры, в иммуноферментном анализе. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2017; 3:45–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-3-45-48.

42. Михеева Е.А., Девдариани З.Л., Осина Н.А., Захарова Т.Л. Получение и характеристика антителопродуцирующих гибридом и моноклональных иммуноглобулинов к энтеротоксину *Vibrio cholerae*. *Биотехнология*. 2014; 30(3):49–54.

43. Михеева Е.А., Девдариани З.Л., Осина Н.А., Щербакова С.А. Определение холерного токсина у штаммов *V. cholerae* в иммуноферментном анализе с использованием моноклональных антител. *Биозащита и биобезопасность*. 2014; 6(4):38–42.

44. Михеева Е.А., Осина Н.А., Девдариани З.Л., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Способ и набор для определения продукции холерного токсина и дифференциации эпидемически значимых штаммов холерных вибрионов классического и эльзтор биоваров. Патент РФ № 2611359, опубл. 21.02.2017. Бюл. № 6.

45. Дятлов И.А. Роль Государственного научного центра прикладной микробиологии и биотехнологии в решении современных проблем медицинской микробиологии. *Бактериология*. 2016; 1(1):7–15. DOI: 10.20953/2500-1027-2016-1-7-15.

46. Уткин Д.В., Осина Н.А., Спицын А.Н., Киреев М.Н., Громова О.В., Захарова Т.Л., Найденова Е.В., Куклев В.Е. Разработка биочипа для выявления противохолерных антител в сыворотке крови человека. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2015; 2:50–3.

47. Шиленко И.В., Ярков С.П., Шаулина Е.К., Титов А.А., Бровкина А.Н., Храмов Е.Н. Разработка мультианалитного им-

мунохроматографического устройства для индикации токсинов. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2015; 4:103–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-4-103-106.

48. Антонов В.А., Илюхин В.И., Храпова Н.П., Прохвятилова Е.В., Викторов Д.В., Сенина Т.В., Будченко А.А., Ткаченко Г.А., Алексеева В.В., Захарова И.Б., Савченко С.С., Зинченко О.В., Сорокина Ю.И., Алексеев В.В. Современные подходы к диагностике сапа и мелиоидоза. Идентификация и типирование *Burkholderia mallei* и *Burkholderia pseudomallei*. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2012; 2(112):46–50. DOI: 10.21055/0370-1069-2012-2(112)-46-50.

49. Захарова И.Б., Топорков А.В., Викторов Д.В. Мелиоидоз и сап: современное состояние проблемы и актуальные вопросы эпидемиологического надзора. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2018; 6:103–9. DOI: 10.36233/0372-9311-2018-6-103-109.

50. Корсакова И.И., Антонов В.А., Храпова Н.П., Захарова Т.В., Пименова Е.В., Ким Е.Э., Меринова Л.К., Сенина Т.В., Ткаченко Г.А., Савченко С.С., Агеева Н.П., Молчанова Е.В., Лопастейская Я.А., Прохвятилова Е.В. Идентификация возбудителей сапа и мелиоидоза на основе принципов полифазного таксономического подхода. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2016; 6: 25–34.

51. Федюкина Г.Н., Ветчинин С.С., Баранова Е.В., Руднички С.Ю., Соловьев П.В., Колосова Н.В., Бикетов С.Ф. Получение компонентов иммунохроматографического теста для выявления возбудителей сапа и мелиоидоза. *Биотехнология*. 2015; 1:85–92.

52. Ветчинин С.С., Щит И.Ю., Шевяков А.Г., Бикетов С.Ф. Возможность выявления штаммов возбудителей сапа и мелиоидоза при сочетании методов иммуноблоттинга и амплификации ДНК. *Инфекция и иммунитет*. 2019; 9(2):404–8. DOI: 10.15789/2220-7619-2019-2-404-408.

53. Кытманов А.А., Елагин Г.Д., Куклина Г.В., Печенкин Д.В., Фоменков О.О., Еремкин А.В., Ипатов С.С., Зиганшин Э.Р. Разработка иммуноферментных моноклональных тест-систем для выявления возбудителей сапа и мелиоидоза. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 3:60–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-60-65.

54. Куклина Г.В., Елагин Г.Д., Печенкин Д.В., Фоменков О.О., Еремкин А.В., Кытманов А.А., Шурупов С.А., Ипатов С.С. Получение гибридом, продуцирующих моноклональные антитела к антигенам *Burkholderia mallei* и *Burkholderia pseudomallei*. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2019; 4:78–82. DOI: 10.36233/0372-9311-2019-4-78-82.

References

- Al'tshuler E.P., Serebryanaya D.V., Katrukha A.G. [Production of recombinant antibodies and methods for increasing their affinity]. *Uspekhi Biologicheskoy Khimii [Advances in Biological Chemistry]*. 2010; 50:203–58.
- Samartseva T.G., Oksanich A.S., Gavrilova N.F., Yakovleva I.V., Sviridov V.V., Zverev V.V. [The use of universal plasmid constructs for the production of full-length recombinant antibodies with a set specificity in eukaryotic cells]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2018; 3:32–9. DOI: 10.36233/0372-9311-2018-3-32-39.
- Lugovskoy A.A. [Therapeutic antibody engineering: theory and practice]. *Molekulyarnaya Biologiya [Molecular Biology]*. 2017; 51(6):886–98. DOI: 10.7868/S0026898417060027.
- Karabel'sky A.V., Nemankin T.A., Ulitin A.B., Vaganov A.S., Mošina E.A., Ivanov R.A. [Development of innovative preparations of monoclonal antibodies]. *Biotechnologiya [Biotechnology]*. 2017; 33(1):10–29. DOI: 10.21519/0234-2758-2017-7-33-1-10-29.
- Belova E.V., Khlyntseva A.E., Dyatlov I.A., Shemyakin I.G. [The strain of hybrid cultured animal cells *Mus musculus* 1E6 – producer of monoclonal antibodies specific to *Bacillus anthracis* spores]. RF patent No. 2439148, publ. 10.01.2012 Bul. No. 1.
- Kravets E.V., Dugarzhapova Z.F., Rodzikovsky A.V., Khlyntseva A.E., Luneva N.M., Belova E.V., Kolosova N.V., Rudnitsky S.Yu., Solov'ev P.V., Baranova E.V., Bicketov S.F. [Application of latex agglutination and immune chromatography methods for rapid identification of *Bacillus anthracis* cultures in the epidemiological investigation of outbreaks]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2011; (1(107)):81–2. DOI: 10.21055/0370-1069-2011-1(107)-81-82.
- Khlyntseva A.E., Luneva N.M., Belova E.V., Dyatlov I.A., Shemyakin I.G. [Development and testing of monoclonal antibodies-based diagnostic preparation for *Bacillus anthracis* spores detection using latex agglutination method]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2011; (4(110)):71–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2011-4(110)-71-75.
- Khlyntseva A.E., Belova E.V., Zharnikova I.V., Tyumentseva I.S., Kulichenko A.N., Dyatlov I.A., Shemyakin I.G. [Construction of a test system for selective concentration of *Bacillus anthracis* spores

- based on magnetic particles with immobilized monoclonal antibodies]. *Biotechnologiya [Biotechnology]*. 2010; 4:81–8.
9. Pechenkin D.V., Fomenkov O.O., Eremkin A.V., Elagin G.D., Kuklina G.V., Baramzina G.V., Ipatov S.S. [Development of enzyme-immunoassay for *Bacillus anthracis* detection]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; (3):78–82. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-78-82.
 10. Romanov M.G., Kirillov L.V., Yakovleva I.V., Sviridov V.V. [ELISA for the detection of protective antigen of *Bacillus anthracis*]. *Veterinariya [Veterinary Medicine]*. 2005; 5:27–9.
 11. Rudenko N.V., Abbasova S.G., Grishin E.V. [Obtaining and characterization of monoclonal antibodies to the protective antigen of *Bacillus anthracis*]. *Bioorganicheskaya Khimiya [Bioorganic Chemistry]*. 2011; 37(3):316–21.
 12. Belova E.V., Luneva N.M., Kolesnikov A.V., Kozyr' A.V., Shemyakin I.G., Dyatlov I.A. [Method for immunofluorescent detection of protective antigen of anthrax agent]. RF patent No. 2478970, publ. 10.04.2013. Bul. No. 10.
 13. Kozyr' A.V., Kolesnikov A.V., Khlyntseva A.E., Belova E.V., Shemyakin I.G. Method for determining the presence of protective anthrax antigen based on immunodetection coupled with polymerase chain reaction. RF patent No. 2470307, publ. 20.12.2012. Bul. No. 35.
 14. Kozyr' A.V., Kolesnikov A.V., Khlyntseva A.E., Belova E.V., Shemyakin I.G. [Method for detecting the lethal factor of anthrax based on immunodetection coupled with polymerase chain reaction]. RF patent No. 2486524, publ. 27.06.2013. Bul. No. 18.
 15. Ryabko A.K., Mar'in M.A., Kartseva A.S., Zeninskaya N.A., Silkina M.V., Muntyan Ya.O., Firstova V.V., Shemyakin I.G. [The strain of hybrid cultured cells *H. sapiens* / *Mus musculus* 8D4E9-BA-LF – producer of human monoclonal antibodies against the lethal factor of anthrax agent]. RF patent No. 2699193, publ. 03.09.2019. Bul. No. 25.
 16. Syrova N.A., Tereshkina N.E., Devdariani Z.L. [Current state of tularemia immunodiagnosics]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2008; (3(97)):12–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2008-3(97)-12-15.
 17. Syrova N.A., Terekhova I.V., Tereshkina N.E., Devdariani Z.L., Islyaeva M.N., Golova A.B., Guseva N.P., Plotnikova E.A., Volokh O.A., Ermakov N.M., Kireev M.N. [Cultivation of hybridomas – producers of diagnostically significant monoclonal antibodies to *Francisella tularensis*]. *Biotechnologiya [Biotechnology]*. 2012; 2:66–72.
 18. Tereshkina N.E., Terekhova I.V., Syrova N.A., Devdariani Z.L., Lyashova O.Yu., Grigor'eva G.V., Lobovikova O.A., Shul'gina I.V., Ivanenko I.L., Zakharova N.B., Bezrukova G.A., Spirin V.F. [Constructing and medical trials of a monoclonal dot-immuno-enzyme test-system “DIATul-M” for tularemia microbe detection]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2013; (2):42–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-2-42-45.
 19. Belova E.V., Khlyntseva A.E., Blagodatskikh S.A., Shemyakin I.G. [The strain of hybrid cultured animal cells *Mus musculus* 11D6-producer of monoclonal antibodies specific to *Francisella tularensis* lipopolysaccharides]. RF patent No. 2451078, publ. 20.05.2012. Bul. No. 14.
 20. Terekhova I.V., Syrova N.A., Tereshkina N.E., Mikheeva E.A., Devdariani Z.L. [The strain of hybrid cultured animal cells *Mus musculus* *Francisella tularensis* 1D6 – producer of monoclonal antibodies to lipopolysaccharide of tularemia microbe]. RF patent No. 2621379, publ. 05.06.2017. Bul. No. 16.
 21. Zaitsev A.A., Gnusareva O.A., Tsareva N.S., Ostapovich V.V., Borzdova I.Yu., Kulichenko A.N. [Immuno-chromatographic test system application for rapid detection of *Francisella tularensis* lipopolysaccharide in monitoring of natural foci]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2013; (1):78–80. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-1-78-80.
 22. Eremkin A.V., Elagin G.D., Pechenkin D.V., Fomenkov O.O., Bogacheva N.V., Kytmanov A.A., Kuklina G.V., Tikhvinskaya O.V. [Development of enzyme immunoassay and immunochromatographic monoclonal test-systems to identify the causative agent of tularemia]. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika [Clinical Laboratory Diagnostics]*. 2016; 61(3):184–7. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-3-184-187.
 23. Tumanov A.S., Vorob'ev K.A., Pechenkin D.V., Elagin G.D., Kuklina G.V., Eremkin A.V., Kytmanov A.A., Bogacheva N.V., Shurupov S.A., Ipatov S.S. [Development of monoclonal immunoenzyme test-systems designed to detect the causative agents of tularemia, glanders, melioidosis, and anthrax]. *Vestnik Voisk RKhB Zashchity [Bulletin of the RCB Defense Troops]*. 2017; 1(2):21–7.
 24. Zharnikova I.V., Efremenko V.I., Zharnikova T.V., Kurcheva S.A., Kal'noy S.M., Efremenko D.V., Isakova A.A., Indenbom A.V. [Serological methods for identifying the causative agent of tularemia and their assessment]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2019; 4:32–8. DOI: 10.36233/0372-9311-2019-4-32-38.
 25. Yudin V.I., Bykova N.N., Kosareva T.V., Vanin S.V., Gulyukin M.I., Sklyarov O.D., Koromyslova I.A. [Strain F26 of stable hybridoma cell line of the mouse *Mus musculus* – producer of monoclonal antibodies to oligopolysaccharide (OPS) antigen of *B. abortus*]. RF patent No. 2560260, publ. 20.08.2015. Bul. No. 23.
 26. Eskendirova S.Z., Bulashev A.K., Borovikov S.N., Baramova M.A. [Obtaining monoclonal antibodies to bacteria of the genus *Brucella*]. *Vestnik Sel'skokhozyaistvennoy Nauki Kazakhstana [Bulletin of Agricultural Science of Kazakhstan]*. 1990; 10: 68–71.
 27. Mikhailov L.M., Titenko A.M., Zakhlebnaya O.D., Laukner I.V. [The strain of hybrid cultured animal cells *Mus musculus* L. – producer of monoclonal antibodies specific to the preparation of *Brucella* proteins with molecular weight of 18 and 38 kDa]. RF patent No. 2113475. Publ. 20.06.1998.
 28. Fel'dsherova A.A., El'gort D.A., Konopleva M.V., Hatz Yu.S., Tret'yakov O.Yu., Kulakov Yu.K., Tolmacheva T.A., Zheludkov M.M., Suslov A.P. [Highly efficient immunoenzyme test-system based on monoclonal antibodies for the detection of *Brucella* antigens]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2007; 1:52–6.
 29. Kuklina G.V., Elagin G.D., Fomenkov O.O., Pechenkin D.V., Eremkin A.V., Kytmanov A.A. [Manufacturing of hybridomas-producers of monoclonal antibodies to brucellosis agent antigens]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2017; (2):67–71. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-2-67-71.
 30. Ponomarenko D.G., Rusanova D.V., Khachaturova A.A., Berdnikova T.V., Manin E.A., Semenov O.V., Maletskaya O.V., Kulichenko A.N. [Brucellosis in the Russian Federation in 2018]. [Newsletter]. Stavropol; 2019. 38 p.
 31. Belova E.V., Ivashchenko T.A., Ignashina E.N., Shemyakin I.G. [The strain of hybrid cultured animal cells *Mus musculus* 3F8 – producer of monoclonal antibodies specific to the capsular F1 antigen of *Yersinia pestis*]. RF patent No. 2460788, publ. 10.09.2012. Bul. No. 25.
 32. Belova E.V., Ivashchenko T.A., Kutsenko A.K., Dyatlov I.A., Shemyakin I.G. [The hybrid animal cell strain *Mus musculus* 5G6 – producer of monoclonal antibodies specific to the V antigen of *Yersinia pestis*]. RF patent No. 2478703, publ. 10.04.2013. Bul. No. 10.
 33. Belova E.V., Ivashchenko T.A., Ignashina E.N., Shemyakin I.G. [The strain of hybrid animal cells *Mus musculus* 10G4 – producer of monoclonal antibodies specific to the capsular FL antigen of *Yersinia pestis*]. RF patent No. 2460787, publ. 10.09.2012. Bul. No. 25.
 34. Ivashchenko T.A., Belova E.V., Dentovskaya S.V., Bel'kova S.A., Balakhonov S.V., Shemyakin I.G. [Development of a latex agglutination test-system for the detection of the capsular antigen F1 of *Yersinia pestis*]. *Biotechnologiya [Biotechnology]*. 2012; 6:76–85.
 35. Ivashchenko T.A., Belova E.V., Dentovskaya S.V., Bel'kova S.A., Balakhonov S.V., Ignatov S.G., Shemyakin I.G. [Development and testing of an immunoenzyme monoclonal test-system for the detection of V antigen of *Yersinia pestis*]. *Prikladnaya Biokhimiya i Mikrobiologiya [Applied Biochemistry and Microbiology]*. 2014; 50(2):211–8.
 36. Devdariani Z.L., Syrova N.A., Mikheeva E.A., Terekhova I.V., Ermakov N.M., Grigor'eva G.V., Lobovikova O.A., Shul'gina I.V. [Construction and medical trials of monoclonal immuno-enzyme test-system for the detection of encapsulated plague agent strains, “EIAPESTF1-M”]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; (3):85–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-3-85-89.
 37. Trukhachev A.L., Arsen'eva T.E., Lebedeva S.A., Alekseeva L.P., Vasil'eva E.A. [Method for identification of strains of the species *Yersinia pestis* and *Yersinia pseudotuberculosis*]. RF patent No. 2422535, publ. 27.06.2011. Bul. No. 18.
 38. Alekseeva L.P., Mazrukho B.L., Chemisova O.S., Sal'nikova O.I., Markina O.V., Lobanov V.V. [Study of polysaccharide antigens of *Vibrio cholerae* O139 of various origins using monoclonal antibodies]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2002; 4:25–9.
 39. Markina O.V., Alekseeva L.P., Telesmanich N.R., Chemisova O.S., Akulova M.V., Markin N.V. [GM1-DOT-ELISA for the detection of toxin-producing strains of *Vibrio cholerae*]. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika [Clinical Laboratory Diagnostics]*. 2011; 5: 49–52.
 40. Alekseeva L.P., Kozlova G.A., Markina O.V., Kretenchuk O.F., Yagovkin M.E., Bursha O.S. [The use of monoclonal peroxidase conjugates for the identification of *Vibrio cholerae* O1, O139 in the dot-immunoassay reaction]. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika [Clinical Laboratory Diagnostics]*. 2013; 3:26–9.
 41. Evdokimova V.V., Alekseeva L.P., Zyuzina V.P., Kretenchuk O.F., Yagovkin M.E. [The study of diagnostic potential of monoclonal antibodies specific to the membrane protein of cholera agent in enzyme-linked immunoassay]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2017; (3):45–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-3-45-48.

42. Mikheeva E.A., Devdariani Z.L., Osina N.A., Zakharova T.L. [Obtaining and characterization of antibody-producing hybridomas and monoclonal immunoglobulins to *Vibrio cholerae* enterotoxin]. *Biotehnologiya [Biotechnology]*. 2014; 30(3):49–54.
43. Mikheeva E.A., Devdariani Z.L., Osina N.A., Shcherbakova S.A. [Detection of cholera toxin in *V. cholerae* strains in enzyme-linked immunosorbent assay using monoclonal antibodies]. *Biozashchita i Biobezopasnost' [Biosecurity and Biosafety]*. 2014; 6(4 (21)):38–42.
44. Mikheeva E.A., Osina N.A., Devdariani Z.L., Shcherbakova S.A., Kutuyev V.V. [Method and kit for determination of cholera toxin production and differentiation of epidemically significant strains of classical and El Tor *Vibrio cholerae* biovars]. RF patent No. 2611359, publ. 21.02.2017. Bul. No. 6.
45. Dyatlov I.A. [The role of the State Scientific Center of Applied Microbiology and Biotechnology in solving current issues of medical microbiology]. *Bakteriologiya [Bacteriology]*. 2016; 1(1):7–15. DOI: 10.20953/2500-1027-2016-1-7-15.
46. Utkin D.V., Osina N.A., Spitsyn A.N., Kireev M.N., Gromova O.V., Zakharova T.L., Naidenova E.V., Kuklev V.E. [Development of a biochip for detecting anti-cholera antibodies in human blood serum]. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika [Clinical Laboratory Diagnostics]*. 2015; 2:50–3.
47. Shilenko I.V., Yarkov S.P., Shaulina E.K., Titov A.A., Brovkina A.N., Khramov E.N. [Development of multi-analytical immune-chromatographic device for toxin indication]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2015; (4):103–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-4-103-106.
48. Antonov V.A., Ilyukhin V.I., Khrapova N.P., Prokhvatilova E.V., Viktorov D.V., Senina T.V., Budchenko A.A., Tkachenko G.A., Alekseeva V.V., Zakharova I.B., Savchenko S.S., Zinchenko O.V., Sorokina Yu.I., Alekseev V.V. [Modern approaches for detection of glanders and melioidosis. Identification and typing of *Burkholderia mallei* and *Burkholderia pseudomallei*]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2012; (2(112)):46–50. DOI: 10.21055/0370-1069-2012-2(112)-46-50.
49. Zakharova I.B., Toporkov A.V., Viktorov D.V. [Melioidosis and glanders: current state of the problem and topical issues of epidemiological surveillance]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2018; 6:103–9. DOI: 10.36233/0372-9311-2018-6-103-109.
50. Korsakova I.I., Antonov V.A., Khrapova N.P., Zamarina T.V., Pimenova E.V., Kim E.E., Merinova L.K., Senina T.V., Tkachenko G.A., Savchenko S.S., Ageeva N.P., Molchanova E.V., Lopasteyskaya Ya.A., Prokhvatilova E.V. [Identification of glanders and melioidosis agents, based on the principles of the poly-phase taxonomic approach]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2016; 6:25–34.
51. Fedyukina G.N., Vetchinin S.S., Baranova E.V., Rudnitsky S.Yu., Solov'ev P.V., Kolosova N.V., Biketov S.F. [Obtaining the components of the immunochromatographic test to identify the causative agents of glanders and melioidosis]. *Biotehnologiya [Biotechnology]*. 2015; 1:85–92.
52. Vetchinin S.S., Shchit I.Yu., Shevyakov A.G., Biketov S.F. [Possibility of detecting the strains of glanders and melioidosis agents by combining methods of immunoblotting and DNA amplification]. *Infektsiya i Immunitet [Infection and Immunity]*. 2019; 9(2):404–8. DOI: 10.15789/2220-7619-2019-2-404-408.
53. Kytmanov A.A., Elagin G.D., Kuklina G.V., Pechenkin D.V., Fomenkov O.O., Eremkin A.V., Ipatov S.S., Ziganshin E.R. [Development of immuno-enzymatic monoclonal tests-systems for the detection of glanders and melioidosis agents]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; (3):60–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-60-65.
54. Kuklina G.V., Elagin G.D., Pechenkin D.V., Fomenkov O.O., Eremkin A.V., Kytmanov A.A., Shurupov S.A., Ipatov S.S. [Obtaining hybridomas producing monoclonal antibodies to *Burkholderia mallei* and *Burkholderia pseudomallei* antigens]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2019; 4:78–82. DOI: 10.36233/0372-9311-2019-4-78-82.

Author:

Kretenchuk O.F. Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute. 117/40, M. Gor'kogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation. E-mail: plague@aaanet.ru.

Об авторе:

Кретенчук О.Ф. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40. E-mail: plague@aaanet.ru.