

УДК 616.981.452:976.8.097.3

Е.В.Кравец¹, З.Ф.Дугаржапова¹, А.В.Родзиковский¹, А.Е.Хлынцева², Н.М.Лунева², Е.В.Белова²,
Н.В.Колосова², С.Ю.Рудницкий², П.В.Соловьев², Е.В.Баранова², С.Ф.Бикетов²

**ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ЛАТЕКС-АГГЛЮТИНАЦИИ И ИММУНОХРОМАТОГРАФИИ
ДЛЯ УСКОРЕННОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ КУЛЬТУР *BACILLUS ANTHRACIS*
ПРИ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ РАССЛЕДОВАНИЯХ ВСПЫШЕК**

¹ФГУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и ДВ»,
²ФГУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», Оболенск

Проведена апробация экспериментальных серий тест-систем латекс-агглютинации и иммунохроматографии для идентификации спор и вегетативных клеток *Bacillus anthracis*, соответственно. Тест-системы пригодны для ускоренной диагностики сибирской язвы и обладают рядом преимуществ перед уже существующими коммерческими тестами.

Ключевые слова: сибирская язва, экспресс-методы, латекс-агглютинация, иммунохроматография.

В настоящее время в научных лабораториях многих стран постоянно разрабатываются и совершенствуются диагностические технологии для индикации и идентификации особо опасных этиологических агентов, одним из которых является и сибиреязвенный микроб (*Bacillus anthracis*). Для проведения эффективного мониторинга сибирской язвы необходима активная разработка новых методов, создание высокочувствительных тест-систем и диагностических препаратов. Наиболее актуальным направлением является разработка и совершенствование молекулярно-генетических и других методов ускоренной лабораторной диагностики [3, 4]. Роль экспресс-методов в диагностике особо опасных инфекционных болезней значима и особенно ценна при расследовании актов биотерроризма, sporadических случаев и вспышек среди людей и животных. При расшифровке вспышки сибирской язвы в Баргузинском районе Республики Бурятия в 2008 г. успешно применен целый комплекс методов экспресс-диагностики (молекулярно-генетический (ПЦР), иммунофлуоресцентный (МФА), бактериоскопический). Благодаря чему в ранние сроки (через 3–5 ч от начала исследования) удалось подтвердить клинический диагноз «сибирская язва» у заболевших людей, выявить источник инфекции (больное животное), определить фактор передачи (мясо) и оперативно доказать неблагоприятную эпизоотолого-эпидемиологическую ситуацию на данной территории [1, 2].

Основное направление исследований по разработке тестов экспресс-диагностики ориентировано не только на сокращение времени учета результатов, повышение чувствительности, специфичности и воспроизводимости анализа, но и на максимальную простоту постановки реакций и сокращение энерго- и трудозатрат. Одними из последних примеров подобных разработок являются экспериментальные образцы «Набор реагентов для определения спор *Bacillus anthracis* в реакции латекс-агглютинации» и

«Набор реагентов для быстрой идентификации вегетативной формы возбудителя сибирской язвы (Тест-полоска *B. anthracis*)», сконструированные в ФГУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии».

Принцип работы латексного диагностикума основан на специфическом взаимодействии спор *B. anthracis* с моноклональными антителами (МКА), сорбированными на латексе, что приводит к агглютинации латексных частиц. Учет результатов проводят визуально по четырехкрестовой системе. Чувствительность при выявлении спор *B. anthracis* методом латексной агглютинации составляет $2 \cdot 10^6$ спор/мл. Латексный сибиреязвенный диагностикум не выявляет гетерологичные культуры рода *Bacillus* в споровой форме в концентрации $2,5 \cdot 10^8$ спор/мл и ниже.

Иммунохроматографические тесты (ИХТ) – портативные индикаторные полоски – «стрипы». Принцип действия иммунохроматографического стрип-теста для выявления антигена состоит в том, что после погружения стрипа в суспензию (раствор) исследуемого материала, содержащего целевой антиген, происходит его связывание с первыми, мечеными коллоидным золотом, антителами. Коллоидное золото позволяет визуализировать образовавшиеся иммунные комплексы в виде полосы в тест-зоне индикаторной полоски. Учет результата проводят визуально через 15–20 мин. «Тест-полоска *B. anthracis*» обладает чувствительностью 10^9 м.к./мл и высоким уровнем специфичности – при использовании микробных взвесей штаммов близкородственных сапрофитов рода *Bacillus* были получены только отрицательные результаты.

В июле 2010 г. в Тюкалинском районе Омской области зарегистрирована эпизоотия сибирской язвы с эпидемическими осложнениями. Из крови больного генерализованной формой сибирской язвы врачами-бактериологами ФГУЗ «Центр гигиены и

эпидемиологии в Омской области» была выделена культура, предположительно *B. anthracis*. Для дальнейшей идентификации культура направлена в ФГУЗ ИркутскНИПЧИ Сибири и ДВ. Для изучения культуры использованы различные методы лабораторной диагностики (ПЦР в «реальном времени», МФА, бактериоскопический, бактериологический, биологический), в том числе и реакция латекс-агглютинации и иммунохроматография. Результаты лабораторной диагностики однозначно подтвердили принадлежность исследуемой культуры к *B. anthracis*. Образцы экспериментальных тест-систем явились дополнением к комплексу уже существующих коммерческих тестов, обозначив при этом такие свои несомненные преимущества, как быстрота постановки и учета результатов, относительная дешевизна из-за малого состава набора реагентов и отсутствия необходимости в специальных приборах. К недостаткам тест-систем следует отнести некоторую субъективность оценки результатов в спорных моментах, что, безусловно, не является причиной для отказа от их использования, поскольку окончательный ответ дается на основании результатов, полученных комплексом методов лабораторной диагностики.

Испытанные экспериментальные серии тест-систем для ускоренной диагностики сибирской язвы могут быть внедрены в практическую работу для идентификации возбудителя сибирской язвы.

Работа выполнена по государственному контракту № 56-Д/2 от 29.06.2010 г. в рамках реализации федеральной целевой программы «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2009–2013 годы)».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Балахонov С.В., Мосорова А.В., Иванова Т.А., Кравец Е.В., Юзвик Л.Н., Колесникова О.Б. и др. Экспресс-диагностика сибирской язвы во время вспышки в Баргузинском районе Республики Бурятия. Журн. инф. патол. 2009; 16(1):31.
2. Балахонov С.В., Болосинов А.Б., Дугаржапова З.Ф., Шобоева Р.С., Родзиковский А.В., Иванова Т.А. и др. Эпидемиологическая ситуация по сибирской язве в Республике Бурятия. Дез. дело. 2009; 2:44–7.
3. Ерошенко Г.А., Кутырев В.В. Молекулярные аспекты изучения возбудителей особо опасных бактериальных инфекций (обзор). Пробл. особо опасных инф. 2003; 86:54–68.
4. Онищенко Г.Г., Кузькин Б.П., Кутырев В.В., Щербакова С.А., Пакскина Н.Д., Топорков А.В. Актуальные направления

совершенствования лабораторной диагностики особо опасных инфекционных болезней. Пробл. особо опасных инф. 2010; 1(99):5–10.

E.V.Kravets, Z.F.Dugarzhapova, A.V.Rodzikovskiy, A.E.Khlyntseva, N.M.Luneova, E.V.Belova, N.V.Kolosova, S.Yu.Rudnitskiy, P.V.Solov'ev, E.V.Baranova, S.F.Biketov

Application of Latex Agglutination and Immune Chromatography Methods for Rapid Identification of *Bacillus anthracis* Cultures in the Epidemiological Investigation of Outbreaks

Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East; State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk

Approbation of the experimental series of latex agglutination and immune chromatography test-systems was carried out for identification of *Bacillus anthracis* spores and vegetative cells respectively. These test-systems are suitable for rapid diagnostics of anthrax and have a number of advantages over already-existing commercial tests.

Key words: anthrax, rapid tests, latex agglutination, immune chromatography.

References (Presented are the Russian sources in the order of citation in the original article)

1. Balakhonov S.V., Mosorova A.V., Ivanova T.A., Kravets E.V., Yuzvik L.N., Kolesnikova O.B. et al. [Express-Diagnostics of Anthrax during the Outbreak in the Barguzinsky District of the Republic of Buryatia]. Zh. Infek. Patol. 2009; 16(1):31.
2. Balakhonov S.V., Boloshinov A.B., Dugarzhapova Z.F., Shoboeva R.S., Rodzikovskiy A.V., Ivanova T.A. et al. [Epidemiological Situation on Anthrax in the Republic of Buryatia]. Dез. Delo. 2009; 2:44–7.
3. Yeroshenko G.A., Kutyrev V.V. [Molecular Aspects of Studying of Particularly Dangerous Infections]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2003; 86:54–68.
4. Onishchenko G.G., Kouzkin B.P., Kutyrev V.V., Scherbakova S.A., Pakschina N.D., Toporkov A.V. [Current Trends of Perfection of Laboratory Diagnostics of Particularly Dangerous Infectious Diseases]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2009; 99:5–10.

Authors:

Kravets E.V., Dugarzhapova Z.F., Rodzikovskiy A.V. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East. Trilissera St., 78, Irkutsk, 664047, Russia. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Khlyntseva A.E., Luneva N.M., Belova E.V., Kolosova N.V., Rudnitskiy S.Yu., Solov'ev P.V., Baranova E.V., Biketov S.F. State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology. Obolensk, Moscow Region, 142279, Russia. E-mail: info@obolensk.org

Об авторах:

Кравец Е.В., Дугаржапова З.Ф., Родзиковский А.В. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и ДВ. 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Хлынцева А.Е., Лунева Н.М., Белова Е.В., Колосова Н.В., Рудницкий С.Ю., Соловьев П.В., Баранова Е.В., Бикетов С.Ф. Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии. 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, п. Оболensk. E-mail: info@obolensk.org

Поступила 18.01.11.