

МЕЖДУНАРОДНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

# ИММУНОПАТОЛОГИЯ АЛЛЕРГОЛОГИЯ ИНФЕКТОЛОГИЯ

Официальное издание научных организаций

Союз аллергологов и иммунологов стран СНГ . Российская академия естественных наук  
Национальная академия микологии . Белорусская ассоциация аллергологов и клинических иммунологов  
Институт аллергологии и клинической иммунологии (Москва) . Московское отделение Российской ассоциации  
аллергологов и клинических иммунологов . Витебский государственный медицинский университет  
**Рекомендован ВАК РФ и ВАК РБ для публикации материалов докторских и кандидатских диссертаций**

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

**Главный редактор** Д.К. Новиков (Витебск)

**Заместитель главного редактора** Ю.В. Сергеев (Москва)

В.А. Алешкин (Москва)	В.И. Новикова (Витебск)
С.С. Афанасьев (Москва)	М.П. Потапнев (Минск)
В.Я. Арион (Москва)	Н.В. Пивень (Минск)
И.И. Балаболкин (Москва)	Б.В. Пинегин (Москва)
А.Ю. Барышников (Москва)	В.А. Ревякина (Москва)
А.В. Караулов (Москва)	Б.Ф. Семенов (Москва)
К.П. Кашкин (Москва)	В.М. Семенов (Витебск)
Л.В. Ковальчук (Москва)	Р.И. Сепиашвили (Москва)
Н.В. Кунгуров (Екатеринбург)	А.Ю. Сергеев (Москва)
И.В. Нестерова (Москва)	А.С. Симбирцев (С-Петербург)
Н.В. Медуницын (Москва)	Р.М. Хаитов (Москва)

## РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Л.П. Андриеш (Кишинёв)	Р.Я. Мешкова (Смоленск)
В.М. Бержец (Москва)	В.Н. Минеев (С-Петербург)
Е.Г. Бочкарев (Москва)	Б.А. Молотилов (Пенза)
И.В. Василевский (Минск)	А.А. Михайленко (Тверь)
С.С. Гамбаров (Ереван)	Л.П. Сизякина (Ростов)
Н.С. Гурина (Минск)	Л.А. Трунова (Новосибирск)
И.И. Долгушин (Челябинск)	С.В. Федорович (Минск)
И.В. Евсегнеева (Москва)	Р.А. Ханферян (Краснодар)
С.В. Жаворонок (Минск)	В.А. Черешнев (Екатеринбург)
А.М. Земсков (Воронеж)	Е.Ф. Чернушенко (Киев)
В.М. Земсков (Москва)	А.А. Шортанбаев (Алматы)
В.И. Коненков (Новосибирск)	С.М. Юдина (Курск)

## СЕКРЕТАРИАТ

И.И. Генералов (Витебск)  
П.Д. Новиков (Витебск)

## ТЕХНИЧЕСКИЙ РЕДАКТОР

Л.М. Романовская (Витебск)

Журнал выходит с 1999 г.

Тираж 1500 экз.

Свидетельство о регистрации государственного комитета по печати РБ № 1382.

Зарегистрирован в Министерстве по делам печати, телевидения и средств массовых коммуникаций РФ: ПИ № ФС77-19-796.

**ISSN 0236-297X**

## Предназначение и тематика журнала

Международный научно-практический рецензируемый журнал «Иммунопатология, аллергология, инфектология» выходит 4 раза в год и бесплатно публикует оригинальные статьи, научные обзоры, материалы диссертаций на русском и английском языках по всем разделам иммунологии, инфекционной и неинфекционной иммунопатологии и аллергологии медицинской и биологической отраслей науки. Статьи рецензируются членами редколлегии и редакционного совета — ведущими учеными в области иммунологии, аллергологии и инфектологии.

Журнал «Иммунопатология, аллергология, инфектология» цитируется и реферировается в реферативных изданиях. Официальный интернет-сайт журнала с доступом к содержанию, рефератам и полному тексту статей расположен по адресу: <http://www.immunopathology.com>

## Сведения о подписке

Подписка на журнал «Иммунопатология, аллергология, инфектология» оформляется на год (4 номера). Подписные индексы журнала в общероссийском каталоге 41550 (для индивидуальных подписчиков), 10150 (для организаций). Журнал может высылаться наложенным платежом по заказу в редакции. Справки о подписке: [subscribe@immunopathology.ru](mailto:subscribe@immunopathology.ru)

## Адреса редакции

210602, Витебск, Беларусь, проспект Фрунзе, 27, Медуниверситет, профессору Новикову Дмитрию Кузьмичу  
Телефон/факс +375 (0212) 22-53-80  
E-mail редакции: [editor@immunopathology.ru](mailto:editor@immunopathology.ru)

103104, Москва, улица Малая Бронная, 20 строение 1, ИАКИ, профессору Сергееву Юрию Валентиновичу  
Телефон (495) 695-5-695, факс (495) 203-9088

Все права на публикацию резервированы. Воспроизведение, распространение и любое использование в каком бы то ни было виде части или целого издания не могут быть осуществлены без письменного разрешения редакционной коллегии.

УДК 57.083.3: 543.068.8

## Современные модификации иммунохимических диагностикумов: экспресс-методы

Н.В. Пивень, А.И. Бураковский

Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

### Modern trends in immunochemical analysis: express methods

N.V. Piven, A.I. Burakovski

Institute of Bioorganic Chemistry of National Academy of Sciences, Minsk, Belarus

#### Аннотация

В настоящем обзоре приводятся сведения о научных основах, преимуществах, форматах и областях применения различных методов современного иммунохимического анализа (гомогенного иммуноферментного анализа, поляризационного флуоресцентного иммуноанализа, иммуносенсорного анализа и др.). Освещены тенденции развития и практического использования методов современного иммунохимического анализа, которые отвечают понятию экспрессности.

#### Ключевые слова

Иммунохимический анализ, экспресс-методы, многопараметрический анализ, практическое использование.

#### Summary

This review provides information on the scientific basis, advantages, formats and applications of various modern methods of immunochemical analysis (homogeneous enzyme immunoassay, fluorescence polarization immunoassay, immunosensor analysis, etc.). Trends in the development and practical usage of modern methods of immunochemical analysis that meet the concept of express were elucidated.

#### Keywords

Immunochemical analysis, express methods, polyvalent analysis, practical usage

#### Введение

Понятие «экспрессности» иммунохимического анализа (ИХА) постоянно эволюционирует: четверть века назад, когда внедряли в практику твердофазный радиоиммунный и иммуноферментный анализ (ИФА), их принципиальным достоинством было значительное снижение предела обнаружения и сокращение длительности анализа до нескольких часов по сравнению с сутками, характерными для известных тогда иммунохимических методов, основанных на диффузии в геле. Поэтому в то время оценка этих новых методов как экспрессных была вполне оправданной. Сегодня анализ длительностью в часы нельзя назвать экспрессным, поскольку существуют системы, дающие инфор-

мацию за 10-15 мин. Рассмотрим методы, которые отвечают современному понятию экспрессности.

#### Гомогенный иммуноферментный анализ

Гомогенный иммуноферментный анализ ЕМІТ (Enzyme-modulated immunoassay technique) был предложен в начале 1970-х годов [1]. Принцип ЕМІТ-анализа заключается в модуляции каталитической активности конъюгата фермент-антиген при образовании им комплекса со специфическими антителами. На рисунке 1 представлен принцип проведения гомогенного ИФА с использованием в качестве метки бациллярной  $\alpha$ -амилазы, в котором на первой стадии антитела образуют комплекс с конъю-

югатом антиген-фермент. В этом комплексе амилаза практически полностью утрачивает способность к гидролизу крахмала, т.к. ее активный центр экранирован антителом. Добавленный в систему свободный антиген вытесняет конъюгат из комплекса с антителом, что приводит к восстановлению амилолитической активности.

Метод прост в реализации, предел обнаружения – 2 нг/мл, длительность иммунохимической стадии – 15 мин. Неактивный комплекс конъюгат-антитело может формироваться заранее и входить в комплектацию тест-системы. В таком случае процедура анализа сводится к добавлению пробы и измерению ферментативной активности, величина которой определяется концентрацией антигена. Основным ограничением метода является его пригодность только для анализа низкомолекулярных соединений, поскольку лишь для их конъюгатов с ферментами связывание с антителами инициирует модуляцию активности метки (в силу стерических, конформационных или иных причин). ЕМИТ-анализ по чувствительности нельзя рассматривать как замену твердофазного ИФА, однако благодаря экспрессности и низкой трудоемкости он и сейчас используется в клинических и токсикологических лабораториях, а также при экспрессном анализе лекарств [2, 3].

#### Полиэлектролитный иммуоферментный анализ

Одна из современных модификаций экспресс-ИФА является подход, основанный на использовании водорастворимых линейных поли-

электролитов (полианионов и поликатионов), которые при взаимодействии друг с другом мгновенно образуют интерполимерный комплекс, что и обеспечивает высокую экспрессность анализа (рис. 2).

На первой стадии антитела, иммобилизованные на полианионе, конкурентно взаимодействуют с определяемым антигеном и конъюгатом антиген-фермент. Последующее добавление в систему поликатиона приводит к быстрому разделению молекул меченого антигена, связавшихся и не связавшихся с антителами. На заключительной стадии измеряется активность фермента в растворе (свободный конъюгат) либо в составе полимерного комплекса (связанный с антителами конъюгат). Исходя из величины активности по градуировочной кривой вычисляется содержание антигена в пробе.

Сопоставление традиционного твердофазного ИФА и ИФА на основе полиэлектролитов для определения таких соединений, как инсулин, тестостерон, иммуноглобулины, поверхностный антиген вируса гепатита В и др., показало, что использование полимерных носителей позволяет уменьшить время анализа с 2-3 ч до 15-30 мин, не влияя на специфичность и чувствительность анализа [2, 4].

#### Поляризационный флуориммуноанализ

Другим экспресс-методом определения низкомолекулярных антигенов (лекарств, наркотиков, гормонов, пестицидов и др.) является поляризационный флуоресцентный иммуноанализ (ПФИА), основанный на различиях в степени деполяризации плоскополяризованно-

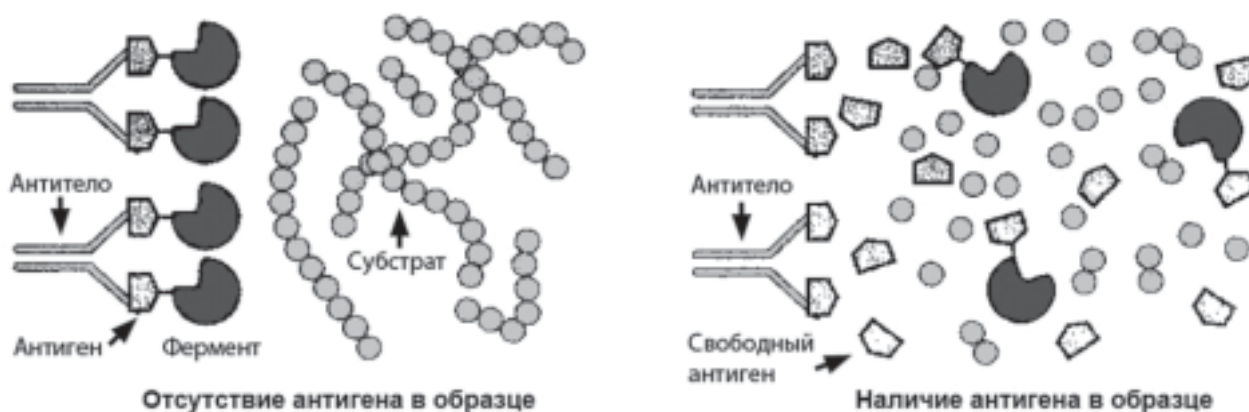
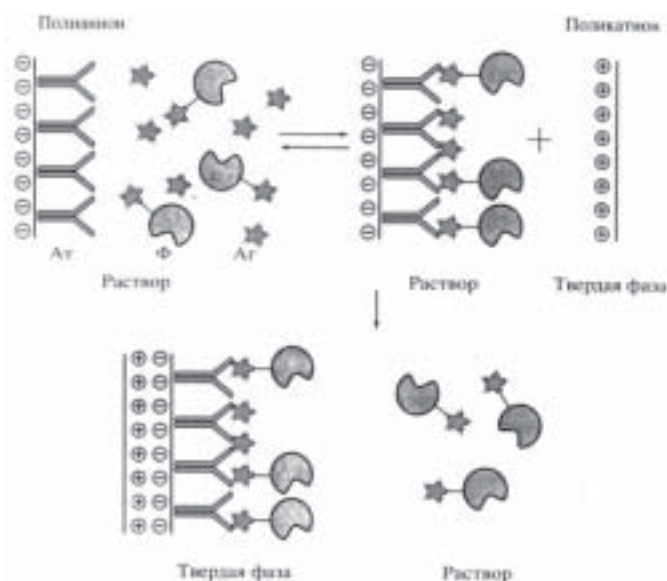


Рис. 1. Схема проведения гомогенного ИФА с использованием бациллярной α-амилазы.



**Рис. 2. Схема проведения полиэлектролитного экспресс-ИФА**

Примечание – Аг – антиген, Ат – антитело, Ф – фермент.

го света флуоресцентно мечеными низко- и высокомолекулярными объектами. Принцип метода и его возможности для анализа различных соединений подробно рассмотрены в работе [2, 5]. ПФИА является гомогенным методом анализа, что позволяет достигать равновесия в системе за несколько минут. Высокая скорость образования иммунного комплекса и отсутствие необходимости разделения свободного и связанного с антителами меченного флуорофором соединения позволяют проводить анализ за 10-15 мин. Чувствительность метода – 1 нг/мл - 5 мкг/мл.

Методическим ограничением ПФИА, как и ЕМТ, является возможность анализа только низкомолекулярных антигенов и наличие специального оборудования (ведущим производителем реагентов и приборов для ПФИА является фирма Abbott, США), что существенно ограничивает круг лабораторий, для которых данный метод на сегодня доступен.

### Иммуносенсорные системы

Наиболее простыми в методическом отношении являются варианты иммуносенсоров, в которых формирующийся иммунный комплекс детектируется без специальных маркеров. Однако эти прямые сенсоры в большинстве случаев существенно уступают по пределу обнаружения аналита анало-

гичным системам, использующим ферментное или иное усиление.

Из прямых иммуносенсоров наиболее известны оптические сенсоры VIAcore, использующие эффект поверхностного плазмонного резонанса. Эти системы позволяют в течение нескольких минут проводить количественное определение как высокомолекулярных, так и низкомолекулярных веществ [6, 7].

Иммуноанализ на чипе по последовательности стадий совпадает с классическим твердофазным иммуноанализом. Принципиальное отличие состоит в том, что антитела иммобилизованы на крайне малом участке поверхности носителя (силикона, кварца, тефлона, поликарбоната и др.), имеющем площадь порядка 100 мкм<sup>2</sup>. Для сравнения отметим, что площадь дна лунки стандартного 96-луночного планшета для ИФА составляет 3x10<sup>7</sup> мкм<sup>2</sup>, т.е. в 300 000 раз больше. Миниатюризация системы, в которой осуществляется анализ, приводит к сокращению времени, необходимого для формирования детектируемых комплексов. В результате длительность анализа может составлять 10-15 мин, вполне соответствуя современным представлениям об экспрессности. Благодаря потенциальной возможности одновременного определения сотен антигенов в разных ячейках чипа данный подход дает значительный выигрыш и в производительности анализа.

Предложено немало модификаций иммуносенсоров, одной из которых является иммунобиосенсор на основе использования феномена поверхностного плазмонного резонанса [8, 9].

Ранее одним из ограничений этой технологии являлась необходимость в сложном и дорогом оптическом оборудовании, однако, в настоящее время для решения этих задач созданы недорогие портативные приборы, что способствует более быстрому внедрению иммуночипов в аналитическую практику.

### **Иммунохроматографический анализ**

Альтернативой классическим методам ИХА является мембранный иммунохроматографический анализ, основанный на применении окрашенных мелкодисперсных маркеров, связывание которых в определенных зонах мембраны детектируется непосредственно в ходе движения жидкости. Наиболее распространенным маркером являются частицы коллоидного золота диаметром от 5 до 50 нм, на которых иммобилизуют моноклональные или аффинно очищенные поликлональные антитела [2, 10]. Кроме того, для иммунохроматографического анализа с непосредственной детекцией результатов используются углеродные частицы, цветные латексы, магнитные частицы, флуоресцентные маркеры и др. [11, 12] Носителем для иммунохроматографии являются пористые мембраны (средний диаметр пор – несколько микрометров).

Процедура иммунохроматографического анализа в конкурентном формате состоит в том, что на пористой мембране иммобилизуют конъюгат антигена с белком-носителем и антивидовые антитела, позволяющие контролировать «работоспособность» теста. На другой участок тест-полоски наносят конъюгат специфических антител с коллоидным золотом. При погружении такой тест-полоски в пробу жидкость поднимается под действием капиллярных сил и смывает коллоидный конъюгат. Меченые антитела начинают с ее фронтом перемещаться по мембране. Если определяемый антиген в пробе отсутствует, то антитела, дойдя до зоны с иммобилизованным антигеном, концентрируются там, образуя окрашенную полосу. Присутствующие в пробе антигены (в концентрации не ниже установленного уровня) блокируют активные центры антител, что делает невозможным их связывание с антигеном в аналитической зоне. Контролем сохранения тест-полоской функциональных свойств служит связыва-

ние избытка коллоидного конъюгата с антивидовыми антителами, которое регистрируется по образованию окрашенной полосы в контрольной зоне. Таким образом, формирование на тест-полоске одной окрашенной полосы свидетельствует о положительном результате анализа (выявлении антигена в концентрации не ниже контролируемой), тогда как формирование двух полос означает отсутствие антигена.

В отличие от других методов иммуноанализа иммунохроматография не требует никаких дополнительных реагентов, поскольку все необходимые компоненты заранее нанесены на мембрану, и контакт тест-полоски с пробой инициирует всю описанную выше последовательность процессов. Возможность за короткое время получить результаты в виде визуально детектируемой качественной («да-нет») информации обуславливает интенсивное развитие этого направления и производства коммерчески доступных тестов [11, 13]. Стабильность иммунохроматографических тест-систем, однозначность интерпретации результатов и, как следствие, достоверность анализа обеспечиваются за счет многокомпонентного состава тест-полоски. Аналитическая мембрана изготовлена из нитроцеллюлозы, которая эффективно связывает (адсорбирует) белки без дополнительной обработки, что позволяет формировать аналитическую и контрольные зоны тест-системы.

В зависимости от особенностей определяемого антигена и иммунореагентов для формирования тест-системы выбираются мембранные носители, отличающиеся по размерам пор, сорбционной емкости и другим параметрам [14]. Следствием этого является определенная вариабельность продолжительности анализа. Тем не менее, мембранная иммунохроматография, как правило, позволяет проводить анализ в течение 5-10 мин.

Несмотря на простоту процедуры анализа изготовление иммунохроматографических тестов представляет собой сложный процесс, включающий решение как научных, так и технологических задач. Для создания тест-систем необходимо:

- получить конъюгаты антител с коллоидным маркером и изучить кинетику их взаимодействия с антигеном на мембране;
- оптимизировать соотношения реагентов, наносимых на мембрану, и условия проведения анализа;
- отработать условия, при которых тесты будут сохранять свои аналитические характеристики в течение длительного времени.



Ряд зарубежных фирм (Syntron Bioresearch, DRG, Roche и АВМС (США), Human (Германия), Unipath (Великобритания), Vedalab и Innotek International (Франция), Lachema (Чехия) и др.), осуществляет коммерческий выпуск иммуноаналитических систем для бесприборной диагностики, которые нашли широкое применение для определения наркотических средств, ранней диагностики беременности, скрининга особо опасных инфекций (ВИЧ, гепатит и туберкулез), диагностики аллергии, а также определения кардио- и онкомаркеров [13, 15].

Исходно иммунохроматографические тесты предлагались как альтернатива сложным стационарным методам анализа, ориентированная на минимальные манипуляции и качественную регистрацию результатов, не требующую каких-либо приборов. Для многих случаев (например, для ранней диагностики беременности) такой подход полностью отражает практические потребности. Однако при наркоскрининге или диагностике особо опасных заболеваний целесообразно четкое протоколирование результатов тестирования и сохранение их в однозначно интерпретируемой форме. К тому же числовое выражение степени связывания маркера в аналитической зоне дает возможность перейти от качественного анализа к существенно более информативному количественному.

На сегодняшний день существуют коммерчески доступные цифровые оптические детекторы для иммунохроматографических тестов [16]. Целесообразность использования портативной фотометрической регистрирующей техники при проведении анализов определяется тем, что она исключает элемент субъективности, позволяет сохранять результаты тестирования в виде первичного документа (изображения тест-полоски) и обработанных на компьютере данных. Иммунохроматографические тест-полоски в комплекте с портативным детектором и портативным компьютером могут использоваться как в лабораторных условиях, так и для проведения анализа на местах забора проб.

### **Перспективы развития средств иммунохимического анализа**

Иммунобиотехнология сегодня обеспечивает не только производство ИХА-наборов, но и производстве различных компонентов (антигенов-стандартов, антител, меченых антигенов, разделяющих систем, буферных растворов, иммобилизованных реагентов и т.д.) и оборудования для ИХА.

Основными производителями наборов реактивов для ИХА различных групп соединений являются известные фирмы мира, такие как Daco, Immunotech, Verhing, Sigma и др.

Иммуноанализ продолжает развиваться в соответствии с новыми научными и технологическими решениями и находит новые области применения. Можно ожидать, что будущее принадлежит двум направлениям: совершенствованию методик иммуноанализа с высокой чувствительностью и многопараметрическому анализу.

Одно из перспективных решений в этом направлении состоит в использовании нуклеиновых кислот в качестве меток в иммуноаналитических системах, поскольку увеличение сигнала в этом случае может обеспечивать полимеразная цепная реакция (ПЦР). Недавние разработки в этой области свидетельствуют о возможности обнаружения чрезвычайно низких концентраций аналита (аттомоли –  $10^{-18}$  М) [17]. Присоединение олигонуклеотидов к наночастицам (диаметром порядка 10-30 нм) является дополнительным методическим решением в этом направлении, обеспечивающим увеличение амплитуды регистрируемого сигнала.

Использование наночастиц с иммобилизованными антителами в так называемом «Barcode» формате иммуноанализа позволило детектировать 18-20 молекул  $\alpha$ -фетопротеина в объеме 10 мкл [18], что фактически на шесть порядков превосходит характеристики традиционных иммуноаналитических методов. Этот метод анализа был также применен с выигрышем по величине предела обнаружения в несколько порядков для выявления и определения содержания амилоидных  $\beta$ -модифицированных дисульфидных лигандов, новых биоиндикаторов болезни Альцгеймера [19].

Многопараметрический анализ позволяет одновременно определять большое число аналитов, обычно объединяемых в группы. Один из подходов для достижения этой цели состоит в использовании разноцветных частиц. Например, технология Luminex основана на проведении мультипараметрических «сэндвич»-анализов, в которых одно антитело, специфичное к интересующему аналиту, присоединено к препарату частиц одного и того же цвета, а второе антитело, специфичное к тому же аналиту, присоединено к флуоресцентному маркеру [20]. Использование наночастиц разных цветов позволяет одновременно определять значительное число соединений в одном и том же образце. Проточный цитометр с соответствующим на-

бором детекторов используется для того, чтобы по цветам наночастиц идентифицировать определяемые соединения, а по интенсивности флуоресценции сделать выводы о концентрации каждого из них. Технология Lumiplex коммерчески доступна и успешно применяется для целей мультипараметрического определения цитокинов, аутоантител и диагностики инфекционных заболеваний [21, 22, 23].

Развитие нанотехнологий делает возможным разработку методов мультипараметрического иммуноанализа на основании детекторов, в которых на крайне малых площадях в строго определенной геометрии нанесены специфические реагенты для детекции различных соединений. Исходно этот подход (так называемая техника *microarray*) применялся в исследовательских целях, например, в протеомных исследованиях, но сейчас он становится доступным и для аналитических лабораторий. Область применения этого метода включает анализ цитокинов и диагностику инфекционных, аутоиммунных и аллергических заболеваний [24, 25]. К тому же мультипараметрический анализ с использованием микрочипов требует крайне малых объемов проб и суще-

ственно меньше реактивов, чем другие иммунологические методы, и поэтому перспективен для широкого внедрения в практику.

### Заключение

Несмотря на большое разнообразие модификаций экспресс-методов современного иммунохимического анализа их объединяет строгая специфичность, высокая информативность и чувствительность. Эти методы широко применяются в различных областях биологической и медицинской наук. Они способны определять концентрации широкого круга биологически активных веществ, в том числе и низкомолекулярных гаптенных, позволяют по-новому понять механизмы регуляции гомеостаза организма, изучать важные закономерности синтеза различных биорегуляторов, контролировать течение и развитие физиологических функций организма в норме и патологии, диагностировать многие патологические состояния, проводить лекарственный мониторинг, обнаруживать в организме не только микроорганизмы, но и различные токсические продукты и наркотические вещества и т.д.

### Литература

1. Rubenstein K.E., Schneider R.S., Ullman E.F. «Homogeneous» enzyme immunoassay. A new immunochemical technique. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1972; 47: 846-851.
2. Проблемы аналитической химии. Биохимические методы анализа. Под ред. Б.Б. Дзантиева. М.: Наука. 2010; 12: 391 с.
3. Пивень Н.В. Иммунохимический анализ: научные основы, тенденции развития и возможности практического использования. *Иммунопатология, аллергология, инфектология.* 2007; 2: 6-22.
4. Изумрудов В.А. Явления самосборки и молекулярного «узнавания» в растворах (био) полиэлектrolитных комплексов. *Успехи химии.* 2008; 77(4): 401-415.
5. Индриксон О.Д., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б. Успехи биологической химии. 2006; 46: 149-154.
6. Tsutsumi T., Miyoshi N., Sasaki K. et al. Biosensor immunoassay for the screening of dioxin-like polychlorinated biphenyls in retail fish. *Anal. Chim. Acta.* 2008; 617(1-2): 177-183.
7. Yuan J., Addo J., Aguilar M.I. et al. Surface plasmon resonance assay for chloramphenicol without surface regeneration. *Anal. Biochem.* 2009; 390(1): 97-99.
8. Пивень Н.В., Бураковский А.И., Гончарик А.В. и соавт. Нонилфенол – как маркер загрязнения окружающей среды и методы его иммунохимической детекции. *Иммунология, аллергология, инфектология.* 2005; 4: 35-42.
9. Бураковский А.И. Методы иммунобиосенсорного анализа: принципиальные основы и возможности практического использования. *Иммунопатология, Аллергология, Инфектология.* 2008; 1: 11-15.
10. Wang S., Zhang C., Zhang Y. Lateral flow colloidal gold-based immunoassay for pesticide. *Methods Mol. Biol.* 2009; 504: 237-252.
11. Posthuma-Trumpie G.A., Korf J., van Amerongen A. Lateral flow (immuno)assay: its strengths, weaknesses, opportunities and threats. A literature survey. *Anal. Bioanal. Chem.* 2009; 393(2): 569-582.
12. Khreich N., Lamourette P., Boutal H. et al. Detection of *Staphylococcus enterotoxin B* using fluorescent immunoliposomes as label for immunochromatographic testing. *Anal. Biochem.* 2008; 377(2): 182-188.
13. von Lode P. Point-of-care immunotesting: approaching the analytical performance of central laboratory methods. *Clin. Biochem.* 2005; 38(7): 591-606.
14. Бызова Н.А., Сафенкова И.В., Чирков С.Н. и соавт. Разработка иммунохроматографических тест-систем для экспрессной детекции вирусов растений. *Прикл. биохимия и микробиология.* 2009; 45: 225-231.
15. Stjernenburg E., Junker R. Point-of-care testing in microbiology: the advantages and disadvantages of immunochromatographic test strips. *Dtsch. Arztebl. Int.* 2009; 106(4): 48-54.
16. Zaiko V.V., Martinkina L.P., Steriopolo N.A. et al. Microarray method for multiplex and serial latex agglutination tests with digital image registration. *Clin. Lab.* 2008; 54(7-8): 273-279.
17. Sano T., Smith C.L., Cantor C.R. Immuno-PCR: very sensitive antigen detection by means of specific antibody-DNA conjugates. *Science.* 1992; 258(5079): 120-122.

18. Nam J.M., Thaxton C.S., Mirkin C.A. Nanoparticle-based bio-bar codes for the ultrasensitive detection of proteins. *Science*. 2003; 301(5641): 1884-1886.
19. Georganopoulou D.G., Chang L., Nam J.M. et al. Nanoparticle-based detection in cerebral spinal fluid of a soluble pathogenic biomarker for Alzheimer's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2005; 102(7): 2273-2276.
20. Vignali D.A. Multiplexed particle-based flow cytometric assays. *J. Immunol. Methods*. 2000; 243(1-2): 243-255.
21. Prabhakar U., Eirikis E., Davis H.M. Simultaneous quantification of proinflammatory cytokines in human plasma using the LabMAP assay. *J. Immunol. Methods*. 2002; 260(1-2): 207-218.
22. Rouquette A.M., Desgruelles C., Laroche P. Evaluation of the new multiplexed immunoassay, FIDIS, for simultaneous quantitative determination of antinuclear antibodies and comparison with conventional methods. *Am. J. Clin. Pathol.* 2003; 120(5): 676-681.
23. Dias D., van Doren J., Schlottmann S. et al. Optimization and validation of a multiplexed luminex assay to quantify antibodies to neutralizing epitopes on human papillomaviruses 6, 11, 16, and 18. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2005; 12(8): 959-969.
24. Knight P.R., Sreekumar A, Siddiqui J. et al. Development of a sensitive microarray immunoassay and comparison with standard enzyme-linked immunoassay for cytokine analysis. *Shock*. 2004; 21(1): 26-30.
25. Bacarese-Hamilton T., Gray J., Ardizzoni A. et al. Allergen microarrays. *Methods Mol. Med.* 2005; 114: 195-207.

### Сведения об авторах:

Пивень Надежда Викторовна - руководитель лаборатории медицинского микроанализа, д.м.н., Лауреат Государственной Премии, профессор кафедры иммунологии Международного государственного экологического университета им. А.Д. Сахарова.  
220141, Минск, ул. Купревича, 5/2.  
тел. (375 17) 263-72-73

Поступила 11.05.2012 г.