

Н.П.Храпова, В.В.Алексеев

## СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ СЕРОДИАГНОСТИКИ МЕЛИОИДОЗА

*ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт», Волгоград*

Аналитический обзор посвящен вопросам серодиагностики мелиоидоза и перспективам ее совершенствования. Материалы цитируемых публикаций отражают значимость обнаружения специфических антител в исследуемых пробах как для ранней, так и ретроспективной диагностики мелиоидоза, а также для корректного лечения больных этой опасной инфекцией.

В обзоре обобщены сведения о современных подходах к выбору метода серодиагностики в эндемичных и неэндемичных зонах распространения возбудителя инфекции, достоинствах и ограничениях наиболее широко применяемых методов обнаружения специфических антител (РНГА и ТИФМ). В последние годы внимание профильных специалистов направлено преимущественно на создание коммерчески доступных иммуноферментных тест-систем для обнаружения антител к возбудителю мелиоидоза, что обеспечит внедрение ТИФМ в лабораторную практику раннего выявления случаев заболевания людей мелиоидозом.

*Ключевые слова:* мелиоидоз, методы обнаружения антител.

N.P.Khrapova, V.V.Alekseev

### Current State of Human Melioidosis Serodiagnostics

*Volgograd Research Anti-Plague Institute, Volgograd*

This analytical review is devoted to matters of human melioidosis serodiagnostics and prospects of its development and enhancement. Materials of the publications cited reflect particular significance of the specific antibody detection, for both the early and retrospective diagnostics of human melioidosis, as well as for the correct treatment of patients.

Summarized are the data on modern approaches to the selection of serodiagnostics methods in the endemic and non-endemic areas, on the advantages and limitations of the most widely applicable methods for the specific antibody detection (indirect hemagglutination test and solid-phase ELISA). In recent years, development of commercially available enzyme-linked test systems for the detection of antibodies to human melioidosis agent has become an object of intense interest, as this will provide for solid-phase ELISA implementation into the laboratory practice for early detection of melioidosis cases in humans.

*Key words:* melioidosis, methods of antibody detection.

Вопросы раннего выявления случаев заболевания людей мелиоидозом постоянно находятся в поле зрения специализированных лабораторий в связи с существующим риском завоза инфекции на территорию Российской Федерации из регионов эндемичного распространения *Burkholderia pseudomallei*, а также в контексте рассматриваемых сценариев биотеррористических атак с применением данного микроорганизма [4, 12, 17, 19]. Как в первом, так и во втором случае будут востребованы не только средства обнаружения патогена, но и средства серодиагностики.

При возникновении чрезвычайных ситуаций, обусловленных предполагаемым или реализованным биотеррористическим актом, сеть наблюдения и лабораторного контроля гражданской обороны Российской Федерации последовательно переходит на режим повышенной готовности, затем – на режим чрезвычайной ситуации. При этом лабораторный контроль регламентированных объектов исследования в части установления факта применения биологических агентов нацелен на своевременное обнаружение и идентификацию патогенов [3]. После появления спорадических или массовых случаев заболеваний людей, лаборатории, работающие по схеме индикации биологических средств, будут получать разнообразные пробы, в том числе пробы клиниче-

ского материала. С этого момента, помимо выявления антигена (возбудителя инфекции), сотрудники лабораторной службы приступают к обнаружению специфических антител, в частности, к возбудителю мелиоидоза. Выявление специфических антител имеет существенное значение для постановки правильного диагноза мелиоидоза и начала своевременного лечения [33, 37].

Для этих целей был разработан ряд тестов, каждый из которых имеет определенные ограничения [11, 36, 45, 47]. Наиболее информативными иммунодиагностическими тестами, пригодными для использования в практических лабораториях, признаны реакция непрямой гемагглютинации (РНГА) и твердофазный иммуноферментный метод (ТИФМ).

Несмотря на большое число публикаций, посвященных результатам применения РНГА и ТИФМ для серодиагностики мелиоидоза, единой тактики применения РНГА с диагностикумами эритроцитарными антигенными и тест-систем иммуноферментных для обнаружения антител не предложено. Остается открытым вопрос о диагностических титрах антител в сыворотках крови людей, находящихся в регионах эндемичного распространения возбудителя мелиоидоза или вне этих регионов. Определенные сложности возникают при разработке технологий изготовле-

ния препаратов и тест-систем, выявляющих только антитела к антигенам возбудителя мелиоидоза. Для большей части средств характерна группоспецифичность, проявляющаяся во взаимодействии с антителами не только мелиоидозных сывороток, но сывороток к антигенам близкородственных буркхольдерий.

В регионах эндемичного распространения *B. pseudomallei* при широкомасштабных сероэпидемиологических исследованиях чаще всего используют РНГА с диагностикумами эритроцитарными антигенными, приготовленными на основе различных антигенов данного микроорганизма [9, 21, 33]. Подавляющее большинство препаратов выявляют антитела не только к *B. pseudomallei*, но и к *B. mallei* и *B. thailandensis*. Этот недостаток можно устранить, используя модификацию традиционного метода, разработанную R.Tiyawisuttri et al. [41], позволяющую исключить перекрестную активность диагностикума в отношении *B. thailandensis*, но не *B. mallei*.

Известно, что среди населения эндемичных территорий имеется определенный процент серопозитивных лиц. Так, в Малайзии при исследовании 200 доноров у 53 из них были выявлены антитела к *B. pseudomallei* в титрах равных или превышавших 1:40 [28]. Наличие фоновых антител создает трудности при постановке правильного диагноза и является одним из основных ограничений при корректной расшифровке результатов РНГА.

С помощью РНГА выявляют в среднем 20–25 % серопозитивных лиц среди населения отдельных провинций и областей Юго-Восточной Азии и Австралии [14, 28, 43]. При этом диапазон значений титров антител составляет 1:40–1:160, что затрудняет корректное диагностирование заболевания, особенно в случаях субклинических форм течения мелиоидоза. При выявлении антител к *B. pseudomallei* в титрах > 1:160 обязательным является бактериологическое подтверждение мелиоидозной инфекции [43]. Это способствует установлению точного диагноза в конкретном случае и объективной оценке заболеваемости мелиоидозом в соответствующем регионе.

В гиперэндемичных областях ценность результатов РНГА снижается, так как уровень серопозитивности населения, включая детей и подростков (от 4 до 15 лет), достигает 70 % [13, 14]. По данным A.C.Cheng et al., относительные показатели числа серопозитивных лиц среди детско-подросткового контингента и ежегодного прироста этих показателей могут служить своеобразными маркерами эпидемиологической обстановки в той или иной провинции [14].

При клинических ситуациях результаты РНГА не всегда отражают тяжесть состояния больного. Установлено, что у ряда пациентов с острым сепсисом уровень антител недостаточно высок для выявления в РНГА, что чревато получением ложноотрицательных результатов [9]. В ряде случаев низкие титры антител в РНГА, регистрируемые у больных с септициемией, обусловлены их инфицированием *B. pseudomallei* с атипичным вариантом ЛПС [8, 30].

Диагностическая и прогностическая ценность метода в подобных ситуациях минимальна.

В неэндемичных регионах, где регистрируют лишь спорадические завозные случаи заболевания, ограничение, обусловленное наличием фоновых антител, не столь существенно; РНГА используют в качестве одного из методов диагностики мелиоидоза [48].

Следует отметить, что отсутствие стандартного коммерческого препарата для серодиагностики мелиоидоза не позволило сформировать единую точку зрения в отношении диагностического титра выявляемых антител для лиц, инфицированных *B. pseudomallei*, перенесших заболевание или временно находившихся в зонах распространения инфекции. Как следствие этого в конкретных клинических ситуациях возникают трудности при расшифровке результатов данного метода серодиагностики.

Для диагностирования острых форм заболевания ранее был предложен тест выявления специфических IgM [10], однако ввиду отсутствия результатов большого числа наблюдений, его значимость на сегодняшний день до конца не ясна.

В нашей стране накоплен определенный опыт в части изготовления диагностикума эритроцитарного антигенного мелиоидозного. Сотрудники ВолгоградНИПЧИ для конструирования экспериментальных образцов такого препарата использовали различные антигены, изолированные из *B. pseudomallei*: водно-солевые экстракты, ПС фракции, ЛПС, «цетавлоновый» антиген, 6+d антиген [1, 2]. Эти препараты были апробированы при экспериментальном моделировании инфекции, их эффективность в клинических ситуациях не определена. Практически все они обладали относительно невысоким уровнем специфичности, так как были приготовлены на основе антигенных комплексов, способных взаимодействовать с антителами сапных, тулярийных, бруцеллезных, сальмонеллезных сывороток. По мнению Н.Н.Пивня, наиболее значимыми для серодиагностики мелиоидоза являются антигены 5, 6, 8 и d.

В настоящее время на рынке отечественных коммерческих МИБП для серодиагностики мелиоидоза и сапа представлен единственный препарат «диагностикум эритроцитарный для выявления антител к возбудителям мелиоидоза и сапа антигенный жидкий» (ФСП 42-0095-0224-00), разработанный сотрудниками ФГУ «48 ЦНИИ МО» (Киров).

Несмотря на ряд недостатков и ограничений, РНГА востребована в регионах эндемичного распространения *B. pseudomallei* как простой в исполнении метод, обеспечивающий получение ответа существенно раньше, чем при бактериологическом исследовании, не требует больших трудо- и материальных затрат, а также сложной аппаратуры [9]. В небольших и слабо оснащенных лабораториях его по-прежнему используют как для эпидемиологических исследований, так и для диагностики мелиоидоза.

Совершенствование серодиагностики мелиоидоза связано, прежде всего, с разработкой различных

вариантов ТИФМ и широким внедрением этого метода в практику обнаружения специфических антител к антигенам патогенных буркхолдрий.

Изучением возможности использования ТИФМ для целей обнаружения антител к *B. pseudomallei* начали заниматься в 90-х годах прошлого столетия. Необходимо было решить вопросы выбора антигена для создания высокоэффективной твердой фазы, провести сравнительный анализ чувствительности и специфичности ТИФМ и РНГА, выработать тактику применения этих методов в условиях эндемичных и неэндемичных зон распространения возбудителя мелиоидоза.

Были апробированы разнообразные экспериментальные иммуноферментные тест-системы, приготовленные на основе идентифицированных и охарактеризованных мелиоидозных антигенов: 36 kDa экзотоксина [22], 19,5 [7] и 40 kDa белков [46], ЛПС [6, 32], гликолипида [32], однако ни один из них, использованный в ТИФМ в качестве лиганда, до сих пор не оценен в широкомасштабных испытаниях с точки зрения клинической значимости.

Установлено, что для разработки тест-системы иммуноферментной мелиоидозной, предназначенной для обнаружения антител, целесообразно использовать антигены 8 и 6, аффинно очищенные на моноклональных иммуносорбентах [5].

Позже появились сообщения об использовании аффинно очищенного поверхностного экзополисахарида с молекулярной массой  $\geq 150$  kDa в непрямом варианте ТИФМ при обнаружении антител к *B. pseudomallei* [34]. Диагностическая ценность иммуноферментной тест-системы, приготовленной на основе этого антигена, подтверждена в условиях эндемичного региона при работе с пробами клинического материала [20]. Авторы публикации пришли к заключению, что при использовании поверхностного антигена выявление специфических IgG антител имеет преимущества при диагностике острого мелиоидоза, так как применение этой же тест-системы для обнаружения IgM было не столь удачным. Эти результаты противоречат ранее опубликованным данным о том, что при диагностике острого мелиоидоза обнаружение IgM антител является более эффективным и значимым, чем обнаружение IgG [10, 23, 24 25].

Последующее накопление данных по вопросу тактики применения иммуноферментных тест-систем, предназначенных для выявления IgM и IgG к внеклеточным антигенам *B. pseudomallei*, позволило установить, что на ранней стадии развития инфекции чувствительность метода при обнаружении IgM составляет 80 %, специфичность – 70 %, а после появления IgG и нарастания их титров эти показатели достигают 99 и 96 % соответственно [15].

Для повышения эффективности поиска специфических антител в эндемичных регионах J.Vadivelu *et al.* рекомендовали применять два метода серодиагностики: IgM-ELISA и РНГА [42].

В этих регионах специалисты особенно пристально изучают нераспознанные случаи острой инфекции. В связи с этим обсуждению подлежат не только вопросы эпидемиологии и клиники мелиоидоза, но и эффективной серодиагностики. S.Sutthirattana *et al.* обобщили результаты исследования сывороток лихорадивших стационарных больных и выздоравливающих пациентов, полученные в зонах эндемичного распространения возбудителя инфекции в течение трех лет. Это позволило им выработать критерии оценки данных получаемых анализов: лихорадящие пациенты с титрами IgM  $\geq 1:200$  или  $\geq 4$ -кратным подъемом IgG – это больные в острой фазе мелиоидоза; выявление у нелихорадящих больных титров IgG  $\geq 1:400$  – свидетельство перенесенной ранее инфекции [40].

Помимо сообщений о разработке и применении на практике общепринятого варианта ТИФМ, опубликованы данные о дальнейшем совершенствовании тестов серодиагностики мелиоидоза, в частности, о применении иммунохроматографических тестов для быстрого выявления IgG и IgM [16, 18, 19, 33]. В 2000 г. был разработан коммерчески доступный иммунохроматографический тест для обнаружения мелиоидозных IgM и IgG антител в сыворотках больных с подтвержденным и неустановленным диагнозом. Чувствительность теста составляла для IgM и IgG 93 и 100 % соответственно, специфичность как в первом, так и во втором случае была равна 95 % [18]. В эндемичных регионах с недостаточными возможностями лабораторных баз эти тесты могут сыграть важную роль в постановке диагноза.

R.W.Sermiswan *et al.*, оценивая реальные возможности применения серологических реакций в условиях этих сложных регионов распространения данной инфекции, пришли к заключению об их практичности и доступности для большинства лабораторий [35]. Заслуживают внимания данные о применении универсальных иммуноферментных тест-систем, предназначенных для выявления специфических антител в сыворотках любой видовой принадлежности [27].

Несомненный интерес представляют данные о результативности применения методов серодиагностики в неэндемичных регионах. Так, W.D.Spletstoeser *et al.* опубликовали результаты апробации иммуноферментной тест-системы, приготовленной ими на основе экзополисахарида *B. pseudomallei*, вне зон распространения возбудителя мелиоидоза. Авторы исследовали сыворотки больных мелиоидозом и доноров (48 и 200 сывороток соответственно) и пришли к выводу о пригодности данной тест-системы для использования в неэндемичных областях. Они отметили также необходимость разработки дополнительных методов исследования для подтверждения полученных данных, например, иммуноблоттинга с рекомбинантными антигенами [38].

В то же время, сотрудники диагностической службы Великобритании, исследуя пробы материа-



ла, собранные после установления 49 завозных случаев мелиоидоза в Европу (за десятилетний период), использовали среди прочих тест-систему иммуноферментную для обнаружения сывороточных антител к консервативной области ЛПС *B. pseudomallei*. При тестировании 202 образцов сывороток от 179 пациентов были выявлены 8 сывороток с титрами  $\geq 1:2000$ . У этих же пациентов была выделена культура *B. pseudomallei* [26].

Многие специалисты, занимающиеся диагностикой мелиоидоза, отдавая должное простоте и информативности РНГА, основным методом серодиагностики этой опасной инфекции считают непрямой вариант ТИФМ. А перспективы дальнейшего совершенствования этого метода связывают с получением и использованием рекомбинантных белков, специфичных для *B. pseudomallei*, в качестве основы разрабатываемых тест-систем [44].

Проблема эффективной серодиагностики мелиоидоза не теряет актуальности и требует повышенного внимания специалистов к исследованию проб сыворотки крови у людей с неустановленным диагнозом на фоне симптомокомплекса, характерного для вышеуказанной особо опасной инфекции.

Необходимость в повышении степени подготовленности материальной базы специализированных лабораторий к воспроизведению этапов серодиагностики мелиоидоза обусловлена не только опасностью возникновения «ассиметричной угрозы» вследствие биотеррористического акта. Аналитические данные о завозных случаях мелиоидоза в Европу [26], регистрируемом расширении границ зон эндемичного распространения возбудителя мелиоидоза, его глобального распространения [17, 19] фокусируют внимание специалистов на существующем риске завоза инфекции на территорию любой страны, на востребованности высокоэффективных препаратов для серодиагностики мелиоидоза вне эндемичных зон распространения патогена [39].

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Барков А.М., Ларионов Г.М., Дунаев Г.С., Лобанов А.Н. Использование РНГА для диагностики сапа и мелиоидоза. В кн: Особо опасные инфекционные заболевания: диагностика, профилактика и биологические свойства возбудителей. Волгоград; 1990. Вып. 4. С. 200–1.
2. Замарин А.Е., Пивень Н.Н., Мананакоев В.В., Манолов А.Д., Волков Е.А. Поиск оптимального набора антигенов возбудителей сапа и мелиоидоза, пригодных для получения высокоэффективных группоспецифических сывороток. В кн: Особо опасные инфекционные заболевания: диагностика, профилактика и биологические свойства возбудителей. Волгоград; 1990. Вып. 4. С. 230–3.
3. Онищенко Г.Г., редактор. Специфическая индикация патогенных биологических агентов. Практическое руководство. М.: МП Гигиена, 2006. 288 с.
4. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней. Практическое руководство. М.: Медицина, 2009. 472 с.
5. Пивень Н.Н., Смирнова В.И. Выделение, очистка и химический состав поверхностного полисахаридного антигенного комплекса возбудителя мелиоидоза. В кн: Особо опасные инфекционные заболевания: диагностика, профилактика и биологические свойства возбудителей. Волгоград; 1990. Вып. 4. С. 111–7.
6. Anandan S., Augustine A., Mathai E., Jesudason M.V. Evaluation of IgM ELISA using a sonicate and a lipopolysaccharide antigen for the serodiagnosis of melioidosis. Indian J. Med. Microbiol.

2010; 28(2):158–61.

7. Anuntagool N., Rugdech P., Sirisinha S. Identification of specific antigens of *Pseudomonas pseudomallei* and evaluation of their efficacies for diagnosis of melioidosis. J. Clin. Microbiol. 1993; 31:1232–6.
8. Anuntagool N., Intachote P., Wuthiekanun V., White N., Sirisinha S. Lipopolysaccharide from nonvirulent Ara<sup>+</sup> *Burkholderia pseudomallei* isolates in immunologically indistinguishable from lipopolysaccharide from virulent Ara<sup>+</sup> clinical isolates. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 1998; 5:225–9.
9. Appassakij H., Silpapojakul K.R., Wansit R., Pornpatkul M. Diagnostic value of the indirect hemagglutination test for melioidosis in an endemic area. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1990; 42(3):248–53.
10. Ashdown L.R. Relationship and significance of specific immunoglobulin M antibody response in clinical and sub-clinical melioidosis. J. Clin. Microbiol. 1981; 14:361–4.
11. Ashdown L.R., Johnson R.W., Koehler J.M., Coony C.A. Enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of clinical and subclinical melioidosis. J. Infect. Dis. 1989; 160:253–60.
12. Bossi P., Guihot A., Bricare F. Emerging or re-emerging infections that can be used for bioterrorism. Press Med. 2005; 34(2, Pt.2):149–55.
13. Chaowagul W. Update on clinical aspects of melioidosis. In: Abstracts of the 5<sup>th</sup> World Melioidosis Congress (21–23 Nov 2007), Thailand. 2007. P. 52.
14. Cheng A.C., Wuthiekanun V., Limmathurotsakul D., Chieracul W., Peacock S.J. Intensity of exposure and incidence of melioidosis in Thai children. In: Abstracts of the 5<sup>th</sup> World Melioidosis Congress (21–23 Nov 2007), Thailand. 2007. P. 115.
15. Chenthamarakshan V., Vadivelu J., Puthucherry S.D. Detection of immunoglobulins M and G to culture supernatant antigen of *Burkholderia pseudomallei* in melioidosis patients. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2001; 39(1):1–7.
16. Chuah S.C., Gilmore G., Norton R.E. Rapid serological diagnosis of melioidosis: an evaluation of a prototype immunochromatographic test. Pathology. 2005; 37(2):169–71.
17. Currie B.J., Dance D.A.B., Cheng A.C. The global distribution of *Burkholderia pseudomallei* and melioidosis: an update. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 2008; 102(1):1–4.
18. Cuzzubbo A.J., Chenthamarakshan V., Valivelu J., Puthucherry S.D., Rowland D., Devine P.L. Evaluation of a new commercially available immunoglobulin M and immunoglobulin G immunochromatographic test for diagnosis of melioidosis infection. J. Clin. Microbiol. 2000; 38(4):1670–1.
19. Dance D.A. Melioidosis as an emerging global problem. Acta Trop. 2000; 74(2–3):115–9.
20. Dharakul T., Songsivilai S., Anuntagool N., Chaowagul W., Wongbunnate S., Intachote P. et al. Diagnostic value of an antibody enzyme-linked immunosorbent assay using affinity-purified antigen in an area endemic for melioidosis. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1997; 56(4):418–23.
21. Gilmore G., Barnes J., Ketheesan N., Norton R. Comparison of the use of *Burkholderia thailandensis*, *B. cepacia* and *B. pseudomallei* antigens in indirect haemagglutination assay for melioidosis. In: Abstracts of the 5<sup>th</sup> World Melioidosis Congress (21–23 Nov 2007), Thailand. 2007. P. 231.
22. Ismail G., Embi M.N., Omar O. Enzyme-immunoassay for the detection of antibody to *Pseudomonas pseudomallei* exotoxin in mice. FEMS Microbiol. Lett. 1987; 40(1):27–31.
23. Khupulsup K., Petchclai B. Application of indirect hemagglutination test and indirect fluorescent antibody test for IgM antibody for diagnosis of melioidosis in Thailand. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1986; 35:366–9.
24. Kunakorn M., Boonma P., Khupulsup K., Petchclai B. Enzyme-linked immunosorbent assay for immunoglobulin M specific antibody for diagnosis of melioidosis. J. Clin. Microbiol. 1990; 28:249–53.
25. Kunakorn M., Petchclai B., Khupulsup K., Naigowit P. Gold blot for detection of immunoglobulin M (IgM)- and IgG-specific antibodies for rapid serodiagnosis of melioidosis. J. Clin. Microbiol. 1991; 29:2065–7.
26. Malnick H., Englander H.M., Dance D.A., Smith M.D., Simpson A.J., Pitt T.L. A decade of experience of the United Kingdom's melioidosis diagnostic service. In: Abstracts of the 5<sup>th</sup> World Melioidosis Congress (21–23 Nov 2007), Thailand. 2007. P. 229.
27. Mekaprateep M., Tharavichitkul P., Srikittakarn L. Application of a non-species dependent ELISA for the detection of antibodies in sera of *Burkholderia pseudomallei*-immunized goats. J. Microbiol. Methods. 2010; 83(2):266–9.
28. Norazah A., Rohani M.Y., Chang P.T., Kamel A.G. Indirect hemagglutination antibodies against *Burkholderia pseudomallei* in normal blood donors and suspected cases of melioidosis in Malaysia. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health. 1996; 27(2):263–6.
29. O'Brien M., Freeman K., Lum G., Cheng A.C., Jacups S.P., Currie B.J. Further evaluation of a rapid diagnostic test for melioidosis in an area of endemicity. J. Clin. Microbiol. 2004; 42(5):2239–40.
30. Perry M.B., Maclean L.L., Schollaardt T., Bryan L.E., Ho

M. Structural characterization of lipopolysaccharide O antigens of *Burkholderia pseudomallei*. Infect. Immun. 1995; 63:3348–52.

31. Petkanjanapong V., Naigowit P., Kondo E., Kanai K. Use of endotoxin antigens in enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of *P. pseudomallei* infections (melioidosis). Asian Pacific J. Allergy Immunol. 1992;10:145–50.

32. Phung L.V., Han Y., Oka S., Hotta H., Smith M.D., Theeparakun P. et al. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using glycolipid antigen for the serodiagnosis of melioidosis. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 1995; 12(3–4):259–64.

33. Puthucheary S.D. Human melioidosis. Singapore University Press, Singapore; 2002. 95 p. (in Laboratory investigations. P. 46–62).

34. Rugdech P., Anuntagool N., Sirisinha S. Monoclonal antibodies to *Pseudomonas pseudomallei* and their potential for diagnosis of melioidosis. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1995; 52(3):231–5.

35. Sermswan R.W., Wongratanacheewin S., Anuntagool N., Sirisinha S. Comparison of the polymerase chain reaction and serologic tests for diagnosis of septicemic melioidosis. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2000; 63(3–4):146–9.

36. Sirisinha S., Anuntagool N., Intachote P. Improved methods for diagnosis of melioidosis. J. Sci. Soc. Thailand. 1996; 22:131–42.

37. Sirisinha S., Anuntagool N., Dharakul T., Ekpo P., Wongratanacheewin S., Naigowit P. et al. Recent developments in laboratory diagnosis of melioidosis. Acta Trop. 2000; 74:235–45.

38. Splettstoesser W.D., Puthucheary S.D., Kopf S., Buckendahl A., Frangoulidis D. Serodiagnosis of melioidosis in a non-endemic area: validation and comparison of an extrapolymerase chain reaction (EPS)-based in-house ELISA and standardized lateral flow assays. In: Abstracts of the 5<sup>th</sup> World Melioidosis Congress (21–23 Nov 2007), Thailand. 2007. P. 243.

39. Splettstoesser W.D., Frangoulidis D., Puthucheary S.D. Validation and comparison of an extrapolymerase chain reaction (EPS)-based in-house ELISA and PanBio melioidosis in a non-endemic area. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 2008; 102(Sup. 1):45–6.

40. Sutthirattana S., Petkanjanapong W., Baggett H., Maloney S.A., Fisk T.L., Chaitha I. et al. Epidemiologic and clinical characteristics of acute melioidosis and prevalence of *Burkholderia pseudomallei* antibodies among patients to community hospitals in northern and northeastern Thailand. In: Abstracts of the 5<sup>th</sup> World Melioidosis Congress (21–23 Nov 2007), Thailand. 2007. P. 117.

41. Tiya-wisut-sri R., Peacock S.J., Langa S., Limmathurotsakul D., Cheng A.C., Chierakul W. et al. Antibodies from patients with melioidosis recognize *Burkholderia mallei* but not *Burkholderia thailandensis* antigens in the indirect hemagglutination assay J. Clin. Microbiol. 2005; 43(9):4872–4.

42. Vadivelu J., Puthucheary S.D., Gendeh G.S., Parasakhi N. Serodiagnosis of melioidosis in Malaysia. Singap. Med. J. 1995; 36(3):299–302.

43. Withiekanun V., Langa S., Swaddiwudhipong W., Jedsadapanpong W., Kaengnet Y., Chierakul W. et al. Melioidosis in Myanmar: forgotten but not gone? In: Abstracts of the 5<sup>th</sup> World Melioidosis Congress (21–23 Nov 2007), Thailand. 2007. P. 119.

44. Wongprompitak P., Thepthai C., Songsivilai S., Dharakul T. *Burkholderia pseudomallei*-specific recombinant protein and its potential in the diagnosis of melioidosis. Asian Pac. J. Allergy Immunol. 2001; 19(1):37–41.

45. Wongratanacheewin S., Sermswan R.W., Anuntagool N., Sirisinha S. Retrospective study on the diagnostic value of IgG ELISA, dot immunoassay and indirect hemagglutination in septicemic melioidosis. Asian Pac. J. Allergy Immunol. 2001; 19(2):129–33.

46. Wongratanacheewin S., Amornpant S., Sermswan R.W., Tattawasart U., Wongwajana S. Use of culture-filtrated antigen in an ELISA and a dot immunoassay for diagnosis of melioidosis. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health. 1995; 26(2):329–34.

47. Wuthiekanun V., Amornchai P., Chierakul W., Cheng A.C., White N.J., Peacock S.J., Day N.P. Evaluation of immunoglobulin M (IgM) and IgG rapid cassette test kits for diagnosis of melioidosis in an area of endemicity. J. Clin. Microbiol. 2004; 42(8):3435–7.

48. Yap E.H., Chan Y.C., Ti T.Y. et al. Serodiagnosis of melioidosis in Singapore by the indirect haemagglutination test. Singap. Med. J. 1991; 32(4):211–3.

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

1. Barkov A.M., Larionov G.M., Dunaev G.S., Lobanov A.N. [Usage of passive hemagglutination test for the diagnostics of glanders and melioidosis]. In: [Particularly Dangerous Infectious Diseases: Diagnostics, Prophylaxis, and Biological Properties of the Agents]. 1990; 4:200–1.

2. Zamarin A.E., Piven N.N., Mananakov V.V., Manolov A.D., Volkov E.A. [Search for an optimal set of antigens of glanders and melioidosis agents, suitable for the obtainment of high efficiency group-specific sera]. In: [Particularly Dangerous Infectious Diseases: Diagnostics, Prophylaxis, and Biological Properties of the Agents]. 1990; 4:230–3.

3. Onishchenko G.G., editor [Specific Indication of Pathogenic Biological Agents. Practical Guidelines]. M.: MP Gigiena, 2006. 288 p.

4. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors. [Laboratory Diagnostics of Particularly Dangerous Infectious Diseases. Guidelines]. M.: Meditsina, 2009. 472 p.

5. Piven N.N., Smirnova V.I. [Isolation, purification and chemical composition of the surface polysaccharide antigen complex of melioidosis agent]. In: [Particularly Dangerous Infectious Diseases: Diagnostics, Prophylaxis, and Biological Properties of the Agents]. 1990; 4:111–7.

## Authors:

Khrapova N.P., Alekseev V.V. Volgograd Research Anti-Plague Institute. Golubinskaya St., 7, Volgograd, 400131, Russia. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru

## Об авторах:

Храпова Н.П., Алексеев В.В. Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт. 400131, Волгоград, ул. Голубинская, 7. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru

Поступила 12.01.11.