

Иммунохроматографическая экспресс диагностика: где, кто, когда, как и насколько точно?

Резникова О.И.

**ЗАО «ДИАКОН»,
142290, г. Пущино, Московская область, пр. Науки 5.**

www.diakon-diagnostics.ru

Где. Там, где находится больной: дома, на работе, в карете скорой помощи, в кабинете врача при первичном амбулаторном приеме. По-английски эти тесты 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 сужает потенциал применения иммунохроматографической экспресс диагностики (ИХЭД).

Кто. ИХЭД настолько проста в исполнении, что не требует особой профессиональной подготовки. Пробу крови или мочи надо нанести на хроматографическую пластинку и через 5 - 10 мин «прочитать» ответ. Ответ всегда однозначный и контроль всегда присутствует рядом на той же пластинке – проблем с интерпретацией нет.

Когда. Во-первых, в неотложных случаях. Например, при подозрениях на инфаркт, когда необходимо быстро, однозначно *и независимо от субъективных ощущений пациента* подтвердить или исключить развитие ОИМ, чтобы избежать его тяжелых осложнений из-за несвоевременно начатого или неправильного лечения. 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. С помощью ИХЭД ИМ определяется прямо на месте острого коронарного события за 5 – 20 минут с помощью тестов, 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 для тестирования можно использовать капиллярную кровь, что облегчает пробоподготовку, или сыворотку, которую в отличие от гепаринизированной плазмы, можно использовать и для проведения других биохимических исследований.

Минимальный определяемый уровень (cut off) для тропонина I - 1 нг/мл, специфичность 100%, время определения 15-20 мин, для миоглобина – 100 нг/мл, специфичность 100%, время - 10 мин, для СК МВ – 7 нг/мл, специфичность - 100%, время - 15-20 мин.

Во-вторых, при малейших подозрениях на серьезную инфекцию, опасной как для пациента, так и для окружающих. За 5 – 10 мин тесты указывают или на антиген возбудителя или на антитела, выработанные в ответ на него. Наиболее актуальны тесты на антигены вируса гепатита В, антитела к вирусу гепатита В, антитела к вирусу гепатита С, антитела к ВИЧ 1 и ВИЧ 2, антитела к вирусу Эпштейна-Барра (инфекционный мононуклеоз) и антитела к другим, пусть менее опасным, но весьма распространенным вирусам.

Чувствительность теста на антиген вируса гепатита В – до 0,5 нг/мл, время - 20 мин.

Чувствительность теста на антитела к вирусу гепатита В – 30МЕ/мл, время – 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 – 10-15 мин. Возможно использование капиллярной крови.

Тесты на ротавирус, аденовирус или респираторный синцитиальный вирус своевременно выявляют соответствующие заболевания в детских коллективах, в родильных домах или в стационарах и позволяют немедленно принять противозидемические меры.

Чувствительность и специфичность теста на:

- антиген аденовируса в фекалиях на 100% совпадает с результатами ИФА, время - 15 мин.

- антиген ротавируса в фекалиях – 100% относительно FUMOUZE латекс-теста, время – 15 мин.

- на РСВ в назофарингеальных мазках - 85,7%, специфичность – 91,6% относительно иммунофлюоресцентного теста, время – 15 мин.

К сожалению, актуальность диагностики заболеваний, передающихся половым путем, возрастает, что повышает значение экспресс - тестов на антитела и / или антигены, свидетельствующие о сифилисе и хламидиозе.

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

Тест на хламидийный антиген в мазках из цервикального канала или уретры, чувствительность 93%, специфичность 99,7% по сравнению с ПЦР-диагностикой, время – 20 мин. Возможно применение не только для выявления Chlamydia trachomatis, но и для обнаружения Chlamydia pneumoniae в моче.

Весьма актуальна ИХЭД туберкулеза, о стрептококков А и В, поражений желудочно-кишечного тракта клостридийным токсином или бактерией Helicobacter pylori.

Чувствительность теста на IgG, gA и IgM антитела к туберкулезной бацилле (350 МЕ/мл) подобрана так, чтобы кровь здоровых вакцинированных людей не давала ложно положительных результатов. Тест весьма полезен для диагностики нелегочных

форм туберкулеза (костный туберкулез, туберкулез внутренних органов и туберкулез гениталий). Специфичность 92,8%. Время – 10-15 мин. Возможно тестирование капиллярной крови.

Тест на стрептококк в вагинальных мазках, чувствительность 88,4%, специфичность 97,9% от культурального метода. Время – 5-10 мин. Полезен для выявления инфицированных рожениц, так как смертность новорожденных от стрептококковой инфекции весьма велика.

Тест на стрептококк “А” в мазке из зева. Чувствительность 91,8%, специфичность 97,7% от культурального метода. Время – 5-10 мин. Может использоваться и в домашних условиях

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

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

Все эти тесты можно использовать в качестве дополнительных и методологически независимых подтверждающих тестов, например, при микробиологической диагностике.

Одна из главных проблем при сахарном диабете - вовремя распознать развитие диабетической нефропатии. Ее индикатор - альбумин в моче в диапазоне 20-200 мг/мл («микроальбуминурия»). Но микроальбуминурия характерна и для пациентов со стойкой гипертензией, она также предсказывает тяжелые осложнения беременности (эклампсию и преэклампсию), к тому же это важнейший показатель при посттрансплантационном наблюдении пациентов с пересаженной почкой. Тесты на микроальбумин (качественный и полуколичественный) могут применяться и в домашних условиях.

Тест на микроальбумин в моче - полуколичественный скрининговый. Имеет 3 варианта результатов: 1) до 10 мг/л, 2) от 10 до 20 мг/л и 3) свыше 20 мг/л. Работает в широком диапазоне рН (2.5 – 9.5). Нет перекрестных реакций с билирубином, гемоглобином, иммуноглобулинами, нет эффекта прозоны. Время 5-10 мин.

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

Тест на сывороточный иммуноглобулин Е, чувствительность: 150 МЕ/мл, специфичность: 90,9%. Эффекта прозоны нет до 32 000 МЕ/мл. Время – 5-10 мин.

Для эндокринологии весьма важен тест на тиреотропный гормон (в цельной и капиллярной крови, в сыворотке или в плазме), позволяющий проводить скрининг функции щитовидной железы на приеме у врача. У теста есть детская и взрослая версии.

Взрослая версия теста на ТТГ - пороговая чувствительность 5 мкМЕ/мл, детская – 10мкМЕ/мл. Специфичность 97,3%, перекрестных реакций с гормонами роста, плацентарным лактогеном и хориогонадотропным гормоном нет. Время – 10 мин.

Весьма актуальны тесты, применяемые в акушерстве и гинекологии. Это тесты на: хорионгонадотропин (в моче или сыворотке крови), который выявляет беременность в первый день задержки цикла; на лютеинизирующий гормон (в моче), определяет точное время овуляции, на фолликулостимулирующий гормон (в моче) и пролактин (в сыворотке крови). Эти тесты можно проводить в домашних условиях.

Чувствительность теста на ХГЧ в сыворотке 5 мМЕ/мл, в моче 10 мМЕ/мл; специфичность 100%, перекрестных реакций нет. Эффекта прозоны нет до 1 000 000 мМЕ/мл. Время - 5 мин.

Чувствительность теста на ЛГ - 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 – 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 – 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 – 5-10 мин.

Весьма важны тесты на онкомаркеры. Это тесты на альфа-фетопротеин; на ферритин, который выявляет анемию при скрытых кровотечениях; на скрытую кровь в фекалиях.

Тест на АФП, пороговая чувствительность 10 нг/мл. Время – 10 мин.

Тест на ферритин, чувствительность теста 20 нг/мл. Время – 10 мин. Возможно использование капиллярной крови.

Тест на скрытую кровь в фекалиях, широкий диапазон чувствительности от 40 мкг до 120 мг гемоглобина на грамм фекалий. Время - 10 мин.

Один самых важных тестов - на простатоспецифический антиген (ПСА) (в сыворотке, плазме и цельной крови), который можно проводить и в домашних условиях. Регулярное применение этого теста позволяет практически на 100% избежать последствий весьма распространенных опухолей простаты. ПСА тест должен регулярно проходить каждый мужчина старше 50 лет. В странах европейского союза он проводится в каждой аптеке, это выявляет патологии предстательной железы на ранних стадиях. В России диагноз рак простаты в большинстве случаев ставится на последней IV стадии заболевания.

Тест на ПСА, пороговый уровень - 4 нг/мл. Время – 10 мин.

Насколько точно. Чтобы ответ был очевиден - несколько слов о том, как работают тесты для ИХЭД. Хотя внешне пластинки выглядят 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.

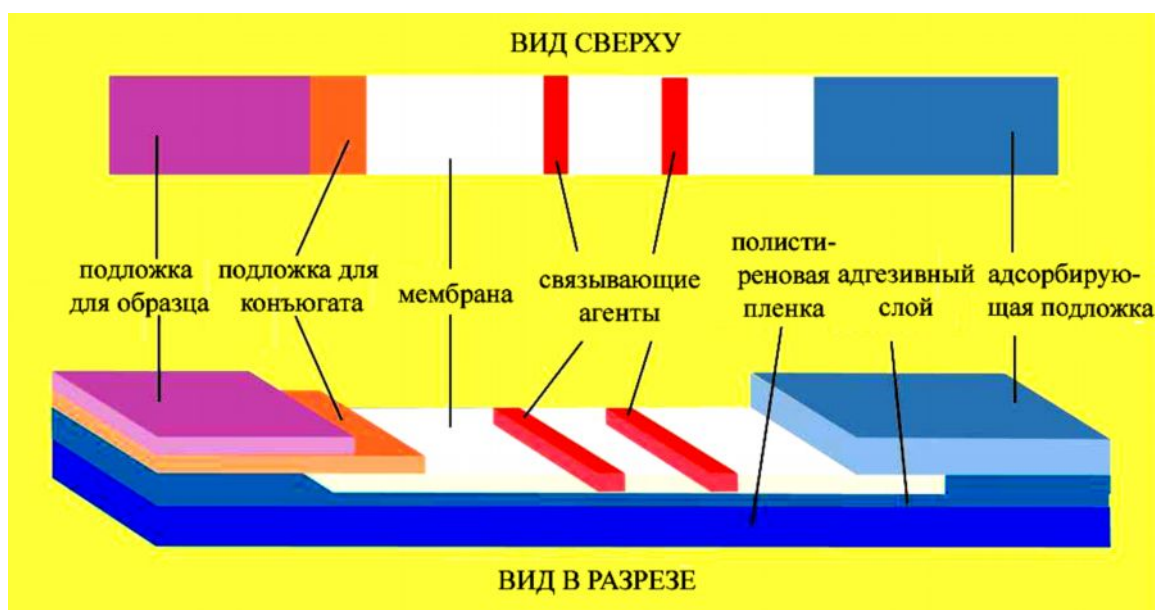


Рис. 1. Строение тестовой кассеты.

Образец (цельная кровь, сыворотка, плазма, моча, экстракт мазков или фекалий), нанесенный на подложку (Рис. 2), движется по мембране и доходит до зон, где находятся специфически связывающиеся агенты (антитела или антигены). Здесь происходит специфическое связывание тестируемого белка (антигена), находящегося в образце со специфическими антителами к нему. При наличии тестируемого белка в пробе на мембране появляются одна или две четко окрашенные полосы, свидетельствующие о негативном или позитивном результате теста (конкретная информация – в инструкциях к каждому тесту). Для визуализации комплексов «антиген-антитело» используются конъюгированные красители на основе коллоидного золота.

Специфичность практически 100%. Вероятность «ложно положительного» ответа практически нулевая. Чувствительность, т.е. минимальная определяемая концентрация антигена, соответствует международным значениям, характеризующим патологический показатель.

Но может ли ИХЭД быть полностью количественной? Да. Но в этом случае регистрация результата методом «прищуренного глаза» уже не приемлема.

Количественная ИХЭД. Чтобы оценить тяжесть патологии, важен количественный результат - концентрация тестируемого вещества. Для этого разработаны специальные тестовые кассеты и ридеры для них. Эти новые «количественные» кассеты дают постепенное увеличение интенсивности окраски в диапазоне от нормальной (или от нулевой) до максимальной концентрации антигена.



Рис. 2. Ридер для количественных экспресс-тестов. Размеры 20 см x 20 см x 7 см.

Для визуального тестирования такие кассеты не пригодны, у них нет фиксированного пограничного (cut off) уровня, характеризующего концентрации, выше которых начинается патология.

Использование 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 оценить и риск, и степень поражения сердечной мышцы и определить время, прошедшее после ОИМ, если он действительно был.

Количественный экспресс-тест на D-Димер, (оценивает систему гемостаза), может применяться прямо в операционной, а регулярная количественная экспресс-диагностика С-реактивного белка будет свидетельствовать о динамике воспалительного процесса и сигнализировать об эффективности проводимой терапии.

Неоценимой для адекватной оценки степени тяжести сахарного диабета будет количественная экспресс-диагностика уровней гликозилированного гемоглобина, а регулярное количественное тестирование на микроальбумин позволит вовремя зафиксировать начало диабетической нефропатии и оценить ее динамику.

Весьма эффективны количественные тесты на ТТГ и пролактин. Высокие уровни пролактина могут быть связаны не только с первичным гипотиреозом, но и с мужским и женским бесплодием и мужской импотенцией.

Как уже говорилось, качественная экспресс-диагностика на ПСА проводится в аптеках большинства европейских стран. А вот во Франции практически все аптеки уже оснащены ридерами для количественной оценки уровня ПСА. Широкомасштабные исследования, проведенные в Швеции (Malmö 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 этого заболевания и практически на 100% предотвратить его развитие.

Можно также количественно определять и такие онкомаркеры, как раковый эмбриональный антиген и АФП. 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 оперативно проводить вне лаборатории анализы практически лабораторного качества.

По всем вопросам, связанным с иммунохроматографическими экспресс-тестами,

можно обращаться к Резниковой Ольге Ивановне

по электронной почте sale@diakon-diagnostics.ru

по тел. (495) 980-6339

факсом (495) 980-6679

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 MB	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 ABBOTT	10–15
	Антитела к вирусу гепатита С	Цельная кровь, сыворотка, плазма	100% совпадение с результатами ABBOTT-AXSYM	100% совпадение с результатами ABBOTT-AXSYM	10–15
ВИЧ	Антитела к вирусу 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 FUMOUZE 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

Заболевание	Определяемый показатель	Образец для тестирования	Чувствительность	Специфичность	Время определения (мин)
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 мкМЕ/мл – 10 мкМЕ/мл	97,3%	10
Патология в 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 гормон	Моча	25 мМЕ/мл	100%	10
	Пролактин	Сыворотка	37 нг/мл (800 мМЕ/л)	100%	5–10
	Антиген стрептококка В	Вагинальный мазок	103–104 бактерии на 0,1 мл образца	100%	5–10

Заболевание	Определяемый показатель	Образец для тестирования	Чувствительность	Специфичность	Время определения (мин)
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
