

Разработка системы дот-иммуноанализа для контроля О-АГ сероваров Инаба и Огава в производстве холерной химической вакцины

С.А.Воробьева, О.С.Дуракова, О.А.Волох, М.Н.Киреев, О.В.Громова, О.Д.Клокова

ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, Российская Федерация

На всех этапах производства холерная бивалентная химическая вакцина проходит контроль специфических компонентов, содержащихся в готовом препарате. Одним из важных составляющих лекарственной формы является О-антиген, активность которого, согласно требованиям GMP, необходимо контролировать. Выявлено падение активности после двух лет хранения, однако значения укладываются в установленные нормы. Нами показана высокая чувствительность дот-иммуноанализа с использованием конъюгата на основе иммуноглобулинов, меченных коллоидным золотом, и оценена его возможность в качественном определении О-антигена сероваров Инаба и Огава.

Ключевые слова: дот-иммуноанализ, О-антигены Инаба и Огава, иммуноглобулины, холерная бивалентная химическая вакцина

Для цитирования: Воробьева С.А., Дуракова О.С., Волох О.А., Киреев М.Н., Громова О.В., Клокова О.Д. Разработка системы дот-иммуноанализа для контроля О-АГ сероваров Инаба и Огава в производстве холерной химической вакцины. Бактериология. 2019; 4(4): 50–54. DOI: 10.20953/2500-1027-2019-4-50-54

Development of the dot immuno analysis system for control of the serobar specific O-antigens Inaba and Ogawa in the production of cholera chemical vaccine

S.A.Vorobyova, O.S.Durakova, O.A.Volokh, M.N.Kireev, O.V.Gromova, O.D.Klokova

Russian Research Antiplague Institute «Microbe», Rospotrebnadzor, Saratov, Russian Federation

At all stages of production, a cholera bivalent chemical vaccine passes control of the specific components contained in the finished product. One of the important components of the dosage form is O-antigen, the activity of which, according to GMP, must be controlled. A drop in activity after 2 years of storage was detected, but the values fit into the established norms. We have shown the high sensitivity of dot-immunoassay using a conjugate based on immunoglobulins labeled with colloidal gold and evaluated its ability to qualitatively determine the O-antigen of the Inaba and Ogawa serovars.

Keywords: dot-immunoassay, Inaba and Ogawa O-antigens, immunoglobulins, cholera bivalent chemical vaccine

For citation: Vorobyova S.A., Durakova O.S., Volokh O.A., Kireev M.N., Gromova O.V., Klokova O.D. Development of the dot immuno analysis system for control of the serobar specific O-antigens Inaba and Ogawa in the production of cholera chemical vaccine. Bacteriology. 2019; 4(4): 50–54. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2019-4-50-54

В России вакцинация против холеры включена в Национальный календарь профилактических прививок в соответствии с Приказом Минздрава России № 125н от 21.03.2014 (приложение № 2). В настоящее время в мире зарегистрировано несколько противохолерных вакцин [1],

среди которых единственная на территории Российской Федерации вакцина холерная бивалентная химическая разработана и выпускается в ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб». Ее основными компонентами являются холероген-анатоксин и О-антигены (О-АГ) холерного вибриона сероваров Инаба

Для корреспонденции:

Воробьева Светлана Александровна, младший научный сотрудник лаборатории холерных вакцин ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора

Адрес: 410005, Саратов, ул. Университетская, 46

Телефон: (8452) 26-2131

E-mail: rusrapi@microbe.ru

Статья поступила 09.11.2019 г., принята к печати 20.12.2019 г.

For correspondence:

Svetlana A. Vorobyova, junior researcher, laboratory of cholera vaccine Russian Research Antiplague Institute «Microbe», Rospotrebnadzor

Address: 46 Universitetskaya str., Saratov, 410005, Russian Federation

Phone: (8452) 26-2131

E-mail: rusrapi@microbe.ru

The article was received 09.11.2019, accepted for publication 20.12.2019

и Огава, отвечающие за формирование антибактериального иммунитета [2]. Вакцина рекомендована для лиц, выезжающих в эндемичные страны, а также населению районов, граничащих с неблагополучными по холере территориями, в случае неблагоприятной обстановки [3].

В условиях производства вакцины актуален вопрос о методах контроля готового препарата и специфических компонентов, входящих в его состав. Проверка как лиофилизированных О-АГ, так и таблетки холерной вакцины производится по комплексу методов *in vivo* и *in vitro* [4]. В настоящее время в соответствии с нормативно-технической документацией контроль специфической активности О-АГ осуществляют с помощью реакции непрямой гемагглютинации (РНГА). Однако эта реакция не отвечает требованиям экспрессности и высокой чувствительности, а также происходит оценка активности общей фракции О-антигена, независимо от серовара. Поскольку в настоящее время актуально стремление к минимизации времени, упрощению методики и повышению чувствительности анализа, актуален вопрос внедрения таких методов в производство холерной бивалентной химической вакцины. К числу чувствительных иммунодиагностических тестов, с помощью которых возможна детекция антигенов, относится твердофазный иммуноферментный анализ и его дот-вариант на нитроцеллюлозной мембране.

Дот-иммуноанализ (ДИА) – является одним из наиболее эффективных и доступных методов, характеризуется высокой чувствительностью, простотой и быстротой выполнения. Проблема специфичности иммунологических систем успешно решается использованием иммуноглобулинов, что особенно важно при проведении высокочувствительных тестов. Многими авторами отмечаются высокие показатели чувствительности и специфичности ДИА по сравнению с методами классического иммуноферментного анализа [5–7] и РНГА [8].

Для учета и визуализации результатов дот-анализа используются хромогенные метки, обеспечивающие окрашивание участков иммунного взаимодействия, в качестве которых могут выступать ферменты [9] и наночастицы коллоидных металлов [10]. Применение конъюгатов на основе золотых наночастиц в ДИА делает метод высокочувствительным, простым, быстрым и дешевым [11, 12].

В связи с вышеизложенным, **целью настоящей работы** являлось изучение возможности применения дот-иммуноанализа для оценки активности О-АГ, входящих в состав холерной химической вакцины.

Материалы и методы

В качестве антигенных препаратов использовали лиофилизированные О-АГ сероваров Инаба и Огава, полученные из инактивированных формалином бульонных культур холерных вибрионов О1 серогруппы *Vibrio cholerae* 569В классического биовара серовара Инаба и *V. cholerae* М41 классического биовара серовара Огава [13].

Имуноглобулины выделяли из кроличьих и лошадиных гипериммунных специфических холерных сывороток сероваров Инаба и Огава методом фракционирования сульфатом аммония [14], с последующим диализом против

0,01М фосфатно-солевого буферного раствора. Определение белка в диализате проводили по методу Лоури при $\lambda = 750$ нм [15]. Лошадиные сыворотки получали путем иммунизации корпускулярными антигенами холерных вибрионов сероваров Инаба и Огава, любезно предоставленных сотрудниками лаборатории диагностических препаратов ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб». Нами были получены экспериментальные кроличьи сыворотки на О-АГ Инаба и Огава. Схема иммунизации состояла из 6 внутривенных инъекций в дозах от 0,5 до 2 мг с интервалом 4 суток. Эффективность иммунного ответа определяли в реакции диффузионной преципитации.

Приготовление коллоидного раствора золота с диаметром частиц 15–17 нм осуществляли по методу Г.Френса [16]. Определение «золотого числа» проводили по методике Р.Жигмонди [17].

При постановке ДИА в прямом варианте в качестве конъюгата использовали иммуноглобулины, меченные коллоидным золотом. Для связывания частиц маркера в раствор коллоидного золота добавляли при интенсивном перемешивании на магнитной мешалке необходимое количество иммуноглобулинов в соответствии с выявленным «золотым числом». Стабилизацию полученных конъюгатов проводили 0,5%-м раствором ПЭГ-20000 до конечной концентрации 0,02%, при перемешивании в течение 15 минут. Затем выдерживали раствор 1 ч при 3–5°C, после чего применяли для работы.

При учете результатов в качестве титра препарата антигена принимали наибольшее разведение, при котором визуально регистрировали четко различимое цветное пятно. При наличии слабого окрашивания проводили процедуру усиления цветового сигнала, для чего мембрану погружали в раствор физического проявителя (метол, лимонная кислота и азотнокислое серебро).

Постановку РНГА осуществляли по стандартной методике микрометодом в 3 повторностях. В качестве специфической сыворотки использовали коммерческую «Сыворотку диагностическую холерную О1 адсорбированную сухую для РА» производства института «Микроб».

Для определения стабильности О-АГ в эксперимент были взяты лиофилизированные О-АГ сероваров Инаба и Огава с разным сроком хранения, по 3 серии каждого серовара.

Результаты и обсуждение

Ранее нами была показана высокая чувствительность непрямого варианта ДИА с использованием белка А, меченного коллоидным золотом, в обнаружении О-АГ как в специфических фракциях, так и в готовой лекарственной форме вакцины [18, 19]. При этом была обнаружена корреляция с методом РНГА. Данный вариант ДИА позволяет избежать всех недостатков РНГА: трудоемкости, невысокой чувствительности, длительности постановки, требования большого числа реактивов, сложной пробоподготовки при постановке реакции на готовом препарате холерной бивалентной химической вакцины.

Согласно требованиям GMP необходимо оценивать специфическую активность всех компонентов, входящих в состав

Таблица 1. Определение специфической активности О-АГ Инаба и Огава в зависимости от срока их хранения

№ п/п	О-АГ	% от начальной активности		
		через год хранения	через 2 года хранения	через 3 года хранения
1	О-АГ Огава	100	88 ± 1	88 ± 1
2	О-АГ Инаба	100	88 ± 0,1	76 ± 0,1

препарата. В состав холерной химической вакцины входят О-АГ холерного вибриона сероваров Инаба и Огава, причем их активность отражается на эффективности действия готового препарата и необходим контроль их содержания в процессе производства. Одна таблетка должна содержать не менее 2000 условных единиц (обратный показатель титра в РНГА) О-АГ *V. cholerae* O1 [20]. Лиофилизированные О-АГ Огава должны иметь титр в РНГА не менее 1:100, О-АГ Инаба – не менее 1:50.

Нами проведено определение специфической активности лиофилизированных препаратов О-АГ Инаба и Огава с разным сроком хранения: от 3,5 года и до 1 года (табл. 1). На протяжении исследования образцы находились при температуре +8°C, рекомендованной для хранения холерной вакцины [20]. Активность антигенов измеряли при получении (начальная активность) и по истечении определенного срока хранения (активность в эксперименте), затем вычисляли процент активности от начального значения. В табл. 1 представлены средние показатели трех серий О-АГ Инаба и трех серий О-АГ Огава.

Установлено незначительное изменение активности после двух лет хранения (падение титра на 12 ± 1%). Этот уровень активности сохранялся в течение последующего хранения. Следует отметить, что все полученные данные со-

ответствуют показателям, устанавливаемым нормативной документацией.

В настоящее время для увеличения скорости получения результата, чувствительности и специфичности анализа используют методы, основанные на твердофазном иммуноферментном анализе, в частности его модификации – ДИА.

Поскольку ранее нами был использован непрямой вариант ДИА [19, 20], следующим шагом стало повышение чувствительности и специфичности ДИА, для чего в качестве конъюгата использовали иммуноглобулины G, меченные коллоидным золотом. Следует отметить, что данный метод сокращает время анализа с двух часов до 30 минут.

Нами показана корреляция между полученными данными и результатами РНГА и непрямым ДИА с коллоидным золотом (табл. 2).

Стоит отметить высокую корреляционную зависимость лошадиных иммуноглобулинов к О-АГ Инаба, а также меньшее количество перекрестных реакций с гетерологичным антигеном.

Поскольку в эксперименте нами не выявлена достаточная специфичность взаимодействия между выделенными лошадиными иммуноглобулинами и антигенами сероваров Инаба и Огава, на следующем этапе работы нами проведено выделение иммуноглобулинов из сыворотки иммунизированных кроликов. Необходимо отметить наличие перекрестных реакций с гетерологичными антигенами (табл. 3), однако концентрация антигена составляла 200 ± 20 мкг/мл при использовании лошадиных иммуноглобулинов.

Высокую степень корреляции с методом РНГА и непрямым ДИА с коллоидным золотом показали кроличьи иммуноглобулины к О-АГ Огава.

Таблица 2. Определение активных компонентов вакцины, ДИА с конъюгатом на основе лошадиных иммуноглобулинов (обратный титр)

Образец	Ig к О-АГ Огава, лошадиный	Ig к О-АГ Инаба, лошадиный	Непрямой ДИА*КЗ	РНГА	
О-АГ Огава	1	80	20	1024	3584
	2	0	0	320	448
	3	20	0	640	4778
	4	320	20	512	128
	5	20	0	1024	4069
	6	80	0	640	4096
	7	20	640	1024	2730
О-АГ Инаба	8	10	320	640	2048
	9	0	80	320	853
	10	40	320	1024	3584
Корреляция с результатами непрямого ДИА*КЗ		0,12	0,81		
Корреляция с результатами РНГА		0,54	0,61		

Таблица 3. Определение активных компонентов вакцины, ДИА с конъюгатом на основе кроличьих иммуноглобулинов (обратный титр)

Образец	Ig к О-АГ Огава, кроличий	Ig к О-АГ Инаба, кроличий	Непрямой ДИА*КЗ	РНГА	
О-АГ Огава	1	1280	40	1024	3584
	2	320	0	320	448
	3	640	10	640	4778
	4	320	20	512	128
	5	1024	0	1024	4069
	6	640	20	640	4096
	7	10	40	1024	2730
О-АГ Инаба	8	10	20	640	2048
	9	0	0	320	853
	10	20	1280	1024	3584
Корреляция с результатами непрямого ДИА*КЗ		0,95	0,46		
Корреляция с результатами РНГА		0,66	0,35		

Заключение

Таким образом, в ходе проведенного исследования показана возможность применения прямого дот-иммуноанализа для определения О-АГ сероваров Инаба и Огава. Алгоритм постановки с использованием иммуноглобулинов, меченных коллоидным золотом, позволяет усилить специфичность и чувствительность анализа, а также уменьшить время анализа. На основе полученных результатов предложен алгоритм определения специфической активности О-АГ, который складывается из количественного и качественного анализа. Количественный анализ содержания О-АГ в специфических фракциях и готовой холерной химической вакцине возможен непрямой метод ДИА с коммерческой О1 сывороткой и с использованием конъюгата на основе белка А, меченного коллоидным золотом. Определение качественного состава О-АГ по сероварной принадлежности осуществимо прямым вариантом ДИА, в основе которого лежит получение конъюгатов IgG, выделенных из специфических холерных сывороток иммунизированных животных, с коллоидным золотом. В дальнейшем данный подход к постановке прямого варианта ДИА может быть использован для разработки алгоритма качественного определения содержания О-антигенов разной сероварной специфичности в готовой лекарственной форме, а также при оценке стабильности О-АГ, входящих в ее состав.

Литература

1. Беспалова ИА, Иванова ИА, Омельченко НД, Филиппенко АВ, Труфанова АА. Современное состояние специфической профилактики холеры. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2018;1(98):55-61.
2. Кутырев ВВ, Девдариани ЗЛ, Саяпина Л.В. Современное состояние научных исследований в области вакцинопрофилактики особо опасных бактериальных инфекций. Проблемы особо опасных инфекций. 2006;92(2):18-24.
3. Онищенко ГГ, Попова АЮ, Кутырев ВВ, Смирнова НИ, Щербакоева СА, Москвитина ЭА. Актуальные проблемы эпидемиологического надзора, лабораторной диагностики и профилактики холеры в Российской Федерации. Журнал микробиологии, эпидемиологии и паразитологии. 2016; 1:89-101.
4. Гаева АВ, Громова ОВ, Дуракова ОС, Генералов СВ, Волох ОА. Современные подходы к контролю активных компонентов холерной химической вакцины. Разработка и регистрация лекарственных средств. 2018;22(1):152-7.
5. Терешкина НЕ, Терехова ИВ, Сырова НА, Девдариани ЗЛ, Ляшова ОЮ, Григорьева ГВ, и др. Конструирование и медицинские испытания моноклональной дот-иммуноферментной тест-системы для детекции туляремийного микроба «ДИАТул-М». Проблемы особо опасных инфекций. 2013;2:42-5.
6. Абрамова ЕГ. Разработка биотехнологической схемы получения флуоресцирующих иммуноглобулинов для идентификации холерных вибрионов О139 серогруппы. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Саратов, 2005.
7. Коробов АИ, Гламаздин ИГ. Разработка диагностической тест-системы на основе дот-ИФА при фасциолезе крупного рогатого скота. Российский паразитологический журнал. 2010;3:88-92.
8. Загоскина ТЮ, Балахонов СВ, Марков ЕЮ, Николаев ВБ, Субычева ЕН, Чапоргина ЕА, и др. Апробация диагностических тест-систем с использованием наночастиц серебра в качестве маркеров специфических антител для скрининга исследуемого материала на наличие антигенов возбудителей чумы, бруцеллеза, туляремии и ботулотоксина в дот-иммуноанализе. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2014;4(77):61-4.

9. Полтавченко АГ. Иммобилизация антигенов на подложке белкового чипа. Биотехнология. 2007;1:86-94.
10. Liang RQ. Colorimetric detection of protein microarrays based on nanogold probe coupled with silver enhancement. J Immunol Methods. 2004 Feb 15;285(2):157-63. DOI: 10.1016/j.jim.2003.11.008
11. Полтавченко АГ, Ерш АВ, Крупницкая ЮА. Выбор системы детекции для мультитиплексного дот-иммуноанализа антител. Клиническая лабораторная диагностика. 2016;61(4):229-33. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-4-229-233
12. Дыкман ЛА, Хлебцов НГ. Золотые наночастицы в биологии и медицине: достижения последних лет и перспективы. Acta Naturae. 2011;3(2):36-58.
13. Комиссаров АВ, Еремин СА, Задохин СН, Шульгина ИВ, Лобовикова ОА, Ливанова ЛФ, Никифоров АК. Новые подходы в технологии получения таблетки вакцины холерной бивалентной химической. Биофармацевтический журнал. 2015;7(1):30-9.
14. Rane L, Newhouser LR. A method for the separation of protein fractions. U.S. Armed Forces Med. 1954;5:368-71.
15. Lowry OH. Protein measurement with the Folin phenol Reagent. J Biol Chem. 1951;193:265-75.
16. Frens G. Controlled Nucleation for the Regulation of the Particle Size in Monodisperse Gold Suspensions. Nature Physical Science. 1973;241(105):20-2.
17. Жигмонди Р. Коллоидная химия. Харьков, Киев: Изд. НК Снаба УССР; 1933, 452 с.
18. Воробьева СА, Дуракова ОС, Волох ОА, Громова ОВ. Возможность определения специфической активности О-Аг в производстве холерной химической вакцины с помощью дот-анализа. Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2018;18(3):318-9. DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-3-318-319
19. Дуракова ОС, Громова ОВ, Киреев МН, Воробьева СА, Клокова ОД, Ливанова ЛФ, Белякова НИ, Волох ОА. Применение дот-иммуноанализа для определения специфической активности антигенов в производстве холерной вакцины. Вестник биотехнологии и физико-химической биологии. 2018; 14(4):10-3.
20. Государственная фармакопея Российской Федерации. МЗ РФ. XIII. Изд. Москва. 2015; 3:1294 с.

References

1. Bepalova IA, Ivanova IA, Omelchenko ND, Filippenko AV, Trufanova AA. Current State of Cholera Specific Prophylaxis. Epidemiology and Vaccinal Prevention. 2018;1(98):55-61. (In Russian).
2. Kutyrev VV, Devdariani ZL, Sayapina LV. Present Status of the Researches in the Sphere of Vaccine Prophylaxis of Particularly Dangerous Bacterial Infections. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii (Problems of Particularly Dangerous Infections). 2006;92(2):18-24. (In Russian).
3. Onischenko GG, Popova AY, Kutyrev VV, Smirnova NI, Scherbakova SA, Moskvitina EA, Titova SV. Actual problems of epidemiologic control, laboratory diagnostics and prophylaxis of cholera in Russian Federation. Journal of microbiology epidemiology immunobiology. 2016;1(1):89-101. 2016;1:89-101. (In Russian).
4. Gaeva AV, Gromova OV, Durakov OS, Generalov SV, Volokh OA. Modern approaches to the control of active components of cholera chemical vaccine. Pазработка i registratsiya lekarstvennykh sredstv. 2018;22(1):152-7. (In Russian).
5. Tereshkina NE, Terekhova IV, Syrova NA, Devdariani ZL, Lyashova OYu, Grigor'eva GV, et al. 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. (In Russian).
6. Abramova EG. Razrabotka biotekhnologicheskoi skhemy polucheniya fluores-tsiryushchikh immunoglobulinov dlya identifikatsii kholernykh vibriinov O139 serogruppy. Diss. Saratov, 2005. (In Russian).

7. Korobov AI, Glamazdin IG. Elaboration of diagnostic test-system on the basis of dot enzyme-linked immunosorbent assay (dot-ELISA) at cattle fasciolosis. Rossiiskii parazitologicheskii zhurnal. 2010;3:88-92. (In Russian).
8. Zagorskina TYu, Balakhonov SV, Markov EYu, Nikolaev VB, Subycheva EN, Chaporgina EA, et al. Approbation of Diagnose Test-Systems with Use of Silver Nano-Partides as Markers of Spedifid Antibodies for Sdreening of the Investigated Material for Presende of Antigens of Plague, Brucellosis, Tularemia Causative Agents and Botulotoxin in Dot-Immunoassay. Epidemiology and Vaccinal Prevention. 2014;4(77):61-4. (In Russian).
9. Poltavchenko AG. Immobilizatsiya antigenov na podlozhke belkovogo chipa. Biotekhnologiya. 2007;1:86-94. (In Russian).
10. Liang RQ. Colorimetric detection of protein microarrays based on nanogold probe coupled with silwer enhancement. J Immunol Methods. 2004 Feb 15;285(2):157-63. DOI: 10.1016/j.jim.2003.11.008
11. Poltavchenko AG, Ersh AV, Krupnitskaya YuA. The selection of system of detection for multiplex dot-immune analysis of antibodies. Russian Clinical Laboratory Diagnostics (Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika). 2016;61(4):229-33. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-4-229-233 (In Russian).
12. Dykman LA, Khlebtsov NG. Gold Nanoparticles in Biology and Medicine: Recent Advances and Prospects. Acta Naturae. 2011;3(2):36-58. (In Russian).
13. Komissarov AV, Eremin SA, Zadokhin SN, Shulgina IV, Lobovikova OA, Livanova LF, Nikiforov AK. New approaches in technology of manufacturing of the tablet of cholera chemical bivalent vaccine. Russian Journal of Biopharmaceuticals. 2015;7(1):30-9. (In Russian).
14. Rane L, Newhouser LR. A method for the separation of protein fractions. U.S. Armed Forces Med. 1954;5:368-71.
15. Lowry OH. Protein measurement with the Folin phenol Reagent. J Biol Chtm. 1951;193:265-75.
16. Frens G. Controlled Nucleation for the Regulation of the Particle Size in Mono-disperse Gold Suspensions. Nature Physical Science. 1973;241(105):20-2.
17. Zhigmondi R. Kolloidnaya khimiya [Colloid chemistry]. Khar'kov, Kiev, 1933, 452 p. (In Russian).
18. Vorobyova SA, Durakova OS, Volokh OA, Gromova OV. Possibility of Determination of Specific Activity of O-Ag in the Production of Cholera Chemical Vaccine by Dot-Analysis. Izvestiya of Saratov University. New Series. Series: Chemistry. Biology. Ecology. 2018;18(3):318-9. DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-3-318-319 (In Russian).
19. Durakova OS, Gromova OV, Kireev MN, Vorob'eva SA, Klokova OD, Livanova LF, Belyakova NI, Volokh OA. Primenenie dot-immunoanaliza dlya opredeleniya spetsificheskoi aktivnosti antigenov v proizvodstve kholernoii vaksiny. Vestnik biotekhnologii i fiziko-khimicheskoi biologii. 2018;14(4):10-3. (In Russian).
20. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIII ed. Moscow. 2015; 3:1294 p. (In Russian).

Информация об авторах:

Дуракова Оксана Сергеевна, младший научный сотрудник лаборатории холерных вакцин ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора
Адрес: 410005, Саратов, ул. Университетская, 46
Телефон: (8452) 26-2131
E-mail: rusrapi@microbe.ru

Волох Оксана Александровна, кандидат биологических наук, заведующая отделом профилактических препаратов ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора
Адрес: 410005, Саратов, ул. Университетская, 46
Телефон: (8452) 26-2131
E-mail: rusrapi@microbe.ru

Киреев Михаил Николаевич, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора
Адрес: 410005, Саратов, ул. Университетская, 46
Телефон: (8452) 26-2131
E-mail: rusrapi@microbe.ru

Громова Ольга Викторовна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора
Адрес: 410005, Саратов, ул. Университетская, 46
Телефон: (8452) 26-2131
E-mail: rusrapi@microbe.ru

Клокова Ольга Дмитриевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора
Адрес: 410005, Саратов, ул. Университетская, 46
Телефон: (8452)262131
E-mail: rusrapi@microbe.ru

Information about authors:

Oksana S. Durakova, junior researcher, laboratory of cholera vaccine Russian Research Anti plague Institute «Microbe»
Address: 46 Universitetskaya str., Saratov, 410005, Russian Federation
Phone: (8452) 26-2131
E-mail: rusrapi@microbe.ru

Oksana A. Volokh, PhD (Biology), head of the department of preventive drugs, Russian Research Anti plague Institute «Microbe»
Address: 46 Universitetskaya str., Saratov, 410005, Russian Federation
Phone: (8452) 26-2131
E-mail: rusrapi@microbe.ru

Michael N. Kireev, MD, PhD, leading researcher laboratory of cholera vaccine, Russian Research Anti plague Institute «Microbe»
Address: 46 Universitetskaya str., Saratov, 410005, Russian Federation
Phone: (8452) 26-2131
E-mail: rusrapi@microbe.ru

Olga V. Gromova, MD, PhD, senior researcher laboratory of cholera vaccine, Russian Research Anti plague Institute «Microbe»
Address: 46 Universitetskaya str., Saratov, 410005, Russian Federation
Phone: (8452) 26-2131
E-mail: rusrapi@microbe.ru

Olga D. Klokova, MD, PhD, senior researcher laboratory of cholera vaccine, Russian Research Anti plague Institute "Microbe"
Address: 46, Universitetskaya str., Saratov, 410005, Russian Federation
Phone: (8452)262131
E-mail: rusrapi@microbe.ru

НОВЫЕ КНИГИ



Туляремия: состояние проблемы и методы исследования [Текст] / А.Н.Мокриевич [и др.]; под ред. И.А.Дятлова. – Оболенск: [б. и.], 2019. – 263 с.: цв. ил. – Библиогр.: с. 247–263. ISBN 978-5-98125-107-8 (в пер.)

В коллективной монографии на основании многолетних собственных исследований авторов и сведений литературы изложены методы оценки биологических свойств возбудителя туляремии. Подробно освещены методы изучения культурально-морфологических, биологических, биохимических, молекулярно-генетических свойств возбудителя, методические приемы работ с диагностическими системами, клеточными культурами и экспериментальными животными, методы поддержания, хранения, приготовления культур возбудителя, а также правила обеспечения безопасности работ с возбудителем туляремии. Монография может быть использована практическими работниками медицинского и ветеринарного профилей, научными сотрудниками, преподавателями, аспирантами и студентами при изучении и оценке биологических свойств возбудителя туляремии.