



## Применение иммуномагнитной сепарации для ускоренного обнаружения клеток *F. tularensis* в образцах почвы с помощью иммунохроматографического теста

Ветчинин С.С., Шевяков А.Г.<sup>✉</sup>, Яковлева В.А., Миронова Р.И., Бикетов С.Ф.

Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, Оболенск, Россия

### Аннотация

**Введение.** Эпизоотологический мониторинг заражённости территории возбудителем туляремии предполагает сбор и исследование разнообразного полевого материала. Анализ таких объектов занимает длительное время и достаточно трудоёмок. В связи с этим существует потребность в разработке простых и быстрых диагностических методик, позволяющих проводить анализ образцов в условиях ограниченных ресурсов.

**Цель** работы — изучить возможность применения иммуномагнитной сепарации (ИМС) для ускоренной детекции клеток *Francisella tularensis* в образцах почвы с использованием иммунохроматографии.

**Материалы и методы.** Иммуномагнитные частицы получали на основе моноклональных антител к липополисахариду возбудителя туляремии. Для исследования использовали образцы почвы массой 1 г, в которые предварительно вносили инактивированные клетки *F. tularensis* 15/10. Образцы почвы перемешивали в экстрагирующем буфере, фильтровали и проводили сепарацию туляремиальных клеток с помощью суспензии иммуномагнитных частиц. Частицы отмывали, ресуспендировали в экстрагирующем буфере и прогревали при 100°C в течение 5 мин. Супернатант анализировали с помощью тест-полосок «ИХ-тест *F. tularensis*».

**Результаты.** Применение сочетания метода ИМС и иммунохроматографического теста для детекции клеток *F. tularensis* позволило обнаружить до  $1 \times 10^6$  клеток возбудителя туляремии в исследуемых образцах почвы, в то время как в пробах почвы без ИМС выявлено  $1 \times 10^7$  клеток.

**Выводы.** Разработана методика, основанная на использовании ИМС и иммунохроматографического теста, открывающая перспективы ускоренной диагностики заражённости образцов почвы в очаге туляремиальной инфекции. Время проведения анализа — около 3 ч. Чувствительность определения возбудителя —  $1 \times 10^6$  микробных клеток в 1 г образца почвы. Методика проста, не требует сложного, дорогостоящего оборудования и может быть легко адаптирована для тестирования образцов другого происхождения (вода, зерно и др.). Полученные в процессе сепарации бактериальные клетки могут быть переданы для детекции *F. tularensis* другими методами.

**Ключевые слова:** *F. tularensis*, ИХ-тестирование, иммуномагнитная сепарация

**Источник финансирования.** Исследование выполнено в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Для цитирования:** Ветчинин С.С., Шевяков А.Г., Яковлева В.А., Миронова Р.И., Бикетов С.Ф. Применение иммуномагнитной сепарации для ускоренного обнаружения клеток *F. tularensis* в образцах почвы с помощью иммунохроматографического теста. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2023;100(3):219–224. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-348>  
EDN: <https://www.elibrary.ru/pisplo>

Original Study Article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-348>

# Application of immunomagnetic separation for accelerated detection of *F. tularensis* cells in soil samples using an immunochromatographic test

Sergey S. Vetchinin, Anton G. Sheviakov<sup>✉</sup>, Vera A. Yakovleva, Raisa I. Mironova, Sergey F. Biketov

State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia

## Abstract

**Introduction.** Epizootological monitoring of the area contamination with the causative agent of tularemia implies the collection and analysis of a variety of field specimens. The analysis of such objects is time- and labour-consuming. In this context, simple and fast diagnostic techniques are needed to analyze specimens under resource-limited conditions.

**Aim.** To study the possibility of using immunomagnetic separation for accelerated detection of *Francisella tularensis* cells in soil samples using immunochromatography.

**Materials and methods.** Immunomagnetic particles (IMPs) were produced by using monoclonal antibodies to lipopolysaccharide (LPS) of the tularemia causative agent. Soil specimens weighing 1 g with preliminary introduced inactivated *F. tularensis* 15/10 cells were used in the study. The samples were suspended in an extraction buffer (EB) and filtered. Tularemia cells were separated by IMP suspension. The particles were washed, resuspended in EB and heated at 100°C for 5 minutes. The supernatant was analyzed with test strips based on «*F. tularensis* IC-test kit».

**Results.** A combination of the immunomagnetic separation method and the IC test to detect *F. tularensis* cells identified up to  $1 \times 10^6$  cells of the tularemia pathogen in analyzed soil samples, while  $1 \times 10^7$  cells were detected in soil washouts in the absence of immunomagnetic separation.

**Conclusion.** The developed technique combining immunomagnetic separation and IC tests opens up prospects for express diagnostics of soil sample contamination in tularemia foci. The analysis takes about 3 hours, and its sensitivity is  $1 \times 10^6$  cells/g of soil. The technique is simple, not requiring sophisticated expensive equipment. It can be easily adapted for testing other specimen types (water, grain, etc.). In addition, separated bacterial cells can be used for *F. tularensis* detection by other methods.

**Keywords:** *F. tularensis*, lateral flow immunochromatographic analysis, immunomagnetic separation

**Funding source.** This study was supported by Industry program of Rosпотребнадзор.

**Conflict of interest.** The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article

**For citation:** Vetchinin S.S., Sheviakov A.G., Yakovleva A.V., Mironova R.I., Biketov S.F. Application of immunomagnetic separation for accelerated detection of *F. tularensis* cells in soil samples using an immunochromatographic test. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2023; 100(3):219–224.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-348> EDN: <https://www.elibrary.ru/pisplo>

## Введение

Туляремия — зоонозная природно-очаговая инфекция, вызываемая бактерией *Francisella tularensis*. Заболевание характеризуется симптомами общей интоксикации, лихорадкой, воспалительными изменениями в области ворот инфекции, регионарным лимфаденитом, склонностью к затяжному течению. Основными резервуарами и источниками возбудителя туляремии в естественных условиях являются дикие птицы и животные (около 50 видов), вода и гидробионты [1]. На территории природных очагов туляремии могут заражаться овцы, свиньи, крупный рогатый скот. Переносчиками инфекции являются клещи, комары, слепни, блохи. Согласно классификации, возбудитель *F. tularensis* входит во

II группу патогенных бактерий (опасных для человека) и относится к наиболее опасным микроорганизмам категории А, способным вызывать массовые заболевания людей (эпидемические вспышки). В связи с этим требуется постоянный мониторинг природных очагов туляремии с применением различных методов контроля.

Детекцию туляремийного антигена согласно МУ 3.1.2007-05 «Эпидемиологический надзор за туляремией» проводят для определения эпизоотии (текущей или прошлой) на исследуемой территории. Инфицирование туляремией происходит при вдыхании пылевого аэрозоля, содержащего живые туляремийные клетки. Пылевой аэрозоль образуется из частиц земли в ходе сельскохозяйственных ра-

бот и производства продуктов питания. Заражение почвы туляремийными клетками происходит через помёт хищных птиц, грызунов. Мониторинг объектов внешней среды — один из эффективных способов обнаружить возбудителя туляремии благодаря его устойчивости. Для исследования образцов окружающей среды отбирают погадки и помёт хищных птиц, кровососущих насекомых (после гомогенизации и экстрагирования), пробы воды и ила из водоёмов, гнёзда вместе с почвой и другие объекты, загрязнённые выделениями грызунов. Исследование образцов, представляющих собой сложные матрицы (например, почва), методами иммунодиагностики требует извлечения бактериальных клеток из смеси с другими микроорганизмами и компонентами субстрата, затрудняющими проведение анализа.

В состав перечня диагностических тест-систем для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней санитарной службы РФ утверждён набор реагентов для иммунохроматографического (ИХ) экспресс-теста для выявления и идентификации возбудителя туляремии «ИХ-тест *F. tularensis*» (ФСР 2009/05486, ТУ 9398-092-78095326-2000<sup>1</sup>). ИХ-тест разработан на основе высокоспецифичных моноклональных антител (МКА) [2]. В частности, применение этой ИХ-тест-системы для экспресс-выявления туляремийного микроба при проведении мониторинга природных очагов Северного Кавказа показало её высокую специфичность. У всех 69 штаммов *F. tularensis*, выделенных из клещей, наблюдали формирование полосы в тестовой зоне. Чувствительность составила  $1 \times 10^7$  микробных клеток/мл [3].

В качестве одного из подходов для увеличения чувствительности диагностики инфекционных агентов и их маркеров в исследуемых образцах может использоваться этап концентрирования с применением иммуномагнитных частиц (ИМЧ), в частности, в таких методах диагностики, как иммуноферментный анализ [4–7], иммунохроматография [8], изотермическая амплификация [9], полимеразная цепная реакция [10].

**Цель** настоящей работы — изучить возможность применения иммуномагнитной сепарации для ускоренной детекции клеток *F. tularensis* в образцах почвы с использованием ИХ.

## Материалы и методы

### Бактериальные штаммы

Вакцинный штамм *F. tularensis* subsp. *holarctica* 15/10 НИИЭГ (штамм В-4341) был получен из

Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск» ФБУН ГНЦ ПМБ.

### Условия культивирования

Культивирование и инактивацию штамма *F. tularensis* subsp. *holarctica* 15/10 НИИЭГ проводили по описанной ранее методике [11] в соответствии с санитарными правилами<sup>2</sup>.

### Наработка моноклональных антител к возбудителю туляремии

Для наработки МКА к липополисахариду *F. tularensis* гибридому 3F5 [11] выращивали *in vitro* в культуральных флаконах Т-75 («ТРП») на среде RPMI-1640 («Gibco») с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки («HyClone») при 37°C и 5% CO<sub>2</sub>. После 4–6 сут роста культуральную жидкость с клетками гибридом центрифугировали при 500g в течение 5 мин, осевшие клетки ресуспендировали в стерильном 0,9% растворе NaCl до концентрации  $1 \times 10^6$  клеток/мл и вводили по 1,0 мл внутривенно мышам линии BALB/c.

Мышам за 21 сут внутривенно вводили 0,5 мл пристана («Sigma-Aldrich»). Через 7–10 сут после инъекции суспензии гибридом у мышей собирали асцитную жидкость, содержащую МКА. Клетки из асцитной жидкости удаляли центрифугированием при 1000g в течение 15 мин. Супернатант смешивали в соотношении 1 : 4 с 0,1 М фосфатным буферным раствором pH 8,6, фильтровали через полиэфирсульфоновый фильтр с диаметром пор 0,22 мкм («ТРП»).

МКА очищали с помощью аффинной хроматографии на хроматографической колонке с белок А-сефарозой «MabSelectA» («Cytiva»). Колонку предварительно уравнивали фосфатным буферным раствором, затем пропускали разведение асцита со скоростью 0,5 мл/мин. Связавшиеся иммуноглобулины элюировали 0,1 М натрий-цитратным буферным раствором pH 3,0 и гель-фильтрационной хроматографией на колонке с сефадекс G-25 («Cytiva») переводили в фосфатно-солевой буферный раствор (ФСБ) pH 7,4. Концентрацию полученных иммуноглобулинов определяли на спектрофотометре «DS-11» («DeNovix»).

### Получение иммуномагнитных частиц

Для получения ИМЧ с МКА 3F5 использовали карбоксилированные магнитные частицы («Mag-Sphere»). Карбоксильные группы активировали

<sup>1</sup> Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней: Методические указания МУК 4.2.2939–11. М.; 2012. 59 с.

<sup>2</sup> Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 28.01.2021 № 4 (ред. от 25.05.2022) «Об утверждении санитарных правил и норм СанПиН 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней"».

карбодиимидным методом с использованием 10 мМ 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимида и 20 мМ N-гидроксисукцинимид («Sigma») в 0,1 М морфолиноэтансульфоновом буферном растворе pH 5,0 с 0,05% Твин-20 (MEST). Активацию магнитных частиц проводили при комнатной температуре с постоянным перемешиванием в течение 40 мин. После промывки на магнитном штативе к частицам добавляли раствор МКА 3F5 в MEST. Конъюгирование проводили в течение 90 мин при постоянном перемешивании. Оставшиеся реакционно-способные группы частиц инактивировали добавлением 1% раствора альбумина. Готовую суспензию ИМЧ промывали и переводили в ФСБ с 0,1% Triton X-100 и 0,01% азида натрия (ФСБ-Т).

#### Подбор оптимальных условий иммуномагнитной сепарации

В ФСБ-Т готовили суспензии инактивированных клеток вакцинного штамма *F. tularensis* 15/10 с концентрациями  $1 \times 10^5$ – $1 \times 10^8$  микробных клеток в 10 мл. В суспензии микробных клеток вносили по 10 или 20 мкл 2,5% суспензии ИМЧ. Время инкубирования для каждой концентрации микробных клеток и ИМЧ составляло 30 и 60 мин. После инкубирования ИМЧ осаждали в магнитном штативе. Далее частицы ресуспендировали в 100 мкл 0,1 М цитратного буферного раствора pH 3,0 или ФСБ-Т и прогревали при 100°C в течение 5 мин. Затем частицы осаждали на магнитном штативе, полученный супернатант анализировали в ИХ-тесте, для цитратного буферного раствора предварительно доводили pH до 7,0. В качестве отрицательного контроля использовали образцы до инкубации с ИМЧ.

#### Пробоподготовка образца почвы

Для исследования использовали суглинистую почву, имитирующую образец гнезда грызунов, контаминированного туляремиными бактериями. В навески почвы массой 1 г добавляли по 100 мкл инактивированных мертиолятом натрия клеток вакцинного штамма *F. tularensis* 15/10 в количестве  $1 \times 10^5$ – $1 \times 10^8$  микробных клеток и инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре. Экстрагирование микробных клеток проводили двумя буферными растворами: ЭБ1 — ФСБ с добавлением 0,05% Твин-20, ЭБ2 — 50 мМ фосфатный буферный раствор pH 7,4 с 0,5 М хлорида натрия и 1% Triton X-100. Образцы почвы перемешивали в течение 30 мин с 9 мл каждого экстрагирующего буфера, отстаивали в течение 10 мин, супернатант фильтровали последовательно через ватный тампон и фильтровальную бумагу, предварительно смоченные ЭБ1/ЭБ2. Конечный объем фильтратов доводили до 10 мл, промывая фильтры. К полученному фильтрату добавляли 20 мкл 0,25% суспензии ИМЧ и инкубировали с перемешиванием в течение 30 мин.

#### Постановка ИХ-теста

Для постановки ИХ-теста использовали тесты в формате дипстик на основе «ИХ-тест *F. tularensis*» (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск). Тест-полоски помещали в лунки 96-луночного планшета, содержащие по 100 мкл исследуемых образцов. Тестирование проводили в 5 повторах для каждой концентрации микробных клеток. Результат оценивали через 15 мин визуально.

#### Результаты

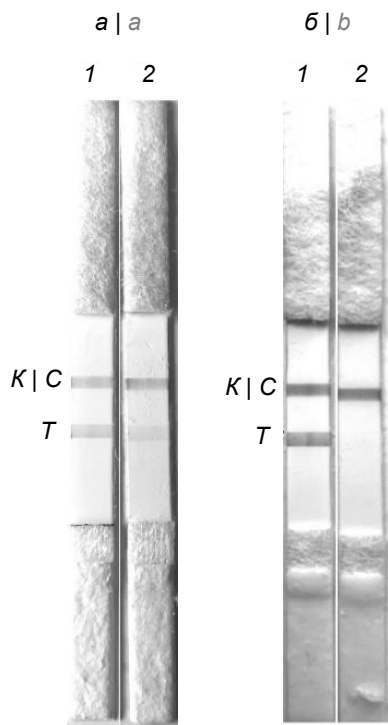
Исследование перспектив использования ИХ-теста в полевых условиях на примере модельной тест-системы для анализа образцов почвы, контаминированных клетками *F. tularensis*, заключается в решении следующих задач: конъюгирование магнитных частиц с МКА и подбор оптимального количества ИМЧ для сепарации, условия экстракции клеток *F. tularensis* из образцов почвы, снятия бактериальных клеток с ИМЧ после сепарации.

Магнитные частицы со свободными карбоксильными группами конъюгировали с МКА к липополисахариду *F. tularensis* 3F5 карбодиимидным методом. Для полученных ИМЧ оптимальное их количество составило 20 мкл 0,25% суспензии при сепарации клеток из 10 мл фильтрата и оптимальном времени инкубации 30 мин. Увеличение времени инкубирования образцов с ИМЧ до 60 мин не влияло на результаты ИХ-теста. Уменьшение количества ИМЧ до 10 мкл 2,5% суспензии снижало чувствительность при визуальной регистрации результатов ИХ-теста.

Проверка клеток после сепарации из фильтрата с использованием для экстракции буферного раствора ЭБ1 продемонстрировала появление фоновой реакции в виде коричневых полос в тестовой зоне как в опыте, так и в отрицательном контроле. Замена детергента Твин-20 на Triton X-100 и увеличение ионной силы буферного раствора в ЭБ2 привели к устранению неспецифической реакции в тестовой зоне (рис. 1).

Элюцию бактериальных клеток с ИМЧ после сепарации проводили в цитратном буферном растворе pH 3,0 или в ЭБ2 при 100°C. Оптимальное время полного снятия бактериальных клеток с магнитных частиц при кипячении в исследованных буферных растворах составляло 5 мин. Увеличение времени кипячения не влияло на чувствительность теста. Однако при элюции кислым буферным раствором необходимо доводить pH до нейтрального, что увеличивает время анализа. В связи с этим для дальнейшей работы выбрана методика прогрева в ЭБ2.

На рис. 2 представлены результаты ИХ-теста образцов почвы с различным содержанием клеток *F. tularensis*. Предел обнаружения при визуальном анализе для ИХ-теста после иммуномагнитной се-



**Рис. 1.** Результаты ИХ-тестирования после иммуномагнитной сепарации клеток *F. tularensis* из образцов почвы в ЭБ1 (а) и ЭБ2 (б).

1 —  $1 \times 10^7$  клеток на 1 г почвы; 2 — отрицательный контроль;  
К — контрольная зона; Т — тестовая зона.

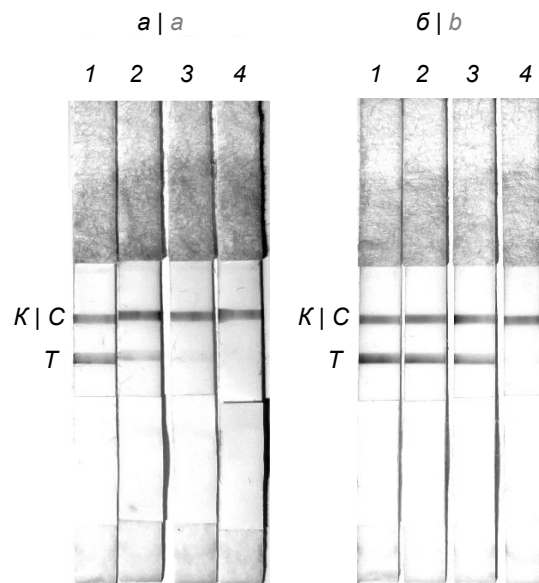
**Fig. 1.** The results of IC test after immunomagnetic separation of *F. tularensis* cells from soil samples in EB1 (a) and EB2 (b).

1 —  $1 \times 10^7$  microbial cells per 1 g of soil; 2 — negative control;  
C — control zone; T — test zone.

парации составил  $1 \times 10^6$  микробных клеток на 1 г образца почвы, в то время как в фильтрате до сепарации —  $1 \times 10^7$  микробных клеток.

### Обсуждение

На основе полученных результатов при исследовании образцов почвы, содержащей клетки *F. tularensis*, предложена методика комбинирования иммуномагнитной сепарации и ИХ-тестирования. Методика не требует сложного приборного обеспечения и позволяет проводить мониторинг возбудителя туляремии непосредственно в природном очаге. Время проведения анализа образцов не превышает 3 ч. Полученная при исследовании чувствительность определения возбудителя составляет  $1 \times 10^6$  микробных клеток в 1 г образца почвы, что коррелирует с чувствительностью коммерческих [12] и модельных [13] ИХ-тест-систем, полученных на клетках возбудителя туляремии. Кроме того, полученные после сепарации ИМЧ с бактериальными клетками могут быть переданы для детекции *F. tularensis* другими методами, в частности иммуноферментным анализом и методом петлевой изотермической амплификации.



**Рис. 2.** Результат ИХ-тестирования фильтрата образцов почвы до (а) и после (б) иммуномагнитной сепарации клеток *F. tularensis*.

1 —  $1 \times 10^8$  м.к.; 2 —  $1 \times 10^7$  м.к.; 3 —  $1 \times 10^6$  м.к.;  
4 —  $1 \times 10^5$  м.к. — количество микробных клеток в 1 г почвы;  
К — контрольная зона; Т — тестовая зона.

**Fig. 2.** The result of IC test of the filtrate of soil samples before (a) and after (b) immunomagnetic separation of *F. tularensis* cells.

1 —  $1 \times 10^8$  m.c.; 2 —  $1 \times 10^7$  m.c.; 3 —  $1 \times 10^6$  m.c.;  
4 —  $1 \times 10^5$  m.c. — the number of microbial cells in 1 g of soil;  
C — control zone; T — test zone.

### Заключение

Подобраны оптимальные условия использования иммуномагнитной сепарации для ускоренной диагностики *F. tularensis* в контаминированных образцах почвы с помощью ИХ-теста. Предлагаемая методика проста, не требует сложного дорогостоящего оборудования, может быть легко адаптирована для тестирования образцов различного происхождения (вода, зерно и т.д.) и, несомненно, окажется полезной при проведении эпизоотологического обследования природных очагов. Кроме того, методика может быть использована для определения липополисахарида в клинических образцах при диагностике заболевания туляремии [14].

### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

1. Hennebique A., Boisset S., Maurin M. Tularemia as a waterborne disease: a review. *Emerg. Microbes Infect.* 2019;8(1):1027–42. DOI: <https://doi.org/10.1080/22221751.2019.1638734>
2. Хлебников В.С., Ветчинин С.С., Гречко Г.К. и др. Превентивная активность моноклональных антител, специфичных к липополисахариду туляремийного микроба. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 1992;69(9-10):67–70. Khlebnikov V.S., Vetchinin S.S., Grechko G.K., et al. Preventive activity of monoclonal antibodies specific to tularemia microbe lipopolysaccharide. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology.* 1992;69(9-10):67–70.

3. Зайцев А.А., Гнусарева О.А., Царева Н.С. и др. Применение иммунохроматографических тест-систем для экспресс выявления липополисахарида *Francisella tularensis* при мониторинге природных очагов. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2013;(1):78–80. Zaitsev A.A., Gnusareva O.A., Tsareva N.S., et al. Immuno-chromatographic test system application for rapid detection of *Francisella tularensis* lipopolysaccharide in monitoring of natural foci. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2013;(1):78–80. DOI: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2013-1-78-80>. EDN: <https://www.elibrary.ru/pxfhfy>
4. Жарникова И.В., Ефременко В.И., Жарников Т.В. и др. Серологические методы выявления возбудителя туляремии и их оценка. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2019;(4):32–8. Zharnikova I.V., Efremenko V.I., Zharnikov T.V., et al. Immuno-chromatographic test system application for rapid detection of *Francisella tularensis* lipopolysaccharide in monitoring of natural foci. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2019;(4):32–8. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2019-4-32-38>. EDN: <https://www.elibrary.ru/nlmwbs>
5. Yazdankhah S.P., Sølverød L., Simonsen S., Olsen E. Development and evaluation of an immunomagnetic separation-ELISA for the detection of *Staphylococcus aureus* thermostable nuclease in composite milk. *Vet. Microbiol.* 1999;67(2):113–25. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0378-1135\(99\)00035-8](https://doi.org/10.1016/s0378-1135(99)00035-8)
6. Mansfield L.P., Forsythe S.J. The detection of *Salmonella* using a combined immunomagnetic separation and ELISA end-detection procedure. *Lett. Appl. Microbiol.* 2000;31(4):279–83. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1472-765x.2000.00811.x>
7. Wang Z., Yue T., Yuan Y., et al. Development and evaluation of an immunomagnetic separation-ELISA for the detection of *Alicyclobacillus* spp. in apple juice. *Int. J. Food Microbiol.* 2013;166(1):28–33. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.06.015>
8. Singh S., Upadhyay M., Sharma J., et al. A portable immunomagnetic cell capture system to accelerate culture diagnosis of bacterial infections. *Analyst*. 2016;141(11):3358–66. DOI: <https://doi.org/10.1039/c6an00291a>
9. Kalendar R., Kaur A., Kapil A., et al. Highly-sensitive detection of *Salmonella typhi* in clinical blood samples by magnetic nanoparticle-based enrichment and in-situ measurement of isothermal amplification of nucleic acids. *PLoS One*. 2018;13(3):e0194817. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194817>
10. Yang H., Qu L., Wimbrow A.N., et al. Rapid detection of *Listeria monocytogenes* by nanoparticle-based immunomagnetic separation and real-time PCR. *Int. J. Food Microbiol.* 2007;118(2):132–8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.06.019>
11. Ветчинин С.С., Шевяков А.Г., Хомяков А.Е. и др. Разработка иммуноферментной тест-системы на основе моноклональных антител и иммуномагнитных частиц для детекции клеток *F. tularensis*. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021;66(6):353–7. Vetchinin S.S., Shevyakov A.G., Khomyakov A.E., et al. Development of an immunoassay test system based on monoclonal antibodies and immunomagnetic particles for the detection of *F. tularensis* cells. *Clinical Laboratory Diagnostics*. 2021;66(6):353–7. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-6-353-357>. EDN: <https://www.elibrary.ru/hzbnjk>
12. Ziegler I., Vollmar P., Knüpfer M., et al. Reevaluating limits of detection of 12 lateral flow immunoassays for the detection of *Yersinia pestis*, *Francisella tularensis*, and *Bacillus anthracis* spores using viable risk group-3 strains. *J. Appl. Microbiol.* 2020; 130(4): 1173–80. DOI: <https://doi.org/10.1111/jam.14863>
13. Wang R., Kim K., Choi N., et al. Highly sensitive detection of high-risk bacterial pathogens using SERS-based lateral flow assay strips. *Sens. Actuators B Chem.* 2018;270:72–9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.04.162>
14. Hannah E.E., Pandit S.G., Hau D., et al. Development of immunoassays for detection of *Francisella tularensis* lipopolysaccharide in tularemia patient samples. *Pathogens*. 2021; 10(8):924. DOI: <https://doi.org/10.3390/pathogens10080924>

### Информация об авторах

Ветчинин Сергей Сергеевич — к.б.н., в.н.с. отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболensk, Россия, <https://www.orcid.org/0000-0002-6547-3365>

Шевяков Антон Георгиевич<sup>✉</sup> — н.с. отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболensk, Россия, [shevyakov@obolensk.org](mailto:shevyakov@obolensk.org), <https://www.orcid.org/0000-0002-0504-7073>

Яковлева Вера Александровна — м.н.с. отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболensk, Россия, <https://www.orcid.org/0000-0002-6386-3829>

Миронова Раиса Ивановна — н.с. отдела особо опасных инфекций ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболensk, Россия, <https://www.orcid.org/0000-0001-8318-4156>

Бикетов Сергей Федорович — к.б.н., зав. отделом иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболensk, Россия, <https://www.orcid.org/0000-0003-1179-6895>

**Участие авторов.** Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 28.12.2022;  
принята к публикации 18.06.2023;  
опубликована 28.06.2023

### Information about the authors

Sergey S. Vetchinin — Cand. Sci. (Biol.), leading researcher, Department of immunobiochemistry of pathogenic microorganisms, State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia, <https://www.orcid.org/0000-0002-6547-3365>

Anton G. Shevyakov<sup>✉</sup> — researcher, Department of immunobiochemistry of pathogenic microorganisms, State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia, [shevyakov@obolensk.org](mailto:shevyakov@obolensk.org), <https://www.orcid.org/0000-0002-0504-7073>

Vera A. Yakovleva — junior researcher, Department of immunobiochemistry of pathogenic microorganisms, State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia, <https://www.orcid.org/0000-0002-6386-3829>

Raisa I. Mironova — researcher, Department of especially dangerous infections, State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia, <https://www.orcid.org/0000-0001-8318-4156>

Sergey F. Biketov — Cand. Sci. (Biol.), Head, Department of immunobiochemistry of pathogenic microorganisms, State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia, <https://www.orcid.org/0000-0003-1179-6895>

**Author contribution.** All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 28.12.2022;  
accepted for publication 18.06.2023;  
published 28.06.2023