



БИОТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ДИАГНОСТИКУМА ЛАТЕКСНОГО БРУЦЕЛЛЁЗНОГО АНТИГЕННОГО НА ОСНОВЕ ПОЛИАКРОЛЕИНОВЫХ МИКРОСФЕР

М.М. Курноскина*, И.В. Жарникова, Д.В. Русанова, А.Г. Кошкидько,
Е.В. Жданова, Д.Г. Пономаренко

*ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора
355035, Российская Федерация, Ставрополь, ул. Советская, 13–15*

Цель исследования состояла в разработке биотехнологии производства диагностикума латексного бруцеллёзного антигенного на основе полиакролеиновых микросфер, предназначенного для выявления антител против бруцеллёза в реакции агглютинации латекса при исследовании сывороток крови людей. Отработаны оптимальные условия сенсибилизации латекса антигеном в соотношении 1:3 при температуре 45°C в течение 3 ч с последующей блокировкой активных центров 0,5% желатином. Исследования показали высокую эффективность препарата в перспективе его использования для диагностики бруцеллёза. Аналитическая чувствительность диагностикума составила не менее 1:2560, при отсутствии перекрёстных реакций с гетерологичными сыворотками. Контроль диагностических характеристик экспериментальных серий препарата показал их чувствительность — 80%, специфичность — 93,33%.

Ключевые слова: бруцеллёз, реакция агглютинации латекса, полиакролеиновые микросферы, антигены

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Курноскина М.М., Жарникова И.В., Русанова Д.В., Кошкидько А.Г., Жданова Е.В., Пономаренко Д.Г. Биотехнология получения диагностикума латексного бруцеллёзного антигенного на основе полиакролеиновых микросфер. *Биомедицина*. 2024;20(4):18–26. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-4-18-26>

Поступила 18.03.2024

Принята после доработки 03.06.2024

Опубликована 10.12.2024

PRODUCTION BIOTECHNOLOGY FOR A BRUCELLOSIS ANTIGENIC LATEX DIAGNOSTICUM BASED ON POLYACROLEIN MICROSPHERES

Mariya M. Kurnoskina*, Irina V. Zharnikova, Diana V. Rusanova, Aleksandra G. Koshkidko,
Elena V. Zhdanova, Dmitriy G. Ponomarenko

*Stavropol Research Anti-Plague Institute of the Federal Service for Supervision
of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing of Russia
355035, Russian Federation, Stavropol, Sovetskaya Str., 13–15*

This research was aimed at developing a biotechnology for obtaining a latex brucellosis antigenic diagnosticum based on polyacrolein microspheres. This diagnosticum is intended for detecting antibodies against brucellosis in a latex agglutination reaction in human blood sera. Optimal conditions for latex sensitization with the antigen in the ratio of 1:3 at 45°C for 3 h followed by blocking of active centers with 0.5%

gelatin were determined. The developed preparation showed high efficiency, which confirmed its prospects for brucellosis diagnostics. The analytical sensitivity of the diagnosticum was not less than 1:2560, in the absence of cross-reactions with heterologous sera. The diagnostic characteristics of experimental series of the preparation in control testing showed a sensitivity of 80% and a specificity of 93.33%.

Keywords: brucellosis, latex agglutination reaction, polyacrolein microspheres, antigens

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

For citation: Kurnoskina M.M., Zharnikova I.V., Rusanova D.V., Koshkidko A.G., Zhdanova E.V., Ponomarenko D.G. Production Biotechnology for a Brucellosis Antigenic Latex Diagnosticum Based on Polyacrolein Microspheres. *Journal Biomed.* 2024;20(4):18–26. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-4-18-26>

Submitted 18.03.2024

Revised 03.06.2024

Published 10.12.2024

Введение

Бруцеллёз — заболевание, наиболее распространённое среди бактериальных зоонозов, которое наносит значительный экономический ущерб животноводству и представляет серьёзную угрозу общественному здравоохранению во всём мире [5]. Ежегодно во Всемирную организацию здравоохранения поступает информация о регистрации более 500 тыс. новых случаев заболевания людей бруцеллёзом [9, 11]. На территории Российской Федерации в среднем за последнее десятилетие ежегодно регистрировалось около 327 случаев заболеваний данным зоонозом [6].

Совершенствование комплекса лабораторной диагностики бруцеллёзной инфекции, полноценный клинический мониторинг инфекционного заболевания, контроль эффективности проводимой терапии, оценка напряжённости специфического иммунитета, индуцированного вакцинами, невозможны без надёжных и доступных для клинической лаборатории тестов, позволяющих оценить иммунологический статус и функциональную реактивность иммунной системы человека по отношению к возбудителю бруцеллёза [3].

Для совершенствования лабораторной диагностики необходимо создание простых и доступных методов исследования, что в свою очередь позволит сократить время проведения анализа и повысить досто-

верность полученных результатов. Один из таких методов — реакция агглютинации латекса (РАЛ), которая в последнее время получает всё большее распространение в мировой практике [4].

Простота и возможность постановки РАЛ практически в любых условиях делают её доступной для использования как в стационарных лабораториях любой степени оснащённости, так и в полевых условиях. Данный метод можно использовать и при одиночных, и при массовых исследованиях, что также добавляет ему ценности для лабораторной диагностики [2].

На мировом рынке представлен большой выбор латексных тест-систем для идентификации патогенов и серодиагностики инфекционных заболеваний: «Bio-Rad» (США), «Hardy diagnostics» (США), «Oxoid» (Великобритания), «HiMedia» (Индия), «BioMerieux» (Франция) и др.

Большинство латексных диагностикумов, зарегистрированных в России, предназначены для проведения слайд-агглютинации на специальных карточках или предметных стёклах, т. е. для проведения качественной реакции. Наиболее распространены наборы реагентов для определения С-реактивного белка и ревматоидного фактора в РАЛ (ЗАО «Эколаб», АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн», ООО фирмы «Имтек», ООО «Научно-производственная фирма «АБРИС+»,

ООО «Ольвекс Диагностикум»). В список отечественных латексных тест-систем также входят препараты для идентификации возбудителей инфекционных заболеваний производства ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» (Оболонск): *Haemophilus influenzae* тип b, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* тип A, *Neisseria meningitidis* тип B, *Neisseria meningitidis* тип C и *Neisseria meningitidis* тип W 135, *Listeria monocytogenes*, *Listeria pneumophila*, шигатоксинпродуцирующего штамма *Escherichia coli* O104:H4 и возбудителя геморрагического колита *Escherichia coli* O157:H7. Также ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» был зарегистрирован набор реагентов для определения *Francisella tularensis* путём проведения РАЛ в планшете с U-образным профилем лунок.

В ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» разрабатывают препарат на основе моноклональных антител для идентификации *Burkholderia pseudomallei* и *Burkholderia mallei*, которые являются возбудителями мелиоидоза и сапа соответственно. Данный препарат предназначен для проведения только качественной реакции, т. е. без определения концентрации антигена в пробе [8].

На базе ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» сконструирован псевдотуберкулёзный видоспецифический антигенный полимерный диагностикум для объёмной реакции агглютинации на основе препарата белков наружной мембраны *Yersinia pseudotuberculosis* сероварианта O:1a [7].

В ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора ранее проводилась работа по получению латексного чумного антигенного диагностикума, причём для проведения как качественной реакции, так и количественной [1].

Практической целью исследований стала разработка биотехнологии получения диагностикума латексного бруцеллёзного антигенного на основе полиакролеиновых микросфер, предназначенного для выявления антител против бруцеллёза в РАЛ при исследовании сыворотки крови людей.

Материалы и методы

В качестве носителя биолигандов в работе использовали суспензию полиакролеинового латекса «Акрорал-К» с диаметром частиц $1,2 \pm 0,1$ мкм (ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Россия). 20% суспензию латекса разводили физ. р-ром (0,9% NaCl) до 2% концентрации.

Корпускулярный антиген, предназначенный для сенсибилизации латексных микросфер, получали из клеток штамма *Brucella (B.) abortus* 19 ВА, находящегося в рабочей коллекции ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора. Культуру *B. abortus* 19 ВА выращивали на агаре Альбими (ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора) в суховоздушном термостате ТС-1/80 (ОАО «Смоленское СКТБСПУ», Россия) при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 72 ч. Затем в каждый матрац с культурой *B. abortus* 19 ВА вносили по 10 мл 12% р-ра NaCl, микробную биомассу смывали и пипеткой переносили во флаконы. Бактериальную массу обеззараживали прогреванием в жидкостной термобане ТЖ-ТБ-01/12Ц (ЗАО «Лабораторное Оборудование и Приборы», Россия) при 100°C в течение 60 мин. Специфическую стерильность проверяли бактериологическим методом. Обеззараженную взвесь доводили до концентрации 2×10^{10} м.к./мл в 12% р-ре NaCl с 0,5% фенола (ТУ 6-09-40-3245-90), добавляли 0,004% бриллиантового зелёного (ТУ 6-09-4278-88) и 0,002% генцианвиолета (ТУ 6-09-07-4119-75). Затем антиген, раз-

ведённый в 2,5 раза 0,9% р-ром NaCl, дезинтегрировали на приборе для ультразвуковой обработки Q125 («Qsonica LLC», США) в течение 2 мин при амплитуде колебаний 20% и режиме пульсации 10 через 5 сек. Титр полученного антигена в реакции агглютинации — не ниже 1:1000 (не менее 3+).

При изготовлении диагностикума использовали следующее оборудование: магнитная мешалка MSH-300i («Biosan», Латвия), центрифуга лабораторная ОПн-8 (ОАО «ТНК «ДАСТАН», Киргизия), холодильник с морозильной камерой LCv 4010 («Liebherr-Hausgeräte Lienz GmbH», Австрия).

В качестве блокирующих реагентов для получения специфических диагностикумов применяли желатин (ГОСТ 11293-2017), бычий сывороточный альбумин (БСА) («CDN», Австралия) и казеин (ГОСТ 31689-2012).

Для контроля аналитической чувствительности диагностикума использовали сыворотку диагностическую поливалентную бруцеллёзную сухую для реакции агглютинации (РА), титр 1:800 (ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Россия) и экспериментальную серию сыворотки агглютинирующей бруцеллёзной для РА, титр 1:3200 (ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, Россия).

Контроль аналитической специфичности проводили с гетерологичными сыворотками: сыворотка диагностическая холерная О1 адсорбированная сухая для РА (ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Россия); сыворотка диагностическая сальмонеллёзная адсорбированная О-поливалентная для РА (ЗАО «Эколаб», Россия); сыворотка диагностическая туляремийная сухая для РА (ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Россия).

Оценку диагностических чувствительности и специфичности осуществляли с сыворотками крови больных бруцеллёзом и неиммунных к возбудителю бруцеллёза людей соответственно. Тепловую инактивацию сывороток в разведении 1:10 проводили в термобане жидкостной при $56 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 30 мин. Работа с кровью проводилась согласно требованиям СанПиН 3.3686-21 и МУК 3.1.7.3402-16.

Для подтверждения и сравнения результатов параллельно с РАЛ проводили исследования сывороток по методам Хеддельсона и Райта с применением «Диагностикума бруцеллёзного жидкого для реакции агглютинации, суспензии для диагностических целей» (ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, Россия), а также использовали тест-системы для проведения ИФА производства АО «Вектор-Бест»: Бруцелла-IgA-ИФА-БЕСТ, Бруцелла-IgM-ИФА-БЕСТ, Бруцелла-IgG-ИФА-БЕСТ.

Для постановок РАЛ применяли полимерные круглодонные планшеты для иммунологических реакций (ТУ 9398-057-00480230-2009). В двенадцать лунок каждого ряда планшета механическим восьмиканальным дозатором вносили по 50 мкл разводящей жидкости — Твин-80 («Applichem», Германия) в разведении 1:51000. В первые лунки каждого ряда механическим одноканальным дозатором вносили по 50 мкл инактивированных сывороток в разведении 1:10. Делали последовательные двукратные разведения переносом по 50 мкл из одной лунки в другую до одиннадцатых лунок включительно, из последних 50 мкл удаляли. Таким образом, получали конечные разведения сывороток от 1:20 до 1:20480. Постановку реакции с каждой сывороткой осуществляли в двух повторностях. Последнюю лунку ряда использовали для контроля диагностикума (К-) без внесения в неё сыворотки. После титрования во все лунки добавля-

ли по одной капле (20 мкл) диагностикума латексного бруцеллёзного антигенного 0,2%. Содержимое планшета осторожно перемешивали покачиванием и оставляли при комнатной температуре под крышкой.

Учёт результатов проводили визуально через 2,5–3 ч, степень агглютинации оценивали по 4-крестовой системе. Положительной считали реакцию на 3–4 креста (рис.).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью Microsoft Excel («Microsoft Corp.», США). Коэффициент корреляции рассчитывали по методу Пирсона, для оценки силы корреляционной связи использовали таблицу Чеддока. Доверительные интервалы получены методом Клоппера—Пирсона. При оценке диагностических характеристик препарата применяли методы доказательной медицины с использованием четырёхпольных таблиц [10].

Результаты и их обсуждение

При создании диагностикума важным моментом было определение оптимальной концентрации сенсibiliзирующего антигена и условий его иммобилизации на латексных микросферах.

Антиген, полученный после ультразвуковой дезинтеграции, был использован для иммобилизации латексных микросфер. 2% р-р латекса и дезинтегрированный бруцеллёзный антиген смешивали в следующих соотношениях: 1:1, 1:2, 1:3, 1:4. Иммобилизацию проводили при перемешивании смеси на магнитной мешалке при 200 об./мин с соблюдением следую-

щих температурных режимов — 24, 37, 45 и 50°C. Время инкубации антигена с латексными микросферами — 1, 2, 3 и 4 ч.

Отмывку от несвязавшегося антигена осуществляли дважды 0,1 М фосфатно-солевым буферным р-ром путём центрифугирования при 6000 об./мин в течение 15 мин.

Осадок, содержащий латексные микросферы с иммобилизованным на их поверхности антигеном, ресуспендировали в 0,9% р-ре NaCl до рабочей концентрации диагностикума — 0,2%.

Наилучшие результаты были получены при соотношениях 2% р-ра латексных микросфер к антигену 1:3 и 1:4. Поскольку целесообразно исключить перерасход антигена, то выбрали вариант иммобилизации латекса антигеном в соотношении 1:3. Максимальное связывание библиганда с носителем происходило при температуре 45°C и времени инкубации 3 ч.

Аналитическая чувствительность полученного диагностикума составила не менее 1:2560. Наблюдалась перекрёстная реакция только с одной из трёх гетерологических сывороток — сывороткой диагностической туляремийной до ¼ её титра.

Для исключения проявления неспецифичных реакций с гетерологичной туляремийной сывороткой был проведён ряд экспериментов по блокировке свободных центров латексных микросфер. Использовали желатин в концентрации 0,1–1%, БСА — 0,1–0,2% и казеин — 0,05%.

Наилучший результат был достигнут с использованием при блокировке препарата 0,5% р-ром желатина с последующим разведением диагностикума до рабочей концен-

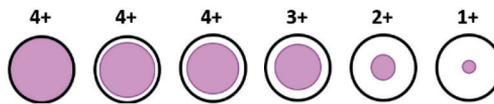


Рис. Распределение диагностикума на поверхности дна лунок планшета в зависимости от степени агглютинации.

Fig. Distribution of the diagnosticum over the bottom surface of wells depending on the agglutination degree.

трации в 0,1% р-ре желатина. Препараты с казеином не подлежат длительному хранению из-за микробного пророста, а также отмечено негативное влияние казеина на аналитическую чувствительность экспериментальных серий. Кроме того, при использовании БСА не сформировался отрицательный контроль.

Всего было проанализировано 5 серий препарата, изготовленных по отработанной вышеописанной технологии. Аналитическая чувствительность диагностикума составила 1:2560–1:5120 при полной специфичности. Данные по аналитической характеристике двух серий (в трёх повторах) представлены в таблице.

С использованием четырёхпольных таблиц проводилась оценка эффективности препарата по следующим показателям: чувствительность (Se), специфичность (Sp), диагностическая эффективность (De), отношение правдоподобия положительного результата (LR+) и отношение правдоподобия отрицательного результата (LR-).

При оценке диагностической специфичности диагностикума исследовали в РАЛ

30 сывороток крови людей, не болевших ранее бруцеллёзом и не вакцинированных против него, и получили положительные результаты в трёх сыворотках. Для подтверждения положительных результатов были проведены дополнительные исследования по методам Хеддельсона, Райта и ИФА. В результате проверки двух сывороток крови с титром в РАЛ 1:40 антитела не были выявлены. Методом ИФА в третьей пробе с титром в РАЛ 1:160 обнаружены иммуноглобулины против бруцеллёза (коэффициент позитивности (КП) IgA — 3,95; КП IgG — 1), но два других метода дали отрицательный результат. Таким образом, согласно проведённым исследованиям, диагностическая специфичность экспериментального препарата составила 93,33% (95% доверительный интервал (95% ДИ): 77,93–99,18%).

Диагностическую чувствительность проверяли на 20 сыворотках крови людей, серопозитивных к возбудителю бруцеллёза. В четырёх сыворотках выявлены антитела в титре 1:20, что ниже диагностического титра. Чувствительность РАЛ составила

Таблица. Аналитические характеристики латексного диагностикума
Table. Analytical characteristics of the developed latex diagnosticum

Сыворотки диагностические	Серия 3			Серия 5		
	1	2	3	1	2	3
<i>Аналитическая чувствительность</i>						
Сыворотка диагностическая поливалентная бруцеллёзная сухая для РА	1:2560 (4+)	1:2560 (4+)	1:2560 (3+)	1:2560 (4+)	1:2560 (3+)	1:2560 (4+)
Сыворотка агглютинирующая бруцеллёзная для РА	1:5120 (3+)	1:5120 (3+)	1:2560 (4+)	1:5120 (3+)	1:2560 (4+)	1:5120 (3+)
<i>Аналитическая специфичность</i>						
Сыворотка диагностическая холерная О1 адсорбированная сухая для РА	Отсутствует реакция в РАЛ					
Сыворотка диагностическая сальмонеллёзная адсорбированная О-поливалентная для РА						
Сыворотка диагностическая туляремиальная сухая для РА						

80% (95% ДИ: 56,34–94,27%) в сравнении с результатами ИФА, но при этом более чувствительна, чем реакция Райта, которая позволила выявить антитела только в 50% от общего количества исследуемых сывороток.

Диагностическая эффективность сконструированного латексного диагностикума, которая показывает долю правильных результатов теста среди всех обследованных, составляет 88% (95% ДИ: 75,69–95,47%).

Отношение правдоподобия положительного результата (LR+) составило 12. То есть, вероятность получения истинно положительного результата теста выше вероятности получения ложноположительного результата в 12 раз.

Отношение правдоподобия отрицательного результата (LR-) для нашего экспериментального диагностического препарата — 0,21. То есть, вероятность получения ложноотрицательного результата теста меньше вероятности получения истинно отрицательного результата почти в 5 раз.

Также при статистической обработке данных выявлена высокая степень тесноты корреляции ($r=0,729$) значений титров, полученных при использовании реакции Райта и РАЛ. Между значениями титров антител в РАЛ и величинами КП специфических иммуноглобулинов в ИФА установлены следующие связи: $r=0,782$ — с КП IgM; $r=0,596$ — с КП IgA; $r=0,192$ — с КП IgG.

Таким образом, согласно таблице Чеддока, вышеуказанные коэффициенты корреляции Пирсона свидетельствуют о высокой прямо пропорциональной корреляционной связи между результатами РАЛ, реакции Райта и ИФА (для определения IgM), что свидетельствует о получении близких по значимости результатов при выявлении противобруцеллёзных антител в сыворотке крови человека.

Выводы

В ходе проведённых исследований разработана биотехнология получения диагностикума латексного бруцеллёзного антигенного на основе полиакролеиновых микросфер.

Отработаны оптимальные условия иммобилизации лиганда на поверхности полиакролеиновых латексных микросфер, а также подобрана концентрация сенсibilизирующего антигена (сенсibilизация латекса антигеном в соотношении 1:3 при температуре 45°C в течение 3 ч с последующей блокировкой активных центров 0,5% желатином).

Аналитическая чувствительность диагностикума составила не менее 1:2560, при отсутствии перекрёстных реакций с гетерологичными сыворотками. Контроль диагностических характеристик экспериментальных серий показал их чувствительность — 80%, специфичность — 93,33%.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Зайцев А.А. *Способ получения диагностикума суспензионного чумного антигенного на основе фракции I*. Патент РФ № 2199750, 2003. [Zajtsev A.A. *Sposob polucheniya diagnostikuma suspenszionnogo chumnogo antigennogo na osnove fraktsii I* [Method for producing pest antigen suspension diagnosticum on the basis of fraction I]. Patent RF No. 2199750, 2003. (In Russian)].
2. Кедик С.А., Грицкова И.А., Прокопов Н.И., Станишевский Я.М., Панов А.В., Суслов В.В., Петрова Е.А. Высокочувствительные тест-системы на основе конъюгатов «полимерная микросфера — биолиганд» для экспресс-диагностики протозонозных заболеваний. *Вестник МИТХТ им. М.В. Ломоносова*. 2013;8(4):3–10. [Kedik S.A., Gritskova I.A., Prokopov N.I., Stanishevsky Ya.M., Panov A.V., Suslov V.V., Petrova E.A. Vysokochuvstvitel'nyye test-sistemy na osnove kon'yugatov «polimernaya mikrosfera — bioligand» dlya ekspress-diagnostiki proteinopatii [High-sensitivity test systems based on conjugates "polymer microspheres — bioligands" for rapid proteinopathy diagnostics]. *Vestnik MITKhT im. M.V. Lomonosova* [Journal of the Moscow State University of Fine Chemical Technologies named after M.V. Lomonosov]. 2013;8(4):3–10. (In Russian)].

3. Кожушный А.П., Кохановская Н.А., Третьяков О.Ю., Баженов А.И., Коноплева М.В., Суслов А.П. Продукция цитокинов в ранних антигенстимулированных клеточных реакциях при вирусной инфекции. *Медицинская иммунология*. 2011;13(4–5):389–391. [Kozhushny A.P., Kokhanovskaya N.A., Tretyakov O.Yu., Bazhenov A.I., Konopleva M.V., Suslov A.P. Produktsiya tsitokinov v rannikh antigenstimulirovannykh kletochnykh reaktsiyakh pri virusnoy infektsii [Cytokine production in early antigen-stimulated cellular responses during viral infection]. *Meditsinskaya immunologiya [Medical Immunology (Russia)]*. 2011;13(4–5):389–391. (In Russian)]. DOI: 10.15789/1563-0625-2011-4-5-378-415
4. Куделина А.М., Новицкая И.В., Прохвятилова Е.В. Конструирование диагностикума для выявления возбудителей мелиоидоза в реакции латекс-агглютинации. *Дальневосточный журнал инфекционной патологии*. 2014;25:139–141. [Kudelina A.M., Novitskaya I.V., Prokhvatilova E.V. Konstruirovaniye diagnostikuma dlya vyyavleniya vzbuditeley melioidoza v reaktсии lateks-agglutinatsii [Development of diagnosticum for the detection of melioidosis agents in latex agglutination reaction]. *Dal'nevostochnyy zhurnal infektsionnoy patologii [Far Eastern Journal of Infectious Pathology]*. 2014;25:139–141. (In Russian)].
5. Онищенко Г.Г., Куличенко А.Н., Малецкая О.В., Пономаренко Д.Г., Манин Е.А., Ковалёв Д.А., Русанова Д.В., Саркисян Н.С., Таран Т.В., Ракитина Е.Л., Осина Н.А., Касьян Ж.А., Касьян И.А., Щербакова С.А., Кулаков Ю.К., Михайлова В.В., Ляпина Е.П., Шульдяков А.А., Левин Д.Ю. Бруцеллёз. *Современное состояние проблемы*. Ставрополь: ООО «Губерния», 2019. [Onishchenko G.G., Kulichenko A.N., Maletskaya O.V., Ponomarenko D.G., Manin E.A., Kovalev D.A., Rusanova D.V., Sarkisyan N.S., Taran T.V., Rakitina E.L., Osina N.A., Kasyan Zh.A., Kasyan I.A., Shcherbakova S.A., Kulakov Yu.K., Mikhailova V.V., Lyapina E.P., Shuldyakov A.A., Levin D.Yu. Brutsellez. *Sovremennoe sostoyanie problemy [Brucellosis. Current state of the problem]*. Stavropol: ООО «Guberniya» Publ., 2019. (In Russian)].
6. Пономаренко Д.Г., Хачатурова А.А., Ковалёв Д.А., Скударева О.Н., Лукашевич Д.Е., Жаринова И.В., Даурова А.В., Германова А.Н., Логвиненко О.В., Ракитина Е.Л., Костюченко М.В., Кузнецова И.В., Шапаков Н.А., Бобрышева О.В., Писаренко С.В., Манин Е.А., Малецкая О.В., Куличенко А.Н. Анализ заболеваемости бруцеллёзом и молекулярно-генетическая характеристика популяции бруцелл на территории Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023;2:61–74. [Ponomarenko D.G., Khachaturova A.A., Kovalev D.A., Skudareva O.N., Lukashevich D.E., Zharinova I.V., Daurova A.V., Germanova A.N., Logvinenko O.V., Rakitina E.L., Kostyuchenko M.V., Kuznetsova I.V., Shapakov N.A., Bobrysheva O.V., Pisarenko S.V., Manin E.A., Maletskaya O.V., Kulichenko A.N. Analiz zaboлеваemosti brutsellezom i molekulyarno-geneticheskaya kharakteristika populyatsiya brucella na territorii Rossiyskoy Federatsii [Analysis of brucellosis incidence and molecular-genetic characteristics of brucella population in the territory of the Russian Federation]. *Problemy osobo opasnykh infektsiy [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023;2:61–74. (In Russian)]. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-61-74
7. Симакова Д.И., Карбышев Г.Л., Ларионова Л.В., Терентьев А.Н., Лысова Л.К., Наркевич А.Н., Кочеткова А.П., Самаянц Е.М. Псевдотуберкулезный видоспецифический антигенный полимерный диагностикум. Принципы конструирования и результаты испытания. *Биотехнология*. 2011;3:88–95. [Simakova D.I., Karbyshev G.L., Larionova L.V., Terentiev A.N., Lysova L.K., Narkevich A.N., Kochetkova A.P., Sanamyants E.M. Psevdotuberkuleznyy vidospetsificheskyy antigennyy polimernyy diagnostikum. Printsipy konstruirovaniya i rezul'taty ispytaniya [A pseudotuberculosis species-specific antigenic polymeric diagnosticum. Principles of designing and results of testing]. *Biotechnologiya [Biotechnology in Russia]*. 2011;3:88–95. (In Russian)].
8. Фролов Д.М., Сенина Т.В., Замарина Т.В., Храпова Н.П. Использование реакции латекс-агглютинации в ускоренном определении патогенных Буркхольдерий. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019;3:106–110. [Frolov D.M., Senina T.V., Zamarina T.V., Khrapova N.P. Ispol'zovanie reaktsii lateks-agglutinatsii v uskorennom opredelenii patogennykh Burkholderiy [Application of latex-agglutination for rapid detection of pathogenic Burkholderia]. *Problemy osobo opasnykh infektsiy [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019;3:106–110. (In Russian)]. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-106-110
9. El-Sayed A., Awad W. Brucellosis: Evolution and expected comeback. *Int. J. Vet. Sci. Med.* 2018;6(Suppl):S31–S35. DOI: 10.1016/j.ijvsm.2018.01.008
10. Greenhalgh T. How to read a paper: *The basics of evidence-based medicine and health care*. Hoboken: John Wiley & Sons Ltd, 2019.
11. Pereira C.R., Cotrim de Almeida J.V.F., Cardoso de Oliveira I.R., Faria de Oliveira L., Pereira L.J., Zangerônimo M.G., Lage A.P., Dorneles E.M.S. Occupational exposure to *Brucella* spp.: A systematic review and meta-analysis. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 2020;14(5):e0008164. DOI: 10.1371/journal.pntd.0008164

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Курноскина Мария Михайловна*, ФКУЗ
Ставропольский противочумный институт
Роспотребнадзора;
e-mail: kurnoskina_mariya@mail.ru

Mariya M. Kurnoskina*, Stavropol Research
Anti-Plague Institute of the Federal Service
for Supervision of Consumer Rights Protection
and Human Wellbeing of Russia;
e-mail: kurnoskina_mariya@mail.ru

Жарникова Ирина Викторовна, д.б.н., ФКУЗ
Ставропольский противочумный институт
Роспотребнадзора;
e-mail: jarnikova_iv@snipchi.ru

Irina V. Zharnikova, Dr. Sci. (Biol.), Stavropol
Research Anti-Plague Institute of the Federal
Service for Supervision of Consumer Rights
Protection and Human Wellbeing of Russia;
e-mail: jarnikova_iv@snipchi.ru

Русанова Диана Владимировна, к.м.н., ФКУЗ
Ставропольский противочумный институт
Роспотребнадзора;
e-mail: rusanova_dv@snipchi.ru

Diana V. Rusanova, Cand. Sci. (Med.), Stavropol
Research Anti-Plague Institute of the Federal
Service for Supervision of Consumer Rights
Protection and Human Wellbeing of Russia;
e-mail: rusanova_dv@snipchi.ru

Кошкидько Александра Геннадьевна, к.б.н.,
ФКУЗ Ставропольский противочумный инсти-
тут Роспотребнадзора;
e-mail: koshkidko_ag@snipchi.ru

Aleksandra G. Koshkidko, Cand. Sci. (Biol.),
Stavropol Research Anti-Plague Institute of the Fe-
deral Service for Supervision of Consumer Rights
Protection and Human Wellbeing of Russia;
e-mail: koshkidko_ag@snipchi.ru

Жданова Елена Владимировна, к.б.н., ФКУЗ
Ставропольский противочумный институт
Роспотребнадзора;
e-mail: jdanova_ev@snipchi.ru

Elena V. Zhdanova, Cand. Sci. (Biol.), Stavropol
Research Anti-Plague Institute of the Federal
Service for Supervision of Consumer Rights
Protection and Human Wellbeing of Russia;
e-mail: jdanova_ev@snipchi.ru

Пonomаренко Дмитрий Григорьевич, к.б.н.,
ФКУЗ Ставропольский противочумный инсти-
тут Роспотребнадзора;
e-mail: ponomarenko_dg@snipchi.ru

Dmitriy G. Ponomarenko, Cand. Sci. (Biol.),
Stavropol Research Anti-Plague Institute of the Fe-
deral Service for Supervision of Consumer Rights
Protection and Human Wellbeing of Russia;
e-mail: ponomarenko_dg@snipchi.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author