

Судакова Анастасия Ивановна, студент 2 курса,
Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Российский биотехнологический университет
(РОСБИОТЕХ)»

ПРИМЕНЕНИЕ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ВИРУСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Аннотация. Работа посвящена применению иммунохроматографического анализа (ИХА) для экспресс-диагностики вирусных заболеваний. Рассмотрены строение тест-полоски, этапы её изготовления и основные форматы анализа – конкурентный и неконкурентный («сэндвич»). Описаны вирусы, выявляемые данным методом, и биологические жидкости, используемые для исследования. Метод отличается простотой, быстротой (результат за несколько минут) и доступностью, не требует специального оборудования. В заключении подчеркнута его роль в скрининговой диагностике, однако отмечена более высокая точность ПЦР-анализа при наличии времени и ресурсов.

Ключевые слова: Иммунохроматографический анализ, тест-полоски, вирусные заболевания, экспресс-диагностика, антигены, антитела.

Иммунохроматографический анализ (ИХА) – качественный экспресс-метод, позволяющий выявить наличие аналитов (вирусов, антител, гормонов и др.) в биологических жидкостях (кровь, слюна, моча, носовая слизь). Метод не требует специального оборудования, результат получается за несколько минут. ИХА сочетает принципы тонкослойной хроматографии и иммунохимических реакций (антиген-антитело). Широко применяется в медицине, ветеринарии, пищевом контроле, экологическом мониторинге. Наиболее распространённый формат – тест-полоски (стрип-тесты, экспресс-тесты).

2. Строение тест-полоски

Тест-полоска – многослойная структура на пластиковой подложке:

Пластиковая подложка – основа для всех компонентов.

Слой для внесения образца (из целлюлозы/стекловолокна) – принимает пробу, обеспечивает равномерное распределение и предварительную обработку.

Слой с конъюгатом – содержит меченые антитела или антигены (чаще с коллоидным золотом, флуоресцентными или латексными частицами). При контакте с жидкостью конъюгат высвобождается.

Хроматографическая мембрана из нитроцеллюлозы – содержит тестовую и контрольную линии с иммобилизованными реагентами. Обеспечивает специфическое связывание иммунных комплексов.

Адсорбирующая прокладка – впитывает избыток жидкости, поддерживая поток и предотвращая обратный ток.

3. Методика создания тест-полосок

Процесс производства включает несколько ключевых этапов:

Подбор материалов и специфических антител/антигенов к целевому аналиту.

Изготовление нитроцеллюлозной мембраны: нанесение белковых реагентов с помощью диспенсеров, блокировка свободных участков для снижения неспецифической адсорбции. Мембрана должна быть гидрофильной, пористой и стабильно связывать белки.

Подготовка конъюгата: оптимизация концентрации, нанесение на слой конъюгата (пропиткой или диспенсером).



Добавление дополнительных реагентов для улучшения текучести и чувствительности.
Сборка всех слоёв на подложке.

Оптимизация условий анализа реальных образцов.

Тестирование стабильности и выбор условий хранения/упаковки.

Нарезка на индивидуальные полоски, помещение в кассеты.

Герметичная индивидуальная упаковка для продления срока годности.

4. Методы иммунохроматографического анализа

4.1. Конкурентный анализ

Применяется для низкомолекулярных соединений (наркотики, метаболиты). Аналит в образце конкурирует с меченым антигеном за связывание с антителами на конъюгате. Если концентрация аналита превышает порог, меченые антитела связываются с аналитом и не задерживаются на тестовой линии – тестовая линия не окрашивается, контрольная линия окрашивается (положительный результат). При отрицательном результате (отсутствии аналита) меченые антитела связываются с иммобилизованным антигеном на тестовой линии, образуя две линии. Отсутствие контрольной линии указывает на невалидность теста.

4.2. Неконкурентный («сэндвич») анализ

Используется для высокомолекулярных соединений (вирусы, гормоны, белки). В образце присутствует аналит (например, вирус). Он связывается с мечеными антителами на конъюгате, комплекс мигрирует к тестовой линии, где иммобилизованы специфические антитела, образуя «сэндвич» (антитело-аналит-меченое антитело) – тестовая линия окрашивается. Избыток конъюгата связывается на контрольной линии. Наличие двух линий – положительный результат, одной контрольной – отрицательный. Существует модификация для выявления антител (двойной антиген).

4.3. Мультикомплексный формат

Позволяет одновременно определять несколько аналитов. На одной полоске наносят несколько тестовых линий (каждая соответствует своему аналиту). Используется для дифференциальной диагностики (например, грипп А и В, ротавирус и аденовирус).

5. Вирусы, выявляемые с помощью ИХА

Метод позволяет обнаруживать вирусные частицы или антитела к ним. Разработаны тест-системы для:

ВИЧ, вирусов гепатита А и В (антитела и антигены),

ротавирусов, аденовирусов,

вирусов гриппа А и В,

респираторно-синцитиального вируса (РСВ),

вируса Эпштейна–Барра (в крови, сыворотке, слюне).

Биоматериал может быть разным: кровь, сыворотка, носоглоточные смывы, кал, слюна.

6. Заключение

ИХА – доступная, быстрая и простая технология, пригодная для использования вне лаборатории. Визуальная оценка результата делает скрининг массовым и экономичным. Однако метод уступает ПЦР по чувствительности и возможности мультиплексного количественного анализа. Тем не менее, для экспресс-диагностики, особенно в полевых условиях, ИХА остаётся незаменимым инструментом.

Список литературы:

1. Р. Шмид. Наглядная биотехнология и генетическая инженерия. С.158-159, 2020
2. Монографии по ИХА (электронные ресурсы).
3. Публикации по применению ИХА для ВИЧ, гриппа, ротавируса (PubMed).
4. Технические руководства по изготовлению тест-полосок.

