

7. Stangier J. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of the oral direct thrombin inhibitor dabigatran etexilate. *Clin. Pharmacokinet.* 2008; 47(5): 285—95.
8. Huel N.H., Nar H., Priepke H., Ries U., Stassen J.M., Wiene W. Structure-based design of novel potent nonpeptide thrombin inhibitors. *J. Med. Chem.* 2002; 45(9): 1757—66.
9. Lassen M.R. Recent developments in the use of oral anticoagulants. *Expert Opin. Pharmacother.* 2009; 10(11): 1769—81.
10. Freyburger G., Macouillard G., Labrousse S., Sztrik F. Coagulation parameters in patients receiving dabigatran etexilate or rivaroxaban: two observational studies in patients undergoing total hip or total knee replacement. *Thromb. Res.* 2011; 127(5): 457—65.
11. Lindahl T.L., Baghaei F., Blixter I.F., Gustafsson K.M., Stigendal L., Sten-Linder M. et al. Effects of the oral, direct thrombin inhibitor dabigatran on five common coagulation assays. *Thromb. Haemost.* 2011; 105(2): 371—8.
12. Favaloro E.J., Lippi G. The new oral anticoagulants and the future of haemostasis laboratory testing. *Biochem. Med. (Zagreb).* 2012; 22(3): 329—41.
13. Dobrovolskiy A.B., Titaeva E.V. *Thrombin formation and function in haemostasis. Aterotromboz.* 2013; (1): 66—72. (in Russian)
14. Kuznik B.I. Cellular and Molecular Mechanisms for Regulation of the Hemostatic System in Health and Disease [Kletochnye i molekulyarnye mekhanizmy regulyatsii sistemy gemostaza v norme i patologii]. Chita: Express-izdatel'stvo; 2010. (in Russian)
15. Amiral J., Walenga J.M., Fareed J. Development and performance characteristics of a competitive enzyme immunoassay for fibrinopeptide A. *Semin. Thromb. Hemost.* 1984; 10(4): 228—42.
16. Bernakevich A.I., Vasil'ev S.A., Es'kin N.A. Hemostatic system in patients undergoing total hip arthroplasty. *Vestnik travmatologii i ortopedii imeni N.N. Priorova.* 2009; (1): 37—42. (in Russian)
17. Antropova I.P., Yushkov B.G. Activities of clotting, fibrinolytic, and anticoagulant components of plasma hemostasis in patients with degenerative diseases of large joints. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny.* 2012; 153(4): 495—8. (in Russian)
18. Baeshko A.A., Kryuchok A.G., Yushkevich V.A., Korsak S.I. Post-operative pulmonary embolism. *Khirurgiya.* 2000; (2): 45—9. (in Russian)
19. Perka C. Preoperative versus postoperative initiation of thromboprophylaxis following major orthopedic surgery: safety and efficacy of postoperative administration supported by recent trials of new oral anticoagulants. *Thromb. J.* 2011; 9: 17.
20. Rosencher N., Vassilief N., Guignon V., Toulon P., Conseiller C. Comparison of effects of Elohes and albumin on hemostasis in orthopedic surgery. *Ann. Fr. Anesth. Reanim.* 1992; 11(5): 526—30.
21. Samama M.M., Guinet C., Le Flem L., Ninin E., Debue J.M. Measurement of dabigatran and rivaroxaban in primary prevention of venous thromboembolism in 106 patients, who have undergone major orthopedic surgery: an observational study. *J. Thromb. Thrombolysis.* 2013; 35(2): 140—6.
22. Brueckner S., Reinke U., Roth-Isigkeit A., Eleftheriadis S., Schmucker P., Siemens H.J. Comparison of general and spinal anesthesia and their influence on hemostatic markers in patients undergoing total hip arthroplasty. *J. Clin. Anesth.* 2003; 15(6): 433—40.
23. López Y., Paloma M.J., Rifón J., Cuesta B., Páramo J.A. Measurement of prethrombotic markers in the assessment of acquired hypercoagulable states. *Thromb. Res.* 1999; 93(2): 71—8.
24. Bunescu A., Widman J., Lenkei R., Menyes P., Levin K., Egberg N. Increases in circulating levels of monocyte-platelet and neutrophil-platelet complexes following hip arthroplasty. *Clin. Sci. (Lond).* 2002; 102(3): 279—86.
25. Misaki T., Kitajima I., Kabata T., Tani M., Kabata C., Tsubokawa T. et al. Changes of the soluble fibrin monomer complex level during the perioperative period of hip replacement surgery. *J. Orthop. Sci.* 2008; 13(5): 419—24.
26. Heinrich C., Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N. Engl. J. Med.* 1999; 340(6): 448—54.
27. Mann K.G. *Thrombin formation.* *Chest.* 2003; 124 (3Suppl.): 4S—10S.

Поступила 20.06.16
Принята к печати 01.07.16

ИММУНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 616.078.33-074:543.544

Смирнова Д.Н., Крупина К.А., Богачева Н.В., Дармов И.В.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА КОМПОНЕНТОВ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ ТЕСТ-СИСТЕМ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ДЛЯ ИХ РАЗРАБОТКИ

ФГБОУ ВО «Вятский государственный университет», 610000, Киров, Российская Федерация

В статье обобщены данные научных исследований, посвященных поиску оптимальных условий разработки высокоспецифичных и высококачественных иммунохроматографических тест-систем, предназначенных для выявления возбудителей инфекционных заболеваний. Проведен анализ выбора оптимального размера наночастиц коллоидного золота и концентрации антител для получения конъюгата. Представлены варианты наиболее часто используемых комбинаций буферных растворов, применяемых для разработки и анализа иммунохроматографических тест-систем. Выявлены предпочтения в области характеристик мембран, используемых в составе мультимембранного композита иммунохроматографических тест-систем.

Ключевые слова: иммунохроматографическая тест-система; наночастицы коллоидного золота; моноклональные антитела; конъюгат; буферные растворы; мультимембранный композит.

Для цитирования: Смирнова Д.Н., Крупина К.А., Богачева Н.В., Дармов И.В. Сравнительная оценка компонентов иммунохроматографических тест-систем, используемых для их разработки. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2017; 62 (1):30-34

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-1-30-34>

Smirnova D.N., Krupina K.A., Bogacheva N.V., Darmov I.V.

THE COMPARATIVE EVALUATION OF COMPONENTS USED IN DEVELOPMENT OF IMMUNE CHROMATOGRAPHY TEST-SYSTEMS

The Viatskii state university, 610000 Kirov, Russia

The article summarizes data of research studies concerning searching optimal conditions of development of highly specific and highly sensitive immune chromatography test-systems designed for detection of agents of infectious diseases. The analysis was implemented concerning choosing of optimal size of nano-particles of colloid gold and concentration of antibodies for production of conjugate. The alternatives are presented concerning the most frequently used combinations of buffer solutions applied for development and analysis of immune chromatography test-systems. The preferences are established in the field of characteristics of membranes used in composition of multi-membrane composite of immune chromatographic test-systems.

Key words: *immune chromatography test-systems; nano-particles of colloid gold; monoclonal antibodies; conjugate; buffer solution; multi-membrane composite*

For citation: *Smirnova D.N., Krupina K.A., Bogacheva N.V., Darmov I.V. The comparative evaluation of components used in development of immune chromatography test-systems. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics) 2017; 62 (1): 30-34. (in Russ.). DOI: 10.18821/0869-2084-2017-62-1-30-34*

For correspondence: *Bogacheva N.V., doctor of medical sciences, associate professor, professor of the chair of microbiology. e-mail: bogacheva70@mail.ru*

Conflict of interests. *The authors declare absence of conflict of interests.*

Financing. *The study had no sponsor support.*

Received 20.04.2016
Accepted 15.05.2016

Одним из перспективных иммунологических методов, используемых в настоящее время для диагностики инфекционных заболеваний, является иммунохроматография. Принцип данного метода основан на тонкослойной хроматографии и создании комплекса «антиген—антитело» [1], визуализация которого возможна благодаря меченым соединениям, в качестве которых при разработке иммунохроматографических тест-систем чаще всего используют наночастицы коллоидного золота [2].

В настоящее время создано большое количество иммунохроматографических тест-систем, предназначенных для выявления возбудителей инфекционных заболеваний [3—10]. Однако проблемы выбора оптимального размера наночастиц коллоидного золота, концентрации антител, состава буферных растворов, используемых для разведения и отмывки антител, а также тестирования иммунохроматографических тест-систем, становятся актуальными каждый раз, когда встает вопрос о разработке новой иммунохроматографической тест-системы. Вышеизложенное обуславливает необходимость обобщения результатов исследований, посвященных поиску оптимальных условий разработки высокоспецифичных и высокочувствительных диагностических тест-систем, основанных на методе иммунохроматографии.

Этапы процесса создания иммунохроматографической тест-системы можно представить следующим образом: получение конъюгата антител с коллоидным маркером; отмывка конъюгата от несвязавшихся антител; нанесение конъюгата на стекловолоконную мембрану; нанесение специфических и антивидовых антител, соответственно, на аналитическую и контрольную зоны нитроцеллюлозной мембраны; сушка и сборка мультимембранного композита [11].

В качестве коллоидного маркера используют углерод, квантовые точки, парамагнитные частицы, липосомы, латексные частицы, но чаще всего — наночастицы коллоидного золота (НчКЗ) [2]. В иммунохроматографии применяют препараты КЗ как малого — 3—5 нм, так и большого — до 50 нм — диаметра, но чаще всего для получения конъюгата НчКЗ с антителами используют наночастицы размером 20—35 нм [3—10]. Применение наночастиц более крупного размера требует специальных решений по обеспечению их стабильности в растворе и предотвращению агрегации [12].

Несмотря на опыт многолетних исследований, вопрос об оптимальной концентрации биомолекул в составе конъюгата с

НчКЗ остается открытым. Обычно в ИХА используют конъюгаты с содержанием антител, на 10—20% превышающим минимальную концентрацию, достаточную для предотвращения агрегации НчКЗ в растворах, содержащих 10% раствор хлорида натрия [13]. Превышение данных значений может привести к снижению чувствительности иммунохроматографической тест-системы. Так, А.А. Титов и соавт. в ходе оптимизации иммунохроматографических тестов для детекции ботулинических токсинов выявили, что предел обнаружения токсинов уменьшался при увеличении нагрузки конъюгата по белку в 2 раза относительно минимальной стабилизирующей концентрации [14].

Оптимальная концентрация антител в конъюгате зависит от индивидуальных особенностей белкового препарата. Например, при разработке иммунохроматографической тест-системы для детекции антигенов *H. pylori* значение данного параметра составило 19 мкг/мл [3], для обнаружения Т-2 токсина — 30 мкг/мл [7], а в ходе получения конъюгата с НчКЗ при создании тест-системы для диагностики возбудителей сапа и мелиоидоза была использована минимальная концентрация антител (5,5 мкг/мл) [6].

Неоднозначно мнение авторов и по поводу буферных растворов, используемых для получения конъюгата НчКЗ с антителами. Наночастицы коллоидного золота в растворах электролитов характеризуются нестабильностью, которая связана с нарушениями их энергетического барьера, приводящими к агрегации частиц. Поэтому для получения конъюгатов НчКЗ с антителами применяют буферные растворы с ионной силой не ниже 0,01 М [15]. Наиболее распространенными буферными растворами для получения конъюгатов (рабочими буферными растворами) являются сукцинатно-боратный, фосфатно-солевой, ацетатный, карбонатный растворы, а также трис-буфер. Например, авторы трис-буфер использовали в качестве рабочего буфера при создании тест-систем для детекции микотоксина [4], возбудителя бруцеллеза [8] и вируса табачной мозаики [10], фосфатно-солевой буфер — для детекции дифтерийного [5] и ботулинического токсина [14], карбонатный — для детекции возбудителей сапа и мелиоидоза [6].

Одним из способов повышения чувствительности создаваемых тест-систем является перевод антител, используемых для получения конъюгата (если они исходно находились, например, в фосфатно-солевом буферном растворе), в соответствующий рабочий буфер посредством диализа.

ИММУНОЛОГИЯ

Иммунохроматографическая тест-система, предназначенная для детекции:	Характеристика БР, используемого:			
	для диализа АТ	в качестве рабочего буфера	для отмывки конъюгата от несвязавшихся АТ и доведения его концентрации до необходимой оптической плотности	для анализа тест-систем
<i>H. pylori</i> [3]	0,01 М трис-НСI буфер, рН 9,0	0,01 М трис-НСI буфер, рН 9,0	0,02 М трис-НСI, рН 7,6 + 1,0 % БСА + 1,0 % сахараза + 0,1 % Tween-20 + 0,1 % NaN ₃	0,2 М карбонатный буфер, рН 9,5 + 4 мМ ЭДТА + 1,0 % БСА + 0,1 % NaN ₃
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> [5]	0,01 М карбонатный буфер, рН 9,0	0,01 М карбонатный буфер, рН 9,0	0,05 М ФБС, рН 7,4 + 0,1 М NaCl + 0,25 % БСА + 0,05 % NaN ₃	Нет информации
<i>Burkholderia mal- lei</i> [6]	0,005 М карбонатный буфер, рН 8,2	0,005 М карбонатный буфер, рН 8,2	0,02 М трис-буфер, рН 8,2 1 % сахараза, 1 % БСА, 0,02 % Tween20, 0,01 % NaN ₃	0,02М ФСБ + 0,05 % Tween 20
T2-токсина [4]	0,01 М трис-буфер, рН 9,0	0,01 М трис-буфер, рН 9,0	0,05 М трис-буфер рН 7,5 + 1,0 % БСА + 1,0 % сахараза + 0,05 % NaN ₃	0,02 М ФСБ + 0,1 % Тритон-Х-100
<i>Plasmodium falci- parum</i> [9]	0,05 М боратный буфер, рН 7,4	0,05 М боратный буфер, рН 7,4 10 % БСА, 0,5 % Tween 20, 0,05 % NaN ₃	0,05 М боратный буфер, рН 7,4 0,1 % БСА, 0,5 % Tween 20, 0,05 % NaN ₃	0,05 М боратный буфер, рН 7,4 + 1 % БСА + 0,5 % Tween 20 + 0,05 % NaN ₃

Эффективность адсорбции иммуноглобулинов на НчКЗ зависит от рН буферного раствора, в котором находятся антигена: оптимальный диапазон его значений, согласно данным литературы, составляет 8—9 ед. [3—5].

В качестве стабилизаторов в состав рабочего буфера чаще всего добавляют бычий сывороточный альбумин в концентрации от 0,25% [3] до 10% [7] и 1% сахаразу [3, 6, 7].

Имеются некоторые закономерности в использовании комбинаций буферных растворов для получения конъюгата антител с НчКЗ; для отмывки конъюгата от несвязавшихся антител и последующего разведения конъюгата до необходимой оптической плотности (в соответствии с данными спектрофотометрии); в качестве буфера разгона при анализе тест-систем (см. таблицу).

Наиболее часто используемые комбинации буферных растворов, применяемые при разработке и анализе иммунохроматографических тест-систем [3—6, 9]

Для отмывки полученного конъюгата от антител, не связанных с частицами золота, используют метод центрифугирования. По данным литературы, чаще всего с этой целью используют следующие режимы центрифугирования: температура — +4°C, время центрифугирования — 15 [7, 16] — 45 [17] мин, значение центробежной силы — от 6000 g [18] до 25 000 g [15].

После центрифугирования супернатант удаляют, осадок ресуспендируют в стабилизирующем буферном растворе, в качестве консерванта добавляют 0,1% раствор азида натрия [3, 4, 6, 7].

Иммунохроматографическая тест-система представляет

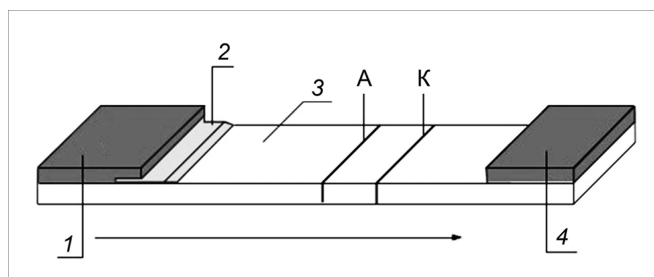


Рис. 1. Состав мультимембранного композита.

1 — мембрана для нанесения образца; 2 — мембрана для конъюгата; 3 — рабочая мембрана; 4 — адсорбирующая мембрана; А — аналитическая зона; К — контрольная зона [19].

собой мультимембранный композит, состоящий из мембраны для образца, мембраны для конъюгата, аналитической и адсорбирующей мембран. Состав мультимембранного композита иммунохроматографической тест-системы представлен на рис. 1.

Чувствительность и специфичность разрабатываемой тест-системы во многом зависят от выбора рабочей мембраны, на которой в ходе анализа формируются иммунные комплексы.

В работе А.Е. Урусова [4] был проведен анализ 12 видов рабочих мембран двух самых популярных фирм-производителей мембран для ИХА — MDI («Advanced Microdevices», Индия) и «Millipore» (США), различающихся скоростью латерального потока. Результаты исследования показали, что с повышением скорости потока коллоидного маркера с иммобилизованными антителами по рабочей мембране увеличивается специфичность, уменьшается время анализа, но в разы снижается чувствительность (предел обнаружения возбудителя) [4].

Из данных, представленных на рис. 2, следует, что для определения афлатоксина АФБ1 оптимальной оказалась мембрана MDI CNPC 15, поскольку при ее использовании обеспечивались максимальная интенсивность окрашивания образующихся полос и высокая чувствительность (предел обнаружения при визуальной детекции составил 1 нг афлатоксина на 1 мл пробы). Аналогичные исследования были проведены и в отношении охратоксина А, при этом лучшие результаты по интенсивности окраски и пределу обнаружения были получены при использовании мембраны Millipore HF 240 [4].

Чаще всего при разработке иммунохроматографических тест-систем используют мембраны фирмы MDI (данную фирму предпочли авторы 11 из 17 проанализированных статей) [3—11, 18, 20]. Процентное соотношение в пользу выбора рабочей мембраны фирмы-производителя MDI и Millipore составляет, соответственно, 35,3 и 65,7%.

Однако и при использовании мембран одной из выше-названных фирм нет единого мнения по поводу их преимуществ, связанных с размером пор в мембране и скоростью латерального потока жидкости. Из продуктов фирмы MDI для конструирования тест-систем выбирают обычно мембраны CNPF10 (CNPC10) с размером пор 10 мкм и скоростью латерального потока 4 см за 125 с [3] (120 с [4]) или CNPC15 с размером пор 15 мкм и скоростью латерального потока 4 см за 100 с. Из мембран фирмы Millipore — HF240 (скорость латерального течения — 240 с/4 см) [4, 7, 15] или HF120 (скорость латерального течения — 120 с/4см).

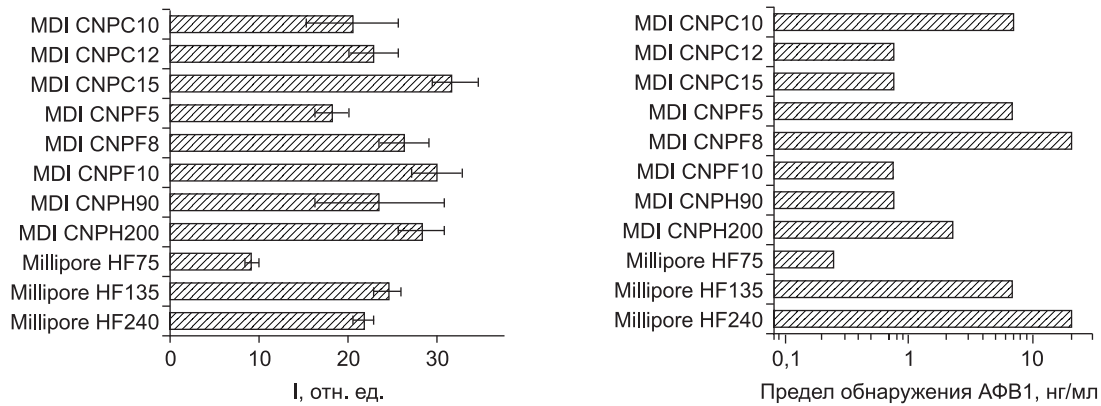


Рис. 2. Влияние рабочей мембраны на характеристики иммунохроматографического определения афлатоксина АФВ1 [14].

При нанесении конъюгата НчКЗ с антителами оптимальным выбором являются мембраны фирмы MDI (PT-R-5 [6, 10, 19], PT-R-7 [3, 7]).

Эффективным способом повышения чувствительности иммунохроматографического анализа является усиление окраски аналитической зоны после добавления солей серебра [3]. Для этого после проведения иммунохроматографии на рабочую мембрану тест-полоски с окрашенными зонами накладывают мембрану с лактатом серебра и гидрохиноном и наносят 100 мкл дистиллированной воды. Через 10 мин мембрану снимают и регистрируют цифровое изображение зон связывания иммунореагентов с помощью сканера CanoScan LiDE 90. Усиление окраски зон обусловлено восстановлением катиона и образованием оболочки металлического серебра вокруг НчКЗ.

Оптический сигнал, генерируемый НчКЗ, может быть усилен с помощью ферментов. В работе С. Paoletti и соавт. [20] предложена иммунохроматографическая тест-система, в которой НчКЗ конъюгированы с антителами и пероксидазой. После проведения анализа тест-полоску отмывают от несвязавшихся реагентов и погружают в раствор субстрата пероксидазы (тетраметилбензидина, дающего ярко-синий нерастворимый продукт окисления) [12].

Успех создания высокочувствительной иммунохроматографической тест-системы во многом зависит от условий нанесения реагентов на мембраны тест-полоски. Так, А.Е. Урусовым и А.В. Жердевым на примере тест-системы для выявления липополисахарида *Vibrio cholerae* определены оптимальные условия иммобилизации реагентов на иммунохроматографические мембраны [20]: скорость нанесения антител на аналитическую и контрольную зоны — 5—20 мм/с; концентрация наносимых реагентов — 1—3 мкл/мм (рис. 3); оптимальное значение скорости нанесения реагентов на стекловолоконистую мембрану для конъюгата — 8 мкл/мм (обеспечивает равномерную пропитку мембраны и отсутствие избытка реагента); оптимальные значения pH буфера разгона

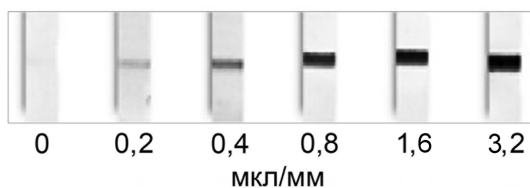


Рис. 3. Зависимость интенсивности сигнала от концентрации антител, наносимых на аналитическую зону [20].

— 8—9 ед. Кроме того, с целью обеспечения равномерности потока иммунохимических компонентов по мембране во время тестирования и для повышения специфичности иммунохроматографического анализа авторы рекомендуют добавлять в состав буфера разгона небольшие количества детергентов — 0,05% SDS или 0,005% Тритон X-100 [20].

После нанесения иммунореагентов готовые мембраны хранят при комнатной температуре в течение как минимум 7—8 ч до полного высыхания и сборки мультикомпозиата [20]. Упаковывать изготовленные тест-системы следует в пакеты из комбинированного материала на основе алюминиевой фольги вместе с расфасованным по 0,6 г силикагелем, хранить — при комнатной температуре [3].

Таким образом, в данной статье обобщены данные по выбору оптимальных условий разработки высокоспецифичных и высокочувствительных иммунохроматографических тест-систем для диагностики инфекционных заболеваний [3—11, 14, 18]. Следует учесть, что значения таких параметров, как концентрация антител в конъюгате с НчКЗ, молярность и pH буферных растворов, не являются универсальными для всех тест-систем. Выше представлены лишь наиболее распространенные варианты, упоминаемые в проанализированных работах. Условия постановки реакции, номенклатуру и концентрации используемых иммунохимических реагентов в каждом конкретном случае уточнять следует экспериментально.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 9, 16—17 см. REFERENCES)

- Будчанов Ю.И. Реакции, основанные на взаимодействии антигена с антителом. Тверь; 2012.
- Метод калибровочных кривых для иммунохроматографических экспресс-тестов. Часть I. Иммунохроматографические экспресс-тесты с коллоидным золотом. Available at: <http://www.vniims.ru/inst/publication/public-metrol-1-10-2012.html>.
- Бызова Н.А., Жердев А.В., Свешников П.Г., Садыхов Э.Г., Дзантиев Б.Б. Разработка иммунохроматографической тест-системы для детекции антигенов *H. pylori*. *Прикладная биохимия и микробиология*. 2015; 51(5): 520—30.
- Урусов А.Е. Разработка и сравнительная характеристика систем экспрессного иммунохимического определения микотоксинов: Автореф. дисс. ... канд. хим. наук. М.; 2012.
- Бызова Н.А., Свиридов В.В., Гаврилов Н.Ф., Распопова Е.Н., Яковлева И.В., Генералова А.Н. и др. Иммунохроматографическая и латекс-агглютинационная система детекции дифтерийного токсина. *Биоорганическая химия*. 2009; 35(4): 533—41.
- Федюкина Г.Н., Ветчинин С.С., Баранова Е.В., Рудницкий С.Ю., Соловьев П.В., Колосова Н.В. и др. Получение ком-

- понтентов иммунохроматографического теста для выявления возбудителей сапа и мелиоидоза. *Биотехнология*. 2015; (1): 85—92.
- Петракова А.В., Урусов А.Е., Возняк М.В., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б. Иммунохроматографическая тест-система для детекции T-2 токсина. *Прикладная биохимия и микробиология*. 2015; 51(6): 616—23.
 - Бызова Н.А., Жердев А.В., Ескендинова С.З., Балтин К.К., Унышева Г.Б., Муканов К.К. и др. Разработка иммунохроматографических тест-систем для экспрессной детекции липолисахаридного антигена и клеток возбудителя бруцеллеза крупного рогатого скота. *Прикладная биохимия и микробиология*. 2012; 48(6): 653—61.
 - Дрыгин Ю.Ф., Блинцов А.Н., Осипов А.П., Григоренко В.Г., Андреева И.П., Усков А.И. и др. Высокочувствительный иммунохроматографический экспресс-метод определения зараженности растений вирусом табачной мозаики. *Биохимия*. 2009; 74(9): 1212—20.
 - Пивень Н.В., Бураковский А.И. Современные модификации иммунохимических диагностикумов: экспресс-методы. *Иммунопатология, аллергология, инфектология*. 2012; (3): 6—12.
 - Таранова Н.А. Комплекс антител с нанодисперсными носителями: синтез, свойства и применение в иммунохроматографии: Дисс. ... канд. хим. наук. М.; 2014.
 - Бызова Н.А., Сотников Д.В. Влияние состава конъюгатов коллоидного золота с белками на эффективность их использования с иммунохроматографическом анализе. *Современные проблемы науки и образования*. 2013; (3): 1—8.
 - Титов А.А., Шиленко И.В., Морозов А.А., Ярков С.П., Здобин В.Н. Разработка и оптимизация иммунохроматографических тестов для выявления ботулинических токсинов. *Прикладная биохимия и микробиология*. 2012; 48(2): 249—56.
 - Мокрецова И.М., Богачева Н.В. Обоснование способов получения основных компонентов иммунохроматографических тест-систем. *Аргіті. Серія: Естественные и технические науки*. 2014; (5): 4.
 - Сотников Д.В., Жердев А.В., Авдиенко В.Г., Дзантиев Б.Б. Иммунохроматографическая серодиагностика туберкулеза с использованием конъюгата коллоидное золото—антиген. *Биотехнология*. 2015; (2): 76—81.
 - Скопинская С.Н., Ярков С.П., Здобин В.Н., Валиев Х.Х. Использование гидрозоль гексацианоферрата железа для создания диагностических иммунохроматографических тест-систем. *Вестник РАМН*. 2012; (3): 80—6.
 - Урусов А.Е., Жердев А.В. Изучение зависимости аналитических параметров иммунохроматографических тест-систем от режима иммобилизации иммунореагентов на мембраны. *Современные проблемы науки и образования*. 2013; (3): 25—31.
 - tems Express Immunochemical Determination of Mycotoxins: Diss. Moscow; 2012. (in Russian)
 - Byzova N.A., Sviridov V.V., Gavrilo N.F., Raspopova E.N., Yakovleva I.V., Generalova A.N. et al. Immunoassay and latex agglutination-detection system of diphtheria toxin. *Bioorganicheskaya khimiya*. 2009; 35(4): 533—41. (in Russian)
 - Fedyukina G.N., Vetchinin S.S., Baranova E.V., Rudnitskiy S.Yu., Solov'ev P.V., Kolosova N.V. et al. Getting components immunoassay for the detection of pathogens glanders and melioidosis. *Biotechnologiya*. 2015; (1): 85—92. (in Russian)
 - Petrakova A.V., Urusov A.E., Voznyak M.V., Zherdev A.V., Dzantiev B.B. Immunoassay test system for the detection of T-2 toxin. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 2015; 51(6): 616—23. (in Russian)
 - Byzova N.A., Zherdev A.V., Eskendirova S.Z., Baltin K.K., Unysheva G.B., Mukanov K.K. et al. Development of immunochromatographic test-systems for express detection of polysaccharide antigen of the pathogen and the cells of the brucellosis in cattle. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 2012; 48(6): 653—61. (in Russian)
 - Peng Y., Wu J., Wang J., Li W., Yu S. Wang. Study and evaluation of Wondfo rapid diagnostic kit based on nano-gold immunochromatography assay for diagnosis of Plasmodium falciparum. *Parasitol. Res.* 2012; 110(4): 1421—5.
 - Drygin Yu.F., Blintsov A.N., Osipov A.P., Grigorenko V.G., Andreeva I.P., Uskov A.I. et al. Highly sensitive immunoassay rapid method for the determination of plant infection by tobacco mosaic virus. *Biokhimiya*. 2009; 74(9): 1212—20. (in Russian)
 - Piven' N.V., Burakovskiy A.I. Modern versions immunochemistry diagnostics: rapid methods. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya*. 2012; (3): 6—12. (in Russian)
 - Taranova N.A. The Complex Antibody Nanodispersnyimi Carriers: Synthesis, Properties and Applications in Immunoassay: Diss. Moscow: 2014. (in Russian)
 - Byzova N.A., Sotnikov D.V. Influence of the composition of colloidal gold conjugates with proteins on the efficiency of their use with the immunoassay analysis. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2013; (3): 1—8. (in Russian)
 - Titov A.A., Shilenko I.V., Morozov A.A., Yarkov S.P., Zdobin V.N. Development and optimization of immunoassay for the detection of botulinum toxins. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 2012; 48(2): 249—56. (in Russian)
 - Mokretsova I.M., Bogacheva N.V. Substantiation of ways for producing of immunochromatographic test-system's major components. *Apriori. Seriya: Estestvennye i tekhnicheskie nauki*. 2014; (5): 4. (in Russian)
 - Parolo C., de la Escosura-Muñiz A., Merkoçi A. Enhanced lateral flow immunoassay using gold nanoparticles loaded with enzymes. *Biosens. Bioelectron*. 2013; 40(1): 412—6.
 - Omidfar K., Kia S., Kashanian S., Paknejad M., Besharatie A., Kashanian S. et al. Colloidal nanogold-based immunochromatographic strip test for the detection of digoxin toxicity. *Appl. Biochem. Biotechnol*. 2010; 160(3): 843—55.
 - Sotnikov D.V., Zherdev A.V., Avdienko V.G., Dzantiev B.B. Immuno-chromatographic assay for serodiagnosis of tuberculosis using an antigen-colloidal gold conjugate. *Biotechnologiya*. 2015; (2): 76—81. (in Russian)
 - Skopinskaya S.N., Yarkov S.P., Zlobin V.N., Valiev Kh.Kh. Using hydrosols hexacyanoferrate iron to create immunochromatographic diagnostic test systems. *Vestnik RAMN*. 2012; (3): 80—6. (in Russian)
 - Urusov A.E., Zherdev A.V. Study of the dependence of analytical parameters immunochromatographic test systems on the mode of immobilization immunoreagents membranes. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2013; (3): 25—31. (in Russian)

REFERENCES

- Budchanov Yu.I. *The Reactions are Based on the Interaction of the Antigen with the Antibody* [Reaktsii, osnovannye na vzaimodeystvii antigena s antitelom]. Tver'; 2012. (in Russian)
- The method of calibration curves for immunochromatographic rapid tests. Part I Immunochromatographic rapid tests with colloidal gold. Available at: <http://www.vniims.ru/inst/publication/public-metrol-1-10-2012.html>. (in Russian)
- Byzova N.A., Zherdev A.V., Sveshnikov P.G., Sadykhov E.G., Dzantiev B.B. Development of immunoassay systems to detect antigen H. pylori. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 2015; 51(5): 520—30. (in Russian)
- Urusov A.E. Development and Comparative Characteristics of Sys-

Поступила 20.04.16
Принята к печати 15.05.16