

ИММУНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

Андрюков Б.Г.^{1,2}, Ляпун И.Н.¹, Бынина М.П.¹, Матосова Е.В.¹

УПРОЩЁННЫЕ ФОРМАТЫ СОВРЕМЕННЫХ БИОСЕНСОРОВ: 60 ЛЕТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ ТЕСТ-СИСТЕМ В ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ

¹ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г. П. Сомова» Минобрнауки РФ, 690087, Владивосток, Россия;

²Дальневосточный федеральный университет Минобрнауки РФ, 690950, Владивосток, Россия

Иммунохроматографические (ИХ) тест-системы, известные зарубежным специалистам лабораторной диагностики как иммуноанализы латерального потока (lateral flow immunoassay, LFIA), представляют собой упрощённые ленточные форматы современных биосенсоров. В течение 60 лет они широко используются для быстрого обнаружения молекул-мишеней (лигандов) в биосубстратах и диагностики многих заболеваний и состояний. Растущая популярность этих тест-систем для оказания медицинской помощи или проведения диагностики в развивающихся странах, медицинских учреждениях, при неотложных состояниях, для индивидуального домашнего использования пациентами при мониторинге здоровья являются основными факторами, способствующими постоянному развитию и совершенствованию этих методов, появлению форматов нового поколения. Привлекательность и популярность этих быстрых, простых в использовании, недорогих и портативных диагностических инструментов связана, в первую очередь, с их высокой аналитической чувствительностью и специфичностью, лёгкостью интерпретации полученных результатов. Эти качества прошли проверку временем, тест-системы LFIA полностью соответствуют современной мировой концепции «point-of-care testing», находя широкое применение не только в медицине, но и в экологии, ветеринарии, сельском хозяйстве. В обзоре будут освещены современные принципы конструирования наиболее широко используемых форматов ИХ тест-систем для клинической лабораторной диагностики, обобщены основные преимущества и недостатки метода, современные достижения и перспективы технологии LFIA. Современные инновации, направленные на улучшение аналитических характеристик технологии LFIA, интересны, перспективны, могут принести дополнительные преимущества ИХ платформ, снижавших им популярность и привлекательность на протяжении шести десятилетий.

Ключевые слова: иммунохроматографические (ИХ) тест-системы; иммуноанализы латерального потока (LFIA); клиническая лабораторная диагностика, концепция «point-of-care testing».

Для цитирования: Андрюков Б.Г., Ляпун И.Н., Бынина М.П., Матосова Е.В. Упрощённые форматы современных биосенсоров: 60 лет использования иммунохроматографических тест-систем в лабораторной диагностике. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020; 65 (10): 611-618. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-10-611-618>

Andryukov B.G.^{1,2}, Lyapun I.N.¹, Bynina M.P.¹, Matosova E.V.¹

SIMPLIFIED FORMATS OF MODERN BIOSENSORS: 60 YEARS OF USE OF IMMUNOCHROMATOGRAPHIC TEST SYSTEMS IN LABORATORY DIAGNOSTICS

¹Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Russian Ministry of Education and Science, 690087, Vladivostok, Russia;

²Far Eastern Federal University of the Ministry of Education and Science of Russia, 690950, Vladivostok, Russia

Immunochromatographic test systems known to foreign laboratory diagnostic experts as lateral flow immunoassay (LFIA) are simplified tape formats of modern biosensors. For 60 years, they have been widely used for the rapid detection of target molecules (ligands) in biosubstrates and the diagnosis of many diseases and conditions. The growing popularity of these test systems for providing medical care or diagnostics in developing countries, medical facilities, in emergency situations, as well as for individual home use by patients while monitoring their health are the main factors contributing to the continuous development and improvement of these methods, the emergence of a new generation of formats. The attractiveness and popularity of these fast, easy-to-use, inexpensive and portable diagnostic tools is associated primarily with their high analytical sensitivity and specificity, as well as the ease of interpretation of the results. These qualities have passed the test of time, and today LFIA test systems are fully consistent with the modern world concept of «point-of-care testing», finding wide application not only in medicine, but also in ecology, veterinary medicine, and agriculture. This review will highlight the modern principles of designing the most widely used formats of immunochromatographic test systems for clinical laboratory diagnostics, summarize the main advantages and disadvantages of the method, as well as current achievements and prospects of LFIA technology. Modern innovations aimed at improving the analytical characteristics of LFIA technology are interesting, promising and can bring additional benefits to immunochromatographic platforms that have gained popularity and attractiveness for six decades.

Key words: immunochromatographic test systems; lateral flow immunoassays (LFIA); clinical laboratory diagnostics; «point-of-care testing» concept.

For citation: Andryukov B.G., Lyapun I.N., Bynina M.P., Matosova E.V. Simplified formats of modern biosensors: 60 years of using immunochromatographic test systems in laboratory diagnostics. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2020; 65 (10): 611-618 (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-10-611-618>

Для корреспонденции: Андрюков Борис Георгиевич, д-р мед. наук, вед.науч.сотр. лаб. мол. микробиологии НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова, проф. департамента фундаментальных наук Дальневосточного федерального университета; e-mail: andryukov_bg@mail.ru

For correspondence: *Andryukov Boris Georgievich*, MD, Lead Researcher of the laboratory of molecular microbiology «Somov Institute of Epidemiology and Microbiology», Professor of the department of fundamental sciences «Far Eastern Federal University»; e-mail: andrukov_bg@mail.ru

Information about authors:

Andryukov B.G., <http://orcid.org/0000-0003-4456-808X>;

Lyapun I.N., <https://orcid.org/0000-0002-5290-3864>;

Bynina M.P., <https://orcid.org/0000-0001-8255-328X>;

Matosova E.V., <https://orcid.org/0000-0001-9968-3347>.

Acknowledgment. *This work was supported by the Comprehensive Program for Fundamental Research of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences "Far East", project No. 18-03-053.*

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

Received 04.01.20
Accepted 06.02.20

Введение. Без иммунохроматографических (ИХ) тестов, которые в течение 60 лет используются в клинической лабораторной диагностике, сегодня трудно представить работу любой лаборатории мира. Зарубежным специалистам эти системы известны под названием «иммуноанализ латерального потока» (lateral flow immunoassay, LFIA) или просто «анализ латерального потока» (lateral flow assay, FLA). Они являются реальной и перспективной альтернативой существующим аналитическим приборным технологиям. Эти устройства рассматриваются как упрощённые форматы современных биосенсоров, на котором элемент распознавания располагается на поверхности пористой мембраны, а результат визуализируется через несколько минут [1-4].

В условиях ограниченности ресурсов и специально обученного персонала эти быстрые, недорогие, надежные и простые в использовании диагностические платформы показали свою высокую эффективность. ИХ тесты представляют наиболее перспективный и динамически развивающийся сегмент экспресс-диагностики *in vitro*, с ежегодным совокупным ростом мирового производства в 7,7% [1, 2, 4, 5].

Растущая популярность ИХ тест-систем для оказания медицинской помощи или проведения диагностики в развивающихся странах, медицинских учреждениях, при неотложных состояниях, для индивидуального домашнего использования пациентами при мониторинге здоровья являются основными факторами, способствующими постоянному развитию и совершенствованию этих методов, появлению форматов нового поколения [2, 6-8].

Иммуноанализ латерального потока (LFIA). Впервые принцип диагностики на основе иммуноанализа бокового потока (бумажной хроматографии) предложен в 1959 г. биофизиком Розалин Ялоу (R.S. Yalow) и врачом-эндокринологом Соломоном Берсоном (S.A. Berson) (рис. 1).

Первой сконструированной системой на парафиновой бумаге был экспресс-тест для определения инсулина в плазме крови человека [9]. Новый принцип, вскоре получивший название IFLA, стал прорывной технологией не только для диагностики сахарного диабета. Форматы новых тестов быстро прогрессировали, бумагу заменила нитроцеллюлоза, и вскоре арсенал клинической лабораторной диагностики пополнился многочисленными тест-системами для определения других minor-ных анализатов крови (гормонов, ферментов, витаминов, маркеров инфекционного процесса). По мере развития технологии, её применение включает инфекционные заболевания, сердечно-сосудистые заболевания [10, 11],

биомаркеры рака [12], пищевые патогены [13], ветеринарную диагностику [14].

В последующие 60 лет предложены несколько конструктивных вариантов IFLA, упростивших метод и одновременно сделавших тест-системы более чувствительными и селективными, доступными и простыми в использовании. Это позволило использовать их не только сотрудникам лабораторий, но и другими медицинскими специалистами, самими пациентами для самоконтроля [7, 15-17].

Появление платформ LFIA опосредовано развитием пациент-ориентированных технологий, изменением парадигмы культуры ухода за больными и увеличением потребности медицины неотложных состояний к оперативному получению лабораторной информации для принятия срочных решений, появление глобальной концепции «point-of-care testing» (тестирование в месте оказания медицинской помощи) [18-20].

При необходимости точной идентификации молекулярных маркеров используются классические микробиологические и иммуносерологические методы, современные диагностические платформы, такие как иммуноферментный (ИФА) и хемилюминесцентный анализы, полимеразная цепная реакция (ПЦР), проточная цитометрия и масс-спектрометрия (MALDI). Эти диагностические инструменты, требующие дорогостоящего оборудования, длительного времени тестирования и квалифицированного персонала, не всегда доступны для небольших районных стационаров, особенно в условиях ограниченных экономических ресурсов и децентрализованной инфраструктуры медицинских учреждений [3, 11, 20, 21].

Иммунохроматографические тест-системы: типы и форматы. Потенциалом этих появившихся в последние десятилетия эффективных технологий является постоянное развитие и усовершенствование имеющихся многочисленных LFIA-платформ, появление мультиплексных форматов, усложнение диагностических задач (например, скрининг на онкологические заболевания). Отсутствие необходимости в специальных температурных режимах хранения расширяет ареал их использования в развивающихся странах, малонаселённых и отдалённых регионах [15, 16, 21, 22].

За десятилетия использования ИХ тест-системы прошли проверку временем и подтвердили свою широкую доступность, высокую скорость, простоту в эксплуатации и интерпретации результатов эффективной и достоверной диагностикой заболеваний [21, 23-25]. Экономическая целесообразность и удобство использования

этих портативных диагностических систем полностью соответствуют современной мировой концепции «point-of-care testing» (лабораторное тестирование по месту лечения), благодаря чему тесты LFIA не потеряли своего значения и в наши дни [23-25].

В зависимости от используемых элементов распознавания ИХ тесты разделяются на различные типы. Среди конструктивных форматов этой диагностической стратегии можно назвать качественные, полуколичественные, количественные тест-системы для определения специфических антигенов [26, 27], антител [28, 29], фрагментов нуклеиновых кислот (ампликонов), которые могут образовываться в ходе полимеразной цепной реакции [12, 30].

Принцип действия LFIA простой. Типичная ИХ тест-система состоит из пластикового основания (подложки) с нанесёнными перекрывающимися слоями пористых

мембран, которые содержат молекулы распознавания для взаимодействия с молекулой-мишенью (рис. 2).

Пористые мембраны являются одним из наиболее важных элементов тест-системы и чаще всего изготавливаются из нитроцеллюлозы. Ключевыми параметрами, характеризующими свойства нитроцеллюлозы, являются капиллярные силы, лёгкость связывания и последующая иммобилизация белков, участвующих в дальнейших реакциях. Размер пор мембран составляет от 0,05 до 12 мкм, что обеспечивает необходимые скорость, время, равномерность капиллярного потока – важнейшие характеристики, определяющие качество работы тест-систем [3, 31-34].

Анализируемая жидкая проба (биосубстрат) помещается на прокладку для нанесения образцов, пропитанную буферным раствором, белками и повер-



Rosalyn Sussman Yalow

Solomon Aaron Berson

Рис. 1. Авторы принципа метода и первого сконструированного иммунохроматографического экспресс-теста для определения инсулина в плазме крови человека (1959 г.) Р. Ялоу и С. Берсон.



Рис. 2. Схематическое представление механизма иммунохроматографического тестирования (иммуноанализа латерального потока). Образец (проба), содержащий исследуемый антиген (аналит) наносится на прокладку для нанесения образца и мигрирует к конъюгату. Конъюгированные антитела связывают целевой анализ и мигрируют к тестовой линии, где целевой анализ связывается с антителами (рисунок авторов).

ностно-активными веществами (см. рис. 2). Эта часть тест-системы выполняет несколько важных функций: равномерное распределение пробы и направление её движения к конъюгату с определённой скоростью. Прокладка выполняет роль фильтра, задерживая нежелательные элементы биосубстратов, например, эритроциты [10, 35-37].

Далее проба перемещается при помощи капиллярных сил вдоль полоски на прокладку для высвобождения конъюгата, которая содержит специфические антитела. Качество используемых в системах специфических антител и их очистка является важнейшим условием оптимальной работы тестов. Как правило, в LFIA используются полученные из гибридной клеточной линии мышей моноклональные антитела, которые связаны с окрашенными или флуоресцентными частицами (метками) [2, 32, 38-40].

Основными требованиями к используемым в тест-системах меткам (чаще всего, это наночастицы коллоидного золота или окрашенный латекс) являются высокая стабильность, низкая цена. Перечисленные метки в полной мере соответствуют указанным требованиям, латекс может быть изготовлен в разных цветовых вариантах и в таком виде применяться в мультиплексных системах [3, 13, 41-43].

Далее конъюгированные антитела связываются с целевым анализом и мигрируют в зону распознавания. Эта часть полоски содержит биологические компоненты, которые вступают в реакцию с образовавшимся комплексом анализ-антитело, что проявляется в виде появившейся цветной линии в тестовой зоне, в то время как линия в контрольной зоне, указывает на правильный поток субстрата [32, 34, 36]. Интенсивность цвета тестовой линии, которая пропорциональна содержанию анализа в образце, оценивается визуально или при помощи специального оборудования (считывателя) [44].

Для поддержания капиллярного эффекта на дистальном конце тест-полоски расположена целлюлозная впитывающая (абсорбирующая) прокладка, роль которой заключается в отведении избытка реагентов и предотвращении обратного тока жидкости. Наличие этой прокладки позволяет использовать большие объёмы образца, что приводит к повышению чувствительности теста [35, 38, 40].

Среди других факторов, влияющих на чувствительность, специфичность теста, следует отметить присутствующие в биосубстратах химические вещества, которые могут связываться с компонентами системы и опосредовать ложноположительные результаты. Чувствительность тест-системы ограничена константой диссоциации конъюгата антитело-антиген и колориметрической детекцией [36, 39]. Применяемые производителями современные стратегии преодоления этих ограничений связаны с улучшением характеристик используемых меток (флуоресцентные, парамагнитные), которые не могут быть обнаружены визуально, а требуют специальных приборов-считывателей для количественного анализа [21, 29, 36]. Автоматизация детекции снижает временные затраты и улучшает интерпретацию результатов [18, 40].

Современные мультиплексные форматы LFIA способны детектировать содержание в одной пробе нескольких анализов (например, тест-системы для обнаружения наркотических средств в моче). В этом случае система имеет одну прокладку для нанесения образца, несколько (по числу исследуемых веществ) прокладок

для высвобождения конъюгата, содержащих специфические антитела для каждого целевого анализа, и столько же тестовых зон для считывания результата [21, 29, 26, 43].

Эти простые в использовании экспресс-тесты широко применяются для подтверждения наличия или отсутствия в биологических субстратах (моче, сыворотке или плазме, цельной крови) целевых анализов (например, антигенов, антител, биохимических маркеров, ампликонов) в медицине, экологических исследованиях, сельском хозяйстве, ветеринарии [2-4, 12-14, 18-22]. В этих отраслях ИХ тесты используют для верификации патогенов, специфических белков, ферментов, обнаружения химических веществ, наркотиков, токсинов, поллютантов и других веществ [10, 14, 23-26].

ИХ исследования выполняются в клинических лабораториях, местах оказания медицинской помощи или на дому, медицинским персоналом или пациентами. Использование визуальной метки в виде наночастиц золота, углерода, цветного латекса позволяет визуально за несколько минут провести качественное тестирование или количественное при наличии специального оборудования [28, 32, 44, 45].

В основе ИХ анализа лежит реакция антиген-антитело, при этом в роли антитела (элемента распознавания) могут использоваться аптамеры, нуклеиновые кислоты, белки или антилиганды, специфически нацеленные на связывание целевых анализов, позволяя при этом обнаруживать даже незначительные концентрации в присутствии структурно связанных молекул [33, 45, 46].

Технологическая гибкость ИХ платформы привела к созданию множества типов тест-систем на основе двух ключевых подходов, завоевавших наибольшую популярность у специалистов за последние десятилетия:

– неконкурентный (прямой) анализ (сэндвич-формат) – используется для выявления анализов с большой молекулярной массой с несколькими антигенными детерминантами (например, антигена р24 – капсомера ВИЧ). В этой конструкции положительный результат выдается при наличии в тестовой зоне цветной линии, которая будет отсутствовать при отрицательном результате [19, 26, 29]. Наиболее широко известными примерами сэндвич-формата являются тест-системы на беременность, определяющие повышенный уровень хорионического гонадотропина (в зависимости от чувствительности тестов, от 10 до 25 мМЕ/мл) у женщин в моче на ранней стадии беременности [47].

– конкурентный анализ (формат ингибирования) – предназначен для анализов с небольшой молекулярной массой с одним антигенным сайтом. В этом формате теста целевой анализ блокирует сайты связывания антител, расположенных на тестовой линии, предотвращая их взаимодействие с конъюгатом. Положительное заключение в этой конструкции выдается при отсутствии цветной линии, отрицательное – при появлении в тестовой зоне цветной линии любой интенсивности окрашивания [48]. Типичными примерами этого формата являются тест-системы на наркотики и токсины.

Каждый из этих форматов имеет свои преимущества и недостатки в зависимости от тестируемых анализов, диапазонов их критических концентраций, используемой конструкции тест-системы. Сэндвич-формат обладает более высокой аналитической чувствительностью (пикограммы анализа в 1 мл) по сравнению с конкурентными тест-системами (нанogramмы в 1 мл) [26].

Современные мультиплексные форматы иммунохроматографических тест-систем для диагностики инфекционных заболеваний

Инфекционный агент	Маркёр инфекционного процесса	Формат тест-систем	Ссылки
Вирус Денге Вирус Чикунгунья	IgG/IgM IgG/IgM	Мульти-плексный	[42]
Вирус Денге Вирус желтой лихорадки Вирус Эбола	Белок NS ₁ Белок NS ₁ Гликопротеин GP	Мульти-плексный	[43]
Вирус иммунодефицита человека Вирусный гепатит С (ВГС)	Anti-HIV IgG Anti-HCV IgG, Anti-HAV IgG и IgM	Мульти-плексный	[41]
<i>E. coli</i> O ₁₅₇ : H ₇ , <i>S. paratyphi</i> A, <i>S. paratyphi</i> B, <i>S. paratyphi</i> C, <i>S. typhi</i> , <i>S. enteritidis</i> , <i>S. choleraesuis</i> , <i>V. cholerae</i> O _p , <i>V. cholerae</i> O ₁₃₉ , <i>V. parahaemolyticus</i>	UCP-антитела	Мульти-плексный TC-UPT-LF	[13, 24]

При высоких концентрациях анализируемого вещества сэндвич-системы могут показать ложноотрицательный результат, связанный с «эффектом высокой дозы». Этого недостатка лишены тест-системы на основе конкурентного формата [47, 48].

С 60-х годов XX века тест-системы IFLA заняли прочное место среди медицинских диагностических методов, как наиболее быстрые, простые, экономически привлекательные инструменты. Их эффективность значительно увеличилась с развитием считывающих технологий и появлением устройств, позволяющих трансформировать интенсивность цвета индикаторных линий в полуколичественный и количественный результат. В первом случае результат отображается как низкий, средний или высокий, во втором – выдаются числовые значения концентрации аналита, основанные на плотности тестовой линии [32, 35, 36-39].

Примером количественного формата IFLA является тест-система Seralite-FLC для обнаружения свободных каппа- (κ) и лямбда- (λ) цепей в сыворотке крови, позволяющая получать через 10 мин числовой результат содержания аналитов в мг/л, соотношение κ/λ [37, 49]. Эта тест-система сконструирована на основе высоко-специфичных моноклональных антител против κ и λ, не проявляющих перекрестной реактивности с другими специфическими белками крови [49].

Иммунохроматографические тесты для диагностики инфекций. Выявление инфекционных заболеваний и борьба с ними является серьёзной проблемой здравоохранения. Их тестирование может быть с большим успехом использовано для диагностики инфекционных заболеваний [6, 16-18, 22, 32].

Одним из ключевых направлений развития универсальной технологии IFLA является конструирование тест-систем в мультиплексном (многоцелевом) формате, который позволяет обнаруживать одновременно несколько бактериальных или вирусных мишеней в одном тесте. Эта технология является новым диагностическим подходом и открывает широкие перспективы для верификации возбудителя [6, 8, 17, 32, 50] (табл. 1).

Первая коммерческая комбинированная тест-систему IFLA успешно продемонстрирована в 2015 г. [25]. Она позволяла эффективно обнаруживать в моче антигены *Streptococcus pneumoniae* и *Legionella pneumophila*. Это увеличило популярность универсальной технологии LFIA, в равной степени эффективной в формате сэндвич-анализа как для высокомолекулярных антигенов микроорганизмов и антител к ним в биосубстратах, так и для низкомолекулярных аналитов [8, 16, 23, 24].

Преимущества и недостатки иммунохроматографических тест-систем. Большую часть мирового сегмента лабораторной экспресс-диагностики занимают тест-системы, основанные на технологии LFIA в стандартном и мультиплексном формате [18, 23, 24, 32]. Многие из них с успехом используются по программе «point-of-care testing» [3, 8, 11, 15].

При обнаружении методом LFIA молекулярных маркёров инфекционного процесса, требуется подтверждение независимым методом. Их методы подходят, прежде всего, для первичного скрининга [6, 8, 17]. При очевидной привлекательности форматов ИХ анализа существенные недостатки иммуноанализа сдерживают расширение практического использования этих диагностических платформ для клинической лабораторной диагностики (табл. 2).

Ведутся исследования, направленные на устранение ряда недостатков ИХ тест-систем, особенно в отношении получения количественных результатов и их документирования. Они могут быть оцифрованы с использованием сканеров или камер со специальным программным обеспечением, которое позволит фиксировать результаты и передавать их на расстоянии. Технологические усовершенствования потребуют более сложной аппаратуры и повысят стоимость и продолжительность времени анализа.

Новые стратегии в иммунохроматографическом анализе. Некоторые из новаций обсуждались выше и связаны с вариациями природы используемых меток, техническим совершенствованием количественного формата заключения. Некоторые из новых стратегий связаны с использованием комбинации наночастиц коллоидного золота с ферментом (например, пероксидазой хрена), что ведёт к каталитической амплификации сигнала [50, 51]. Другие методы усиления сигнала (в 1000 и более раз) и повышения чувствительности тест-систем связаны с использованием лазерного детектирования (плазмонный резонанс, рамановской спектроскопии комбинационного рассеяния), хемиллюминесцентной или флуоресцентной метки [12, 30, 45, 52].

Предложен интересный формат IFLA для выявления увеличения концентрации миоглобина, основанный на формировании сэндвич-комплекса [43]. В предложенной системе иммобилизованные антитела конъюгируют со стрептавидином и выявляют специфическим красителем (сульфородамино В), инкапсулируемым в липосомы, что облегчает генерацию сигнала [43].

Успешно протестирован ряд перспективных новаций в мультиплексировании технологии IFLA [21, 44, 47]. Описаны тест-системы, состоящие из наночастиц кол-

Преимущества и недостатки иммунохроматографических тест-систем

Преимущества	Недостатки	Источник
Дешевые, быстрые, недорогие и простые в исполнении тесты Малый объем анализируемой пробы	Подходят только для первичного скрининга и требуют подтверждения положительных результатов независимыми методами	[3, 27, 29, 40]
Одноэтапный анализ, не требующий дополнительных реактивов Длительные сроки годности тест-систем	Для получения количественных результатов необходимо специальное оборудование (сканеры, рефлектометры, CCD-камера) и программное обеспечение	[23, 28, 32]
Позволяют использоваться в количественном и полуквантитативном форматах	Технологическое усовершенствование метода увеличивает стоимость и продолжительность анализа	[29, 31, 37]
Позволяют обнаруживать белки, гаптены, нуклеиновые кислоты, ампликоны	В конкурентном формате ответ отрицательно коррелирует с концентрацией	[10, 12, 31]
Тест-системы не требуют специальных температурных условий хранения	Возможные технические ошибки при нанесении образца могут повлиять на точность и воспроизводимость результата	[3, 13, 18]
Не требуют дополнительного специального оборудования при использовании качественного формата Не нуждаются в квалифицированных специалистах	Повышение чувствительности тестов связано с использованием наночастиц золота, серебра, фермента, что ограничивает срок годности, увеличивает стоимость анализа, нарушает одностадийность	[4, 10, 13, 28]
Могут использоваться врачами общей практики или пациентами на дому	Исследуемый образец должен быть в виде раствора; предварительное разведение сухих образцов обязательно	[13, 24, 26, 33]
Визуальный результат ясен и легко различим	При низком содержании аналита в растворе требуется концентрирование образца	[25, 33, 35]
Тесты продаются в виде наборов с комплектом всех предметов, необходимых для выполнения теста Возможно увеличение чувствительности тест-систем за счёт использования плазмонного резонанса, рамановской спектроскопии комбинационного рассеяния (SERS), хемилюминесцентной или флуоресцентной метки Возможность мультиплексирования	Неточный объем пробы снижает точность результата	[23, 28, 37]
	Время анализа зависит от вязкости исследуемой пробы	[4, 24, 25, 12, 23, 29]
	Возможна закупорка пор компонентами исследуемой пробы	[13, 28, 38]

лоидного золота и олигонуклеотидов, позволяющие одновременно обнаруживать антигены и антитела [21, 44], двух конъюгатных площадок для выявления двух белков [44]. Комбинация IFLA с электронными вычислительными элементами позволяет получать ответ в формате логического восприятия «и/или» [47].

Заключение. За 60-летнюю историю применения ИХ диагностические технологии стали незаменимыми инструментами в медицине, ветеринарии, экологии, прочно занимая место наиболее востребованных и популярных экспресс-тестов и полностью соответствуя современной мировой концепции «point-of-care testing» [15, 16, 27]. За прошедшие десятилетия принцип метода иммуноанализа латерального потока, предложенный Р. Ялоу и С. Берсоном, остался неизменным, несмотря на многочисленные современные форматы LFIA, направленные на улучшение чувствительности и специфичности. ИХ платформы получают всё большее распространение в мировой практике здравоохранения. Речь не идёт о замене центральных лабораторий технологиями «point-of-care testing» – платформы LFIA занимают определённую нишу в диагностике неотложных состояний и мониторинга здоровья пациентов.

Основные достоинства метода – простота и доступность в сочетании с его высокой эффективностью – всегда оставались определяющими при выборе инструмента для диагностического скрининга в условиях ограниченных ресурсов и труднодоступности оснащённых лабораторий или

медицинских учреждений. Простота платформ LFIA противоречит сложной задаче оптимизации метода, направленной на то, чтобы сделать его более чувствительным, мультиплексным, количественным. Стратегии разработчиков метода связаны с эмпирической подборкой материалов для мембран, чистоты реагентов (антител, буферных систем, блокирующих реагентов) и дизайна тест-систем [50].

Инновации, направленные на улучшение аналитических характеристик технологии LFIA, интересны, перспективны, могут принести дополнительные преимущества ИХ платформам (например, интеграция в конструкцию «лаборатория на кристалле») [53]. Большинство из них увеличивает стоимость этих тест-систем, их сложность, и тем самым, снижает доступность этих замечательных технологий – свойств, снижавших им популярность и привлекательность на протяжении шести десятилетий.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Комплексной программы фундаментальных исследований Дальневосточного отделения РАН «Дальний Восток», проект № 18-03-053.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Havelaar A.H., Kirk M.D., Torgerson P.R., Gibb H.J., Hald T., Lake R.J. et al. World Health Organization Global Estimates and Regional Comparisons of the Burden of Foodborne Disease in

2010. *PLOS Medicine*. 2010; 12: e1001923. Doi: 10.1371/journal.pmed.1001923.
2. Byzova N.A., Vinogradova S.V., Porotikova E.V., Terekhova U.D., Zherdev A.V., Dzantiev B.B. Lateral Flow Immunoassay for Rapid Detection of Grapevine Leafroll-Associated Virus. *Biosensors (Basel)*. 2018; 8(4): E111. Doi: 10.3390/bios8040111.
 3. Anfossi L., Di Nardo F., Cavalera S., Giovannoli C., Baggiani C. Multiplex Lateral Flow Immunoassay: An Overview of Strategies towards High-throughput Point-of-Need Testing. *Biosensors (Basel)*. 2018; 9(1): E2. Doi: 10.3390/bios9010002.
 4. Zhao S., Wang S., Zhanga S., Liua J., Dong Y. State of the art: Lateral flow assay (LFA) biosensor for on-site rapid detection. *Chin. Chem. Lett.* 2018; 29(11): 1567-77. Doi: 10.1016/j.ccl.2017.12.008.
 5. World Health Organization (WHO) Global Estimates and Regional Comparisons of the Burden of Foodborne Disease in 2010. *PLoS Med*. 2010; 12 (12): e1001923.
 6. Sin M.L.Y., Mach K.E., Wong P.K., Liao J.C. Advances and challenges in biosensor-based diagnosis of infectious diseases. *Expert Rev. Mol. Diagn.* 2014; 14(2): 225-44. Doi: 10.1586/14737159.2014.888313.
 7. Peltomaa R., Glahn-Martinez B., Benito-Peña E., Moreno-Bondi M.C. Optical Biosensors for Label-Free Detection of Small Molecules. *Sensors*. 2018;18: 4126.
 8. Zarei M. Infectious pathogens meet point-of-care diagnostics. *Biosens Bioelectron*. 2018; 106:193-03. Doi: 10.1016/j.bios.2018.02.007.
 9. Yalow R.S., Berson S.A. Immunoassay of endogenous plasma insulin in man. *J. Clin. Invest.* 1960; 39:1157-75.
 10. Mak W.C., Beni V., Turner A.P.F. Lateral-flow technology: From visual to instrumental. *Trends Analyt. Chem.* 2016; 79: 297-05. Doi: 10.1016/j.trac.2015.10.017.
 11. McPartlin D.A., O'Kennedy R.J. Point-of-care diagnostics, a major opportunity for change in traditional diagnostic approaches: Potential and limitations. *Expert Rev. Mol. Diagn.* 2014; 14: 979-98. Doi: 10.1586/14737159.2014.960516.
 12. Fu X., Wen J., Li J., Lin H., Liu Y., Zhuang X., Tian C., Chen L. Highly sensitive detection of prostate cancer specific PCA3 mimic DNA using SERS-based competitive lateral flow assay. *Nanoscale*. 2019; 11(33): 15530-36. Doi: 10.1039/c9nr04864b.
 13. Zhao Y., Wang H.R., Zhang P.P., Sun C.Y., Wang X.C., Wang X.R. et al. Rapid multiplex detection of 10 foodborne pathogens with an up-converting phosphor technology-based 10-channel lateral flow assay. *Sci. Rep.* 2016; 6: 21342.
 14. Sastre P., Gallardo C., Monedero A., Ruiz T., Arias M., Sanz A., Rueda P. Development of a novel lateral flow assay for detection of African swine fever in blood. *BMC Vet. Res.* 2016; 12: 206. Doi: 10.1186/s12917-016-0831-4.
 15. Jones C.H.D., Glogowska M., Locock L., Lasserson D.S. Embedding new technologies in practice – a normalization process theory study of point of care testing. *BMC Health. Services Research*. 2016; 16: 591. Doi: 10.1186/s12913-016-1834-3.
 16. Kozel T.R., Burnham-Marusch A.R. Point-of-Care Testing for Infectious Diseases: Past, Present, and Future. *J. Clin. Microb.* 2017; 55(8): 2313-20. Doi: 10.1128/JCM.00476-17.
 17. WHO Infectious Disease Newsletter. Internet resource: access code. [https://www.who.int/topics/infectious_diseases/factsheets/ru/\(lato of the application 12.09.19\)](https://www.who.int/topics/infectious_diseases/factsheets/ru/(lato%20of%20the%20application%2012.09.19)).
 18. Kim H., Chung D.R., Kang M. A new point-of-care test for the diagnosis of infectious diseases based on multiplex lateral flow immunoassays. *Analyst*. 2019; 144(8): 2460-66. Doi: 10.1039/c8an02295j.
 19. Gitonga L.K., Boru W.G., Kwena A., Maritim M., Wamicwe J., Ransom J. Point of care testing evaluation of lateral flow immunoassay for diagnosis of cryptococcus meningitis in HIV-positive patients at an urban hospital in Nairobi, Kenya, 2017. *BMC Res Notes*. 2019; 12(1): 797. Doi: 10.1186/s13104-019-4829-4.
 20. Kumar S., Bhushan P., Krishna V., Bhattacharya S. Tapered lateral flow immunoassay based point-of-care diagnostic device for ultra-sensitive colorimetric detection of dengue NS1. *Biomicrofluidics*. 2018; 12(3): 034104. Doi: 10.1063/1.5035113.
 21. Anfossi L., Di Nardo F., Cavalera S., Giovannoli C., Baggiani C. Multiplex Lateral Flow Immunoassay: An Overview of Strategies towards High-throughput Point-of-Need Testing. *Biosensors (Basel)*. 2018; 9(1): E2. Doi: 10.3390/bios9010002.
 22. Banerjee R., Jaiswal A. Recent advances in nanoparticle-based lateral flow immunoassay as a point-of-care diagnostic tool for infectious agents and diseases. *Analyst*. 2018; 143(9): 1970-96. Doi: 10.1039/c8an00307f.
 23. Safenkova I.V., Panferov V.G., Panferova N.A., Varitsev Y.A., Zherdev A.V., Dzantiev B.B. Alarm lateral flow immunoassay for detection of the total infection caused by the five viruses. *Talanta*. 2019; 195: 739-44. Doi: 10.1016/j.talanta.2018.12.004. 9.
 24. Zhao Y., Zhang Q., Meng Q., Wu F., Zhang L., Tang Y., Guan Y., An L. Quantum dots-based lateral flow immunoassay combined with image analysis for semiquantitative detection of IgE antibody to mite. *Int. J. Nanomedicine*. 2017; 12: 4805-12. Doi: 10.2147/IJN.S134539.
 25. Jørgensen C.S., Uldum S.A., Sørensen J.F., Skovsted I.C., Otte S., Elverdal P.L. Evaluation of a new lateral flow test for detection of *Streptococcus pneumoniae* and *Legionella pneumophila* urinary antigen. *J. Microbiol. Methods*. 2015; 116: 33-36. Doi: 10.1016/j.mimet.2015.06.014.
 26. Rohrman B.A., Leautaud V., Molyneux E., Richards-Kortum R.R. A lateral flow assay for quantitative detection of amplified HIV-1 RNA. *PLoS One*. 2012; 7: e45611. Doi: 10.1371/journal.pone.0045611.
 27. Boisen M.L., Oottamasathien D., Jones A.B., Millett M.M., Nelson D.S., Bornholdt Z.A. et al. Development of prototype filovirus recombinant antigen immunoassays. *J. Infect. Dis.* 2015; 212(2): 359-67. Doi: 10.1093/infdis/jiv353.
 28. Nielsen K., Yu W.L., Kelly L., Bermudez R., Renteria T., Dajer A. et al. Development of a lateral flow assay for rapid detection of bovine antibody to *Anaplasma marginale*. *J. Immunoassay Immunochem*. 2008; 29: 10–8. Doi: 10.1080/15321810701734693.
 29. Kamphée H., Chaiprasert A., Prammananan T., Wiriyachaiyorn N., Kanchanatavee A., Dharakul T. Rapid molecular detection of multidrug-resistant tuberculosis by PCR-nucleic acid lateral flow immunoassay. *PLoS One*. 2015; 10: e0137791. Doi: 10.1371/journal.pone.0137791.
 30. Helfmann J., Netz U.J. Sensors in diagnostics and monitoring. *Photonics & Lasers in Medicine*. 2015; 4(2): 36-42. Doi: 10.1515/plm-2015-0012.
 31. Posthuma-Trumpie G.A., Korf J., van Amerongen A. Lateral flow (immuno) assay: its strengths, weaknesses, opportunities and threats. A literature survey. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2008; 393(2): 569–82. Doi: 10.1007/s00216-008-2287-2.
 32. Pilavaki E., Demosthenous A. Optimized Lateral Flow Immunoassay Reader for the Detection of Infectious Diseases in Developing Countries. *Sensors (Basel)*. 2017; 17(11): E2673. Doi: 10.3390/s17112673.
 33. Kim C., Yoo Y.K., Han S.I., Lee J., Lee D., Lee K. et al. Battery operated preconcentration-assisted lateral flow assay. *Lab Chip*. 2017; 17(14): 2451-58. Doi: 10.1039/c7lc00036g.
 34. Naidoo N., Ghai M., Moodley K., Mkize L., Martin L., McFarlane S., Rutherford S. Modified RS-LAMP assay and use of lateral flow devices for rapid detection of *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*. *Lett Appl Microbiol*. 2017; 65(6): 496-03. Doi: 10.1111/lam.12799.
 35. Hu S., Niu L., Zhao F., Yan L., Nong J., Wang C. et al. Identification of *Acinetobacter baumannii* and its carbapenem-resistant gene blaOXA-23-like by multiple cross displacement amplification combined with lateral flow biosensor. *Sci Rep*. 2019; 9(1): 17888. Doi: 10.1038/s41598-019-54465-8.
 36. Nelis J.L.D., Bura L., Zhao Y., Burkin K.M., Rafferty K., Elliott C.T., Campbell K. The Efficiency of Color Space Channels to Quantify Color and Color Intensity Change in Liquids, pH Strips, and Lateral Flow Assays with Smartphones. *Sensors (Basel)*. 2019; 19(23): E5104. Doi: 10.3390/s19235104.
 37. Schwenke K.U., Spiehl D., Krauß M., Riedler L., Ruppenthal A., Villforth K. et al. Analysis of free chlorine in aqueous solution at very low concentration with lateral flow tests. *Sci. Rep.* 2019; 9(1): 17212. Doi: 10.1038/s41598-019-53687-0.
 38. Borges M.A.S.B., Araújo Filho J.A., Soares R.B.A., Vidal J.E., Turchi M.D. False-negative result of serum cryptococcal antigen lateral flow assay in an HIV-infected patient with culture-proven cryptococcaemia. *Med. Mycol. Case. Rep.* 2019; 26: 64-6. Doi: 10.1016/j.mmcr.2019.10.009.

39. Foysal K.H., Seo S.E., Kim M.J., Kwon O.S., Chong J.W. Analyte Quantity Detection from Lateral Flow Assay Using a Smartphone. *Sensors (Basel)*. 2019; 19(21): E4812. Doi: 10.3390/s19214812.
40. Romeo A., Leunga T.S., Sánchez S. Smart biosensors for multiplexed and fully integrated point-of-care diagnostics. *Lab. Chip*. 2016; 16: 1957-61. Doi: 10.1039/C6LC90046A.
41. Lee S., Mehta S., Erickson D. Two-Color Lateral Flow Assay for Multiplex Detection of Causative Agents Behind Acute Febrile Illnesses. *Anal. Chem.* 2016; 88(17): 8359-63. Doi: 10.1021/acs.analchem.6b01828.
42. Yen C.W., de Puig H., Tam J.O., Gómez-Márquez J., Bosch I., Hamad-Schifferli K., Gehrke L. Multicolored silver nanoparticles for multiplexed disease diagnostics: distinguishing dengue, yellow fever, and Ebola viruses. *Lab. Chip*. 2015; 15(7): 1638-41. Doi: 10.1039/C5LC00055F.
43. Edwards K.A., Korff R., Bäumner A.J. Liposome-Enhanced Lateral-Flow Assays for Clinical Analyses. *Methods Mol. Biol.* 2017; 1571: 407-34. Doi: 10.1007/978-1-4939-6848-0_25.
44. Koczula K.M., Gallotta A. Lateral flow assays. *Essays Biochem.* 2016; 60(1): 111-20. Doi: 10.1042/EBC20150012.
45. Guo C., Zhong L.L., Yi H.L., Chen M. Clinical value of fluorescence lateral flow immunoassay in diagnosis of influenza A in children. *Zhongguo dang dai er ke za zhi*. 2016; 18(12): 1272-6.
46. Berger P., Sturgeon C. Pregnancy testing with hCG—future prospects. *Trends Endocrinol. Metab.* 2014; 25(12): 637-48. Doi: 10.1016/j.tem.2014.08.004.
47. Chen J., Fang Z., Lie P., Zeng L. Computational lateral flow biosensor for proteins and small molecules: a new class of strip logic gates. *Anal. Chem.* 2012; 84: 6321-5. Doi: 10.1021/ac301508b.
48. Campbell J.P., Heaney J.L., Shemar M., Baldwin D., Griffin A.E., Oldridge E. et al. Development of a rapid and quantitative lateral flow assay for the simultaneous measurement of serum κ and λ immunoglobulin free light chains (FLC): inception of a new near-patient FLC screening tool. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2017; 55(3): 424-34. Doi: 10.1515/cclm-2016-0194.
49. Pilavaki E., Demosthenous A. Optimized Lateral Flow Immunoassay Reader for the Detection of Infectious Diseases in Developing Countries. *Sensors (Basel)*. 2017; 17(11): E2673. Doi: 10.3390/s17112673.
50. Hsieh H.V., Dantzler J.L., Weigl B.H. Analytical Tools to Improve Optimization Procedures for Lateral Flow Assays. *Diagnostics (Basel)*. 2017; 7(2): E29. Doi: 10.3390/diagnostics7020029.
51. Wang J., Katani R., Li L., Hegde N., Roberts E.L., Kapur V., DebbRoy C. Rapid detection of *Escherichia coli* O₁₅₇ and shiga toxins by lateral flow immunoassays. *Toxins*. 2016; 8: 92. Doi: 10.3390/toxins8040092.
52. Morioka K., Fukai K., Yosihda K., Kitano R., Yamazoe R., Yamada M. et al. Development and evaluation of a rapid antigen detection and serotyping lateral flow antigen detection system for foot-and-mouth disease virus. *PLoS ONE*. 2015; 10: e0134931. Doi: 10.1371/journal.pone.0134931.
53. Fuchiwaki Y., Goya K., Tanaka M. Practical High-Performance Lateral Flow Assay Based on Autonomous Microfluidic Replacement on a Film. *Anal. Sci.* 2018; 34(1): 57-63. Doi: 10.2116/analsci.34.57.

щ Поступила 04.01.20
Принята к печати 06.02.20