

ВЫЯВЛЕНИЕ СТАФИЛОКОККОВОГО ЭНТЕРОТОКСИНА ТИПА В В МОЛОЧНОЙ ПРОДУКЦИИ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЕЙ С ВИЗУАЛЬНОЙ И ВИДЕОЦИФРОВОЙ ДЕТЕКЦИЕЙ

С. П. Ярков , С. И. Третьяков, И. В. Шиленко, Ю. Н. Ишков, К. К. Стяжкин

Государственный научно-исследовательский институт биологического приборостроения Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

Выявление стафилококковых энтеротоксинов в продуктах питания является важной задачей профилактики пищевых отравлений. Целью исследования были разработка иммунохроматографических тестов (ИХТ) для обнаружения стафилококковых энтеротоксинов типов А (SEA) и В (SEB), а также повышение чувствительности иммунохроматографического выявления стафилококковых энтеротоксинов (на примере SEB) в молочных продуктах по сравнению с визуальным наблюдением за счет регистрации результатов анализа приборами видеоцифровой регистрации (ВЦР), использующими принцип обработки цифровых изображений иммунохроматограмм при освещении в различных спектральных диапазонах. ИХТ для выявления энтеротоксинов были сконструированы в «сэндвич»-формате на основе высокоспецифичных моноклональных антител (МКА) к стафилококковому энтеротоксину. Анализ подвергались молоко, сливки, сметана, сыр, искусственно загрязненные SEB. Результаты анализа фиксировали визуально и с помощью ВЦР. Осуществление ВЦР иммунохроматограмм молочных продуктов, содержащих энтеротоксин, при освещении белым светом в диапазоне длин волн 400–800 нм повышает чувствительность выявления SEB в 4 раза, а при освещении зеленым в диапазоне спектра при максимуме длины волны 525 нм — в 4–8 раз по сравнению с визуальной регистрацией. Использование видеоцифровых анализаторов иммунохроматограмм «Рефлекс» и «Зондаж» кратно повышает чувствительность выявления SEB иммунохроматографическим методом при анализе молочных продуктов по сравнению с визуальным методом регистрации.

Ключевые слова: стафилококковые энтеротоксины типов А и В, иммунохроматография, видеоцифровая регистрация результатов, молочные продукты

Финансирование: исследования проводили в рамках государственного заказа Федерального медико-биологического агентства России (ГК № 42.001.22.6).

Вклад авторов: С. П. Ярков — идея, участие в создании прибора «Зондаж», планирование экспериментов и анализ результатов, подготовка черновика рукописи; С. И. Третьяков — создание иммунохроматографических тестов, эксперименты с молочными продуктами, анализ результатов исследования; И. В. Шиленко — создание иммунохроматографических тестов, проведение экспериментов, анализ полученных результатов; Ю. Н. Ишков — текущее руководство исследованиями, правка рукописи; К. К. Стяжкин — общее редактирование рукописи и руководство.

 **Для корреспонденции:** Сергей Петрович Ярков
Волоколамское шоссе, д. 75, корпус 1, г. Москва, 125424, Россия; diasol@dol.ru

Статья получена: 24.08.2023 **Статья принята к печати:** 18.09.2023 **Опубликована онлайн:** 30.09.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.039

IDENTIFICATION OF STAPHYLOCOCCAL ENTEROTOXIN B IN DAIRY PRODUCTS BY IMMUNOCHROMATOGRAPHY WITH VISUAL AND DIGITAL VIDEO DETECTION

Yarkov SP , Tretyakov SI, Shilenko IV, Ishkov YuN, Styazhkin KK

State Scientific Research Institute of Biological Engineering of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

Detection of staphylococcal enterotoxins in food products is an important task of food poisoning prevention. The study was aimed to develop immunochromatography tests (ICTs) for detection of staphylococcal enterotoxins A (SEA) and B (SEB), as well as to improve sensitivity of immunochromatography detection of staphylococcal enterotoxins (by the example of SEB) in dairy products relative to visual assessment by recording the analysis results with digital video recorders (DVR) using the principle of processing digital immunochromatogram images acquired using illumination in various spectral ranges. ICTs for detection of enterotoxins were designed as sandwich tests based on highly specific monoclonal antibodies (MABs) against staphylococcal enterotoxins. Milk, cream, sour cream, cheese artificially contaminated with SEB were analyzed. The analysis results were recorded visually or by DVR. DVR of immunochromatograms of the enterotoxin-containing dairy products acquired using illumination with white light in the wavelength range of 400–800 nm ensures a 4-fold increase in the SEB detection sensitivity, while that involving illumination with green light in the wavelength range having its maximum at 525 nm ensures a 4–8-fold increase relative to visual recording. The use of the “Reflex” and “Zondazh” digital video immunochromatogram analyzers multiplies sensitivity of SEB detection by immunochromatography when assessing dairy products relative to visual recording.

Keywords: staphylococcal enterotoxin types A and B, immunochromatography, video digital registration of results, dairy products

Funding: the study was conducted as part of the State Assignment of the Federal Medical Biological Agency of Russia (GK № 42.001.22.6).

Author contribution: Yarkov SP — concept, part in developing the “Zondazh” unit, planning the experiments and analysis of the results, manuscript draft; Tretyakov SI — developing immunochromatography tests, experiments with dairy products, analysis of the study results; Shilenko IV — developing immunochromatography tests, experimental procedure, analysis of the results; Ishkov YuN — day-to-day research management, manuscript editing; Styazhkin KK — general management, manuscript editing.

 **Correspondence should be addressed:** Sergey P. Yarkov
Volokolamskoe sh., 75, korp. 1, Moscow, 125424, Russia; diasol@dol.ru

Received: 24.08.2023 **Accepted:** 18.09.2023 **Published online:** 30.09.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.039

Стафилококковые энтеротоксины, продуцируемые штаммами патогенных грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus*, вызывают у человека пищевые отравления различной степени тяжести [1–3]. Основной путь поступления стафилококковых энтеротоксинов в организм — алиментарный. В Российской Федерации, в соответствии с методическими указаниями Роспотребнадзора

МУК 4.2.2429-08 «Метод определения стафилококковых энтеротоксинов в пищевых продуктах» и дополнению к ним (МУК 4.2.2879-11) [4, 5], токсикогенными считаются продукты, содержание токсина в которых равно или превышает 100 мкг/кг продукта. Такие же нормы установлены в США Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных препаратов

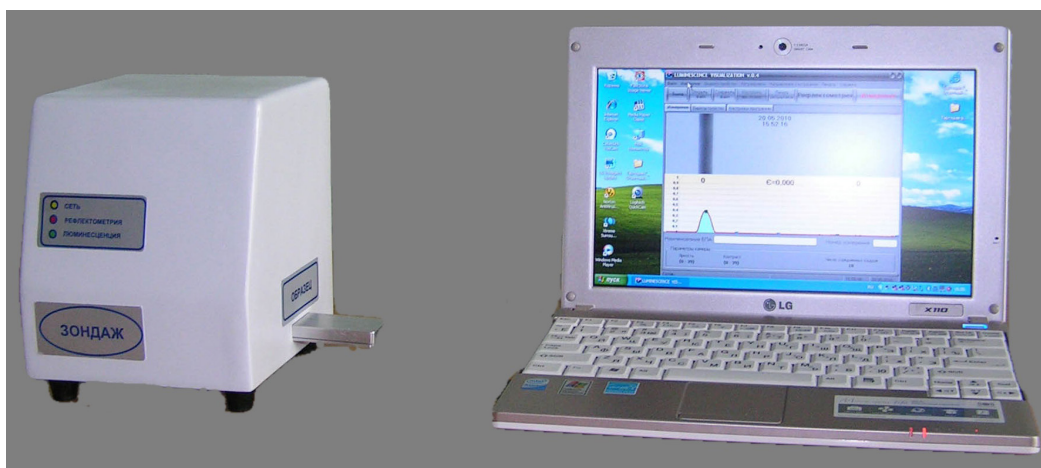


Рис. 1. Внешний вид рефлектометра-флуориметра «Зондаж»

(FDA) [6]. Иммунохроматографический метод, наряду с твердофазным иммуноферментным анализом, широко применяется для выявления стафилококковых энтеротоксинов в сырье и готовых пищевых продуктах. Эффективность ИХТ была показана для выявления SEA [7], и SEA и SEB в продуктах питания [8]. Несомненные преимущества ИХТ — компактность аналитической системы, быстрота и простота процедуры проведения, возможность визуальной оценки результата. В то же время весьма актуальна задача повышения чувствительности анализа ИХТ. Подобные исследования проведены для выявления стафилококковых энтеротоксинов за счет применения ионов серебра и использования бифункциональных наночастиц золота [9, 10].

Учитывая вышеизложенное, цель настоящей работы — разработка отечественных ИХТ для выявления стафилококковых энтеротоксинов типов А и В, демонстрация возможности повышения чувствительности выявления указанных токсинов по сравнению с визуальной регистрацией результатов за счет использования видеоцифровых анализаторов иммунохроматограмм, действующих на основе обработки цифровых изображений иммунохроматограмм при освещении в различных спектральных диапазонах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Процедура изготовления ИХТ для выявления SEB и используемые для этого материалы описаны ранее [10]. ИХТ для выявления SEA конструировали при помощи аналогичного метода и использовали МКА, продуцируемые клонами 329D9B3, 329D9B3 и 329A11F6 в различных комбинациях (табл. 1). При изготовлении ИХТ для выявления SEB использовали МКА, продуцируемые клонами 357E10E9 и 357A8C1 (ФГБУ «48ЦНИИ» Минобороны; Россия). МКА S222, S643 произведены АО «ВНЦМДЛ» (Россия). В ИХТ использовали наночастицы коллоидного золота (НКЗ) со средним диаметром 30 нм, конъюгированные с МКА, а в качестве контаминанта — препарат SEB (ФГБУН «ГНЦ ПМиБ» Роспотребнадзора; Россия). Использовали также отечественные молочные продукты: молоко коровье 3,2% жирности (ГОСТ 31450-2013), сливки 10% жирности (ГОСТ 31450-2013), сметану 10% жирности термостатную (ГОСТ 31452-2012), сыр 50% жирности «Российский» (ГОСТ 314521-2012).

Пробоподготовку к анализу осуществляли следующим образом. Помещали 1 мл молочного продукта, содержащего

токсин, в микроцентрифужную пробирку емкостью 2 мл, добавляли 50 мкл 0,5М цитратного буфера с $\text{pH} = 3,0$ и перемешивали кратковременным встряхиванием. Пробы центрифугировали при 4000 g в течение 15 мин. Происходило расслоение пробы и осаждение молочного жира на дно пробирки. Верхний прозрачный слой жидкости в количестве 200 мкл отбирали и смешивали с 200 мкл концентрированного буфера для проведения иммунохроматографического анализа (ФГУП «ГосНИИБП» ФМБА России; Россия). Из полученной пробы отбирали 140 мкл и наносили на ИХТ. Для проб сыра поступали следующим образом. Навеску измельченного на мелкой терке сыра в количестве 1 г помещали в пробирку на 10 мл. Добавляли 1,0 мл стерильного физраствора, перемешивали в вибрационном встряхивателе в течение 1 мин при максимальных оборотах. С помощью шпателя, держа пробирку наклонно, отжимали влажный сыр о стенки пробирки так, чтобы жидкость могла стекать в центрифужную пробирку объемом 2 мл. Центрифугировали при 4000 g в течение 15 мин. Прозрачную надосадочную жидкость в количестве 200 мкл отбирали и смешивали с концентрированным буфером для проведения иммунохроматографического анализа в объемном соотношении 1 : 1. Затем 140 мкл полученной смеси наносили в ИХТ. По истечении 25 мин регистрировали результаты анализа визуально и с помощью ВЦР.

Для ВЦР иммунохроматограмм использовали анализатор видеоцифровой иммунохроматографический «Рефлеком» (ООО «Синтэко-комплекс»; Россия). Измерения проводили также и с помощью рефлектометра-флуориметра «Зондаж» (ФГУП «ГосНИИБП» ФМБА России; Россия) (рис. 1). Экспериментальный образец ВЦР рефлектометра-флуориметра «Зондаж» позволяет регистрировать интенсивность отражения света от аналитической или контрольной зоны иммунохроматографического теста в четырех спектральных диапазонах освещения: белом 400–800 нм, красном — 650 нм, зеленом — 525 нм, синем — 470 нм. Спектральный диапазон прибора позволяет регистрировать рефлектограммы не только конъюгатов НКЗ, но и различных по окраске цветных латексных частиц субмикронного размера, часто используемых в качестве дисперсной фазы в ИХА. В режиме измерения интенсивности люминесценции прибор «Зондаж» позволяет регистрировать люминесцентные иммунохроматограммы, обеспечивает длину волны возбуждения люминесценции 380 нм и регистрации эмиссии — 490 нм. Принцип

Таблица 1. Аналитические свойства ИХТ для выявления SEA и SEB при визуальной регистрации результатов

Наименование аналита	Чувствительность, нг/мл	Время проведения иммунохроматографии, мин	Сочетания МКА
SEA (I вариант)	50	22	329D9B3 / 329D9B3
SEA (II вариант)	25	7	329A11F6 / 329D9B3
SEA (II вариант)	10	25	329A11F6 / 329D9B3
SEB (I вариант)	10	25	357E10E9 / 357A8C1
SEB (II вариант)	16	25	S222 / S643

Примечание: перекрестные реакции между SEA и SEB в концентрациях, 100-кратно превышающих чувствительность соответствующего ИХТ, отсутствовали; растворы токсинов готовили в буфере для проведения иммунохроматографического анализа.

действия прибора — рефлектометрия цифровых снимков иммунохроматограмм либо регистрация интенсивности свечения люминесценции в случае люминесцентных тестов. В качестве источников света использованы излучающие светодиоды. Приемником изображения служит твердотельная видеокамера.

Прибор обеспечивает вычисление интегральной интенсивности аналитической и контрольной зон ИХТ с автоматической коррекцией базовой линии. Критерием положительного результата анализа при ВЦР с помощью рефлектометра-флуориметра «Зондаж» было превышение величины интенсивности окрашивания аналитической зоны теста над средним значением фона в «холостом» опыте с учетом ошибки измерения при 95% доверительной вероятности:

$$[X_{\text{ср.}} - t_s \times SE]_{\text{сигнала}} \geq [X_{\text{ср.}} + t_s \times SE]_{\text{фона}},$$

где $X_{\text{ср.}}$ — среднее из n измерений, t_s — коэффициент распределения Стьюдента для n измерений, SE — стандартная ошибка при 95% доверительной вероятности.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Тесты для выявления иммунохроматографического выявления стафилококковых энтеротоксинов были разработаны в «сэндвич»-формате с использованием МКА. Принцип действия ИХА в «сэндвич»-варианте широко описан в литературе [7–10]. Жидкая проба, потенциально содержащая антигены токсинов, вносится на подложку для нанесения образца. Под действием капиллярных сил происходит перемещение жидкости по мультимембранному композиту. Сначала сольубилизируется конъюгат НКЗ со специфическими антителами. Он окрашен в вишневый цвет, поэтому его

движение по мембране можно наблюдать визуально. При этом в случае наличия определяемого антигена в пробе образуется антигенный иммунный комплекс, который с током жидкости начинает перемещаться по аналитической мембране вместе с избытком конъюгата. Далее иммунный комплекс иммобилизируется на аналитической мембране специфическими антителами в аналитической зоне (АЗ), образуя «сэндвич», а несвязанные антитела конъюгата — антителами, расположенными в контрольной зоне тест-полоски (КЗ), что приводит к образованию двух окрашенных линий. В случае отсутствия антигена в пробе антигенный иммунный комплекс не образуется, поэтому единственная видимая линия формируется за счет связывания антител конъюгата и антител КЗ (антивидовых по отношению к антителам конъюгата) только в КЗ.

Были разработаны по два варианта ИХТ для выявления SEA и SEB с использованием различных комбинаций МКА. Чувствительность ИХТ зависела от длительности иммунохроматографии, увеличиваясь по мере развития процесса в течение 25 мин (табл. 1).

Для дальнейших исследований выбрали ИХТ для выявления SEB I варианта как проявивший большую чувствительность за время анализа 25 мин.

На основании полученных данных были построены графики зависимостей показаний рефлектометра-флуориметра «Зондаж» при регистрации иммунохроматограмм SEB, растворенного в буфере анализа при освещении в различных спектральных диапазонах (рис. 2). Зависимости хорошо аппроксимируются полиномами $Y = 20,49 + 12,43X - 0,041X^2$ (освещение белым светом) и $Y = 25,91 + 16,44X - 0,047X^2$ (освещение зеленым светом); в обоих случаях коэффициент ковариации был

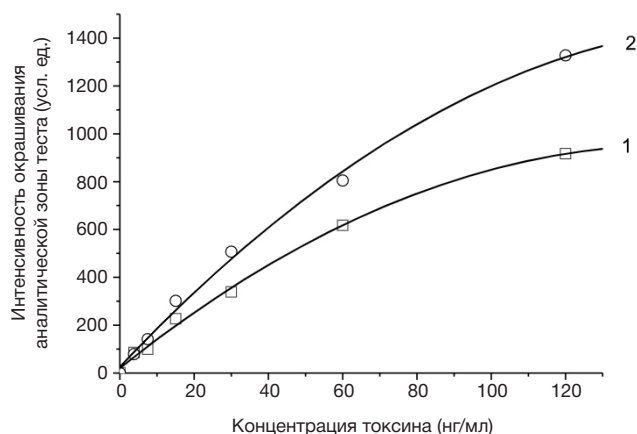


Рис. 2. Графики зависимости интенсивности окрашивания аналитической зоны теста от концентрации SEB в буферном растворе, измеренные с помощью рефлектометра-флуориметра «Зондаж»: 1 — при освещении теста белым светом ($\lambda = 400\text{--}800\text{ нм}$); 2 — при освещении зеленым светом ($\lambda_{\text{max}} = 525\text{ нм}$). Время хроматографии 25 мин.

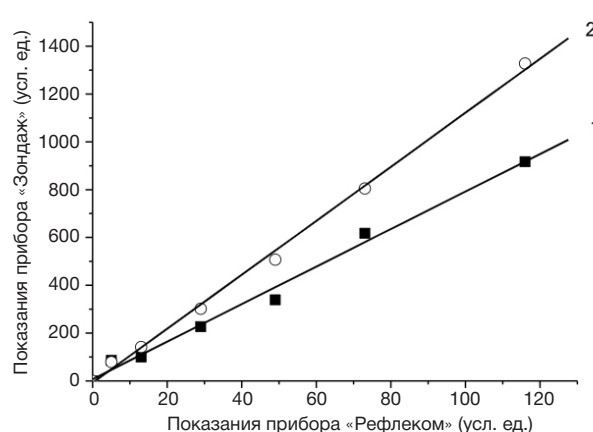


Рис. 3. Графики корреляции показаний рефлектометров «Рефлеком» и «Зондаж» при измерении интенсивности окрашивания аналитической зоны тестов в диапазоне концентраций SEB 0–120 нг/мл. 1 — при освещении белым светом, 2 — при освещении зеленым светом, коэффициенты корреляции линейных зависимостей $R = 0,995$ и $R = 0,999$, соответственно

Таблица 2. Интенсивность окрашивания аналитической зоны теста в зависимости от концентрации SEB и спектрального диапазона света, измеренная приборами ВЦР

Концентрация SEB, нг/мл	Интенсивность окрашивания, усл. ед.		
	Видеоцифровой анализатор иммунохроматограмм «Рефлеком» Белый свет $\lambda = 400\text{--}800$ нм	Рефлектометр-флуориметр «Зондаж»	
		Белый свет $\lambda = 400\text{--}800$ нм	Зеленый свет $\lambda_{\text{max}} = 525$ нм
Молоко 3,2% жирности по ГОСТ 31450-2013			
0	0,0 ± 0,0	77 ± 4	118 ± 5
3,8	0,0 ± 0,0	80 ± 9	135 ± 7
7,5	0,0 ± 0,0	88 ± 5	156 ± 7
15	0,8 ± 0,1	124 ± 12	250 ± 6
30	1,9 ± 0,2	156 ± 8	303 ± 9
60	3,0 ± 0,2	544 ± 17	729 ± 8
Сливки 10% жирности по ГОСТ 31451-2012			
0	0,0 ± 0,0	93 ± 8	119 ± 6
3,8	0,0 ± 0,0	119 ± 10	139 ± 10
7,5	0,1 ± 0,1	117 ± 8	138 ± 15
15	0,8 ± 0,1	254 ± 11	272 ± 15
30	2,7 ± 0,2	293 ± 6	571 ± 7
60	3,1 ± 0,2	410 ± 12	510 ± 8
120	6,2 ± 0,3	597 ± 8	968 ± 10
240	8,2 ± 0,3	824 ± 11	120 ± 9
Сметана 10% жирности по ГОСТ 31452-2012			
0	0,0 ± 0,0	97 ± 13	120 ± 5
3,8	0,0 ± 0,0	123 ± 20	354 ± 34
7,5	0,5 ± 0,1	326 ± 16	610 ± 8
15	1,8 ± 0,1	533 ± 18	954 ± 39
30	2,9 ± 0,2	704 ± 8	1037 ± 2
Сыр 50% жирности по ГОСТ 314521-2012			
0	0,0 ± 0,0	77 ± 6	118 ± 4
3,8	0,0 ± 0,0	80 ± 12	104 ± 10
7,5	0,4 ± 0,1	91 ± 8	128 ± 4
15	0,8 ± 0,1	187 ± 2	237 ± 3
30	1,2 ± 0,1	384 ± 10	291 ± 12
60	2,4 ± 0,2	541 ± 15	616 ± 13
120	4,4 ± 0,2	723 ± 14	825 ± 14

Примечание: приведенные в таблице показания приборов являются средними из пяти измерений. В качестве погрешности приведена стандартная ошибка при 95% доверительной вероятности, умноженная на коэффициент $t_s = 2,776$ распределения Стьюдента для четырех степеней свободы. Расчеты осуществляли с помощью программы MS Excel.

равен $R^2 = 0,996$. Подобные зависимости типичны для иммунохроматограмм SEB [9].

Как видно на графиках, отражающих корреляцию между показаниями видеоцифрового анализатора иммунохроматограмм «Рефлеком» и рефлектометра-флуориметра «Зондаж» при анализе иммунохроматограмм SEB, показания приборов коррелируют между собой линейно (рис. 3).

Показания приборов в зависимости от концентрации SEB в искусственно загрязненных молочных продуктах после проведения иммунохроматографии приведены в табл. 2.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В нормативных документах по выявлению энтеротоксинов в пищевых продуктах [4, 5] в качестве экспресс-метода рекомендован твердофазный иммуноферментный анализ (ТИФА) с фотометрическим или

люминесцентным окончанием. Упрощение проведения иммунохроматографического анализа по отношению к ТИФА достигается отказом от дополнительных обработок, промывок, инкубации с субстратами, усиливающими сигнал, а также визуальной оценкой результатов. Типичное время ИХА при применении в качестве метки НКЗ составляет 10–25 мин, чувствительность метода по белковым токсинам, как правило, лежит в диапазоне 1–100 нг/мл, в зависимости от вида токсина. Поскольку иммунохимические взаимодействия на мембране идут в неравновесном режиме, ИХА считается уступающим ТИФА по чувствительности. В то же время существуют приемы и методы, позволяющие повысить чувствительность ИХА по белковым антигенам до 0,1 нг/мл, однако это требует либо дополнительных реагентов, либо применения люминесцентных меток и приборной регистрации, что может существенно увеличить время анализа.

В наших исследованиях помимо визуальной регистрации для получения количественных данных использовалась

ВЦР результатов ИХА. ВЦР иммунохроматограмм — распространенный метод получения полуколичественных и количественных результатов иммунохроматографического анализа при лабораторной диагностике заболеваний [11]. ВЦР основана на анализе цифровых снимков иммунохроматограмм специализированными программами, позволяющими определять интегральную интенсивность поглощенного света аналитической и контрольной зоны, сформированных окрашенными частицами конъюгата НКЗ со специфическими антителами. Для достижения наибольшей чувствительности регистрации должен существовать максимальный контраст между фоном мембраны и окрашенными зонами иммунохроматограмм. Учитывая, что НКЗ и его конъюгаты имеют широкие бесструктурные полосы поглощения в диапазоне 500–600 нм, контраст должен зависеть от спектрального состава освещения иммунохроматограммы. Исходя из субтрактивной теории восприятия цвета, красный объект, освещенный зеленым светом, выглядит почти черным. Так как в красном слишком мало зеленого, красный объект поглотит большую часть зеленых фотонов и почти ничего не отразит. Красный очень сильно потеряет в насыщенности и тоне и станет коричневым, серым или даже черным [12]. Освещение зеленым светом ($\lambda_{\text{max}} = 525$ нм) иммунохроматограмм SEB дает более интенсивный сигнал при ВЦР по сравнению с освещением белым (рис. 2). Показания двух различных приборов, использующих один и тот же принцип обработки сигнала, линейно коррелируют между собой, причем отклик ВЦР сильнее при освещении в зеленом спектральном диапазоне (рис. 3). Те же зависимости наблюдаются при анализе искусственно загрязненных молочных продуктов после проведения подготовки проб к иммунохроматографическому анализу (табл. 2). Обобщенные данные по чувствительности выявления SEB в молочных продуктах ВЦР при освещении иммунохроматограмм в различных спектральных диапазонах приведены на диаграмме (рис. 4). Осуществление ВЦР иммунохроматограмм молочных продуктов, содержащих энтеротоксин, при освещении белым светом повышает чувствительность выявления SEB в 4 раза, а при освещении в зеленом диапазоне спектра — в 4–8 раз по сравнению с визуальной регистрацией.

Можно ожидать, что закономерности по выявлению SEB в молочной продукции будут сохраняться и при анализе SEA, учитывая схожую структуру этих белков.

Матрица, в которой находится анализируемое соединение, оказывает существенное влияние на возможность проведения иммунохроматографического анализа и чувствительность [13, 14]. Для получения подходящего результата необходимо сконцентрировать белковый энтеротоксин в гидрофильной фазе невысокой вязкости с оптимальным для проведения иммунохимического взаимодействия pH = 5,5–7,0. Такая фаза будет хорошо перемещаться по нитроцеллюлозной мембране ИХТ и

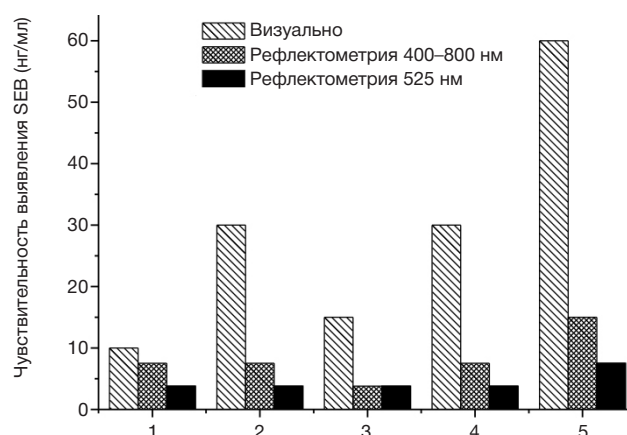


Рис. 4. Диаграмма, отражающая чувствительность выявления SEB в молочных продуктах при визуальной и приборной регистрации результатов анализа с помощью рефлектометра-флуориметра «Зондаж». 1 — раствор SEB в буфере анализа; 2 — молоко 3,2% жирности; 3 — сливки 10% жирности; 4 — сметана 10% жирности; 5 — сыр 50% жирности.

обеспечит иммунохимическое связывание реагентов. Для молочных продуктов необходимо отделение сыворотки, содержащей белки, в том числе и стафилококковый энтеротоксин, от глобул молочного жира путем центрифугирования. При низком содержании жира в продукте возможен его прямой анализ без подготовки пробы. Так, результаты анализа молока 3,2% жирности с проведенной подготовкой пробы и без нее практически не отличались. Тем не менее пробоподготовка за счет разбавления образца и неполной экстракции токсина в гидрофильную фазу снижает общую чувствительность анализа.

Полученные нами результаты подтверждают возможность применения ИХТ для выявления стафилококковых энтеротоксинов в молочных продуктах, а чувствительность выявления стафилококкового энтеротоксина, достигнутая с применением ВЦР, составляет 3,8–7,5 нг/мл. Эти величины позволяют проводить анализ, удовлетворяющий нормативным требованиям к содержанию энтеротоксинов в продуктах питания не более 100 нг/г продукта.

ВЫВОДЫ

Разработаны ИХТ на основе МКА для выявления SEA и SEB с чувствительностью 10 нг/мл для каждого токсина при проведении иммунохроматографии в буферных растворах в течение 25 мин (визуальная оценка результата). ИХТ не дают перекрестных реакций при анализе энтеротоксинов типа А и В при 100-кратном превышении концентрации токсина другого типа. 3. Осуществление ВЦР иммунохроматограмм молочных продуктов, содержащих энтеротоксин, при освещении белым светом повышает чувствительность выявления SEB в 4 раза, а при освещении в зеленом диапазоне спектра — в 4–8 раз по сравнению с визуальной регистрацией.

Литература

1. Pinchuk IV, Beswick EJ, Reyes VE. Staphylococcal enterotoxins. *Toxins*. 2010; 2 (8): 2177–97. DOI: 10.3390/toxins 2082177.
2. Savini F, Romano A, Giacometti F, Indio V, Pitti M, Decastelli L, et al. Investigation of a *Staphylococcus aureus* sequence type 72 food poisoning outbreak associated with food-handler contamination in Italy. *Zoonoses Public Health*. 2023; 70: 411–9.
3. Goudsmit A, Markowicz S, Lali S-E, Cherif1 S. Food poisoning due to a TSST1-producing *Staphylococcus aureus*. *ID Cases*. 2021; DOI: 10.1016/j.idcr.2021.e01272.
4. МУК 4.2.2429-08 «Метод определения стафилококковых энтеротоксинов в пищевых продуктах» [последнее цитирование 4 июля 2023 г.]. Доступно по ссылке: <https://files.stroyinf.ru/>

- Data2/1/4293829/4293829076.htm#i183860/.
5. МУК 4.2.2879-11 «Методы определения стафилококковых энтеротоксинов в пищевых продуктах». Дополнения и изменения 1 к МУК 4.2.2429-08 [последнее цитирование 4 июля 2023 г.]. Доступно по ссылке: <https://files.stroyinf.ru/Data2/0/4294809/4294809581.htm>.
 6. Bennett RW, Halt JM. Bacterial Analytical Manual online. US Food and Drug Administration. 2011 [cited 2023 July 6]. Available from: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/default.htm>.
 7. Любавина И. А., Бровко Ф. А., Валякина Т. И., Вертиев Ю. В., Гришин Е. В. Методы экспресс-анализа стафилококкового энтеротоксина А в продуктах питания. Биоорганическая химия. 2014; 40(2): 186–95. DOI: 10.7868/S0132342314020109.
 8. Еремкин А. В., Ипатов С. С., Куклина Г. В., Печёнкин Д. В., Кытманов А. А., Тихвинская О.В., и др. Разработка иммуноферментных тест-систем и иммунохроматографических наборов реагентов, предназначенных для выявления стафилококковых энтеротоксинов типов А и В. Проблемы особо опасных инфекций. 2021; 2: 94–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-94-99.
 9. Ярков С. П., Третьяков С. И., Шаулина Е. К., Бровкина А. Н., Храмов Е. Н. Повышение чувствительности иммунохромато-
графических тестов для выявления возбудителя сибирской язвы и стафилококкового энтеротоксина типа В на основе усиления серебром и инструментальной регистрации. Медицина экстремальных ситуаций. 2019; 21 (3): 455–63.
 10. Ярков С. П., Третьяков С. И. Иммунохроматографический анализ для выявления стафилококкового энтеротоксина типа В с использованием бифункциональных наночастиц золота. Международный научно-исследовательский журнал. 2021; 10 (112): 113–20. DOI: 10.23670/IRJ.2021.112.10.019.
 11. Урусов А. Е., Жердев А. В., Старовойтова Т. А., Венгеров Ю. Ю., Дзантиев Б. Б. Приборная регистрация иммунохроматографических экспресс-тестов. Клиническая лабораторная диагностика. 2016; 61 (3): 173–9. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-3-173-179.
 12. Артюшин Л. Ф. Основы воспроизведения цвета в фотографии, кино и полиграфии. М.: Искусство, 1970; 548 с.
 13. Dzantiev BB, Byzova NA, Urusov AE, Zherdev AV. Immunochromatographic methods in food analysis. TrAC Trends in Analytical Chemistry. 2014; 55: 81–93.
 14. Zherdev AV, Dzantiev BB. Ways to reach lower detection limits of lateral flow immunoassays. Journal of Analytical Chemistry. 2022; 77 (4): 298–311. DOI: 10.5772/intechopen.76926.

References

1. Pinchuk IV, Beswick EJ, Reyes VE. Staphylococcal enterotoxins. Toxins. 2010; 2 (8): 2177–97. DOI: 10.3390/toxins 2082177.
2. Savini F, Romano A, Giacometti F, Indio V, Pitti M, Decastelli L, et al. Investigation of a Staphylococcus aureus sequence type 72 food poisoning outbreak associated with food-handler contamination in Italy. Zoonoses Public Health. 2023; 70: 411–9.
3. Goudsmit A, Markowicz S, Lali S-E, Cherif S. Food poisoning due to a TSST1-producing Staphylococcus aureus. ID Cases. 2021; DOI: 10.1016/j.idcr.2021.e01272.
4. МУК 4.2.2429-08 «Метод определения стафилококковых энтеротоксинов в пищевых продуктах» [cited 2023 July 4]. Available from: <https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293829/4293829076.htm#i183860/>. Russian.
5. МУК 4.2.2879-11 «Методы определения стафилококковых энтеротоксинов в пищевых продуктах». Дополнения и изменения 1 к МУК 4.2.2429-08 [cited 2023 July 4]. Available from: <https://files.stroyinf.ru/Data2/0/4294809/4294809581.htm>. Russian.
6. Bennett RW, Halt JM. Bacterial Analytical Manual online. US Food and Drug Administration. 2011 [cited 2023 July 6]. Available from: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/default.htm>.
7. Lyubavina IA, Brovko FA, Valyakina TI, Vertiev YuV, Grishin EV. Metody ekspress-analiza stafilokokkovogo enterotoksina A v produktakh pitaniya. Bioorganicheskaya khimiya. Russian.
8. Eremkin AV, Ipatov SS, Kuklina GV, Pechenkin DV, Kytmanov AA, Tikhvinskaya OV, et al. Development of Elisa Test-Systems and Immune-Chromatographic Reagent Panel Designed for the Detection of Staphylococcal Enterotoxins of A and B Types. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2021; 2: 94–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-94-99. Russian.
9. Yarkov SP, Tretyakov SI, Shaulina EK, Brovkina AN, Khramov EN. Elevation the sensitivity of immunochromatographic tests to identify the causative agent of anthrax and staphylococcal enterotoxin type b based on silver amplification and instrumental recording. Extreme Medicine. 2019; 21 (3):455–63. Russian.
10. Yarkov SP, Tretyakov SI. Lateral flow test for the detection of staphylococcal enterotoxin type b using bifunctional gold nanoparticles. International research journal. 2021; 10 (112): 113–20. DOI: 10.23670/IRJ.2021.112.10.019. Russian.
11. Urusov AE, Jerdev AV, Starovoitova TA, Vengerov YuYu, Dzantiev BB. The device registration of immune chromatographic express-tests. Russian Clinical Laboratory Diagnostics. 2016; 61 (3): 173–9. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-3-173-179. Russian.
12. Artyushin LF. Osnovy' vosproizvedeniya czveta v fotografii, kino i poligrafii. M.: Iskusstvo, 1970; 548 s. Russian.
13. Dzantiev BB, Byzova NA, Urusov AE, Zherdev AV. Immunochromatographic methods in food analysis. TrAC Trends in Analytical Chemistry. 2014; 55: 81–93.
14. Zherdev AV, Dzantiev BB. Ways to reach lower detection limits of lateral flow immunoassays. Journal of Analytical Chemistry. 2022; 77 (4): 298–311. DOI: 10.5772/intechopen.76926.