

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

**ПОЛУЧЕНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭРИТРОЦИТАРНОГО
АНТИГЕННОГО МЕЛИОИДОЗНОГО ДИАГНОСТИКУМА ПРИ
АНАЛИЗЕ ПРОБ СЫВОРОТОК ОТ ЛИЦ ИЗ ЭНДЕМИЧНЫХ ПО
МЕЛИОИДОЗУ ПРОВИНЦИЙ НА GIANG, LANG SON И QUANG NINH
СОЦИАЛИСТИЧЕСКОЙ РЕСПУБЛИКИ ВЬЕТНАМ**

Терешко Д.Л.¹Новицкая И.В.¹Захарова И.Б.¹Чиен Д.²Кузнецов А.Н.²Кулаков М.Я.¹Будченко А.А.¹Пушкарь В.Г.¹Викторов Д.В.¹Топорков А.В.¹

¹ Федеральное казённое учреждение здравоохранения «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

² Совместный Российско-Вьетнамский Тропический Научно-исследовательский и Технологический Центр, г. Ханой, Социалистическая Республика Вьетнам

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

**OBTAINING AND USING ERYTHROCYTE ANTIGENIC MELIIDOSIS
DIAGNOSTIC AGENT IN THE ANALYSIS OF SERUM SAMPLES FROM
MELIIDOSIS-ENDEMIC PROVINCES HA GIANG, LANG SON AND
QUANG NINH OF THE SOCIALIST REPUBLIC OF VIETNAM**

Tereshko D.L., ^a

Novitskaya I.V.,^a

Zakharova I.B., ^a

Trien D., ^b

Kuznetsov A.N., ^b

Kulakov M.Y., ^a

Budchenko A.A.,^a

Pushkar V.G., ^a

Viktorov D.V., ^a

Toporkov A.V.^a

^a Federal Government Health Institution «Volgograd Plague Control Research Institute» of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Volgograd, Russia

^b Joint Russian-Vietnamese Tropical Research and Technology Center, Hanoi, Socialist Republic of Vietnam

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

Резюме. Мелиоидоз – особо опасная инфекция с эндемичным распространением, вызванная грамотрицательным микроорганизмом II группы патогенности *Burkholderia pseudomallei*. В эндемичных странах мелиоидоз занимает одно из ведущих мест по летальности после ВИЧ, туберкулеза и – в последние годы – COVID19. Естественные экологические ниши возбудителя находятся в зонах тропического и субтропического климата, прежде всего, Юго-Восточной Азии и Австралии, где во влажной почве и воде в определенном температурном диапазоне окружающей среды поддерживается его существование как вида. Однако в настоящее время все более часто случаи мелиоидоза регистрируют вне эндемичных территорий, что подчеркивает актуальность совершенствования средств и методов лабораторной диагностики этой болезни как для государств, расположенных в зоне природных очагов, так и для стран в случае завоза на их территорию этой мало известной для местного здравоохранения инфекции. В таких странах, включая РФ, население не имеет естественного иммунитета к возбудителю, в связи с чем эта инфекция приобретает еще большую клиническую и эпидемическую значимость. В Волгоградском научно-исследовательском противочумном институте сконструирован эритроцитарный антигенный мелиоидозный диагностикум для РНГА, позволяющий выявлять в сыворотках крови присутствие мелиоидозных антител. Препарат получен на основе биологического носителя – эритроцитов барана, сенсibilизированных выделенными белковыми антигенными комплексами *B. pseudomallei*. Высокие аналитические характеристики диагностикума были подтверждены на моделях сывороток иммунизированных и переболевших экспериментальных животных. С помощью полученного набора реагентов проведено изучение уровня антител к возбудителю мелиоидоза в образцах сывороток крови жителей 3-х провинций Вьетнама (Ha Giang, Lang Son и Quang Ninh), а также – в качестве контрольной группы – жителей Волгоградской области. В пробах, полученных из неэндемичного региона, не более чем в 25% случаях были

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

зарегистрированы титры РНГА, не превышающие разведение 1:10, что обусловлено, по-видимому, кросс-реактивностью сывороточных иммуноглобулинов. Положительные пробы в образцах сывороток клинически здоровых жителей провинций На Giang, Lang Son и Quang Ninh в титре 1:10 зарегистрированы в 71,5%, в разведениях 1:20-1:80 – в 28,5% наблюдений. С нашей точки зрения, диагностическую значимость, отражающую напряженность противомелиоидозного иммунитета населения, имеет по результатам РНГА титр сывороточных антител 1:80.

Ключевые слова: мелиоидоз, *Burkholderia pseudomallei*, иммунодиагностика, популяционный иммунитет, РНГА, антигенный эритроцитарный диагностикум, Социалистическая Республика Вьетнам

Abstract. Melioidosis is a particularly dangerous infection with endemic distribution caused by the Gram-negative microorganism from the pathogenicity group II *Burkholderia pseudomallei*. In endemic countries, melioidosis holds one of the leading places in mortality rate after HIV, tuberculosis and, in recent years, COVID19. The natural ecological pathogen niches are located in tropical and subtropical climate zones, primarily in Southeast Asia and Australia, where its existence as a species is maintained in moist soil and water in a certain temperature environmental range. However, at present, more and more often cases of melioidosis are registered outside endemic territories, which emphasizes the relevance of improving the means and methods of laboratory diagnostics of this disease both for countries located in the zone of natural foci as well as for local healthcare of the countries after importation of this poorly known infection into their territory. In such countries, including the Russian Federation, the population has no natural immunity to the pathogen, and therefore this infection acquires even greater clinical and epidemic significance. In the Volgograd Plague Control Research Institute, an

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

erythrocyte antigenic melioidosis diagnostic agent for IHA was designed allowing to detect the presence of serum melioidosis antibodies. The diagnostic agent was obtained on the basis of a biological carrier - ram erythrocytes sensitized with isolated protein antigenic complexes of *B. pseudomallei*. The high analytical characteristics of the diagnostic agent were confirmed on sera models of immunized and recovering experimental animals. Using the obtained set of reagents, the level of serum antibodies against the causative agent of melioidosis was studied in residents from the 3 provinces of Vietnam (Ha Giang, Lang Son and Quang Ninh), as well as in control group composed of residents of the Volgograd region. In samples obtained from a non-endemic region, not more than 25% of cases contained IHA titers at lower than 1:10 dilution, which is apparently due to cross-reactivity of serum immunoglobulins. Positive serum samples from clinically healthy residents of Ha Giang, Lang Son and Quang Ninh provinces were at a titer of 1:10 registered in 71.5%, in dilutions of 1:20-1:80 - in 28.5% of cases. Thus, we believe that serum antibody titer of 1:80 according to the IHA results, has a diagnostic significance, reflecting the intensity of the anti-melioidosis populational immunity.

Key words: melioidosis, *Burkholderia pseudomallei*, immunodiagnostics, population immunity, IHA, erythrocyte antigenic diagnostic agent, Socialist Republic of Vietnam

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

1 **Введение**

2 Эндемичные инфекции занимают особое место в структуре общей
3 заболеваемости, так как их распространение тесно связано с персистенцией
4 возбудителей в определенных зонах и поддержанием там природных очагов,
5 сохраняющих для населения планеты постоянную эпидемическую опасность.

6 Мелиоидоз (болезнь Уитмора, пневмоэнтерит и др.) – особо опасная
7 инфекция, границы эндемичности которой, согласно последним данным,
8 охватывают зону между 30-ми параллелями северной и южной широт всех
9 континентов [1]. Традиционно мелиоидоз считают заболеванием, наиболее
10 характерным для стран Южной и Юго-Восточной Азии, в частности,
11 Вьетнама, что, по-видимому, обусловлено особенностями географического
12 положения этой местности, главная из которых – это рекордно длинная (более
13 3,5 тыс. км) узкая береговая линия, что оказывает мощнейшее влияние на
14 климат страны, подверженной действию муссонов, цунами, наводнений и
15 других природных катаклизмов, сопровождающихся обилием осадков и
16 грязевых потоков. С учетом широт, в рамках которых расположен Вьетнам,
17 высокая влажность и среднегодовой температурный диапазон от +26 до +33°C
18 представляют собой основные факторы, формирующие климатические
19 условия этого региона. Не случайно другие названия мелиоидоза -
20 «Вьетнамская лихорадка», а также «Вьетнамская часовая бомба замедленного
21 действия». Известно, что у участников войны во Вьетнаме мелиоидоз мог
22 проявиться даже спустя десятилетия после возвращения из эндемичного
23 региона [10].

24 Как правило (до 85% случаев), при мелиоидозе наблюдают острое
25 начало, нередко с септикопиемией [18], которая без своевременного
26 этиотропного лечения часто заканчивается фатально. Пик заболеваемости
27 отмечают в период дождей [14] преимущественно среди фермеров и сельских
28 жителей, возделывающих рис [6, 12], что подтверждает основную роль

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

39 контактного пути передачи инфекции [11]. Однако иные пути возможного
30 инфицирования: алиментарный, ингаляционный, вплоть до полового – не
31 исключают случаев заболевания и среди других категорий населения.

32 Возбудителем мелиоидоза является *Burkholderia pseudomallei* –
33 микроорганизм II группы патогенности, характеризующийся чрезвычайно
34 высоким уровнем генетически детерминированной резистентности к
35 антибиотикам и обладающий способностью в течение длительного времени
36 персистировать в макроорганизме, избегая уничтожения системой
37 иммунитета [1].

38 В природных условиях *B. pseudomallei* формирует естественные ниши
39 в глубоких слоях влажных почв, насыщенных грунтовыми водами, где, наряду
40 с другими родственными почвенными буркхольдериями – такими, как *B.*
41 *ceracia* и *B. thailandensis*, - входит в состав биоценоза тропического и
42 субтропического пояса [15, 17].

43 Следует отметить, что ранее считавшийся сапрофитическим вид
44 *B. thailandensis* так же, как и *B. pseudomallei*, способен вызывать тяжелую
45 инфекцию с септическими проявлениями, особенно у больных с нарушением
46 иммунного статуса [13].

47 Возможные многообразные контакты людей, проживающих в
48 эндемичном регионе, с широко представленными в окружающей среде
49 буркхольдериями приводят к формированию у населения естественной
50 иммунной прослойки, т.е. популяционного иммунитета, обусловленного
51 накоплением в сыворотках специфических иммуноглобулинов. В ряде случаев
52 это может происходить без манифестации инфекции. И, действительно,
53 работами зарубежных авторов показана потенциальная возможность
54 обнаружения мелиоидозных антител в сыворотках крови здоровых лиц [7].
55 Однако при этом авторы рекомендуют учитывать случаи возможных

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

56 положительных реакций сывороточных антител, обусловленных
57 перекрестной реактогенностью *B. pseudomallei* и *B. thailandensis* [10].

58 В целом, уровень сывороточных иммуноглобулинов может служить
59 относительным показателем как распространенности возбудителя в
60 эндемичной зоне, так и в целом его контагиозности.

61 Для выявления антител в сыворотках применяют различные методы
62 иммуноанализа, одним из которых, включенных в принятые в Российской
63 Федерации схемы экспресс-диагностики мелиоидоза (МУ 4.2.2787-10),
64 является реакция непрямой гемагглютинации. РНГА представляет собой один
65 из наиболее доступных и простых методов иммуноанализа, позволяющих в
66 течение нескольких часов без использования специального оборудования
67 получить точные, воспроизводимые и хорошо визуализируемые данные.

68 В зависимости от используемого препарата с помощью РНГА
69 осуществляют выявление в исследуемых образцах либо антигенов, либо
70 антител. В последнем случае РНГА-анализ позволяет провести оценку
71 состояния естественного популяционного иммунитета у населения,
72 проживающего в эндемичном регионе, в частности, провинций Ha Giang, Lang
73 Son и Quang Ninh Социалистической Республики Вьетнам.

74 В рамках работы, проводимой Совместным Российско-Вьетнамским
75 Тропическим научным-исследовательским и технологическим Центром, нами
76 поставлена цель разработать эритроцитарный антигенный мелиоидозный
77 диагностикум и определить возможность его использования для выявления
78 мелиоидозных антител с помощью РНГА при изучении образцов сывороток
79 случайного отбора у населения отдельных провинций Вьетнама как зоны
80 эндемичного распространения *B. pseudomallei*.

81 **Материалы и методы**

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

82 В качестве биологической основы диагностикума для РНГА
83 использовали эритроциты, полученные из дефибринированной крови барана и
84 суспендированные в 0,15 М растворе NaCl до концентрации по объему 8%.
85 Эритроциты были формализированы (3% формалин в соотношении 1:1,
86 37°C, 20 ч при постоянном перемешивании), танизированы (танин 1:40000,
87 соотношение 1:1, 37°C, 15 мин), после чего отмыты путем центрифугирования
88 (1500 об/мин, 3-кратно по 15 мин) и подвергнуты прогреванию (45°C, 30 мин).

89 Антигенный комплекс, предназначенный для сенсibilизации
90 эритроцитов, получали из ацетовысушенных и дезинтегрированных («*Artek*
91 *sonic dismembrator model 150*», 100 Вт, 20 кГц – 1 мин, 5×, на льду) клеток
92 штамма *B. pseudomallei* 107, представленного в лаборатории Коллекционных
93 штаммов ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный
94 институт Роспотребнадзора. После центрифугирования взвеси клеток (6000
95 об/мин – 25 мин) к надосадку добавляли 1:1 насыщенный раствор сульфата
96 аммония (NH₄)₂SO₄ и оставляли для высаливания (18 час, 4°C). Осадок
97 отделяли центрифугированием (6000 об/мин – 25 мин), ресуспендировали в
98 0,15 М растворе NaCl, очищали от солей путем диализа, концентрировали,
99 изучали методом электрофореза в ПААГ с додецилсульфатом натрия
100 (Laemmli U.K., 1970), после чего использовали в работе. Содержание белка в
101 препарате определяли спектрофотометрически (NanoPhotometer P 300;
102 Implen, Германия) по отношению к стандартному 1% раствору БСА при длине
103 волны 280 нм. Подбор дозы сенситина проводили в диапазоне концентраций
104 250-1500 мкг/мл.

105 Сенсibilизацию эритроцитов полученным антигенным комплексом
106 осуществляли в соответствии с его оптимальной сенсibilизирующей дозой
107 [4].

108 Готовый препарат разливали в ампулы по 1 мл, замораживали до -
109 70°C, затем подвергали лиофилизации в протективной среде (1% НКС, 15%

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

110 реополиглюкина, 7,5% сахарозы в дистиллированной воде) по 10-ступенчатой
111 программе, в ходе которой в течение 24 час и более снижение вакуума от 0,3
112 до 0,1 (ГПа) сопровождалось плавным подъемом температуры полок
113 десублиматора от -70°C до комнатной температуры [5]. После окончания
114 процесса высушивания ампулы запаивали и вскрывали непосредственно
115 перед началом исследования, добавляя к лиофилизату 1 мл 0,15 М хлорида
116 натрия, содержащего с целью стабилизации препарата формалин в конечной
117 концентрации 1%.

118 Изучение аналитических характеристик диагностикума до и после его
119 высушивания проводили на моделях гомо- и гетерологичных гипериммунных
120 сывороток, сывороток экспериментально зараженных животных, а также
121 образцов сывороток человека из случайного числа лиц, проживающих на
122 эндемичных территориях 3-х провинций Вьетнама (Ha Giang, Lang Son, Quang
123 Ninh) и вне их.

124 Все образцы сывороток для исследования в РНГА с эритроцитарным
125 антигенным мелиоидозным диагностикумом были любезно предоставлены
126 сотрудниками Совместного Российско-Вьетнамского Тропического научно-
127 исследовательского и технологического Центра под кодовыми
128 наименованиями согласно Хельсинкской декларации [2, 3]. Сыворотки были
129 разделены на аликвоты и зарезервированы в хранилище при температуре -
130 70°C.

131 Выполнение РНГА осуществляли в микроварианте. Сыворотки
132 инактивировали при 56°C, разводили 1:10 в 0,15 М NaCl и титровали двойным
133 шагом в объеме 50 мкл в 1% нормальной кроличьей сыворотке (НКС),
134 содержащей 1% формалина, в полистироловой 96-луночной пластине с V-
135 образным дном, после чего в каждую лунку вносили по 25 мкл 2,5%
136 диагностикума, и пластину оставляли при комнатной температуре под
137 крышкой. Отрицательными контролями служили лунки с добавлением

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

138 интактной 1% НКС. Учет реакции осуществляли по 4-хкрестовой системе:
139 предварительно через 2 час и окончательно – спустя 24 час после постановки.

140 Статистическую обработку полученных результатов проводили в
141 программном обеспечении Microsoft Excel. Границы доверительного
142 интервала (95% CI) рассчитывали по методу Уилсона (Wilson).

143 Результаты

144 Антигенный комплекс возбудителя мелиоидоза, осажденный с
145 помощью насыщенного до 40% раствора сульфата аммония и
146 ресуспендированный до концентрации 10 мг белка/мл, был использован для
147 сенсibilизации обработанных танином и формалином эритроцитов. В состав
148 сенситина входили 4 мажорных протеина – 28 кДа, 29 кДа, 40 кДа, 51,2 кДа.

149 Оптимальная сенсibilизирующая доза, при которой нагрузка
150 сенситина обеспечивала получение образцов диагностикума с
151 чувствительностью не ниже 1:1280 с контрольной гипериммунной козьей
152 сывороткой, составила 250 мкг/мл, что послужило основанием для
153 использования в ходе конструирования опытной серии препарата
154 концентрации сенситина 500 мкг/мл (двойной сенсibilизирующей дозы).

155 Аналитические характеристики полученного диагностикума были
156 изучены на наборах гомо- и гетерологичных гипериммунных сывороток, а
157 также сывороток зараженных различными штаммами возбудителей особо
158 опасных инфекций экспериментальных животных (табл. 1).

159 **Таблица 1. Аналитические характеристики эритроцитарного**
160 **антигенного мелиоидозного диагностикума по результатам РНГА с**
161 **сыворотками экспериментальных животных**

162 **Table 1. Analytical characteristics of Erythrocyte Antigenic**
163 **Melioidosis Diagnostic Agent according to the IHA results with experimental**
164 **animal sera**

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

165 Как следует из данных таблицы, нами был получен препарат
166 эритроцитарного антигенного мелиоидозного диагностикума,
167 продемонстрировавший на моделях иммунных и переболевших мелиоидозом
168 животных такие показатели чувствительности и специфичности, которые в
169 полной мере в эксперименте обеспечивали выявление специфических антител
170 к *B. pseudomallei*.

171 Для определения фоновых показателей возможных перекрестно-
172 реагирующих антител у населения Российской Федерации были изучены в
173 РНГА образцы 36 интактных сывороток человека (жителей г. Волгограда) при
174 их титровании двукратным шагом с начального разведения 1:5.

175 Итоги РНГА, отражающие взаимодействие антигенов возбудителя
176 мелиоидоза с антителами, присутствующими в образцах интактных сывороток
177 человека, представлены в табл. 2.

178

179 **Таблица 2. Результаты РНГА с эритроцитарным антигенным**
180 **мелиоидозным диагностикумом при исследовании сывороток лиц,**
181 **проживающих вне эндемичного региона**

182 **Table 2. IHA results with Erythrocyte Antigenic Melioidosis**
183 **Diagnostic Agent assessing sera of persons living outside the endemic region**

184 Как следует из представленных данных, на модели образцов
185 сывороток, полученных из неэндемичного региона, положительные
186 результаты РНГА в титре проб 1:5 обнаружены в 14 (38,9%), 1:10 – в 9 (25%)
187 наблюдений. В 13 случаях из 36 (36,1%) антител, перекрестно-реагирующих с
188 возбудителем мелиоидоза, не было зарегистрировано ни в одном из изученных
189 разведений, т.е. все 36 образцов сывороток, принадлежащих жителям
190 неэндемичной зоны, в титрах от 1:20 и выше оказались отрицательными.

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

191 В рамках работы, проводимой совместно с Российско-Вьетнамским
192 Тропическим научно-исследовательским и технологическим Центром, нами
193 проведено тестирование в РНГА 550 образцов сывороток крови лиц,
194 проживающих во вьетнамских провинциях Ha Giang, Lang Son, Quang Ninh
195 (290, 195 и 65 проб соответственно) в возрасте от 18 до 81 года (Me=41, IQR
196 30-50), у которых отсутствовали клинические признаки мелиоидозной
197 инфекции.

198 Изучение некоторых демографических показателей (пол, возраст),
199 было выполнено с использованием проб сывороток, полученных из провинции
200 Ha Giang. Выборка в равной мере охватывала взрослое население (как мужчин,
201 так и женщин) в возрасте от 18 до 81 года (рис.1).

202 **Рисунок 1. Распределение жителей провинции Ha Giang**
203 **Социалистической республики Вьетнам, сыворотки которых были**
204 **изучены в РНГА, по полу и возрасту**

205 **Figure 1. IHA-based sex- and age-dependent distribution of residents**
206 **in the province of Ha Giang of the Socialist Republic of Vietnam**

207 Таким образом, результаты РНГА с эритроцитарным антигенным
208 мелиоидозным диагностикумом при изучении рандомных образцов сывороток
209 жителей Вьетнама из провинций Ha Giang, Lang Son и Quang Ninh,
210 потенциально содержащих антитела к возбудителю мелиоидоза, подтвердили
211 возможность использования РНГА-анализа для выявления мелиоидозных
212 антител в сыворотках человека (табл. 3).

213 **Таблица 3. Результаты РНГА при определении титров**
214 **мелиоидозных антител в образцах сывороток лиц, проживающих в**
215 **провинциях Ha Giang, Lang Son, Quang Ninh Социалистической**
216 **Республики Вьетнам**

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

217 **Table 3. IHA results assessing serum titer of melioidosis antibodies in**
218 **persons living in the provinces of Ha Giang, Lang Son, Quang Ninh of the**
219 **Socialist Republic of Vietnam**

220 Согласно полученным результатам, мелиоидозные антитела в
221 изученных образцах сывороток обнаружены в титре проб 1:10 в 71,5%
222 наблюдений, хотя при дальнейшем разведении сывороток количество
223 положительных находок в РНГА резко снижалось и составляло для титров
224 1:20-1:40-1:80 соответственно 7,8%; 6,1% и 14,6% (в целом. около 30%).

225 Результаты реакции иллюстрированы гистограммой (рис. 2).

226

227 **Рисунок 2. Титры РНГА с эритроцитарным антигенным**
228 **melioidозным диагностикум при анализе сывороток клинически**
229 **здоровых лиц, проживающих на территориях отдельных провинций**
230 **Социалистической республики Вьетнама**

231 **Figure 2. Serum IHA titers by using Erythrocyte Antigenic Melioidosis**
232 **Diagnostic Agent in clinically healthy individuals living in the territories of**
233 **certain provinces of the Socialist Republic of Vietnam**

234

235 Таким образом, положительные находки РНГА в титрах сывороток от
236 1:20 до 1:80 были зарегистрированы в образцах, принадлежащих жителям
237 каждой из трех изученных провинций Вьетнама, и во всех наблюдениях
238 отсутствовали в пробах, полученных от лиц, проживающих вне эндемичного
239 региона.

240 **Обсуждение**

241 Формализированные танизированные эритроциты способны
242 эффективно адсорбировать на своей поверхности белковые антигенные

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

243 комплексы и как биологический носитель остаются востребованными
244 компонентами диагностических тест-систем.

245 Опытные серии препарата, представляющий собой носитель,
246 ковалентно связанный с антигенами возбудителя мелиоидоза, был получен
247 при белковой нагрузке сенсирина 500 мкг/мл.

248 Аналитические характеристики диагностикума были изучены на
249 моделях более чем 20 образцов сывороток экспериментальных животных (коз,
250 кроликов, белых мышей), подвергавшихся как иммунизации, так и заражению.
251 При этом оказалось, что титры сывороток переболевших мелиоидозом в
252 острой форме лабораторных белых мышей и кроликов составляют в РНГА (в
253 зависимости от вида объекта) от 1:160 до 1:1280.

254 Уровень мелиоидозных антител в гипериммунных сыворотках,
255 полученных в ходе многоциклового иммунизации взвешями инактивированных
256 клеток возбудителя здоровых животных (кроликов, коз), может достигать
257 1:25000 и даже – при использовании одного из наиболее вирулентных
258 штаммов *B. pseudomallei* 100 - 1:204800.

259 Представляет интерес тот факт, что авирулентный штамм *B.*
260 *pseudomallei* VPA, в геноме которого закрепились необратимая делеция,
261 вызывает у кроликов по результатам РНГА антителообразование такого же
262 уровня, что и близкородственный возбудитель III группы патогенности *B.*
263 *thailandensis* – 1:300-1:400. Как нам кажется, таким образом прослеживается
264 четкая патогенетически значимая связь вирулентных свойств возбудителя
265 мелиоидоза с его иммуногенностью.

266 Следует отметить, что в низких титрах (1:20-1:40) в отдельных случаях
267 положительные результаты РНГА были продемонстрированы на моделях
268 гипериммунных сывороток против близкородственных возбудителю
269 мелиоидоза буркхольдерий *B. ceracia*-комплекса. При этом сыворотки,
270 направленные против патогенных псевдомонад (*P. aeruginosa*, *P. fluorescens*,

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

271 *P. pseudocaligenses*), которые, как известно, также имеют перекрестно-
272 реагирующие с возбудителем мелиоидоза антигенные детерминанты, как и
273 сывороточные иммуноглобулины против *F. tularensis* или *Y. pestis*, в реакции
274 с антигенным мелиоидозным диагностикумом в исследуемых разведениях
275 (1:10 и выше) не взаимодействовали, что в целом подтверждает
276 специфические свойства полученного препарата.

277 В ходе изучения аналитических характеристик эритроцитарного
278 антигенного мелиоидозного диагностикума чувствительность РНГА при
279 исследовании гипериммунных сывороток лабораторных животных составила
280 1:320-1:640 и выше (в отдельных случаях до 1:204800).

281 В 12 из 15 наблюдений активные центры антител сывороток, которые
282 были получены путем иммунизации лабораторных животных
283 гетерологичными или близкородственными возбудителями, не
284 взаимодействовали с антигенными детерминантами возбудителя мелиоидоза,
285 т.е. специфичность диагностикума составила 80%.

286 Таким образом, реакция непрямой гемагглютинации, не требующая
287 применения специализированного оборудования, позволила в эксперименте в
288 течение 2-4 час получить четкие, специфичные и легко визуализируемые
289 результаты, что явилось весомым основанием для использования РНГА-
290 анализав работе по изучению уровня мелиоидозных антител в сыворотках
291 человека.

292 С этой целью нами отобраны образцы биопроб жителей как
293 эндемичных (провинций Ha Giang, Lang Son и Quang Ninh Социалистической
294 Республики Вьетнам), так и неэндемичной (РФ) местностей.

295 Контингент лиц, проживающих на территориях провинций Ha Giang,
296 Lang Son и Quang Ninh, оказался представлен преимущественно фермерами
297 (49,8%), а также другими категориями населения (врачи, учителя, рабочие,
298 студенты и др., 51,2 %) - 274 и 276 человек соответственно.

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

299 Следует отметить, что провинции Ha Giang и Lang Son расположены в
300 северных районах Вьетнама в гористой местности с высоким среднегодовым
301 уровнем осадков и температурой до +22,78°C. Около 90% и 80 % населения
302 провинций Ha Giang и Lang Son соответственно составляют сельские жители.

303 Провинция Quang Ninh находится в прибрежной зоне северного
304 Вьетнама примерно в тех же климатических условиях, но является
305 промышленным регионом, связанным, в основном, с добычей каменного угля.
306 Около 50% жителей провинции Quang Ninh относят к городскому населению,
307 многие из которых, тем не менее, по роду деятельности имеют близкий
308 контакт с землей.

309 Такие условия способствуют формированию и поддержанию
310 эндемичного очага мелиоидоза, являющегося источником значительного
311 эпидемиологического риска для проживающих в данном регионе лиц,
312 который, тем не менее, может быть снижен формированием у населения
313 иммунной прослойки (коллективного иммунитета). При этом, согласно
314 литературным данным, вероятной причиной формирования иммунитета у
315 обследуемых лиц, кроме регистрируемого заболевания, может быть
316 циркуляция штамма возбудителя мелиоидоза со сниженной вирулентностью
317 или контакт с близкородственным видом, что в целом обеспечивает
318 продукцию специфических антител и серопревалентность популяции [9].
319 Также существует мнение о возможности формирования популяционного
320 иммунитета к *B. pseudomallei* под влиянием авирулентных почвенных
321 штаммов *B. thailandensis*, которые имеют схожую с возбудителем мелиоидоза
322 антигенную структуру и могут, в конечном итоге, приводить к выработке
323 кросс-реактивных антител [8, 19, 20].

324 И, действительно, при исследовании образцов сывороток, полученных
325 от жителей провинций Ha Giang (290), Lang Son (195) и Quang Ninh (65),
326 оказалось, что в титре до 1:10 иммуноглобулины более 70% проб вступали в

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

327 реакцию с эритроцитарным антигенным мелиоидозным диагностикумом. По-
328 видимому, эти взаимодействия обусловлены неспецифическим связыванием
329 разнообразных пулов IgG, присутствующих в сыворотках человека. При этом,
330 начиная с титров от 1:20 и выше, средний уровень положительных результатов
331 РНГА снижался до 7,8% (43), 6,1% (34) и 14,6% (80) соответственно (рис. 3).
332 Среди интактных сывороток положительных результатов РНГА в разведениях
333 от 1:20 и выше не было зарегистрировано ни в одном из наблюдений, что, с
334 нашей точки зрения, является основанием для рекомендации проведения
335 РНГА-исследований, связанных с иммунодиагностикой мелиоидоза, в титрах
336 от 1:20 и выше. Полученные в отдельных случаях результаты титров 1:5-1:10
337 не могут иметь диагностического значения, так как, несомненно, обусловлены
338 неспецифическими взаимодействиями перекрестно-реагирующих
339 сывороточных антител.

340 **Рисунок 3. Результаты РНГА с эритроцитарным антигенным**
341 **мелиоидозным диагностикумом при изучении специфической**
342 **активности сывороток лиц, проживающих на территории эндемичного**
343 **региона Вьетнама и вне ее**

344 **Figure 3. Serum IHA results by using Erythrocyte Antigenic**
345 **Melioidosis Diagnostic Agent in individuals living in the territory of the**
346 **endemic region of Vietnam and outside**

347 По-видимому, нисходящая линия такой условной параболы (рис. 3)
348 отражает, наряду с увеличением титра сывороток, уменьшение числа
349 неспецифически-положительных результатов РНГА, при том, что более
350 высокие разведения сывороток, соответствующие восходящей ветви,
351 позволяют выявить в пробах присутствие специфически взаимодействующих
352 с антигенами возбудителя мелиоидоза антител, выработанных иммунными
353 лимфоцитами, возможно, вследствие постоянно-поддерживаемого контакта

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

354 макроорганизма с возбудителем или даже перенесенной мелиоидозной
355 инфекции.

356 Полученные нами данные находят подтверждение в материалах
357 зарубежных авторов. Так, в соответствии с выводами Chaichana, присутствие
358 специфических мелиоидозных иммуноглобулинов в сыворотках по
359 результатам РНГА следует регистрировать, начиная с разведения от 1:80 и
360 выше [7].

361 Cheng называет титры РНГА 1:40 – 1:80 «низко положительными» и
362 пограничными, а 1:160 и выше – «высоко положительными», однозначно
363 позволяющими подтвердить диагноз мелиоидоза с помощью
364 некультуральных методов исследования [9].

365 При изучении некоторых демографических показателей (пол, возраст),
366 выполненном на образцах сывороток, полученных от жителей провинции На
367 Giang, показано, что независимо от возраста в титрах от 1:20 оказались
368 серопозитивными 25 из 91 (27,4%) сывороток мужчин и 55 из 199 (27,6%)
369 сывороток женщин, из чего следует, что положительные результаты проб не
370 имеют корреляции ни с полом, ни с возрастом обследуемых [16].

371 Представленные результаты согласуются с выводами Chaichana,
372 которая наиболее важным аспектом серопозитивности популяции считала
373 область проживания людей (село или город) и род их деятельности, но не пол
374 или возраст [7].

375 Таким образом, на основе выделенных антигенных комплексов
376 *B. pseudomallei* проведено конструирование эритроцитарного антигенного
377 мелиоидозного диагностикума, который был подвергнут лиофилизации по
378 многоступенчатой программе [5], позволившей обеспечить в полной мере
379 сохранение его аналитических характеристик как в условиях жаркого
380 тропического климата, так и перепадов давления при авиаперелетах.

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

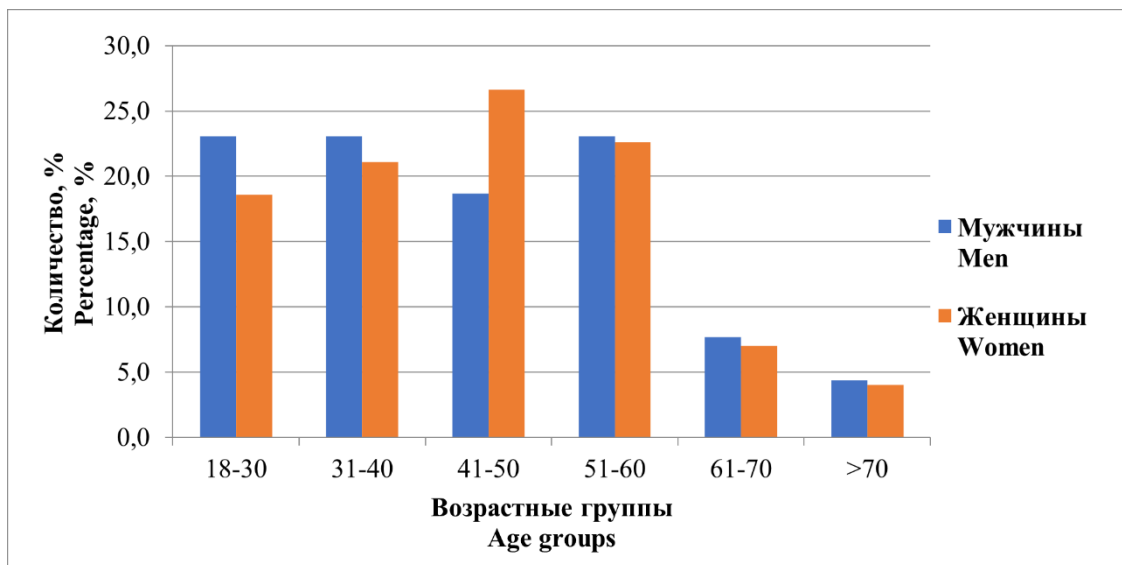
381 С помощью полученного нами эритроцитарного антигенного
382 мелиоидозного диагностикума в РНГА проведено изучение 550 сывороток
383 крови лиц, проживающих в провинция На Giang, Lang Son и Quang Ninh
384 Социалистической Республики Вьетнам, а также 36 интактных сывороток лиц
385 из неэндемичного региона.

386 По результатам выполненных исследований подтверждено
387 формирование у 30% лиц, проживающих в эндемичной зоне, естественного
388 иммунитета к мелиоидозу в виде присутствия в сыворотках мелиоидозных
389 антител в титрах от 1:20 и выше. При этом не исключено, что титры от 1:80 и
390 выше при иммунодиагностике мелиоидоза могут иметь критическое значение.

РИСУНКИ

Рисунок 1. Распределение жителей провинции На Giang Социалистической республики Вьетнам, сыворотки которых были изучены в РНГА, по полу и возрасту

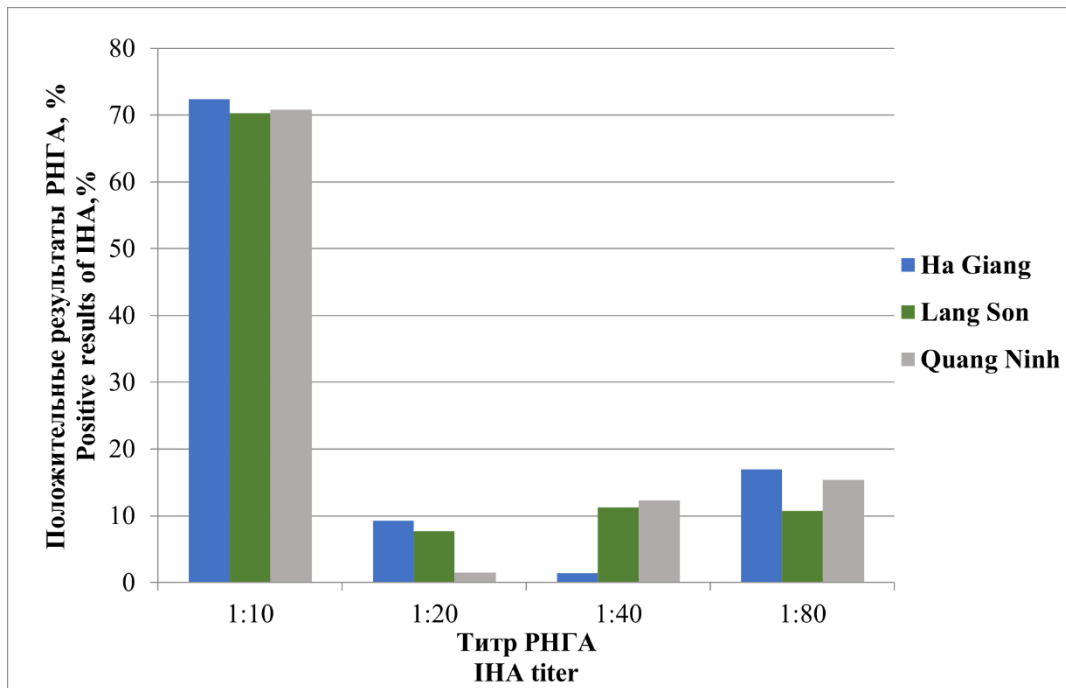
Figure 1. IHA-based sex- and age-dependent distribution of residents in the province of Ha Giang of the Socialist Republic of Vietnam



IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

Рисунок 2. Титры РНГА с эритроцитарным антигенным мелиоидозным диагностикум при анализе сывороток клинически здоровых лиц, проживающих на территориях отдельных провинций Социалистической республики Вьетнама

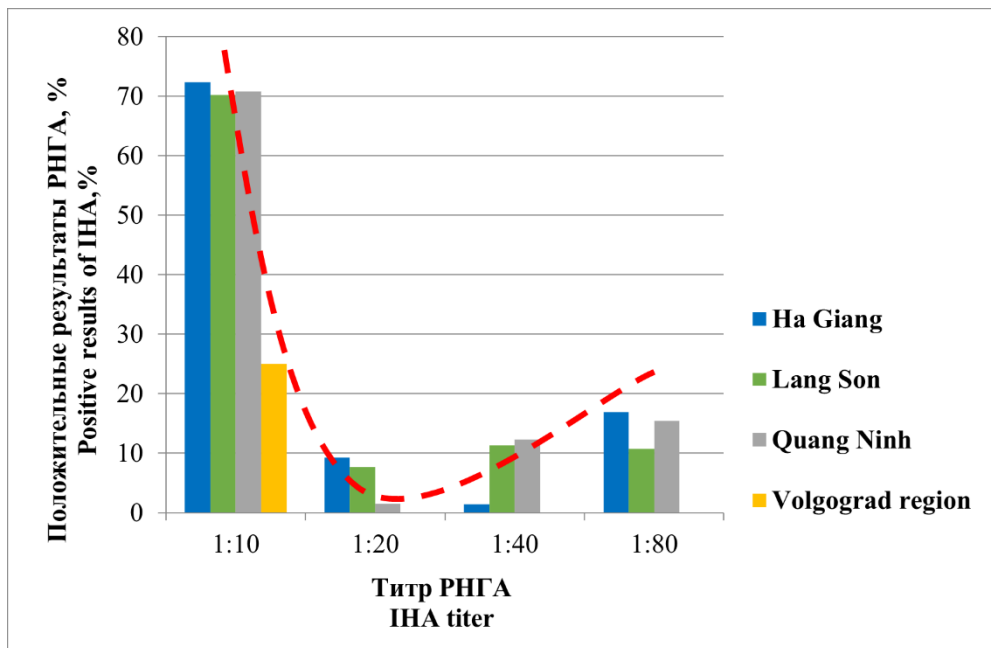
Figure 2. Serum IHA titers by using Erythrocyte Antigenic Melioidosis Diagnostic Agent in clinically healthy individuals living in the territories of certain provinces of the Socialist Republic of Vietnam



IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

Рисунок 3. Результаты РНГА с эритроцитарным антигенным мелиоидозным диагностикумом при изучении специфической активности сывороток лиц, проживающих на территории эндемичного региона Вьетнама и вне ее

Figure 3. Serum IHA results by using Erythrocyte Antigenic Melioidosis Diagnostic Agent in individuals living in the territory of the endemic region of Vietnam and outside



IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Аналитические характеристики эритроцитарного антигенного мелиоидозного диагностикума по результатам РНГА с сыворотками экспериментальных животных

Table 1. Analytical characteristics of Erythrocyte Antigenic Melioidosis Diagnostic Agent based on IHA results with experimental animal sera

№	Вид сыворотки <i>Type of serum</i>	Титры в РНГА <i>IHA titers</i>
1.	Сыворотки кроликов, зараженных <i>B. pseudomallei</i> 107 Serum of rabbits infected with <i>B. pseudomallei</i> 107	1:1280-1:2560
2.	Сыворотки белых мышей, зараженных <i>B. pseudomallei</i> 56830 Sera of white mice infected with <i>B. pseudomallei</i> 56830	1:160– 1:1280
3.	Сыворотки кроликов, иммунизированных различными инактивированными штаммами возбудителей мелиоидоза (<i>B. pseudomallei</i> 56830, 57576, 59361«S» 111-6-1 и др.) Sera of rabbits immunized with various inactivated strains of melioidosis pathogens (<i>B. pseudomallei</i> 56830, 57576, 59361 "S" 111-6-1, etc.)	1:3200-1:25600
4.	Сыворотка козья гипериммунная мелиоидозная (против <i>B. pseudomallei</i> 100) Goat hyperimmune serum melioidosis (against <i>B. pseudomallei</i> 100)	1:51200- 1:204800
5.	Сыворотка кролика, иммунизированного авирулентным штаммом <i>B. pseudomallei</i> VPA Sera from rabbits immunized with avirulent strain <i>B. pseudomallei</i> VPA	1:320-1:640
6.	Иммунная сыворотка кролика против <i>B. thailandensis</i> Rabbit immune serum against <i>B. thailandensis</i>	1:400
7.	Иммунная сыворотка кролика против <i>B. cepacia</i> 423 Rabbit immune serum against <i>B. cepacia</i> 423	-
8.	Иммунная сыворотка кролика против <i>B. cepacia</i> 8235 Rabbit immune serum against <i>B. cepacia</i> 8235	-
9.	Иммунная сыворотка кролика против <i>B. cepacia</i> 3181 Rabbit immune serum against <i>B. cepacia</i> 3181	1:40
10.	Иммунная сыворотка кролика против <i>B. cepacia</i> 8236 Rabbit immune serum against <i>B. cepacia</i> 8236	-

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

	Rabbit immune serum against <i>B. cepacia</i> 8236	
11.	Иммунная сыворотка кролика против <i>B. cepacia</i> (ЭЦАг) Rabbit immune serum against <i>B. cepacia</i> (ECAg)	1:20
12.	Иммунная сыворотка кролика против <i>P. aeruginosa</i> H-8 Rabbit immune serum against <i>P. aeruginosa</i> H-8	-
13.	Иммунная сыворотка кролика против <i>P. aeruginosa</i> H1 Rabbit immune serum against <i>P. aeruginosa</i> H1	-
14.	Иммунная сыворотка кролика против <i>P. aeruginosa</i> H-6 Rabbit immune serum against <i>P. aeruginosa</i> H-6	-
15.	Иммунная сыворотка кролика против <i>P. aeruginosa</i> PAO 1 Rabbit immune serum against <i>P. aeruginosa</i> PAO 1	-
16.	Иммунная сыворотка кролика против <i>P. fluorescens</i> 540 Rabbit immune serum against <i>P. fluorescens</i> 540	-
17.	Иммунная сыворотка кролика против <i>P. pseudoalcaligenes</i> Rabbit immune serum against <i>P. pseudoalcaligenes</i>	-
18.	Иммунная сыворотка кролика против <i>F. tularensis</i> 32 Rabbit immune serum against <i>F. tularensis</i> 32	-
19.	Иммунная сыворотка кролика против <i>F. tularensis</i> Rabbit immune serum against <i>F. tularensis</i>	-
20.	Иммунная сыворотка кролика против <i>Y. pestis</i> Rabbit immune serum against <i>Y. pestis</i>	-

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

Таблица 2. Результаты РНГА с эритроцитарным антигенным мелиоидозным диагностикумом при исследовании сывороток лиц, проживающих вне эндемического региона

Table 2. IHA results with Erythrocyte Antigenic Melioidosis Diagnostic Agent assessing sera from persons living outside the endemic region

Общее число проб Total number of samples	Из них положительные в РНГА в титрах Of these, IHA positive titers					
	1:5		1:10		1:20	
	n	% (95% CI)	n	% (95% CI)	n	% (95% CI)
36	14	38,9 (24,8-55,1)	9	25 (13,8-41,1)	0	-

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

Таблица 3. Результаты РНГА при определении титров мелиоидозных антител в образцах сывороток лиц, проживающих в провинциях Ha Giang, Lang Son, Quang Ninh Социалистической Республики Вьетнам

Table 3. IHA results determining titer of serum melioidosis antibodies in persons living in the provinces of Ha Giang, Lang Son, Quang Ninh of the Socialist Republic of Vietnam

Провинция Provinces	Общее число проб Total number of samples	Из них положительные в РНГА в титрах Of these, IHA positive titers							
		1:10		1:20		1:40		1:80	
		n	% (95% CI)	n	% (95% CI)	n	% (95% CI)	n	% (95% CI)
Ha Giang	290	210	72,4 (67-77,2)	27	9,3 (6,5-13,2)	4	1,4 (0,54-3,5)	49	16,9 (13-21,6)
Lang Son	195	137	70,3 (63,5-76,2)	15	7,7 (4,7-12,3)	22	11,3 (7,6-16,5)	21	10,8 (7,2-15,9)
Kuang Ninh	65	46	70,8 (58,8-80,4)	1	1,5 (0,3-8,2)	8	12,3 (6,4-22,5)	10	15,4 (8,6-26,1)
Всего: Total:	550	393	71,5 (67,5-75,1)	43	7,8 (5,8-10,4)	34	6,1 (4,5-8,5)	80	14,6 (11,9-17,7)

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МТЕАДАННЫЕ

**ПОЛУЧЕНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭРИТРОЦИТАРНОГО
АНТИГЕННОГО МЕЛИОИДОЗНОГО ДИАГНОСТИКУМА ПРИ
АНАЛИЗЕ ПРОБ СЫВОРОТОК ОТ ЛИЦ ИЗ ЭНДЕМИЧНЫХ ПО
МЕЛИОИДОЗУ ПРОВИНЦИЙ НА GIANG, LANG SON И QUANG NINH
СОЦИАЛИСТИЧЕСКОЙ РЕСПУБЛИКИ ВЬЕТНАМ**

**OBTAINING AND USING ERYTHROCYTE ANTIGENIC MELIIDOSIS
DIAGNOSTIC AGENT IN THE ANALYSIS OF SERUM SAMPLES FROM
MELIIDOSIS-ENDEMIC PROVINCES НА GIANG, LANG SON AND
QUANG NINH OF THE SOCIALIST REPUBLIC OF VIETNAM**

Блок 1. Информация об авторе, ответственном за переписку

Терешко Дмитрий Леонидович, научный сотрудник

Tereshko Dmitrii Leonidovich, Researcher

Федеральное казённое учреждение здравоохранения «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Federal Government Health Institution «Volgograd Plague Control Research Institute» of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare

400131, ул. Голубинская 7, Волгоград, Россия

400131, st. Golubinskaya 7, Volgograd, Russia

Телефоны:

сот. +79370829311

+7 (8442) 37-37-74

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

Факс: +7 (8442) 39-33-36

Электронная почта:

dltereshko@gmail.com

vari2@sprint-v.com.ru

Блок 2. Информация об авторах

Терешко Дмитрий Леонидович, научный сотрудник, dltereshko@gmail.com,
0000-0002-5876-1270

Tereshko Dmitrii Leonidovich, Researcher dltereshko@gmail.com, 0000-0002-
5876-1270

Новицкая Ирина Вячеславовна, кандидат медицинских наук, доцент,
ведущий научный сотрудник, irvnov@mail.ru, 0000-0001-8124-0310

Novitskaya Irina Vyacheslavovna, Candidate of Medical Sciences, Associate
Professor, Leading Researcher, irvnov@mail.ru, 0000-0001-8124-0310

Захарова Ирина Борисовна, кандидат медицинских наук, доцент, ведущий
научный сотрудник, zib279@gmail.com, 0000-0002-7808-7658

Zakharova Irina Borisovna, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor,
Leading Researcher, zib279@gmail.com, 0000-0002-7808-7658

Данг Хонг Чиен, согендиректора Тропического центра

Dang Hong Trien, co-director of the Tropical Center

Кузнецов Андрей Николаевич, доктор биологических наук, согендиректора
Тропического центра, forestkuz@mail.ru

Kuznetsov Andrey Nikolaevich Doctor of Biological Sciences, co-director of the
Tropical Center, forestkuz@mail.ru

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

Кулаков Михаил Яковлевич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, mihailkulakov2115@gmail.com,

Kulakov Mikhail Yakovlevich Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher, mihailkulakov2115@gmail.com,

Будченко Анатолий Александрович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

Budchenko Anatoly Alexandrovich Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, budchenko1976@yandex.ru,

Пушкарь Владимир Георгиевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, gunner50@mail.ru,

Pushkar Vladimir Georgievich Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, gunner50@mail.ru,

Викторов Дмитрий Викторович, доктор биологических наук, доцент, зам. директора, dvictorov09@gmail.com, 0000-0002-2722-7948

Viktorov Dmitry Viktorovich, Doctor of Biological Sciences, Associate

Professor, Deputy. director, dvictorov09@gmail.com, 0000-0002-2722-7948

Топорков Андрей Владимирович, доктор медицинских наук, доцент, директор, topotkov-andreyy@rambler.ru, 0000-0002-3449-4657

Toporkov Andrey Vladimirovich Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Director, topotkov-andreyy@rambler.ru, 0000-0002-3449-4657

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

Терешко 1 Д.Л., Новицкая 1 И.В., Захарова 1 И.Б., Данг Хонг Чиен 2,
Кузнецов 2 А.Н., Кулаков 1 М.Я., Будченко 1 А.А., Пушкарь 1 В.Г.,
Топорков 1 А.В., Викторов 1 Д.В.

1. ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Волгоград, Российская Федерация
2. Совместный Российско-Вьетнамский Тропический Научно-исследовательский и Технологический Центр, г. Ханой, Социалистическая Республика Вьетнам

Tereshko a D.L., Novitskaya a I.V., Zakharova a I.B., Dang Hong Trien b,
Kuznetsov b A.N., Kulakov a M.Ya., Pushkar a V.G., Toporkov a A.V.,
Viktorov a D.V.

- a. Federal Government Health Institution «Volgograd Plague Control Research Institute» of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Volgograd, Russia
- b. Joint Russian-Vietnamese Tropical Research and Technology Center, Hanoi, Socialist Republic of Vietnam

Блок 3. Метаданные статьи

Иммунитет к возбудителю мелиоидоза

Immunity to Agent of Melioidosis

Ключевые слова: мелиоидоз, *Burkholderia pseudomallei*, иммунодиагностика, популяционный иммунитет, РНГА, антигенный эритроцитарный диагностикум, Социалистическая Республика Вьетнам

Key words: melioidosis, *Burkholderia pseudomallei*, immunodiagnostics, population immunity, ИНА, erythrocyte antigenic diagnostic agent, Socialist Republic of Vietnam

Текст: 13 страниц

Рисунков: 3

Таблиц: 3

Оригинальная статья

20.04.2022 г.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи и/или
1	Захарова И.Б., Топорков А.В., Викторов Д.В. Мелиоидоз в аспектах эпидемиологии, клиники и лабораторной диагностики. Инфекция и иммунитет. 2021;11(3):409-422.	Zakharova I.B., Toporkov A.V., Viktorov D.V. Melioidosis in aspects of epidemiology, clinic, and laboratory diagnostics. Russian Journal of Infection and Immunity. 2021;11(3):409-422	https://www.iimmun.ru/iimm/article/view/1584 [10.15789/2220-7619-MIA-1584]
2	Калинина О.В., Личная Е.В., Pham Thi Ha Giang, Bui Thi Lan Anh, Vo Viet Cuong, Pham Ngoc Quang, Чуланов В.П., Дмитриев А.В. Распространенность парентеральных вирусных гепатитов во Вьетнаме / Под	Kalinina O.V., Personal E.V., Pham Thi Ha Giang, Bui Thi Lan Anh, Vo Viet Cuong, Pham Ngoc Quang, Chulanov V.P., Dmitriev A.V. Prevalence of parenteral viral hepatitis in Vietnam. Ed. A.Yu.	В печатном варианте

	ред. А.Ю. Поповой, А.В. Топоркова, 2019. С. 259-270.	Porova, A.V. Toporkov, 2019., pp. 259-270.	
3	Личная Е.В., Фам Т.Ж., Петрова О.А., Чан Т.Н., Нгуен Т.Т., Буй Т.Н., Во В.К., Дмитриев А.В., Калинина О.В. Распространенность гепатита Е среди коренного населения северной провинции Ха Занг, Вьетнам. <i>Инфекция и иммунитет</i> . 2021;11(4):692-700.	Lichnaia E.V., Pham T.G., Petrova O.A., Tran T.N., Nguyen T.T., Bui T.N., Vo V.C., Dmitriev A.V., Kalinina O.V. Hepatitis E virus seroprevalence in indigenous residents of the Ha Giang northern province of Vietnam. Russian Journal of Infection and Immunity. 2021;11(4):692-700.	https://www.iimmun.ru/iimm/article/view/1764 [10.15789/2220-7619-HEV-1764]
4	Патент РФ № 2013135369/15, 26.07.2013 Куделина А.М., Новицкая И.В., Кулаков М.Я., Пушкарь В.Г., Илюхин В.И., Будченко А.А., Прохватилова Е.В., Дубина И.А., Замарин А.Е.,	Patent of the Russian Federation No. 2013135369/15, 07/26/2013 Kudelina A.M., Novitskaya I.V., Kulakov M.Ya., Pushkar V.G., Ilyukhin V.I., Budchenko A.A., Prokhvatilova E.V., Dubina I.A.,	https://patenton.ru/patent/RU2540902C1.pdf

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

	<p>Мазурова И.Ю., Куликова А.С., Сенина Т.В. //Патент России № 2540902. 2015 Бюл. № 4. Способ получения антигенного эритроцитарного диагностикума для обнаружения антител к антигенам возбудителей сапа и мелиоидоза.</p>	<p>Zamarin A E.E., Mazurova I.Yu., Kulikova A.S., Senina T.V. //Patent of Russia No. 2540902. 2015 Bull. No. 4. Method for preparing erythrocytic diagnostic antigen for detecting Actinobacillus mallei and melioidosis antigen antibodies</p>	
5	<p>Патент РФ № 2011127595/06 05.07.2011 Пушкарь В.Г., Новицкая И.В., Кулаков М.Я., Павлова К.А. Степурина А.М. // Патент России №2476791. 2013 Бюл. №6. Способ лиофильной сушки эритроцитарного диагностикума.</p>	<p>Patent of the Russian Federation No. 2011127595/06 07.05.2011 Pushkar' V.G., Novitskaja I.V., Kulakov M.J., Pavlova K.A., Stepurina A.M. // Russian patent No. 2476791. 2013 Bull. No. 6. Method for freeze drying erythrocyte diagnosticum.</p>	

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

6	-	Brett P.J., Woods D.E. Pathogenesis of and immunity to melioidosis <i>Acta trop.</i> , 2000, vol. 74, no 2-3, pp. 201-210.	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10674650/ [<i>10.1016/s0001-706x(99)00071-6</i>]
7		Chaichana P., Jenjaroen K., Amornchai P., Chumseng S., Langla S., Rongkard P., Sumonwiriya M., Jeeyapant A., Chantratita N., Teparrukkul P., Limmathurotsakul D., Day N.P.J., Wuthiekanun V., Dunachie S.J. Antibodies in melioidosis: the role of the indirect hemagglutination assay in evaluating patients and exposed populations <i>Am J Trop Med Hyg.</i> , 2018, vol. 99, no. 6, pp. 1378-1385.	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30298810/ [<i>10.4269/ajtmh.17-0998</i>]

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

8		Charoenwong P., Lumbiganon P., Puapermpoonsiri S., The prevalence of the indirect hemagglutination test for melioidosis in children in an endemic area. <i>Southeast Asian J Trop Med Public Health.</i> , 1992, vol. 23, no. 4, pp. 698–701.	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1284319/
9		Cheng A.C., O'brien M., Freeman K., Lum G., Currie B.J. Indirect hemagglutination assay in patients with melioidosis in northern Australia <i>Am J Trop Med Hyg.</i> , 2006, vol. 74, no. 2, pp. 330-334.	https://www.ajtmh.org/view/journals/tpmd/74/2/article-p330.xml [10.4269/ajtmh.2006.74.330]
10		Cheng A.C., Currie B.J. Melioidosis: epidemiology, pathophysiology, and management	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15831829/

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

		<i>Clin Microbiol Rev.</i> , 2005, vol. 18, no. 2, pp. 383-416.	[10.1128/CMR.18.2.383-416.2005]
11		Dong S., Wu L., Long F., Wu Q., Liu X., Pei H., Xu K., Lu Y., Wang Y., Lin Y., Xia Q. The prevalence and distribution of <i>Burkholderia pseudomallei</i> in rice paddy within Hainan, China <i>Acta trop.</i> , 2018, vol. 187, pp. 165-168.	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30096286/ [10.1016/j.actatropica.2018.08.007]
12		Inglis T.J.J., Sagripanti J.L. Environmental factors that affect the survival and persistence of <i>Burkholderia pseudomallei</i> <i>Appl Environ Microbiol.</i> , 2006, vol. 72, no. 11, pp. 6865-6875.	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16980433/ [10.1128/AEM.01036-06]

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

13		Manivanh L., Pierret A., Rattanaovong S., Kounnavongsa O., Buisson Y., Elliott I., Maeght J.L., Xayyathip K., Silisouk J., Vongsouvath M., Phetsouvanh R., Newton P.N., Lacombe G., Ribolzi O., Rochelle-Newall E., Dance D.A.B. <i>Burkholderia pseudomallei</i> in a lowland rice paddy: seasonal changes and influence of soil depth and physico-chemical properties <i>Sci rep.</i> , 2017, vol. 7, no. 1, pp. 1- 11.	https://www.nature.com/articles/ s41598-017-02946-z [10.1038/s41598-017-02946-z]
14		Phuong D.M., Trung T.T., Breitbach K., Tuan N.Q., Nübel U., Flunker G., Khang D.D., Quang N.X., Steinmetz I. Clinical and microbiological features of	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/ /19121682/ [10.1016/S0035- 9203(08)70009-9]

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

		meloidosis in northern Vietnam <i>Trans R Soc Trop Med Hyg.</i> 2008, <i>vol. 102, no. Supplement_1, pp.</i> 30-36.	
15		Samy P.R, Stiles B.G., Sethi G., Lim L.H.K. Melioidosis: Clinical impact and public health threat in the tropics <i>PLoS Negl Trop Dis.</i> , 2017, <i>vol. 11.</i>	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28493905/ [10.1371/journal.pntd.0004738]
16		So S.Y., Chau P.Y., Aquinas M., Gabriel M., Lam W.K. Melioidosis: a serological survey in a tuberculosis sanatorium in Hong Kong. <i>Trans R Soc Trop Med Hyg.</i> 1987, <i>vol. 81, no. 6, pp.</i> 1017–1019.	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3503401/ [10.1016/0035-9203(87)90384-1]

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

17		Thomas A.D., Forbes-Faulkner J., Parker M. Isolation of <i>Pseudomonas pseudomallei</i> from clay layers at defined depths <i>Am J Epidemiol.</i> 1979, vol. 110, no. 4, pp. 515-521.	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/507042/ [10.1093/oxfordjournals.aje.a112832]
18		Wiersinga W.J., Virk H.S., Torres, A.G., Currie B.J., Peacock S.J., Dance D., Limmathurotsakul D. Melioidosis <i>Nat Rev Dis Primers.</i> 2018, vol. 4, no. 1, pp. 1-22.	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29388572/ [10.1038/nrdp.2017.107]
19		Wuthiekanun V., Chierakul W., Langa S., Chaowagul W., Panpitpat C., Saipan P., Thoujaikong T., Day N.P., Peacock S.J. Development of antibodies to <i>Burkholderia</i>	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16760522/ [10.4269/ajtmh.2006.74.1074]

IMMUNITY TO AGENT OF MELIOIDOSIS

		<i>pseudomallei</i> during childhood in melioidosis-endemic northeast Thailand. <i>Am J Trop Med Hyg.</i> , 2006, vol. 74, no. 6, pp. 1074–1075.	
20		Wuthiekanun V., Langa S., Swaddiwudhipong W., Jedsadapanpong W., Kaengnet Y., Chierakul W., Day N.P., Peacock S.J. Short report: melioidosis in Myanmar: forgotten but not gone? <i>Am J Trop Med Hyg.</i> , 2006, vol. 75, no. 5, pp. 945–946.	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17123993/ [10.4269/ajtmh.2006.75.945]