

Иммунохроматография: экспресс-диагностика

в саквояже семейного доктора

Резникова О.И., Вельков В.В

ЗАО «ДИАКОН»

142290, г. Пущино, Московская область, пр. Науки 5

www.diakon-diagnostics.ru

Иммунохроматографическая экспресс-диагностика (ИХЭД) – новый высокотехнологичный метод, позволяющий вне лабораторных условий и в течение 5-20 минут не только точно диагностировать большой спектр самых серьезных патологий (инфаркт миокарда, опасные инфекции, воспалительные процессы, онкозаболевания, гормональные нарушения и др.), но и оценивать степень их тяжести. Широкое применение ИХЭД позволяет обнаруживать заболевания на ранней стадии и предотвращать их развитие, особенно это касается опухолей простаты и осложнений сахарного диабета. Некоторые из этих тестов настолько просты, что могут проводиться в домашних условиях.

Где проводится ИХЭД. Там, где находится больной. У него дома. В карете скорой помощи. В кабинете врача при первичном амбулаторном приеме, чтобы не посылать пациента на ненужные, сложные и дорогие лабораторные анализы. В общем, вне лаборатории, хотя, разумеется, можно и в ней. Недаром эти тесты по-английски называются «РОСТ – Point of Care Testing», что можно перевести, как «проведение теста на месте оказания помощи». В отечественной литературе иногда употребляется термин «прикроватная диагностика», который, строго говоря, сужает потенциал иммунохроматографической экспресс-диагностики.

Кто проводит ИХЭД. Практически кто угодно. Эти тесты настолько просты в исполнении (в отличие от лабораторных), что их может выполнять любой мало-мальски подготовленный человек. Взять пробу крови или мочи, нанести на хроматографическую пластинку и через 5-10 мин получить однозначный ответ: «ДА» или «НЕТ». Из-за того, что ответ однозначный и контроль всегда присутствует рядом на той же пластинке – никаких проблем с интерпретацией результатов нет.

Когда. Во-первых, когда «промедление смерти подобно». В экстренных случаях. Например, когда есть подозрения на инфаркт и необходимо быстро, надежно, однозначно и независимо от субъективных ощущений пациента подтвердить или исключить развитие острого инфаркта миокарда (ОИМ), чтобы избежать его тяжелых осложнений из-за несвоевременно начатого или неправильного лечения. Ведь ни один из распространенных методов не гарантирует абсолютно надежной диагностики ОИМ. До 25% всех ОИМ не вызывают никаких изменений на ЭКГ, а от 20% до 30% всех случаев ОИМ вообще протекают без болевого приступа, особенно у пожилых, а также у больных диабетом и гипертонической болезнью. А с помощью ИХЭД инфаркт миокарда можно диагностировать прямо на месте за 5 – 20 минут. Это можно сделать с помощью тестов, со 100-процентной специфичностью указывающих на наличие в крови (в цельной, или в сыворотке или плазме) таких кардиальных белков, как миоглобин (самый ранний маркер ОИМ), МВ-изофермент креатинкиназы (СК МВ), тропонин I. Важно также то, что в качестве образца для тестирования можно использовать капиллярную кровь, что облегчает забор пробы, или сыворотку, которую, в отличие от гепаринизированной плазмы, можно использовать и для проведения других

биохимических исследований. Минимальный определяемый уровень (cut off), специфичность и время определения для маркеров ОИМ составляет:
тропонин I – 1 нг/мл, 100%, 15-20 мин,
миоглобин – 100 нг/мл, 100%, 10 мин,
СК МВ – 7 нг/мл, 100%, 15-20 мин.

Во-вторых, когда есть хотя бы малейшие подозрения на серьезную инфекцию, развитие которой может быть опасным не только для пациента, но и для окружающих. Тесты однозначно и быстро обнаруживают антиген возбудителя или антитела, выработанные в ответ на него. Нет нужды говорить, насколько важно быстро определить наличие: антигенов вируса гепатита В, антител к вирусам гепатитов В и С, ВИЧ 1 и ВИЧ 2, вирусу Эпштейна-Барра (инфекционный мононуклеоз) и к другим, пусть менее опасным, но весьма распространенным вирусам.

Чувствительность теста на антиген вируса гепатита В – до 0,5 нг/мл, время определения – 20 мин. Чувствительность теста на антитела к вирусу гепатита В – 30МЕ/мл, время определения – 10-15 мин, возможно тестирование капиллярной крови. Тест полезен для определения статуса пациента перед прививкой от гепатита В. Тесты на антитела к вирусу гепатита С и ВИЧ 1,2 имеют 100% корреляцию по чувствительности и специфичности с другими международно признанными тестами, время определения – 10-15 мин. Возможно использование капиллярной крови.

Некоторые тесты, такие как тесты на ротавирус, аденовирус или респираторный синцитиальный вирус (РСВ), позволяют своевременно выявить заболевание в детских коллективах, в родильных домах или стационарах и принять немедленные противоэпидемические меры.

Чувствительность и специфичность теста на антиген аденовируса в фекалиях на 100% совпадает с результатами иммуноферментного анализа, время определения – 15 мин. Чувствительность и специфичность теста на антиген ротавируса в фекалиях – 100% относительно FUMOUZE латекс-теста, время определения – 15 мин. Чувствительность теста на РСВ в назофарингиальных мазках относительно иммунофлюоресцентного теста составляет 85,7%, специфичность – 91,6%, время определения – 15 мин.

Трудно переоценить значение тестов на наличие антител и/или антигенов, свидетельствующих о сифилисе, туберкулезе, хламидиозе, стрептококках А и В, о поражении желудочно-кишечного тракта клостридийным токсином или бактерией *Helicobacter pylori*. Кроме того, все эти тесты можно использовать в качестве дополнительных методологически независимых подтверждающих тестов.

Чувствительность теста на IgG, gA и IgM к туберкулезной бацилле (350 МЕ/мл) подобрана таким образом, чтобы кровь здоровых вакцинированных людей не давала ложноположительных результатов теста. Тест может быть весьма полезен для диагностики нелегочных форм туберкулеза, таких как костный туберкулез, туберкулез внутренних органов и туберкулез гениталий. Специфичность – 92,8%, время определения – 10-15 мин. Возможно тестирование капиллярной крови.

Чувствительность и специфичность теста на IgG, gA и IgM антитела к *T.pallidum* в сыворотке – 100% относительно традиционных тестов, время определения – 10-15 мин.

Тест на хламидийный антиген в мазках из цервикального канала или уретры имеет 93% чувствительность и 99,7% специфичность по сравнению с ПЦР-диагностикой, время

определения – 20 мин. Возможно применение этого теста не только для выявления *Chlamydia trachomatis*, но и для обнаружения *Chlamydia pneumoniae* в мокроте.

Тест на стрептококк А в мазке из зева имеет 91,8% чувствительность и 97,7% специфичность от культурального метода. Время определения – 5-10 мин. Тест может использоваться и в домашних условиях.

Тест на стрептококк в вагинальных мазках имеет 88,4%, чувствительность и 97,9% специфичность от культурального метода. Время определения – 5-10 мин. Тест полезен для выявления инфицированных рожениц.

Тест на IgG к *Helicobacter pylori* имеет чувствительность 10-15 Ед/мл и специфичность 100%. Время определения – 10-15 мин. Возможно использование капиллярной крови..

Тест на клостридийный токсин А в фекалиях весьма полезен для выявления антибиотикосвязанной диарреи. Выявление токсина имеет явное преимущество перед выделением возбудителя, так как не все штаммы клостридии патогенны. Чувствительность – 86,7%, специфичность – 91,7%, время определения – 15 мин.

При ведении больных с сахарным диабетом одна из главных проблем – вовремя распознать возникновение и развитие диабетической нефропатии, последствия которой могут быть самыми тяжелыми. Ее индикатор – альбумин в моче в диапазоне 20-200 мг/мл (микроальбуминурия). Однако микроальбуминурия характерна и для пациентов со стойкой гипертензией, она также предсказывает тяжелые осложнения беременности (эклампсию и преэклампсию) и является важнейшим показателем при посттрансплантационном наблюдении пациентов с пересаженной почкой. Высокочувствительные тесты на микроальбумин (качественный и полуколичественный) могут применяться даже самим пациентом в домашних условиях.

Полуколичественный скрининговый экспресс-тест на альбумин в моче имеет 3 варианта результатов: до 10 мг/л, от 10 до 20 мг/л и свыше 20 мг/л. Тест активен в широком диапазоне рН (2.5-9.5). Отсутствуют перекрестные реакции с билирубином, гемоглобином, иммуноглобулинами. Время определения – 5-10 мин. Эффекта прозоны нет. (Прозона – ситуация, в которой из-за избытка антигена или недостатка антител количество образовавшихся комплексов антиген-антитело не соответствует истинной концентрации антигенов.)

ИХЭД позволяет выявить иммунный статус пациента прямо на приеме у врача с помощью тестов на иммуноглобулин Е.

Тест на сывороточный иммуноглобулин Е имеет чувствительность 150 МЕ/мл и специфичность 90,9%. Эффекта прозоны нет до 32000 МЕ/мл. Время определения – 5-10 мин.

Для эндокринологов весьма важны экспресс-тесты на тиреотропный гормон (в цельной и капиллярной крови, в сыворотке или в плазме). У этого ИХЭД-теста есть детская и взрослая версии (с разными пороговыми уровнями), он позволяет провести скрининг функции щитовидной железы прямо на приеме у врача.

Взрослая версия теста имеет пороговую чувствительность 5 мкМЕ/мл, детская – 10мкМЕ/мл. Специфичность 97,3%, перекрестных реакций с гормонами роста,

плацентарным лактогеном и хориогонадотропным гормоном нет. Время определения – 10 мин.

Весьма важны и актуальны тесты на гормоны для акушерства и гинекологии. Это тесты на хорионгонадотропин (в моче или сыворотке крови), позволяющие выявить беременность уже в первый день задержки цикла, на лютеинизирующий гормон (в моче) для определения точного времени овуляции, на фолликулостимулирующий гормон (в моче) и пролактин (в сыворотке крови). Существенно, что эти тесты можно проводить самостоятельно в домашних условиях.

Чувствительность теста на ХГЧ – 5 мМЕ/мл в сыворотке, 10 мМЕ/мл в моче. Специфичность – 100%, перекрестных реакций не наблюдается. Время определения – 5 мин. Эффекта прозоны нет до 1 млн мМЕ/мл.

Чувствительность теста на лютеинизирующий гормон – 30 мМЕ/мл, при более низких концентрациях ЛГ также возможно его обнаружение. Специфичность – 100%, нет перекрестных реакций с другими гормонами и продуктами их метаболизма. Эффекта прозоны нет. Время определения – 5 мин.

Чувствительность теста на ФСГ – 25 мМЕ/мл, специфичность – 100%, перекрестных реакций с другими гормонами и продуктами их метаболизма нет. Эффекта прозоны нет. Время определения – 10 мин.

Чувствительность теста на пролактин – 37 нг/мл (800 мМЕ/л). Специфичность – 100%, перекрестных реакций с гормонами роста и плацентарным лактогеном нет. Эффекта прозоны нет. Время определения – 5-10 мин.

Весьма важны тесты на онкомаркеры. Это тесты на альфа-фетопротеин, на ферритин, позволяющий выявить наличие анемии при скрытых кровотечениях, на скрытую кровь в фекалиях.

И, пожалуй, один самых важных тестов – на простатоспецифический антиген (ПСА) (в сыворотке, плазме и цельной крови), который можно проводить и в домашних условиях. Своевременное и регулярное применение этого теста позволяет практически на 100% избежать негативных последствий весьма распространенных опухолей простаты, рост заболеваемости которыми наблюдается во всем мире. Этот тест должен регулярно проходить каждый мужчина старше 50 лет. В странах ЕС он проводится в каждой аптеке, и это помогает выявлять патологии предстательной железы на ранней стадии. К несчастью, в России диагноз рак простаты в большинстве случаев ставится на последней, IV стадии заболевания.

Тест на альфафетопротеин имеет пороговую чувствительность 10 нг/мл. Время определения – 10 мин.

Ферритин можно определять по капиллярной крови Чувствительность теста 20 нг/мл. Время определения – 10 мин.

Тест для определения наличия скрытой крови в фекалиях имеет широкий диапазон чувствительности – от 40 мкг до 120 мг гемоглобина на грамм фекалий. Время анализа 10 мин.

Тест на ПСА имеет пороговый уровень определения 4 нг/мл и время определения – 10 мин.



Рис. 1. Тест-кассета на ПСА, общий вид. Размеры 65×27×5 мм.

Насколько точно работает ИХЭД. Чтобы ответ был очевиден – несколько слов, как работают иммунохроматографические тесты. Хотя внешне пластинки выглядят весьма просто, это – результат самых современных технологий получения моноклональных и поликлональных антител к специфическим иммуноглобулинам человека, к рекомбинантным антигенам возбудителей заболеваний и применения сорбентов с улучшенными свойствами.

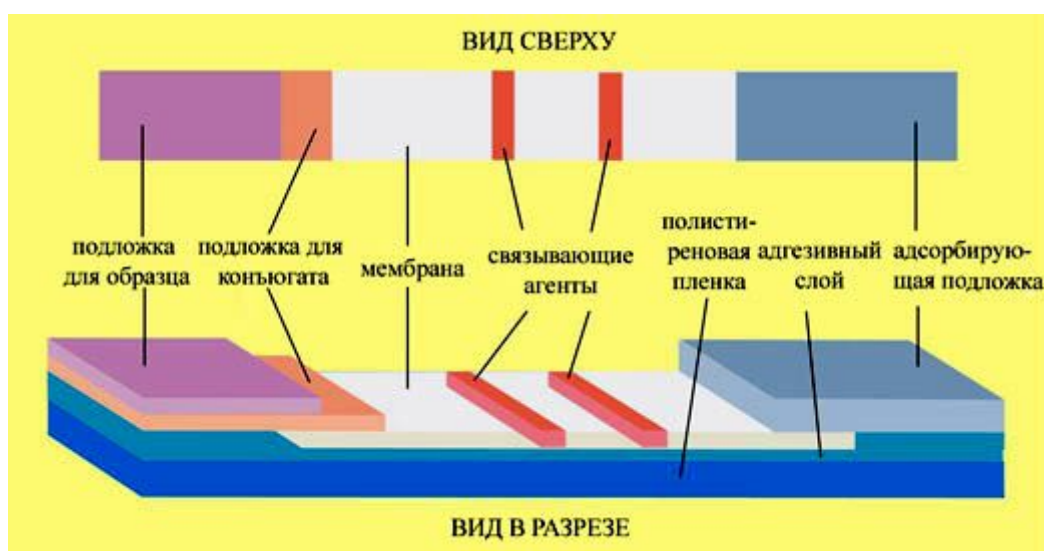


Рис. 2. Устройство тест-кассеты.

Образец (цельная кровь, сыворотка, плазма, моча, экстракт мазков или фекалий), нанесенный на подложку, движется по мембране и доходит до зон, где находятся специфически связывающиеся агенты (антитела или антигены). В этих зонах происходит специфическое связывание тестируемого белка (антигена), находящегося в образце со специфическими антителами к нему (конкретная информация – в инструкциях к каждому тесту).

В присутствие тестируемого вещества в пробе на мембране появляются одна или две четко окрашенные полосы, свидетельствующие о негативном или позитивном результате теста. Для визуализации комплексов «антиген-антитело» используются конъюгированные красители на основе коллоидного золота.

Тесты имеют высокую специфичность, вероятность ложноположительного ответа практически нулевая. Чувствительность, т.е. минимальная определяемая концентрация

антигена, соответствуют международным значениям, характеризующим патологический показатель. Но может ли ИХЭД быть количественной? Да, может. Но в этом случае регистрация результата методом «прищуренного глаза» уже неприемлема.

Количественная ИХЭД. Чтобы оценить тяжесть патологии, важен количественный результат – концентрация тестируемого вещества. Именно для этого и разработаны специальные «количественные» тестовые кассеты и ридеры для них. Эти компактные, но точные приборы действительно можно положить в саквояж и разместить везде, где есть электричество, в медицинском кабинете любого учреждения, особенно детского, школьного или университетского.

Недаром ридер, изображенный на рис. 3, называется «Easy». Он легкий не только по весу, но и в обращении.



Рис. 3. Ридер для количественных экспресс-тестов. Размеры 20×20×7 см.

Один из мировых лидеров в разработке ИХЭД – французская компания VEDALAB. Разработанные этой фирмой количественные тестовые кассеты и ридеры определяют постепенное увеличение интенсивности окраски в диапазоне от нулевой до максимальной, пропорционально концентрации антигена.

И «прищуривать глаз» на эти кассеты не следует – у них нет фиксированного пограничного (cut off) уровня, характеризующего концентрацию, выше которой начинается патология. Но ридер просканирует эти кассеты, запомнит показания и введенную информацию и на каждую пробу выдаст чек, который можно пришить к делу.

Использование таких количественных кассет и ридеров позволяет за 15-20 минут получить количественную характеристику степени тяжести ОИМ. Навряд ли можно переоценить значение количественной экспресс-диагностики кардиомаркеров: миоглобина, МВ-изофермента креатинкиназы, тропонина I, проводимое прямо на месте острого коронарного события. Имея количественный результат, врач может сразу и самостоятельно оценить и риск, и степень поражения сердечной мышцы и определить время, прошедшее после ОИМ, если он действительно был.

Количественный экспресс-тест на так называемый D-Димер, оценивающий работу системы гемостаза, может применяться прямо в операционной, а регулярная количественная экспресс-диагностика СРБ позволит следить за динамикой воспалительного процесса и оценивать эффективность его терапии.

Для адекватной оценки степени тяжести сахарного диабета неоценима количественная экспресс-диагностика уровней гликозилированного гемоглобина (свидетельствует об истинной концентрации глюкозы в крови), а регулярное количественное тестирование микроальбумина позволит вовремя увидеть начало диабетической нефропатии и оценить ее динамику. Весьма эффективны количественные тесты на ТТГ и пролактин. Аномально высокие уровни пролактина могут быть связаны как с первичным гипотиреозом, так и с мужским и женским бесплодием и мужской импотенцией, что важно знать специалистам по репродуктивному здоровью.

Как говорилось, качественная экспресс-диагностика на ПСА проводится в аптеках большинства европейских стран. А вот во Франции практически все аптеки оснащены ридерами для количественной оценки уровня ПСА. Не напрасная ли это трата денег? Широкомасштабные исследования, проведенные в Швеции (Malmo Preventive Project, 1974-1986 гг.) показали: в возрасте 44-50 лет даже небольшое повышение ПСА, до 1,01-2,0 нг/мл, увеличивает риск рака простаты в 7 раз (в контрольной группе ПСА – ниже 0,5 нг/мл). В целом, регулярное (1 раз в год) количественное определение ПСА позволяет своевременно определить начало заболевания и практически на 100% гарантировать успех лечения.

Можно так же можно количественно определять и такие онкомаркеры, как раковый эмбриональный антиген и альфа-фетопротеин. Информация об уровне ХГЧ может быть полезна не только для диагностики беременности, но и для выявления некоторых онкологических заболеваний. Количественное определение иммуноглобулина Е позволяет оценить тяжесть состояния больных с аллергией.

В целом, иммунохроматографическая экспресс-диагностика, особенно количественная, позволяет проводить вне лаборатории анализы практически лабораторного качества. И более того, она удобно умещается в саквояже семейного доктора. И работает быстро и точно.

ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ ТЕСТЫ ДЛЯ ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКИ

VEDA.LAB, Франция



Быстро. За 10–20 минут.

Надежно. Практически 100% чувствительности и специфичности, однозначный ответ. Самые высокие международные сертификаты стандартов и качества.

Просто. Образец – цельная кровь, сыворотка, плазма, моча, экстракты мазков, экстракты фекалий.

Везде. У постели больного (дома или в больнице), на амбулаторном приеме, в карете скорой помощи, на работе у пациента, в общем – вне лаборатории. Некоторые тесты – в домашних условиях.

Что:

- **Неотложная диагностика инфаркта миокарда:**
 - тропонин I • миоглобин • креатинкиназа МВ (гепаринизация образцов не нужна) •
- **Диагностика инфекций:**
 - гепатит В • гепатит С • ВИЧ-1 • ВИЧ-2 • Хеликобактер • туберкулез • сифилис • клостридийный токсин • стрептококк • инфекционный мононуклеоз • хламидиоз • аденовирус • ротавирус •
- **Определение гормонального статуса:**
 - ХГЧ в моче и сыворотке (беременность) • ФСГ • лютеинизирующий гормон в моче и сыворотке (точное время овуляции) • пролактин • ТТГ (оценка функции щитовидной железы) •
- **Скрининг онкозаболеваний:**
 - ПСА • АФП • ферритин (анемия) • кровь в фекалиях • возможно домашнее применение •
- **Контроль почечной патологии:**
 - микроальбумин • возможность домашнего применения •
- **Контроль аллергии:**
 - иммуноглобулин Е – быстрая оценка иммунного статуса пациента • особенно важная в срочных случаях при сильной аллергической реакции •

142290, г. Пущино Московской обл., пр. Науки, 5

Тел.: (495) 980-63-39, 980-69-19

Факс: (495) 980-66-79

E-mail: sale@diakon-diagnostics.ru

http://www.diakon-diagnostics.ru



117452, Москва, Внутренний проезд, д. 8, стр. 9

Тел.: (495) 975-78-10, 975-78-11

Тел./факс: (495) 975-78-12

E-mail: market@diakon-diagnostics.ru

http://www.diakon-diagnostics.ru



Таблица 1. Рабочие характеристики экспресс-тестов VEDALAB

Заболевание	Определяемый показатель	Образец для тестирования	Чувствительность	Специфичность	Время определения (мин)
Острый инфаркт миокарда	Тропонин I	Цельная кровь, сыворотка, плазма	1 нг/мл	100%	15–20
	Миоглобин	Цельная кровь, сыворотка, плазма	100 нг/мл	100%	5–10
	СК МВ	Сыворотка, плазма	7 нг/м	100%	15–20
Диабетическая нефропатия	Альбумин	Моча	20–200 мг/л	100%	5–10
Гепатит	Антиген вируса гепатита В	Сыворотка, плазма	до 0,5 нг/мл	100%	20
	Антитела к вирусу гепатита В	Цельная кровь, сыворотка, плазма	30 мМЕ/мл	100% совпадение с результатами АBBOTT	10–15
	Антитела к вирусу гепатита С	Цельная кровь, сыворотка, плазма	100% совпадение с результатами АBBOTT-АХSYM	100% совпадение с результатами АBBOTT-АХSYM	10–15
ВИЧ	Антитела к ВИЧ 1,2	Цельная кровь, сыворотка, плазма	100% совпадение с результатами ИФА (Genscreen от Genprobe, Murex recomb. от Murex)	100% совпадение с результатами ИФА (Genscreen от Genprobe, Murex recomb. от Murex)	10–15
ОРВИ	Антиген аденовируса	Экстракт фекалий	100% совпадает с результатами ИФА	100%	15
	Антиген ротавируса	Экстракт фекалий	100% относительно FUMOUIZE латекс-теста	100%	10
	Антиген респираторного синцитиального вируса	Назофарингиальный мазок	85,7% от метода флуоресценции	91,6% от метода флуоресценции	10
Инфекционный мононуклеоз	Гетерофильные антитела класса IgM	Цельная кровь, сыворотка, плазма	88,2% от ИФА-теста Enzygnost EBV-IgM	75,7% от ИФА-теста Enzygnost EBV-IgM	5–10
ИППП	Антитела к трепонеме класса IgG, IgA, IgM	Цельная кровь, сыворотка, плазма	100% относительно традиционных тестов (VDRL, RPR, TPI и FTA-ABS)	100%	10–15
	Хламидийный антиген	Мазки из цервикального канала или уретры	от 57 до 570 элементарных телец <i>C. trachomatis</i> на тест	99,7% по сравнению с культуральным методом	20
Туберкулез	антитела к микобактерии туберкулеза класса IgG, IgA, IgM	Цельная кровь, сыворотка, плазма	350 МЕ/мл	92,8%	10–15
Язва желудка, гастриты	антитела к Хеликобактер класса IgG	Цельная кровь, сыворотка, плазма	15 Е/мл	100%	10–15
Диарея, вызванная приемом антибиотиков	Клостридийный токсин А	Экстракт фекалий	86,7 % от цитотоксического метода	91,7 % от цитотоксического метода	15
Ангина	Антиген стрептококка А	Назофарингиальный мазок	91,8% от культурального метода	97,7% от культурального метода	5–10
Нарушения иммунного статуса	Иммуноглобулин Е	Сыворотка	150 МЕ/мл	90,9%	5–10
Эндокринологические заболевания	ТТГ	Цельная кровь, сыворотка, плазма	5–10 мМЕ/мл	97,3%	10
Патология акушерстве и гинекологии	Хорионгонадотропин	Сыворотка, моча	5 мМЕ/мл в сыворотке, 10 мМЕ/мл в моче	100%	5
	Лютеинизирующий гормон	Моча	30 мМЕ/мл	100%	5
	Фолликулостимулирующий	Моча	25 мМЕ/мл	100%	10

	гормон				
	Пролактин	Сыворотка	37 нг/мл (800 мМЕ/л)	100%	5–10
	Антиген стрептококка В	Вагинальный мазок	1000–10000 бактерий на 0,1 мл образца	100%	5–10
Онкологические заболевания	Альфа-фетопротеин	Цельная кровь, сыворотка, плазма	10 нг/мл	96,7%,	10–15
	Ферритин	Цельная кровь, сыворотка, плазма	20 нг/мл	100%	10–15
	Простатоспецифический антиген	Цельная кровь, сыворотка, плазма	4 нг/мл	100%	10
	Скрытая кровь	Экстракт фекалий	0,04 – 120 мг гемоглобина на 1 г фекалий	94%	10