

Экспресс-методы проточного латерального иммуноанализа для определения маркеров рака простаты, острого инфаркта миокарда и аллергии

А.П.Осипов, В.Г.Григоренко, И.П.Андреева, Е.А.Яковлева, А.М.Егоров

**Кафедра Химической энзимологии Химического факультета
МГУ им. М.В.Ломоносова, 119991 Москва, Ленинские Горы, 1, стр.3**

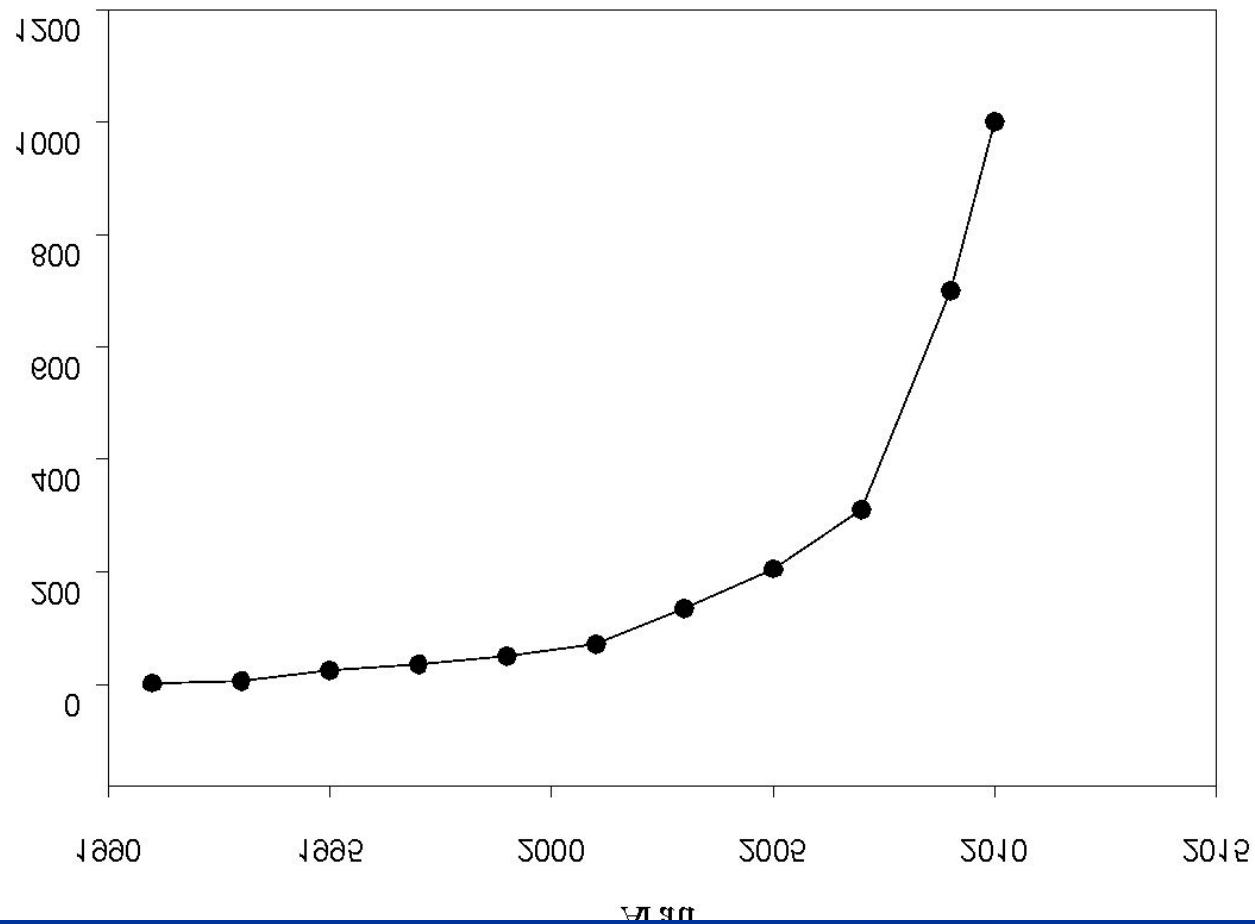
**Закрытое акционерное общество «НВО Иммунотех», 119991 Москва,
Ленинские Горы, МГУ им. М.В.Ломоносова, 1, стр.11а**

E-mail: AOsipov@immunotek.ru

Продажи быстрых тестов для медицинской диагностики в мире

Диагностические направления	ОБЪЕМ ПРОДАЖ В 2007 г., млн \$	ДОЛЯ НА РЫНКЕ, %	ОБЪЕМ ПРОДАЖ В 2012 г., млн \$	ДОЛЯ НА РЫНКЕ, %	ГОДОВОЙ ПРИРОСТ, %
БЕРЕМЕННОСТЬ	695	35	775	24	2
ИНФЕКЦИИ	400	20	850	26	16
КАРДИОМАРКЕРЫ	425	21	850	26	15
ХОЛЕСТЕРИН / ЛИПИДЫ	260	13	490	15	14
ЛЕКАРСТВА	145	7	165	5	3
ДРУГИЕ (ТТГ, ПСА, ФСГ и т.д.)	85	4	110	3	5
ВСЕГО	2010	100	3240	100	10

ЧИСЛО ПУБЛИКАЦИЙ ПО МЕТОДАМ ПРОТОЧНОГО ЛАТЕРАЛЬНОГО ИММУНОАНАЛИЗА ПО ГОДАМ



ОСНОВНЫЕ ДОСТОИНСТВА МЕТОДОВ ЛАТЕРАЛЬНОГО ПРОТОЧНОГО ИММУНОАНАЛИЗА

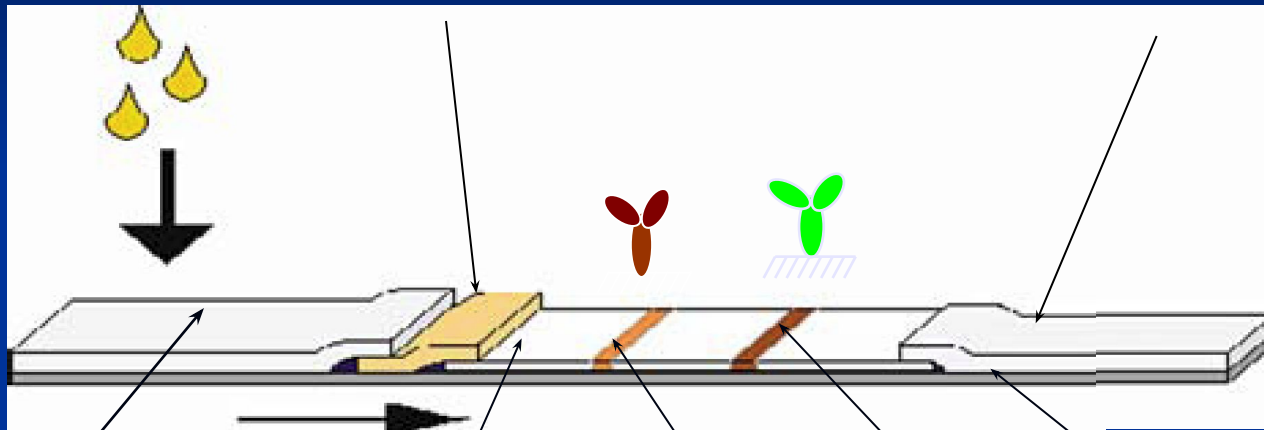
- Короткое время анализа (5-10 минут)
- Хранение при комнатной температуре
- Срок хранения тестов 24 месяца
- Полная готовность к использованию
- Минимальный требуемый объем образца
- Система внутреннего контроля

СТРОЕНИЕ ТЕСТ-ПОЛОСКИ ДЛЯ ЛАТЕРАЛЬНОГО ПРОТОЧНОГО ИММУНОАНАЛИЗА (Иммунохроматографический анализ)

Образец

Мембрана для
конъюгата золота с Ат

Впитывающая мембрана



Мембрана для
нанесения образца

Нитроцеллюлозная
мембрана

Тестовая
линия

Пластмассовая основа

Контрольная
линия



- специфические антитела

- вторичные антитела

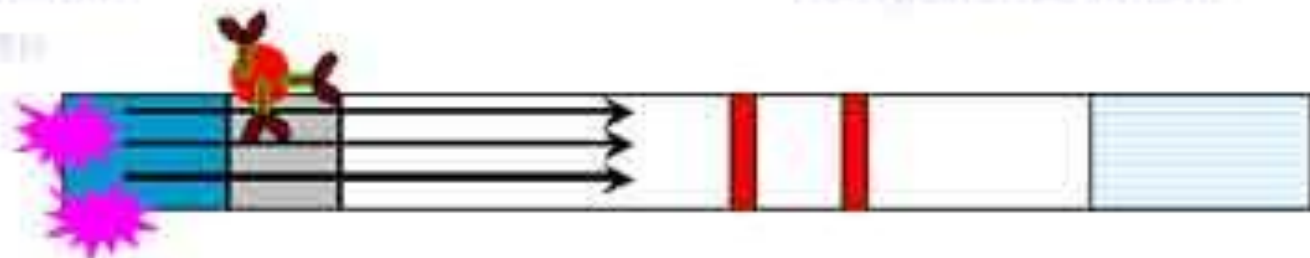
Определенный антиген

Количество эритроцитов

Тестовая линия

ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ

Контрольная линия



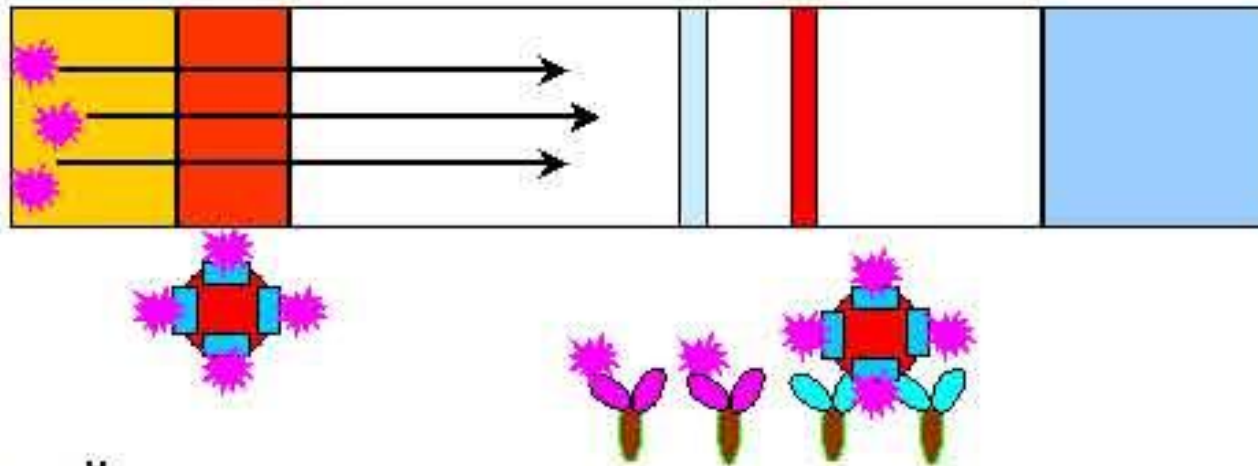
Сэндвич-схема анализа

ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ



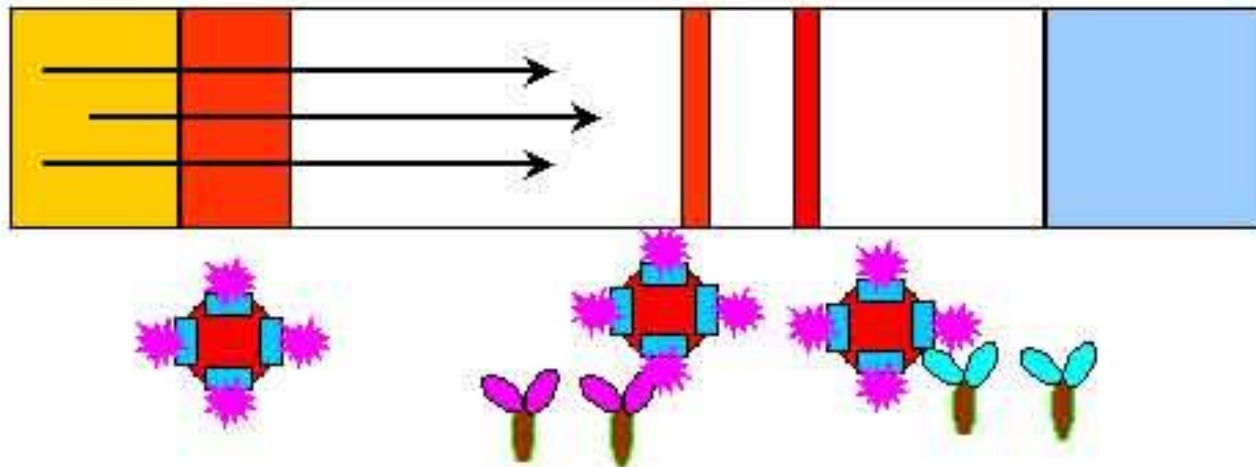
Цель анализа – 10-15 минут

ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ



Конкурентный
анализ

ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ



Основные технологические стадии процесса производства быстрых тестов

МЕМБРАННАЯ СИСТЕМА

СОРБЦИЯ АНТИТЕЛ

ВЫСУШИВАНИЕ

БЛОКИРОВКА

ВЫСУШИВАНИЕ

ПОЛУЧЕНИЕ, СТАБИЛИЗАЦИЯ И НАНЕСЕНИЕ КОНЪЮГАТА

ПОДЛОЖКА ДЛЯ КОНЪЮГАТА

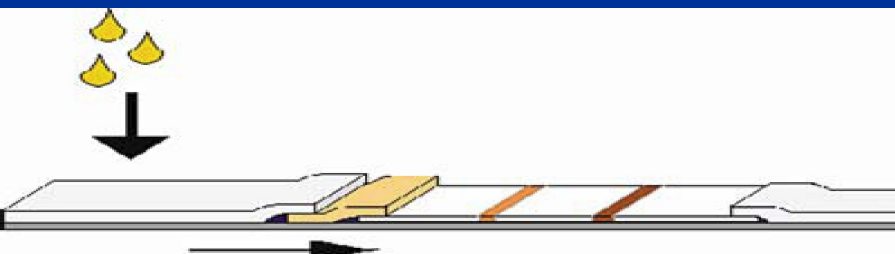
ВЫСУШИВАНИЕ

ПОДЛОЖКА ДЛЯ ОБРАЗЦА

ПРЕДОБРАБОТКА

ВЫСУШИВАНИЕ

КОМПОНОВКА МЕМБРАН, ПОДЛОЖКИ ДЛЯ КОНЪЮГАТА И ОБРАЗЦА, ЛАМИНИРОВАНИЕ

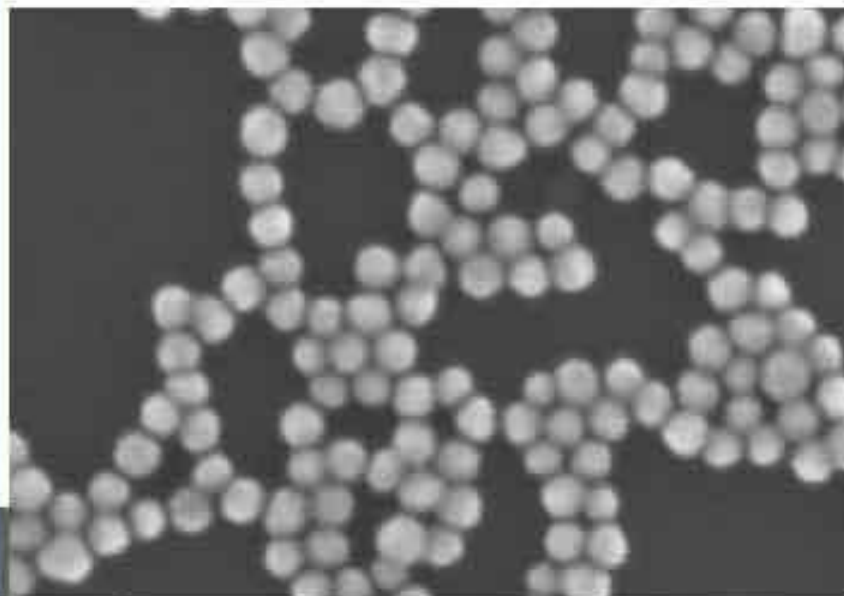


РЕЗКА ГОТОВЫХ КАРТОЧЕК НА ПОЛОСКИ

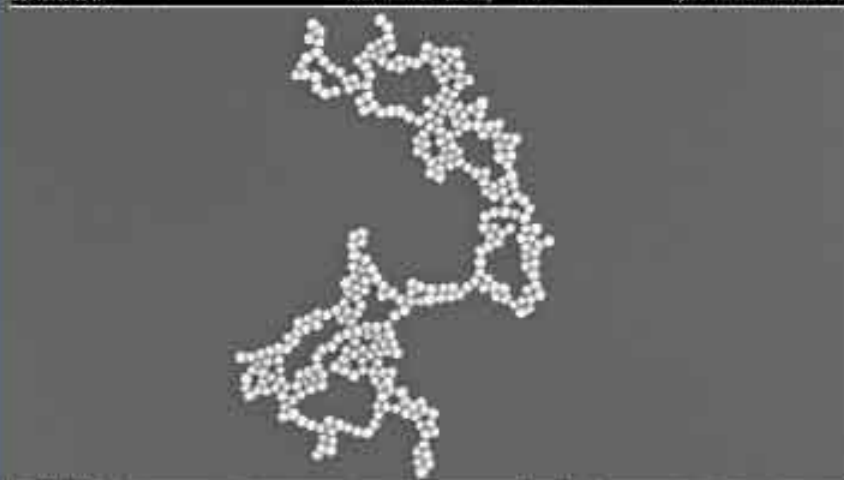
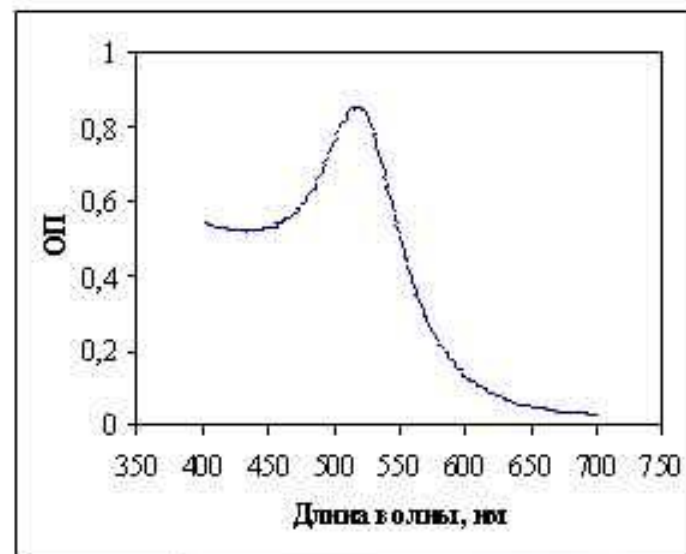
УКЛАДКА ПОЛОСОК В ПЕНАЛЫ ИЛИ КАССЕТЫ

УПАКОВКА КАССЕТ В ФОЛЬГУ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РАЗМЕРОВ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА



Mag = 903.31 K X 28 nm WD = 3.4 mm EHT = 10.00 kV Signal A = 94.0nm Date: 21 Sep 2006 Time: 12:42:40
SUPRA 40-30-67 Size Selection - Live Acq TB = 0.0 System Vacuum = 1.02e-06 mbar



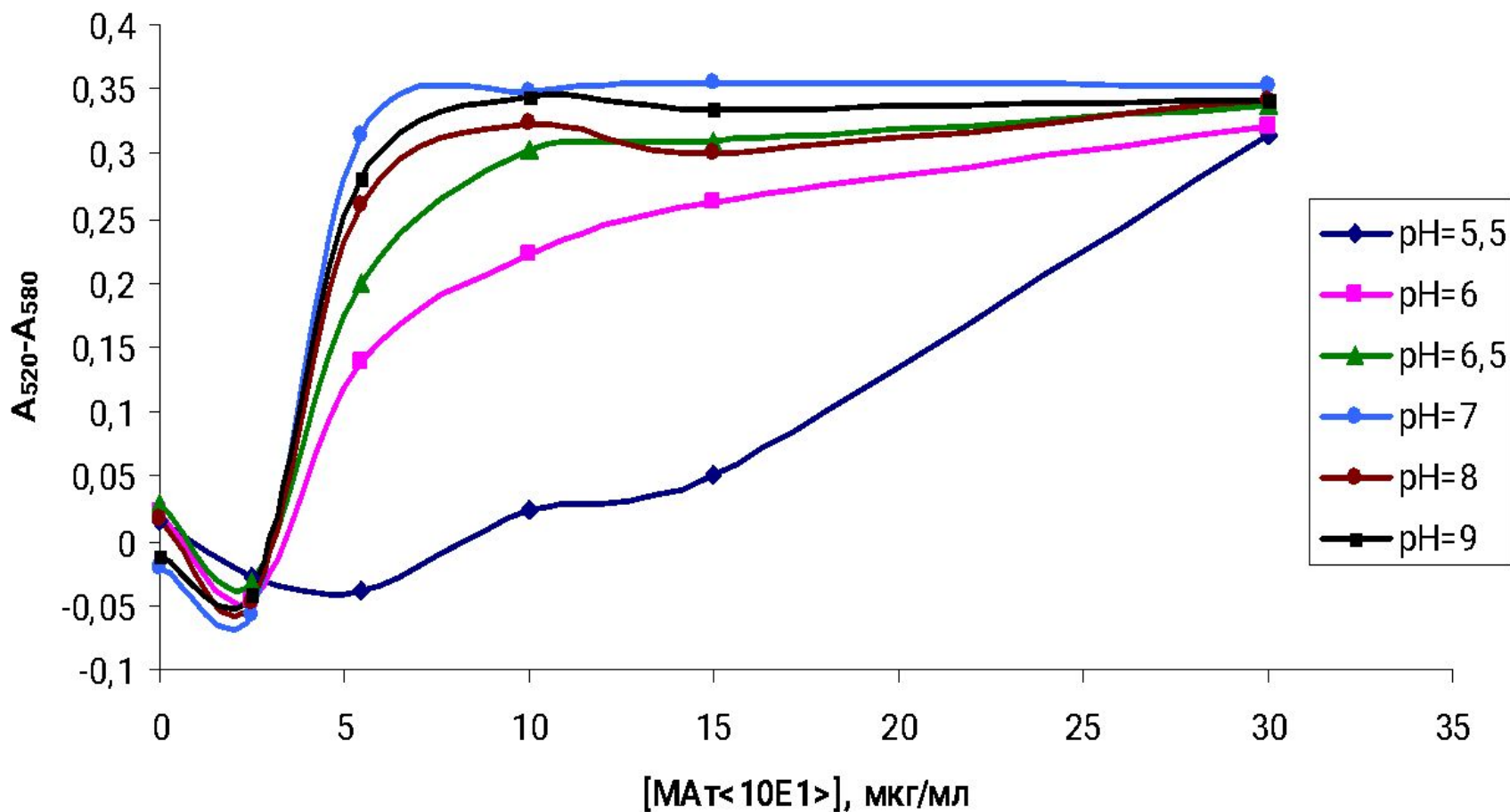
Mag = 220.25 K X 70 nm WD = 3.4 mm EHT = 10.00 kV Signal A = 94.0nm Date: 21 Sep 2006 Time: 12:29:37
SUPRA 40-30-67 Size Selection - Live Acq TB = 0.0 System Vacuum = 1.02e-06 mbar



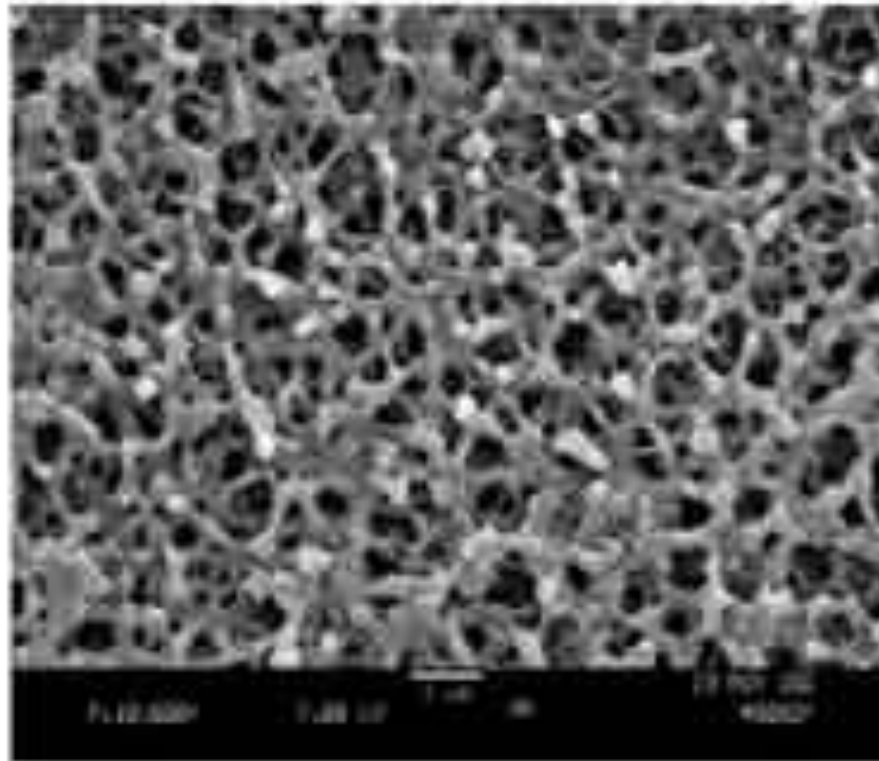
Свойства наночастиц золота с различным размером

Размер частиц (nm)	Площадь поверхности (nm ²)	Число молекул IgG на частицу
3	28	1
5	78	2
10	314	7
15	706	17
30	2826	64

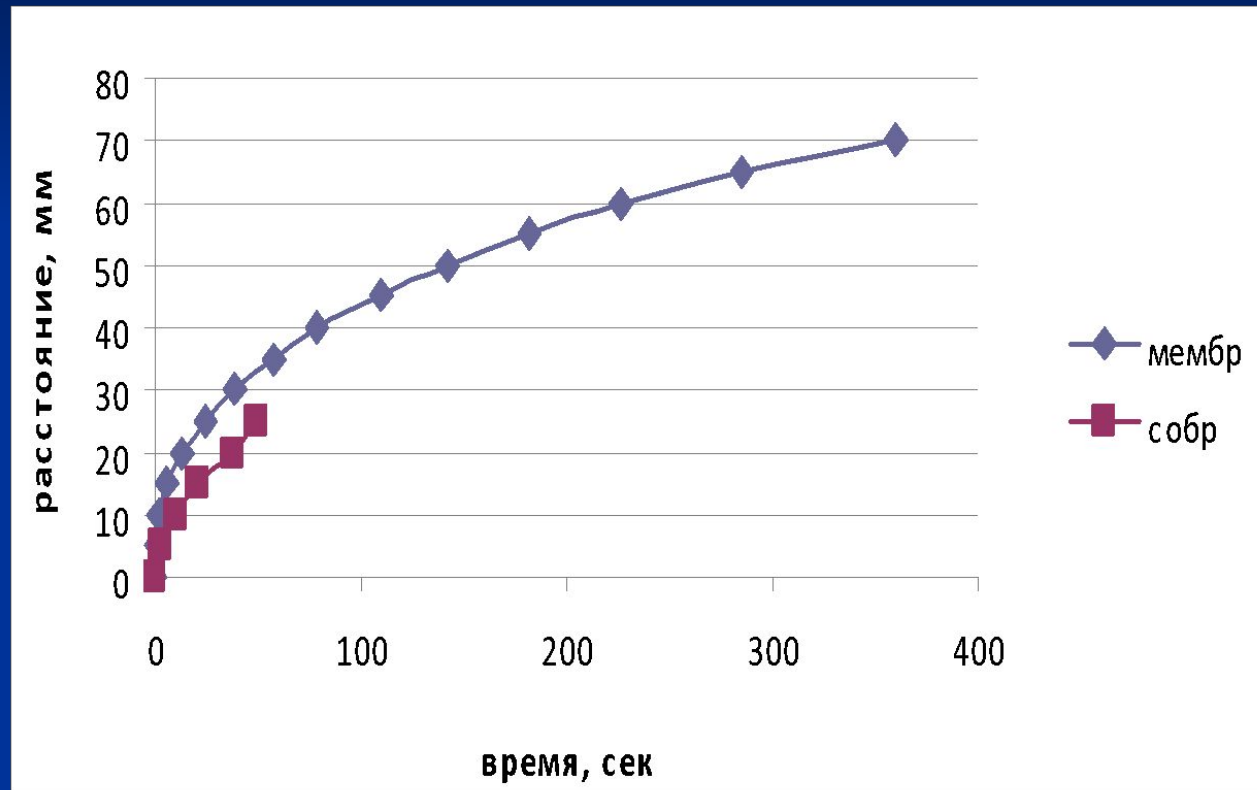
Влияние рН и концентрации антител на стабильность конъюгатов золота



Структура аналитической нитроцеллюлозной мембраны

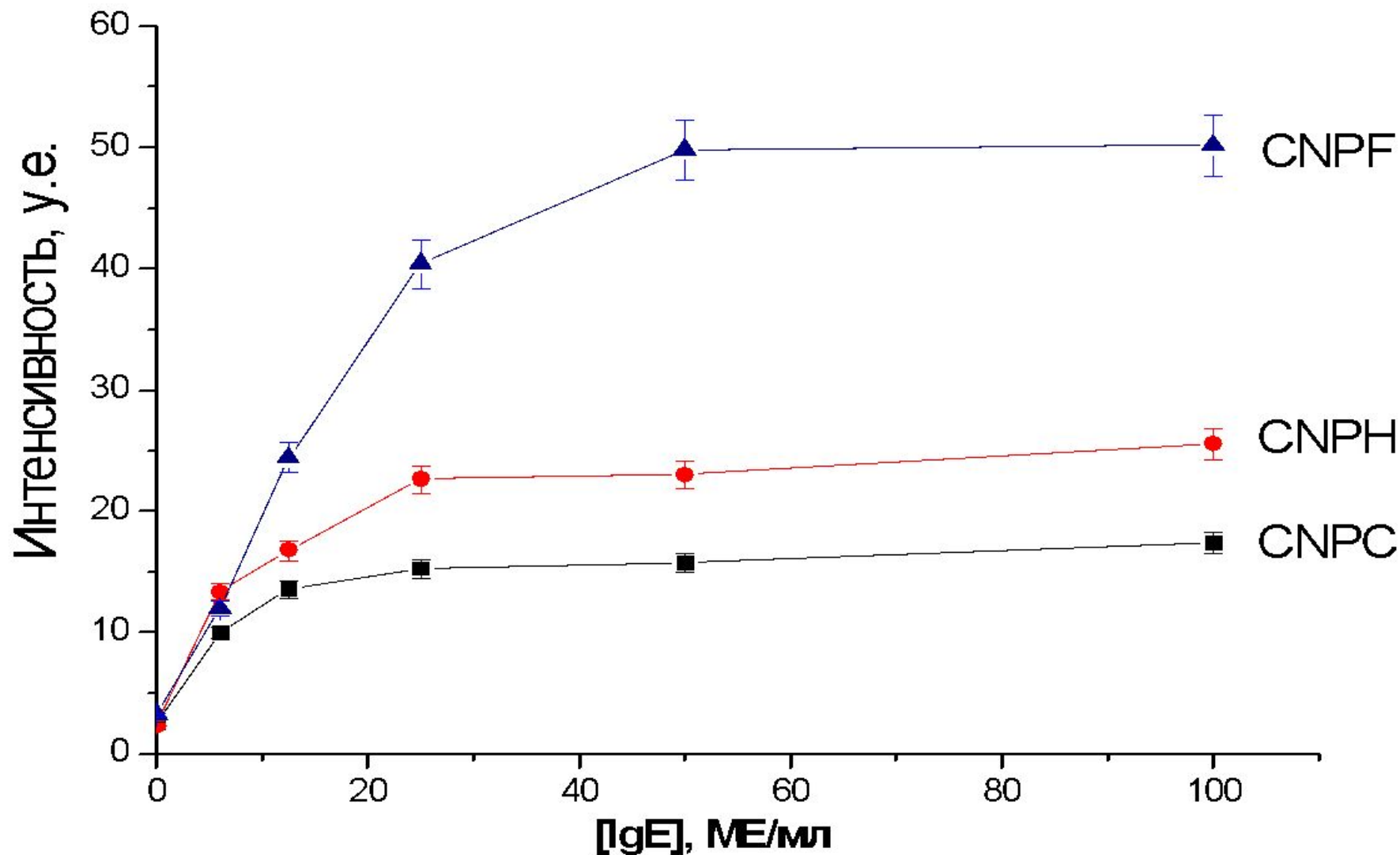


Зависимость скорости распространения потока вдоль мембраны от расстояния



ВЫБОР ТИПА АНАЛИТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ

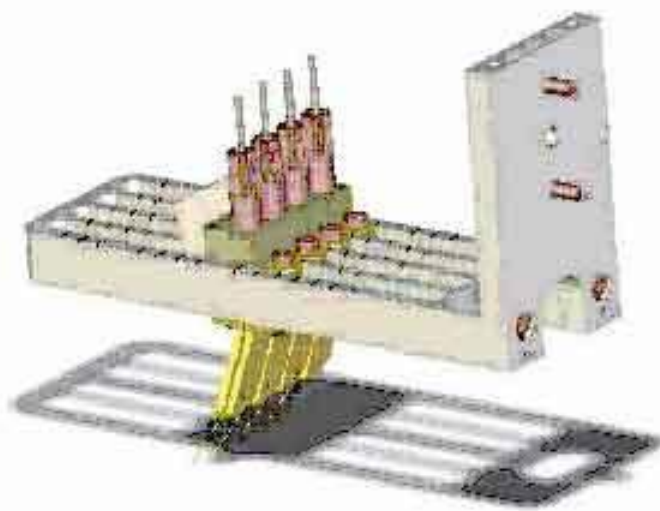
мАт<100рНЗ> иммобилизованы на мембране
конъюгат мАт<8> с наночастицами золота



Нанесение тестовой и контрольной линий на аналитическую мембрану

1. Котлета с яйцом

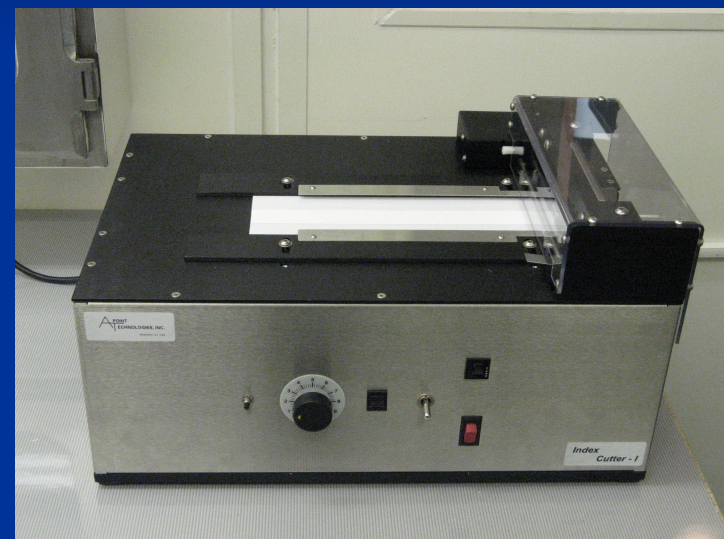
2. Б. котлета с яйцом



Компоновка мембран с помощью ламинатора



Резка мембранных полосок

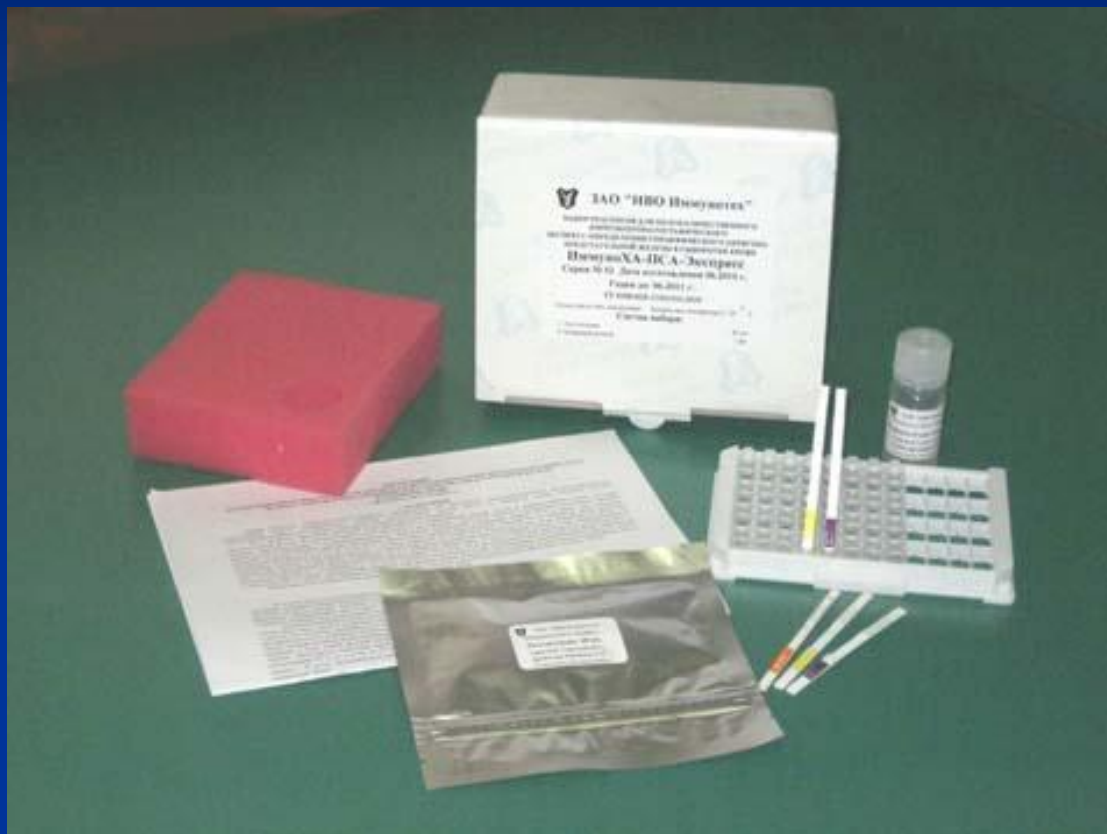


РАЗЛИЧНЫЕ ФОРМАТЫ ГОТОВЫХ УСТРОЙСТВ ДЛЯ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО АНАЛИЗА



ИммуноХА-ПСА-экспресс

ЗАО «НВО ИммуноТех»




ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
И СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2011/10462

от 13 апреля 2011 года Срок действия: не ограничен.

Настоящее удостоверение выдано
ЗАО "НВО ИММУНОТЕХ",
Россия, 119899, Москва, Воробьевы горы, МГУ им. М.В. Ломоносова,
ул. Менделеевская, стр. 2

и подтверждает, что изделие медицинского назначения
Набор реагентов для полуколичественного иммунохроматографического
экспресс-определения специфического антигена предстательной железы
в сыворотке крови ("ИммуноХА-ПСА-Экспресс")
по ТУ 9398-028-11361534-2010

производства
ЗАО "НВО ИММУНОТЕХ",
Россия, 119899, Москва, Воробьевы горы, МГУ им. М.В. Ломоносова,
ул. Менделеевская, стр. 2

класс потенциального риска 26 ОКП 93 9817

соответствующее комплекту регистрационной документации

КРД № 74815 от 14.12.2010

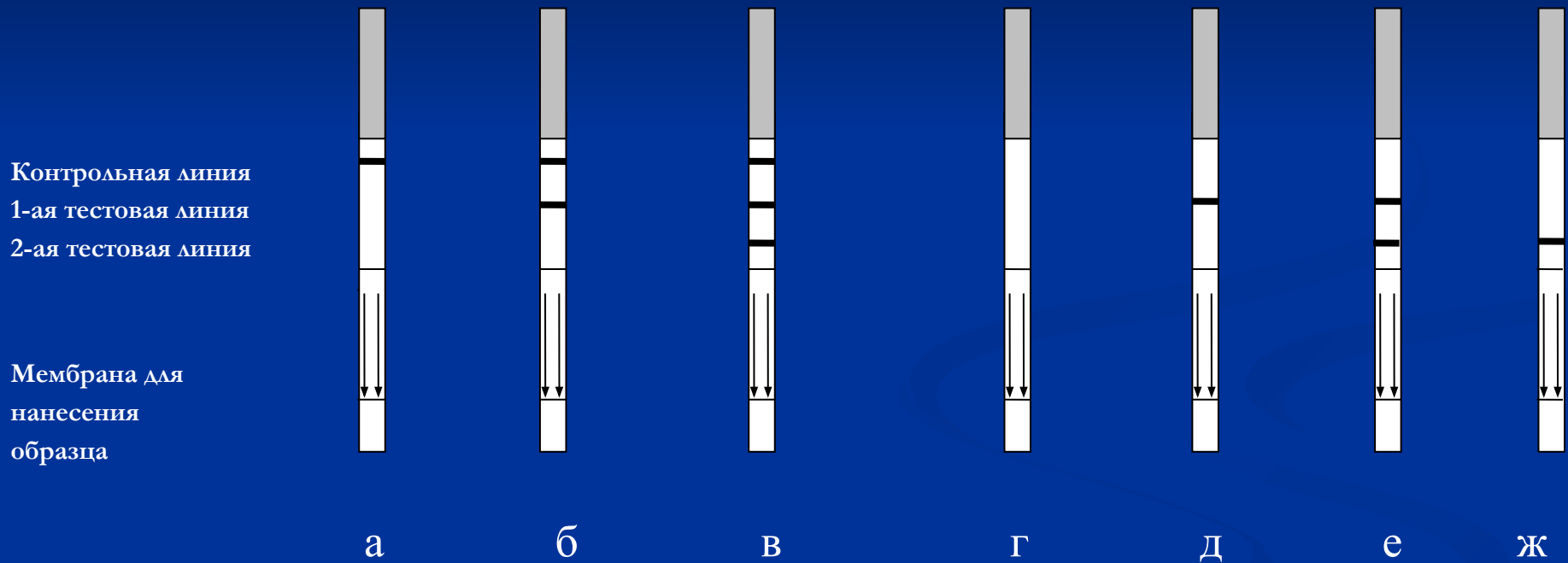
приказом Росздравнадзора от 13 апреля 2011 года № 1926-Пр/11
разрешено к производству, продаже и применению на территории Российской
Федерации

Врио руководителя Федеральной службы
по надзору в сфере здравоохранения
и социального развития Е.А. Тельнова

012667

Интерпретация результатов анализа ПСА иммунохроматографическим тестом производства «НВО Иммунотех»

а – отрицательный; б, в – положительный; г, д, е, ж – ошибочный



- а) концентрация ПСА менее 3 нг/мл
- б) концентрация ПСА в диапазоне от 3 до 10 нг/мл
- в) концентрация ПСА выше 10 нг/мл

ИммуноХА-ПСА-экспресс

ЗАО «НВО Иммунотех»

СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

1. Нанести 30 мкл образца на край тест-полоски.
2. Погрузить нижний край тест-полоски в лунку с буферным раствором.
3. Через 15 мин визуально оценить результат (одна розово-фиолетовая линия – менее 3 нг/мл, две - от 3 до 10 нг/мл, три - более 10 нг/мл).

ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

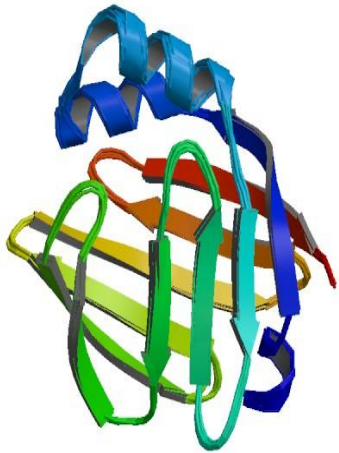
- Чувствительность: не более 3 нг/мл
- Специфичность: не наблюдается перекрестных реакций с другими компонентами сыворотки крови
- Диапазоны определяемых концентраций: первый - менее 3 нг/мл; второй - от 3 до 10 нг/мл; третий - более 10 нг/мл
- Условия инкубации (время, t°C) : 15 мин при +(20-25)°C
- Время проведения анализа: 15 минут
- Количество анализируемой сыворотки: 30 мкл
- Количество анализов: 20 исследуемых образцов
- Срок годности набора: 12 месяцев

Экспресс-исследование уровня тропонина и миоглобина – необходимый этап диагностики и мониторинга больных с острым инфарктом миокарда, инсультом и стенокардией

Стандарты утверждены приказами МЗ РФ

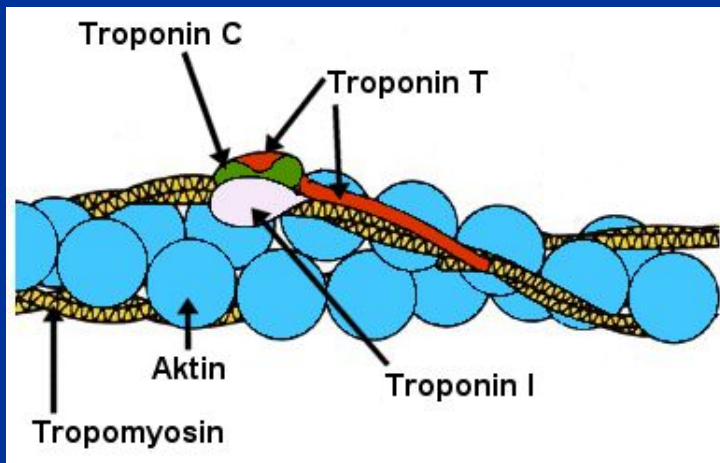
- Приказ Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 2 августа 2006 г. N 582
"Об утверждении стандарта медицинской помощи больным с острым инфарктом миокарда"
- Приказ Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 5 сентября 2006 г. N 643
"Об утверждении стандарта медицинской помощи больным с инсультом, не уточненным как кровоизлияние или инфаркт"
- Приказ Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 25 сентября 2006 г. N 671
"Об утверждении стандарта медицинской помощи больным со стенокардией (грудной жабой)"
- Приказ Минздравсоцразвития России № 599н от 19 сентября 2009 г.
- "Об утверждении Порядка оказания плановой и неотложной медицинской помощи населению Российской Федерации при болезнях системы кровообращения кардиологического профиля"

Маркеры ОИМ

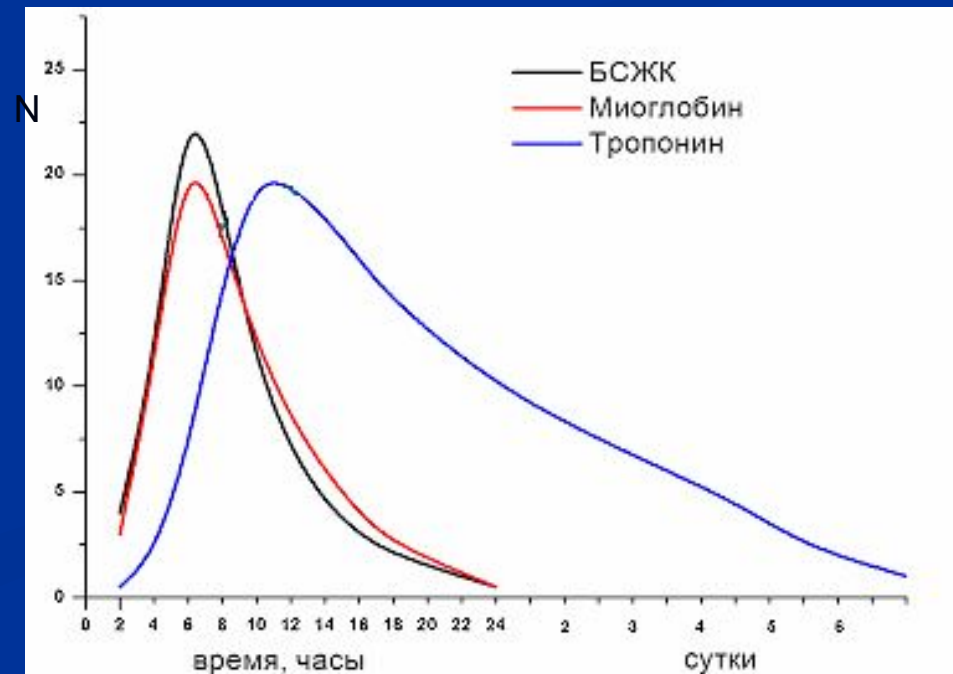


Маркер	Пороговый уровень	Максимум	Нормализация параметра	Специфичность, %
Тропонин I	1 нг/мл	12-16 ч	10-12 дней	91
Миоглобин	90 нг/мл	4-6 ч	12-24 ч	60
c-БСЖК	6 нг/мл	4-6 ч	12-24 ч	93

Белок, связывающий жирные кислоты (с-БСЖК)



Комплекс тропонина



Определение с-БСЖК в сыворотках крови для диагностики острого инфаркта миокарда

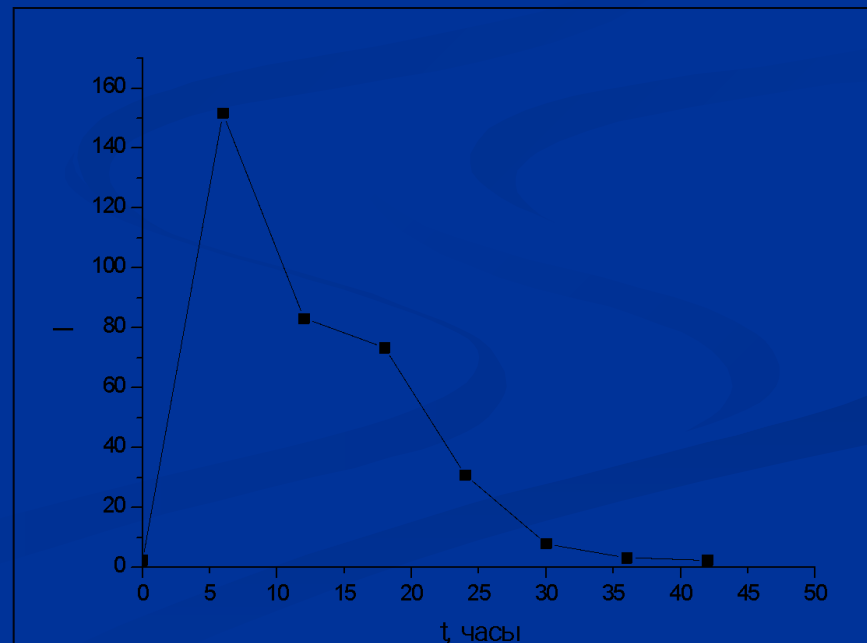
1. Контрольная группа (N=25) - с-БСЖК не был обнаружен
2. Пациенты с подтвержденным диагнозом острого инфаркта миокарда (N=13) – с-БСЖК обнаружен во всех образцах, взятых у пациентов при поступлении в больницу

Пациент №13
(Клиническая больница №67)



1 2 3 4 5 6 7 8

1 – при поступлении	5 – через 24 часа
2 – через 6 часов	6 – через 30 часов
3 – через 12 часов	7 – через 36 часов
4 – через 18 часов	8 – через 42 часа



Тесты для диагностики острого инфаркта миокарда



Трехкомпонентный Кардиотест
«ИммунТех», YD Diagnostics, Ю.Корея (Юнимед)

Rennesens GmbH, Germany



Duo Troponin I - MGL Test, «VedaLab»,
(Диакон)

Cortez Diagnostics, US

ПОРТАТИВНЫЙ ПРИБОР ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ИНТЕНСИВНОСТИ ОКРАСКИ ЛИНИЙ фирмы
“ESE GmbH” (Германия)



Прибор для регистрации
интенсивности цвета тестовых линий
фирмы «Микроанализ» (Россия)



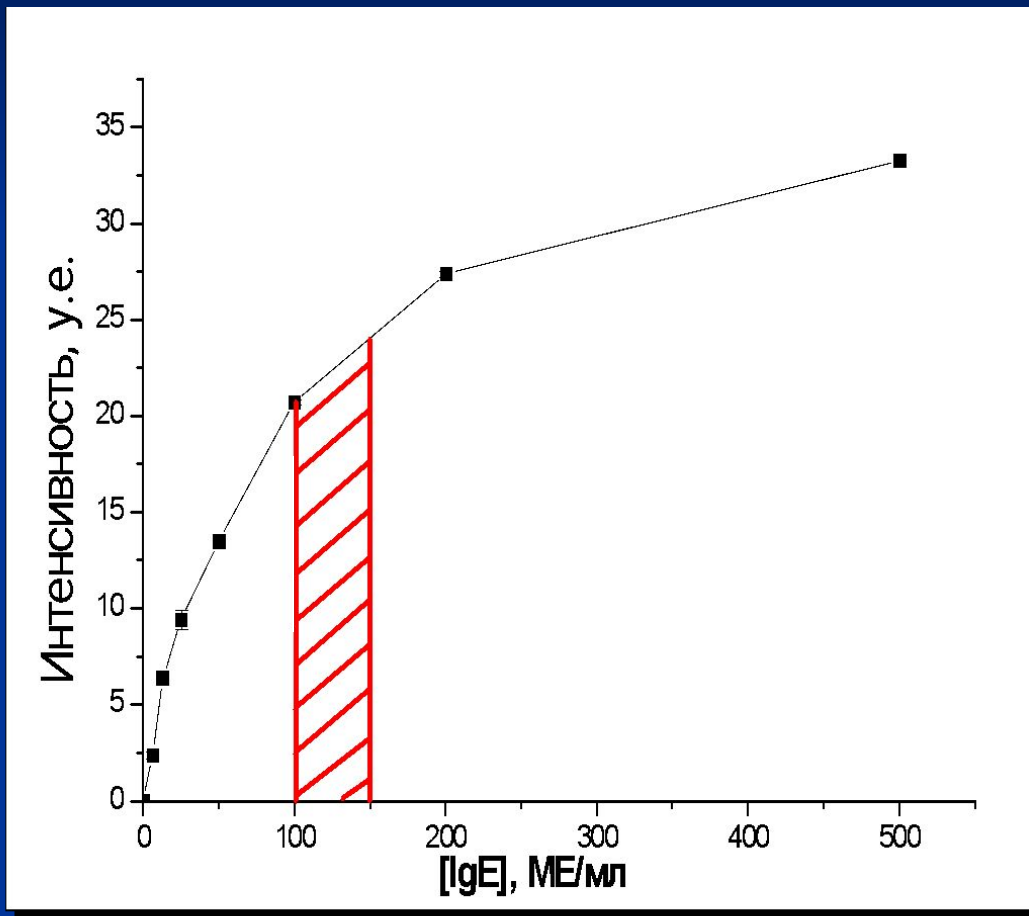
PTIS 6.1

The screenshot shows a software application window titled "PTIS 6.1". The interface is organized into several functional areas:

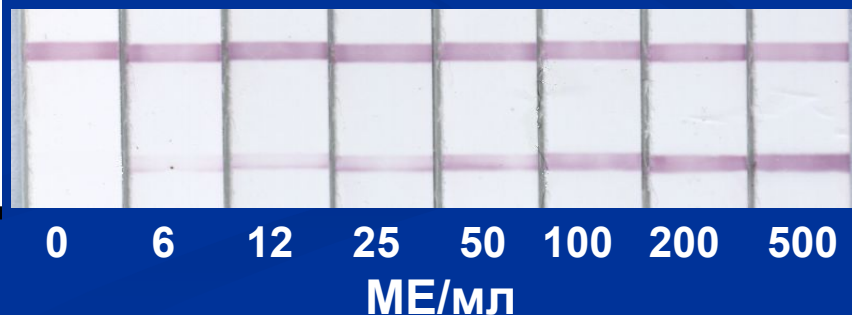
- Header:** A blue title bar at the top contains the text "PTIS 6.1" and standard window control buttons (minimize, maximize, close).
- Main Data Entry Area:** This section contains numerous text input fields and labels. On the left, there are fields for "Name", "Address", "Phone", and "Fax". On the right, there are fields for "Date", "Time", "Status", and "Priority".
- Bottom-Left Section:** This area features two bar charts. The top chart is a 3D bar chart with three bars of increasing height. The bottom chart is a 2D bar chart with four bars of varying heights.
- Bottom-Right Section:** This section includes a small icon of a building or structure, a list of items, and a grid of data points. The grid has five columns and five rows, with some cells containing numerical values.

25 1 2007

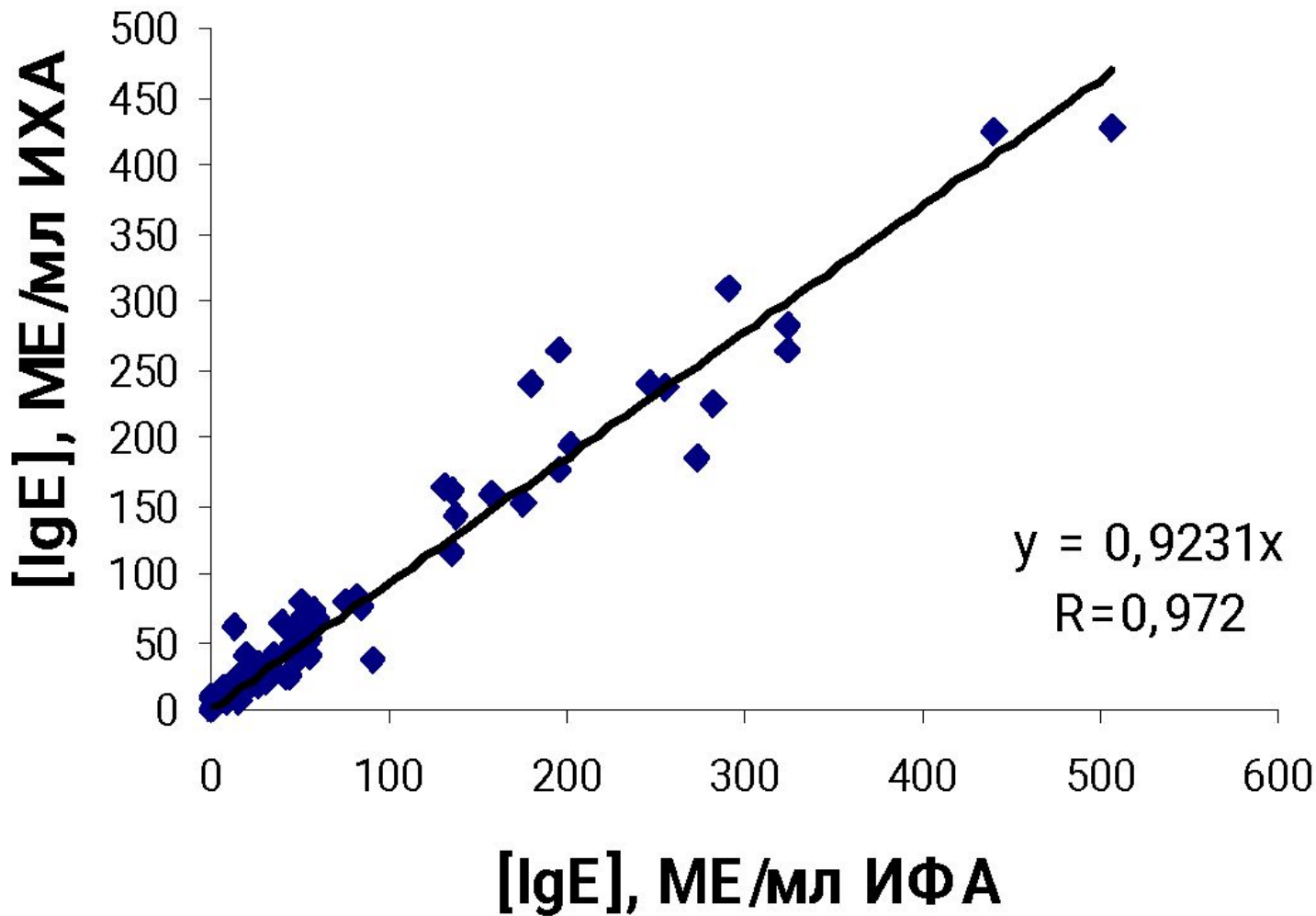
Характеристики разработанной тест-системы для определения общего IgE



- **Предел обнаружения:**
5 МЕ/мл
- **Диапазон определяемых концентраций:**
5 - 500 МЕ/мл
- **Коэффициент вариации:**
2-10%
- **Время анализа:**
10 – 15 минут



Корреляция результатов определения концентраций общего IgE в сыворотках крови методами ИФА и ИХА



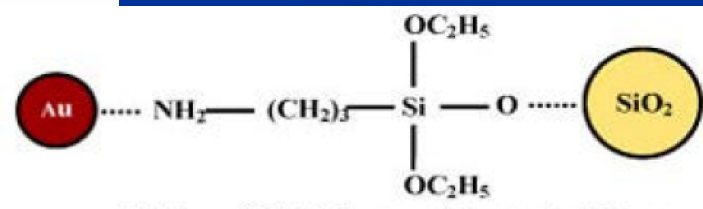
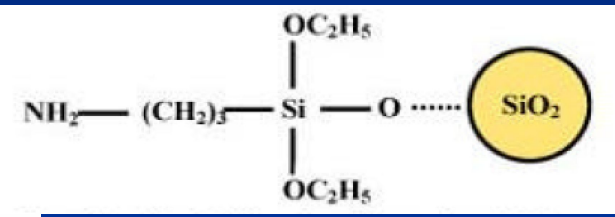
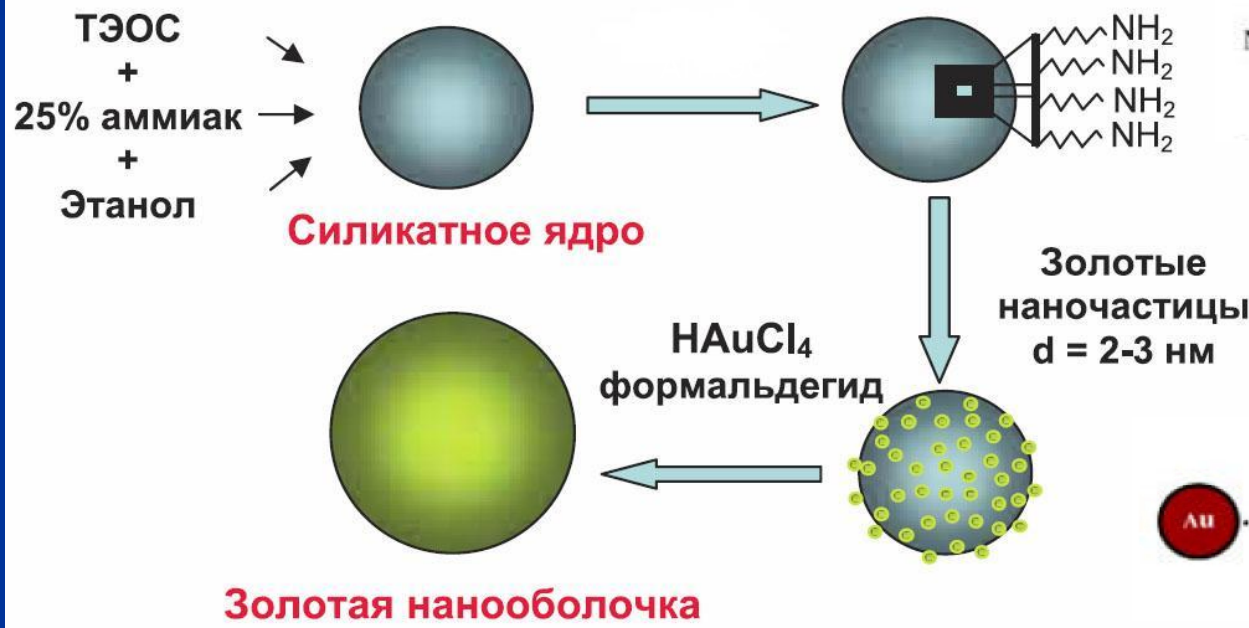
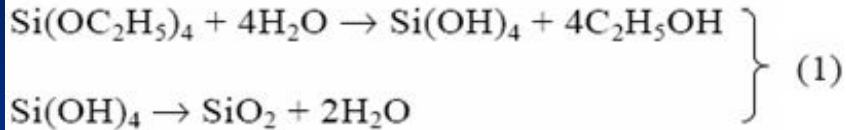
ТЕНДЕНЦИИ РАЗВИТИЯ МЕТОДОВ ЛАТЕРАЛЬНОГО ПРОТОЧНОГО ИММУНОАНАЛИЗА

- Разработка количественных методов анализа
- Повышение чувствительности и воспроизводимости анализа
- Использование новых классов меток
- Разработка мультикомпонентных систем анализа
- Разработка новых платформ проведения анализа
- Уменьшение стоимости

Типы визуальных меток для быстрых тестов

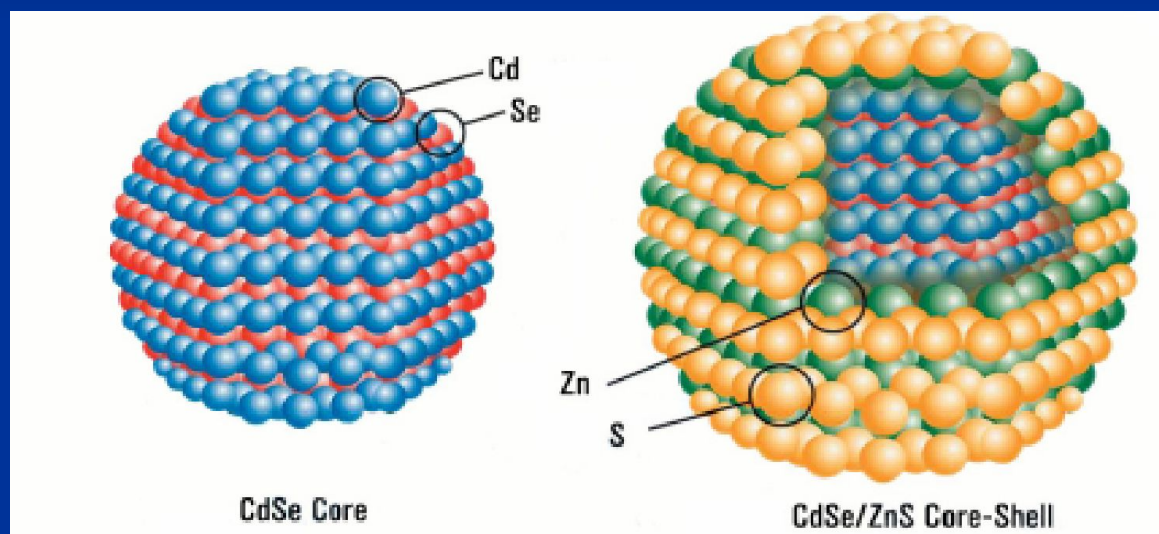
- наночастицы золота
- наносферы (nanospheres)
- квантовые точки (Quantum dots, QD)

Основные этапы синтеза золотых наноболочек с ядром из диоксида кремния (40-500 нм)



ТЭОС – тетраэтилортосиликат
 АПТЭС – 3-аминопропилтриэтоксисилан

КВАНТОВЫЕ ТОЧКИ



Спектральные характеристики КВАНТОВЫХ ТОЧЕК

Квантовые точки – CdSe/ZnS
CdTe/ZnS

Размер 1-10 нм

