

Апробация биплексного экспресс-теста для выявления эпидемически значимых вариантов холерного вибриона

А.А.Горбатов, Е.В.Баранова, А.Г.Королёва-Ушакова, А.Г.Шевяков, В.А.Яковлева, Т.В.Фёдоров, П.В.Соловьёв, С.Ф.Бикетов

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российской Федерации

Мембранный иммунохроматографический анализ (ИХА) с наночастицами золота в качестве репортеров сигнала является востребованным инструментом экспресс-диагностики ряда возбудителей инфекционных заболеваний, в т.ч. и холеры (*Vibrio cholerae*). Во ФБУН ГНЦ ПМБ разработан первый отечественный иммунохроматографический тест (ИХТ) для выявления патогенных вибрионов после обогащения образцов через культивирование в питательной среде. Проводятся его испытания с целью последующей госрегистрации.

Проведена апробация разработанного ИХТ – «Тест-полоска *V. cholerae* O1 Tox+» для прямого обнаружения холерных вибрионов в клинических образцах, собранных в Республике. Показана возможность прямого обнаружения антигена и токсина *V. cholerae* в образцах стула пациентов с диарейным синдромом с помощью ИХТ «Тест-полоска *V. cholerae* O1 Tox+». При исследовании 73 образцов стула в ИХА и полимеразной цепной реакции (ПЦР) чувствительность теста относительно ПЦР составила 100% по O1 антигену и 73% по ИХТ, специфичность – 100%.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae*, холерный токсин, серогруппа O1, экспресс-тест, клинические образцы

Для цитирования: Горбатов А.А., Баранова Е.В., Королёва-Ушакова А.Г., Шевяков А.Г., Яковлева В.А., Фёдоров Т.В., Соловьёв П.В., Бикетов С.Ф. Апробация биплексного экспресс-теста для выявления эпидемически значимых вариантов холерного вибриона. Бактериология. 2025; 10(4): 155–157. DOI: 10.20953/2500-1027-2025-4-155-157

Testing of a bplex rapid test to identification epidemiologically significant strains of *Vibrio cholerae*

A.A.Gorbatov, E.V.Baranova, A.G.Korolyova-Ushakova, A.G.Shevakov, V.A.Yakovleva, T.V.Fedorov, P.V.Solovyov, S.F.Biketov

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor, Obolensk, Moscow region, Russian Federation

Membrane immunochromatographic assay (ICA) using gold nanoparticles as signal reporters is a sought-after tool for rapid diagnostics of several infectious disease pathogens, including cholera (*Vibrio cholerae*). The State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology (SRCAMB) has developed the first Russian immunochromatographic test (ICT) for detecting pathogenic vibrios after enrichment of samples through culture in a nutrient medium. It is currently undergoing testing with a view to subsequent state registration. The newly developed ICT, the “*V. cholerae* O1 Tox+ Test Strip,” has been tested for the direct detection of cholera vibrios in clinical specimens collected in the Republic of Burundi. The ability of the “*V. cholerae* O1 Tox+ Test Strip” to directly detect *V. cholerae* antigen and toxin in stool samples from patients with diarrhea using the ICT has been demonstrated. In a study of 73 stool samples using both ICA and PCR, the test’s sensitivity relative to PCR was 100% for the O1 antigen and 73% for the ICA, with a specificity of 100%.

Key words: *Vibrio cholerae*, cholera toxin, serogroup O1, rapid test, clinical samples

For citation: Gorbatov A.A., Baranova E.V., Korolyova-Ushakova A.G., Sheviakov A.G., Yakovleva V.A., Fedorov T.V., Solovyov P.V., Biketov S.F. Testing of a bplex rapid test to identification epidemiologically significant strains of *Vibrio cholerae*. Bacteriology. 2025; 10(4): 155–157. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2025-4-155-157

Для корреспонденции:

Горбатов Алексей Александрович, кандидат медицинских наук, заместитель директора ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24

Телефон: (4967) 36-0147

E-mail: gorbatov@obolensk.org

ORCID: 0000-0002-0799-893X

Статья поступила 31.10.2025, принятая к печати 25.12.2025

For correspondence:

Alexey A. Gorbatov, MD, PhD, Deputy Director, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Address: 24 “Quarter A” Territory, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, 142279, Russian Federation

Phone: (4967) 36-0147

E-mail: gorbatov@obolensk.org

ORCID: 0000-0002-0799-893X

The article was received 31.10.2025, accepted for publication 25.12.2025

Общемировой рост заболеваемости холерой наблюдается с 2021 г. С начала 2025 г. (по состоянию на сентябрь) в общей сложности было зарегистрировано 489 500 случаев холеры и 6200 случаев смерти от этого заболевания в 32 странах в пяти регионах, наблюдаемых Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) [1]. В настоящее время к числу стран, наиболее серьезно затронутых этим заболеванием, относятся: Афганистан, Южный Судан, Йемен, Судан, Демократическая Республика Конго, Ангола, Пакистан, Нигерия, Эфиопия, Гаити, Сомали, Мозамбик, Танзания, Гана, Чад, Мьянма, Непал, Индия, Бурунди. В ряде вспышек отмечаются высокие показатели летальности, превышающие пороговый уровень в 1%.

В России отмечена тенденция роста трудовой миграции из стран, неблагополучных по холере, большая часть из Индии, откуда прибыли 11 686 мигрантов (88,17% – из Индии). С начала 2025 г. было зафиксировано четыре завозных случая холеры из Индии [2].

Интерес к средствам экспресс-выявления возбудителя холеры определяется стремлением получить результаты исследования в максимально короткие сроки; возможность проведения анализа как с использованием элегтивных сред, так и клинического материала; высокой специфичностью и простотой постановки анализа. Выявление одновременно двух маркеров – O1 и Tox+ – в одном изоляте *Vibrio cholerae*, несомненно, увеличивает точность диагностики эпидемически опасных возбудителей холеры. Достоинствами ИХТ считаются доставка в отдаленные регионы без «холодовой транспортной цепи», возможность использования «у постели больного», в месте оказания помощи пациентам с подозрением на холеру без использования сложного оборудования. При расследовании случаев холеры в условиях недостаточных лабораторных и медицинских ресурсов ИХТ были рекомендованы ВОЗ для выявления возбудителя холеры при реагировании на вспышки [3, 4]. За рубежом производится ряд коммерческих ИХТ для выявления холерных вибрионов O1, O139 серогрупп. Отмечены различия в чувствительности и специфичности ИХТ различных производителей и зависимость от условий проведения анализа и времени от начала клинических проявлений заболевания [5–9].

Цель исследования. Апробация первого отечественного ИХТ для одновременного выявления O1 и Tox+ маркеров патогенных штаммов *V. cholerae* при прямом анализе образцов стула пациентов с диарейным синдромом.

Материалом для исследований были образцы стула пациентов с диарейным синдромом холерной и нехолерной этиологии ($n = 73$), полученные из инфекционной клиники г. Бужумбуры, Республика Бурунди, в ходе выполнения мероприятий в рамках деятельности Российско-Бурундийского совместного центра (Федеральный проект «Санитарный щит – безопасность для здоровья (предупреждение, выявление, реагирование)»). Образцы биоматериала сопровождались паспортом с указанием даты сбора образца, данных больного, клинического диагноза. Работу проводили на базе лаборатории Национального института общественного здравоохранения Республики Бурунди Министерства общественного здравоохранения и по борьбе со СПИДом в период с 08.09.2025 по 18.09.2025.

Для проведения иммунохроматографического анализа (ИХА) использовали набор реагентов «Тест-полоска *V. cholerae* O1 Tox+» для одновременного выявления O1 и Tox+ маркеров патогенных штаммов *V. cholerae* производства ФБУН ГНЦ ПМБ (лабораторная серия 10, произведен 15.02.2025). Анализ проводили согласно инструкции по применению ИХТ. В качестве сравнения использовали коммерческий ПЦР-тест «АмплиСенс *Vibrio cholerae*-FL» (Россия).

В результате проведенной работы показана принципиальная возможность выявления возбудителя холеры с помощью набора реагентов «Тест-полоска *V. cholerae* O1 Tox+» у пациентов в острой фазе заболевания. С использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР) в качестве теста сравнения показано, что 100% образцов, положительных в ПЦР, были положительными в ИХА по антигену O1, 73% – по продукции холерного токсина. Тест продемонстрировал на больных с различными острыми кишечными инфекциями нехолерной этиологии 100%-ю специфичность, что очень важно с точки зрения клинической диагностики и эпидемиологических расследований. С учетом того, что часть образцов длительное время сохранялась в замороженном состоянии, остаются вопросы об оптимальных способах отбора и хранения образцов для анализа с помощью ИХТ, которые в дальнейшем, по возможности, будут исследованы.

С учетом ограниченного количества исследованных образцов необходимы дальнейшие испытания тестов, отработка и оптимизация пробоподготовки с целью адаптации ИХТ для прямого тестирования образцов стула, в частности, установления оптимального времени тестирования от начала клинических проявлений заболевания.

Разработанные ИХТ в комплексе с другими средствами диагностики могут быть использованы для раннего выявления случаев заболевания холерой, что имеет решающее значение для оперативного осуществления противоэпидемических мероприятий.

Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках федерального проекта «Санитарный щит страны – безопасность для здоровья (предупреждение, выявление, реагирование)» по мероприятию 3.2.

Funding information

The work was carried out within the framework of the federal project “Sanitary shield of the country – safety for health (prevention, detection, response)” for the event 3.2.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

Информация об исследованиях, где в качестве объектов выступали люди

В соответствии с требованиями Биоэтического комитета Российской Федерации в работе использованы образцы клинического материала без указания персональных данных пациентов, таких как имя, дата рождения, адрес, история болезни и др.

Information on studies involving human subjects

In accordance with the requirements of the Bioethics Committee of the Russian Federation, clinical samples were used in this study without providing personal patient information, such as name, date of birth, address, medical history, etc.

Литература

- WHO Global Cholera and AWD dashboard public [Electronic resource]. Available at: <https://who-global-cholera-and-awd-dashboard-1-who.hub.arcgis.com/> (accessed 10.08.2025).
- Кругликов ВД, Гаевская НЕ, Монахова ЕВ, Москвитина ЭА, Агафонова ВВ, Савина ИВ, и др. Анализ особенностей эпидемиологической ситуации по холере в 2024 г. в мире, в Российской Федерации и прогноз ее развития на 2025 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2025;1:35-47. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-1-35-47
- Ramamurthy T, Das B, Chakraborty S, Mukhopadhyay AK, Sack DA. Diagnostic techniques for rapid detection of *Vibrio cholerae* O1/O139. Vaccine. 2020 Feb 29;38 Suppl 1:A73-A82. DOI: 10.1016/j.vaccine.2019.07.099
- Kanungo S, Azman AS, Ramamurthy T, Deen J, Dutta S. Cholera. Lancet. 2022 Apr 9;399(10333):1429-1440. DOI: 10.1016/S0140-6736(22)00330-0
- Kalluri P, Naheed A, Rahman S, Ansaruzzaman M, Faruque AS, Bird M, et al. Evaluation of three rapid diagnostic tests for cholera: does the skill level of the technician matter? Trop Med Int Health. 2006 Jan;11(1):49-55. DOI: 10.1111/j.1365-3156.2005.01539.x
- Nato F, Boutonnier A, Rajerison M, Grosjean P, Darteville S, Guénolé A, et al. One-step immunochromatographic dipstick tests for rapid detection of *Vibrio cholerae* O1 and O139 in stool samples. Clin Diagn Lab Immunol. 2003 May;10(3):476-8. DOI: 10.1128/cdl.10.3.476-478.2003
- Wang XY, Ansaruzzaman M, Vaz R, Mondlane C, Lucas ME, von Seidlein L, et al. Field evaluation of a rapid immunochromatographic dipstick test for the diagnosis of cholera in a high-risk population. BMC Infect Dis. 2006 Feb 1;6:17. DOI: 10.1186/1471-2334-6-17
- Sayed MA, Islam K, Hossain M, Akter NJ, Alam MN, Sultana N, et al. Development of a new dipstick (Cholkit) for rapid detection of *Vibrio cholerae* O1 in acute watery diarrheal stools. PLoS Negl Trop Dis. 2018 Mar 14;12(3):e0006286. DOI: 10.1371/journal.pntd.0006286
- Muzembo BA, Kitahara K, Ohno A, Debnath A, Okamoto K, Miyoshi SI. Cholera Rapid Diagnostic Tests for the Detection of *Vibrio cholerae* O1: An Updated Meta-Analysis. Diagnostics (Basel). 2021 Nov 13;11(11):2095. DOI: 10.3390/diagnostics1112095

Информация о соавторах:

Баранова Евгения Владимировна, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-6455-5756

Королёва-Ушакова Анжела Григорьевна, младший научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Шевяков Антон Георгиевич, научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-0504-7073

Яковлева Вера Александровна, младший сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Фёдоров Тарас Владимирович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Соловьёв Павел Владимирович, кандидат биологических наук, заместитель директора по научной работе ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Бикетов Сергей Фёдорович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0003-1179-6895

Information about co-authors:

Evgenia V. Baranova, MD, PhD, Senior Researcher, Department of Immunobiochemistry of Pathogenic Microorganisms of State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0002-6455-5756

Angela G. Koroleva-Ushakova, Junior Researcher, Department of Immunobiochemistry of Pathogenic Microorganisms of State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Anton G. Sheviakov, Researcher, Department of Immunobiochemistry of Pathogenic Microorganisms, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0002-0504-7073

Vera A. Yakovleva, Junior Researcher, Department of Immunobiochemistry of Pathogenic Microorganisms of State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Taras V. Fedorov, PhD in Biological Sciences, Senior Researcher, Department of Immunobiochemistry of Pathogenic Microorganisms of State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Pavel V. Solovyov, PhD in Biological Sciences, Deputy Director for Research, of State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Sergey F. Biketov, PhD in Biological Sciences, leading researcher Department of Immunobiochemistry of Pathogenic Microorganisms of State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0003-1179-6895

References

- WHO Global Cholera and AWD dashboard public [Electronic resource]. Available at: <https://who-global-cholera-and-awd-dashboard-1-who.hub.arcgis.com/> (accessed 10.08.2025).
- Kruglikov VD, Gaevskaya NE, Monakhova EV, Moskvitina EA, Agafonova VV, Savina IV, et al. Analysis of Peculiarities of Epidemiological Situation on Cholera in the World and in the Russian Federation in 2024 and Forecast of its Development in 2025. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2025;1:35-47. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-1-35-47 (In Russian).
- Ramamurthy T, Das B, Chakraborty S, Mukhopadhyay AK, Sack DA. Diagnostic techniques for rapid detection of *Vibrio cholerae* O1/O139. Vaccine. 2020 Feb 29;38 Suppl 1:A73-A82. DOI: 10.1016/j.vaccine.2019.07.099
- Kanungo S, Azman AS, Ramamurthy T, Deen J, Dutta S. Cholera. Lancet. 2022 Apr 9;399(10333):1429-1440. DOI: 10.1016/S0140-6736(22)00330-0
- Kalluri P, Naheed A, Rahman S, Ansaruzzaman M, Faruque AS, Bird M, et al. Evaluation of three rapid diagnostic tests for cholera: does the skill level of the technician matter? Trop Med Int Health. 2006 Jan;11(1):49-55. DOI: 10.1111/j.1365-3156.2005.01539.x