

ОПЫТ ПО РАЗРАБОТКЕ И ВНЕДРЕНИЮ ЭКСПРЕСС-ТЕСТОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ ХОЛЕРЫ ВО ВНЕЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ

ДОКЛАДЧИК: КОРОЛЁВА-УШАКОВА А.Г.

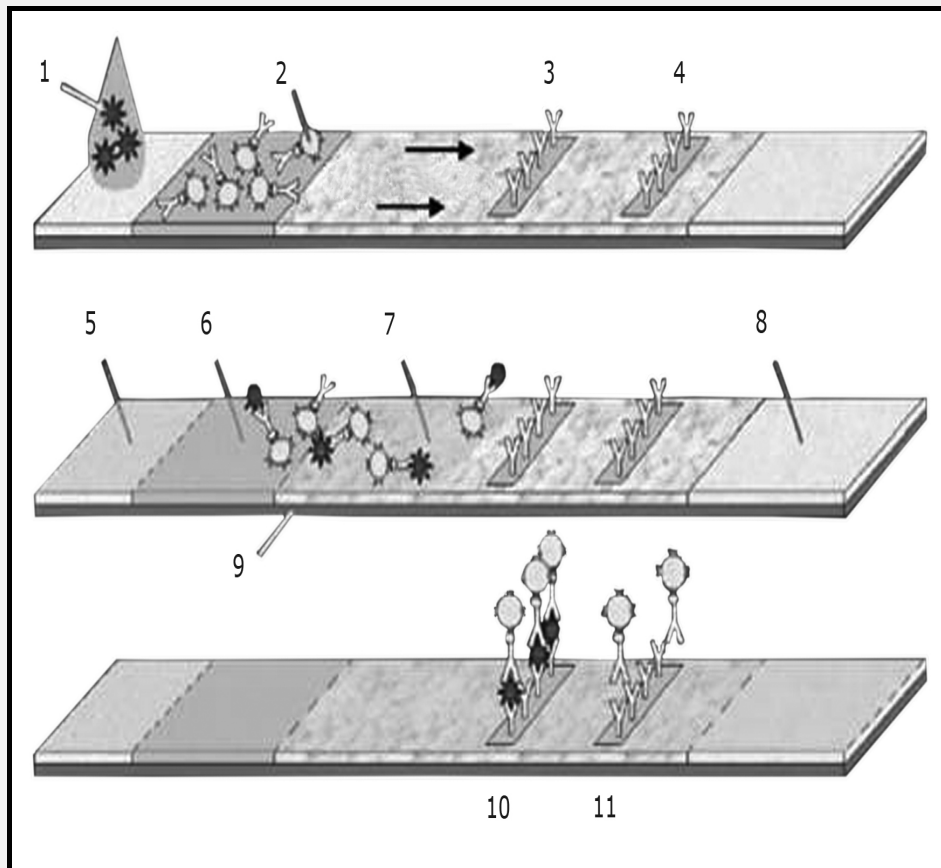
СОАВТОРЫ: Е.В. БАРАНОВА, А.Г. ШЕВЯКОВ, Т.В. ФЕДОРОВ, П.В. СОЛОВЬЕВ,
А.А. ГОРБАТОВ, А.Е. ХОМЯКОВ, С.Ф. БИКЕТОВ

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и
биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская
Федерация

ПРЕИМУЩЕСТВА ИХТ

- **результаты исследования в максимально короткие сроки (позволяют в течение 5-20 минут обнаружить патоген в исследуемом образце)**
- **возможность проведения анализа с использованием нативного материала или элективных сред**
- **высокая специфичность**
- **простота и воспроизводимость метода**
- **минимально подготовленный персонал у постели больного или в месте оказания помощи больным с подозрением на холеру**
- **не требуют обслуживания холодильной цепи**
- **не требуют использования сложного оборудования.**

ПРИНЦИП РАБОТЫ ИХТ



1 - исследуемая проба; 2 - конъюгат специфичных антител с наночастицами;

3 - иммобилизованные специфичные антитела в тестовой зоне;

4 - иммобилизованные антивидовые иммуноглобулины в контрольной зоне;

5 - подушечка для впитывания пробы; 6 - подушечка для конъюгата;

7 – нитроцеллюлозная мембрана; 8 - подушечка для абсорбции реагентов;

9 - подложка для мембраны; 10 – тестовая полоса: положительный результат;

11 – контрольная полоса (достоверный результат теста).

ГИБРИДОМНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

ОТБОР ГИБРИДНЫХ КЛЕТОК :

А) СТАБИЛЬНОСТЬ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ

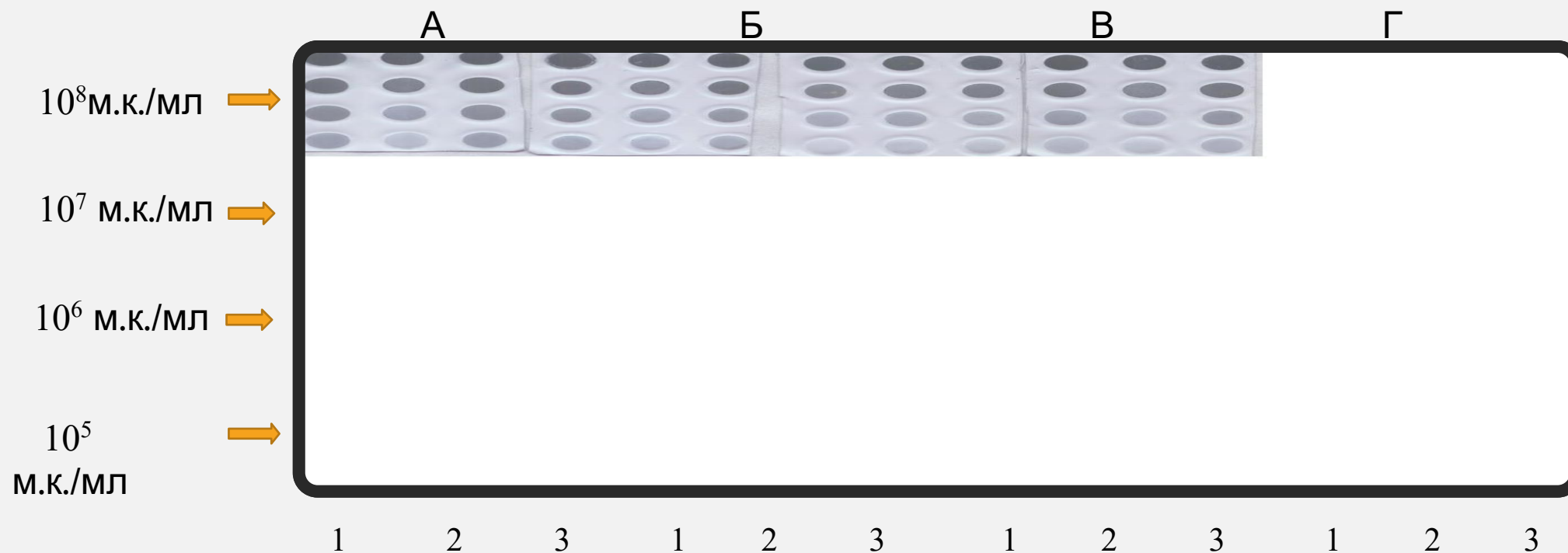
Б) ПРОДУКТИВНОСТЬ ГИБРИДОМ

В) СПЕЦИФИЧНОСТЬ МА

Г) АФФИННОСТЬ МА

Д) КЛАСС МА

ДОТ-ИММУНОБЛОТ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ К ЛПС ХОЛЕРНОГО ВИБРИОНА 1 СЕРОГРУППЫ



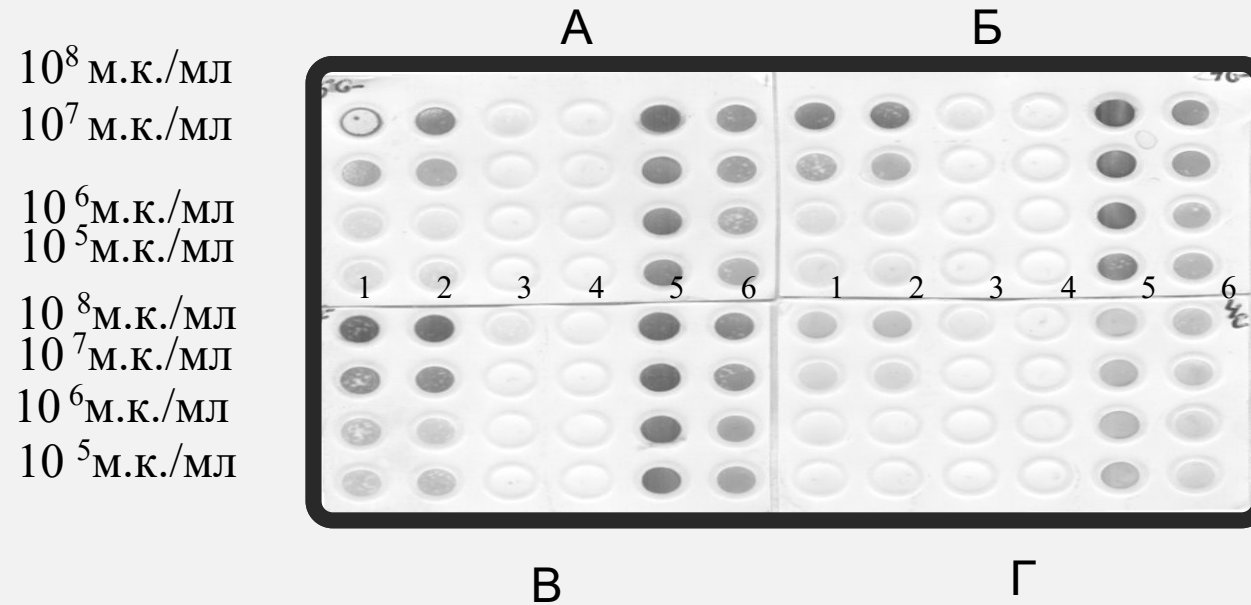
1 - *V. cholerae* El Tor И-1181; 2 - *V. cholerae* El Tor И-1264;

3 - *V. cholerae cholerae* 569B

А - МА 2G12; Б - МА 1C4; В - 6D8; Г - 3E7

ДОТ-ИММУНОБЛОТ МА К ХОЛЕРНОМУ ТОКСИНУ

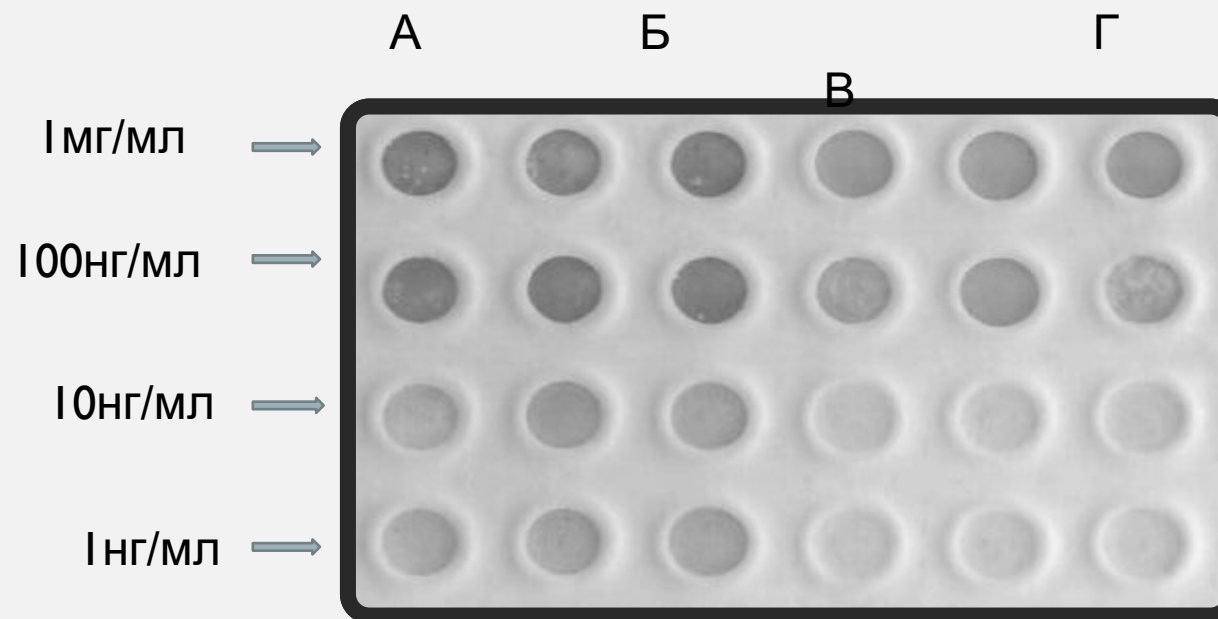
А – МА CH6; Б – МА CE5; В – МА CH13; Г - МА CH8



1 – *V. cholerae* El Tor И-1181; 2 – *V. cholerae* El Tor И-1264; 3 – *V. cholerae* O139 И-16; 4 – *V. cholerae* El Tor И-1327; 5 – *V. cholerae cholerae* 569B; 6 – *V. cholerae* El Tor И-1334

ДОТ – ИММУНОБЛОТ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ К ХОЛЕРНОМУ ТОКСИНУ

Холерный анатоксин



А – МА СН6; Б – МА СЕ5; В – МА СН13; Г - МА СН8

КОНСТРУИРОВАНИЕ ИХТ ДЛЯ ОДНОВРЕМЕННОГО (БИПЛЕКСНОГО) ВЫЯВЛЕНИЯ O1 И TOX+ МАРКЕРОВ ПАТОГЕННЫХ ШТАММОВ *V. CHOLERAЕ*

ВЫБОР МАТЕРИАЛОВ:

- СОРБЦИОННАЯ ЁМКОСТЬ
- ОДНОРОДНОСТЬ АНАЛИТИЧЕСКИХ И КОНТРОЛЬНЫХ ЗОН
- ПРОДВИЖЕНИЕ ФРОНТА ЖИДКОСТИ
- НЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ СОРБЦИЯ

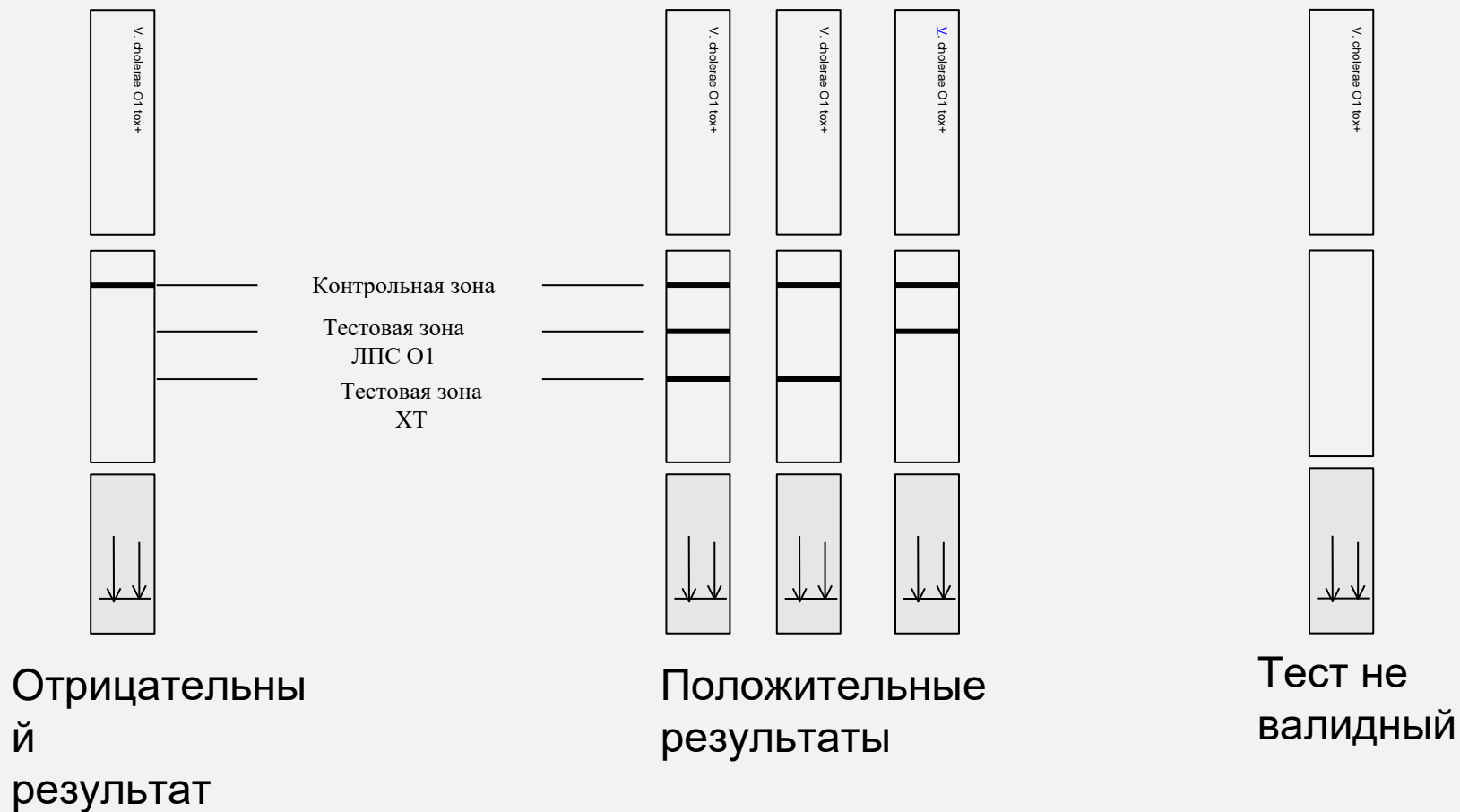
Результаты оценки специфичности экспресс-теста «Тест-полоска V. cholerae O1 Tox+»

№ пп	Наименование и номер штамма	номер опыта			
		Опыт 1		Опыт 2	
		выявлен ЛПС O1	выявлен ХТ	выявлен ЛПС O1	выявлен ХТ
1.	V. cholerae не O1/O139 1-09	—	—	—	—
2.	V. cholerae не O1/O139 1-11	—	—	—	—
3.	V. cholerae не O1/O139 1-12	—	—	—	—
4.	Escherichia coli 52	—	—	—	—
5.	Shigella dysenteriae 63/2	—	—	—	—
6.	Vibrio metschnikovii 5	—	—	—	—
7.	Salmonella typhimurium 14	—	—	—	—
8.	V. vulnificus И-157	—	—	—	—
9.	V. parahaemolyticus И-188	—	—	—	—

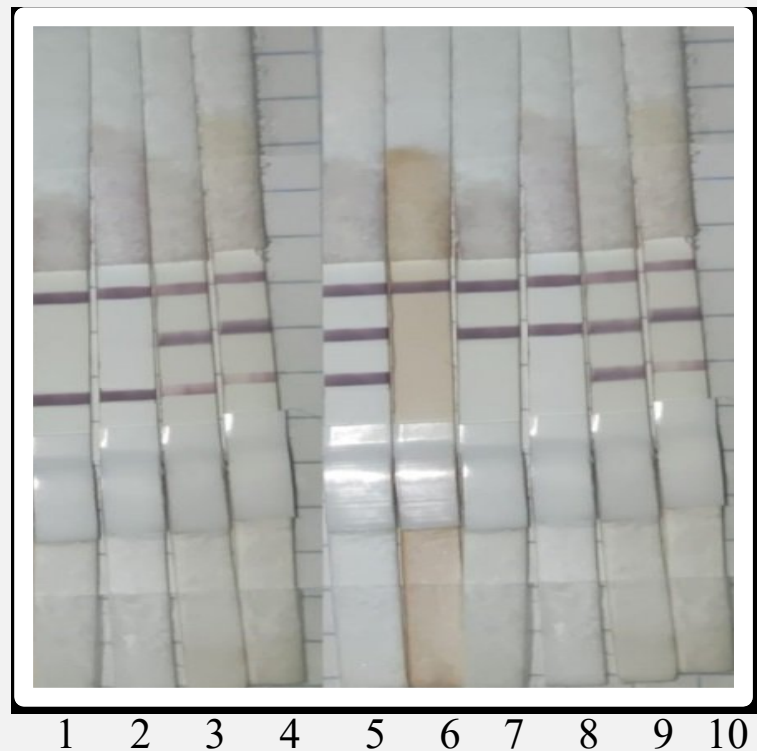
РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЭКСПРЕСС-ТЕСТА «ТЕСТ-ПОЛОСКА V. CHOLERAЕ O1 ТОХ+»

№ пп	Наименование и номер штамма	генотип		номер опыта			
		ctxAB	tcpAelt	Опыт 1		Опыт 2	
				выявлен ЛПС O1	выявлен ХТ	выявлен ЛПС O1	выявлен ХТ
1.	V. cholerae O139 59 Din	+	+	–	+	–	+
1.	V. cholerae O139 И-13	+	+	–	+	–	+
1.	V. cholerae El Tor И-1334	+	+	+	+	+	+
1.	V. cholerae El Tor И-1181	+	+	+	+	+	+
1.	V. cholerae cholerae 569B	+	–	+	+	+	+
1.	V. cholerae O139 И-16	–	–	–	–	–	–
1.	V.cholerae El Tor И-1327	–	–	+	–	+	–
1.	V. cholerae El Tor И-576	+	+	+	–	+	–
1.	V. cholerae El Tor И-1264	+	+	+	+	+	+
1.	V .cholerae El Tor И-477	+	+	+	+	+	+

СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ ИХА



ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ БУЛЬОННЫХ КУЛЬТУР *V. CHOLERAЕ*



Бульонные культуры: 1 - *V. cholerae* O139 59 Din; 2 - *V. cholerae* O139 И-13; 3 - *V. cholerae* El Tor И-1334; 4 - *V. cholerae* El Tor И-1181; 5 - *V. cholerae cholerae* 569B; 6 - *V. cholerae* O139 И-16; 7 - *V. cholerae* El Tor И-1327; 8 - *V. cholerae* El Tor И-576; 9 - *V. cholerae* El Tor И-1264; 10 - *V. cholerae* El Tor И-477

БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ