

**АНАЛИЗ СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ И СРЕДСТВ ЭКСПРЕССНОЙ
ИНДИКАЦИИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ТОКСИНОВ, ИНГИБИРУЮЩИХ СИНТЕЗ
БЕЛКА**

Митева О. А., Быкова К. А., Мясникова И. А., Чепур С. В., Аль-Шехадат Р. И.

Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины

Министерства обороны Российской Федерации

195043, Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая, д. 4, телефон/факс: 8(812)775-02-41,

giiivm_7@mil.ru

Резюме: В статье приведён обзор современных подходов, методов и средств экспресс-индикации одной из наиболее значимых групп токсинов, ингибирующих синтез белка, определяющий перспективу разработки и внедрения на рынок как отечественных тест-систем, так и платформ автоматического анализа для выявления этих токсинов в объектах окружающей среды и биологическом материале.

Ключевые слова: биобезопасность, рибосом-инактивирующие белки, лектины, детекция и идентификация.

**ACTUAL METHODS AND MEANS OF EXPRESS INDICATION OF PLANT TOXINS
INHIBITING PROTEIN SYNTHESIS**

Miteva O. A., Bykova K. A., Myasnikova I. A., Chepur S. V., Al-Shekhadat, R. I.

State Scientific-research Test Institute of the Military Medicine, Russian Federation

Defense Ministry, Saint-Petersburg, Russia.

Abstract: The article presents a review of current approaches, modern methods and means of express indication ribosome inactivating proteins from the point of view organization biological defense system.

Key words: biosafety, ribosome-inactivating proteins, lectin, detection and identification technology.

Большинство токсинов белковой природы, рассматривают как источники биологической угрозы. Анализ данных литературы свидетельствует о наличии широкого спектра современных высокочувствительных методик по проверке пищевых продуктов, сырья и источников питьевой воды на наличие в них ксенобиотиков, в том числе белковых токсинов природного происхождения. Разработаны коммерческие тест-системы, обеспечивающие быструю индикацию и идентификацию целого спектра БПА

(биологических поражающих агентов), подавляющая часть которых представлена зарубежными разработками и не доступна для российского рынка.

В связи со сложившейся политической обстановкой, закупка лабораторного оборудования, тест-систем и расходных материалов иностранного производства крайне ограничена, что ещё больше актуализирует задачи по разработке и внедрению отечественных платформ экспресс- и автоматического анализа для идентификации токсинов в сложных матрицах. Основопологающим этапом этого процесса считают сбор и анализ информации, касающейся современных методических и инструментальных подходов к индикации биологических токсинов.

За последнее десятилетие страны Запада заметно интенсифицировали государственные программы и испытания средств диагностики, лечения и профилактики острых отравлений риботоксинами растительного происхождения. В Российской Федерации в области разработки средств специфической диагностики белковых токсинов так же существует определённый задел. В рамках программы «Национальной системы химической и биологической безопасности», и ряда других, создан обширный реестр реагентных средств, предназначенных как для неспецифической индикации, подтверждающей сам факт применения агентов биологической угрозы, так и для детекции отдельных видов БПА [2]. Вместе с тем, сформированный комплекс научно-технических и опытно-конструкторских разработок пока не вполне отвечает современным требованиям, необходимым для принятия своевременных мер по предупреждению биологических угроз, вызванных возможным применением веществ указанной группы.

Интерес к соединениям, ингибирующим синтез белка обусловлен их токсичностью, уступающей только ботулотоксину и превосходящей таковую у конвенциональных ядов; простотой получения, вплоть до возможности кустарного производства отдельных представителей; универсальностью механизма действия; тяжестью интоксикации и высокой летальностью; отсутствием средств специфической терапии и профилактики; скрытостью фактора воздействия; а также сложностью индикации и идентификации в объектах окружающей среды и биологическом материале. На примере наиболее актуальных представителей группы, проведён обзор современных методов их обнаружения, в том числе коммерческих тест-систем, сравнение, характеристики, оценка преимуществ и недостатков предлагаемых методик для эффективной реализации мер по предотвращению потенциальной угрозы населению и личному составу ВС РФ.

В основе цитотоксического действия веществ группы РИБ лежит подавление синтеза белка, приводящее чувствительные клетки к апоптозу. Механизма действия

реализован по двум типам, согласно мишени, в роли которых рассматривают фактор элонгации 2 и рибосомальную РНК. Токсины первого типа блокируют рост пептидной цепи за счёт инактивации (АДФ-рибозилирования) фактора элонгации 2 (EF-2). Процесс происходит в цитозоле в присутствии НАД (никотинамид-аденин-динуклеотида). Под действием активной субъединицы токсина происходит ферментативный гидролиз НАД с образованием АДФ-рибозильного (аденозин-5'-дифосфатрибозильного) остатка и никотинамида. АДФ-рибоза необратимо связывается с EF-2 в комплекс, не способный участвовать в удлинении полипептидной цепи, что в конечном итоге приводит клетку к гибели. Способность модифицировать фактор элонгации 2 описана для дифтерийного, холерного и синегнойного экзотоксинов. Цитотоксическое действие белков второго типа основано на депуринизации самих рибосом. Субъединица А риботоксинов обладая N-гликозилазной активностью, выщепляет остаток аденина в высококонсервативном участке (в позиции A4324) на 28S рибосомальной РНК. В результате происходит отщепление порядка 400 нуклеотидов с 3'-конца рРНК, что блокирует присоединение аминоацил-тРНК и так же приводит к остановке белкового синтеза на уровне трансляции. Такой механизм действия описан для веротоксинов (Stx-токсин *Shigella dysenteriae*), шиготоксинов STEC штаммов *E. coli*, и токсальбуминов, продуцентами которых являются высшие растения.

Токсичные лектины высших растений представляют собой сложные белки-гликопротеиды, обладающие высокой биологической активностью и степенью гомологии. Мультимерная структура придаёт лектинам способность агглютинировать клетки или образовывать преципитаты с гликоконъюгатами по механизму сходному с взаимодействием «антиген–антитело». К настоящему времени известно более 50 растительных белков этой группы, способных инактивировать рибосомы и запускать апоптоз клетки. В группу растительных рибосом-инактивирующих белков (*ribosome inactivating proteins*, RIP) входят рицин (продуцент *Ricinus communis*), абрин (*Abrus precatorius* L.), вискумин (*Viscum album*), модецин, волкезин, относительно нетоксичные нигрин и эбулин бузины (*Sambucus ebulus* L.) и многие другие [15]. Рицин, помимо тетродотоксина и ботулотоксина, входит в список 1 КХО. Несмотря на то, что очистка и хранение рицина строго регламентирована Организацией по запрещению химического оружия (ОЗХО), регулярно фиксируются попытки его незаконного производства или использования [5]. Абрин близок по своей структуре и свойствам к рицину. И, хотя возможность крупномасштабного культивирования продуцента абрина признана малоосуществимой, простота и дешевизна получения сырья, его токсичность, превышающая токсичность рицина, представляют значительную угрозу. Предполагаемая

смертельная доза абрина при ингаляционном отравлении для человека составляет 0,1-1 мкг/кг, против 5-10 мкг /кг при вдыхании рицина [11]. Одно из наиболее значимых свойств токсальбуминов, которое необходимо учитывать в ходе разработки методов экспресс-диагностики, состоит в их отложенном действии, что крайне затрудняет своевременное выявление в биологических матрицах. При попадании в организм симптомы отравления регистрируют через несколько часов (при ингаляционном введении) или даже суток (при заглатывании). Значительное увеличение дозы препарата не приводит к существенному сокращению сроков скрытого периода.

В России регламентированные экспертные средства обнаружения риботоксинов представлены классическими методами биопроб, и предусматривают использование чувствительных организмов или культур клеток, что дорого, трудоёмко, сложно в исполнении и требует немалого количества времени для получения результата. В зависимости от типа токсина анализ может занимать от нескольких дней до нескольких недель. Таким образом, временной фактор определяет одно из наиболее существенных ограничений применения этой группы методик. Тем не менее, методы биопроб считают высокочувствительными, и способными обнаружить функционально активный токсин. Однако, несмотря на то, что метод биопроб позволяет эффективно выявить функционально активный белок, определить его тип, и, соответственно, правильно и быстро подобрать стратегию лечебных и профилактических мероприятий представляется затруднительным. На производствах, занимающихся обработкой клещевины, присутствие рицина в масле, шроте, или иной продукции оценивают при помощи реакции агглютинации. Постановка анализа требует наличия свежезабранной дефибринированной кроличьей крови, и занимает до 19 ч [1]. В практике судебной медицины в качестве маркеров, свидетельствующих об отравлении рицином или абрином, могут быть использованы сопутствующие вещества, содержащиеся в экстрактах растений-продуцентов. Так, алкалоид рицинин в следовых количествах присутствует практически в любых, даже самых чистых препаратах рицина. Он менее чем рибин подвержен влиянию протеолитических ферментов и обнаруживается в моче спустя двое суток после введения токсичного вещества [4, 7, 18]. Маркером, косвенно подтверждающим факт отравления абрином, может служить присутствие в пробе мочи или растительном экстракте агглютинина L-абрина. L-абрин представляет собой тетрамер, содержащий две А- и две В-цепи, демонстрирующих высокую гомологию с RTA и RTB абрина.

Одними из наиболее перспективных средств экспрессной индикации считают разновидности иммунного анализа. Наиболее успешно коммерциализирован класс

внелабораторных систем, представленных иммунохроматографическими тест-системами, обычно оформленными в виде тест-полосок (ICS). Пределы обнаружения таких диагностикумов колеблются от наномолярных до микромолярных. Использование портативных детекторов может, в отдельных случаях, снизить эти пределы до пикомолярных концентраций. Отдельно стоит отметить возможности иммуоферментного анализа. Тест-системы на основе твердофазного иммуоферментного анализа типа «сэндвич» широко используют в мире в качестве диагностических и детектирующих систем. «Сэндвич» представляет собой вариант неконкурентного гетерогенного ИФА, в котором в качестве иммуносорбента выступает антитело. На сегодняшний день ТИФА в микропланшетном варианте реализован для огромного числа соединений, и адаптирован как для широкого использования в клинко-диагностической практике, так и в процессе мониторинга состояния окружающей среды. К основному достоинству метода относят высокую чувствительность, обусловленную усилением (амплификацией) сигнала с помощью фермента-маркера. Многочисленные модификации и оптимизации методик ИФА позволили существенно сократить время определения и снизить число промежуточных стадий. Автоматизированные варианты ИФА с использованием проточных портативных устройств позволяют хранить все реагенты в лиофильно-высушенном состоянии. Внесение пробы в кассету – единственное действие, требуемое от оператора, все последующие процессы инициирует движение жидкости по компонентам тест-системы под действием капиллярных сил.

В литературе приводены данные о разнообразных способах иммунодетекции рицина в рамках модельных экспериментов на животных – в секционном материале, назальных мазках или биологических жидкостях – с порогом чувствительности до 0,5 нг/мл [24, 25]. Стоит отметить, что одни из первых модификаций ИФА для выявления рицина, с использованием колориметрического и хемилюминесцентного методов детекции, не уступают по чувствительности современным [16, 19, 22]. В центре «Биоинженерия» РАН был разработан количественный колориметрический тест для обнаружения токсина в биологических жидкостях, позволяющий определять риксин с точностью до 0,5 нг в 1 мл [3]. Введение в практику аналитических исследований ТИФА типа «сэндвич» позволило повысить чувствительность, специфичность и воспроизводимость результатов анализа, и сократить время инкубации и пробоподготовки [14, 25]. Такие методики разработаны, апробированы и введены в практику многими ведущими национальными лабораториями [20, 21, 25, 27]. Так же, предложены мультиплексные методики, позволяющие детектировать риксин параллельно с другими

БПА, такими как холерный токсин, стафилококковые энтеротоксины А и В, ботулинический токсин А, токсин *Yersinia pestis* и термолабильный токсин *E. coli* [8, 12, 26, 28, 29].

Для индикации абрина также разработаны различные решения, в частности, модификации ТИФА [11, 13, 17, 30], иммунохроматографического анализа с использованием тест-полосок [10, 23], и электрохемилюминесцентного анализа [13]. Нижний порог чувствительности указанных систем составляет 0,1-0,5 нг/мл в фосфатно-солевом буфере, и 0,5-10 нг/мл в газировке, обезжиренном и цельном молоке, и ряде других матриц [17]. Разработана технология экспресс-анализа «*lateral flow*» с использованием коллоидного золота, с пределом обнаружения 3-10 нг/мл в буфере, что значительно ниже концентраций представляющих угрозу для жизни. Использование солей серебра в качестве маркера способно повысить чувствительность таких диагностикумов до 0,1 нг/мл, что сравнимо по результативности с лабораторными методами ИФА, но удлиняет время проведения анализа.

Для экспресс-индикации токсальбуминов в пробах взятых из окружающей среды, создан целый ряд коммерческих тест-систем, представленных исключительно зарубежными разработками. Большая часть указанных средств реализована на базе иммунохроматографического анализа в виде укладок с наборами тест-полосок. Коммерческие иммунохроматографические диагностикумы обладают высокой чувствительностью, в диапазоне от единиц до десятков нг/мл, возможностью визуальной регистрации результатов, и обеспечивают проведение анализа в один шаг. Кроме того, активно разрабатывают и выводят на рынок автоматические портативные платформы с оптической или электрохимической детекцией сигнала. Для армии США доступны иммунохроматографические тест-системы, позволяющие проводить анализ в полевых условиях, называемые «Hand-Held-Assay». Данные устройства используют только для первичного экспресс-анализа с последующим экспертным подтверждением. Однако они позволяют производить быстрый, качественный и количественный анализ на присутствие рицина в окружающей среде. Тест-система торговой марки RAMPTM, разработанная и производимая в Канаде (Rapid Analyte Measurement Platform), способна детектировать в пробе как нативный белок, так и отдельные субъединицы. Нижний порог составляет 14 нг/мл или 140 пг на тест [9]. Стрип, с иммобилизованными антителами, пришитыми к флуоресцентно-меченым латексным частицам в одной зоне, и с иммобилизованными антивидовыми антителами – в другой, фиксирован в специальном картридже. После нанесения пробы, картридж помещают в портативное считывающее устройство,

сканирующее сигнал, испускаемый в виде флуоресцентного свечения комплексами в тестируемой и контрольной зонах, и высчитывающее количественное содержание рицина в данном образце по соотношению этих двух измерений. Время анализа составляет не более 15 мин [6]. Перечень коммерческих моно- и мультианалитных тест-систем, предназначенных для детекции рицина представлен в таблице (Таб. 1), и содержит лишь часть диагностикумов, выпущенных на международный рынок. На территорию РФ ни одна из них не поставляется, что делает разработку отечественных систем экспресс-индикации растительных рибосом-инактивирующих белков приоритетным направлением медицинской защиты.

Таблица 1. Коммерческие тест-системы для индикации токсальбуминов

Название тест-системы	Мишень	Производитель
BADD	Рицин	Osborn Scientific, США
SMART-II	Рицин	New Horizons Diagnostic, Inc., США
Prime Alert	Рицин	GenPrime, Inc., США
Ricin Rapid Detection Kit	Рицин	Sigma Aldrich, США
BioThreat Alert ELISA kit	Рицин/Абрин	Tetracore, США
RAMP Ricin Test	Рицин	Response Biomedical Corp., Канада
The Bio Threat Alert (BTA) Test Strip «Ricin»	Рицин	Alexeter Technologies, США
Hand Held Microarray Assay (HHMA)	Рицин	ANP Technologies, Inc., США
Analyte 2000	Рицин	Research International Inc., США
RAPTOR	Рицин	Research International Inc., США
M-SERIES	Рицин	BioVeris Corp., США

В России разработан мультианалитный иммунохроматографический тест для одновременной детекции рицина, стафилококкового энтеротоксина типа В, холерного экзотоксина и ботулинических токсинов типов А и В [1]. После верификации, разработанный диагностикум был апробирован при анализе образцов, взятых с контаминированных поверхностей и продуктов питания. Предел обнаружения рицина в растворе буфера составил 80 нг/мл, но детекция токсина в продуктах питания по сравнению с чистыми растворами была снижена в 20–100 раз. В коммерческое использование набор не вышел.

Ещё одна группа методик, позволяющих эффективно и в короткие сроки обнаруживать следы воздействия БПА, представлена молекулярно-биологическими методами. Они позволяют детектировать в образце присутствие ничтожно малого количества генетического материала токсин-образующих продуцентов значительно быстрее, нежели рутинные биотесты. Методический аппарат молекулярной биологии

представляет собой комплекс методик, легко адаптируемых для широкого спектра токсинов. Вместе с тем, использование классических молекулярных методик сопряжено с рядом таких недостатков, как высокая стоимость исследования, серьёзные требования применяемые к оснащению лаборатории и квалификации персонала. Разработка альтернативных технологий, таких как петлеобразующая изотермическая амплификация (*loop-mediated isothermal amplification*, LAMP) позволили сократить сроки проведения анализов и упростили методику проведения анализа. LAMP демонстрирует меньшую чувствительность к присутствию ингибирующих веществ в сложных биологических средах, нежели стандартная ПЦР, и является нетребовательным к техническому оснащению лаборатории и срокам проведения анализа, что делает эту методику одним из наиболее перспективных экспрессных методов индикации.

Разработка современных средств и методов экспрессной индикации токсинов (в том числе токсинов ингибирующих синтез белка) на сегодняшний день занимает одно из приоритетных мест в системе биологической защиты. Токсикологический скрининг подразумевает применение подходов обеспечивающих простоту, эффективность и удобство применения в полевых условиях. В качестве основных методов, рекомендованных для экспресс-диагностики, рассматривают различные варианты иммуноанализа (в частности, ТИФА и иммунохроматография), и модификации молекулярно-биологического анализа, основанные на выявлении в пробах окружающей среды остаточной ДНК продуцента, такие как изо-ПЦР.

В рамках научно-исследовательских работ разработаны и апробированы тест-системы, содержащие наборы для количественного определения белков рицина и абрина на основе метода твердофазного иммуноферментного анализа, а также наборы для идентификации остаточной ДНК продуцентов указанных токсинов методом изотермической полимеразной цепной реакции в пробах объектов окружающей среды и биологического материала. Указанные системы позволяют определять риксин и абрин с высокой чувствительностью (10 нг/мл), и специфичностью, не уступающим западным аналогам. Чувствительность ПЦР-наборов составила порядка 1 нг/мкл с возможностью дальнейшего увеличения чувствительности на 1-2 порядка. Специфичность всех разработанных наборов составила не менее 95%. Разработаны алгоритмы проведения забора проб, транспортировки и хранения образцов. Показана способность тест-систем к проведению анализов в полевых условиях без развёртывания специализированной лаборатории.

Заключение

Разработка современных методов и средств экспрессной индикации токсинов, в том числе токсинов ингибирующих синтез белка, на сегодняшний день занимает одно из приоритетных мест в системе биологической защиты. Токсикологический скрининг подразумевает применение подходов обеспечивающих простоту, эффективность и удобство применения в полевых условиях. Активно разрабатывают экспериментальные тест-системы, предназначенные для индикации растительных лектинов, как в нативной форме, так и в виде отдельных субъединиц, в пробах окружающей среды, пищевых продуктах, и биологическом материале, что лишь подчёркивает острый интерес к соединениям данной группы. Вместе с тем, несмотря на многочисленные разработки, расширившие методический аппарат, иммунологические и биохимические исследования, оценку протеомного профиля при помощи масс-спектрометрии, готовых решений, применимых для экспрессной индикации токсинов, ингибирующих синтез белка, и доступных для российского рынка, фактически нет. Отсутствуют стандартизированные методы и процедуры, а так же сертифицированные эталонные материалы, позволяющие получить эквивалентные результаты при сравнении разных методик. Высокочувствительные прототипы зачастую не имеют практических решений касающихся воспроизводимости результатов, стабильности, и обеспечения масштабируемого производства.

Принципиально важно отметить, что разработка комплексной системы мониторинга биоугроз не подразумевает возможности решения всех задач с помощью какого-либо одного универсального подхода. Таким образом, оправданной представляется концепция параллельного развития двух направлений: с одной стороны – совершенствование высокотехнологичных методов аналитической протеомики; с другой – разработка скрининговых систем, пригодных для работы в полевых условиях или предварительной диагностики.

Литература

1. Измерение концентраций вредных веществ в воздухе рабочей зоны: Сб. метод. указаний МУК 4.1.100-96-МУК 4.1.197-96. // Официальное издание, М.: Информационно-издательский центр Минздрава России. – 1998. – Вып. 29. – 429 с.
2. Спицын А. Н., Осина Н. А., Германчук В. Г., Уткин Д. В., Шарова И. Н., Куклев В. Е., Портенко С. А. Неспецифическая индикация микроорганизмов в объектах окружающей среды // Проблемы особо опасных инфекций. – 2018. – вып. 1. – С. 66-70.

3. Челнокова О.В. Конформационные изменения растительных токсинов в ходе внутриклеточного транспорта // Дис.... канд. биол. наук. – М., 2004. – 122 с.
4. Armstrong S., Yates S. P., Merrill A. R. Insight into the Catalytic Mechanism of *Pseudomonas aeruginosa* Exotoxin A studies of toxin interaction with eukaryotic elongation factor-2 // *Journal of Biological Chemistry*. – 2002. – Т. 277. – №. 48. – P. 46669-46675.
5. Bozza W. P. et al. Ricin detection: Tracking active toxin // *Biotechnology advances*. – 2015. – Т. 33. – №. 1. – P. 117-123.
6. Cloney L. P. et al. RAMP®: High Accuracy from Immunochromatographic Assays by the Use of Internal Control Ratios // *Clinical Chemistry*. – 2003. – Т. 49. – №. 10. – P. 1775-1777.
7. Darby S. M., Miller M. L., Allen R. O. Forensic determination of ricin and the alkaloid marker ricinine from castor bean extracts // *Journal of Forensic Science*. – 2001. – Т. 46. – №. 5. – P. 1033-1042.
8. Delehanty J. B., Ligler F. S. A microarray immunoassay for simultaneous detection of proteins and bacteria // *Analytical Chemistry*. – 2002. – Т. 74. – №. 21. – P. 5681-5687.
9. Fulton R. E., Thompson H. G. Fluorogenic Hand-Held Immunoassay for the Identification of Ricin: Rapid Analyte Measurement Platform // *Journal of immunoassay & immunochemistry*. – 2007. – Т. 28. – №. 3. – P. 227-241.
10. Gao S. et al. Colloidal Gold-Based Immunochromatographic Test Strip for Rapid Detection of Abrin in Food Samples // *Journal of food protection*. – 2012. – Т. 75. – №. 1. – P. 112-117.
11. Garber E. A. E. Toxicity and detection of ricin and abrin in beverages // *Journal of food protection*. – 2008. – Т. 71. – №. 9. – P. 1875-1883.
12. Garber E. A. E., Venkateswaran K. V., O'Brien T. W. Simultaneous multiplex detection and confirmation of the proteinaceous toxins abrin, ricin, botulinum toxins, and *Staphylococcus enterotoxins* A, B, and C in food // *Journal of agricultural and food chemistry*. – 2010. – Т. 58. – №. 11. – P. 6600-6607.
13. Garber E. A. E., Walker J. L., O'BRIEN T. W. Detection of abrin in food using enzyme-linked immunosorbent assay and electrochemiluminescence technologies // *Journal of food protection*. – 2008. – Т. 71. – №. 9. – P. 1868-1874.
14. Garber E.A.E., Thole J. Application of Microwave Irradiation and Heat to Improve Gliadin Detection and Ricin ELISA Throughput with Food Samples // *Toxins*. 2015. – Vol. 7. – № 6. – P. 2135–2144.

15. Girbés T. et al. Description, distribution, activity and phylogenetic relationship of ribosome-inactivating proteins in plants, fungi and bacteria // Mini reviews in medicinal chemistry. – 2004. – Т. 4. – №. 5. – P. 461-476.
16. Griffiths G. D., Newman H. V., Gee D. J. Immunocytochemical detection of ricin. II. Further studies using the immunoperoxidase method //The Histochemical Journal. – 1986. – Т. 18. – №. 4. – P. 189-195.
17. He X. et al. Detection of abrin holotoxin using novel monoclonal antibodies //Toxins. – 2017. – Т. 9. – №. 12. – P. 386.
18. Johnson R. C. et al. Quantification of ricinine in rat and human urine: a biomarker for ricin exposure //Journal of analytical toxicology. – 2005. – Т. 29. – №. 3. – P. 149-155.
19. Leith A. G., Griffiths G. D., Green M. A. Quantification of ricin toxin using a highly sensitive avidin/biotin enzyme-linked immunosorbent assay //Journal of the Forensic Science Society. – 1988. – Т. 28. – №. 4. – P. 227-236.
20. Pauly D. et al. Monitoring of laying capacity, immunoglobulin Y concentration, and antibody titer development in chickens immunized with ricin and botulinum toxins over a two-year period // Poult. Sci. – 2009. – Vol. 88. – № 2. – P. 281–290.
21. Pauly D. et al. Simultaneous quantification of five bacterial and plant toxins from complex matrices using a multiplexed fluorescent magnetic suspension assay // The Analyst. – 2009. – Vol. 134. – № 10. – P. 2028–2039.
22. Poli M. A. et al. Detection of ricin by colorimetric and chemiluminescence ELISA // Toxicon. – 1994. – Т. 32. – №. 11. – P. 1371-1377.
23. Ramage J. G. et al. Comprehensive laboratory evaluation of a specific lateral flow assay for the presumptive identification of abrin in suspicious white powders and environmental samples // Biosecurity and bioterrorism: biodefense strategy, practice, and science. – 2014. – Т. 12. – №. 1. – P. 49-62.
24. Shyu H. F. et al. Monoclonal antibody-based enzyme immunoassay for detection of ricin // Hybridoma and hybridomics. – 2002. – Т. 21. – №. 1. – P. 69-73.
25. Simon S. et al. Recommended Immunological Assays to Screen for Ricin-Containing Samples // Toxins. – 2015. – Vol. 7. – № 12. – P. 4967–4986.
26. Simonova M. A. et al. Development of xMAP assay for detection of six protein toxins // Analytical chemistry. – 2012. – Т. 84. – №. 15. – P. 6326-6330.
27. Validation of an Antigen-Capture Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) for the Detection and Quantification of Ricin Toxin // PloS One. – 2011. – Vol. 6. – № 5. – P. 201-266.

28. Wadkins R. M. et al. Detection of multiple toxic agents using a planar array immunosensor // *Biosensors and Bioelectronics*. – 1998. – Т. 13. – №. 3-4. – P. 407-415.
29. Weingart O. G. et al. A bioanalytical platform for simultaneous detection and quantification of biological toxins // *Sensors*. – 2012. – Т. 12. – №. 2. – P. 2324-2339.
30. Zhou Y. et al. An enhanced ELISA based on modified colloidal gold nanoparticles for the detection of Pb (II) // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2011. – Т. 26. – №. 8. – P. 3700-3704.

Reference

1. Measurement of concentrations of harmful substances in the air of the working area: collection of guidelines MUK 4.1.100-96-MUK 4.1.197-96. // Official publication, M.: Information and Publishing Center of the Ministry of Health of Russia. – 1998. – N 29. – 429 p. method of guidance. [In Russian].
2. Spitsyn A. N., Osina N.A., Germanchuk V. G., Utkin D. V., Sharova I. N., Kuklev V. E., Portenko S. A.. Nonspecific indication of microorganisms in environmental objects // *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii*. – 2018. – N 1. – P. 66-70. [In Russian].
3. Chelnokova O.B. Conformational changes in plant toxins during intracellular transport // *Dis. kand. biol. nauk.* – M., 2004. – 122 p. [In Russian].
4. Armstrong S., Yates S. P., Merrill A. R. Insight into the Catalytic Mechanism of *Pseudomonas aeruginosa* Exotoxin A studies of toxin interaction with eukaryotic elongation factor-2 // *Journal of Biological Chemistry*. – 2002. – Т. 277. – №. 48. – P. 46669-46675.
5. Bozza W. P. et al. Ricin detection: Tracking active toxin // *Biotechnology advances*. – 2015. – Т. 33. – №. 1. – P. 117-123.
6. Cloney L. P. et al. RAMP®: High Accuracy from Immunochromatographic Assays by the Use of Internal Control Ratios // *Clinical Chemistry*. – 2003. – Т. 49. – №. 10. – P. 1775-1777.
7. Darby S. M., Miller M. L., Allen R. O. Forensic determination of ricin and the alkaloid marker ricinine from castor bean extracts // *Journal of Forensic Science*. – 2001. – Т. 46. – №. 5. – P. 1033-1042.
8. Delehanty J. B., Ligler F. S. A microarray immunoassay for simultaneous detection of proteins and bacteria // *Analytical Chemistry*. – 2002. – Т. 74. – №. 21. – P. 5681-5687.

9. Fulton R. E., Thompson H. G. Fluorogenic Hand-Held Immunoassay for the Identification of Ricin: Rapid Analyte Measurement Platform // *Journal of immunoassay & immunochemistry*. – 2007. – Т. 28. – №. 3. – P. 227-241.
10. Gao S. et al. Colloidal Gold-Based Immunochromatographic Test Strip for Rapid Detection of Abrin in Food Samples // *Journal of food protection*. – 2012. – Т. 75. – №. 1. – P. 112-117.
11. Garber E. A. E. Toxicity and detection of ricin and abrin in beverages // *Journal of food protection*. – 2008. – Т. 71. – №. 9. – P. 1875-1883.
12. Garber E. A. E., Venkateswaran K. V., O'Brien T. W. Simultaneous multiplex detection and confirmation of the proteinaceous toxins abrin, ricin, botulinum toxins, and Staphylococcus enterotoxins A, B, and C in food // *Journal of agricultural and food chemistry*. – 2010. – Т. 58. – №. 11. – P. 6600-6607.
13. Garber E. A. E., Walker J. L., O'BRIEN T. W. Detection of abrin in food using enzyme-linked immunosorbent assay and electrochemiluminescence technologies // *Journal of food protection*. – 2008. – Т. 71. – №. 9. – P. 1868-1874.
14. Garber E.A.E., Thole J. Application of Microwave Irradiation and Heat to Improve Gliadin Detection and Ricin ELISA Throughput with Food Samples // *Toxins*. 2015. – Vol. 7. – № 6. – P. 2135–2144.
15. Girbés T. et al. Description, distribution, activity and phylogenetic relationship of ribosome-inactivating proteins in plants, fungi and bacteria // *Mini reviews in medicinal chemistry*. – 2004. – Т. 4. – №. 5. – P. 461-476.
16. Griffiths G. D., Newman H. V., Gee D. J. Immunocytochemical detection of ricin. II. Further studies using the immunoperoxidase method // *The Histochemical Journal*. – 1986. – Т. 18. – №. 4. – P. 189-195.
17. He X. et al. Detection of abrin holotoxin using novel monoclonal antibodies // *Toxins*. – 2017. – Т. 9. – №. 12. – P. 386.
18. Johnson R. C. et al. Quantification of ricinine in rat and human urine: a biomarker for ricin exposure // *Journal of analytical toxicology*. – 2005. – Т. 29. – №. 3. – P. 149-155.
19. Leith A. G., Griffiths G. D., Green M. A. Quantification of ricin toxin using a highly sensitive avidin/biotin enzyme-linked immunosorbent assay // *Journal of the Forensic Science Society*. – 1988. – Т. 28. – №. 4. – P. 227-236.
20. Pauly D. et al. Monitoring of laying capacity, immunoglobulin Y concentration, and antibody titer development in chickens immunized with ricin and botulinum toxins over a two-year period // *Poult. Sci*. – 2009. – Vol. 88. – № 2. – P. 281–290.

21. Pauly D. et al. Simultaneous quantification of five bacterial and plant toxins from complex matrices using a multiplexed fluorescent magnetic suspension assay // *The Analyst*. – 2009. – Vol. 134. – № 10. – P. 2028–2039.
22. Poli M. A. et al. Detection of ricin by colorimetric and chemiluminescence ELISA // *Toxicon*. – 1994. – Т. 32. – №. 11. – P. 1371-1377.
23. Ramage J. G. et al. Comprehensive laboratory evaluation of a specific lateral flow assay for the presumptive identification of abrin in suspicious white powders and environmental samples // *Biosecurity and bioterrorism: biodefense strategy, practice, and science*. – 2014. – Т. 12. – №. 1. – P. 49-62.
24. Shyu H. F. et al. Monoclonal antibody-based enzyme immunoassay for detection of ricin // *Hybridoma and hybridomics*. – 2002. – Т. 21. – №. 1. – P. 69-73.
25. Simon S. et al. Recommended Immunological Assays to Screen for Ricin-Containing Samples // *Toxins*. – 2015. – Vol. 7. – № 12. – P. 4967–4986.
26. Simonova M. A. et al. Development of xMAP assay for detection of six protein toxins // *Analytical chemistry*. – 2012. – Т. 84. – №. 15. – P. 6326-6330.
27. Validation of an Antigen-Capture Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) for the Detection and Quantification of Ricin Toxin // *PloS One*. – 2011. – Vol. 6. – № 5. – P. 201-266.
28. Wadkins R. M. et al. Detection of multiple toxic agents using a planar array immunosensor // *Biosensors and Bioelectronics*. – 1998. – Т. 13. – №. 3-4. – P. 407-415
29. Weingart O. G. et al. A bioanalytical platform for simultaneous detection and quantification of biological toxins // *Sensors*. – 2012. – Т. 12. – №. 2. – P. 2324-2339.
30. Zhou Y. et al. An enhanced ELISA based on modified colloidal gold nanoparticles for the detection of Pb (II) // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2011. – Т. 26. – №. 8. – P. 3700-3704.