

ТЕХНИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ ИММУНОХРОМАТОГРАФИИ ДЛЯ ИНДИКАЦИИ ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ И ТОКСИНОВ

С. П. Ярков ✉, И. В. Шиленко, С. И. Третьяков, Ю. Н. Ишков, К. К. Стяжкин

Государственный научно-исследовательский институт биологического приборостроения Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

В обзоре рассмотрены аналитические возможности и состав технических средств на основе иммунохроматографии для экспрессной индикации патогенных для человека бактерий, вирусов и токсинов, разработанных в Государственном научно-исследовательском институте биологического приборостроения ФМБА России. Рассмотрены технические характеристики и состав серийных упаковок УИХЭ-1, предназначенных для осуществления моноаналитного и мультианалитного иммунохроматографического анализа патогенных микроорганизмов и токсинов в смывах с поверхностей объектов окружающей среды, в культуральных средах, комплектов ЭкБ и ЭкБ-01 для анализа содержимого пробоотборников биологического аэрозоля. Приведены сведения об аналитических свойствах упаковки для люминесцентного иммунохроматографического анализа УЛИ-1, экспериментальном образце флуориметра-рефлектометра «Зондаж». Проведено сравнение технических характеристик индикаторных упаковок и комплектов с зарубежными аналогами, указаны направления совершенствования технических средств на основе иммунохроматографии.

Ключевые слова: патогенные бактерии, вирусы, токсины, иммунохроматография, идентификация, упаковки и комплекты

Финансирование: исследования проводили в рамках государственных заказов Федерального медико-биологического агентства России (№ 42.128.11.6, № 42.133.12.6) и Министерства здравоохранения России (№ К-27-ФЦП/82-1).

Вклад авторов: С. П. Ярков — идея, планирование опытно-конструкторских работ, анализ результатов, участие в испытаниях, подготовка рукописи; И. В. Шиленко — создание мультианалитных иммунохроматографических тестов, осуществление испытаний комплектов ЭкБ, анализ полученных результатов; С. И. Третьяков — создание иммунохроматографических тестов, макетов и упаковок, проведение испытаний, анализ результатов исследований; Ю. Н. Ишков — руководство исследованием, редактирование рукописи; К. К. Стяжкин — руководство, редактирование рукописи.

✉ **Для корреспонденции:** Сергей Петрович Ярков
Волоколамское шоссе, д. 75, корпус 1, 125424, г. Москва, Россия; diasol@dol.ru

Статья получена: 26.11.2022 **Статья принята к печати:** 18.12.2022 **Опубликована онлайн:** 29.12.2022

DOI: 10.47183/mes.2022.046

IMMUNOCHROMATOGRAPHY-BASED PORTABLE EQUIPMENT FOR INDICATION OF PATHOGENIC MICROORGANISMS AND TOXINS

Yarkov SP ✉, Shilenko IV, Tretyakov SI, Ishkov YN, Styazhkin KK

Federal State Unitary Enterprise "State Scientific Research Institute of Biological Engineering" FMBA of Russia (FSUE "SSRIBE"), Moscow, Russia

This review looks at analytical capabilities and composition of portable equipment based on lateral flow immunoassay for rapid indication of human pathogenic bacteria, viruses and toxins which was developed by the State Research Institute of Biological Instrumentation under the auspices of the Federal Medical and Biological Agency of Russia. The review presents technical characteristics and composition of portable test kits UIHE-1 designed for taking monoanalytical and multi-analytical lateral flow immunoassay on pathogenic microorganisms and toxins in washes from environmental objects surfaces and in culture media; it also describes kits EkB and EkB-01 for analysis of biological aerosol samplers contents. Information is given on the analytical properties of luminescence lateral flow immunoassay kit ULI-1, an on the experimental prototype of fluorimeter-reflectorometer "Zondazh". The technical characteristics of indication kits were compared with those of foreign origin, areas for improvement of portable equipment based on lateral flow immunoassay were indicated.

Keywords: pathogenic bacteria, viruses, toxins, immunochromatography, identification, sets and kits

Funding: the studies were carried out under government contracts with the Russian Federal Medical and Biological Agency (№ 42.128.11.6, № 42.133.12.6) and the Russian Ministry of Health (№ К-27-FTP/82-1).

Author contribution: Yarkov SP — idea, development planning, analysis of findings, participation in tests, manuscript preparation; Shilenko IV — creation of multi-analysis lateral flow immunoassays, implementation of tests of EkB sets, analysis of obtained results; Tretyakov SI — creation of lateral flow immunoassays, models and kits, tests, analysis of research results; Ishkov YN — study management, manuscript editing; Stiazhkin KK — management, manuscript editing.

✉ **Correspondence should be addressed:** Sergei P. Yarkov
Volokolamskoye, 75, str. 1, 125424, Moscow, Russia; diasol@dol.ru

Received: 26.11.2022 **Accepted:** 18.12.2022 **Published online:** 29.12.2022

DOI: 10.47183/mes.2022.046

Иммунохимический анализ, в котором процессы жидкостной иммунохроматографии основаны на специфических (иммунных) взаимодействиях между аналитом и нанесенными на пористую тонкую мембрану специфичными рецепторными молекулами, получил название иммунохроматографического анализа (ИХА, или LFIA, от англ. lateral flow immunoassay). История развития метода началась в 1980-е годы с создания тест-полосок для выявления хорионического гонадотропина в моче, что позволяло выявлять беременность вне лаборатории [1]. Схема тест-полоски для проведения ИХА в «сэндвич»-варианте анализа показана на рис 1.

Как правило, в иммунохроматографическом тесте используют мультимембранный композит, состоящий из нескольких мембран разной химической структуры и пористости, закрепленных на подложке, обеспечивающей жесткость конструкции, и помещенный в полимерную оправу.

Принцип действия ИХА в «сэндвич»-варианте многократно описан в литературе [2–4]. Жидкую пробу, потенциально содержащую антигены аналитов, помещают на подложку для нанесения образца. Под действием капиллярных сил происходит перемещение жидкости по мультимембранному композиту. Сначала солибилизируется конъюгат НКЗ со специфичными

антителами. Конъюгат НКЗ окрашен в вишневый цвет, его движение по мембране можно наблюдать визуально. При наличии определяемого антигена в пробе образуется антигенный иммунный комплекс, который с током жидкости начинает перемещаться по аналитической мембране вместе с избытком конъюгата. Далее иммунный комплекс иммобилизуется на аналитической мембране специфичными антителами в аналитической зоне (АЗ), образуя «сэндвич», а несвязанные антитела конъюгата — антителами, расположенными в контрольной зоне тест-полоски (КЗ), что приводит к образованию двух окрашенных линий. В случае отсутствия антигена в пробе антигенный иммунный комплекс не образуется, поэтому единственная видимая линия формируется за счет связывания антител конъюгата и антител КЗ (антивидовых по отношению к антителам конъюгата) только в КЗ.

В зависимости от решаемых задач в тест-полоску могут быть добавлены дополнительные реагенты, а некоторые мембраны можно добавлять, комбинировать или исключать. Однако общая конструкция и принцип проведения аналитических взаимодействий во время движения реагентов вдоль мембран сохраняются. Упростить анализ по отношению к твердофазному иммуоферментному анализу (ТИФА) можно отказом от дополнительных обработок, промывок, инкубации, усиливающей сигнал, а также визуальной оценкой результатов. Типичное время ИХА составляет 10–25 мин, чувствительность при анализе бактериальных суспензий — 10^5 – 10^6 кл./мл, вирусных суспензий — 10^4 – 10^6 БОЕ/мл; по белковым токсинам чувствительность метода лежит в диапазоне 1–100 нг/мл, в зависимости от вида токсина. Поскольку иммунохимические взаимодействия на мембране идут в неравновесном режиме, считается, что ИХА уступает ТИФА по чувствительности. В то же время существуют приемы и методы, позволяющие поднять чувствительность ИХА по белковым антигенам до 0,1 нг/мл, а по клеткам до 10^3 кл./мл, однако это требует либо дополнительных реагентов, либо приборной регистрации и существенно увеличивает время анализа.

Пристальное внимание к методу ИХА возникло на фоне внешних глобальных событий, затрагивающих интересы ведущих экономических держав мира и мирового здравоохранения. Можно выделить четыре волны интереса к средствам ИХА, связанные с массовым применением патогенных для человека бактерий, токсинов и возникновением новых вирусных инфекционных заболеваний.

1. Операция армии США «Буря в пустыне» в январе–феврале 1991 г. Были созданы иммунофильтрационные индивидуальные устройства для выявления спор сибирской

язвы, которые входили в экипировку военнослужащих. Предполагалось, что в случае применения иракской армией спор сибирской язвы быстрая их индикация уменьшит потери личного состава.

2. Акты индивидуального биотерроризма — рассылки почтовых конвертов в правительственные учреждения США со спорами сибирской язвы в августе–октябре 2001 г. Несколькими фирмами в США были созданы тест-полоски на принципе «сэндвич» ИХА для выявления спор сибирской язвы и других возбудителей опасных инфекций (чумы, туляремии, бруцеллеза).

3. Иракская война США 2003–2011 гг. Произошло расширение номенклатуры тестов для выявления патогенов в объектах окружающей среды.

4. Пандемия COVID-19 с конца 2020 г. — по настоящее время. Появились быстрые ИХА-тесты для выявления нуклеокапсидного антигена коронавируса SARS-CoV-2 и антител к нему у переболевших людей в смывах с носоглотки и в сыворотке крови. Масштаб производства иммунохроматографических тест-полосок в мире достиг сотен миллионов.

Биобезопасность чрезвычайно важна в современном обществе. Информацию о наличии патогенных микроорганизмов и токсинов в объектах внешней среды желательно получать незамедлительно и непосредственно в месте отбора проб. Помимо биологических угроз, связанных с индивидуальным биотерроризмом, опасение вызывает наличие биологических лабораторий, работающих с возбудителями особо опасных инфекций, финансируемых недружественными государствами, в странах СНГ. Деятельность этих биологических лабораторий непрозрачна и не контролируется местной администрацией.

Применение ИХА в санитарии и гигиене обусловлено не только вопросами биобезопасности, но и потребностью в оперативном получении информации о товарах массового потребления, например о качестве сельскохозяйственного сырья, поступающего на предприятие и готовой пищевой продукции, направляемой в торговую сеть [5]. В последнее десятилетие активизировалась разработка модификаций ИХА, позволяющих проводить высокочувствительный анализ, сохраняя при этом основные достоинства — скорость исполнения, простоту внедрения и интерпретацию результатов [6–8].

Сказанное выше делает актуальным разработку и серийный выпуск отечественных технических средств экспресс-индикации патогенных микроорганизмов и токсинов, пригодных как для медицинских нужд, так и для контроля объектов окружающей среды.

Федеральное государственное унитарное предприятие «Государственный научно-исследовательский институт

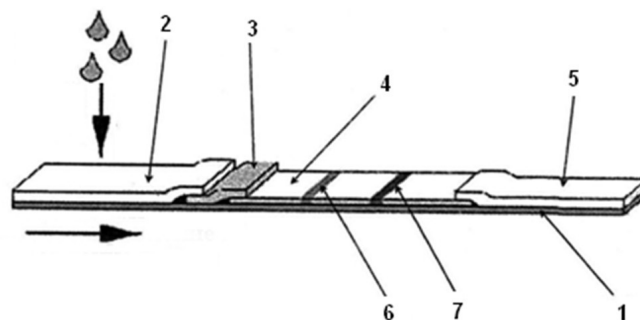


Рис. 1. Схема тест-полоски для проведения ИХА. 1 — пластиковая подложка жесткости; 2 — подложка для нанесения образца; 3 — конъюгатная подложка с высушенным конъюгатом наночастиц коллоидного золота (НКЗ) со специфичными антителами; 4 — аналитическая мембрана с нанесенными линиями растворов антител; 6 — аналитическая зона; 7 — контрольная зона; 5 — адсорбирующая подложка. Вертикальной стрелкой указано нанесение жидкой пробы на подложку, горизонтальной — направление движения потока анализируемой пробы

Таблица 1. Сравнительная характеристика отечественных и зарубежных технических средств индикации патогенов в объектах окружающей среды на основе иммунохроматографического анализа

Характеристики 1	Отечественные укладки и комплекты				Зарубежные								
	ЭКБ-01	УИХЗ-1			МИУ	Pro Strips™	RAID	NIDS*	Toxin Screen	IMASS	RAMP**	BADD	KBTV
		376.00.00.000.376.00.00.000-01*	304.00.00.000	304.00.00.000-01									
	2	3	4	5	6	Alexeler Technologies, США	ANP Technologies, США	8	9	10	11	12	13
Разработчик и производитель	ФГУП «ГосНИИБП», Россия												
Количество выявляемых патогенов	17	5	10	5	6	3, 5, 8	3, 5	3	9	3	5	3	6
Наименование патогенных микроорганизмов, возбудителей инфекционных болезней и токсинов, выявляемых с помощью технического средства индикации	Возбудители сибирской язвы, чумы, бруцеллеза, туляремии, сальмонеллодоза, легионеллеза, ботулинические токсины типов А и В, рикции, СЭВ, холерный экзотоксин	В зависимости от комплектации: возбудители сибирской язвы, чумы, бруцеллеза, туляремии, сальмонеллодоза, риккетсии Барнета, ортоспоккиские токсины типов А и В, рикции, СЭВ, холерный экзотоксин	Возбудители сибирской язвы, чумы, бруцеллеза, туляремии, сальмонеллодоза, ботулинические токсины типов А и В, рикции, СЭВ, холерный экзотоксин	МИУ бактерии: возбудители сибирской язвы, чумы, бруцеллеза, туляремии, сальмонеллодоза, МИУ токсины: ботулинические токсины типов А и В, рикции, СЭВ, холерный экзотоксин	Возбудители сибирской язвы, чумы, бруцеллеза, туляремии, сальмонеллодоза, ботулинические токсины типов А и В, рикции, СЭВ, холерный экзотоксин	В зависимости от комплектации: возбудители сибирской язвы, чумы, бруцеллеза, туляремии, сальмонеллодоза, ботулинические токсины, рикции, СЭВ, вирус оспы	В зависимости от комплектации: возбудители сибирской язвы, чумы, бруцеллеза, туляремии, сальмонеллодоза, ботулинические токсины, рикции, СЭВ, вирус оспы	Ботулинические токсины, рикции, СЭВ	Возбудители сибирской язвы, чумы, бруцеллеза, туляремии, сальмонеллодоза, ботулинические токсины, рикции, СЭВ	Возбудители сибирской язвы, чумы, бруцеллеза, туляремии, сальмонеллодоза, ботулинические токсины, рикции, СЭВ	Возбудители сибирской язвы, чумы, бруцеллеза, туляремии, сальмонеллодоза, ботулинические токсины, рикции, СЭВ	Osborne Scientific, США	CEA, Франция
Порог чувствительности:													
- споровые формы бактерий, кл/мл	1 × 10 ⁶	1 × 10 ⁶	1 × 10 ⁶	1 × 10 ⁶	1,5 × 10 ⁶ -8,3 × 10 ⁶	1 × 10 ⁶	н/д	не выявляют	5 × 10 ⁶ -5 × 10 ⁷	1,5 × 10 ⁴	1 × 10 ⁶	1 × 10 ⁶	н/д
- вегетативные формы бактерий, кл/мл	1 × 10 ⁶	1 × 10 ⁶	1 × 10 ⁶	1 × 10 ⁶	1,6 × 10 ⁶	н/д	н/д	не выявляют	1 × 10 ⁶	н/д	1 × 10 ⁶	1 × 10 ⁶	н/д
- вирусы, БОЕ/мл	(1...100) × 10 ³	1 × 10 ⁶ ОЕ/мл	1 × 10 ⁶	не выявляют	не выявляют	н/д	н/д	не выявляют	не выявляют	3,8 нг/мл	не выявляют	не выявляют	н/д
- бактериальные и растительные токсины, нг/мл	30-250	50-1000	20-500	20-500	не выявляют	н/д	н/д	не выявляют	не выявляют	19-38	10-500	10-500	н/д
Время быстрого-действия, мин	25	25-30	25-30	25-30	15	15	н/д	15	н/д	15	15-25	15	15
Количество анализируемых проб	50/5	10	4	1	1	1	10	3	10	5	5	5	5
Средства отбора проб имеются													
Наличие средств отбора проб													
Наличие средств подготовки проб к анализу	да	да	да	нет	да	да	нет	да	нет	да	да	да	да
Рабочий температурный диапазон, °С	+10...+40	+10...+35	+10...+35		от 4	н/д	н/д	+20...42	н/д	н/д	н/д	от 4	н/д
Срок годности, годы	2	2	2	2	2	2	2	1	н/д	н/д	н/д	2	2
Масса, кг	30/0,405	5,5	2	0,03	н/д	н/д	4,54	н/д	н/д	н/д	9,08	н/д	н/д
Габариты, мм	994 × 600 × 445 200 × 128 × 90	480 × 390 × 190	235 × 195 × 108	140×140×20	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д
Способ регистрации результатов анализа	Визуальный / Приборный (питание от сети либо от внутреннего аккумулятора)	Визуальный	Визуальный	Мульти	Мульти	Мульти	Мульти	Мульти	Мульти	Мульти	Мульти	Мульти	Мульти
Моно / мультианалитические тесты	Мульти	Моно	Мульти	Мульти	Мульти	Мульти	Мульти	Мульти	Мульти	Мульти	Мульти	Моно	Моно

Примечания: * — указаны десятичные номера конструкторской документации; ** — в иммунохроматографических тестах применяется люминесцентная метка; ***СЭВ — стафилококковый энтеротоксин типа В; н/д — нет данных. В таблице приведены сведения производителей о технических средствах индикации в виде комплектов и упаковок для противодействия биотеррористической угрозе. Перечень индивидуальных иммунохроматографических тестов, выпускаемых в России и за рубежом в медицинских целях для диагностики особо опасных и опасных инфекционных заболеваний, более обширен.

Таблица 2. Сравнительные характеристики укладки УИХЭ-1 и других методов экспресс-индикации патогенов [9]

Концентрация млн кл./мл	ПЦР время (2,0 ч)	РНГА время (3,5 ч)	ТИФА время (2,0 ч)	УИХЭ-1 время (15–20 мин)
<i>Y. pestis</i> 0,1	+	+	+	+
<i>Y. pestis</i> 0,01	+	–	–	+/-
<i>B. anthracis</i> 1,0	+	+	+	+
<i>B. anthracis</i> 0,1	+	+/-	+	+/-
<i>B. anthracis</i> 0,01	+	–	–	–
<i>Fr. tularensis</i> 0,1	+	+	+	+
<i>Fr. tularensis</i> 0,01	+	–	–	+/-

Примечания: ПЦР — полимеразная цепная реакция, РНГА — реакция непрямой геммагглютинации, ТИФА — твердофазный иммуноферментный анализ.

биологического приборостроения» (ФГУП «ГосНИИБП») ФМБА России является единственным в нашей стране предприятием, ведущим разработки и серийный выпуск технических средств индикации патогенов в объектах окружающей среды, основанных на принципе ИХА.

Цель обзора — представить характеристики отечественных средств на основе ИХА для индикации патогенных микроорганизмов и токсинов в объектах окружающей среды (смывы с поверхностей, жидкости, содержимое пробоотборников биологического аэрозоля), разработанные ФГУП «ГосНИИБП» ФМБА России, и провести сравнение с зарубежными аналогами.

Укладка иммунохроматографических индикаторных элементов УИХЭ-1

Укладка УИХЭ-1 была разработана для индикации возбудителей чумы, сибирской язвы, туляремии, сапа и ботулинического токсина типа А в смывах с поверхностей объектов окружающей среды. Укладка представляет собой иммунохроматографические индикаторные элементы и средства отбора пробы с поверхности, кисти, емкость с буфером анализа, стерильный тампон и схему анализа, уложенные в пылевлагозащищенный полимерный кейс. Расходные элементы укладки позволяют осуществить 10 анализов по пяти разновидностям патогенов. Имеется комплект пополнения, позволяющий быстро заменить израсходованные индикаторные элементы и буфер для проведения анализа и другие одноразовые аксессуары. В нормативных документах ФМБА России укладка рекомендована для использования в практической деятельности центров гигиены и санитарии ФМБА России. Основные технические характеристики укладки представлены в табл. 1.

Характеристики иммунохроматографических индикаторных элементов укладки по чувствительности и быстрдействию, в сравнении с другими иммунохимическими экспресс-методами индикации патогенов, приведены в табл. 2. Данные были получены в ходе учений по выявлению микробных клеток вакцинных штаммов возбудителей сибирской язвы, чумы, туляремии [9].

Как видно из сравнительных испытаний, метод ИХА и индикаторные иммунохроматографические элементы укладки УИХЭ-1 обладают чувствительностью, сравнимой с РНГА и ТИФА, а по быстрдействию опережают их. Номенклатура иммунохроматографических индикаторных элементов, которыми можно опционально комплектовать укладку, в настоящее время расширена до 15 наименований [10, 11]. Дальнейшим развитием этого технического средства индикации было создание варианта укладки УИХЭ-1 с комплектацией мультианалитными иммунохроматографическими

индикаторными устройствами (МИУ), рассчитанными на выявление бактерий и токсинов [12]. Конструктивно в МИУ тест-полоски расположены в полимерных разъемных оправах по 5 штук, при этом отобранную жидкую пробу необходимо вносить в отверстие для нанесения образца и равномерно распределять по всем тест-полоскам. Верхняя крышка полимерной оправы МИУ имеет прямоугольные прорези для визуальной регистрации результатов анализа и соответствующую маркировку. Применение МИУ позволило сделать укладку компактной, а также увеличить номенклатуру выявляемых бактерий (пять наименований) и токсинов (пять наименований) в едином цикле анализа. Возбудители сапа и мелиоидоза не имеют видового различия при проведении ИХА, ввиду близкой антигенной структуры рода *Burkholderia*. Оба варианта исполнения укладки УИХЭ-1 обладают высокой устойчивостью к воздействию механических и климатических факторов и используются для комплектования мобильных биологических лабораторий. Полимерные кейсы укладки стойки к воздействию дезинфицирующих средств. Небольшие размеры и масса 5,5 кг и 2,0 кг позволяют использовать их также как переносное средство специфической индикации.

Комплект «Экспресс-комплект-Био»

Комплект «Экспресс-комплект-Био» (ЭКБ) предназначен для:

- отбора и подготовки проб содержимого пробоотборников биологических аэрозолей, культуральных сред после стадии биологического обогащения, смылов с поверхностей объектов окружающей среды;
- индикации методом ИХА вирусов (ортопиксвирусов, возбудителей геморрагических лихорадок Ласса и Мачupo, денге, лихорадки Западного Нила, среды накопления вирусов и риккетсий (антигенов растущих куриных эмбрионов), вегетативных и споровых форм бактерий (возбудителей чумы, сапа и мелиоидоза, бруцеллеза, спор сибирской язвы, туляремии), бактериальных и растительных токсинов (ботулинического токсина типа А (БТА), ботулинического токсина типа В (БТВ), стафилококкового энтеротоксина типа В (СЭВ), холерного экзотоксина, рицина;
- регистрации и фиксации результатов ИХА, передачи результатов органам управления.

Комплект рассчитан для отбора, подготовки и анализа 50 проб и эксплуатируется при температуре от +10 до +40 °C [13]. Он состоит из набора принадлежностей для подготовки отобранных проб к анализу, в который входит устройство для элюирования пробы с твердых сорбирующих сред пробоотборников аэрозоля; набора мультианалитных иммунохроматографических тестов (МИТ). Индикационные возможности комплекта

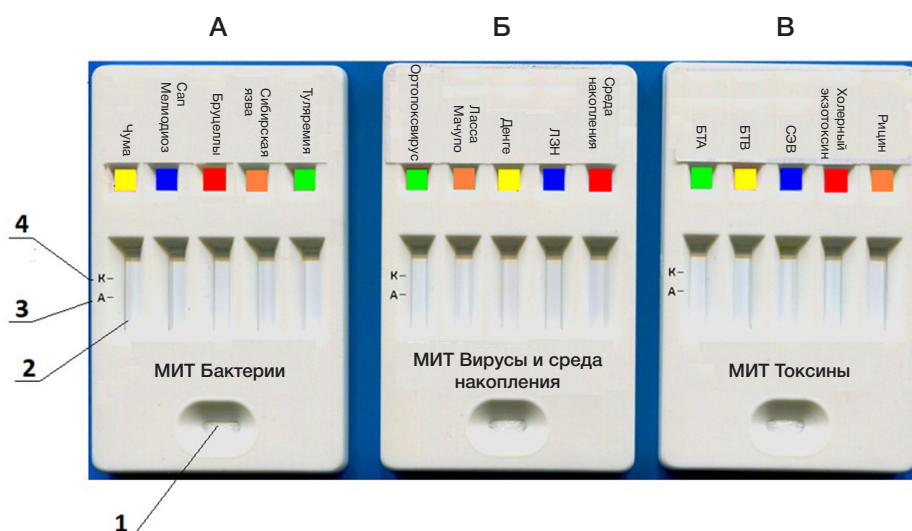


Рис. 2. Внешний вид мультианалитических иммунохроматографических тестов, входящих в комплекты ЭкБ и ЭкБ-01. **А.** МИТ Бактерии. **Б.** МИТ Вирусы и среда накопления. **В.** МИТ Токсины. 1 — отверстие для внесения пробы; 2 — отверстие для регистрации результата анализа; 3 — аналитическая зона; 4 — контрольная зона

обеспечены тремя видами МИТ: МИТ «Бактерии», МИТ «Вирусы и среда накопления», МИТ «Токсины» (рис. 2).

Индикация возбудителей сапа и мелиоидоза проходит без различия вида бактерий. В случае ортопиксвирусов, вирусов возбудителей лихорадок Ласса и Мачупо индикация методом ИХА также проходит без различия вида. Это обусловлено отсутствием антител, способных дифференцировать антигены указанных возбудителей на уровне вида. Комплект снабжен рефлектометрическим устройством (рис. 3), программное обеспечение которого позволяет автоматически распознавать положительные результаты анализа, задавать пороги интенсивности окрашивания зон МИТ, архивировать данные анализа и передавать их по электронной почте в вышестоящие органы для принятия решения.

Компьютер, используемый в рефлектометрическом устройстве, имеет повышенную стойкость к механическим воздействиям и воздействию влаги. Комплект ЭкБ полностью автономен, имеет собственный источник питания рефлектометра, может быть развернут как в лаборатории, так и в полевых условиях. Конструктивно комплект размещен в четырех ударопрочных водонепроницаемых полимерных кейсах и содержит все необходимые аксессуары для анализа содержимого пробоотборника аэрозоля при отборе в жидкость, на фильтры или плотные сорбирующие среды. Комплект снабжен также транспортной тарой, что позволяет перевозить его любыми видами воздушного и наземного транспорта.

Носимый вариант комплекта «Экспресс-комплект-Био»

Носимый вариант комплекта «Экспресс-комплект-Био» (ЭкБ-01) (рис. 4) позволяет использовать его как средство индивидуального контроля биологической обстановки. Комплект ЭкБ-01 рассчитан на анализ пяти проб по 17 видам патогенов. Прибор предназначен для ИХА подготовленных проб содержимого пробоотборников аэрозоля, иммунохимической верификации колоний микроорганизмов после обогащения пробы на культуральных средах, осуществления смывов с поверхностей объектов окружающей среды и их анализа.

В носимом варианте комплекта применены те же МИТ, что и для ЭкБ, корпус комплекта пылевлагозащищенный, выполнен из углеродного композиционного материала, общая масса комплекта — 0,405 кг.

Разработки средств индикации на основе люминесцентных меток в иммунохроматографии

Люминесцирующие маркерные молекулы также успешно используют в ИХА, наряду с НКЗ. Так, фирмой Responce Biomedical Corp. (Канада) создан анализатор RAMP для иммунохроматографического выявления патогенных бактерий, ортопиксвирусов и токсинов. Технические характеристики представлены в табл. 1.

В ФГУП «ГосНИИБП» ФМБА России разработан и испытан опытный образец укладки люминесцентной иммунохроматографической УЛИ-1, содержащей в своем составе люминесцентные иммунохроматографические индикаторные элементы на основе функционализированных карбоксильными группами латексных субмикронных частиц. Получение конъюгатов антител с латексными частицами происходило за счет ковалентного связывания. Укладка УЛИ-1 содержит также светодиодное визуализирующее устройство, работающее на батарее, позволяющее оператору наблюдать люминесценцию аналитической и тестовой зоны иммунохроматографического индикаторного элемента и проводить визуальную регистрацию результатов анализа [14]. Преимущество относительно чувствительности обнаружения при использовании люминесцентных меток, по сравнению с иммунохроматографическими тестами на основе НКЗ, для споровой формы возбудителя сибирской язвы было в 2 раза, для вегетативных форм возбудителей чумы — в 2 раза, антигена Ф1 чумного микроба — в 5 раз, различных типов ботулинического токсина — 2–4 раза.

Для целей регистрации результатов ИХА был также разработан экспериментальный образец рефлектометра-флуориметра «Зондаж», позволяющий регистрировать интенсивность отражения света от аналитической или контрольной зоны иммунохроматографического теста в четырех спектральных диапазонах видимого света: белом (400–800 нм), красном (650 нм), зеленом (525 нм), синем (470 нм). Спектральный диапазон прибора позволяет

регистрировать рефлектограммы не только конъюгатов НКЗ, но и различных по окраске цветных латексных частиц, часто используемых в качестве дисперсной фазы в ИХА. В режиме измерения интенсивности люминесценции прибор «Зондаж» позволяет регистрировать люминесцентные иммунохроматограммы. Он обеспечивает длину волны возбуждения люминесценции, равную 380 нм, эмиссии — 490 нм. Принцип действия прибора основан на рефлектометрии цифровых снимков иммунохроматограмм, либо регистрации интенсивности свечения люминесценции в случае люминесцентных тестов. В качестве источников света использованы излучающие светодиоды. Приемником изображения служит твердотельная видеокамера. Прибор питается от электрической сети (220В/50 Гц), имеет массу 1,30 кг. Программное обеспечение позволяет не только задавать параметры регистрации, но и определять интегральную интенсивность пиков иммунохроматограмм и проводить количественное сравнение различных образцов. Протоколы регистрации ИХА хранятся в памяти прибора и могут быть переданы по электронной почте.

Направления совершенствования ИХА для индикации патогенов

Пути совершенствования ИХА — это повышение чувствительности, специфичности, быстродействия метода. Анализ литературы позволяет сделать вывод, что для этой цели перспективны процедура концентрирования пробы на преаналитическом этапе, выбор рецепторных молекул высокой аффинности, использование коллоидных меток с низким порогом обнаружения, приборные средства и методы регистрации этих меток. На преаналитическом этапе эффективно применение магнитосорбентов для концентрирования бактерий и вирусов [15, 16]. Для выбора наиболее эффективных рецепторных молекул следует учитывать, что иммунные реакции в ИХА осуществляются в кинетическом режиме. Поэтому неважно, будут ли обнаруживаемые комплексы диссоциировать в течение часов или дней. Их количество определяется, прежде всего, кинетическими константами ассоциации, которые для одинаковых по строению рецепторов и антигенов схожи по величине и изменяются в ограниченном диапазоне. Дополнительно увеличить аффинность можно генетической модификацией (направленным дизайном) активного центра антител. Использование этих методов еще очень ограничено, несмотря на подтверждение их эффективности [17].

С развитием молекулярно-биологических методов становится доступным получение модифицированных традиционных рецепторов (антител) и новых рецепторов — аптамеров [18–20], однодоменных антител [21]. Осуществление направленной иммобилизации антител на дисперсной фазе через рецепторные стафилококковые белки А и стрептококковый белок G, взаимодействия авидин–биотин [22–25], происходит без утраты аффинности антител, как это зачастую протекает при физической сорбции на дисперсной фазе, что свидетельствует о полезности такого подхода.

На этапе поиска оптимальных маркеров следует обратить внимание на применение новых оптических маркеров на основе высоко разветвленного коллоидного золота [26, 27] коллоидного углерода [28–30], оксида графена и карбоксилированного оксида графена [31]. Ограничение по регистрации только поверхностных молекул метки, существующее в ИХА, отсутствует у аналитических



Рис. 3. Внешний вид рефлектометрического устройства комплекта ЭкБ

методов, в которых регистрация метки основана на других физических принципах. Разработан амплификатор-ридер температурного контраста для регистрации наночастиц золота на иммунохроматографических мембранах [32]. Такой ридер позволяет уменьшить предел обнаружения в восемь раз для ИХА вируса гриппа, также при диагностике малярии, ИХА выявлению *Clostridium difficile*, по сравнению с оптическим считывателем.

Для регистрации сигнала ИХА используют также магнитные свойства нанодисперсной метки [33–35]. В последних исследованиях предложен серийный глюкометр с электрохимическим детектированием в качестве регистратора результатов ИХА [36].

Для учета и регистрации результатов следует ожидать, что тестовые системы будущего будут интегрированы с регистрирующими системами (рефлектометры, флуориметры), а также с инструментами для сбора, хранения и обработки информации. В литературе обобщены тенденции трансформации ИХА из визуального в инструментальный метод [37] и представлено современное состояние аналитических технологий на основе использования мобильных телефонов/смартфонов [38, 39].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данные литературных источников и собственные исследования авторов показывают, что ИХА широко применяют для целей идентификации патогенных для человека бактерий, вирусов и токсинов.

Сравнение технических характеристик разработанных укладок и комплектов для индикации патогенов с аналогичными зарубежными образцами (табл. 1) показало, что наши работы следовали в русле мировой тенденции развития метода — от создания отдельных иммунохроматографических монотестов к мультиплексному анализу, поиску наиболее чувствительных методов регистрации, расширению номенклатуры выявляемых патогенов [40]. Комплекты ЭкБ и ЭкБ-01 выгодно отличаются от зарубежных аналогов более широкой номенклатурой выявляемых патогенов, автоматизацией учета результатов анализа (комплект ЭкБ)



Рис. 4. Внешний вид комплекта ЭкБ-01. А. Комплект с открытой крышкой. Б. Крепление комплекта к обмундированию оператора

при сравнимом, либо лучшем пороге чувствительности. Указанные средства индикации патогенов востребованы в практике центров гигиены и эпидемиологии, специализированных лабораторий других ведомств, обеспечивающих биологическую безопасность.

Рассмотренные в обзоре пути совершенствования позволяют утверждать, что иммунохроматографические

аналитические системы смогут более эффективно выявлять патогены бактериальной, вирусно-риккетсиозной и токсинной природы. При этом повысится специфичность анализа до уровня штамма, в случае бактериальных возбудителей, что позволит осуществить процесс специфичной индикации патогенных микроорганизмов и токсинов на новой технологической базе.

Литература

- Leavitt SA. A Thin Blue Line: The History of the Pregnancy Test Kits. 2003 (cited 2022, Nov. 14); Available from: <https://www.history.nih.gov/exhibits/thinblueline/introduction.html>.
- de Puig H, Bosch I, Gehrke L, Hamad-Schifferli K. Challenges of the nano-bio interface in lateral flow and dipstick immunoassays. *Trends in Biotechnology*. 2017; 35 (12):1169–80.
- Li J, Macdonald J. Multiplexed lateral flow biosensors: Technological advances for radically improving point-of-care diagnoses. *Biosensors and Bioelectronics*. 2016; 83: 177–92.
- Posthuma-Trumpie GA, Korf J, van Amerongen A. Lateral flow (immuno) assay: Its strengths, weaknesses, opportunities and threats. A literature survey. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2009; 393 (2): 569–82.
- Dzantiev BB, Byzova NA, Urusov AE, Zherdev AV. Immunochromatographic methods in food analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2014; 55: 81–93.
- Bahadır EB, Sezgentürk MK. Lateral flow assays: Principles, designs and labels. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2016; 82: 286–306.
- Quesada-González D, Merkoçi A. Nanoparticle-based lateral flow biosensors. *Biosensors and Bioelectronics*. 2015; 73: 47–63.
- Zherdev AV, Dzantiev BB. Ways to Reach Lower Detection Limits of Lateral Flow Immunoassays. *Rapid Test - Advances in Design, Format and Diagnostic Applications*, 2018. DOI: 10.5772/intechopen.76926.
- Каримова Т. В., Прядкина Е. Н., Якунина О. Ю., Иванова Л. К., Дубень Л. Г., Кузубов В. И., и др. Использование иммунохроматографического анализа для индикации патогенных биологических агентов. В сборнике: Материалы IX Межгосударственной научно-практической конференции «Современные технологии в реализации глобальной стратегии борьбы с инфекционными болезнями на территории государств-участников Содружества Независимых Государств»; 2 октября 2008 г. Российская Федерация, г. Волгоград. 87–88.
- Ярков С. П., Башарова Л. А., Третьяков С. И., Злобин В. Н. Создание индикаторных иммунохроматографических элементов для выявления риккетсий Бернета. Проблемы особо опасных инфекций. 2013; 4: 79–81.
- Шиленко И. В., Ярков С. П., Артемов А. В., Смирнов А. М., Кононенко А. Б. Отечественный иммунохроматографический тест для выявления сальмонелл различных серогрупп. *Ветеринария и кормление*. 2011; 4: 12–13.
- Ярков С. П., Шиленко И. В., Титов А. А., Бровкина А. Н., Третьяков С. И., Храмов Е. Н. Разработка мультианалитного иммунохроматографического теста для индикации токсинов. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2015; 4: 103–08.
- Ярков С. П., Шиленко И. В., Третьяков С. И., Наумов П. В. Носимый комплект биологического контроля для специфической индикации биологических поражающих агентов в объектах окружающей среды ЭкБ-01. В сборнике: II Всероссийская научно-практическая конференция «Исследование вопросов радиационной, химической и биологической защиты в мирное и военное время». 14–15 сентября 2021 г. Кострома; с. 301–306.
- Шиленко И. В., Ярков С. П., Злобин В. Н. Носимый комплект для выявления возбудителей особо опасных инфекций на принципе люминесцентной иммунохроматографии. *Журнал инфекционной патологии*. 2009; 16 (3): 222–23.
- Li Q, Zhang S, Cai Y, Yang Y, Hu F, Liu X, et al. Rapid

- detection of *Listeria monocytogenes* using fluorescence immunochromatographic assay combined with immunomagnetic separation technique. *International Journal of Food Science & Technology*. 2017; 52 (7): 1559–66.
16. Razo SC, Panferov VG, Safenkova IV, Varitsev YA, Zherdev AV, Dzantiev BB. Double enhanced lateral flow immunoassay for potato virus X based on a combination of magnetic and gold nanoparticles. *Analytica Chimica Acta*. 2018; 1007: 50–60.
 17. Kim H-Y, Stojadinovic A, Izadjoo MJ. Affinity maturation of monoclonal antibodies by multi-site-directed mutagenesis. In: *Monoclonal Antibodies*. Totowa, NJ, USA: Springer, Humana Press, 2014; p. 407–20. Available from: <https://link.springer.com/book/10.1007%2F978-1-62703-992-5#about>.
 18. Dias AM, Roque AC. The future of protein scaffolds as affinity reagents for purification. *Biotechnology and Bioengineering*. 2017; 114 (3): 481–91.
 19. Jauset-Rubio M, El-Shahawi MS, Bashammakh AS, Alyoubi AO. Advances in aptamers-based lateral flow assays. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2017; 97: 385–98.
 20. Chen A, Yang S. Replacing antibodies with aptamers in lateral flow immunoassay. *Biosensors and Bioelectronics*. 2015; 71: 230–42.
 21. Leow CH, Fischer K, Leow CY, Cheng Q, Chuah C, McCarthy J. Sigle domain antibodies as new biomarker detectors. *Diagnostics*. 2017; 7 (4): 52.
 22. Welch NG, Scoble JA, Muir BW, Pigram PJ. Orientation and characterization of immobilized antibodies for improved immunoassays. *Biointerphases*. 2017; 12 (2): 02D301.
 23. Shen M, Rusling JF, Dixit CK. Site-selective orientated immobilization of antibodies and conjugates for immunodiagnoses development. *Methods*. 2017; 116: 95–111.
 24. Iijima M, Si K. Scaffolds for oriented and close-packed immobilization of immunoglobulins. *Biosensors and Bioelectronics*. 2017; 89: 810–21.
 25. Kruljec N, Bratković T. Alternative affinity ligands for immunoglobulins. *Bioconjugate Chemistry*. 2017; 28 (8): 2009–30.
 26. Serebrennikova KV, Samsonova JV, Osipov AP, Senapati D, Kuznetsov DV. Gold nanoflowers and gold nanospheres as labels in lateral flow immunoassay of prolactin. *Nano Hybrids and Composites*. 2017; 13: 47–53.
 27. Xu P, Li J, Huang X, Duan H, Ji Y, Xiong Y. Effect of the tip length of multi-branched AuNFs on the detection performance of immunochromatographic assays. *Analytical Methods*. 2016; 8 (16): 3316–24.
 28. van Amerongen A, Besselink G, Blazkova M, Posthuma-Trumpie GA, Koets M, Beelen-Thomissen M. Chapter 19: Carbon nanoparticles as detection label for diagnostic antibody microarrays. In: Abuelzein E, Editor. *Trends in Immunolabelled and Related Techniques*. Rijeka, Croatia: InTech, 2012; p. 311–330.
 29. Suárez-Pantaleón C, Wichers J, Abad-Somovilla A, van Amerongen A, Abad-Fuentes A. Development of an immunochromatographic assay based on carbon nanoparticles for the determination of the phytoestrogen forchlorfenuron. *Biosensors and Bioelectronics*. 2013; 42: 170–6.
 30. Liu B, Wang L, Tong B, Zhang Y, Sheng W, Pan M, et al. Development and comparison of immunochromatographic strips with three nanomaterial labels: Colloidal gold, nanogold-polyaniline-nanogold microspheres (GPGs) and colloidal carbon for visual detection of salbutamol. *Biosensors and Bioelectronics*. 2016; 85: 337–42.
 31. Yu L, Li P, Ding X, Zhang Q. Graphene oxide and carboxylated graphene oxide: Viable two-dimensional nanolabels for lateral flow immunoassays. *Talanta*. 2017; 165: 167–75.
 32. Wang Y, Qin Z, Boulware DR, Pritt BS, Sloan LM, González IJ, et al. Thermal contrast amplification reader yielding 8-fold analytical improvement for disease detection with lateral flow assays. *Analytical Chemistry*. 2016; 88 (23): 11774–82.
 33. Barnett JM, Wraith P, Kiely J, Persad R, Hurley K, Hawkins P, et al. An inexpensive, fast and sensitive quantitative lateral flow magneto-immunoassay for total prostate specific antigen. *Biosensors*. 2014; 4 (3): 204–20.
 34. Chen Y, Wang K, Liu Z, Sun R, Cui D, He J. Rapid detection and quantification of tumor marker carbohydrate antigen 72-4 (CA72-4) using a superparamagnetic immunochromatographic strip. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2016; 408 (9): 2319–27.
 35. Lago-Cachón D, Oliveira-Rodríguez M, Rivas M, Blanco-López MC, Martínez-García JC, Moyano A, et al. Scanning magneto-inductive sensor for quantitative assay of prostate-specific antigen. *IEEE Magnetics Letters*. 2017; 8: 1–5.
 36. Zhao Y, Chen X, Lin S, Du D, Lin Y. Integrated immunochromatographic strip with glucometer readout for rapid quantification of phosphorylated proteins. *Analytica Chimica Acta*. 2017; 964: 1–6.
 37. Mak WC, Beni V, Turner AP. Lateral-flow technology: From visual to instrumental. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2016; 79: 297–305.
 38. Quesada-González D, Merkoçi A. Mobile phone-based biosensing: An emerging “diagnostic and communication” technology. *Biosensors and Bioelectronics*. 2017; 92: 549–62.
 39. Zarei M. Portable biosensing devices for point-of-care diagnostics: Recent developments and applications. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2017; 91: 26–41.
 40. Yarkov SP, Tretyakov SI, Shilenko IV, Titov AA, Basharova LA, Khramov EN. Experience of pathogens identification tools development in the environment using immunochromatography. The 13th CBRNe Protection Symposium. Science for Safety & Security. September 24th–26th Malmö, Sweden, 2019; p. 118.

References

1. Leavitt SA. A Thin Blue Line: The History of the Pregnancy Test Kits. 2003 (cited 2022, Nov. 14); Available from: <https://www.history.nih.gov/exhibits/thinblueline/introduction.html>.
2. de Puig H, Bosch I, Gehrke L, Hamad-Schifferli K. Challenges of the nano-bio interface in lateral flow and dipstick immunoassays. *Trends in Biotechnology*. 2017; 35 (12): 1169–80.
3. Li J, Macdonald J. Multiplexed lateral flow biosensors: Technological advances for radically improving point-of-care diagnoses. *Biosensors and Bioelectronics*. 2016; 83: 177–92.
4. Posthuma-Trumpie GA, Korf J, van Amerongen A. Lateral flow (immuno) assay: Its strengths, weaknesses, opportunities and threats. A literature survey. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2009; 393 (2): 569–82.
5. Dzantiev BB, Byzova NA, Urusov AE, Zherdev AV. Immunochromatographic methods in food analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2014; 55: 81–93.
6. Bahadır EB, Sezgentürk MK. Lateral flow assays: Principles, designs and labels. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2016; 82: 286–306.
7. Quesada-González D, Merkoçi A. Nanoparticle-based lateral flow biosensors. *Biosensors and Bioelectronics*. 2015; 73: 47–63.
8. Zherdev AV, Dzantiev BB. Ways to Reach Lower Detection Limits of Lateral Flow Immunoassays. *Rapid Test - Advances in Design, Format and Diagnostic Applications*, 2018. DOI: 10.5772/intechopen.76926.
9. Karimova TV, Pryadkina EN, Yakunina OYu, Ivanova LK, Duben LG, Kuzubov VI, i dr. Ispol'zovanie immunokromatograficheskogo analiza dlya indikatsii patogennyykh biologicheskikh agentov. V sbornike: Materialy IX Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii «Sovremennyye tekhnologii v realizatsii global'noy strategii bor'by s infektsionnymi boleznyami na territorii gosudarstva uchastnikov Sodruzhestva Nezavisimyykh Gosudarstv»; 2 oktyabrya 2008 g. Rossiyskaya Federatsiya, g. Volgograd. 87–88. Russian.
10. Yarkov SP, Basharova LA, Tretyakov SI, Zlobin VN. Sozdanie indikatornykh immunokromatograficheskikh ehlementov dlya vyavleniya rikketsij Berneta. *Problemy osobo opasnykh infektsij*. 2013; 4: 79–81. Russian.
11. Shilenko IV, Yarkov SP, Artemov AV, Smirnov AM, Kononenko AB. Otechestvennyy immunokromatograficheskij test dlya vyavleniya sal'monell razlichnykh serogrupp. *Veterinariya i kormlenie*. 2011; 4:

- 12–13. Russian.
12. Yarkov SP, Shilenko IV, Titov AA, Brovkina AN, Tret'yakov SI, Xramov EN. Razrabotka mul'tianal'nogo immunoxromatograficheskogo testa dlya indikatsii toksinov. *Problemy osobo opasnykh infekcij*. 2015; 4: 103–08. Russian.
13. Yarkov SP, Shilenko IV, Tret'yakov SI, Naumov PV. Nosimyj komplekt biologicheskogo kontrolya dlya specificheskoy indikatsii biologicheskix porazhayushhix agentov v ob'ektax okruzhayushhej sredy EhkB-01. V sbornike: II Vserossiyskaya nauchno-prakticheskaya konferenciya «Issledovanie voprosov radiacionnoj, ximicheskoy i biologicheskoy zashhity v mirnoe i voennoe vremya». 14–15 sentyabrya 2021 g. Kostroma; s. 301–306. Russian.
14. Shilenko IV, Yarkov SP, Zlobin VN. Nosimyj komplekt dlya vyavleniya vzbuditelej osobo opasnykh infekcij na principe lyuminescentnoj immunoxromatografii. *Zhurnal infekcionnoj patologii*. 2009; 16 (3): 222–23. Russian.
15. Li Q, Zhang S, Cai Y, Yang Y, Hu F, Liu X, et al. Rapid detection of *Listeria monocytogenes* using fluorescence immunochromatographic assay combined with immunomagnetic separation technique. *International Journal of Food Science & Technology*. 2017; 52 (7): 1559–66.
16. Razo SC, Panferov VG, Safenkova IV, Varitsev YA, Zherdev AV, Dzantiev BB. Double enhanced lateral flow immunoassay for potato virus X based on a combination of magnetic and gold nanoparticles. *Analytica Chimica Acta*. 2018; 1007: 50–60.
17. Kim H-Y, Stojadinovic A, Izadjoo MJ. Affinity maturation of monoclonal antibodies by multi-site-directed mutagenesis. In: *Monoclonal Antibodies*. Totowa, NJ, USA: Springer, Humana Press, 2014; p. 407–20. Available from: <https://link.springer.com/book/10.1007%2F978-1-62703-992-5#about>.
18. Dias AM, Roque AC. The future of protein scaffolds as affinity reagents for purification. *Biotechnology and Bioengineering*. 2017; 114 (3): 481–91.
19. Jauset-Rubio M, El-Shahawi MS, Bashammakh AS, Alyoubi AO. Advances in aptamersbased lateral flow assays. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2017; 97: 385–98.
20. Chen A, Yang S. Replacing antibodies with aptamers in lateral flow immunoassay. *Biosensors and Bioelectronics*. 2015; 71: 230–42.
21. Leow CH, Fischer K, Leow CY, Cheng Q, Chuah C, McCarthy J. Sigle domain antibodies as new biomarker detectors. *Diagnostics*. 2017; 7 (4): 52.
22. Welch NG, Scoble JA, Muir BW, Pigram PJ. Orientation and characterization of immobilized antibodies for improved immunoassays. *Biointerphases*. 2017; 12 (2): 02D301.
23. Shen M, Rusling JF, Dixit CK. Site-selective orientated immobilization of antibodies and conjugates for immunodiagnosics development. *Methods*. 2017; 116: 95–111.
24. Iijima M, Si K. Scaffolds for oriented and close-packed immobilization of immunoglobulins. *Biosensors and Bioelectronics*. 2017; 89: 810–21.
25. Kruljec N, Bratković T. Alternative affinity ligands for immunoglobulins. *Bioconjugate Chemistry*. 2017; 28 (8): 2009–30.
26. Serebrennikova KV, Samsonova JV, Osipov AP, Senapati D, Kuznetsov DV. Gold nanoflowers and gold nanospheres as labels in lateral flow immunoassay of prolactin. *Nano Hybrids and Composites*. 2017; 13: 47–53.
27. Xu P, Li J, Huang X, Duan H, Ji Y, Xiong Y. Effect of the tip length of multi-branched AuNFs on the detection performance of immunochromatographic assays. *Analytical Methods*. 2016; 8 (16): 3316–24.
28. van Amerongen A, Besselink G, Blazkova M, Posthuma-Trumpie GA, Koets M, Beelen-Thomissen M. Chapter 19: Carbon nanoparticles as detection label for diagnostic antibody microarrays. In: Abuelzein E, Editor. *Trends in Immunolabelled and Related Techniques*. Rijeka, Croatia: InTech, 2012; p. 311–330.
29. Suárez-Pantaleón C, Wichers J, Abad-Somovilla A, van Amerongen A, Abad-Fuentes A. Development of an immunochromatographic assay based on carbon nanoparticles for the determination of the phytohormone forchlorfenuron. *Biosensors and Bioelectronics*. 2013; 42: 170–6.
30. Liu B, Wang L, Tong B, Zhang Y, Sheng W, Pan M, et al. Development and comparison of immunochromatographic strips with three nanomaterial labels: Colloidal gold, nanogold-polyaniline-nanogold microspheres (GPGs) and colloidal carbon for visual detection of salbutamol. *Biosensors and Bioelectronics*. 2016; 85: 337–42.
31. Yu L, Li P, Ding X, Zhang Q. Graphene oxide and carboxylated graphene oxide: Viable two-dimensional nanolabels for lateral flow immunoassays. *Talanta*. 2017; 165: 167–75.
32. Wang Y, Qin Z, Boulware DR, Pritt BS, Sloan LM, González IJ, et al. Thermal contrast amplification reader yielding 8-fold analytical improvement for disease detection with lateral flow assays. *Analytical Chemistry*. 2016; 88 (23): 11774–82.
33. Barnett JM, Wraith P, Kiely J, Persad R, Hurley K, Hawkins P, et al. An inexpensive, fast and sensitive quantitative lateral flow magneto-immunoassay for total prostate specific antigen. *Biosensors*. 2014; 4 (3): 204–20.
34. Chen Y, Wang K, Liu Z, Sun R, Cui D, He J. Rapid detection and quantification of tumor marker carbohydrate antigen 72-4 (CA72-4) using a superparamagnetic immunochromatographic strip. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2016; 408 (9): 2319–27.
35. Lago-Cachón D, Oliveira-Rodríguez M, Rivas M, Blanco-López MC, Martínez-García JC, Moyano A, et al. Scanning magneto-inductive sensor for quantitative assay of prostate-specific antigen. *IEEE Magnetics Letters*. 2017; 8: 1–5.
36. Zhao Y, Chen X, Lin S, Du D, Lin Y. Integrated immunochromatographic strip with glucometer readout for rapid quantification of phosphorylated proteins. *Analytica Chimica Acta*. 2017; 964: 1–6.
37. Mak WC, Beni V, Turner AP. Lateral-flow technology: From visual to instrumental. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2016; 79: 297–305.
38. Quesada-González D, Merkoçi A. Mobile phone-based biosensing: An emerging “diagnostic and communication” technology. *Biosensors and Bioelectronics*. 2017; 92: 549–62.
39. Zarei M. Portable biosensing devices for point-of-care diagnostics: Recent developments and applications. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2017; 91: 26–41.
40. Yarkov SP, Tret'yakov SI, Shilenko IV, Titov AA, Basharova LA, Khramov EN. Experience of pathogens identification tools development in the environment using immunochromatography. The 13th CBRNe Protection Symposium. Science for Safety&Security. September 24th–26th Malmö, Sweden, 2019; p. 118.