

©КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

Никитина А.В.<sup>1</sup>, Марданлы С.Г.<sup>1,2</sup>, Помазанов В.В.<sup>1,2</sup>

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ АПРОБАЦИЯ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ГЕМОГЛОБИНА В КАЛЕ

<sup>1</sup>ЗАО «ЭКОлаб», 142530, г. Электрогорск, Московская обл., Россия;

<sup>2</sup>Государственный гуманитарно-технологический университет «ГГТУ» ГОУВО Московской обл., 142611, г. Орехово-Зуево, Московская обл., Россия

*Представлены результаты апробации иммунохроматографической тест-системы для выявления скрытой крови (гемоглобина) в кале. Тест апробирован на образцах, не содержащих гемоглобин, и на модельных пробах, сенсibilизированных стандартизированным препаратом гемоглобина в различных концентрациях в сравнении с двумя иммунохроматографическими тест-системами. Разработанная тест-система обеспечила выявление гемоглобина в концентрации выше 50 нг/мл в 99,2% случаев, специфичность анализа составила 98,1%. Полученные показатели чувствительности и специфичности превысили аналогичные параметры для сравниваемых тест-систем. Иммунохроматографический FOB-тест может быть использован для экспрессного исследования при первичном скрининге колоректального рака.*

**Ключевые слова:** иммунохроматографический анализ; иммунохроматографический тест; FOB-тест; гемоглобин; скрытая кровь; скрининг.

**Для цитирования:** Никитина А.В., Марданлы С.Г., Помазанов В.В. Сравнительная апробация иммунохроматографической тест-системы для выявления гемоглобина в кале. Клиническая лабораторная диагностика. 2020; 65 (7): 439-442. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-7-439-442>

*Nikitina A.V.<sup>1</sup>, Mardanly S.G.<sup>1,2</sup>, Pomazanov V.V.<sup>1,2</sup>*

### COMPARATIVE EVALUATION OF THE IMMUNOCHROMATOGRAPHIC TEST FOR DETECTION OF HEMOGLOBIN

<sup>1</sup>EKOLAB, Elektrogorsk, 142530, Moscow Region, Russia;

<sup>2</sup>State educational institution of higher education of the Moscow region State Humanitarian University of Technology «GGTU», 142611, Orekhovo-Zuyevo, Moscow region, Russia

*The evaluating results of the diagnostic characteristics of an immunochromatographic test for the detection of fecal occult blood (hemoglobin) were presents in the article. The test was approved samples without hemoglobin and model samples containing of standardized preparation of hemoglobin in various concentrations in comparison with two immunochromatographic test systems. The developed test system identified hemoglobin in concentrations higher 50 ng/ml in 99,2% cases, the specificity of the analysis was 98,1%. The obtained levels of sensitivity and specificity were higher the similar parameters for the compared test systems. The immunochromatographic FOB-test can be used for rapid analysis in the primary screening of colorectal cancer.*

**Key words:** immunochromatographic analysis; immunochromatographic test; fecal occult blood; hemoglobin; FOB-test; screening.

**For citation:** Nikitina A.V., Mardanly S.G., Pomazanov V.V. Comparative evaluation of the immunochromatographic test for detection of hemoglobin. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2020; 65 (7): 439-442 (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-7-439-442>

**For correspondence:** Nikitina A.V., a head of the Express diagnostic Departments EKOLab; e-mail: [ekolab-nikitina@mail.ru](mailto:ekolab-nikitina@mail.ru)

#### Information about authors:

Nikitina A.V., <http://orcid.org/0000-0003-2373-7702>

Mardanly S.G., <https://orcid.org/0000-0002-4556-135X>

Pomazanov V.V., <https://orcid.org/0000-0002-7336-9912>

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

**Acknowledgment.** *The study had no sponsor support.*

Received 21.03.2020

Accepted 25.03.2020

**Введение.** Злокачественные новообразования (ЗНО) – одна из острых социальных и медицинских проблем. Среди ЗНО колоректальный тип рака (КРР) является третьим по распространённости в мире и вторым – в России [1]. Вследствие его невысокой скорости прогрессирования, успешности эктомии ЗНО на первичных стадиях, проведение скрининговых мероприятий по своевременному обнаружению предраковых состояний

позволяет значительно снизить заболеваемость КРР и повысить процент выживаемости при его раннем выявлении [5]. Проведение скрининга КРР подразумевает выделение пациентов группы риска на основании результатов первичного звена неинвазивных, экспрессных и недорогих методов с дальнейшим обследованием выделенной группы более точными инструментальными методами. В качестве тестов «первой линии» использу-

**Для корреспонденции:** Никитина Анна Викторовна нач. отд-ния экспресс-диагностики ЗАО «ЭКОлаб»; e-mail: [ekolab-nikitina@mail.ru](mailto:ekolab-nikitina@mail.ru)

ются методы, основанные на выявлении скрытой крови (гемоглобина) в кале: биохимические (гваяковая и бензидиновая пробы) и иммунохимические (агломинация латекса, иммуноферментный и иммунохроматографический (ИХ) анализ). Биохимические методы обладают значительно меньшей чувствительностью по сравнению с иммунохимическими (FIT-тестами) [6] и имеют ряд ограничений для применения (необходимость соблюдения диеты, избегание приёма некоторых лекарственных препаратов, возможность получения ложноположительных результатов [2]), в связи с чем, всё более широкое распространение в лабораторной практике получают иммунохимические виды анализа. Осуществление экономически эффективного скрининга обуславливает применение недорогих и экспрессных методик, чему в полной мере отвечают тесты для ИХ анализа, используемые в РФ для скрининга КРР в рамках диспансеризации населения<sup>1</sup>.

Несмотря на то, что FIT-тесты демонстрируют более высокую чувствительность при диагностике КРР по сравнению с биохимическими методами, для предраковых состояний показатели чувствительности FIT-тестов значительно ниже [7]. С целью увеличения выявляемости КРР на ранних стадиях, полипозных образований толстого кишечника до начала их малигнизации устанавливаются значения пороговых уровней (cut off) используемых FIT-тестов. Для определения оптимального порогового значения для скрининга с помощью иммунохимических тестов используются данные рандомизированных исследований и национальных программ скрининга КРР по эффективности FIT-тестирования при различных уровнях cut off в популяции со средним риском [8]. В группе лиц с подтверждёнными диагнозами оптимальные показатели между частотой выявляемости неоплазий и количеством ложноположительных результатов FIT-тестов достигались при пороговых уровнях 50-75 нг/мл [9]. Применяемые в РФ ИХ тесты преимущественно имеют аналитическую чувствительность 50 нг/мл.

Введение скрининговых программ КРР связано с необходимостью применения высокочувствительных методик [3] первичного звена диагностики, позволяющих эффективно выявлять наличие ранних форм КРР и аденоматозные полипы, избегая при этом гипердиагностики инструментальными методами.

Цель работы – апробация новой ИХ тест-системы производства ЗАО «ЭКОлаб» для выявления гемоглобина в образцах кала в сравнении с аналогичными наборами, используемыми в лабораторной практике.

**Материал и методы.** Для создания ИХ теста «ИХА-Скрытая кровь (ЗАО «ЭКОлаб»)» использовались козы антигена к иммуноглобулинам кролика (ООО «Имтек», Россия) – для создания контрольной линии, и мышинные моноклональные антигены к гемоглобину человека (Medix, Финляндия) – для тестовой линии. Иммунореагенты нанесены в виде линий на нитроцеллюлозные мембраны CN140 (Sartorius, Германия) с помощью диспенсера HGS-510 (Autokun, Китай) в объёме 1,5 мкл/см. Для детекции образующихся на аналитической мембране комплексов в состав тест-полосок вводили мембрану, пропитанную смесью конъюгатов коллоидного

золота (ЗАО «ЭКОлаб»), размер частиц 20-50 нм) с иммуноглобулинами IgG кролика и с мышинными моноклональными антителами к гемоглобину человека (Medix, Финляндия). Смесью полученных конъюгатов наносили на предварительно подготовленную стекловолоконную мембрану (PT-R7 AMD, Индия) в объёме 27 мкл/см мембраны. Мембраны с иммунореагентами высушивали при комнатной температуре и влажности не более 30% в течение 24 ч и далее наклеивали на твёрдую подложку. Подготовленный композит нарезали на автоматическом резаке (Autokun, Китай) на полоски шириной 4 мм. Каждую полоску упаковывали в пластиковый катридж с 2 отверстиями: для внесения исследуемого образца и зоной для просмотра результатов анализа. Полученные тесты хранились в фольгированных запаянных пакетах с влагопоглотителем при комнатной температуре.

ИХ тест-система для выявления гемоглобина апробирована на клиническом материале и модельных пробах в сравнении с аналогичными тестами для качественного определения скрытой крови в кале «ИХА-FOB-ФАКТОР» (ООО «Фактор-Мед», Россия) и «ИммуноХром-ГЕМ-Экспресс» (ООО «Мед-Экспресс-Диагностика», Россия).

В качестве клинического материала для оценки специфичности ИХ тест-систем использованы образцы кала, собранные в рамках диспансеризации и с согласия обследуемых ( $n=118$ ). Образцы получены от лиц в возрасте от 23 лет до 41 года без отягощённого анамнеза по патологиям ЖКТ, в связи с чем предполагалось отсутствие гемоглобина (или его наличие ниже уровня cut-off) в пробах, полученных от обследуемых. Для подтверждения все образцы проанализированы с помощью тест-системы Hemoglobin Test-2 (Vedlab, Франция). На основании предварительной оценки и по результатам анализа из данных проб сформирована контрольная группа.

Часть образцов, не содержащих нативный гемоглобин ( $n=15$ ), использовалась для создания модельных проб, предварительно искусственно контаминированных стандартизированным препаратом (Level 1 ClinChek, Recipe, Германия) в концентрациях от 800000 нг/мл до 50 нг/мл ( $n=120$ ) и от 40 нг/мл до 10 нг/мл ( $n=45$ ). Полученные пробы использовали для оценки аналитической чувствительности и установления диапазона определяемых концентраций гемоглобина для сравниваемых тестов. Каждую пробу исследовали как минимум в двух повторах. Дальнейшая подготовка образцов, проведение анализа, учёт результатов проведены по методикам, аналогичным описанным ранее [4]. Анализ образцов и интерпретацию результатов, полученных с помощью ИХ тест-систем производства ООО «Фактор-Мед» и ООО «Мед-Экспресс-Диагностика», осуществляли в соответствии с инструкциями производителей. В связи с визуальной оценкой результатов анализа для сравнения яркости окрашивания тестовой линии в случае положительного срабатывания использована шкала значений от 1 (минимальное окрашивание) до 5 (максимальная степень окрашивания) условных единиц.

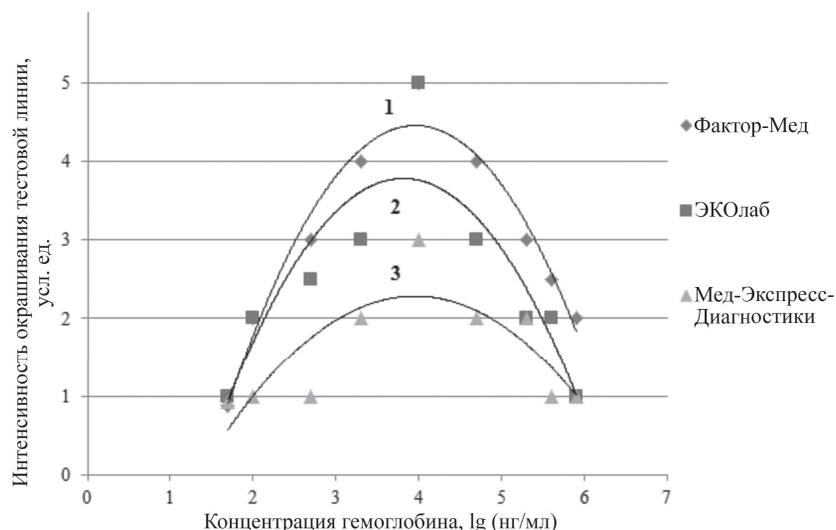
**Результаты.** Частота выявления образцов ( $n=240$ ), содержащих гемоглобин выше порогового уровня (50 нг/мл для всех используемых тест-систем), составила 88,3%, 92,5% и 99,2% для тест-систем «ИХА-FOB-ФАКТОР», «ИммуноХром-ГЕМ-Экспресс» и «ИХА-Скрытая кровь» соответственно. Образцы, содержащие гемоглобин в концентрации от 10 до 40 нг/мл ( $n=90$ ),

<sup>1</sup>Приказ Минздрава РФ от 26.10.2017 г. № 869н «Об утверждении порядка проведения диспансеризации определённых групп взрослого населения».

**Характеристики иммунохроматографических тест-систем для выявления гемоглобина**

Показатели	Характеристики ИХ тестов		
	«ИХА-ФОВ-ФАКТОР»	«ИХА-Скрытая кровь»	«ИммуноХром-ГЕМ-Экспресс»
Время анализа, мин	5	5-10	5
Порог детекции гемоглобина*, нг/мл	50	50	50
Динамический диапазон**, нг/мл	50 – ≥800000	50 – ≥800000	50 – ≥800000
Чувствительность выявления гемоглобина**, %	88,3	99,2	92,5
Специфичность, %	96,6	98,1	88,5

Примечание. \* – согласно инструкции производителя; \*\* – на модельных образцах.



Выявление гемоглобина (50-800000 нг/мл) в модельных пробах с помощью ИХ-тестов.

определены как отрицательные в 92,2% («ИХА-ФОВ-ФАКТОР»), 73,3% («ИммуноХром-ГЕМ-Экспресс») и 95,6% («ИХА-Скрытая кровь») случаев. Все пробы из контрольной группы ( $n=118$ ) дали отрицательный результат во всех трёх тест-системах. Полученные данные по чувствительности и специфичности сравниваемых наборов реагентов представлены в таблице.

При исследовании образцов, содержащих гемоглобин в различных концентрациях ( $n=530$ ), с помощью трёх тест-систем продемонстрирована типичная зависимость изменения степени окрашивания тестовой линии от концентрации гемоглобина в образце. Максимум интенсивности окрашивания наблюдался для проб, содержащих 10 000 нг/мл гемоглобина, для всех трёх тест-систем. Дальнейшее увеличение концентрации белка сопровождалось снижением яркости тестовой линии (см. рисунок). Максимальный уровень гемоглобина в исследованных пробах (800 000 нг/мл) определён во всех тест-системах. Динамический диапазон выявляемых значений гемоглобина с помощью ИХ тестов установлен в пределах 50 – ≥800 000 нг/мл. Интенсивность окрашивания тестовой линии максимальна для теста «ИХА-ФОВ-ФАКТОР» и минимальна – для теста «ИммуноХром-ГЕМ-Экспресс» (не более 3-х усл. ед.).

**Обсуждение.** Сравнительные испытания трёх тест-систем, проведённые на клинических образцах и модельных пробах, показали одинаковые возможности тестов при детекции гемоглобина в диапазоне 100-800000 нг/мл. Несмотря на заявленный производителями пороговый уровень 50 нг/мл, полученные показатели чувствительности не достигали максимального значения

именно вследствие отрицательных результатов анализа проб, содержащих пороговые значения гемоглобина. Уровень гемоглобина в кале от 50 до 100 нг/мл не является диагностически значимым для постановки диагноза, поскольку рассматривается как «серая зона», однако выявление скрытой крови даже в таких концентрациях является поводом для повторного анализа, особенно для пациентов группы риска.

Динамические диапазоны выявления гемоглобина сопоставимы для всех трёх тест-систем. При этом наименьшая яркость окрашивания тестовой линии по сравнению с двумя другими наборами реагентов получена для теста «ИммуноХром-ГЕМ-Экспресс» независимо от концентрации гемоглобина в пробах. Для ИХ тестов с визуальной детекцией интенсивность окраски играет значительную роль при интерпретации результатов анализа, поскольку недостаточная чёткость тестовой линии может привести к ложноотрицательному результату.

Полученные результаты апробации тест-системы «ИХА-Скрытая кровь» в сравнении с двумя аналогичными ИХ тестами свидетельствует о сопоставимых показателях времени анализа, точности и диапазона выявляемых концентраций гемоглобина. Тест-система «ИХА-Скрытая кровь» продемонстрировала более высокие значения чувствительности и специфичности. На основании полученных результатов апробируемый тест может быть использован в целях первичного скрининга КРР.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА ( пп. 5-9 см. REFERENCES )

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В., ред. Состояние онкологической помощи населению России в 2018 году. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; 2019.
2. Краевский Н.А. Патологоанатомическая диагностика опухолей человека. Т.2. Краевский Н.А., Смольяников А.В., Саркисов Д.С., ред. М.: Медицина; 1993.
3. Марданлы С.Г. Задачи и перспективы совершенствования клинической лабораторной диагностики инфекций группы TORCH. *Вестник службы крови России*. 2013; 2: 54-60.
4. Никитина А.В., Акиншина Ю.А., Ницакова Н.Е., Амелина Е.А., Марданлы С.Г. Иммунохроматографический тест для выявления скрытой крови в кале. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2019; 64 (9): 536-40.

REFERENCES

1. Kraevskiy N.A. Pathological diagnosis of human tumors. Vol.2. [Patologoanatomicheskaya diagnostika opukholey cheloveka]. Tom 2. Kraevskiy N.A., Smol'yannikov A.V., Sarkisov D.S., eds. Moscow: Meditsina; 1993. (in Russian)
2. Kaprin A.D., Starinskiy V.V., Petrova G.V., eds. The status of cancer care for the population of Russia in 2018 [Sostoyanie onkologicheskoy pomoshchi naseleniyu Rossii v 2018 godu]. Moscow: MNI OI im. P.A. Gertsena – filial FGBU «NMI C radiologii» Minzdrava Rossii; 2019. (in Russian)

3. Mardanly S.G. The objective and the perspective for improving the clinical laboratory diagnosis of TORCH infections. *Vestnik sluzhby krvi Rossii*. 2013; 2: 54-60. (in Russian)
4. Nikitina A.V., Akinshina Y.A., Nishchakova N.E., Amelina E.A., Mardanly S.G. Immunochromatographic test for detection of fecal occult blood. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2019; 64 (9): 536-40. (in Russian)
5. Rhodes J.M. Colorectal cancer screening in the UK: Joint Position Statement by the British Society of Gastroenterology, The Royal College of Physicians, and The Association of Coloproctology of Great Britain and Ireland. *Gut*. 2000; 46: 746-8.
6. Brenner H., Tao S. Superior diagnostic performance of faecal immunochemical tests for haemoglobin in a head-to-head comparison with guaiac based faecal occult blood test among 2235 participants of screening colonoscopy. *Eur. J. Cancer*. 2013; 49: 3049-54.
7. Morikawa T., Kato J., Yamaji Y., Wada R., Mitsushima T., Shiratori Y. A comparison of the immunochemical fecal occult blood test and total colonoscopy in the asymptomatic population. *Gastroenterology*. 2005; 129: 422-8.
8. Levi Z., Rozen P., Hazazi R., Vilkin A., Waked A., Maoz E., Birkenfeld S., Leshno M., Niv Y. A quantitative immunochemical fecal occult blood test for colorectal neoplasia. *Ann. Intern. Med.* 2007; 146: 244-55.
9. Hol L. et al. Screening for colorectal cancer: random comparison of guaiac and immunochemical faecal occult blood testing at different cut-off levels. *Br. J. Cancer*. 2009; 100 (7): 1103-10.

Поступила 21.03.20

Принята к печати 25.03.20