

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

ИНФОРМАЦИОННО-РЕФЕРАТИВНЫЙ ЖУРНАЛ

-  **ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ**
-  **РЕФЕРАТИВНАЯ ИНФОРМАЦИЯ**
-  **ИНФОРМАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКИЕ
МАТЕРИАЛЫ**
-  **ПАТЕНТНЫЕ МАТЕРИАЛЫ**
-  **НОРМАТИВНЫЕ ДОКУМЕНТЫ**

ООО "НПО "ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ"

№ **1 (20)**
2020

ООО «НПО «Диагностические системы» является крупнейшим в России производителем иммунобиологических препаратов для диагностики инфекционных и неинфекционных заболеваний.

Разработка и производство диагностических наборов базируется на последних достижениях генной инженерии и иммунохимии.



**Наборы
для бактериологических
исследований**

НОВОЕ ПОКОЛЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНЫХ ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ

**Вирусных гепатитов
ВИЧ-инфекции
ToRCH-инфекций
Сифилиса
Хламидиозов
Гормонов
Онкомаркеров**

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

№ 1 (20)

2020

ИНФОРМАЦИОННО-РЕФЕРАТИВНЫЙ ЖУРНАЛ

СОДЕРЖАНИЕ

РЕФЕРАТИВНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

3

Общий раздел

(социальная информация, статистика, эпидемиология)

3

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

5

Фисенко Н.С., Голубева И.Ф., Михайлова Ю.В., Шарипова И.Н., Высоцкая А.Г., Обрядина А.П.
**О результатах единственного широкомасштабного сравнения тестов
для диагностики ВИЧ-инфекции, опубликованного на правах рекламы**

5

Интерференция в иммунном анализе

18

Михайлова Ю.В., Высоцкая А.Г., Шальнова Е.Е.

Интерференция в иммунном анализе: проблемные вопросы и пути их решения

18

Шальнова Е.Е., Голубева И.Ф., Фисенко Н.С.

**Влияние интерференции биотина на результаты лабораторных исследований
и клиническую диагностику различных патологических состояний**

38

Михайлова Ю.В., Шальнова Е.Е.

**Интерференционные эффекты при проведении лабораторных исследований
на новую коронавирусную инфекцию COVID-19**

58

Учредитель: ООО Научно производственное объединение "Диагностические системы"

Главный редактор Шальнова Е.Е.

Адрес редакции

РОССИЯ, 603022, Н. Новгород, ул. Барминская, 8а

Тел./факс (831) 434-86-83, 467-82-18

E-mail: see@npods.ru; www.npods.ru

Зарегистрировано Федеральной службой по надзору за соблюдением
законодательства в сфере массовых коммуникаций и охране культурного наследия

Регистрационное свидетельство ПИ №ФС 77-228449 от 30 декабря 2005 г.

Сдано в набор 12.11.2020

Подписано в печать 15.12.2020

Тираж 1500 экземпляров.

Отпечатано в ИП "Панин А.А.", 603138, Н. Новгород, ул. Строкина, д.8, оф.124

Распространяется бесплатно. Коммерческое использование запрещено.

При перепечатке материалов ссылка на журнал обязательна

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Бурков А.Н. (д.м.н., профессор),
Почетный член Редакционного совета

Обрядина А.П. (д.б.н.)

Пименов В.К. (к.б.н.)

Кувшинов М.В. (к.м.н.)

Бочкова Г.Б. (к.т.н.)

Михайлова Ю.В. (к.б.н.)

Шальнова Е.Е.

Голубева И.Ф.

Поляков С.Ю.

Плаксына Н.Б.

Уважаемые читатели!

Предлагаем вашему вниманию очередной выпуск нашего корпоративного информационно-реферативного журнала "Лабораторная диагностика инфекционных заболеваний", посвященный различным научно-практическим аспектам современной лабораторной медицины.

Номер традиционно открывает общий раздел "Социальная информация, статистика, эпидемиология", в котором приведены статистические данные о заболеваемости инфекционными болезнями в Российской Федерации в динамике за многолетний период наблюдений, особый акцент сделан на показателях заболеваемости и пораженности ВИЧ-инфекцией в стране за 1987-2019 гг. и показателях пораженности этой инфекцией в различных возрастных группах.

В рубрике "Оригинальные статьи" представлена статья сотрудников нашей компании "О результатах единственного широкомасштабного сравнения тестов для диагностики ВИЧ-инфекции, опубликованного на правах рекламы", в которой авторы выразили свое мнение по поводу способа подачи и интерпретации лабораторной информации, изложенной в статье "Сравнительная оценка тест-систем ИФА/ИХЛА 4-ого поколения, применяемых в Российской Федерации для диагностики ВИЧ-инфекции", опубликованной на правах рекламы в журнале "ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии" (2019 г., Т. 11, №2). В оригинальной статье специалистов компании "Диагностические системы" приведены также результаты собственного анализа, проведенного на основании данных независимой оценки международных экспертных лабораторий и данных из открытых источников.

На страницах нашего журнала вы сможете ознакомиться с дайджестами публикаций отечественных и зарубежных авторов, посвященных одной из актуальных проблем в современной лабораторной медицине - интерференции в иммунном анализе. Большое внимание теме интерференции уделяется в связи с тем, она может привести к получению недостоверных (искаженных) результатов лабораторных исследований и, как следствие, к неверной оценке состояния здоровья, неправильной диагностике заболевания, назначению неадекватной терапии и неблагоприятным последствиям для пациента.

В дайджесте, посвященном вопросам интерференции в иммунном анализе в целом, подробно рассматриваются основные аналит-зависимые факторы (такие как гетерофильные антитела, аутоантитела, ревматоидный фактор, антитела к клеткам животных, перекрестно реагирующие вещества и др.), оказывающие влияние на результаты анализа. Отмечается, что все современные иммунохимические тест-системы (ИХТ) на высокопроизводительных аналитических платформах, несмотря на существенные аналитические преимущества: высокую чувствительность, точность и быстроту измерений очень низких концентраций исследуемых веществ в биологическом материале, могут быть подвержены интерференции. Отражены результаты многих научных исследований, раскрывающие теоретические и практические аспекты изучаемой проблемы. Наибольший интерес, на наш взгляд, представляют публикации с описанием примеров влияния различных интерферирующих факторов при использовании ИХТ для определения широкого спектра аналитов, включая определение уровня гормонов, онкомаркеров, кардиомаркеров, маркеров инфекционных заболеваний, лекарственных веществ и др.

Изложены также предлагаемые авторами способы выявления и предотвращения интерференции в иммуноанализе и меры по минимизации рисков.

Другой дайджест научных публикаций посвящен относительно новой проблеме в иммунном анализе - интерференции со стороны биотина, широко освещаемой в последнее десятилетие в работах зарубежных авторов. Практически во всех исследованиях отмечается эффективность использования иммунологических лабораторных тестов, основанных на взаимодействии стрептавидина и биотина. Однако присутствие экзогенного биотина в исследуемом образце может вызывать интерференцию при использовании ИХТ и внести существенный вклад в получение ложных результатов анализа. Получение таких результатов может привести к серьезным последствиям для пациента и ошибочным рекомендациям со стороны врача. В представленных работах освещаются причины данного вида интерференции, ее механизмы при использовании ИХТ "сэндвич" и "конкурентного" форматов, фармакокинетика биотина, результаты экспериментальных исследований *in vivo* и *in vitro*, приводятся примеры интерференции биотина в клинической практике при определении концентрации некоторых гормонов (таких, например, как тиреоидные, кортикотропные, гонадотропные, соматотропные гормоны), кардиомаркеров и некоторых других аналитов в крови пациента. Описаны стратегии минимизации и мероприятия по снижению рисков биотиновой интерференции, а также основные положения рекомендаций ведущих международных организаций по клинической биохимии и лабораторной медицине, касающиеся мер выявления, предотвращения и контроля интерференции биотина в клинической лабораторной практике.

В условиях непростой современной эпидемиологической ситуации в мире в связи с пандемией новой коронавирусной инфекции (COVID-19) поднимаемая проблема нашла свое отражение и в дайджесте публикаций, посвященном интерференционным эффектам при проведении иммунохимических лабораторных исследований на инфекцию COVID-19. В обзорной статье приведены данные относительно небольшого количества (опубликованных с начала пандемии COVID-19) научных трудов ряда зарубежных авторов, посвященных изучению влияния интерферирующих веществ на достоверность результатов серологических тестов на SARS-CoV-2, их результаты свидетельствуют о недостаточной изученности этой проблемы. Вместе с тем, даже единичные опубликованные работы позволяют предположить широту и непредсказуемость влияния различных факторов на качество лабораторных исследований. Это определяет необходимость продолжения изучения интерференции в ходе выработки оптимального алгоритма для лабораторной диагностики COVID-19 как для производителей специфических диагностикомов, так и для сотрудников клинических лабораторий, выполняющих исследования.

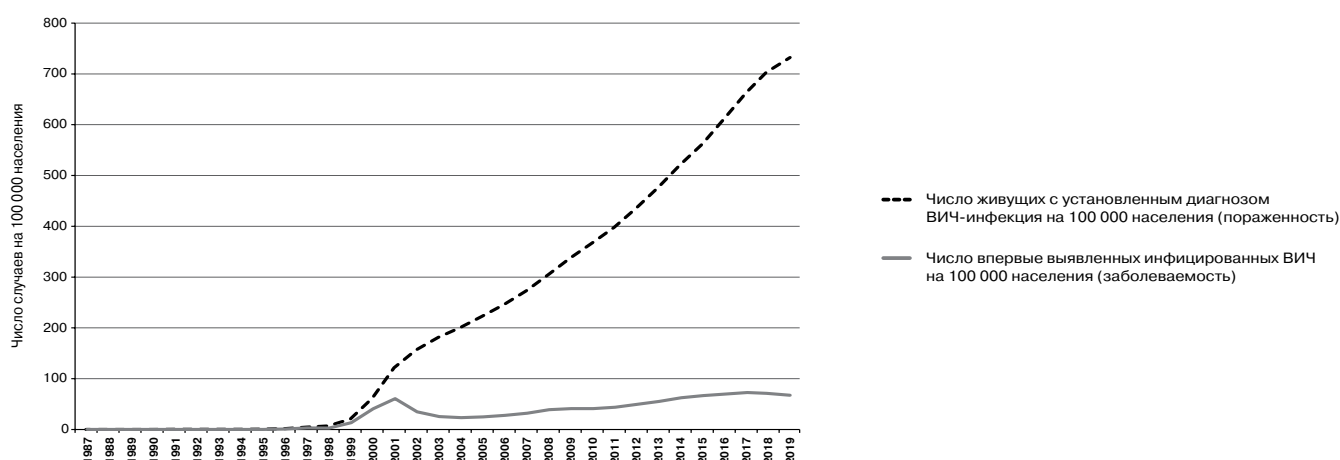
Редакционный совет журнала выражает надежду, что опубликованные в нашем издании материалы привлекут внимание и вызовут интерес у широкого круга читателей, будут полезны специалистам лабораторной службы, клиницистам различных специальностей, научным работникам и окажутся востребованными в их профессиональной деятельности.

Общий раздел (социальная информация, статистика, эпидемиология)

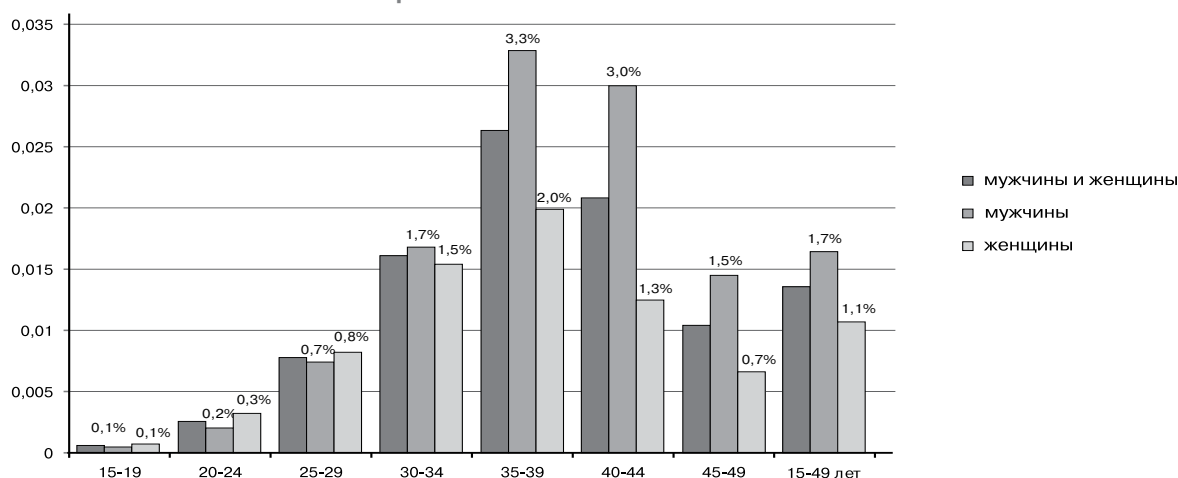
ДИНАМИКА ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ИНФЕКЦИОННЫМИ БОЛЕЗНЯМИ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ¹⁾



ПОРАЖЕННОСТЬ И ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ СРЕДИ НАСЕЛЕНИЯ РФ С 1987 ПО 2019 гг. ¹⁾



ПОРАЖЕННОСТЬ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ НАСЕЛЕНИЯ РФ В ВОЗРАСТНОЙ ГРУППЕ 15-49 ЛЕТ НА 31.12.2018 г. ²⁾



¹⁾ Государственный доклад "О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации в 2019 году" https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=14933

²⁾ Покровский В.В., Ладная Н.Н., Соколова Е.В., Буравцова Е.В. ВИЧ-инфекция. Информационный бюллетень №44. М.: Федеральный научно-методический центр по профилактике и борьбе со СПИДом, 2019. <http://www.hivrussia.info/elektronnyye-versii-informatsionnyh-byulletenij/>

СУБЪЕКТЫ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ С НАИБОЛЕЕ ВЫСОКОЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬЮ И ПОРАЖЕННОСТЬЮ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ В 2019 ГОДУ ¹⁾

№ п/п	Субъекты Российской Федерации	Показатель заболеваемости ВИЧ-инфекцией	Тенденция 2009-2018 гг.	Показатель пораженности ВИЧ-инфекцией
	Российская Федерация	55,65		728,2
1	Кемеровская область	171,28		1934,9
2	Иркутская область	132,82		1906,2
3	Красноярский край	123,19		1088,5
4	Пермский край	118,5		1188,1
5	Оренбургская область	110,89		1462,6
6	Тюменская область	105,85		1263,8
7	Челябинская область	100,1		1324,0
8	Курганская область	96,65		1029,6
9	Томская область	93,61		1010,6
10	Алтайский край	92,98		1009,1
11	Новосибирская область	91,0		1281,0
12	Самарская область	89,8		1486,8
13	Омская область	88,01		877,8
14	Ульяновская область	82,49		1062,5
15	Свердловская область	81,06		1828,1
16	Удмуртская Республика	75,09		625,1
17	Ханты-Мансийский автономный округ-Югра	72,68		1317,1
18	Республика Хакасия	70,04		467,8
19	Нижегородская область	69,19		691,7
20	Ивановская область	63,9		895,4
21	Приморский край	62,58		605,7
22	Республика Бурятия	62,1		687,2
23	Ярославская область	60,35		338,3
24	Новгородская область	59,17		573,4
25	Чукотский автономный округ	58,58		414,8
26	Тульская область	58,44		575,3
27	Республика Крым	56,62	–	1142,5

ПОРАЖЕННОСТЬ НАСЕЛЕНИЯ РОССИИ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ В РАЗЛИЧНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУППАХ (по состоянию на 31.12.2018) ²⁾

Возраст (лет)	Все население		
	Мужчины и женщины, %	Мужчины, %	Женщины, %
0-4	0,02	0,02	0,02
5-9	0,03	0,03	0,03
10-14	0,05	0,04	0,05
15-19	0,06	0,05	0,07
20-24	0,26	0,20	0,32
25-29	0,78	0,74	0,82
30-34	1,61	1,68	1,54
35-39	2,63	3,28	1,99
40-44	2,09	3,00	1,25
45-49	1,04	1,45	0,66
50-54	0,51	0,70	0,35
55-59	0,27	0,36	0,19
60-64	0,15	0,21	0,11
65-69	0,09	0,14	0,06
70 и более	0,04	0,07	0,02
15-49 лет	1,36	1,65	1,07
Всего	0,71	0,93	0,53

¹⁾ Государственный доклад "О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации в 2019 году" https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=14933

²⁾ Покровский В.В., Ладная Н.Н., Соколова Е.В., Буравцова Е.В. ВИЧ-инфекция. Информационный бюллетень №44. М.: Федеральный научно-методический центр по профилактике и борьбе со СПИДом, 2019. <http://www.hivrussia.info/elektronnye-versii-informatsionnyh-byulletenij/>

О результатах единственного широкомасштабного сравнения тестов для диагностики ВИЧ-инфекции, опубликованного на правах рекламы

ООО НПО "Диагностические системы", Нижний Новгород, Россия

Реклама совершенно не должна выглядеть как реклама. Если вы сделаете ее похожей на обычные страницы издания, то привлечете примерно на 50% больше читателей. Вам может показаться, что публика обсудит этот трюк, но никаких подтверждений этому нет.
Дэвид Огилви, основатель Ogilvy & Mather

Нативная или естественная реклама - это реклама, которая выглядит естественно в окружении нерекламного контента: органично вписывается в оформление страницы, а ее содержание соответствует наполнению страницы.
А.И. Османова [1]

Фисенко Н.С.
Голубева И.С.
Михайлова Ю.В.
Шарипова И.Н.
Высоцкая А.Г.
Обрядина А.П.

Основная цель публикации - выразить мнение специалистов компании ООО "НПО Диагностические системы" по поводу подачи и интерпретации лабораторной информации, изложенной в статье "Сравнительная оценка тест-систем ИФА/ИХЛА 4-го поколения, применяемых в Российской Федерации для диагностики ВИЧ-инфекции", опубликованной одним из иностранных производителей в журнале "ВИЧ инфекция и иммуносупрессия", 2019 г., Т.11, №2, на правах рекламы.

Авторы провели подробный разбор публикации о сравнительной оценке эффективности используемых на территории Российской Федерации ИФА/ИХЛА тест-систем для диагностики ВИЧ-инфекции трех отечественных и двух зарубежных производителей. Проанализировали спектр характеристик, по которым было проведено сравнение (точность, надежность и уровень первично и повторно положительных реакций), применимость статистических методов, анализ методов оценки узкоспециальных параметров, способ подачи информации и форму публикации. В заключение авторы обращают внимание, что использование нативной рекламы в научных журналах легко может ввести в заблуждение даже продвинутых и внимательных читателей добросовестных изданий.

Ключевые слова: ВИЧ, ИФА, ИХЛА, тест-системы, чувствительность, специфичность, точность, сероконверсионные панели, нативная реклама.

ON THE RESULTS OF THE ONLY LARGE-SCALE COMPARISON OF DIAGNOSTIC KITS FOR THE DIAGNOSIS OF HIV-INFECTION, PUBLISHED AS AN ADVERTISEMENT

The purpose of this article is to express the opinion of the specialists of "RPC "Diagnostic systems" about the veracity of the information provided in the article "Comparative evaluation of the 4th generation ELISA/CLIA assays used for the diagnosis of HIV infection in the Russian Federation", published by one of foreign manufacturers in the journal "HIV infection and immunosuppression", 2019, Vol. 11, No. 2 as advertising.

The authors conducted a detailed analysis of the results of this comparative evaluation of the 4th generation ELISA/CLIA assays used for the diagnosis of HIV infection in the Russian Federation. The researchers analyze the profile of characteristics of the compared assays (accuracy, reliability and the level of primary and secondary positive reactions) applicability of statistical methods, analysis of methods of estimation of highly specialized parameters, method of presentation of information and form of publication. In conclusion, the authors note that the use of native advertising in scientific journals can easily mislead even attentive readers of bona fide periodicals.

Key words: HIV, ELISA, CLIA, diagnostic assays, sensitivity, specificity, accuracy, seroconversion panels, native advertising.

В 2019 году в журнале "ВИЧ инфекция и иммуносупрессия" была опубликована статья "Сравнительная оценка тест-систем ИФА/ИХЛА 4-го поколения, применяемых в Российской Федерации для диагностики ВИЧ-инфекции", в которой исследуются и оцениваются три российских теста производства ЗАО "Вектор-Бест" (ВБ), ООО "НПО "Диагностические системы" (ДС), ООО "Медико-биологический союз" (МБС) и два теста иностранных производителей - Bio-Rad (БР), Франция и Abbott Laboratories, США (Abbott) [2]. Четыре теста основаны на использовании метода твердофазного ИФА и предназначены для ручной постановки и использования в анализаторах открытого типа. Тест производства компании Abbott предназначен для анализаторов закрытого типа, в его основе лежит принцип ИХЛА.

Исследование предполагает независимую и всеобъемлющую экспертную оценку. Однако статья опубликована на правах рекламы и, судя по ссылкам на сайт компании производителя ("Веб-сайт: www.ru.abbott"), рекламодателем является одна из компаний - производителей сравниваемых тест-систем. Публикация содержит все атрибуты научной статьи, но, по сути, является рекламной. Такой вид рекламы называется нативной рекламой.

Собственно, на этом можно было и закончить обсуждение этого материала, так как результат сравнения предопределен, однако, на наш взгляд, подробный анализ данных и способов их представления может помочь читателям в будущем более критично относиться к специфическим рекламным публикациям подобного рода. Небезынтересными оказались и выводы, вытекающие из этого анализа.

Прежде чем перейти к обсуждению результатов упомянутого выше исследования, авторы декларируют, что:

1) для анализа использованы данные независимой оценки международных экспертных лабораторий, либо данные из открытых источников (отчеты ВОЗ, инструкции к тестам и панелям, публикации), в том числе из анализируемой статьи;

2) качество лабораторных данных, которые служили основой для оценки тестов в статье "Сравнительная оценка тест-систем ИФА/ИХЛА 4-го поколения, применяемых в Российской Федерации для диагностики ВИЧ-инфекции" не вызывает никаких сомнений и принято за основу при проведении сравнительного анализа;

3) в настоящей работе обсуждаются способы предоставления данных и интерпретация результатов, позволяющие разделить независимую оценку и рекламную публикацию.

Как правило, в материалах, опубликованных на правах рекламы, не упоминаются конкретные названия товаров, которые произведены другими изготовителями, однако мы сочли возможным не скрывать коммерческие названия, так как

целью данной публикации является не сравнение характеристик тестов, а обсуждение корректности способов подачи и интерпретации данных. Кроме того, конкурирующие продукты уже обозначены в обсуждаемой публикации, и отсутствие конкретных названий здесь мешало бы ясности и прозрачности аргументации.

Принципы, определяющие основу добросовестной и объективной оценки, присутствующих на рынке продуктов для *in vitro* диагностики, в данном случае тестов 4-го поколения для диагностики ВИЧ-инфекции, не новы и относятся в широком смысле слова, к общим принципам проведения научного исследования. Это:

- Использование важнейших и общепринятых для сравнения параметров (или обоснование использования других характеристик),
- Применение статистических методов в представлении и интерпретации данных,
- Использование *репрезентативных* по количеству и качеству контрольных и референс материалов, международных стандартов и т.д. (если используется *ограниченное* количество, то выбор их должен быть обоснован),
- Использование общепризнанных методов оценки для узкоспециальных параметров,
- Сравнение полученных данных с ранее опубликованными и комментарии о возможных причинах расхождения результатов.

Мир *in vitro* диагностики существует довольно давно и важнейшие характеристики тестов определены. Однако существует, по крайней мере, 2 варианта формализованных требований. Это требования Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), изложенные в ряде документов [3,4] и требования к тестам для изделий высокого риска, сформулированные в Общих технических требованиях к тест-системам для *in vitro* диагностики, разрешенным к применению в Европе (CTS 886/EC) [5].

Требования Европейского союза (ЕС) относятся больше к техническим характеристикам тестов, а требования ВОЗ несколько шире и рассматривают также некоторые особенности, связанные с возможностью применения тестов в странах с лимитированным бюджетом на здравоохранение, невысокой квалификацией персонала и сложной логистикой.

Требования ЕС к тестам для диагностики ВИЧ согласно CTS 886/EC [5]

- Аналитическая и клиническая чувствительность
- Возможность детектировать варианты вируса
- Специфичность, с учетом факторов риска (беременность, ревматоидный фактор (РФ) и т.д.)
- Возможная кросс - реактивность, использование антикоагулянтов.

Требования ВОЗ к тестам для диагностики ВИЧ [3,4]

- Аналитическая и клиническая чувствительность и специфичность [3,4]
 - Простота использования [3]
 - Объем образца и мониторинг добавления образца и реагентов [3]
 - Стабильность набора и реагентов [3,4]
 - Срок годности, условия транспортировки [3,4]
 - Удобство использования (оборудование, уровень квалификации персонала) [4]
 - Цена [3]
- В публикации, о которой мы говорим, набор

характеристик для сравнения тест-систем, прежде всего, вероятно, соответствовал рекламным целям. Только этим можно объяснить отсутствие как важнейших диагностических характеристик, таких как *аналитическая чувствительность*, так и требований к *срокам годности и условиям транспортировки*, по которым тест-системы заинтересованной в их рекламе компании Abbott не имеют преимуществ перед остальными участниками сравнения (табл. 1). Зато, по-видимому, для создания "информационного шума" в публикации, отвлекающего от более важных показателей, используется ряд других, вторичных по значимости или дублирующих характеристик (табл. 2).

Таблица 1

Сравнение аналитических характеристик пяти тест-систем, участвовавших в исследовании

Характеристика	Торговое название (Производитель)				
	ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo, кат. № 4J2732, инструкция по применению SCR/Revision 04J27-49/08B (Abbott)	ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН, кат. № I-1654, версия инструкции по применению 097-164-RU-06-02 (ДС)	Genscreen Ultra HIV Ag/Ab, кат. № 72386, 72388 R, инструкция по применению от 11/2010 Code: 883605 (БР)	КомбиБест ВИЧ-1,2 АГ/АТ, кат. № D-0150, D-0151, D-0152, инструкция от 19.04.17, утверждена 30.08.2012 Приказом Росздравнадзора № 1118-Пр/12 (ББ)	ВИЧ-1,2-АГ/АТ, кат. № IP-113-20, инструкция по применению от 22.12.2015 (МБС)
Специфичность при обследовании контингента доноров, %	99,77 - 99,96	99,96	99,95	Нет данных	Нет данных
Диагностическая чувствительность, (сероконверсионные панели), %	100	100	100	100	100
Диагностическая чувствительность, (клинические образцы), %	99,61	99,83	99,75	Нет данных	Нет данных
Аналитическая чувствительность, по разным исследованиям, в разных единицах	18,06 - 50 пг/мл 0,87 МЕ/мл	10 пг/мл 0,5 МЕ/мл	13,6 - 25 пг/мл 4,2 пг/мл ВВ1 801	< 10 пг/мл	Менее или равна 20 пг/мл
Чувствительность, субтипы, %	100	100	100	Нет данных	Нет данных
Интерференция кросс-реактивных образцов, "родственные" инфекции, РФ, беременность, компоненты экспрессии (анти -E-coli и др.), %	99,68	99,75	98,72	Нет данных	Нет данных
Стабильность Срок годности/ реагенты после открытия, мес.	10 по паспортам на тест-системы производителя	24	18	12	12

Характеристики, рекомендуемые для оценки тестов и используемые авторами в рекламной публикации

ЕС, ВОЗ	Рекламная публикация
• Аналитическая чувствительность	• нет
• Клиническая чувствительность	• оценена
• Возможность детектировать варианты вируса	• оценена
• Специфичность, включая специфические группы (беременные, РФ и т.д.)	• оценена
• Возможная кросс-реактивность, использование антикоагулянтов	• нет
• Объем образца и мониторинг добавления образца и реагентов	• нет
• Стабильность набора и реагентов	• нет
• Срок годности, условия транспортировки	• нет
• Легкость использования (оборудование, квалификация персонала)	• нет
• нет	• Точность (доля правильных результатов теста в общем количестве результатов)
• нет	• Уровень первично и повторно положительных
• нет	• "Надежность" отрицательных и положительных результатов

Использование статистических методов для анализа данных

Все данные в рекламной публикации приведены с доверительными интервалами (ДИ), при степени достоверности 95%. Это соответствует общепринятой практике [6].

Однако и в тексте, и в таблицах для разных тестов сравниваются только *абсолютные* или *средние величины* без упоминания об отсутствии статистически достоверной разницы в показателях. Это прекрасно иллюстрируют диаграммы, построенные с использованием средних величин и ДИ из публикации (рис. 1 - 4).

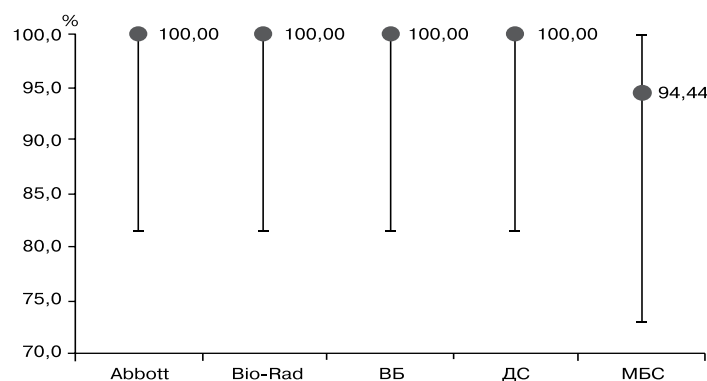


Рис. 1. Характеристика чувствительности сравниваемых тест-систем при исследовании групп истинно положительных образцов.

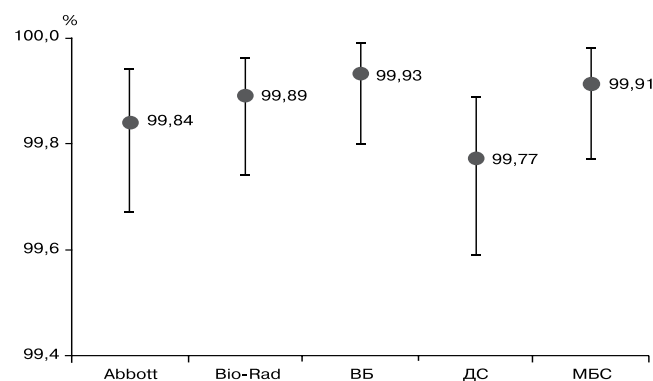


Рис. 2. Специфичность тест-систем при исследовании всех негативных образцов.

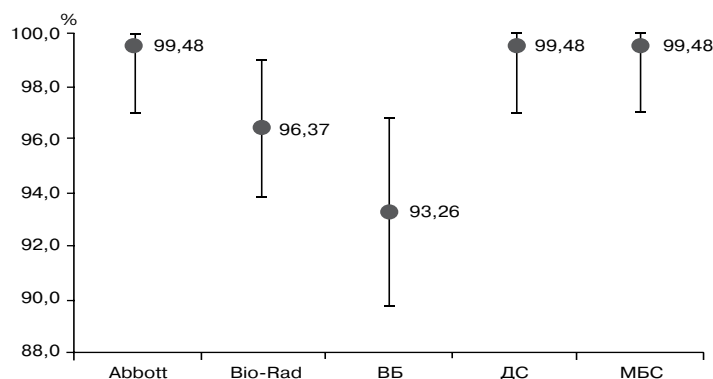


Рис. 3. Специфичность тест-систем при тестировании образцов от лиц из групп высокого риска инфицирования.

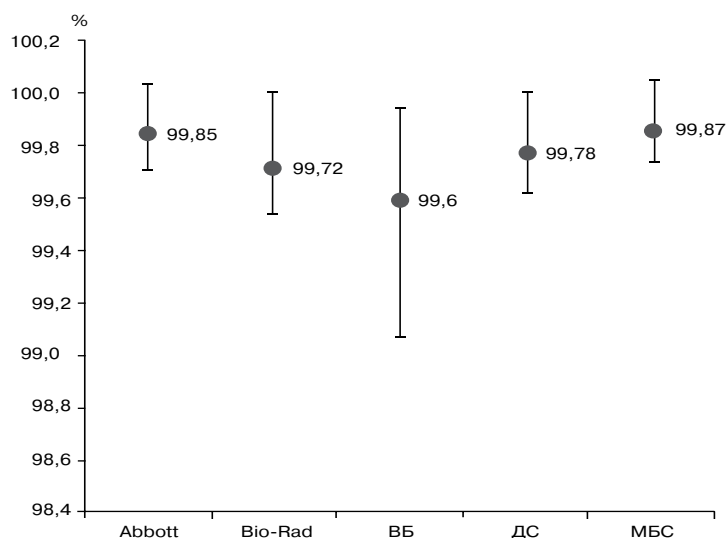


Рис. 4. Сравнение показателя точности исследуемых тест-систем.

Из всех представленных данных только показатель специфичности теста ВБ при исследовании в группах высокого риска инфицирования статистически достоверно отличается от результатов тестов ДС, МБС и Abbott. При этом он не имеет достоверных различий с показателем теста БР (рис.3).

Показатели точности и другие, более детальные параметры, такие как специфичность в группах с измененными состояниями иммунной системы, точность в группах риска, точность в группах с измененным состоянием иммунной системы и т.д., также не имеют достоверных различий.

Таким образом, по оцененным характеристикам, признаваемым международными организациями как важные (чувствительность по клиническим образцам и специфичность), и другим вторичным характеристикам, достоверных различий между тестами нет.

Использование общепризнанных методов оценки для узкоспециальных параметров

Одним из показателей, по которому тест система Abbott была признана лучшей среди всех исследуемых по данным рекламной публикации, был показатель "надежности" положитель-

ных и отрицательных образцов. Действительно, отношение величины оптической плотности (ОП) образца к величине отсекающей - S/Co - в англоязычной или ОПобразца/ОПкрит. в русскоязычной литературе, является показателем "контрастности" теста. Чем больше этот показатель для положительных образцов и меньше для отрицательных, тем более надежно отделена популяция образцов, содержащих исследуемый аналит, от популяции не содержащих.

Как правило, для оценки индивидуальных результатов используют ОП образца, определяя его негативный (<1), слабopозитивный ($>1, <2-2,5$), или сильнопозитивный ($>2,5$). Для сравнения тестов при использовании одной и той же коллекции используют средние величины для положительных и отрицательных образцов.

Однако такой подход, судя по всему, не давал никаких преимуществ тесту компании-рекламодателя (самое низкое соотношение сигнала к ОП крит. для отрицательных образцов получилось для теста ДС), поэтому в расчетах был использован коэффициент вариации, который в этом контексте не только не несет никакой смысловой нагрузки, но также не дает использовать показатель "надежности" в понимании авторов статьи для оценки положительных образцов.

Поэтому в публикации представлены данные, полученные при тестировании только отрица-

тельных образцов. Для иллюстрации приведена таблица 3 из статьи [2].

Таблица 3

Соотношения сигнал/шум и соотношения стандартных отклонений к пороговому значению, полученные при тестировании отрицательных образцов [2]

Тест-система	Кол-во образцов, n	Среднее значение S/CO	Величина стандартного отклонения (SD)	Соотношение SD к cut-off
Abbott	5217	0,11	0,048	18,443
Bio-Rad	5210	0,32	0,118	5,777
Вектор-Бест	5203	0,13	0,139	6,31
ДС	5213	0,09	0,1	9,134
МБС	5220	0,12	0,136	6,493

Тем не менее, формат рекламной публикации, по-видимому, позволяет некоторые вольности в использовании данных, поэтому в разделе "Результаты и их обсуждение" рассматривается "надежность" только отрицательных образцов ("Таблица 3" [2]), а в разделе "Заключение" выводы делаются по отрицательным и положительным - "Среди испытуемых тест-система Abbott при оценке таких параметров, как надежность отрицательных и положительных результатов и доля повторно положительных результатов, оказалась лучшей и показала 100%-ную воспроизводимость" [2].

Завершая обсуждение этого пункта, хотелось бы отметить, что отношение сигнала к шуму, именно в его классическом понимании широко используются как для оценки продукции компании Abbott, так и в публикациях специалистов Abbott [7]. Что касается надежности детекции образцов около ОП крит., то существует специальная методика, описанная в документе Института клинических и лабораторных стандартов, США (CLSI EP12-A2) [13], где есть пункт об определении вероятности получения положительных результатов образцов с уровнем сигнала близким к ОП крит. В новых версиях инструкций компании ДС эта информация представлена.

Возвращаясь к важнейшим диагностическим характеристикам, таким как чувствительность по сероконверсионным панелям и чувствительность по вариантам вируса, мы снова сталкиваемся с тем как меняется интерпретация данных в разделе "Заключение". Так, если в кратком резюме статьи говорится о незначительной разнице в выявлении образцов по сероконверсионным панелям 22,12% ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН (ООО "НПО "Диагностические системы")

и 27,88% ВИЧ АгАт рекламоателя [2], то в разделе "Заключение" эти же данные подаются читателям иначе: количество образцов, выявленных одним и другим тестом в сероконверсионных панелях, сравниваются в процентном отношении друг к другу, что довольно абсурдно с точки зрения анализа чувствительности по сероконверсионным панелям, зато позволяет заявить о "преимущество" в 20% [2].

Отметим, что и в том и другом случае речь идет о разнице в 6 образцов, однако конечный результат меняется в зависимости от способа представления данных.

Как уже упоминалось, основным критерием при оценке сероконверсионных панелей и вариантов субтипов вируса должна быть их репрезентативность. Это объясняется как разнообразием вируса как такового, так индивидуальным ответом хозяина на возбудителя. Основной диагностической целью тестов для детекции ВИЧ являются антитела, уровень и аффинность которых определяется как вариантом вируса, так и эффективностью антителообразования в организме индивидуума. Поэтому для тестов, разрешенных к применению в ЕС, должны использоваться не менее 30 сероконверсионных панелей.

В обсуждаемой публикации приведены исследования только 9 панелей производства ZeptoMetrix corp., США, выбранных на неизвестных нам основаниях. В официальных отчетах европейских аудитирующих органов и публичном отчете ВОЗ нам удалось найти данные по тестированию 5 из них. Еще 4 панели были протестированы сотрудниками ООО НПО "Диагностические системы". Результаты приведены в табл. 4.

Таблица 4

Выявление образцов сероконверсионных панелей разными диагностическими тестами

Название панели	Образец панели	Дни с первого забора	Amplicor HIV1 Monitor PCR** (Roche DS)	HIV RNA копий/мл** (Chiron corp.)	Coulter HIV p24Ag** (Beckman Coulter, Inc.)	ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН (ДС)*	ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo** (Abbott)	HIV Ag/Ab Combo** (Murex)
ОП/ОП крит.								
ZeptoMetrix 6248	1	0	<400	***ND	0,3	0,0	0,12	0,230
	2	4	<400	ND	0,3	0,1	0,15	0,260
	3	7	<400	ND	0,3	0,1	0,12	0,235
	4	11	<400	ND	0,3	0,1	0,12	0,235
	5	14	2300	ND	0,3	0,1	0,11	0,240
	6	28	199000	ND	2,7	8,9	1,855	1,670
	7	35	877000000	ND	38,3	22,5	464,579	17,990
ZeptoMetrix 9014	1	0	ND	25880	1,15	2,9	1,48	0,782
	2	2	ND	5814	0,48	0,7	0,35	0,406
	3	10	ND	281	0,34	9,4	18,04	4,365
	4	12	ND	<50	0,38	13,3	40,72	4,178
	5	24	ND	<50	0,36	16,7	54,69	17,162
	6	29	ND	<50	0,35	18,7	37,46	17,898
	7	31	ND	<50	0,35	17,4	28,65	18,127
ZeptoMetrix 9018	1	0	<50	ND	0,09	0,3	0,13	0,259
	2	4	<50	ND	0,08	0,4	0,15	0,264
	3	7	<50	ND	0,11	0,5	0,12	0,254
	4	11	<50	ND	0,08	0,3	0,19	0,264
	5	14	<50	ND	0,17	0,6	0,14	0,254
	6	15	<50	ND	0,33	0,4	0,10	0,254
	7	18	304	ND	0,09	0,4	0,14	0,244
	8	22	15280	ND	0,21	0,5	0,78	0,675
	9	25	193100	ND	1,55	0,6	5,46	5,015
	10	29	621100	ND	3,43	6,6	12,06	17,579
	11	33	>500000	ND	4,11	19,1	20,02	18,137
ZeptoMetrix 9021	1	0	ND	<50	0,241	0,2	0,18	0,274
	2	3	ND	<50	0,241	0,4	0,10	0,234
	3	7	ND	<50	0,241	0,1	0,09	0,228
	4	11	ND	<50	0,361	0,1	0,10	0,244
	5	14	ND	<50	0,361	0,1	0,13	0,274
	6	18	ND	<50	0,361	0,2	0,14	0,249
	7	21	ND	<50	0,482	0,2	0,12	0,259
	8	25	ND	<50	0,482	0,2	0,15	0,315
	9	28	ND	<50	0,361	0,2	0,13	0,223
	10	32	ND	<50	0,241	0,1	0,17	0,462
	11	36	ND	<50	0,241	0,1	0,27	0,386
	12	39	ND	<50	0,482	0,1	0,15	0,249
	13	43	ND	599	0,361	0,2	0,13	0,269
	14	47	ND	143379	1,819	6,4	1,49	1,853
	15	50	ND	>500000	9,277	18,6	8,59	9,271
	16	54	ND	>500000	25,422	16,4	16,46	15,827
	17	57	ND	>500000	41,084	16,1	110,56	18,787

Название панели	Образец панели	Дни с первого забора	Amplicor HIV1 Monitor PCR** (Roche DS)	HIV RNA копий/мл** (Chiron corp.)	Coulter HIV p24Ag** (Beckman Coulter, Inc.)	ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН (ДС)*	ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo** (Abbott)	HIV Ag/Ab Combo** (Murex)
ОП/ОП крит.								
ZeptoMetrix 9031	1	0	ND	<50	0,342	0,08	0,07	0,4
	2	28	ND	<50	0,266	0,08	0,07	0,4
	3	74	ND	<50	0,342	0,11	0,09	0,4
	4	87	ND	<50	0,253	0,08	0,12	0,4
	5	97	ND	67	0,380	0,11	0,10	0,4
	6	101	ND	<50	0,506	0,10	0,16	0,4
	7	105	ND	<50	0,506	0,10	0,10	0,4
	8	109	ND	<50	0,279	0,12	0,08	0,4
	9	112	ND	<50	0,263	0,08	0,08	0,4
	10	116	ND	<50	0,263	0,08	0,11	0,4
	11	120	ND	<50	0,263	0,37	0,08	1,6
	12	123	ND	<50	0,456	0,10	0,08	0,4
	13	127	ND	<50	0,263	0,10	0,11	0,4
	14	131	ND	197	0,506	0,12	0,06	0,4
	15	134	ND	1493	0,430	0,25	0,11	0,4
	16	138	ND	10507	0,494	1,7	0,28	0,6
	17	146	ND	15166	0,430	6,4	2,24	15,6
	18	153	ND	173075	5,671	13,3	6,10	11,9
	19	157	ND	237938	2,278	13,8	7,77	14,6
ZeptoMetrix 9012	1	0	ND	157	0,08	0,04	0,1	0,24
	2	2	ND	<50	0,08	0,04	0,07	0,255
	3	7	ND	69	0,08	0,02	0,08	0,260
	4	9	ND	221	0,08	0,05	0,11	0,245
	5	14	ND	3374	1,05	1,79	0,37	0,540
	6	16	ND	1018	4,02	6,85	1,02	1,415
	7	21	ND	>500000	50,47	18,4	15,17	17,655
	8	23	ND	>5000000	59,73	19,1	49,99	17,675
ZeptoMetrix 9023	1	1-15	ND	<50	0,361	0,04	0,11	0,340
	2	16	ND	<50	0,361	0,04	0,12	0,218
	3	17	ND	<50	0,361	0,04	0,11	0,223
	4	18	ND	<50	0,361	0,04	0,13	0,223
	5	19	ND	7183	0,602	0,28	0,03	0,305
	6	20	ND	62566	2,048	4,4	1,94	1,056
	7	21	ND	>500000	38,554	16,9	58,51	17,523
	8	22	ND	>500000	40,964	17,8	87,79	18,914
ZeptoMetrix 9028	1	0	ND	<50	0,361	0,45	0,08	0,530
	2	5	ND	<50	0,723	0,22	0,06	0,732
	3	16	ND	<50	0,482	0,18	0,12	0,455
	4	18	ND	<50	0,361	0,10	0,08	0,434
	5	34	ND	<50	0,482	0,10	0,13	0,374
	6	53	ND	9925	2,169	5,74	1,48	1,540
	7	55	ND	>500000	18,795	17,0	10,62	9,404
ZeptoMetrix 9089	1	0	ND	<50	0,233	0,06	0,11	0,281
	2	7	ND	<50	0,233	0,05	0,12	0,291
	3	9	ND	316	0,233	0,03	0,11	0,305
	4	16	ND	146954	8,023	15,0	4,33	3,897
	5	18	ND	59647	2,910	9,1	1,01	4,103
	6	22	ND	42837	2,910	8,3	2,24	10,749

Примечание. * — данные тестирования в ООО "НПО "Диагностические системы";

** — данные приведены в паспортах на панели ZeptoMetrix Corp., США;

*** — ND - нет данных

Вывод: количество положительных результатов по 9-ти сероконверсионным панелям, полученных с помощью теста ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo - 29, и с помощью теста ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН - 30. Разные результаты получились при выявлении трех сероконверсионных панелей ZMC-HIV9018, ZMC-HIV9031 и ZMC-HIV9012. Чувствительность при анализе сероконверсионных панелей оказалась, как и ожидалось, одинаковой в сумме, при расхождении в 1 образец.

Схожие результаты были получены при оценке сероконверсионных панелей в Институте им. Пауля Эрлиха, Германия (Paul-Ehrlich-Institut, PEI) и лаборатории ВОЗ (табл. 5).

Оценка диагностической чувствительности тест-системы "ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН" на сероконверсионных панелях, протестированных на базе PEI ($n=14$), AB Diagnostic systems (AB DS) ($n=7$), ВОЗ ($n=2$) и ДС ($n=7$) в сравнении с данными ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo (Abbott) представлена в табл. 5.

Таблица 5

Оценка чувствительности по сероконверсионным панелям

Панель	ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН*	ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo**
	Количество позитивных образцов/общее количество образцов, <i>n</i>	
Результат тестирования сероконверсионных панелей в PEI		
BBI-PRB960	2/9	2/9
BBI-PRB961	2/9	2/9
BBI-PRB962	2/6	2/6
BBI-PRB963	2/7	2/7
BBI-PRB964	1/6	1/6
BBI-PRB965	5/6	5/6
BBI-PRB966	3/10	3/10
ZMC-HIV9018	3/11	3/11
ZMC-HIV9021	4/17	4/17
ZMC-HIV9030	3/16	3/16
ZMC-HIV6240	7/13	6/13
ZMC-HIV6244	3/15	3/15
ZMC-HIV6245	6/11	6/11
ZMC-HIV6247	4/10	3/10
Всего	47/146	45/146
Результат тестирования сероконверсионных панелей в AB DS		
BBI-PRB970	3/4	4/4
BBI-PRB973	2/4	2/4
BBI-PRB974	2/4	2/4
BBI-PRB975	1/5	1/5
BBI-PRB976	2/4	2/4
BBI-PRB977	2/4	2/4
BBI-PRB978	1/7	1/7
Всего	13/32	14/32
Результат тестирования сероконверсионных панелей в ВОЗ		
BBI-PRB968	4/10	4/10
BBI-PRB969	3/10	4/10
Всего	7/20	8/20
Результат тестирования сероконверсионных панелей в ДС		
ZMC-HIV12008	6/13	5/13
ZMC-HIV9022	3/9	3/9
ZMC-HIV9032	7/14	7/14
ZMC-HIV6243	4/10	4/10
ZMC-HIV6248	2/7	2/7
ZMC-HIV9077	17/28	17/28
ZMC-HIV9079	17/25	17/25
Всего	56/106	55/106
Всего позитивных образцов/общее количество, <i>n</i> (% выявленных образцов)	123/304 (40,5)	122/304 (40,1)

Примечание. * — данные тестирования в PEI, AB DS, ВОЗ и ДС;

** — данные тестирования приведены в паспортах на соответствующие сероконверсионные панели

По результатам тестирования 30 сероконверсионных панелей в тест-системе ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН диагностическая чувствительность сопоставима с чувствительностью теста 4-го поколения ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo.

Однако на основе этих данных можно получить кардинально различные результаты. Сократим количество панелей до 3 произвольно выбранных, см. табл. 6. Здесь мы уже имеем 17 позитивных результатов у теста ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН и 14 позитивных у теста ВИЧ АгАт рекламодателя. Дельта в 3 образца, становится более заметна, если оценить уровни выявления образцов: 47% и 38,8% соответственно (разни-

ца в 8 процентных пунктов), а повторив прием, со сравнением числа позитивных образцов в процентном отношении друг к другу, в выводах можно было бы написать, что при тестировании сероконверсионных панелей ZMC-HIV6240, ZMC-HIV6247 и ZMC-HIV12008 тест система ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН выявила наибольшее количество образцов - на 21,4% (!) больше чем другой тест.

При использовании репрезентативной выборки и общепринятых методов сравнения разница в чувствительности составила 0,4 процентных пункта, при произвольном отборе панелей и другом методе сравнения: 21,4% (табл. 6) при одних и тех же лабораторных результатах.

Таблица 6

Изменение доли выявленных образцов панели в зависимости от изменения общего количества положительных образцов панели

Панель	ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН*	ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo **
	Количество позитивных образцов/общее количество образцов, n	
ZMC-HIV6240	7/13	6/13
ZMC-HIV6247	4/10	3/10
ZMC-HIV12008	6/13	5/13
Всего	17/36	14/36
% позитивных образцов		
	47	38,8
Различия в количестве выявленных образцов		
	больше на 3 (+21,4% к 14)	меньше на 3 (-17,6% от 17)

Примечание. * — данные тестирования в PEI, AB DS, BO3 и ДС;

** — данные тестирования приведены в паспортах на соответствующие сероконверсионные панели

Так как у нас нет никакой информации, касающейся внутренней панели вирусного разнообразия компании Abbott, мы можем только обратить ваше внимание на расхождение результатов, полученных международными экспертными организациями и приведенных в этом исследовании. При тестировании сопоставимого количества образцов независимая экспертиза дает чувстви-

тельность в 100%, рекламная публикация - только 76,1% (табл. 7). Авторы никак не прокомментировали это расхождение, хотя подобная же ситуация сложилась и со вторым SE маркированным и преквалифицированным ВОЗ тестом — производства компании БР, чувствительность которого оценена в 85,9%.

Таблица 7

Эффективность выявления тест-системой ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН образцов вирусного разнообразия, протестированных на базе ВОЗ, PEI и ДС в сравнении с данными Abbott (из статьи [2])

Субтип	Данные независимой оценки ВОЗ		Данные тестирования в PEI		Данные ДС		Данные, представленные в рекламной публикации	
	Количество образцов, n	Количество, n и % выявленных образцов	Количество образцов, n	Количество, n и % выявленных образцов	Количество образцов, n	Количество, n и % выявленных образцов	Количество образцов, n	Количество, n и % выявленных образцов
A	2	2(100)	12	12 (100)	6 ^{1,2,3,4}	6(100)	4	3(75)
B	2	2(100)	4	4 (100)	22 ^{1,2,3,4}	22(100)	11	9(81,8)
C	2	2(100)	6	6 (100)	6 ^{1,2,3,4}	6(100)	8	8(100)
D	1	1(100)	7	7 (100)	4 ^{1,4}	4(100)	6	6(100)
F	1	1(100)	3	3 (100)	3 ^{1,4}	3(100)	6	5(83,3)
G	1	1(100)	16	16 (100)	3 ^{1,4}	3(100)	3	2(66,7)
Group O	2	2(100)	2	2 (100)	4 ^{1,3,4}	4(100)	8	0(0)
CRF01_AE	2	2(100)	7	7 (100)	4 ^{1,4}	4(100)	9	8(88,9)

Субтип	Данные независимой оценки ВОЗ		Данные тестирования в PEI		Данные ДС		Данные, представленные в рекламной публикации	
	Количество образцов, <i>n</i>	Количество, <i>n</i> и % выявленных образцов	Количество образцов, <i>n</i>	Количество, <i>n</i> и % выявленных образцов	Количество образцов, <i>n</i>	Количество, <i>n</i> и % выявленных образцов	Количество образцов, <i>n</i>	Количество, <i>n</i> и % выявленных образцов
CRF02_AG	1	1(100)	4	4 (100)	4 ^{1,4}	4(100)	5	5(100)
E			3	3 (100)	1 ³	1(100)		
B/D			1	1 (100)				
K			2	2 (100)	1 ¹	1(100)		
CRF_06			1	1 (100)			2	2(100)
J			1	1 (100)			1	1(100)
AG			4	4 (100)				
H			4	4 (100)	1 ⁴	1(100)	2	2(100)
CRF05_D/F			1	1 (100)	1 ¹	1(100)		
CRF03-AB					1 ¹	1(100)		
CRF11-срх					1 ¹	1(100)	1	0(0)
URF_AB							1	1(100)
URF_AG							1	1(100)
Group N							2	1(50)
Group P							1	0(0)
Всего	14	14(100)	78	78(100)	58	58(100)	71	54(76,1)

Примечание. ¹ — Anti-HIV Mixed Subtype Panel, Cat. MSP-HIV-001 (BIOMEX);

² — Отраслевой стандартный образец "Референс-панель сывороток крови человека, содержащих и не содержащих антитела к вирусу иммунодефицита человека первого типа (субтипы А, В, С) и второго типа" ОСО 42-28-327-03-П;

³ — 1st international reference panel for anti-HIV, NIBSC Code 02/210;

⁴ — HIV Subtype Infectivity BBI Panel PRD320

Подводя итог всему вышесказанному, можно сделать вывод о том, что достоверных различий между исследуемыми тестами по спектру характеристик, предложенных авторами исследования, нет. К сожалению, способ подачи информации, зачастую влияет на ее восприятие гораздо больше, чем содержание самой информации - это и есть реклама.

Про нативную рекламу как спасение для рынка фармацевтических препаратов и медицинских услуг, который лихорадит последний год ввиду многочисленных законодательных ограничений, говорят многие эксперты отрасли. Однако на рынке медицинских изделий для диагностики *in vitro* такой откровенный пример встречается впервые.

Нативная реклама - это публикация, которая размещается чаще всего в профессиональных изданиях и по форме совершенно не отличается от соседних материалов. Так, например, в нашем случае это статья с разделами "Материалы и методы", "Результаты", "Заключение" с авторами и списком учреждений. При этом статья ничего не продаёт и не продвигает напрямую, не имеет явных признаков рекламы, создает видимость объективности и наукообразности. Нативная реклама отлично работает, когда нужно представить бренд как лидера отрасли. В этом случае авторы имеют право сравнивать любые, не самые очевидные показатели и интерпретировать данные любым, выгодным рекламодателю способом, хотя в соответствии с кодексом Комитета по этике научных публикаций (Committee on

Publication Ethics – COPE) авторы публикуемых научных и рекламных материалов в любом случае несут ответственность за достоверность приведенных сведений.

По мнению специалистов по рекламе и продвижению, применение нативной рекламы при обращении к профессиональным сообществам имеет две стороны – с одной стороны возрастает вовлеченность потребителей – читатели сами находят факты и делают выводы о преимуществах того или иного бренда из как бы научной статьи. С другой стороны, уловка построена на непрофессиональной оценке – у читателей не хватило времени, внимания, специальных знаний, чтобы проанализировать публикацию и критично отнестись к информации. Раскрывшийся обман задевает специалиста – никому не хочется чувствовать себя недостаточно квалифицированным и не распознать подделку.

Все мы – и производители медицинских изделий, и врачи-лаборанты, занимающиеся диагностикой ВИЧ-инфекции, являемся членами одного профессионального сообщества – нужно ли ронять свое лицо, зарабатывая на нехватке времени и ограниченных ресурсах своих коллег?

Заключение. Диагностическая чувствительность у всех тестов одинакова и составляет 100%, за исключением теста производства МБС. Аналитическая чувствительность по антигену p24 варьирует от 5 до 18,5 (50) пг/мл и самая низкая у теста ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo (по данным инструкции производителя). Специфичность варьирует от 99,77 до 99,93% и достоверно

не отличается. Оценка чувствительности по сероконверсионным панелям и субтипам вируса, не является объективной и противоречит данным оценки двух международных экспертных организаций, таких как ВОЗ и институт Пауля Эрлиха.

Даже по такому неочевидному, особенно в интерпретации авторов статьи, показателю как "надежность" достоверных преимуществ у теста ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo нет.

Кроме того, тесты ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo (Abbott) обладают *экстремально низким* для стран со сложной логистикой сроком хранения (10 месяцев), требуют участия специалистов при запуске и обслуживании, наличия персонала, имеющего достаточный уровень подготовки и квалификации, большего времени для подготовки и запуска оборудования перед началом тестирования. По данным ряда исследователей тест ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo имеет ряд недостатков дизайна, достаточно серьезных при использовании в скрининге. Это – высокий процент ложнопозитивных результатов у беременных [8], влияние гетерофильных антител, приводящее к ложным результатам [9].

Из анализа данных, представленных в работе "Сравнительная оценка тест - систем ИФА/ИХЛА 4-го поколения, применяемых в Российской Федерации для диагностики ВИЧ-инфекции", никаких очевидных преимуществ в функциональных характеристиках нет ни у метода ИХЛА в целом, ни у конкретно теста ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo. Этот вывод подтверждается многочисленными публикациями в международных изданиях [10-12]. Также не было продемонстрировано никаких отличий в технических характеристиках при сравнении отечественных и импортных тестов.

Использование нативной рекламы в научных журналах легко может ввести в заблуждение даже продвинутых и внимательных читателей добросовестных изданий. Этично ли использовать нативную рекламу в профессиональных сообществах, где опубликованная информация, не имеющая видимых признаков рекламы может быть принята априори, за научное исследование? *Обращайте внимание на знаки "на правах рекламы". Будьте бдительны. Не верьте рекламе.*

ЛИТЕРАТУРА

- Османова А.И. Нативная реклама в коммуникационной деятельности российских банков. *Медиаскоп*. 2018. Вып. 1. Режим доступа: <http://www.mediascope.ru/2418> DOI: 10.30547/mediascope.1.2018.8
- Киреев Д.Е., Шипулин Г.А., Семенов А.В., Тиванова Е.В., Чуланов В.П., Колясникова Н.М., Зуева Е.Б., Galli C., Покровский В.В. Сравнительная оценка тест-систем ИФА/ИХЛА 4-го поколения, применяемых в Российской Федерации для диагностики ВИЧ-инфекции // *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. - 2019. - Т.11, №2. - С. 103-113 [Kireev D.E., Shipulin G.A., Semenov A.V., Tivanova E.V., Chulanov V.P., Kolyasnikova N.M., Zueva E. B., Galli C., Pokrovskij V.V. *VICH-infekciya i immunosupressii*. - 2019. - vol.11, N 2, pp.103-113]
- WHO. Screening donated blood for transfusion-transmissible infections. Recommendations, 2009. 66 p. available: <https://www.who.int/bloodsafety/ScreeningTTI.pdf>
- WHO. Consolidated guidelines on HIV testing services: 5Cs: consent, confidentiality, counselling, correct results and connection 2015. 163 p. World Health Organization. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/179870>
- 2009/886/EC: Commission Decision of 27 November 2009 amending Decision 2002/364/EC on common technical specifications for in vitro diagnostic medical devices (notified under document C (2009) 9464) (Text with EEA relevance). Available at: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:318:0025:0040:en:PDF>
- Гланц С. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. - М.: Практика; 1999. 459 с. Available at: <http://medstatistic.ru/articles/glantz.pdf> / Glanc S. Mediko-biologicheskaya statistika. Per. s angl. - M.: Praktika; 1999. 459 с. Available at: <http://medstatistic.ru/articles/glantz.pdf>
- Jensen T.O., Robertson P., Whybin R., Chambers I., Lahra M., Rawlinson W., Post J.J. A signal-to-cutoff ratio in the Abbott architect HIV Ag/Ab Combo assay that predicts subsequent confirmation of HIV-1 infection in a low-prevalence setting. *J. Clin. Microbiol.* 2015 May; 53(5):1709-11. DOI: 10.1128/JCM.03583-14
- Adhikari E.H., Macias D., Gaffney D., White S., Rogers V.L., McIntire D.D., Roberts S.W. Diagnostic accuracy of fourth-generation ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo assay and utility of signal-to-cutoff ratio to predict false-positive HIV tests in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2018 Oct; 219(4):408.e1-408.e9. DOI: 10.1016/j.ajog.2018.06.008
- Lavoie S., Caswell D., Gill M.J., Kadkhoda K., Charlton C.L., Levett P.N. et al. Heterophilic interference in specimens yielding false-reactive results on the Abbott 4th generation ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo assay. *J. Clin. Virol.* 2018 Jul; 104:23-28. DOI: 10.1016/j.jcv.2018.03.014.
- Chavez P., Wesolowski L., Patel P., Delaney K., Owen S.M., Evaluation of the performance of the Abbott ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo Assay. *J. Clin. Virol.* 2011 Dec;52 Suppl 1:S51-5. DOI: 10.1016/j.jcv.2011.09.010.
- Mitchell E.O., Stewart G., Bajzik O., Ferret M., Bentsen C., Shriver M.K. Performance comparison of the 4th generation Bio-Rad Laboratories GS HIV Combo Ag/Ab EIA on the EVOLIS™ automated system versus Abbott ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo, Ortho Anti-HIV 1+2 EIA on Vitros ECi and Siemens HIV-1/O/2 enhanced on Advia Centaur. *J. Clin. Virol.* 2013 Dec;58 Suppl 1:e79-84. doi: 10.1016/j.jcv.2013.08.009.
- Chacon L., Mateos M.L., Holguin A. Relevance of cutoff on a 4th generation ELISA performance in the false positive rate during HIV diagnostic in a low HIV prevalence setting. *J. Clin. Virol.* 2017 Jul;92:11-13. DOI: 10.1016/j.jcv.2017.04.014.
- CLSI EP12-A2. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance, 2nd Edition. January 25, 2008

**Тест-системы для диагностики ВИЧ-инфекции
производства ООО "НПО "Диагностические системы"**

Наименование тест-системы краткое описание	Каталожный номер	Количество анализов	Срок годности
ДС-ИФА-АНТИ-ВИЧ-УНИФ СЕ 0483 Тест-система иммуноферментная для выявления антител к вирусам иммунодефицита человека 1 и 2 типов, унифицированная <i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i>	I – 155 I – 150 I – 153	96x5 96x2 96	24 месяца
ДС-ИФА-ВИЧ-АГ-СКРИН Тест-система иммуноферментная для выявления (подтверждения) антигена р24 вируса иммунодефицита человека 1 типа (ВИЧ-1) Чувствительность - 0,5 пг/мл <i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i>	I – 1452	96 (для выявления) 48 (для подтверждения)	18 месяцев
ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН 2.0 Тест-система для одновременного выявления антител к вирусам иммунодефицита человека 1 и 2 типов (ВИЧ-1 и ВИЧ-2), ВИЧ-1 группы О и антигена р24 ВИЧ-1 методом иммуноферментного анализа Чувствительность по антигену р24 ВИЧ-1 - 10,0 пг/мл <i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i>	I – 2324 I – 2323 I – 2322	96x5 96x2 96	24 месяца
ДС-ИФА-ВИЧ-АТ/АГ-СПЕКТР Тест-система иммуноферментная для выявления суммарных антител к отдельным белкам ВИЧ-1/ 2 и антигена р24 ВИЧ-1 на основе рекомбинантных антигенов и моноклональных антител Чувствительность по антигену р24 ВИЧ-1 - 5,0 пг/мл <i>Предназначен для ручной постановки</i>	I – 751	16	18 месяцев
ДС-ИФА-ВИЧ-АГ+АТ Тест-система иммуноферментная для одновременного выявления антител к вирусу иммунодефицита человека 1 и 2 типов (ВИЧ-1 и ВИЧ-2), ВИЧ-1 группы О и антигена ВИЧ-1 (р24) Чувствительность по антигену ВИЧ-1 (р24) - 5,0 пг/мл <i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i>	I – 2655 I – 2652 I – 2654	96x5 96x2 96	24 месяца
МилаЛаб-ИФА-ВИЧ-АГ+АТ Тест-система иммуноферментная для одновременного выявления антител к вирусам иммунодефицита человека (ВИЧ-1 и ВИЧ-2), ВИЧ-1 группы О и антигена р24 ВИЧ-1 Чувствительность по р24 < 20 пг/мл <i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i>	I – 1882 I – 1883 I – 1884	96 96x2 96x5	24 месяца
МилаЛаб-ИФА-ВИЧ-АГАТ-ЭКСПРЕСС 2.0 Тест-система для одновременного выявления антител к вирусам иммунодефицита человека (ВИЧ-1 и ВИЧ-2), ВИЧ-1 группы О и антигена р24 ВИЧ-1, методом иммуноферментного анализа, версия 2.0 Чувствительность по р24 ВИЧ-1 - 5,0 пг/мл (термошейкер) и 10,0 пг/мл (термостат) <i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i>	I – 2332 I – 2333 I – 2334	96x5 96x2 96	24 месяца
МилаБлот-ВИЧ Тест-система иммуноферментная для выявления антител к индивидуальным белкам вируса иммунодефицита человека (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) методом линейного иммуноблота <i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i>	I – 2295 I – 2296 I – 2297	18 24 36	12 месяцев
ДС-ИФА-ВИЧ-АТ-СРОК Тест-система иммуноферментная для определения вероятных сроков заражения вирусом иммунодефицита человека 1 типа (ВИЧ-1) и ВИЧ-1 группы О <i>Предназначен для ручной постановки</i>	I – 2171	48	12 месяцев

Интерференция в иммунном анализе

Михайлова Ю.В., Высоцкая А.Г., Шальнова Е.Е.

Интерференция в иммунном анализе: проблемные вопросы и пути их решения

ООО "НПО "Диагностические системы", г. Нижний Новгород

Стремительное развитие научно-технического прогресса, тесно связанного с появлением новых медицинских технологий, с разработкой и внедрением новых методов диагностики и лечения существенно повысили значимость лабораторных исследований. Лабораторная медицина по количеству предоставляемой информации является одной из самых объемных отраслей клинической медицины [1]. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) удельный вес лабораторных исследований составляет 75-90% от общего числа различных видов лабораторных исследований, проводимых больному в лечебных учреждениях; в 60-70% клинических случаев правильный диагноз пациенту врачи устанавливают на основании данных результатов лабораторных исследований; более 70% врачебных решений принимаются на основании полученных результатов лабораторных исследований [2].

По оценкам ряда исследователей, общий процент ошибок при проведении лабораторных исследований широко варьируется от 0,012 до 0,6% [3]. Большинство ошибок происходит на преаналитическом этапе (например, ошибки при заборе биоматериала/при обработке выборки образцов биоматериала; до 68% от общего числа ошибок), далее следуют ошибки на постаналитическом этапе (например, неправильный ввод данных/ошибки при записи данных; до 47% от общего числа ошибок); аналитические ошибки, например, вызванные влиянием эндогенных/экзогенных факторов составляют 7-13% от общего числа ошибок, причем ошибки, вызванные интерференцией (помехами, вмешательствами в анализ) составляют сравнительно небольшую долю [4].

В настоящее время в лабораторной практике широкое применение нашли иммунохимические тест-системы (ИХТ) для определения разнообразных маркеров и аналитов (используемых в диагностике большого спектра заболеваний) в плазме или сыворотке крови человека на высокопроизводительных аналитических платформах. Несмотря на то, что такие тест-системы, как правило, мало подвержены влиянию интерференции, на сегодняшний день не существует аналитической технологии, которая была бы устойчива ко всем видам интерференции. По данным Sturgeon С.М. и Viljoen А. (2011), частота клинически значимых ошибок в иммунологическом анализе оценивается на уровне 0,012 - 0,06%, что позволяет прогно-

зировать вклад интерференции в недостоверный результат на уровне менее 0,078% от всех результатов исследований [3].

На результаты исследований с использованием ИХТ могут оказывать влияние разные интерферирующие факторы. Несмотря на то, что оценить общую частоту, с которой возникают интерференции сложно, гемолиз считается основной причиной отбраковки образцов биоматериала для анализа (40-70% случаев) (Lippi G. et al., 2008). Важно отметить, что показатели распространенности клинически значимых интерферирующих веществ (интерферентов) могут быть существенно ниже, чем общая распространенность интерференций. Например, показатель распространенности человеческих антимышинных антител (HAMA) варьируется от <1 до 80% (Kricka L.J., 1999), тогда как доля клинически значимых интерференций, вызванных этими антителами, значительно ниже (0,03-0,05%) (Tate J., Ward G., 2004). По данным Giovanella L. (2019) в одной из специализированных клиник Швейцарии обычно регистрируется 4-5 случаев клинически значимых интерференций на 1000 пациентов в год. За последние 2 года обнаружено 6 клинически значимых случаев интерференции при проведении лабораторных исследований: в двух случаях выявлена биотинная интерференция у пациентов с рассеянным склерозом, принимавших высокие дозы биотина в рамках клинического эксперимента, а в других случаях отмечено интерферирующее влияние гетерофильных антител [5].

Существует несколько факторов, вызывающих интерференцию в иммуноанализе, приводящих к искажению результатов лабораторных исследований и, как следствие, к неправильной диагностике заболеваний, назначению неадекватной терапии и неблагоприятным последствиям для пациента. В связи с этим специалистам лабораторий следует уделять особое внимание выявлению возможных интерференций, а также разработке и применению на практике процедур по их предотвращению.

Причины интерференции в иммунном анализе

Согласно классификации, предложенной Ward G. et al. в 2017 г., различают аналит-независимые и аналит-зависимые причины интерференции в иммунном анализе [6].

Аналит-независимые причины подразделяют на:

- Преаналитические
 - Неадекватное центрифугирование с образованием микросгустков;
 - Присутствие в образце свободного гемоглобина (наличие гемолиза), мутности/ липемии и билирубина (иктеричности);
 - Эффект переноса при использовании моющих дозирующих устройств;
- Аналитические
 - Зависимость аналита от связывающего белка, например, появление артефактов при патологических состояниях. В частности, свободные жирные кислоты могут усиливать высвобождение тироксина (Т4) из связывающих белков;
 - Антитела, направленные против меток, например, антитела к рутиневой метке;
 - Вмешательство в формирование сигнала лекарственных веществ, например, биотина.

К аналит-зависимым причинам относят:

- Эндогенные антитела
 - Гетерофильные антитела: обычно природные полиспецифические низкоаффинные антитела. В большинстве случаев гетерофильные антитела возникают в процессе естественного синтеза разнообразных антител, при котором продуцируются слабые ранние мультиспецифические антитела против различных антигенов. Эти полиреактивные антитела могут проявлять свойства аутоантител и быть идиотипическими антителами, нередко встречаются среди новорождённых и представлены ревматоидным фактором (РФ), чаще IgM РФ. Гетерофильные антитела после воздействия антигена заменяются высокоаффинными антителами. Из-за их относительно низкого сродства, они проявляют интерференцию в меньшей степени, чем человеческие антитела к антигенам животного происхождения.
 - Человеческие антитела к антигенам животного происхождения: высокоаффинные поликлональные антитела, направленные против специфических иммуноглобулинов IgG или IgM определенного животного. Эти антитела чаще всего являются человеческими антителами против иммуноглобулинов мыши, кролика и овцы, т.е. животных, которые используются для производства коммерческих антител.
- Ситуация с этим видом интерференции может усугубляться из-за широкого распространения моноклональных антител в качестве диагностических и терапевтических инструментов.
- Аутоиммунные антитела - эндогенные антитела, направленные против компонентов собственного организма. Известными примерами являются антитела при аутоиммунном тиреоидите и ревматоидные факторы.
- Парапотеины - патологические иммуноглобулины, продукция которых связана с развитием злокачественного новообразования. К парапотеинам, в частности, относится белок Бенс-Джонса (легкие цепи моноклональных иммуноглобулинов, секретируемых опухолевыми клетками; обнаруживается в моче при миеломной болезни или макроглобулинемии).
- Перекрестно реагирующие вещества, например, кросс-реактивность преднизолона при определении кортизола [7].

Сегодня влиянию интерференции на результаты лабораторных исследований с использованием ИХТ придается большое значение, как за рубежом, так и в Российской Федерации. Этой теме посвящены многочисленные работы, раскрывающие теоретические и практические аспекты изучаемого вопроса. Наибольший интерес, на наш взгляд, представляют оригинальные научные публикации, с описанием примеров влияния различных интерферирующих факторов на результаты иммунологических исследований, используемых для диагностики заболеваний, и предлагаемые возможные способы и пути решения данной проблемы.

Аналит-зависимые причины интерференции**1. Гетерофильные антитела**

Современными научными исследованиями установлено, что, несмотря на высокую диагностическую эффективность современных усовершенствованных ИХТ, основанных на применении высокоспецифичных антител животного происхождения, иногда возможна интерференция из-за наличия в образце биоматериала пациента эндогенных антител, способных специфически связываться с иммуноглобулинами, входящими в состав реагентов. Антитела, которые могут вызывать интерференцию в иммунном анализе, получили название гетерофильных антител (ГА). Понимание природы и знание основных характеристик этих антител способствует совершенствованию технологий их идентификации и блокирования интерференции ГА.

В исследовании, проведенном Levinson S.S. (США) в 1992 г. было показано, что в процессе продукции антител наряду со специфическими антителами происходит образование (наработка) недифференцированных "естественных" антител, которые являются полиреактивными (или полиспецифическими); например, антигенсвязывающий участок (сайт) этих антител обладает сродством к антигенам различного химического состава. Процесс продукции также генерирует антиидиотипные антитела, содержащие кросс-реактивные идиотопы. Эти антитела, наряду с антителами РФ (которые сами по себе являются полиспецифичными и богаты кросс-реактивными идиотопами), являются неотъемлемой частью процесса продукции антител и проявляют мультиспецифичность [8].

Категория ГА объединяет широкий спектр полиспецифических низкоаффинных антител оказывающих интерферирующее влияние на результаты иммуноанализа, чаще всего это - человеческие антимышинные антитела (human anti-mouse antibodies, HAMA), поскольку именно мышинные антитела преимущественно используют как в производстве лабораторных тест-систем, так и некоторых препаратов медицинского назначения. Реже встречаются иные варианты ГА - человеческие антитела к клеткам животных (human anti-animal antibodies, HAAA), и РФ - антитела, направленные против собственных иммуноглобулинов человека, которые могут проявлять некоторую кросс-реактивность относительно иммуноглобулинов животных [9]. Характеристика природы данных антител представлена в табл. 1.

Природа интерферирующих антител [3]

Тип антител	Этиология	Характеристика	Значимость
НАМА	Синтезируются в организме человека в ответ на прямое воздействие мышиногенов	- Наиболее легко идентифицируемые антиреагентные антитела; - Высокоаффинные антитела, которые могут присутствовать в крови в высоких концентрациях (до 1000 мг/л); - Могут быть IgM, IgG, IgA или IgE (редко) - Могут сохраняться в течение длительного времени	Циркулируют преимущественно у лиц, ранее получавших мышинные МКА в терапевтических или диагностических целях; могут вырабатываться в организме людей, работающих с животными
НААА	Широкий спектр антител, синтезируемых в ответ на различные иммуногены	Различают два основных типа антител: - против Ig кролика, - против Ig козы, крупного рогатого скота, лошади и мыши (но не Ig кролика)	Вариабельные показатели распространенности и аналитической значимости
RF (РФ)	Аутоиммунные антитела, детектируемые преимущественно у лиц с ревматической патологией	- Способны связываться с антигенными детерминантами Fc-фрагмента IgG. - Могут быть IgM, IgG и IgA	Становятся причиной ложнозавышенных результатов разных видов анализов у пациентов с аутоиммунными ревматическими заболеваниями и с персистирующими инфекциями

Ряд международных исследований доказали наличие связи этих антител с развитием аутоиммунных и других воспалительных заболеваний. Вместе с тем, в небольшом количестве они присутствуют и в крови здоровых людей. В частности, давно и достаточно подробно описанное влияние на коммерческие аналитические системы ГА с Fc-реактивными фрагментами в образце пациента остается реальной проблемой в иммунохимии (до 4% влияний на измерения в иммунохимии) [10].

Несмотря на то, что ГА обнаруживаются в 30-40% исследованных образцов сыворотки крови, к интерференции они приводят менее чем в 0,05% случаев (Tate J. et al., 2004). Подобная интерференция может быть как положительной, так и отрицательной. Гетерофильные антитела могут оказывать влияние на результаты анализов с использованием как конкурентных, так и неконкурентных иммунохимических методов. Но с большей вероятностью

интерференция возникает в последнем случае, при проведении анализа в двухфазных тест-системах "сэндвич" - формата [11]. Гетерофильные антитела интерферируют путем следующих механизмов:

- из-за присоединения захваченных антител определяют изменение структуры места прикрепления или стерически ингибируется связывание антигена с захваченным антителом, выдавая, таким образом, ложнозаниженные результаты;

- способствуют агрегации между захваченными антителами и мечеными антителами даже в отсутствие антигена, что приводит к ложнозавышенным результатам [8].

Как показано на рис. 1, интерферирующие антитела могут либо взаимодействовать с аналитом для предотвращения связывания, либо образовывать мостик между сигналом и белками иммуносорбента в отсутствие аналита [3].

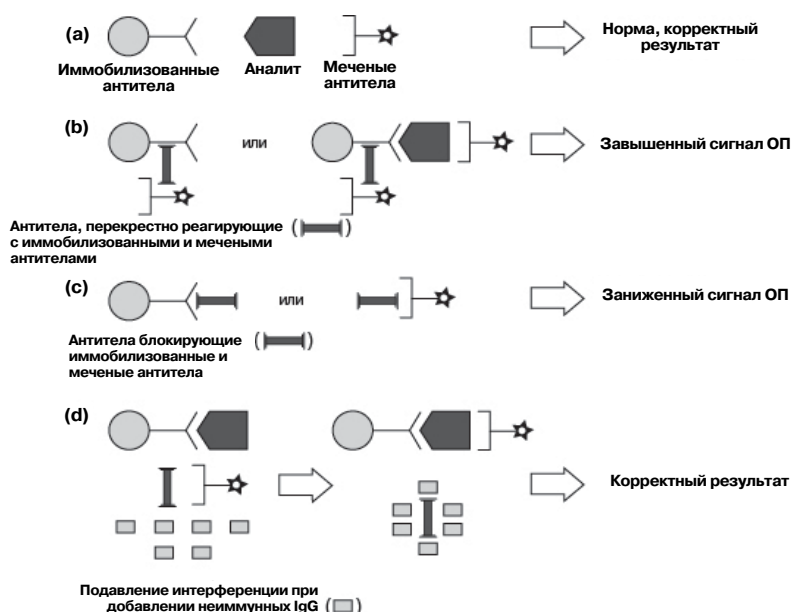


Рис. 1. Интерференция, обусловленная присутствием антиреагентных антител в двух-стадийном иммуноанализе [3].

(а) интерферирующие антитела отсутствуют; корректный результат; (б) перекрестное связывание белков иммуносорбента и меченых антител в присутствии антиреагентных антител; ложнозавышенный результат; (с) интерферирующие антитела связываются либо с белками иммуносорбента, либо только с мечеными антителами; ложнозаниженный результат теста "сэндвич"-формата; (d) уменьшение эффекта интерференции при добавлении IgG неиммунного животного; корректный результат

Коллектив авторов из Норвегии (Bjerner J. et al., 2002) исследовал влияние интерференции в двухсайтовой ИХТ собственной разработки (для внутреннего контроля - in house assay), оценивал частоту возникновения и способы уменьшения влияния интерференции на результаты анализа [12].

В ходе исследования было протестировано 11261 образцов сыворотки крови при помощи ИХТ для определения раково-эмбрионального антигена (РЭА) с использованием бычьего сывороточного альбумина в буфере (без мышиных иммуноглобулинов). Параллельно проводили тестирование в рутинном тесте на РЭА, с использованием 15 мг/л термически обработанных неспецифических иммуноглобулинов мыши (моноклональных антител МАК33) в буфере и без Fc-фрагментов, удаленных из захватывающих антител.

По результатам данного исследования частота интерференции составила 4,0% (95% ДИ: 3,3-4,7%). Добавление 15 мг/л нативного МАК33 вызвало незначительный эффект (частота 3,9%; 95% ДИ: 3,2-4,6%), тогда как добавление 15 мг/л термически обработанного МАК33 уменьшило частоту интерференции до 0,86% (0,61-1,12%), а добавление его в концентрации 50 мг/л - до 0,06% (0-0,13%). Удаление Fc-фрагментов позволило уменьшить показатель частоты интерференции до 0,10% (0,02-0,19%). Не было выявлено статистически значимых различий по возрасту ($p < 0,23$) или полу ($p < 0,40$) при исследовании образцов от пациентов с выявленной интерференцией в ходе исследований ($n=210$) и образцов от остальных участников эксперимента - выбранной случайным образом (с отрицательной интерференцией) контрольной группой лиц ($n=186$). Интерференция в данном исследовании наблюдалась непостоянно: она обнаружена при исследовании образцов сывороток крови 15 из 25 пациентов с положительной интерференцией по результатам, а четыре или более образцов (из скринированных на наличие интерференции) показали отрицательные результаты либо до, либо после получения максимальных (пиковых) показателей интерференции.

В заключение авторы пришли к выводу, что эффективность ИХТ на основе мышиных моноклональных антител может повысить использование термически обработанного неспецифического мышиного иммуноглобулина в буфере или удаление Fc-фрагмента из захватывающего антитела [12].

Иммунохимические методы анализа нашли широкое применение практически во всех областях современной медицины, однако результаты лабораторных исследований, проводимых при помощи ИХТ, подвержены влиянию различных биологических интерферирующих факторов, например, аутоантител, содержащихся в крови некоторых пациентов. В публикуемой научной литературе информация о случаях такого рода интерференций приводится в основном после внедрения нового разработанного метода и созданного на его основе диагностикума.

Авторы из Великобритании (Ismail A.A. et al., 2002) провели проспективное обсервационное (наблюдательное) исследование, в котором проанализировали результаты рутинных лабораторных исследований образцов сыворотки крови 5310 пациентов, выполненных при помощи ИФА тест-систем для определения уровня тирео-

тропного гормона (ТТГ) и/или хорионического гонадотропина (ХГЧ) [13].

С целью проверки достоверности результатов лабораторного анализа при несоответствии клинической картины заболевания и лабораторных показателей авторы провели оценку всех клинических данных и результатов исследований на ТТГ и ХГЧ. Все образцы с предполагаемым недостоверным результатом были дополнительно исследованы на наличие интерференции в иммуноанализе при помощи трех методов скрининга.

В ходе оценки клинических данных и результатов исследования 5310 образцов сыворотки крови в 59 случаях обнаружены несоответствия, в связи с чем эти образцы были исследованы дополнительно. В 28 случаях (0,53% от общего числа исследованных) обнаружены ошибочные результаты. Степень выраженности интерференции была разной, но в 23 из 28 случаев (82%) она, по мнению исследователей, оказалась довольно высокой, что потенциально могло привести к увеличению стоимости диагностического обследования пациентов и/или лекарственной терапии.

Поскольку тестирование на ТТГ/ХГЧ проводится преимущественно в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений (ЛПУ), авторы настоящего исследования пришли к выводу, что ложные лабораторные результаты, полученные из-за негативного влияния интерферирующих факторов, могут привести к серьезным последствиям для пациентов и ошибочным рекомендациям со стороны врачей. Полезным может оказаться как можно более раннее выявление влияния интерференции в случаях с необычными результатами анализов [13].

В 2011 г. норвежские специалисты (Bolstad N. et al.) провели скрининговое исследование с целью выявления интерференций в группе коммерчески доступных тест-систем с использованием образцов двух сывороток крови с заведомо известным высоким содержанием ГА с Fc-реактивными фрагментами [14].

Предназначенные для исследования образцы сывороток крови были разосланы в лаборатории, участвующие в программе по внешней оценке качества клинических лабораторных исследований в Северной Европе (EQA Nord). Также были предоставлены дубликаты образцов сывороток крови, подвергшихся предварительной обработке мышиными агрегированными моноклональными антителами МАК33 блокирующими ГА. Расхождения ($> 50\%$) между результатами для нативных и заблокированных образцов были использованы для классификации тестируемых ИХТ на более подверженных влиянию интерференции. В общей сложности в исследовании было протестировано 170 различных наборов реагентов, используемых для определения 91 аналита.

По результатам проведенного исследования авторы обнаружили, что 21 тест-система, с охватом определения 19 различных аналитов, была подвержена влиянию ГА, присутствующих в образцах двух сывороток. Многие из этих тест-систем имеют большую ценность для клинической практики и коммерческого использования. В ряде случаев получены чрезмерно завышенные ложные результаты исследований, что могло привести к неверному клиническому решению при выборе тактики ведения пациентов.

В заключение, авторы подтвердили тот факт, что ГА с Fc-реактивными фрагментами остаются реальной проблемой в клинической лабораторной диагностике. Более широкое использование фрагментов антител и агрегированного иммуноглобулина потенциально может уменьшить интерферирующее влияние ГА и повысить эффективность ИХТ, предназначенных для клинико-лабораторных исследований [14].

Несмотря на то, что сегодня уже хорошо известно об интерферирующем влиянии ГА на результаты лабораторных исследований, иммунохимические методы для выявления интерферирующих антител не всегда надежны, и далеко не всегда получаемые результаты являются правдивыми.

Исследователи из Австралии (Grasko J. et al., 2013) впервые описали интерферирующее влияние ГА на результаты определения уровня адренокортикотропного гормона (АКТГ) у пациентки с синдромом Кушинга (СК), развившемся в результате двусторонней узелковой гиперплазии коры надпочечников [15].

Пациентка – 60-летняя женщина (по профессии медицинская сестра, на момент обследования – пенсионерка), которой были проведены процедуры с использованием сложных инвазивных методов исследования. Назначение этих исследований, в конечном счете, оказалось ненужным, поскольку они были назначены по результатам первоначального лабораторного анализа на АКТГ, не являющимся достоверными из-за интерференции, которая не могла быть устранена при добавлении запатентованного гетерофильного блокирующего реагента.

Авторы подчеркнули, что данный случай подтверждает сложность диагностики СК и требует большего внимания к лабораторным методам исследования. Последствия невыявления интерферентов, оказавших влияние на результаты лабораторных исследований у данной пациентки привели к назначению и проведению абсолютно ненужных и дорогостоящих исследований, чреватых потенциально неблагоприятными исходами.

Исследователи обращают особое внимание врачей - клиницистов и специалистов лабораторных служб на необходимость проявления бдительности и сопоставления результатов лабораторных исследований с клинической картиной заболевания. По мнению авторов, соблюдение данных рекомендаций имеет первостепенное значение, особенно в условиях возрастающей автоматизации клинических лабораторных исследований и все меньшего личного участия лаборантов в обработке исследуемых образцов [15].

Позднее авторы из Израиля (Saiegh L. et al., 2014) описали клинический случай у 36-летней пациентки с диагнозом "распространенная форма нейроэндокринной карциномы желудка и тяжелый эктопический СК". У нее при повторном лабораторном исследовании уровня АКТГ в плазме крови при помощи ИХТ неожиданно были получены неадекватные (не повышенные, а близкие к референтному диапазону) значения, по всей вероятности вследствие интерференции с антителами [16]. Такие результаты были получены у 36-летней пациентки. В связи с тем, что исследователи ожидали получить результаты, показывающие

повышенное содержание АКТГ в плазме крови, были проведены дополнительные исследования с использованием нескольких тестов для того, чтобы выяснить факт возможного влияния каких-либо интерферентов на результаты анализа, с чем могло быть связано получение необычных, ложнозаниженных результатов уровня АКТГ.

В ходе исследования авторы определяли уровень АКТГ с использованием другого (альтернативного) ИХТ, анализировали исследуемый образец в разведении и после инкубации с реагентом, блокирующим ГА, проводили исследования после удаления влияющего фактора. Проведенные испытания показали наличие интерферирующих веществ, вероятнее всего - ГА. В случаях обнаружения заниженных значений концентрации АКТГ (по сравнению с ожидаемыми), исследователи рекомендовали специалистам клинических лабораторий тщательно изучать интерферирующие вещества (и факторы), способные оказывать влияние на результаты лабораторных анализов [16].

Определение концентрации АКТГ в плазме крови является важным этапом для установления первопричины гиперкортизолеми у пациентов. Однако присутствие интерферирующих веществ в исследуемых образцах может привести к ошибочным результатам иммунологических анализов и неправильному выбору тактики клинического ведения пациентов в последующем.

Donegan D.M. et al. (2019) из США описали серию случаев у 12 пациентов, большинству из которых были проведены исследования в связи с предполагаемым диагнозом СК (гиперадренокортицизма), выявленные несоответствия между клинической картиной заболевания и результатами лабораторного тестирования у которых приводили к клиническим сомнениям и позволили заподозрить наличие интерференции в иммуноанализе [17]. Влияние интерференции при проведении исследований с использованием теста "Siemens Immulite" привело к получению ложнозавышенных показателей уровня АКТГ в плазме крови, а, следовательно, и к дополнительным ненужным исследованиям. Взаимодействие между врачами-клиницистами и специалистами лаборатории, а также использование ряда процедур лабораторного исследования (включая разведение образца, использование реагентов, блокирующих антитела и тестирование на альтернативной платформе) позволило авторам идентифицировать интерференцию в иммуноанализе.

По результатам расследования авторы пришли к выводу, что распознавание лабораторных результатов несоответствующих клинической картине заболевания остается важным этапом обследования пациентов и сформулировали основные положения, заключающиеся в следующем:

- Определение уровня АКТГ в крови является важным этапом в оценке гипоталамо-гипофизарно - надпочечниковой оси;
- Иммунохимический анализ на АКТГ может быть подвержен влиянию интерферирующих веществ;
- При выявлении несоответствий между клинической картиной заболевания и результатами лабораторных исследований у пациента следует учитывать влияние интерференции на результаты анализа;
- Взаимодействие между врачом-клиницистом и специалистами лаборатории позволяет существенно облег-

чить проведение соответствующих исследований для оценки влияния интерферирующих веществ [17].

В работе Gulbahar O. et al. (2015, Турция) описан случай ошибочных результатов ИХТ под воздействием интерференции ГА при проведении сразу нескольких исследований на гормоны. У 33 летней пациентки при отсутствии специфических клинических симптомов какой-либо патологии был зарегистрирован повышенный уровень ТТГ в крови при нормальных значениях свободного тироксина (Т4св) и свободного трийодтиронина (Т3св). При проведении повторных измерений и дополнительных исследований обнаружены аномально высокие уровни ТТГ, АКТГ, фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), паратиреоидного гормона (ПТГ), инсулиноподобного фактора

роста 1 (ИФР-1), бета-хорионического гонадотропина человека (бета-ХГЧ), пролактина и кальцитонина без клинической картины соответствующих патологий. Для принятия решения о валидации полученных результатов авторы провели повторные исследования того же образца сыворотки крови пациентки при помощи ИХТ на основе иммунохемилюминесцентного (ИХЛА)/электрохемилюминесцентного (ЭХЛА) анализов на четырех различных аналитических платформах; были получены несовпадающие результаты (табл. 2) [18]. При помощи метода серийных последовательных разведений образцов сыворотки крови выявлена нелинейность результатов (отсутствие воспроизводимости при разведении образца, результат нелинеен после серии разведений), что указывало на наличие интерференции в анализах.

Таблица 2

Результаты определения уровня гормонов на различных аналитических платформах^{*)} [18]

Определяемый аналит	Иммунохимические тест-системы, производитель			
	Architect c8000, Abbott (ИХЛА)	Advia Centaur XP, Siemens (ИХЛА)	Dxl, Beckman Coulter (ИХЛА)	Cobas, Roche Diagnostics (ЭХЛА)
Пролактин, нг/мл	246 (5,2-26,5)	2,3 (2,8-29,2)	105 (3,3-26,7)	32,1 (4,8-23,3)
ТТГ, мкМЕ/мл	259 (0,35-4,94)	70 (0,35-5,50)	13,4 (0,34-5,60)	1,88 (0,27-4,20)
ФСГ, МЕ/л	>150 (3,03-8,08)	26 (1,5-33,4)	125 (1,79-22,51)	3,35 (3,5-12,5)
β-ХГЧ, мкМЕ/мл	2908 (0-5)	67 (0-5)	255 (<0,5)	0,1 (0-5)
иПТГ, пг/мл	566 (15-68,3)	180 (14-72)	44 (12-88)	43,8 (15-65)
АКТГ, пг/мл	>1500 (4,7-48,8)	17,2 (5-45)	—	19,8 (7,2-63,3)

^{*)} в скобках указан референсный интервал нормальных значений для каждой аналитической платформы

После использования реагентов, блокирующих ГА и последующего осаждения белков из сыворотки крови пациентки методом преципитации с полиэтиленгликолем (ПЭГ) все гормональные показатели нормализовались. С учетом обнаружения ГА в исследуемом образце, было проведено тестирование на присутствие РФ. Как и ожидалось, результат теста оказался положительным.

На основании ложнозавышенных результатов анализов пациентке ошибочно был поставлен диагноз гипотиреоза и назначена ненужная терапия, которая была отменена после обнаружения интерферирующих факторов. Пациентка, несмотря на отсутствие каких-либо признаков и симптомов заболеваний, находилась под наблюдением врача в течение 24 месяцев, никаких лекарственных препаратов не получала.

Настоящее исследование иллюстрирует редкий случай интерференции, вызванной присутствием ГА при проведении мультиплексного анализа для одновременного определения содержания нескольких гормонов в крови. По литературным данным описанная интерференция чаще выявляется при определении уровня одного гормона [18].

Лабораторные исследования по определению многих клинически значимых аналитов проводятся с использованием антительных диагностических тест-систем. Однако, в

зависимости от конструкции тест-систем, эти исследования подвержены интерференции со стороны эндогенных веществ, включая циркулирующие антитела и свободный биотин.

При проведении лабораторного исследования с использованием ИХТ авторы из США (Serei V.D. et al., 2019) обнаружили интерференцию со стороны ГА; полученные результаты анализа не соответствовали клинической картине заболевания [19].

Пациент (14-летний юноша) был направлен в отделение детской эндокринологии ЛПУ с подозрением на гипертиреоз, диагностированный на основании критически высокого уровня Т4св в сыворотке крови, однако клиническая картина не соответствовала диагнозу гипертиреоза. Поскольку результаты повторного лабораторного тестирования отличались от первоначальных, врачи-эндокринологи усомнились в достоверности результатов, и это побудило их проконсультироваться со специалистами лабораторной службы для изучения причин противоречивых результатов. Анализ причин различающихся результатов показал, что уровни Т4св, измеренные при помощи тест-систем производства "Roche", оказались критически высокими, в то время как результаты исследований на тест-системах других производителей (например, "Siemens Centaur"), использующих альтернативные платформы, находились в пределах нормы.

После проведения комплексной оценки, которая включала тестирование парных образцов сывороток на различных платформах, исследование серийно разведенных образцов и выявление в исследуемом образце ГА, было установлено, что наиболее вероятной причиной аномальных результатов анализа у данного пациента явилась интерференция, вызванная ГА [19].

Интерференция в ИФА за счет образования иммунных комплексов измеряемого аналита и антител является известной причиной неправильной интерпретации результатов лабораторных исследований на гормоны. Несмотря на то, что этот комплекс связанных с белком гормонов является биологически неактивным, гормоны могут определяться при помощи ИФА. Биологическая активность присутствует только свободному не связанному с белком, гормону. Например, большая часть циркулирующего в крови ТЗ связана с белками плазмы, в частности с тироксинсвязывающим глобулином, тироксин-связывающим преальбумином и альбумином. Оставшаяся доля (менее 1%) ТЗ является биологически активной (свободной) фракцией.

Аналогичный механизм наблюдается при образовании других белковых комплексов, таких как "макропролактин" - высокомолекулярный комплекс гормона пролактина и IgG; частота его выявления составляет от 9 до 42% среди пациентов с гиперпролактинемией (Yuen Y.P. et al., 2013), и "макро-ТТГ" - комплекс ТТГ с IgG большого молекулярного размера [20]. По данным Mills F. et al. (2013) при определении концентрации ТТГ встречаемость макро-ТТГ составляет 0,6%.

Сообщается также о негативном влиянии ГА на результаты ИХТ для определения уровня онкомаркеров, приводящем к ложноположительным результатам (ЛПР) лабораторных анализов. Поскольку концентрация онкомаркеров в крови онкологических больных имеет частичное значение в решении вопроса о методах воздействия на опухоль, негативными последствиями интерференции ГА в иммуноанализе могут быть нецелесообразное назначение химиотерапии или ошибочное определение показаний для оперативного лечения.

Коллективом американских исследователей (Gallagher D.J. et al., 2010) на клиническом примере был продемонстрирован случай ошибочной диагностики заболевания из-за ложнозавышенных результатов определения уровня ХГЧ в сыворотке крови пациента с тестикулярным раком, обусловленных интерференцией в иммуноанализе [21].

По данным исследователей, пациент (44-летний ВИЧ-положительный мужчина) перенес радикальную левостороннюю орхиэктомию по поводу несеминомной герминогенной опухоли яичка (НГОЯ) 1-ой стадии (T1). После операции у пациента постоянно регистрировался повышенный уровень ХГЧ в сыворотке крови, что привело к тому, что пациенту был поставлен диагноз диссеминированной НГОЯ (T1) с низким риском развития рецидива. Пациенту было проведено четыре цикла химиотерапии эпозидом в комбинации с цисплатином, но уровень ХГЧ не вернулся к норме после окончания лечения. При исследовании с использованием компьютерной томографии (КТ), проведенной после химиотерапии, признаков метастазирования не выявлено. При обследовании пациента

были проведены следующие лабораторные и инструментальные исследования: определение в сыворотке крови концентрации трех опухолевых маркеров: альфа-фетопротеина (АФП), ХГЧ и лактатдегидрогеназы (ЛДГ), анализ крови на содержание ФСГ и лютеинизирующего (ЛГ) гормонов (для оценки функции половых желез), определение РНК ВИЧ-1 методом ОТ-ПЦР, общий анализ мочи (для оценки функции почек), а также УЗИ мошонки, КТ органов грудной клетки, органов брюшной полости и малого таза.

В ходе лабораторных исследований был зарегистрирован ложнозавышенный уровень ХГЧ в сыворотке крови, который, как было установлено, был вызван присутствием ГА в крови пациента.

После курса химиотерапии проведено повторное исследование образцов сыворотки крови пациента с использованием реагента, блокирующего ГА, по результатам которого повышение уровня ХГЧ не зарегистрировано. Консервативная терапия не потребовалась, у пациента отмечена полная ремиссия [21].

Группой американских авторов (Jara-Aguirre J.C. et al., 2019) был проведен ретроспективный анализ для оценки частоты интерференции ГА в иммуноанализах, выполненных по назначению лечащих врачей, а также оценка эффективности коммерчески доступных реагентов блокирующих ГА в исследованиях с использованием двух разных ИХТ. В ходе работы были рассмотрены результаты 13 анализов на ХГЧ, выполненных за период с 2008 по 2017 гг. Основные исследования были проведены при помощи тест-систем для определения уровня общего ХГЧ и свободной β -ХГЧ - тест-системы "Access Total β hCG" производства "Beckman Coulter" (2008-2010 гг.) и тест-системы "Elecsys HCG+ β " производства компании "Roche". Исследования на присутствие ГА проводили до и после обработки биологических образцов гетерофильными блокирующими реагентами и с использованием метода серийных разведений [22].

По результатам исследования было выявлено пять случаев интерференции, связанной с присутствием ГА и других эндогенных веществ (ГА-подобных). Частота интерференции составила 6,7% в тест-системе производства "Beckman Coulter" и 2,9% в тест-системе "Roche". В 3-х случаях присутствие ГА было обнаружено в исследованиях с использованием гетерофильных блокирующих реагентов и альтернативного теста. В 2-х других случаях интерференция была обнаружена из-за противоречивых результатов в альтернативном тесте и при использовании нелинейных серийных разведений образцов (ГА-подобные интерференции).

В заключение авторы отметили, что интерференция ГА наблюдалась в тест-системах производства "Beckman Coulter" и "Roche". Использование реагентов, блокирующих ГА, позволило уменьшить интерференцию в 40% случаев. Для такого рода исследований недопустимо использование только блокирующих реагентов. Необходимо применять несколько стратегий, включающих также использование метода серийных разведений образцов и дополнительное исследование на альтернативной аналитической платформе, что имеет большое значение для устранения интерференции в ИХТ для определения уровня ХГЧ [22].

2. Ревматоидный фактор

Ревматоидный фактор (РФ)— это группа аутоантител, относящихся к иммуноглобулинам класса М (IgM), реже IgA и IgG, реагирующих с Fc-фрагментом собственных IgG с образованием иммунных комплексов; активирует систему комплемента и фиксируется в тканях. Наибольшее значение в клинической практике имеет определение IgM РФ. Присутствие в сыворотке крови IgM РФ является диагностическим критерием ревматоидного артрита (РА) - хронического системного аутоиммунного заболевания.

IgM РФ обнаруживается в сыворотке крови 75-80% пациентов с РА на разных стадиях заболевания и 5% людей в общей популяции. IgM РФ в высокой концентрации является полезным маркером для прогнозирования быстро прогрессирующего деструктивного поражения суставов и системных проявлений при РА. Вместе с тем IgM РФ является чувствительным, но недостаточно специфичным маркером РА, так как обнаруживается и при других ревматических заболеваниях (РЗ), аутоиммунных и хронических инфекционных заболеваниях, злокачественных новообразованиях, а также у лиц старшего возраста.

Стандартными методами определения IgM РФ служат реакция агглютинации сенсibilизированных IgG частиц латекса (латекс-тест) или эритроцитов барана (реакция Ваалера-Розе), иммунонефелометрия и ИФА. В качестве скринингового теста может использоваться полуколичественный иммунохроматографический экспресс-метод измерения IgM РФ в цельной крови с помощью сухих тест-полосок. Рекомендуются количественные методы измерения IgM РФ в международных единицах (МЕ/мл) в сыворотке крови (иммунонефелометрия, ИФА) [23].

Примером ГА, воздействующих на результаты иммуноанализа, может служить РФ, который связывается с Fc-участком иммуноглобулинов и вызывает стерическое несоответствие участков связывания, тем самым препятствуя присоединению антител [11, 24].

Сообщается, что в тестах на основе методов турбидиметрии или латексной агглютинации, предназначенных для выявления иммуноглобулинов РФ, могут определяться ложнозавышенные значения. РФ может быть причиной интерференции при проведении исследований в одно/двухстадийных ИХТ (ИФА или ИХЛА), например, взаимодействуя с Fc-фрагментами других иммуноглобулинов и вызывая агрегацию антител, приводить к ложнозавышенным/ложнозаниженным результатам анализов [3]. Несмотря на то, что вероятность подобного влияния на результаты анализов невысока - до 4% в сыворотке крови здоровых людей (Newkirk M.M., 2002), РФ-интерференция является важной проблемой при определении ряда анализов.

В ряде работ (Bartels E.M. et al., 2011; Olsson P. et al., 2016) сообщается об интерференции РФ при измерении концентрации цитокинов в образцах биоматериала от пациентов с РА.

Так, специалисты из Германии (Bartels E.M. et al., 2011) оценивали влияние РФ, присутствующего в крови и синовиальной жидкости, на показатели содержания цитокинов в образцах крови больных РА и осуществляли поиск возможных решений для устранения выявленных проблем. Исследователи обратили внимание на то, что на совре-

менном этапе использование цитокинов в качестве биомаркеров данного заболевания становится все более распространенным. Определение уровня цитокинов в различных биологических средах обычно проводят при помощи ряда ИХТ, основанных на применении поликлональных, а в настоящее время главным образом моноклональных антител, специфически взаимодействующих с молекулами цитокинов. Однако при проведении исследований с использованием таких ИХТ возможна интерференция, обусловленная присутствием ГА в исследуемых образцах. Авторы подчеркнули, что интерференция в иммуноанализе является одной из актуальных проблем клинической лабораторной диагностики. При РА интерференция, вызванная присутствием в крови РФ, может приводить к получению ошибочных результатов лабораторного анализа и неправильной их интерпретации, а в конечном итоге - к неблагоприятным последствиям для пациента. По данным авторов РФ присутствует в крови 65-80% больных РА [24].

В данном исследовании цитокины IL-1 β , IL-4, IL-6 и IL-8 определяли при помощи мультиплексного иммуноанализа (МИА) в образцах плазмы крови пациентов с РА до и после осаждения ПЭГ 6000. По результатам исследования авторы пришли к заключению, что присутствие РФ в образцах биоматериала действительно вызывает интерференцию в МИА. Осаждение ПЭГ 6000 устраняет интерференцию в иммуноанализе, вызванную присутствием РФ в образцах. Исследователи рекомендовали использовать реакцию преципитации с ПЭГ при проведении всех иммунохимических исследований образцов плазмы крови от пациентов с РА [24].

В ряде работ зарубежных авторов было также продемонстрировано влияние РФ на результаты ИХТ для определения уровня кардиомаркеров в крови, таких, как тропонин I и мозговой натрийуретический пептид (МРП) или натрийуретический пептид типа В (BNP) (Odish M. et al., 2018; Xu L. et al., 2019). В случае вмешательства РФ результаты тестирования на тропонин I могут регистрироваться ложнозавышенные результаты (Odish M. et al., 2018). Вместе с тем, при определении МРП с использованием ИХЛА-теста, чаще наблюдаются ложнозаниженные результаты. Многие исследователи рекомендуют до начала терапии обязательно проводить исследования с предварительной обработкой образцов блокирующими реагентами (Fan W. et al., 2014).

Значительное влияние РФ-интерференция оказывает и на результаты определения содержания гормонов и онкомаркеров в крови. Так, например, сообщается, что влияние интерференции из-за присутствия РФ в крови пациентов приводит к ложнозавышенным показателям уровня гормонов в исследованиях с использованием ИФА тест-систем или МИА.

Коллектив авторов из Великобритании и Малайзии (Mongolu S. et al., 2016) представил случай наблюдения 60-летнего пациента с РА в анамнезе, который был направлен в эндокринологическую клинику для обследования по поводу предполагаемого гипогонадизма [25]. По результатам лабораторных исследований у него были обнаружены высокие уровни ЛГ, ФСГ, глобулина, связывающего половые гормоны (ГСПГ), пролактина, ХГЧ и ТТГ в крови.

Авторы заподозрили интерференцию в иммунологических анализах, и провели дополнительные исследования. Для устранения эффекта интерференции использовали специальные пробирки с блокирующими реагентами и реакцию преципитации с ПЭГ; после проведения курса медикаментозной терапии показатели гормонов в крови пациента достигли референтных значений. Исследователи предположили, что интерферирующее влияние было вызвано высоким содержанием РФ в крови. Несмотря на то, что пациент в течение 3 лет получал заместительную терапию L-тироксина, авторы предположили что, вероятно лечение пациента было неадекватным, поскольку, несмотря на высокий уровень ТТГ из-за интерференции в анализе, уровень Т4св всегда был в пределах нормы.

Данный случай иллюстрирует феномен интерференции, вызванной присутствием в плазме крови пациента ГА, вероятнее всего, высоким уровнем РФ. Врачам-клиницистам и эндокринологам необходимо знать о потенциальном влиянии интерференции на результаты анализов, это поможет им принимать правильные решения при назначении лекарственной терапии пациентам из таких групп [25].

Сообщается о влиянии подобной интерференции на результаты определения тиреоглобулина (ТГ) (Astarita G. et al., 2015; Lupoli G.A. et al., 2019). Зафиксированы единичные случаи ложного результата анализа на АКТГ под воздействием РФ (Yener S. et al., 2017). Также обнаружено влияние РФ-интерференции при проведении анализа на АФП (Wang H. et al., 2016; Zhu X. et al., 2013).

Wang H. et al. (2016) показали, что при проведении исследований методом ИХЛА, присутствие в крови РФ может привести к завышению результатов определения концентрации маркера в исследуемом образце до 9,8% (Wang H. et al., 2016).

Наряду с этим, было показано, что ИХТ на различных аналитических платформах в разной степени подвержены влиянию интерференции РФ.

Так, исследователи из Бельгии (Berth M. et al., 2006) описали случай из практики, в котором продемонстрировано влияние РФ интерференции на результаты иммуноанализа при определении углеводного антигена 19-9 (онкомаркера СА 19-9) [26].

При обследовании 61-летнего мужчины европеоидной расы, предъявлявшего жалобы на быструю утомляемость и потерю веса, было обнаружено повышенное содержание СА 19-9 в крови (80 кЕд/л) по результатам лабораторного анализа, выполненного с использованием автоматического иммунохимического анализатора "ADVIA Centaur". Результаты исследования образца сыворотки крови на СА 19-9 в анализаторах "Vidas", "AxSYM" и "Architect i2000" были в пределах нормальных значений. Однако концентрация РФ в крови оказалась очень высокой (900 кМЕ/л), что позволило заподозрить интерференцию в иммуноанализе.

В ходе анализа, наряду с использованием ряда лабораторных процедур для выявления причин интерференции, авторы предприняли попытку оценить частоту предполагаемых помех. Поэтому было проведено два исследования. Первое многоцентровое исследование проводили с использованием 4-х различных тест-систем для определения уровня СА 19-9 в 51 образце сыворотки крови случайной выборки с высоким содержанием РФ и в 10 образцах с очень низким содержанием РФ, либо не содержащих РФ.

Во втором - при проведении рутинного исследования 68 образцов (с концентрацией СА 19-9 в диапазоне от 37 до 250 кЕд/л) на анализаторе "ADVIA Centaur" авторы использовали пробирки с реагентами блокирующими гетерофильные антитела.

В многоцентровом исследовании было получено 8 противоречивых результатов анализов на СА 19-9, но только в одном случае обнаружено явное влияние интерференции. Авторы установили, что интерференция была вызвана присутствием РФ в крови. В остальных случаях исследователям не удалось объяснить расхождение полученных результатов, но они предположили, что оно могло быть связано с различиями в конструкции диагностикомов, зависящими от применяемого метода исследования. В рутинном исследовании 68 образцов с использованием гетерофильных блокирующих реагентов эффекта интерференции не обнаружено.

Несмотря на то, что интерференция в иммуноанализе на онкомаркер СА 19-9 встречается довольно редко, авторы предположили, что аналитическая система "ADVIA Centaur", по-видимому, более чувствительна к интерферирующему влиянию РФ. Важной проблемой для данного вида анализа остается отсутствие соответствующих стандартов в части измерения в крови уровня таких онкомаркеров, как СА 19-9. При динамическом наблюдении за состоянием здоровья пациентов авторами было рекомендовано проводить лабораторное определение уровня СА 19-9 при помощи одного и того же метода. В случае возникновения у врачей-клиницистов каких-либо сомнений относительно правильности результатов анализа - уровень СА 19-9 определять при помощи альтернативных диагностических тест-систем, основанных на других методах исследования, для исключения возможного влияния интерференции [26].

Интерференция в иммуноанализе на сердечные тропонины

Сообщается о влиянии ряда интерферирующих факторов на результаты определения уровня сердечных (кардиальных) тропонинов в крови с использованием ИХТ. Отмечено, что чаще регистрируются ЛПР. Возможность получения ЛПР отражена в термине "99-й перцентиль", согласно которому у 1 человека из 100 (1%) будет недостоверно завышенный результат. Самыми частыми причинами ложновысоких концентраций тропонинов при проведении лабораторных исследований являются ГА и аутоантитела, в частности РФ, иммунные комплексы, перекрестные реакции с тропонинами скелетных мышц фибриновые сгустки и микрочастицы, интерференции эндогенными веществами (щелочная фосфатаза, биотин, гемолиз, липемия, иктеричность), а также нарушение работы анализатора (механические поломки и ошибки калибровки, использование реагентов с истекшим сроком годности и др.) (Беневоленский Д.С., 2011; Korff S. et al., 2006) [27].

Ряд исследований зарубежных авторов посвящены описанию влияния ГА на концентрацию кардиальных тропонинов. Так G. Lippi et al. (2013) провели систематический обзор литературы за 1998-2012 гг., который включил 16 оригинальных исследований и клинических случаев, отметивших ложноположительное влияние ГА на концентра-

цию кардиальных тропонинов. Согласно полученным литературным данным, частота ЛПР составляет 0,1-3,1% в общей популяции, однако она может быть значительно повышена (до 50%) у конкретной категории пациентов. ГА могут оказывать влияние как на тропонин I, так и на тропонин T любой тест-системы. Данный тип помех практически непредсказуем, например его нельзя обнаружить при визуальном осмотре образца, в отличие от гемолиза, фибриновых сгустков и липемии. ЛПР из-за влияния ГА могут заподозрить только клиницисты, так как именно они получают сведения обо всех результатах медицинского обследования и анализов у данного пациента. Однако даже в случае явного несоответствия результата тропонина T или I клинико-инструментальным данным и/или результатам определения других кардиомаркеров (креатинкиназа-MB, иной тип/метод определения тропонина и др.), для окончательного подтверждения требуется время и затрачиваются дополнительные ресурсы. Авторы подчеркивают, что при явном ложнозавышенном результате в лаборатории следует провести серийные разведения данного образца и, в случае получения нелинейных (некоррелирующих) результатов, а также, если результат предположительно ложного анализа сильно снижается при добавлении блокирующих реагентов, делают заключение об интерференции ГА [28].

В исследовании Zaidi A. и Cowell R. (2010) сообщается о ложноположительном повышении тропонина I у 53-летней женщины. Пациентка в течение года трижды поступала в стационар с загрудинными болями, однако ишемические изменения на ЭКГ отсутствовали, а ангиография показала интактные коронарные сосуды. Тем не менее, концентрация тропонина I при поступлении была 0,37 нг/мл, т.е. в 5 раз выше референсного значения (0-0,069). Образец крови пациентки, отправленный в другую лабораторию для определения другого типа тропонина (тропонин T), продемонстрировал нормальные результаты. Дальнейшее расследование показало наличие интерференции ГА при измерении концентрации тропонина I.

В исследовании Lahat Y. et al. (2009) события развивались примерно по тому же сценарию. Мужчину 58 лет неоднократно госпитализировали из-за повышенного уровня тропонина I, несмотря на отсутствие ишемических изменений на ЭКГ и коронарографии. При использовании другого коммерческого набора на тропонин I, а также при измерении тропонина T результаты ожидаемо оказались отрицательными, на основании чего и был сделан вывод об интерферирующем влиянии ГА.

Стратегии борьбы с ГА включают: 1) тестирование образца на другом анализаторе и/или определение другого кардиомаркера при сомнительных результатах; 2) серийное разведение образца и добавление гетерофильных блокирующих реагентов или пула сывороток крови животных в образец; 3) использование пробирок с блокирующим реагентом (Lum G. et al., 2006) [27].

Интерес также представляют результаты исследований интерферирующего влияния РФ на уровень кардиальных тропонинов.

В многоцентровом исследовании (Marks V., 2002) по оценке интерферирующего влияния РФ приняли участие 10 доноров. Их образцы сыворотки крови были разосланы

в 66 клинических лабораторий, в которых в общей сложности исследовали 74 различных показателя (гормоны, витамины, онкомаркеры, кардиомаркеры и др.). Из 3445 результатов приблизительно 8,7% были признаны ЛПР, причем многие из них приводили к клинически значимому завышению. Примерно половина ЛПР не корректировалась путем добавления реагента блокирующего ГА.

В другом исследовании на кардиальные тропонины, проведенном (Dasgupta A. et al., 1999) были протестированы 12 образцов сыворотки крови от лиц без признаков инфаркта миокарда, с положительным РФ. Образцы сыворотки крови 7 из 12 пациентов, содержащих РФ, имели измеримые концентрации тропонина I, при этом у 4 пациентов уровни тропонина I были >2,0 нг/мл. В то же время тропонин T, измеряемый по другой методике, не выявил ни одного случая ложного повышения. После добавления поликлональной антисыворотки против РФ ЛПР тропонина I нивелировались. Авторы обращают внимание на то, что результаты повышенных концентраций тропонинов у серопозитивных пациентов с РА следует интерпретировать с осторожностью [27].

Kenny P.R. et al. (2005) не обнаружили повышенного уровня тропонина I у пациентов с РА ($n=60$, диапазон концентраций РФ составил 15 - 2724 МЕ/мл при использовании 2 коммерческих ИХТ (Abbott AxSYM, Bayer ADVIA Centaur). Al-Awadhi A.M. et al. (2007) измеряли уровень тропонина I при помощи тест-системы Beckman Access у пациентов с аутоиммунными заболеваниями: серопозитивный РА ($n=50$), серонегативный РА ($n=50$), системная красная волчанка ($n=50$), первичный синдром Шегрена ($n=20$), болезнь Грейвса ($n=15$). Из 50 пациентов с серопозитивным РА у 5 субъектов концентрация тропонина I была выше диагностического значения для инфаркта миокарда, в то же время ни у одного пациента с серонегативным РА и остальными аутоиммунными заболеваниями значения тропонина I не выходили за пределы референсных границ. Авторы отметили, что при однофакторном регрессионном анализе концентрации тропонина I и РФ у пациентов с серопозитивным РА были положительно связаны ($r=0,35$; $p<0,02$). Предполагается, что аутоантитела к тропониновым белкам также могут приводить к занижению уровней тропонина (ЛОР). Титр аутоантител к тропонинам заметно возрастает при миокардитах, в свою очередь это снижает чувствительность тропонинов в диагностике миокардита (Matsumori A. et al., 2011).

Таким образом, РФ может оказывать разное влияние на показатели тропонинов, и частота таких случаев тоже весьма переменчива в зависимости от ИХТ и оборудования. Поскольку ряд исследований проводили на небольших выборках пациентов (что также может играть роль), необходимы более крупные популяционные исследования интерферирующих факторов для каждой конкретной используемой тест-системы [27].

Интерференция в иммуноанализе на инфекционные маркеры

Описаны также случаи интерференций ГА и РФ при использовании ИХТ для лабораторной диагностики некоторых инфекционных заболеваний.

Так, специалисты из Китая (Xu L. et al., 2013) опубликовали данные исследования по изучению влияния РФ на ре-

зультаты определения поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) в сыворотке крови при помощи ИФА. Авторы отметили, что широко распространенным является мнение о том, что присутствие РФ в исследуемых образцах может привести к ЛПР серологических исследований в ИФА. Недавнее оригинальное исследование авторов данной работы показало, что РФ в высоких концентрациях вызывает как отрицательную, так и положительную интерференцию при определении HBsAg в сыворотке крови методом ИФА. Однако не было понятно, является ли влияние РФ, вызывающее отрицательную интерференцию, аномалией, выявленной при использовании одной конкретной ИФА тест-системы или общим свойством большинства ИФА тест-систем для детекции HBsAg.

В ходе эксперимента HBsAg-позитивные сыворотки и сыворотки, содержащие РФ в высоких или средних концентрациях, смешивали в соотношении 1:9, затем проводили исследования с использованием тест-систем на основе одно- и двухстадийных ИФА для детекции HBsAg в пулах этих сывороток.

При исследовании с использованием одностадийного ИФА значения коэффициента позитивности (КП, S/CO) для HBsAg в пулах сывороток оказались значительно ниже его исходных значений. Бивариантный корреляционный анализ тестирования показал, что темпы снижения значений КП для HBsAg не были связаны с концентрацией РФ в сыворотке крови в диапазоне от 288 до 3560 МЕ/мл. Отрицательные результаты тестирования HBsAg - антиген не обнаружен в 69,80% пулов сывороток с исходным значением КП от 1,00 до 10,00 и в 2,68% пулов сывороток с более высоким исходным значением КП. Влияние РФ, приводящее к снижению КП для HBsAg, было более выражено при исследовании в одностадийном ИФА, чем в двухстадийном ИФА. По результатам исследования авторы пришли к выводу, что все ИФА тест-системы для детекции HBsAg чувствительны к интерференции со стороны РФ, что приводит к заниженным, а в некоторых случаях ЛОР. Также замечено, что чем ниже исходное значение КП для HBsAg, тем очевиднее получение ЛОР [27].

Интересными, на наш взгляд, являются и результаты коллективной работы исследователей из Бразилии (Cunha B. et al., 2015), проанализировавших имеющиеся данные о влиянии интерферирующих факторов на диагностику и лечение РА у ВИЧ-инфицированных пациентов. Проанализировав собранную информацию, авторы пришли к выводу, что наличие РФ у пациентов с РА может быть причиной ЛПР тестов на ВИЧ.

Впервые СПИД был признан как самостоятельное заболевание в США в 1981 году, и с тех пор эпидемия ВИЧ/СПИДа распространилась повсеместно. Взаимное влияние ВИЧ-инфекции и оппортунистических (вторичных) инфекций друг на друга хорошо охарактеризовано. Вместе с тем авторы подчеркнули необходимость проведения дальнейших исследований по изучению взаимного влияния ВИЧ-инфекции и других хронических заболеваний. Цель данной работы состояла в выявлении возможных интерферирующих факторов, оказывающих влияние на диагностику и лечение РА у ВИЧ-инфицированных пациентов. Авторы провели анализ имеющихся доказательств с использованием подхода GRADE (Системы классификации, оценки, разра-

ботки и экспертизы рекомендаций), т.е. метода оценки качества доказательств или оценки достоверности результатов, и сформулировали положения для включения в клинические рекомендации. В целом, по мнению исследователей, качество доказательств было низким. Основные выводы авторов заключались в следующем:

- 1) РА у пациентов с ВИЧ/СПИДом возникает довольно редко; в связи с чем нет необходимости регулярно проводить дифференциальный диагноз между ВИЧ-инфекцией и этим заболеванием;
- 2) ВИЧ-инфекция может приводить к положительным результатам анализа на РФ и на антитела к циклическому цитруллиновому пептиду (анти-ЦЦП), но обычно в низком титре;
- 3) РА может приводить к ЛПР серологических тестов на ВИЧ, а ИФА, по всей вероятности, является наиболее специфичным методом для диагностики ВИЧ у пациентов с РА;
- 4) РА и СПИД могут сосуществовать вместе даже у пациентов с тяжелой иммуносупрессией;
- 5) В редких случаях РА может развиться во время или после восстановления иммунитета;
- 6) недостаточно данных о безопасности конкретных модифицирующих заболевание противоревматических препаратов (DMARD) для использования у пациентов с РА и ВИЧ/СПИДом. Поэтому указанные препараты следует применять с осторожностью [28].

В исследовании Lavoie S. et al. (2018, Канада) при тестировании ВИЧ-негативных образцов сыворотки крови были обнаружены ЛПР в тестах 4-го поколения для детекции антител/антигена ВИЧ или в "комбинированных" тестах, предназначенных для детекции как антител к ВИЧ-1/ВИЧ-2, так и антигена р24 ВИЧ-1. Авторы данной работы предприняли попытку охарактеризовать данные образцы и определить присутствие ГА, способных вызывать интерференцию [29].

Образцы, ранее интерпретированные как ЛПР, повторно исследовали в комбинированном тесте "ARCHITECT HIV Ag/Ab" (производства "Abbott") и в тесте "ADVIA Centaur HIV Ag/Ab" производства "Siemens". Кроме того, все исследуемые образцы предварительно обрабатывали гетерофильными блокирующими реагентами и повторно тестировали в ИХТ компании "Abbott".

Исследование показало, что 95% (252/264) клинических образцов, неоднократно позитивных в комбинированном тесте "ARCHITECT HIV Ag/Ab", "Abbott" (значения КП находились в диапазоне 0,94-678), при повторном тестировании, выполненном при помощи другого комбинированного теста 4-го поколения ("ADVIA Centaur HIV Ag/Ab", Siemens), продемонстрировали отрицательный результат. Впоследствии все 264 образца были подтверждены как ВИЧ-негативные. Небольшая выборка (57) образцов достаточного объема (аликвоты образцов) была подвергнута предварительной обработке с использованием двух различных реагентов - гетерофильным блокирующим реагентом - Heterophilic Blocking Tube (HBT); и неспецифическим блокирующим реагентом - Non-Specific Blocking Tube (NABT). Обработка образцов указанными реагентами, предназначенными для блокирования интерференции ГА, привела либо устранению (HBT), либо к сведению к минимуму (NABT) числа ложных результатов при повторном тестировании в комбинированном тесте "ARCHITECT HIV Ag/Ab".

Полученные результаты продемонстрировали, что комбинированный тест "ARCHITECT HIV Ag/Ab" (Abbott) может быть подвержен влиянию ГА [29].

В 2018 г. китайские исследователи Pan J. et al. опубликовали результаты своей работы по оценке потенциальной интерференции, вызванной влиянием РФ на результаты иммуноанализа на IgM к вирусу простого герпеса 1 и 2 типов (ВПГ-1/2) у беременных.

Тест-системы для определения IgM к ВПГ-1/2 являются важными инструментом для диагностики герпесвирусной инфекции у беременных женщин и их новорождённых детей. Однако было неясно, оказывают ли влияние высокие концентрации РФ в крови на результаты серологических тест-систем, используемых для тестирования на наличие типоспецифических IgM к ВПГ-1/2.

Авторы данной работы описали случай ЛПР анализа, выполненного с использованием ИФА тест-системы на IgM к ВПГ-1/2, обусловленного влиянием высокой концентрации РФ в крови [30]. Этот результат был получен при обследовании 25-летней китайки, которая находилась на 28 неделе беременности (пол плода неизвестен).

С целью выявления аутоиммунного заболевания было проведено скрининговое исследование на наличие антинуклеарных антител (ANA) и использованы сорбенты для удаления РФ из сыворотки крови.

В результате тестирования обнаружены 3 разновидности антител к ядерным антигенам (SSA, Ro-52 и SSB); остальные - не выявлены (результаты отрицательные). Кроме того, определен более высокий уровень РФ, чем при скрининге на ANA. Исследователи отметили явное снижение уровня IgM к ВПГ-1/2 после удаления РФ (подавления интерференции РФ).

По результатам данного исследования авторы пришли к выводу, что наличие высоких концентраций РФ в крови может быть причиной ЛПР анализа на ВПГ-1/2, проведенного с использованием ИФА тест-системы [30].

Описан случай интерференции РФ при использовании тест-систем на основе ИХА при детекции специфических IgM к вирусу денге.

Чтобы выяснить, оказывает ли влияние присутствие РФ в крови на специфичность ИХА тест-систем для детекции антител к вирусу денге, специалисты из Германии (Jelinek T. et al., 2000) исследовали 50 клинических образцов, содержащих РФ, с использованием коммерчески доступного теста. Специфичность теста при детекции IgG составила 100%, а при определении IgM были обнаружены ЛПР в 26% случаев.

По результатам исследования авторы пришли к выводу, что при использовании ИХА-тестов для детекции специфических IgM к вирусу денге, образующихся в ответ на инфекцию, важно учитывать влияние РФ [31].

Таким образом, понимание свойств ГА и механизмов интерференции в иммуноанализе может иметь большое практическое значение и использоваться в дальнейшем при создании тест-систем обладающих высокой диагностической и прогностической ценностью для клинической медицины [8].

3. Антитела к клеткам животных

Некоторые антитела обладают высокой специфичностью и образуются в ответ на иммунизацию. К ним относятся человеческие антитела к клеткам животных (НААА), которые чаще всего влияют на результат иммуноанализа "сэндвич"-формата путем связывания с определяемым антигеном, тем самым приводя к ЛПР исследования. (Kricka L.J. et al., 1990, 1999; Turpeinen U., 1990, 1995; Koper N.P., 1999; Revelen R., 2000). Эндогенные антитела Kaplan I.V. and Levinson S.S. (1999) предложили различать по следующим критериям: 1) антитела следует называть гетерофильными, если в анамнезе у пациента отсутствуют сведения о введении иммуноглобулинов животных или других известных иммуногенных веществ, а также показана мультиспецифичность этих антител; 2) антитела следует относить к группе НААА, если пациенту ранее вводились иммуноглобулины животного происхождения и в ИХТ используются иммуноглобулины от представителей того же вида. Несмотря на то, что ряд ГА действуют таким же образом, эти антитела, согласно определению, не следует называть гетерофильными, поскольку они являются специфическими и направлены против конкретных иммуноглобулинов, введенных в ходе иммунизации (Norden A.G. et al., 1997). Однако такое разделение не всегда удобно с практической точки зрения и редко используется. В ряде исследований было показано, что встречаемость НААА возрастает с внедрением в клиническую практику мышиных моноклональных антител (МкАТ) для переноса иммуносцинтиграфических или химиотерапевтических агентов к опухолям, а также с другими лечебными и диагностическими целями (Kelly C.J.K. et al. 2001; Turpeinen U. et al., 1990, 1995; Hoffman T. 1990). Наряду с этим исследователи подчеркивают, что использование НААА представляет определенную проблему, поскольку многие методы иммунологического анализа основаны на применении мышиных МкАТ (Kricka L.J. et al., 1999) [11].

4. Аутоантитела

Несмотря на то, что аутоантитела являются относительно слабыми антителами, они теснее связываются с определенными антигенами и в то же время обладают меньшим спектром действия по сравнению с ГА (Levinson S.S. and Miller J.J., 2002). Было показано, что воздействие аутоантител представляет наибольшую проблему при определении уровня ТГ (Mariotti S. et al., 1995). Механизм взаимодействия различается при использовании разных методов анализа, но само взаимодействие отмечается в любом случае (Spencer C.A., 1996). В популяции в целом распространенность аутоантител составляет от 4 до 27%. Эти аутоантитела встречаются у 15-30% больных дифференцированным раком щитовидной железы (Spencer C.A. et al., 1996; 1998), что не позволяет достоверно оценить уровень ТГ вне зависимости от используемого метода. Несмотря на то, что некоторые из ИХТ новых поколений были разработаны с использованием блокирующих реагентов для минимизации интерферирующего влияния антител к ТГ (АТ-ТГ), они не полностью свободны от интерференции АТ-ТГ (Mariotti S. et al., 1995; Dai J. et al., 1996), поскольку вырабатываемые организмом пациента аутоантитела к ТГ значительно различаются по строению участков молекулы, на которые действуют блокирующие реагенты (Byfield P.G. et al., 1985) или от действия других ГА (Preissner C.M. et al.,

2003; Norden A.G. et al., 1997). Было высказано предположение, что у одного на 2,5 тыс. человек, не страдающих заболеваниями щитовидной железы, имеются аутоантитела к Т3 или Т4 (Selby C., 1999). Аутоантитела часто присутствуют в крови пациентов с тиреоидной патологией. Однако распространенность аутоантител к тиреоидным гормонам различается по данным различных исследований, вероятно, из-за того, что в них применяются разные методы исследования и по-разному происходит отбор пациентов (Sakata S. et al., 1985). Четко показано, что циркулирующие аутоантитела к тиреоидным гормонам могут стать важным фактором искажения результатов определения преимущественно общих фракций тиреоидных гормонов (Sakata S. et al., 1985), но иногда наблюдается их влияние и на уровень свободных фракций тиреоидных гормонов. В некоторых исследованиях было показано, что эндогенные аутоантитела оказывают влияние на результаты анализов у 30-40% пациентов (Boscato L.M. et al., 1986), но этот показатель значительно различается по данным разных исследователей (Thompson R.J. et al., 1986; Bjerner J. et al., 2002). Например, по данным исследования Ismail A.A.A. et al. (2002) антитела различных типов вызывают клинически значимые отклонения результатов анализов в 0-5% случаев. В других исследованиях приведены как

более низкие, так и более высокие значения (Ward G., 1997; Marks V., 2002; Levinson S.S. and Miller J.J., 2002). Даже если распространенность такого рода отклонений действительно невелика, следует учитывать влияние аутоантител на результаты многочисленных иммунологических исследований, ежегодно выполняемых по всему миру [11].

5. Перекрестно реагирующие вещества

Точное понимание аналитических принципов и функционального предназначения иммунохимических тест-систем, знание об их уязвимости в отношении интерферирующего влияния клинически значимых перекрестно реагирующих веществ на результаты анализов, имеет большое значение для обеспечения соответствия качества исследований потребностям клинической диагностики, а также для минимизации риска получения ошибочных результатов исследований или неверной их интерпретации.

Специфичность любого иммунохимического анализа зависит в первую очередь от специфичности используемых антител и формата анализа (Seth J., Sturgeon C., 1993).

В табл. 3 приведены примеры определения некоторых аналитов, иллюстрирующие важность правильной оценки специфичности используемого иммуноанализа.

Таблица 3

Примеры аналитов, при определении которых аналитическая специфичность ИХТ может оказывать влияние на интерпретацию результатов анализов [3]

Аналит	Потенциальные интерференты	Влияние интерференции на результат анализа	Клиническое значение
Хорионический гонадотропин человека (ХГЧ)	Бета-субъединица ХГЧ (β-ХГЧ)	Потенциально завышенное содержание ХГЧ в ИХТ, выявляющих β-ХГЧ	Использование ИХТ для определения уровня ХГЧ и β-ХГЧ необходимо в онкологии, т.к. некоторые тестикулярные опухоли секретируют только β-ХГЧ, при этом интактный ХГЧ практически не определяется
Дигоксин	Антагонисты альдостерона (спиронолактон, канреноат)	Ложнозавышенные или ложнозаниженные результаты определения концентрации дигоксина в крови	Решение вопроса о взаимозаменяемости ИХТ пока невозможно. Аналитическая интерференция в ИХТ для определения концентрации дигоксина становится серьезной проблемой по мере применения лекарственных препаратов с узким терапевтическим диапазоном. Крайне желательно подтверждение наличия методом ВЭЖХ
Соматотропный гормон (СТГ)	Антагонист рецептора СТГ - Пегвисомант (Сомаверт)	Ложнозавышенные или ложнозаниженные результаты определения концентрации СТГ в крови	На фоне терапии пегвисомантом возможно использование только определенных ИХТ
Инсулин	Новые аналоги инсулина - инсулин лизпро (Хумалог) и инсулин детемир (Левемир)	Различия обусловленные кросс-реактивностью с новыми аналогами инсулина состоят в дискордантных значениях концентрации инсулина, определенной различными методами	Знание таких различий может иметь большое значение для адекватной оценки, например, искусственной гипогликемии
Лютеинизирующий гормон (ЛГ)	ХГЧ	Ложноположительный результат определения ЛГ на ранних сроках беременности	Из-за кросс-реактивности ЛГ и ХГЧ возможна задержка диагностики беременности у пациенток с аменореей
Паратиреоидный гормон (ПТГ)	Усеченные фрагменты N-концевой части ПТГ (7-84 ПТГ)	Различные результаты у пациентов с хронической почечной недостаточностью в зависимости от используемого ИХТ	Решение вопроса о взаимозаменяемости ИХТ пока невозможно. Необходимо установить соответствующие методически специфичные референсные интервалы
Простат-специфический антиген (ПСА)	Связанная форма ПСА (в комплексе с ингибитором альфа-1 - антихимотрипсином)	Изменение уровня общего ПСА под влиянием свободной и связанной форм ПСА	Решение вопроса о взаимозаменяемости ИХТ пока невозможно. В случае получения дискордантных результатов необходимо использование более эффективных ИХТ для скрининга на ПСА
Тестостерон	Другие стероиды - например, дегидроэпиандростерон-сульфат (ДГЭА-С)	Потенциально более высокий уровень тестостерона приводит к перекрестной реакции в ИХТ с другими стероидами. По всей вероятности это связано с использованием прямых неэкстракционных методов	Ненадлежащее клиническое ведение пациента, назначение ненужных исследований

Для некоторых анализируемых веществ наблюдаемые перекрестные реакции могут быть клинически полезными (например, полезными могут быть перекрестная реакция ХГЧ в анализе на ЛГ при выявлении незапланированной беременности у женщины с аменореей (Seth J., Sturgeon C., 1993) или перекрестная реакция рекомбинантного инсулина и аналогов инсулина для выявления возможной искусственной гипогликемии (Heald A.H. et al., 2006) при условии, что характеристики иммунотестов были оценены

пользователем, в то время как для измерения других анализов подчеркивается необходимость использования ИХТ с улучшенной специфичностью (например, для определения дигоксина, СТГ) или дальнейшего совершенствования стандартизации лабораторных исследований (например, ПСА, ПТГ) [3].

Важно помнить, что перекрестная реакция (кросс-реакция) может быть как положительной, так и отрицательной, как показано на рис 2.

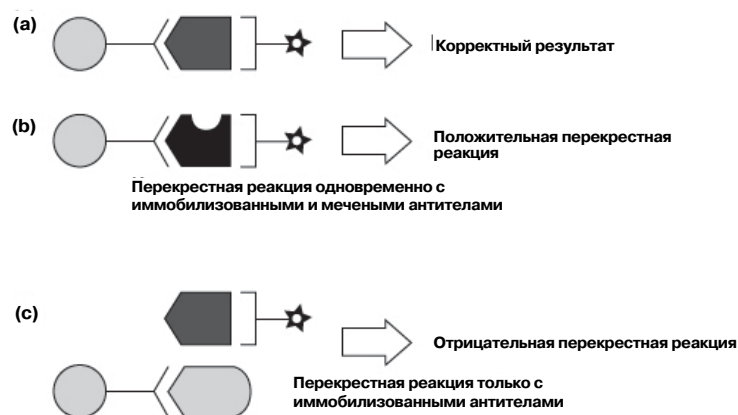


Рис. 2. Перекрестные реакции в двухстадийном иммуноанализе [3]

- а) антитела связываются со специфическим анализом, корректный результат;
- б) кросс-реагент имеет два общих эпитопа с анализом, положительная перекрестная реакция;
- с) кросс-реагент имеет только один общий эпитоп с анализом, отрицательная перекрестная реакция

Для оценки степени выраженности потенциальной интерференции, с которой можно столкнуться в рутинной лабораторной практике, было предложено рассчитывать перекрестную реактивность по концентрации перекрестно реагирующего вещества, которое может присутствовать в крови человека при наличии конкретного заболевания, и оценивать по величине процентного отклонения значений полученного результата от значений измеренной концентрации эндогенного анализа [32].

Для многих анализируемых веществ до сих пор не установлено, измерение каких эндогенных форм анализа является наиболее клинически значимым, несмотря на то, что на современном этапе предпринимаются согласованные международные меры по решению этой проблемы в отношении таких анализов, как инсулин, ПТГ, тиреоидные гормоны, тропонин и витамин D. (Klee G. G., 2010). В рамках прототипного проекта Международной федерации клинической химии и лабораторной медицины (IFCC) были подготовлены шесть международных референтных реагентов для оценки определения клинически важных форм ХГЧ с использованием современных ИХТ, позволяющих наиболее полно охарактеризовать измеряемые параметры анализов. (Sturgeon C.M. et al., 2009). По мнению исследователей, доступность этих референтных реагентов вместе с комплементарными исследованиями картирования антител (Berger P. et al. 2002) будет способствовать разработке ИХТ для определения ХГЧ в качестве онкомаркера, что имеет большее значение для практической онкологии

(Sturgeon C. M. et al., 2009). Например, ИХТ для детекции как интактного ХГЧ, так и его свободной бета-субъединицы (бета-ХГЧ), поскольку некоторые опухоли секретируют только эту субъединицу (Sturgeon C. M. et al., 2008). Напротив, ИХТ, предназначенные для определения только интактного ХГЧ, являются наиболее пригодными для диагностики и мониторинга беременности.

Подчеркивается также значимость современных масс-спектрометрических методов анализа для изучения сложных гетерогенных молекул, в частности для идентификации различных форм ПТГ (интактный ПТГ, С-терминальные и N-терминальные участки ПТГ), имеющих клиническое значение (Lopez M. F. et al., 2010).

Влияние высокой дозы анализа – "hook"-эффект

"Хук-эффект" (эффект высоких концентраций) является научно доказанной (и задокументированной) причиной ложнозаниженных результатов исследований в ИХТ "сэндвич" - формата при высоких концентрациях анализа в исследуемых образцах.

Это вызвано чрезмерно высокими концентрациями анализируемого вещества, что приводит к одновременному связыванию как иммобилизованных, так и детектирующих антител, что в свою очередь препятствует образованию комплексов иммобилизованных антител с анализом и детектирующими антителами, необходимых для проведения исследования [11]. Принцип взаимодействия представлен на рис. 3.

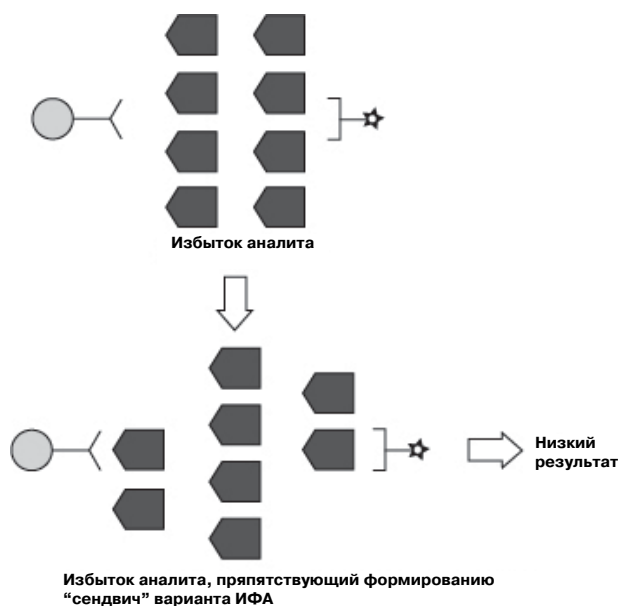


Рис. 3. Механизм "hook"-эффекта в двухстадийном иммуноанализе [3]

Высокий риск получения ЛОР отмечается при определении аналитов с широким диапазоном физиологических концентраций, таких, например, как АФП, СА-125, РЭА, ХГЧ, ПСА, пролактин и ТГ. Несмотря на то, что производители ИХТ в сопроводительной документации к тест-системам обычно указывают концентрацию аналита, ниже которой связывание аналита в комплексы маловероятно, единственным средством полного устранения этого риска, по мнению исследователей, является разведение всех образцов [3].

Для определения онкомаркеров были разработаны ИХТ с использованием многопараметрических суспензионных матриц на основе флуоресцентных микросфер; однако эти тесты могут различаться по их чувствительности и специфичности из-за хорошо известного интерферирующего влияния ГА и "хук-эффекта", вызванного высокими концентрациями аналита.

Проводя мультиплексные исследования на платформе LumineX®, исследователи из Китая (Wang Y. et al., 2013) модифицировали протоколы исследований с помощью двух недавно разработанных реагентов, позволяющих идентифицировать интерференцию ГА и "хук-эффект", вызываемый высокими концентрациями АФП в крови. При исследовании образцов сыворотки крови пациентов авторы оценивали эффективность двух реагентов разного состава [33].

Концентрации 9 онкомаркеров в исследуемых образцах сывороток крови пациентов, содержащих ГА, по результатам анализа с использованием реагента А, содержащего мышиные моноклональные антитела и мышиную сыворотку, оказались чрезмерно заниженными по сравнению с ложнозавышенными результатами исследования этих же образцов без реагента А (во всех $p < 0,01$). С использованием реагента Н (содержащего суспензионные матрицы на основе флуоресцентных микросфер, с иммобилизованным на них антигеном АФП) была разработана новая стратегия для определения "хук-эффекта" АФП, и с этой стра-

тегией "хук-эффект" АФП был эффективно идентифицирован в образцах сывороток крови с очень высокой концентрацией АФП.

По результатам исследования авторы пришли к выводу, что использование двух запатентованных реагентов улучшает идентификацию интерференции ГА и "хук-эффекта" при определении уровня АФП. Благодаря применению этих реагентов мультиплексные ИХТ с использованием суспензионных матриц на микросферах обеспечивают более надежные результаты многопараметрического анализа на онкомаркеры, применяемого в клинической практике [33].

В другом исследовании Warade J. (2017, Индия) использовал ретроспективный подход для установления частоты обнаружения интерференции при рутинном определении ряда маркеров с использованием ИХТ [34].

Проведен ретроспективный анализ результатов лабораторных иммунологических исследований, не коррелировавших с клинической картиной заболевания. Проанализированы результаты исследования в общей сложности 42 образцов сыворотки крови, выполнявшихся на протяжении 6 месяцев; оценено влияние интерференции на результаты иммунологических тестов для определения таких маркеров, как бета-ХГЧ, эстрадиол, СА-125, АФП, пролактин, HBsAg и тропонин I. Все образцы после первоначального исследования были обработаны коммерчески доступными блокирующими реагентами и исследованы повторно. В некоторых случаях для оценки так называемого "хук-эффекта" использовались коммерческие разбавители. Повторные исследования проводились на различных аналитических платформах, с помощью разных методов и реагентов.

По результатам исследования 42 образцов сывороток крови в 19 случаях была обнаружена интерференция, в частности: в тестах для определения уровня бета-ХГЧ - в 6 случаях/образцах/ (2 ЛПР и 4 ЛОР); уровня эстрадиола - в 3 случаях (2 ЛПР и 1 ЛОР); онкомаркера СА-125 - в 3 случаях (2 ЛПР и 1 ЛОР), уровня АФП - в 2 случаях (2 ЛПР); при определении уровня пролактина - в 1 образце (ЛПР); HBsAg - в 1 образце (ЛОР); уровня тропонина I - в 2 случаях (ЛПР).

В заключение автор пришел к выводу, что при применении ИХТ нельзя исключать вероятность интерференции, вызванной эндогенными веществами, несмотря на использование современного лабораторного оборудования. В случаях предполагаемой интерференции следует проводить тщательную оценку всех протоколов результатов иммунохимических исследований [34].

Аналит-независимые причины интерференции

Лекарственные препараты и их метаболиты как факторы интерференции

Лекарственные препараты и их метаболиты могут оказывать интерферирующее влияние на результаты иммунологических лабораторных исследований либо при взаимодействии с анализируемым веществом *in vivo*, либо в исследованиях *in vitro* при взаимодействии с веществами, участвующими в иммунологической реакции.

Знание особенностей используемого аналитического метода позволяет предугадать характер интерференции

(перекрестной реакции). Вместе с тем, в эксплуатационной документации к коммерческим тест-системам редко указывается химическая природа гаптенов, лигандов или других реагентов, используемых в анализе.

Широкий спектр лекарственной интерференции, обнаруженной в ходе лабораторных исследований, рассмотрен во многих опубликованных научных работах, в которых показано, что прием лекарственных препаратов может отражаться на количественном содержании целого ряда анализируемых показателей.

Например, сообщается, что уровень ТТГ снижается при лечении допамином, концентрация общих и свободных фракций тиреоидных гормонов (ТЗ, Т4) может изменяться (как снижаться, так и повышаться) при введении фуросемида, гепарина, даназола, допамина, амиодарона и салицилатов, а применение некоторых противовоспалительных препаратов может повышать уровень пролактина у мужчин. В исследованиях также показано, что прием биотин-содержащих препаратов иногда оказывает интерферирующее влияние на результаты ИХТ для определения уровня ТТГ и Т4св [11, 35].

Присутствие лекарственных препаратов в биологическом материале - например, оральных контрацептивов, салицилатов, андрогенов и др. - может специфическим (перекрестная реакция) или неспецифическим образом (интерференция) влиять на результаты лабораторных исследований при определении концентрации стероидных и тиреоидных гормонов, а также специфических связывающих белков крови [11]. В исследовании Radke J.B. et al. (2019) установлено значительное влияние на биохимические показатели гидроксихлорохина - препарата, используемого для лечения некоторых аутоиммунных заболеваний [36].

Введение мышинных моноклональных антител для проведения скинтиграфии, при проведении иммунотерапии злокачественных новообразований или при пересадке органов может приводить к появлению в крови пациента ГА к IgG мыши (НАМА), которые являются фактором, искажающим результаты диагностических тестов с использованием моноклональных антител.

В направлении на анализы врачи-клиницисты должны указывать лекарственные препараты принимаемые пациентом, чтобы с учетом этого можно было оценить любое отклонение в результатах исследований или предупредить интерференцию. На практике клиницисты зачастую игнорируют это требование. Вместе с тем, при проведении лекарственного мониторинга, особенно при онкологических заболеваниях, для исключения интерференции важно знать индивидуальные базовые уровни исследуемых показателей (онкомаркеров) до начала терапии и точное время взятия крови [11]. Поэтому медикаментозную терапию, способную исказить результаты анализа, следует назначать после взятия проб крови. Кроме того, точное время отбора образца крови является очень важным параметром для правильной интерпретации результатов исследования при проведении лекарственного мониторинга.

В медицинских учреждениях необходимо установить тесное взаимодействие специалистов диагностических лабораторий с врачами-клиницистами для выяснения характера принимаемых пациентом лекарственных препаратов и исключения факторов, влияющих на получение ложных результатов исследований.

Способы выявления и предотвращения интерференции в иммуноанализе

Результат лабораторного анализа, неправильно отражающий состояние пациента или неправильно интерпретированный, может стать причиной ошибочной или несвоевременной диагностики и назначения неадекватного лечения, что представляет потенциальную или непосредственную опасность для пациента. При этом довольно трудно оценить частоту, с которой происходит интерференция, и самое главное - долю полученных вследствие этого ошибочных результатов, которые могут оказывать негативное влияние на выбор тактики ведения пациента (Sturgeon C.M. et al., 2008).

ЛПР или ЛОР иммуноанализа, обусловленные эндогенной интерференцией, характеризуются тем, что: а) не обнаруживаются с помощью обычных процедур лабораторного контроля качества, б) воспроизводимы в рамках использования одной тест-системы (внутрисерийная и межсерийная воспроизводимость), в) часто правдоподобны с клинической точки зрения и г) относительно редки.

В связи с этим осведомленность сотрудников лабораторий о наиболее вероятных проявлениях интерференции и типах интерферентов для конкретных ИХТ повышает вероятность обнаружения таких ошибок на аналитическом этапе и позволяет предотвратить назначение необоснованного лечения [3].

Действующие национальные стандарты Российской Федерации в области лабораторной медицины (например, такие как ГОСТ Р ИСО 15189 – 2015 "Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности", ГОСТ Р 53079.4 – 2008. "Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований" и др.) устанавливают систему требований, выполнение которых может способствовать достижению необходимого уровня качества и предотвращать или минимизировать влияние факторов на получение недостоверных результатов [37].

Поскольку не существует единого метода для выявления и предотвращения интерференции в анализах, в настоящее время для этих целей в лабораториях используют следующие подходы:

1. Подтверждение результатов в других методах иммуноанализа

Лабораторное подтверждение соответствия результатов проведенного исследования (с использованием определенного метода/теста) результатам, полученным в исследовании с использованием альтернативных иммунологических методов или других технологий. При подозрении на интерференцию при получении необычного (искаженного) результата исследования в ИХТ, одним из способов ее обнаружения является дополнительное исследование образца, показавшего сомнительный результат, в других ИХТ, сконструированных на основе альтернативных методов анализа. Несовпадение результатов разных методов (ИФА, ИХЛА, проточная цитометрия, масс-спектрометрия) может свидетельствовать о присутствии интерферирующих веществ в исследуемых образцах.

2. Разведение/восстановление исследуемых образцов

Параллельно с образцами сыворотки крови пациента исследуют серию последовательных разведений этих образцов. Отсутствие линейности или низкий коэффициент восстановления аналита в пробе (процентного содержания истинной концентрации аналита, например, при использовании процедуры или внутреннего стандарта) указывают на наличие интерференции [10, 3]. Вместе с тем, затруднительное определение диапазона линейности для таких исследований, а также наличие нелинейности в разбавлении образцов (например, при исследовании на онкомаркер СА19-9) даже при отсутствии интерферентов, усложняют интерпретацию результатов [3].

3. Обработка реагентами, блокирующими интерферирующие вещества

Другим методом для выявления интерферирующих антител является исследование образцов до и после добавления блокирующих реагентов (например, реагентов блокирующих ГА, иммуноглобулин-ингибирующих реагентов). Проводят параллельное измерение аналита в обработанном и нативном образцах [10].

4. Добавление неиммунной сыворотки крови животных

В исследовании Bjerne J. et al. (2002) было показано, что добавление неспецифических иммуноглобулинов в реакционную смесь позволяет уменьшить интерференцию за счет того, что иммуноглобулины связываются с антителами человека, а не антителами, используемыми в тест-системах. Мышьиные и коровьи антитела ослабляют влияние интерференции на результаты серологических анализов в значительном проценте случаев и обладают наиболее высокой авидностью к ГА. Авторы (Bjerne J. et al., 2002) предположили, что при употреблении коровьего молока IgG становятся одним из факторов, индуцирующих продукцию ГА у некоторых людей, чем можно объяснить эффективность использования коровьих IgG в качестве блокирующего агента. Fahie-Wilson M. и Halsall D. (2008) методом "проб и ошибок" с использованием соответствующих средств контроля было установлено, что при определении оптимальной концентрации неиммунной сыворотки крови животных для добавления лучше использовать полимеризованные, чем нативные IgG.

5. Осаждение полиэтиленгликолем

Иммуноглобулины плохо растворимы при нейтральном значении pH, поэтому их относительно легко осаждают (Wild D.G., 2005). При исследовании возможной интерференции антител в иммуноанализах достаточно хорошо контролируемое осаждение (преципитация) потенциально интерферирующих антител и других высокомолекулярных комплексов в сыворотке может быть достигнуто с помощью ПЭГ, полимера окиси этилена. В принципе, преципитация ПЭГ потенциально может быть применена к любому иммуноанализу, при проведении которого предполагается образование макрокомплексов, вызывающих интерференцию (Wild D.G., 2005; Fahie-Wilson M., Halsall D., 2008). В настоящее время опубликована информация об использовании ПЭГ в основном при определении макропролактина (и крупномолекулярных форм пролактина) в образцах сыворотки крови с повышенными концентрациями общего пролактина (Fahie-Wilson M.N. et al, 2005).

Несмотря на положительный эффект применения ПЭГ-преципитации, известно, что это - относительно неспеци-

фический метод, поэтому значительная доля свободного аналита, вероятно, будет осаждаться вместе с любыми другими комплексами присутствующими в образце (Fahie-Wilson M., Halsall D., 2008). Это может зависеть как от вида аналита, так и от метода исследования (Ellis M.J., Livesey J.H., 2005), а также от характеристик отдельного образца. Было показано, например, что концентрация мономерного пролактина, осажденного вместе с глобулинами сыворотки, может увеличиваться при повышенных концентрациях глобулинов, что создает ошибочное впечатление о присутствии макропролактина (Ram S. et al., 2008). Недавно было сообщено, что ПЭГ осаждает почти все IgG и IgM, и только 50% IgA, что также может привести к ложноотрицательным результатам (Jassam N.F. et al., 2009). В таких случаях необходимо подтверждение методом гель-фильтрационной хроматографии (Ram S. et al., 2008).

Кроме того, ПЭГ может вмешиваться в некоторые иммуноанализы (Fahie-Wilson M., Halsall D., 2008). Поэтому крайне важно, чтобы процедура преципитации ПЭГ была валидирована как для аналита, так и для используемого метода; при интерпретации полученных результатов следует проявлять осторожность. Также рекомендуется сообщать врачу-клиницисту абсолютную концентрацию пролактина после процедуры осаждения ПЭГ вместе с полученными значениями референтных интервалов лабораторных показателей (Clark P.M., 2009; Smith T.P., Fahie-Wilson M.N., 2010). Аналогичный строгий подход необходим при использовании ПЭГ-преципитации для исследования интерференции при определении других аналитов [3].

6. Экстракция аналитов из образцов

На протяжении последних десятилетий эта процедура используется в тех случаях, когда требуется количественное определение низких концентраций аналитов в составе различных матриц с высоким содержанием сопутствующих веществ. При выявлении предполагаемой интерференции в иммуноанализах на стероидные гормоны (особенно на тестостерон) целесообразно проводить экстракцию аналитов из исследуемых образцов диэтиловым эфиром, ресуспендирование в соответствующем разбавителе без аналита и повторное исследование (Heald A.H. et al., 2006). Экстракция позволяет отделять стероидный гормон от любых связывающих белков, а также удалять водорастворимые конъюгаты стероидов. Для подтверждения результатов исследования сыворотки крови на кортизол и/или для выявления проблем со связыванием белков также полезным может оказаться определение содержания кортизола в слюне (Wood P., 2009).

7. Дополнительное использование других технологий

Для выявления и оценки предполагаемой интерференции в качестве дополнительного инструмента используют другие, более сложные технологии - такие как тандемная масс-спектрометрия, высокоэффективная жидкостная хроматография, гель-фильтрационная хроматография, иммуносорбционная хроматография.

В частности, при помощи масс-спектрометрии проводят дополнительные исследования для выявления возможных интерференционных помех при определении тех аналитов, для которых методы исследования достаточно хорошо валидированы и не зависят от иммуносорбции антител (на-

пример, тестостерона) (Cawood M.L. et al., 2005). В исследовании Wong T. et al. (1992) было показано, что этот метод успешно применялся и для определения содержания стероидных гормонов в плазме крови новорождённых - значительные помехи могут возникать из-за присутствия в плазме таких стероидных гормонов, как прегненолон и дегидроэпиандростеронсульфат (ДГЭА-С), секретируемых клетками фетальной зоны коры надпочечников. При этом важно помнить о возможном влиянии матричных эффектов и обращать внимание на то, что заниженные результаты, полученные при помощи масс-спектрометрии, нельзя считать обусловленными высокой специфичностью метода (Taylor P.J., 2005). Метод жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией используют для определения ХГЧ. Гель-фильтрационная хроматография применяется для выявления интерференции, вызванной присутствием макропролактина в исследуемых образцах (Beltran L. et al., 2008). Иммуносорбционная хроматография была успешно использована в качестве процедуры предварительной обработки для устранения неспецифических помех при исследовании образцов сыворотки крови пациентов с ревматоидным артритом (McCutcheon K.M. et al., 2010) [3, 10].

Меры по минимизации рисков

Несмотря на то, что к настоящему времени в области клинической иммунологии, биомедицины и медицинских биотехнологий достигнут значительный прогресс, приведший к созданию высокоэффективных иммунохимических диагностикумов, используемых для лабораторной диагностики многих заболеваний, интерференция в иммуноанализе продолжает представлять серьезную проблему как для специалистов лабораторий ЛПУ, так и для врачей-клиницистов и пациентов. В связи с этим все меры по минимизации рисков, связанных с интерференцией в иммуноанализе, должны предприниматься как со стороны врачей, лаборантов и самих пациентов, а также и со стороны компаний-производителей ИХТ.

• *Взаимодействие между врачами-клиницистами и специалистами лабораторий*

Подчеркивается необходимость тесного взаимодействия и обмена информацией между врачами-клиницистами и персоналом лабораторий ЛПУ. Предоставление врачами соответствующей клинической информации вместе с направлениями на исследования позволит сотрудникам лабораторий распознать возможные аналитические проблемы при исследовании образца биоматериала конкретного пациента.

В свою очередь специалисты лабораторий должны информировать врачей-клиницистов о том, в каких случаях результаты иммуноанализа могут быть подвержены влиянию интерференции. Рекомендовано всегда подвергать сомнению достоверность тех результатов анализа, которые не согласуются с клинической картиной заболевания.

Повышение квалификации, постоянное совершенствование профессиональных навыков, постоянное изучение и применение на практике положений действующих нормативных документов в области клинической лабораторной диагностики, участие в профильных мероприятиях (тематических конференциях, форумах, семинарах), постоян-

ный обмен информацией о возможных причинах интерференции в лабораторных анализах является обязательным на этапе послевузовской и последипломной медицинской подготовки.

• *Взаимодействие с пациентами*

Следует тщательно собирать анамнез и проводить опрос пациентов для выявления возможных эндогенных и экзогенных факторов, способных исказить результаты анализов. Пациентов необходимо проинформировать о том, что у них могут регистрироваться ЛПР или ЛОР анализа, персоналу лабораторий следует уточнять информацию об этих факторах каждый раз при заборе биоматериала для исследования.

Кроме того, вся важная для лабораторных исследований информация должна быть зафиксирована в медицинских картах пациентов а, в идеале, в лабораторной информационной системе. Все результаты лабораторных анализов должны быть запротоколированы надлежащим образом.

• *Взаимодействие с компаниями - производителями диагностикумов*

На современном этапе компании-производители ИХТ значительно снизили риск интерференции в иммуноанализах благодаря тщательному подбору антител, использованию эффективных блокирующих реагентов и существенному прогрессу в понимании сложных иммунологических механизмов. Использование гуманизированных рекомбинантных антител, полученных с помощью подходов современной биотехнологии и генной инженерии, может изменять антигенные сайты и уменьшать интерференцию. Поскольку большинство интерферирующих антител связываются с Fc-участком иммуноглобулинов, удаление или модификация Fc-фрагмента также позволяет существенно снизить вероятность интерференции.

В тех случаях, когда результаты предварительных исследований свидетельствуют о возможном влиянии интерферирующих факторов, они в обязательном порядке должны обсуждаться с представителями компаний-производителей соответствующих ИХТ. Знание особенностей определяемого аналита и характеристик используемых тест-систем может оказаться полезным для улучшения дизайна исследований. Было бы весьма желательно, чтобы все производители тест-систем в сопроводительной документации к выпускаемым наборам указывали меры, принимаемые для снижения интерференционных ошибок. Критический подход к результатам анализов и открытая взаимосвязь между персоналом лабораторий и производителями ИХТ позволят избежать непредвиденной интерференции в иммуноанализе и повысить диагностическую эффективность лабораторных исследований [3].

Заключение

Несмотря на то, что иммунологические анализы в целом надежны, они остаются уязвимыми к случайным аналитическим ошибкам, которые могут оказывать влияние на выбор тактики ведения пациентов. Спорадические ошибки, возникающие в результате изменения свойств исследуемого образца, особенно трудно обнаружить. Они могут быть вызваны наличием перекрестно - реагирующих веществ, антител к исследуемым анализам или анти-реа-

гентов антител, что может привести к ошибочно завышенным или заниженным лабораторным результатам. Заниженные результаты исследований при определении опухолевых маркеров могут регистрироваться из-за связывания иммунореагентами захвата избыточного количества аналита при очень высоких его концентрациях. Ошибочные результаты могут непредвиденно возникнуть при исследовании любого образца биоматериала, и в настоящее время не существует практических способов идентификации образцов, которые могут вызвать проблемы при проведении иммуноанализа.

Всегда следует предполагать возможное влияние интерференции, если полученные результаты не соответствуют клиническим данным. Ошибки могут возникать даже в лабораториях с высоким уровнем контроля качества исследований, поэтому всегда желательно как можно раньше проводить расследование лабораторных несоответствий, ошибок. Если возникают какие-либо сомнения относительно достоверности результата исследования, необходимо рекомендовать врачам-клиницистам обратиться в лабораторию для выявления возможных причин. Исследования для определения потенциальных интерференций, которые могут быть выполнены в большинстве лабораторий, включают: исследование на линейность с помощью теста на разбавление, эксперименты по удалению влияющего фактора, обработку с использованием гетерофильных блокирующих реагентов и подтверждение результата с помощью альтернативного метода. При необходимости проведения более сложных диагностических исследований желательно проконсультироваться в специализированных лабораториях. Важно осуществлять постоянное взаимодействие между клиницистами, лабораторным персоналом и пациентами, а также между специалистами лабораторий и компаний-производителей ИХТ, для решения вопросов, связанных с непредвиденной интерференцией.

Литература

1. Кишкун А.А. Препятствия на пути централизации клинических лабораторных исследований. *Менеджер здравоохранения*; 2014. 11:11-26
2. Corinne R.F. Defining & Reporting Critical Values. - www.aacc.org. Accessed 24 Oct 2017
3. Sturgeon C.M., Viljoen A. Analytical error and interference in immunoassay: minimizing risk. *Ann Clin Biochem*. 2011; 48 (Pt 5):418-32
4. Plebani M. The detection and prevention of errors in laboratory medicine. *Ann Clin Biochem*. 2010 Mar;47(2):101-10
5. Giovanella L. The impact of biotin interference on laboratory testing and patient diagnosis in clinical practice. *Int J of Pharmacokinetics*. 2019; 4(1):1-4
6. Ward G., Simpson A., Boscato L., Hickman H.E. The investigation of interferences in immunoassay. *Clin Biochem*. 2017; 50: 1306 -11
7. Берестовская В.С. Пять вопросов об интерференции биотина в иммунном анализе. *Диагностика в диалоге*. 2019; 9:10-12
8. Levinson S.S. Antibody multispecificity in immunoassay interference. *Clin Biochem*. 1992 Apr; 25(2):77-87

9. Часихина Е.В. Интерференция в иммуноанализе: гетерофильные антитела. Случай из практики. *Лабораторная служба*. 2020; 1(9):6

10. Мошкин А.В. Обнаружение интерференции как составляющая валидации результата лабораторного исследования. *Лабораторная служба*. 2018; 7 (4):3-4

11. Jones A.M., Honour J.W. Unusual results from immunoassays and the role of the clinical endocrinologist. *Clin Endocrinol. (Oxf)* 2006; 64(3): 234-44

12. Bjerner J., Nustad K., Norum L.F., Olsen K.H., Bormer O.P. Immunometric assay interference: incidence and prevention. *Clin Chem* 2002; 48: 613-21

13. Ismail A.A., Walker P.L., Barth J.H., Lewandowski K.C., Jones R., Burr W.A. Wrong biochemistry results: two case report and observational study in 5310 patients on potentially misleading thyroid-stimulating hormone and gonadotropin immunoassay results. *Clin Chem*. 2002 Nov; 48(11):2023-9

14. Bolstad N., Warren D.J., Bjerner J., Kravdal G., Schwettmann L., Olsen K.H. et al. Heterophilic antibody interference in commercial immunoassays; a screening study using paired native and pre-blocked sera. *Clin Chem Lab Med*. 2011 Sep 8; 49(12):2001-6

15. Grasko J., Williams R., Beilin J., Glendenning P., Fermyole S., Vasikaran S. A diagnostic conundrum: heterophilic antibody interference in an adrenocorticotrophic hormone immunoassay not detectable using a proprietary heterophile blocking reagent. *Ann Clin Biochem*. 2013 Sep; 50(Pt 5):433-7

16. Saiegh L., Odeh M., Chen-Konak L., Elias N., Sheikh-Ahmad M., Reut M. et al. A possible analytical and clinical role of endogenous antibodies causing discrepant adrenocorticotrophic hormone measurement in a case of ectopic Cushing's syndrome. *Ann Clin Biochem*. 2014 Jul; 51(Pt 4):490-4

17. Donegan D.M., Algeciras-Schimmich A., Hamidi O., Young W.F., Nippoldt T., Bancos I., Erickson D. Corticotropin hormone assay interference: A case series. *Clin Biochem*. 2019 Jan; 63:143-7

18. Gulbahar O., Degertekin C.K., Akturk M., Yalcin M.M., Kalan I., Atikeler G.F. et al. A case with immunoassay interferences in the measurement of multiple hormones. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015 Jun; 100 (6): 2147-53

19. Serei V.D., Marshall I., Carayannopoulos M.O. Heterophile antibody interference affecting multiple Roche immunoassays: A case study. *Clin Chim Acta*. 2019 Oct; 497:125-9

20. Hattori N., Ishihara T., Yamagami K., Shimatsu A. Macro TSH in patients with subclinical hypothyroidism. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*, 2015, Vol. 83, no. 6, pp. 923-930

21. Gallagher D.J., Riches J., Bajorin D.F. False elevation of human chorionic gonadotropin in a patient with testicular cancer. *Nat Rev Urol*. 2010 Apr; 7(4):230-3

22. Jara-Aguirre J.C., Baumann N.A., Block D.R., Algeciras-Schimmich A. Human chorionic gonadotropin suspected heterophile interference investigations in immunoassays: A recommended approach. *Clin Chem Lab Med*. 2019 Jul 26; 57(8):1192-6

23. Александрова Е.Н., Новиков А.А., Насонов Е.Л. Рекомендации по лабораторной диагностике ревматических заболеваний Общероссийской общественной организации "Ассоциация ревматологов России" – 2015. *Современная ревматология*. 2015;9(4):25-36

24. Bartels E.M., Watjen I. F., Andersen E.L., Danneskiold-Samsoe B., Bliddal H., Ribel-Madsen S. Rheumatoid factor and its interference with cytokine measurements: problems and solutions. *Arthritis. Art. ID 741071*; 2011:1-7
25. Mongolu S., Armston A.E., Mozley E., Nasruddin A. Heterophilic antibody interference affect in multiple hormone assays: Is it due to rheumatoid factor? *Scand J Clin Lab Invest.* 2016; 76(3):240-2
26. Berth M., Bosmans E., Everaert J., Dierick J., Schiettecatte J., Anckaert E., Delanghe J. Rheumatoid factor interference in the determination of carbohydrate antigen 19-9 (CA 19-9) *Clin Chem Lab Med.* 2006; 44(9):1137-9
27. Чаулин А.М., Дупляков Д.В. Повышение кардиальных тропонинов, не ассоциированное с острым коронарным синдромом. Ч. 2.; Кардиология. *Новости, мнение, обучение.* 2019; Т 7, 2(21): 24-35
28. Lippi G., Aloe R., Meschi T., Borghi L., Cervellin G. Interference from heterophilic antibodies in troponin testing. Case report and systematic review of the literature. *Clin. Chim. Acta.* 2013; 426:79-84
29. Xu L., Yu Z., Fan W., Wang X., Xie M., Xu Y. et al. Negative interference in serum HBsAg ELISA from rheumatoid factors. *PLoS One.* 2013 Nov 15; 8(11):e80620
30. Cunha B.M., Mota L.M., Pileggi G.S., Safe I.P., Lacerda M.V. HIV/AIDS and rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev.* 2015 May; 14(5):396-400
31. Lavoie S., Caswell D., Gill M J., Kadkhoda K., Charlton C.L., Levett P.N. et al. Heterophilic interference in specimens yielding false-reactive results on the Abbott 4th generation ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo Assay. *J Clin Virol.* 2018 Jul; 104:23-8
32. Pan J., Meng G., Huang B., Lan L., Ming L. Interference by rheumatoid factor in immunoglobulin M-class Herpes Simplex Virus types 1 + 2 immunoassays. *Lab Med.* 2018 Oct 11; 49(4):369-71
33. Jelinek T., Wastlhuber J., Proll S., Schattenkirchner M., Loscher T. Influence of rheumatoid factor on the specificity of a rapid immunochromatographic test for diagnosing dengue infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2000 Jul; 19(7):555-6
34. Park J. Y., Kricka L. J. Interferences in Immunoassay. *In The Immunoassay Handbook* 2013; 403-16
35. Wang Y., Yu J., Ren Y., Liu L., Li H., Guo A. et al. Improvement for identification of heterophile antibody interference and AFP hook effect in immunoassays with multiplex suspension bead array system. *Clin Chim Acta.* 2013 Nov 15; 426:68-74
36. Warade J. Retrospective approach to evaluate interferences in immunoassay. *EJIFCC.* 2017 Oct 10; 28(3):224-32
37. Chun K.Y. Biotin interference in diagnostic tests. *Clin Chem.* 2017 Feb; 63(2):619-20
38. Radke J.B., Kingery J.M., Maakestad J., Krasowski M.D. Diagnostic pitfalls and laboratory test interference after hydroxychloroquine intoxication: A case report. *Toxicol Rep.* 2019 Oct 7; 6:1040-6
39. Меньшиков В. В., Эмануэль А. В., Первушин Ю. В., Цвиренко С. В. Обеспечение клинической безопасности получения и применения лабораторной информации. *Клинические рекомендации.* Москва, 2013; 16 с

Влияние интерференции биотина на результаты лабораторных исследований и клиническую диагностику различных патологических состояний

ООО "НПО "Диагностические системы", г. Нижний Новгород

Актуальность проблемы

В настоящее время в рутинной медицинской лабораторной практике широко используются диагностические тест-системы, основанные на иммунохимических методах исследования. Несмотря на то, что современные иммунохимические тест-системы (ИХТ) на высокопроизводительных аналитических платформах характеризуются высокими показателями аналитической чувствительности, точностью и быстротой измерения аналитов, возможностью проводить большой объем исследований, все ИХТ могут быть подвержены интерференции.

Интерференция в клинической лабораторной диагностике (в том числе при выполнении иммунологических исследований) определяется как влияние веществ, способных изменять истинные значения содержания аналита в биологическом материале пациента. Она является одним из факторов, который способствует искажению результатов лабораторного исследования. Получение недостоверного результата может повлечь за собой неверную оценку состояния пациента и назначение неправильных схем лечения, что в свою очередь может привести к серьезным негативным последствиям для его здоровья [1].

Интерференция может возникать в ИХТ, используемых для определения широкого спектра аналитов, включая определение уровня гормонов, опухолевых маркеров, кардиоспецифических белков-маркеров, лекарственных веществ и витаминов, ряда инфекционных агентов и антител к ним. Это связано с тем, что на результаты исследования образцов биоматериала оказывает влияние не только формат иммунологического анализа, но и свойства матрицы биологического материала, то есть особенности неспецифического взаимодействия между образцом и реагентами. В своей работе Sturgeon C.M. и Viljoen A. (2011) подчеркивают, что образец биологического материала каждого человека представляет собой уникальное сочетание индивидуального спектра различных аналитов, измененных концентраций обычных компонентов, перекрестно реагирующих веществ, макромолекулярных комплексов, антител, лекарственных веществ и их метаболитов, витаминов и пищевых добавок. Эффект матрицы обусловлен тем, что иммунологические исследования выполняются из первичной пробирки без предварительной экстракции аналита [2].

Интерференция может быть вызвана различными причинами, как аналит-независимыми (например, гемолизом, значительной липидемией или гипербилирубинемией), так и аналит-зависимыми (присутствием в исследуемой сыворотке крови аутоантител, гетерофильных антител или парпротеинов, перекрестно реагирующими веществами).

Интерферирующие вещества могут привести к ложно-завышенным или ложнозаниженным результатам определения концентрации аналита в одной или нескольких тест-системах в зависимости от вида интерферирующего фактора, а также к противоречивым результатам и при определении других аналитов.

По оценкам исследователей, общий процент клинически значимых ошибок при проведении лабораторных исследований широко варьируется и находится в диапазоне от 0,012 до 0,6%, что позволяет прогнозировать вклад интерференции в недостоверный результат на уровне менее 0,078% от всех результатов [2].

Показатели распространенности интерференции обычно низкие в тестах, содержащих блокирующие агенты, которые нейтрализуют или ингибируют активность интерферирующих веществ (интерферентов), но зачастую бывают повышены при использовании новых, мало изученных ИХТ.

По мнению исследователей для минимизации возможной интерференции и риска появления ошибочных результатов в лабораториях следует разработать и документировать процедуры для детекции, тестирования и идентификации предполагаемых интерферентов. Не менее важно, чтобы врачи обращали внимание на любое несоответствие между клинической картиной заболевания и результатами лабораторных исследований. Обнаружение интерференции может потребовать использования тест-систем на основе альтернативного метода анализа или дополнительных измерений до и после обработки дополнительным блокирующим реагентом или после разведения образцов сывороток неиммунной сывороткой. Обязательным для специалистов лаборатории является информирование врачей-клиницистов о предстоящей процедуре исследования и о возможном влиянии любого интерферирующего фактора на результаты исследований. Такое тесное взаимодействие между персоналом лаборатории и лечащими врачами необходимо для постоянного анализа причин ошибочных результатов клинических лабораторных исследований, вызванных воздействием интерферентов [3].

На современном этапе изучению проблемы интерференции биотина в лабораторном анализе много внимания уделяется за рубежом. Сообщения о случаях биотиновой интерференции в ИХТ были зарегистрированы в разных странах мира (США, Китай, страны Европы, Южная Америка, Австралия, Новая Зеландия и страны Ближнего Востока) среди населения разного пола и возраста (от новорожденных детей до лиц пожилого возраста) при проведении иммунохимических исследований для определения уровня гормонов в крови (табл. 1) [4].

Выявленные случаи интерференции биотина в лабораторных тестах [4]

Автор	Страна	Число случаев	Возраст	Пол	Диагноз/данные анамнеза	Суточная доза, мг	Причина употребления биотина	Ошибочный диагноз
Henry J.G. et al., 1996	Саудовская Аравия	1	1 день	Ж	НД	10	Органическая ацидемия	Болезнь Грейвса
Meany D.L. et al., 2009	США	1	64 года	Ж	Хроническая почечная недостаточность	5	Синдром беспокойных ног	Гипопаратиреоз
Kowk J.S. et al., 2012	Китай	1	3 года	Ж	Пропионовая ацидемия	10	Метаболические нарушения	Болезнь Грейвса
Wijeratne N.G. et al., 2012	Австралия	1	1 неделя	НД	Метаболические нарушения (нарушение обмена веществ)	30	Лактоацидоз, печёночная недостаточность	Болезнь Грейвса
Waghay A. et al., 2013	США	2	60-62 года	Ж	Хроническая почечная недостаточность	1,5-5,0	Улучшение состояния волос и нейропатия	Гиперпаратиреоз
Barbesino G. et al., 2016	США	1	55 лет	М	Рассеянный склероз	300	Рассеянный склероз	Болезнь Грейвса
Elston M.S. et al., 2016	Новая Зеландия	1	63 года	Ж	Рассеянный склероз	300	Рассеянный склероз	Болезнь Грейвса
Kummer S. et al., 2016	Германия	6	<18 лет	НД	Метаболические нарушения	2-5 (мг/кг)	Метаболические нарушения	Болезнь Грейвса
Minkovsky A. et al., 2016	США	1	74 года	Ж	Рассеянный склероз	300	Рассеянный склероз	Болезнь Грейвса
Bulow Pedersen I. and Laurberg P., 2016	Дания	1	1 день	Ж	Задержка внутриутробного развития у новорождённого	5	Биотинидазная недостаточность, семейный анамнез	Болезнь Грейвса
Al-Salameh A. et al., 2017	Франция	1	32 года	М	Х-сцепленная адрено-меланейропатия	100	Х-сцепленная адрено-меланейропатия	Болезнь Грейвса
Batista M.C. et al., 2017	Бразилия	1	НД	НД	НД	5-300	Улучшение состояния волос и ногтей	Болезнь Грейвса, гиперэстрогенизм
Cusini C. et al., 2017	Италия	1	69 лет	Ж	Рассеянный склероз	300	Рассеянный склероз	Болезнь Грейвса
Lim S.K. et al., 2017	Франция	2	НД	НД	Рассеянный склероз	300	Рассеянный склероз	Болезнь Грейвса
Sharma A. et al., 2017	США	1	60 лет	НД	НД	10	НД	Болезнь Грейвса
Willeman T. et al., 2017	Франция	1	39 лет	М	Рассеянный склероз	> 0,05	Рассеянный склероз	Болезнь Грейвса
De Roeck Y. et al., 2018	Бельгия	1	НД	НД	Рассеянный склероз	300	Рассеянный склероз	Болезнь Грейвса
Evans N. et al., 2018	Австралия	1	15 месяцев	М	Митохондриальные нарушения	15	Митохондриальные нарушения	Болезнь Грейвса
Koehler V.F. et al., 2018	Германия	1	47 лет	М	Рассеянный склероз	300	Рассеянный склероз	Болезнь Грейвса
Stieglitz H.M. et al., 2018	США	1	48 лет	Ж	Учащенное сердцебиение, невозможность похудеть	5	Улучшение состояния волос и ногтей	Болезнь Грейвса, тестостерон-секретирующая опухоль

Обозначения: Ж - женский пол, М - мужской пол, НД - нет данных.

Во многом это может быть связано с увеличением неконтролируемого употребления безрецептурных биологически активных добавок (БАД), содержащих высокие дозы биотина, для улучшения состояния кожи, волос и ногтей. Так, при изучении материалов опубликованных научных исследований Samarasinghe S. et al. (2017) обратили внимание на тот факт, что увеличение употребления биотин-содержащих БАД сопровождалось постепенным ростом числа публикаций о выявлении связанной с приемом эк-

зогенного биотина аналитической интерференции в ИХТ, используемых для оценки функционального состояния эндокринной системы [5]. Наряду с этим, исследователями (Wolf B., 2012; Peyro-Saint-Paul L. et al., 2016; Clerico A., Plebani M., 2017; Piketty M.L. et al., 2017) установлено, что применение мегадоз биотина для терапии рассеянного склероза (РС) и некоторых наследственных заболеваний, зачастую также является причиной интерференции биотина в иммунном анализе [8].

Однако отечественные исследователи отмечают, что в Российской Федерации обсуждаемая проблема не является столь острой (Берестовская В.С., 2019; Юрасов В.В. и соавт., 2020). Литературные сообщения о случаях искажения биотином результатов анализов или их неверной трактовке, носят спорадический характер; эти описания касаются в основном применения мегадоз биотина при экспериментальном лечении метаболических заболеваний и РС [1]. Тем не менее, имеющиеся научные данные указывают на необходимость повышения осведомленности, как специалистов медицинских лабораторий, так и врачей-клиницистов в вопросах, касающихся интерферирующего влияния биотина на результаты исследований с использованием ИХТ на основе системы "стрептавидин-биотин", оценки возможных рисков, способов выявления и устранения данного вида интерференции.

Биотин – его свойства, применение и причины интерференции

Биотин (кофермент R, витамин B7, витамин H) - водорастворимый витамин, который принадлежит к группе B; является коферментом карбоксилаз - ферментов, катализирующих реакции карбоксилирования и регулирующих белковый и жировой баланс, обладает высокой активностью. Участвует в синтезе глюкокиназы - фермента, регулирующего обмен углеводов, в синтезе пуриновых нуклеотидов. Является источником серы, которая принимает

участие в синтезе коллагена. С участием биотина протекают реакции активирования и переноса CO2.

Биотин является незаменимой частью пищевого рациона любого человека. Особенно им богаты печень, почки, яичный желток, зерна ржи и цветная капуста. Недостаток биотина в организме вызывает шелушение кожи, пепельную бледность лица, мышечные боли, облысение. В медицине его применяют при циррозе печени, сахарном диабете и в дерматологической практике. Биотин синтезируется микрофлорой кишечника, в связи с чем в нормальных условиях дефицит биотина не наблюдается. Следует иметь в виду, что в сыром яичном белке находится гликопептид авидин, который связывает биотин в нерастворимый комплекс и нарушает его всасывание из кишечника. Биотин является исключительно высокоактивным стимулятором роста дрожжей, при изучении роста которых он и был открыт [6].

Согласно нормам физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации, рекомендованное потребление биотина составляет 50 мкг/сут (Методические рекомендации Роспотребнадзора РФ - МР 2.3.1.2432-08 "Рациональное питание. Нормы физиологических потребностей и энергии в пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации" от 18.12.2008 г.) [7], а дефицит биотина встречается крайне редко, поскольку практически при любом типе питания человек получает достаточное количество витамина H [1].

Таблица 2

Варианты потребления биотина [1]

Мультивитамины	БАД для волос и ногтей	Экспериментальный терапевтический режим в стационаре под контролем врача
3 - 100 мкг/день при однократном приеме	1 - 10 мг/день при однократном приеме	свыше 10 мг/день
Суточная потребность для взрослых - 50 мкг; Суточная потребность для детей - 10 - 50 мкг	Более чем в 125 раз превышает суточную потребность	Более чем в 1250 раз превышает суточную потребность

*) МР 2.3.1.2432-08 "Рациональное питание. Нормы физиологических потребностей и энергии в пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации" от 18.12.2008 [7].

Однако, несмотря на отсутствие научных доказательств, биотин всё чаще включают в состав распространенных БАД к пище (отдельно или в составе мультивитаминных комплексов), в связи чем он широко рекламируется как средство, оказывающее благоприятное действие на состояние кожи, волос и ногтей. Дозы присутствующих на рынке безрецептурных препаратов, варьируют от 50 мкг до 10 мг в день, что значительно превышает суточную потребность в биотине (Lipner S.R., 2018; Choi J., Yun S.G., 2020).

Кроме того, мегадозы биотина (до 300 мг/сутки) используются в клинической практике при экспериментальном лечении РС, метаболических (тиамин-зависимом заболевании базальных ганглиев, биотинидазной недостаточности, нарушении митохондриального энергообмена, множественном дефиците карбоксилазы и холокарбоксилазин синтетазы) и демиелинизирующих заболеваний.

В настоящее время благодаря низкой молекулярной массе (244,3 г/моль) биотина, высокой аффинности свя-

зывания и стабильности взаимодействия стрептавидина и биотина, а также в связи с развитием различных химических и ферментативных методов биотинилирования без изменения свойств молекулы, широкое распространение в клинической лабораторной диагностике получили ИХТ, основанные на взаимодействии стрептавидина и биотина (Piketty M.L. et al., 2017). Иммунологические лабораторные тесты, основанные на технологии с использованием биотина, получили название "биотинилированных иммунотестов". Применение ИХТ в клинических лабораториях растет благодаря эффективным технологиям, позволяющим проводить большой объем исследований. Полная автоматизация процессов анализа с использованием ИХТ позволяет получить существенные аналитические преимущества: высокую чувствительность, точность и быстроту измерений очень низких концентраций исследуемых веществ в биологическом материале. Однако присутствие экзогенного биотина в исследуемом образце может вызвать интерференцию при использовании ИХТ.

До недавнего времени этот вид интерференции считался относительно редким, поскольку пороговые значения биотиновой интерференции в иммунном анализе значительно выше, чем концентрация биотина в сыворотке крови у лиц, регулярно употребляющих биотин в дозе не более рекомендуемой Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств (FDA, США) физиологической нормы потребления для взрослого человека (до 30 мкг/сутки). Таким образом, практически невозможно, только используя в рационе питания продукты, богатые биотином, достичь таких высоких концентраций биотина в крови, чтобы они могли бы повлиять на результаты лабораторных исследований. Тем не менее, биотиновая интерференция в иммуноанализе вызывает все большую озабоченность медицинского профильного сообщества в связи с ростом употребления населением безрецептурных витаминных добавок, содержащих высокие дозы биотина (до 10 мг в однокомпонентных препаратах) (Lipner S.R., 2018; Choi J., Yun S.G., 2020), а также в связи с использованием мегадоз биотина (до 300 мг/сутки) при экспериментальной терапии (Wolf B., 2012; Peyro Saint-Paul L. et al., 2016; Clerico A., Plebani M., 2017; Piketty M.L. et al., 2017), поскольку это может спровоцировать повышение уровня биотина в крови [8].

По данным ряда клинических исследований, содержание биотина в крови у практически здоровых лиц из общей популяции обычно колеблется от 0,1 до 0,8 нг/мл (Livanou E. et al., 1987; Choi J., Yun S.G., 2020). Биотин быстро всасывается, достигает пиковых концентраций в плазме крови в течение 1-2 часов, период полувыведения составляет 15 часов (Grimsey P. et al., 2017). После приема внутрь препаратов, содержащих биотин в дозе 10 мг, максимальная его концентрация в плазме крови составляет от 53 до 141 нг/мл (Grimsey P. et al., 2017; Peyro Saint Paul L. et al., 2016). После приема биотина в максимальной дозе 10 мг/сутки (10 мг - это доза в 300 превышающая физиологическую суточную потребность организма), содержащегося в БАД, отпускаемых без рецепта врача, через 8 часов концентрация биотина в сыворотке крови становится ниже порога обнаружения интерференции *in vitro* (≥ 30 нг/мл) [9].

Высокая концентрация биотина в крови может исказить результаты иммунологических исследований и вызывать ложнозавышенные результаты в ИХТ "конкурентного" формата и ложнозаниженные результаты в ИХТ "сэндвич" формата [10].

Влияние биотина на результаты исследований зависит от нескольких факторов: от конструкции ИХТ, дозы препарата, принимаемого пациентом, концентрации биотина в исследуемом образце, и больше всего - от промежутка времени, прошедшего после последнего приема препарата пациентом до забора биологического материала для лабораторных испытаний [11].

Механизмы интерференции биотина при использовании ИХТ "сэндвич" и "конкурентного" форматов

Иммунохимические тест-системы в клинических лабораториях широко используются для определения концентрации ряда гормонов в крови пациента (таких, например, как тиреоидные, кортикотропные, гонадотропные, соматотропные гормоны), метаболитов и некоторых других

аналитов. В ИХТ на основе системы "стрептавидин-биотин" может возникать эндогенная аналитическая ошибка, связанная с употреблением пациентом биотина или присутствием антистрептавидиновых антител. В этих случаях интерференция может приводить к получению как ложноположительных (ЛПР), так и ложноотрицательных (ЛОР) результатов и способствовать имитации определенного гормонального профиля [10].

Для правильной интерпретации результатов лабораторных исследований и выявления потенциально ошибочных результатов необходимо точное понимание аналитических принципов и механизмов ИХТ "сэндвич" и "конкурентного" форматов. В одной из своих публикаций коллектив авторов из Франции (Piketty M.L. et al., 2017) довольно подробно и доходчиво описал механизмы интерференции биотина в двух форматах ИХТ.

В настоящем дайджесте публикаций мы приводим выдержки из этой работы французских исследователей.

Авторы отмечают, что технология иммунохимического исследования по типу "сэндвич" используется для измерения концентрации крупных молекул, таких как тиреотропный гормон (ТТГ), гликопротеиновые гормоны гипофиза, хорионический гонадотропин человека (ХГЧ), паратгормон (ПТГ), инсулиноподобный фактор роста-1 (ИФР-1), инсулин, тиреоглобулин (ТГ), С-пептид. Этот тип ИХТ также называют "двухсайтовым" из-за двустороннего связывания эпитопов. В качестве примера авторы рассматривают определение ТТГ и поясняют, что ТТГ оказывается "зажат", как в сэндвиче, между двумя различными антителами: одно связано с меткой, испускающей сигнал, подлежащий измерению (люминесцентное или флуоресцентное соединение, фермент, изотоп); другое, называемое "иммобилизированным антителом", позволяет закрепить иммунные комплексы на твердой фазе. Чем выше концентрация ТТГ, тем выше концентрация сигнальной метки, связанной с твердой фазой. Таким образом, калибровочная кривая является восходящей, так как концентрация сигнальной метки прямо пропорциональна концентрации ТТГ в образце. Этот формат обеспечивает высокую чувствительность, специфичность и надежность анализа [10].

Формат "сэндвича" не подходит для небольших молекул, которые слишком малы, чтобы два антитела могли связаться с ними без пространственных затруднений, например все стероиды, Т3 и Т4 - общая и свободная фракция, 25-гидроксивитамин D (25 (ОН)D).

Многие тест-системы для определения антител также разработаны в соответствии с "конкурентным" форматом, такие как антитела к рецептору ТТГ (АТ-рТТГ), антитела к ТПО (АТ-ТПО) и антитела к тиреоглобулину (АТ-ТГ). В данном случае в качестве примера авторы приводят количественное исследование на кортизол. В ходе анализа образец инкубируют с антителами к кортизолу и трейсером (кортизол, связанный с меткой, испускающей измеримый сигнал: ферментом, флуоресцентным или люминесцентным соединением, изотопом). Кортизол образца и меченый кортизол конкурируют за участки связывания антител. Молекулы кортизола связываются с антителами и захватываются твердой фазой аналогично "сэндвич"-тесту. Но в отличие от "сэндвич"-теста чем выше концентрация кортизола в образце, тем меньше концентрация меченого кортизола, связанного с антителами. В этом случае калибровоч-

ная кривая является нисходящей, так как концентрация сигнальной метки, связанной с твердой фазой, обратно пропорциональна концентрации кортизола в образце.

В конце инкубации в обоих форматах теста гормон, связанный с антителами реагента, отделяют от реакционной среды. Затем измеряют сигнал, который испускает метка, связанная с этими иммунными комплексами. Исследователи особо отмечают тот факт, что выбор методологии формирования иммунных комплексов разный у каждого производителя реагентов для каждого анализита. Взаимодействие стрептавида и биотина обеспечивает эффективный и удобный метод формирования комплекса антител реагента

(биотинилированное антитело или биотинилированный антиген соединяются со стрептавидином, связанным с твердой фазой). Для каждого исследования строится калибровочная кривая с использованием определенных концентраций анализита. Любые вещества, препятствующие формированию иммунных комплексов, потенциально могут повлиять на результат: например, биотин приводит к ложнозавышенным или заниженным результатам концентрации гормонов в конкурентном (см. рис. 1, А) или неконкурентном "сэндвич"-тесте (см. рис. 1, Б) соответственно, если иммунные комплексы формируются в результате взаимодействия стрептавида и биотина [10].

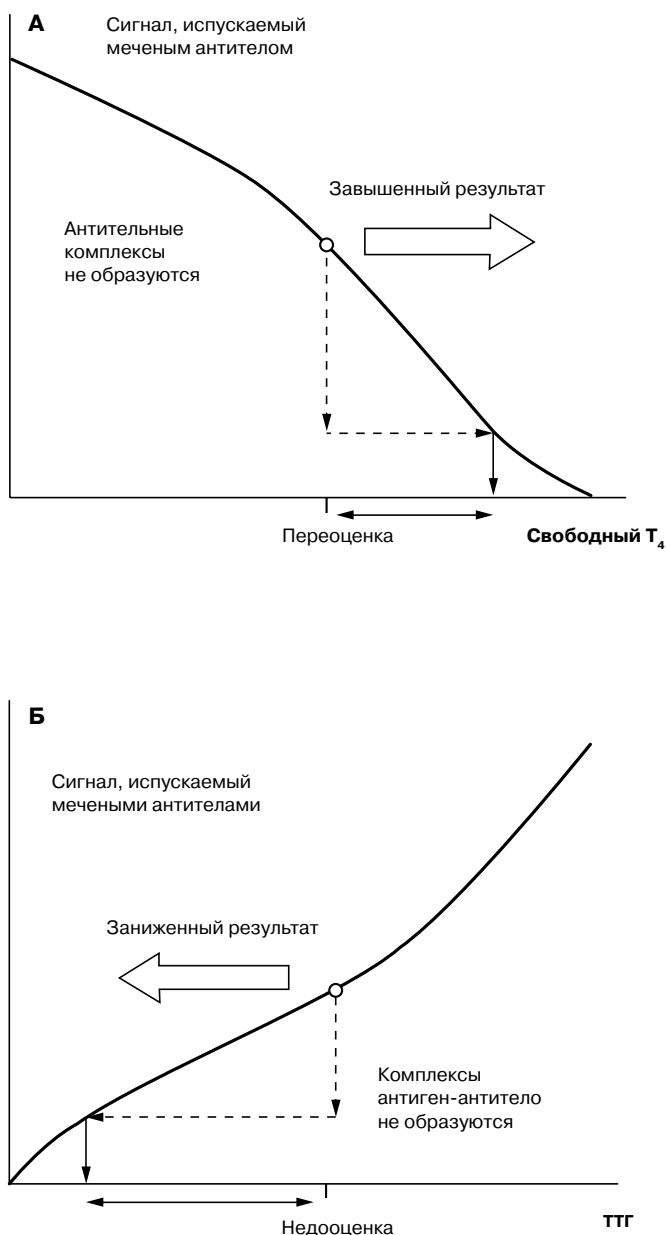


Рис. 1. Механизм интерференции.

Нарушение формирования иммунных комплексов, из-за которого не образуются комплексы антиген-антитело, приводит к переоценке концентрации анализируемого вещества в конкурентном тесте (А) и недооценке концентрации анализита в "сэндвич"-тесте (Б) [10].

Исследователи отмечают, что формат теста типа "сэндвич" теоретически менее уязвим, чем "конкурентный" формат, поскольку антитела в тесте находятся в избытке в отличие от "конкурентного" формата. Однако это замечание следует учитывать с осторожностью, поскольку интерференция также зависит от объема образца, исследуемого в конкретном тесте (чем выше объем образца, тем выше количество биотина в реакционной среде).

Имеет значение также дизайн исследования: проводится оно в один или два этапа, с отмывкой или без нее. Авторы работы подчеркивают, что в зависимости от ди-

зайна рассматриваемых ИХТ могут встречаться как ложнозавышенные, так и ложнозаниженные результаты у одного и того же пациента, а их комбинация может имитировать патологическое гормональное состояние. Например, можно ожидать повышения концентрации свободного трийодтиронина (Т3св), свободного тироксина Т4 (Т4св) и АТ-рТТГ одновременно с низким уровнем ТТГ. Возможна высокая кортизолемиа вкупе со сниженной концентрацией адренокортикотропного гормона (АКТГ) или повышенная концентрации 25 (ОН)D, сопровождающаяся сниженным уровнем ПТГ (табл. 3).

Таблица 1

Возможные ошибки в результатах гормонального тестирования, вызванные интерференцией биотина [10]

Возможные проявления	Ошибочный диагноз	Потенциальный риск/ нежелательные последствия
Тиреотропная ось: низкий ТТГ высокий Т3св., Т4св. высокая концентрация антител	Гипертиреоз Зоб диффузный токсический	Антитиреоидная фармакотерапия Несоответствующее лечение
Метаболизм кальция/фосфатов: высокий 25(ОН)D низкий ПТГ	Интоксикация витамином D Подавление ПТГ	Некорректное обследование, некорректный отказ от пищевых добавок с витамином D, даже у пациента с нормокальциемией Задержка назначения соответствующей терапии
Кортикотропная ось: высокий кортизол низкий АКТГ	Гиперкортицизм	Некорректное обследование, Некорректное лечение в случае терапии кортикостероидами
Гонадотропная ось: высокий тестостерон/ эстрадиол низкий ФСГ, ЛГ	Избыточная периферическая секреция половых стероидов или неочевидное потребление половых стероидов	Некорректное обследование
Соматотропная ось: низкий ИФР-1 низкий СТГ	Дефицит гипофизарного СТГ	Некорректное обследование Возможна инициация некорректной терапии СТГ у ребенка с низким ростом
Беременность низкий ХГЧ	Отсутствие беременности	Задержка в наблюдении за беременной женщиной
Метаболизм глюкозы: низкий инсулин низкий пептид С	Возможно установление диагноза инсулин-зависимого сахарного диабета у пациентов с гипергликемией	Некорректное обследование Возможна инициация некорректной терапии Недиагностированный гиперинсулинизм
Пролактин: низкий пролактин	Не определен	Отсроченное установление диагноза у пациентов с истинной пролактин-секретирующей аденомой

Таким образом, исследователи подчеркивают, что даже если в большинстве случаев клиническая картина не соответствует гормональному профилю, ошибочные результаты тестов могут привести либо к задержке назначения терапии из-за сбивающей с толку лабораторной картины или назначению ненужных исследований. Такого рода расхождения между клинической картиной и результатами лабораторных исследований требуют переоценки результатов гормональных исследований, что может привести к выявлению аналитического артефакта, обусловленного терапией биотином или присутствием антител к стрептавидину [10].

Фармакокинетика биотина

Для лучшего понимания связи между суточной дозой, его концентрацией в крови, временем взятия образца для исследования и выраженностью (степенью) интерференционного влияния на результаты иммуноанализа разными исследователями были изучены фармакокинетические процессы в организме человека при приеме биотина.

В норме уровень циркулирующего в крови биотина обычно колеблется в пределах от 0,1 до 0,8 нг/мл у лиц, прини-

мающих препарат в рекомендуемой физиологической дозе 30 мкг/сут. (Livaniou E. et al., 1987). Биотин быстро всасывается после приема внутрь, и пиковая концентрация его в плазме крови наблюдается через 1-2 часа (Grimsey P. et al., 2017; Bitsch R. et al., 1989). По данным исследователей после перорального приема препаратов содержащих биотин в дозе 10 мг, являющейся самой высокой дозой в некоторых препаратах безрецептурного ряда, максимальный уровень биотина в плазме крови варьировал в диапазоне концентраций от 55 до 140 нг/мл (225-573 нмоль/л) (Grimsey P. et al., 2017), тогда как при приеме биотина в дозе 100 мг пик уровня биотина в плазме крови регистрировался в диапазоне концентраций от 375 до 450 нг/мл (1535-1842 нмоль/л) (Peuro Saint Paul L. et al., 2016). Постепенное накопление биотина в организме действительно происходит; исследованиями было установлено, что последовательный ежедневный прием препарата приводит к увеличению его концентрации в плазме крови: на 7 день приема концентрация циркулирующего биотина была в два раза выше, чем в 1 день (Grimsey P. et al., 2017). Анализ данных показал, что стабилизация концентрации в плазме крови достигается после 3 дней постоянного приема биотина (Grimsey P. et al., 2017). Биотин

удаляется из организма путем экскреции через почки. В низких концентрациях он быстро выводится из организма здоровых людей, период полувыведения составляет примерно 2 часа (Bitsch R. et al., 1989), наряду с этим результаты исследований при приеме высоких доз препарата свидетельствуют о периоде полувыведения до 18,8 часа (Peuro Saint Paul L. et al., 2016). Результаты фармакокинетического исследования с участием практически здоровых людей показали, что концентрация биотина в крови может снижаться до 20 нг/мл (81,9 нмоль/л) через 1; 5,5; 20; 108 и 146 часов после перорального приема биотина в дозировке 1, 5, 10, 100 и 300 мг соответственно (Grimsey P. et al., 2017). Однако замедленный клиренс и/или более высокие концентрации циркулирующего биотина в крови могут наблюдаться у лиц с нарушенной функцией почек [4]. По результатам проведенных исследований Grimsey P. et al. (2017) сформулировали основные выводы:

- при потреблении биотина в пределах физиологической нормы, его концентрация в сыворотке крови очень мала: <0,1 - 0,8 нг/мл и не вмешивается в иммунный анализ;
- при приеме биотина <1 мг/сут (дозировка характерная для безрецептурных мультивитаминных препаратов) уровни биотина в сыворотке крови падают ниже 10 нг/мл через 2 часа;
- при приеме биотина ≤10 мг/сут (максимальная дозировка, характерная для пищевых добавок) достижение порога для интерференции биотина в сыворотке крови (т.е. >30 нг/мл) достигается через 8 часов;
- при приеме биотина ≥20 мг/сут (более чем 400-кратное превышение адекватной суточной потребности в биотине) достижение порога для интерференции биотина в сыворотке крови, т.е. >30 нг/мл, может наступить через 31 час после последнего приема;
- если порог интерференции для технологии иммунного анализа составляет <30 нг/мл, а пациент принимает биотин в дозе >10 мг, рекомендуется увеличить период выведения, т.е. время от последнего приема до взятия крови до 73 часов [9, 1].

Результаты экспериментальных исследований *in vivo* и *in vitro*

В ряде работ зарубежных авторов было изучено влияние высоких концентраций биотина на результаты исследований *in vivo* и *in vitro* с использованием разных ИХТ.

В целом стратегия изучения интерферирующего влияния биотина на результаты лабораторных тестов заключалась в проведении исследований *in vivo* с использованием перекрестного дизайна, в котором образцы крови забирались у участников исследования до (базовый уровень) и после приема препаратов биотина. Результаты исследований Wijeratne N.G. et al. (2012), Trambas C.M. et al. (2016), Lim S.K. et al. (2017) и Biscolla R.P.M. et al. (2017) с применением этого дизайна продемонстрировали, что однократный прием биотина (в дозе 10 - 300 мг) здоровыми добровольцами может вызвать интерференцию при использовании ряда ИХТ (например, в тестах для определения уровня Т4св, Т3св, ТТГ, дегидроэпиандростерон-сульфата (ДЭА-S04), эстрадиола, тестостерона, ферритина,

прогестерона, витамина В12, ПСА, ПТГ, ЛГ и ФСГ). В исследовании Li D. et al. (2017) было показано, что среди 6 здоровых добровольцев, принимавших препараты биотина в дозе 10 мг в день в течение 7 дней, биотин-ассоциированная интерференция обнаружена в 9 из 23 биотинилированных иммунотестов производства трех компаний (Roche, Ortho Clinical Diagnostics, Siemens), среди которых тесты для определения ТТГ, Т3общ, Т4св, Т3св, ПТГ, NT-proBNP (мозгового натрийуретического пептида - маркера оценки сократительной функции миокарда) и 25 (ОН)D. Результаты исследований показали различную степень интерференции биотина в тест-системах разных производителей [4].

Несмотря на то, что при проведении исследований *in vivo* ИХТ хорошо работают при определении аналитов постоянно присутствующих в крови, они не эффективны для аналитов, которые определяются только при некоторых физиологических (например, ХГЧ в период беременности) или патологических состояниях (например, онкомаркеры). Для изучения влияния биотина на результаты определения такого рода аналитов наиболее приемлемыми являются исследования *in vitro*. В экспериментах *in vitro* ряд авторов (Li D. et al., 2017; Ali M. et al., 2017; Willeman T. et al., 2017; Trambas C. et al., 2018) исследовали образцы сыворотки/плазмы крови от пациентов с известным содержанием аналита после добавления биотина в заранее известных концентрациях. По результатам проведенных исследований были сформулированы три основных вывода. Во-первых, степень биотиновой интерференции напрямую связана с количеством биотина, добавленного в образец, то есть чем выше концентрация биотина в исследуемом образце, тем сильнее интерференция. Во-вторых, в тест-системах разных производителей интерференция биотина может иметь разную степень выраженности, и этот факт согласуется с результатами исследований *in vivo* (Li D. et al., 2017). И, в-третьих, степень интерференции биотина может варьировать в разных аналитических сериях ИХТ одного и того же производителя (Willeman T. et al., 2017) [4].

Интерференция биотина в клинической практике

Создание высокочувствительных ИХТ, определяющих минимальные количества гормонов в крови, является "краеугольным камнем" практической эндокринологии. Несмотря на огромные достижения в этой области, периодически появляются новые причины погрешностей измерения, связанные с конструктивными особенностями тестов, многие из которых используются для исследования образцов биоматериала пациентов, принимающих биотин-содержащие препараты. В частности, зависимость от концентрации биотина в крови интерференция может привести к получению недостоверных (противоположных истинным) результатов определения содержания ряда гормонов в крови с использованием ИХТ на основе комплекса "стрептавидин - биотин".

В последние годы наблюдается возрастание интереса к проблеме биотиновой интерференции в иммунном анализе. По всей вероятности, это вызвано тем обстоятельством, что данный вид интерференции является одним из наиболее сложных для выявления и поиска способов устранения.

Интерференция биотина при определении уровня гормонов

Большинство случаев биотиновой интерференции выявлено при определении уровня тиреоидных гормонов; кроме того зарегистрированы случаи интерференции биотина при проведении тестирования и на другие гормоны, например, такие как ТТГ, АКТГ, пролактин, тестостерон и кортизол.

Приводимые описания клинических наблюдений и лабораторных результатов ряда исследователей разных стран, на наш взгляд, могут оказаться полезными в повседневной практической работе профильных специалистов.

Коллектив исследователей из отделения эндокринологии крупной клинической больницы Вайкато (Waikato Hospital) в Гамильтоне (Новая Зеландия) - Elston M.S. et al. (2016) - описал клинический случай ошибочной диагностики болезни Грейвса (диффузный токсический зоб) на основании аномальных результатов иммунохимических исследований на тиреоидные гормоны, вызванных влиянием биотина, а также провели анализ опубликованных данных по теме исследования [13].

Положительные результаты ИХТ на тиреоидные гормоны с целью оценки функциональной активности щитовидной железы (ФЩЖ) были получены при отсутствии явных клинических проявлений заболевания у пациента. Это позволило авторам сделать предположение об интерферирующем влиянии на результаты анализов биотина, содержащегося в принимаемых пациентом препаратах. После прекращения приема биотина результаты лабораторных ИХТ на тиреоидные гормоны нормализовались гораздо быстрее, чем ожидалось (исходя из того, что период полувыведения Т4 из плазмы крови составляет около 7 дней), что согласовывалось с данными литературных источников о влиянии биотина на результаты иммуноанализа. В своей работе, авторы приводят хорошо и давно известные факты о биотине (витамине В7), как о веществе, участвующем в широком спектре метаболических процессов в организме человека, и являющемся распространенным компонентом поливитаминных препаратов; упоминают о рекомендуемой суточной дозе (РСД) потребления биотина, составляющей примерно 30 мкг в день и его использовании в метаболической терапии прогрессирующего рассеянного склероза (ПРС).

Вместе с тем, основываясь на результатах собственного исследования и данных литературы, исследователи подчеркивают, что прием препаратов, содержащих биотин в умеренных и высоких дозах, может изменять результаты иммунологических тестов в зависимости от формата анализа, биотиновая интерференция может причиной как ложнозавышенных, так и ложнозаниженных показателей. Интерференция не ограничивается тестами на маркеры для оценки ФЩЖ и может оказывать влияние на результаты исследований широкого спектра аналитов.

В заключение авторы акцентируют внимание на необходимости широкого информирования практикующих врачей о возможной интерференции биотина в иммунном анализе; расширение знаний специалистов по данному вопросу позволит предотвратить постановку неверного диагноза и назначение неадекватного лечения [13].

В 2016 г. Barbesino G. - специалист отделения тиреологии Массачусетской больницы общего профиля - одной из крупнейших клинических больниц в США (г. Бостон, шт. Массачусетс) - также опубликовал статью, в которой описал случай биотиновой интерференции в своей клинической практике [14].

У пациента с диагнозом ПРС были обнаружены чрезвычайно высокие уровни Т4св, Т3св и низкое содержание ТТГ в крови. Уровень АТ к рТТГ также оказался повышенным. На основании полученных результатов лабораторных исследований у пациента можно было заподозрить тяжелую форму болезни Грейвса. Все тест-системы, показавшие аномальные результаты, были сконструированы на основе взаимодействия стрептавидина и биотина. У пациента отсутствовали симптомы гипертиреоза, а детальный анализ принимаемых им лекарственных препаратов для терапии ПРС выявил препараты, содержащие биотин в высоких дозах (мегадозах). Временное прекращение терапии биотином привело к полной нормализации лабораторных показателей.

Полученные данные позволили автору сделать вывод о том, что прием препаратов (лекарственных средств, витаминов, биодобавок), содержащих биотин в дозах, превышающих физиологические потребности, может привести к эффекту интерференции в ряде иммунологических тестов для оценки тиреоидного статуса, включая определение содержания в крови Т3, Т4, ТТГ, ТГ и АТ к рТТГ, что может привести к постановке ошибочного диагноза. В заключение автор подчеркивает, что в процессе сбора анамнеза пациенту должны быть заданы вопросы о приеме препаратов биотина; опрос должен проводиться до лабораторной оценки ФЩЖ. Для того чтобы избежать серьезных ошибок в диагностике необходимо сделать перерыв в приеме биотин-содержащих препаратов и прекратить их прием, по меньшей мере за два дня до проведения исследований с использованием биотин-чувствительных тестов [14].

Годом позднее группа французских исследователей (Al-Salameh A. et al., 2017) представила случай ошибочной диагностики болезни Грейвса (гипертиреоза) у 32-летнего пациента с наличием заболевания "Х-сцепленная аденолейкодистрофия" (адреномиеелонеуропатия) [12].

Сопутствующий основному диагнозу "болезнь Грейвса" был поставлен пациенту по результатам лабораторных исследований. Он был направлен в одно из медицинских учреждений Франции для оценки реакции организма на терапию антигипертиреозными препаратами. Несмотря на то, что пациент на протяжении 6 недель получал антигипертиреозный препарат карбимазол в дозе 40 мг/сут, результаты анализов с использованием ИХТ тестов продолжали соответствовать диагнозу гипертиреоза. Авторы не обнаружили никаких признаков тиреотоксикоза при физикальном обследовании пациента, несмотря на "выраженный и тяжелый" биохимический гипертиреоз. Заметив, что все исследования проводились в одной и той же лаборатории, авторы заподозрили наличие эффекта интерференции при использовании тест-систем одного формата. Поэтому комплекс лабораторных исследований по оценке ФЩЖ был проведен повторно в лаборатории стационара на другой аналитической платформе.

Все результаты анализов оказались нормальными, что подтвердило предположение авторов о воздействии интерференции на результаты предыдущих исследований. Также было установлено, что в рамках изучения терапевтического эффекта при применении высокодозного биотина при X-сцепленной адреномиелонейропатии данный пациент получал экспериментальную "витаминную" терапию препаратом биотина в дозе 100 мг трижды в сутки.

В результате анализа полученных данных авторы пришли к выводу, что широко используемые для определения уровня гормонов иммунохимические диагностикумы на основе стрептавидин-биотинового взаимодействия подвержены влиянию интерференции при проведении исследований у пациентов, принимающих препараты содержащие биотин. В этих случаях интерференция может быть причиной искажения лабораторных результатов и имитировать патологический гормональный профиль, что может привести к постановке ошибочного диагноза, назначению неадекватной или ненужной терапии [12].

Авторы исследования сходятся во мнении о необходимости проведения лечащими врачами опроса пациентов о возможном потреблении биотина, особенно в тех случаях, когда результаты лабораторных исследований не соответствуют клинической картине заболевания. При подозрении на интерференцию биотина настоятельно рекомендуют использовать другие тест-системы, сконструированные не на принципе взаимодействия стрептавидина и биотина, или повторить анализ через неделю после прекращения приема биотин-содержащих препаратов [12].

В 2018 г. исследователи из отделения эндокринологии, диабетологии и метаболических заболеваний Университетской клиники Антверпена (Эдегем, Бельгия) опубликовали результаты исследования, посвященного изучению причин ложной диагностики болезни Грейвса у 60-летней пациентки с бессимптомно протекающим первичным ПРС, получавшей терапию высокими дозами биотина (3×100 мг/сут) [15].

При лабораторном исследовании у пациентки были обнаружены аномальные результаты тестов для оценки ФЦЖ ($\text{ТТГ} = 0,02$ МЕ/л, $\text{T4св} > 103$ пмоль/л и $\text{T3св} > 46$ пмоль/л). Уровень ТТГ определяли при помощи теста на основе "сэндвич"-варианта гомогенного иммунохемилюминесцентного анализа (ИХЛА), а уровень Т4св и Т3св - при помощи теста на основе последовательного гомогенного ИХЛА. С использованием теста на основе электрохемилюминесцентного иммуноанализа (ЭХЛА) было обнаружено, что уровень АТ-рТТГ был значительно повышен (> 40 МЕ/л), результаты анализов позволили заподозрить гипертиреоз Грейвса. Из-за несоответствия между клинической картиной и результатами лабораторных тестов было проведено повторное исследование с использованием двух других ИХТ. Результаты лабораторных исследований при помощи тест-систем на основе прямого конкурентного формата ИФА для определения ТТГ и тестов на основе ИХЛА для определения Т4св и Т3св свидетельствовали о субклиническом гипертиреозе ($\text{ТТГ} < 0,02$ МЕ/л, $\text{T4св} - 15,9$ пмоль/л и $\text{T3св} - 4,7$ пмоль/л). С помощью ИХЛА на микрочастицах были получены нормальные результаты исследований на тиреоидные маркеры ($\text{ТТГ} - 1,66$ МЕ/л, $\text{T4св} - 15,3$ пмоль/л

и $\text{T3св} - 4,7$ пмоль/л). В тест-системах, использующих в качестве реагента биотин (т.е. основанных на взаимодействии стрептавидина и биотина), были получены аномальные показатели уровня ТТГ, Т4св, Т3св и АТ-рТТГ.

На основании полученных результатов авторы пришли к выводу, что ложные результаты тестов, используемых для оценки ФЦЖ у клинически эутиреоидной пациентки были получены из-за значительного влияния биотина, обнаруженного в плазме крови в супрафизиологических концентрациях. И подчеркнули, что результаты лабораторных исследований, проводимых при помощи ИХТ, использующих в своей конструкции биотиновый компонент, следует интерпретировать с осторожностью у пациентов, получающих заместительную терапию биотин-содержащими препаратами [15].

Безусловно, исключить влияние аналитической интерференции очень важно в тех случаях, когда выявляются расхождения между клиническими и лабораторными данными. Однако интерференцию в иммуноанализе зачастую ошибочно принимают за отдельные, изолированные лабораторные артефакты.

В исследовании Lam L. et al. (2018) - специалистов нескольких профильных учреждений Новой Зеландии описаны два клинических случая "явного гипертиреоза", диагностированного в результате аналитической интерференции, вызванной высоким сродством IgM к стрептавидину [16].

Первая пациентка - 77-летняя женщина, предъявлявшая жалобы на ухудшение общего состояния, упадок сил и быструю утомляемость после приема карбимазола, терапию которым она получала на протяжении нескольких лет. Однако по результатам тиреоидных тестов снижение уровня гормонов ЩЖ в крови обнаружено не было. Вторая пациентка - 25-летняя женщина с диагнозом явного первичного гипертиреоза, также получала терапию карбимазолом. Несмотря на повышенный уровень Т4св, наиболее низкий уровень ТТГ составил $0,17$ мМЕ/л. В обоих случаях результаты тиреоидных тестов, выполненных альтернативным методом, заметно отличались. Дальнейшее исследование образцов сыворотки крови обеих пациенток обнаружило наличие аналитической интерференции во многих иммунотестах, созданных на основе системы "стрептавидин-биотин". Результаты тестов, сконструированных в "сэндвич-формате" (для определения уровня ТТГ, ФСГ, тропонина Т, бета-ХГЧ) оказались ложно заниженными, в то время как результаты тест-систем в формате "конкурентного" ИФА (для определения уровня Т4св, Т3св, иммуноглобулинов, ингибирующих связывание ТТГ) были ложно завышенными. Введение предварительной инкубации сыворотки крови с микрочастицами, покрытыми стрептавидином, позволило устранить аналитическую интерференцию. Первоначально авторы предположили, что причиной интерференции является биотин. Однако ни одна из пациенток не принимала биотин-содержащие препараты. Вместо него в образцах сыворотки крови каждой пациентки был обнаружен IgM, молекулярной массой около 100 кДа, обладающий высоким сродством к стрептавидину. Полученные данные подтверждают, что причиной аналитической интерференции явились IgM к стрептавидину.

В заключение авторы сделали вывод, что аналитическая интерференция, детектированная в каком-либо иммуноteste, должна с большей вероятностью распознаваться при тестировании с использованием других тестов. Выявление причин интерференции может помочь в дальнейшем идентифицировать эти причины и при использовании других иммунологических тестов. В случае антистрептавидиновых антител возможна имитация интерференции, обусловленной приемом биотина. Однако степень выраженности интерференции варьируется между отдельными тестами и между результатами исследований у разных пациентов [16].

Аргентинские исследователи (Bergoglio M.T. et al., 2019) описали клинический случай из практики, в котором у пациентки, в ходе исследований по оценке фертильности и вероятности наступления беременности, оценивали также ФЩЖ, в результате чего был обнаружен измененный тиреоидный профиль с повышенным уровнем Т4св при нормальном уровне ТТГ [17]. После исключения тиреотропной аденомы гипофиза и при отсутствии клинических симптомов гипертиреоза было проведено исследование по выявлению возможных интерференций в ИХТ, используемых для определения уровня гормонов.

Авторы отметили, что интерференции, вызванные присутствием в крови пациентов ГА, макро ТТГ, анти тиреоидных антител и биотина известны и описаны, но в меньшей степени - вызванные присутствием антител к стрептавидину и рутению. Исследование образцов крови пациентки проводили при помощи ИХТ на аналитической платформе, основанного на использовании стрептавидин-биотиновой технологии, являющейся очень чувствительной к нескольким видам интерферентов. Предложенный авторами алгоритм включал проведение серии исследований при помощи "простых" для выполнения тестов (позволяющих обнаруживать или исключать наличие интерферирующих веществ) и дальнейшую интерпретацию результатов. В соответствии с этим, были проведены сравнительные исследования: на другой аналитической платформе (в которой не используется стрептавидин-биотиновая система), с использованием метода серийных разведений, осаждения полиэтиленгликолем 6000 (ПЭГ-6000) и обработки микрочастицами, покрытыми стрептавидином. Полученные результаты подтвердили наличие антител к стрептаvidину в сыворотке крови пациентки.

Основываясь на данных проведенного исследования, авторы пришли к выводу, что в случае несоответствия между клиническими проявлениями и лабораторными результатами всегда следует изучать возможность присутствия аналитических интерферентов для того, чтобы избежать потенциального ятрогенного риска, связанного с ошибочной интерпретацией биохимических показателей [17].

Биотиновая интерференция является серьезной проблемой клинической лабораторной диагностики, о которой должны быть информированы сотрудники лабораторий. Авторы коллективной работы (Trambas C. et al., Австралия, 2018) предприняли попытку систематизировать данные об интерференционных ошибках при проведении исследований с использованием иммунологических тестов, производства компании "Roche" (Швейцария) [18].

Исследовали образцы сывороток крови с известным содержанием биотина и анализировали влияние разных концентраций на результаты исследований с использованием ИХТ "конкурентного" и "сэндвич" форматов. Максимальные и минимальные значения диапазона концентраций биотина определяли по его содержанию в образцах сывороток крови лиц, принимавших биодобавки, содержащие биотин в дозе от 5 до 10 мг - для нижней границы диапазона и в дозе от 100 до 300 мг - для верхней границы.

По результатам исследования обнаружена значительная вариабельность толерантности к биотину. Некоторые тесты для определения уровня тропонина Т, ТТГ и АТ-ТПО оказались чрезвычайно чувствительны к более низким концентрациям биотина (15,6 и 31,3 нг/мл), в то время как большинство тестов были относительно устойчивыми. При концентрациях биотина > 500 нг/мл во всех тестах обнаружена значительная интерференция, но величина интерференции была вариабельной. Более чувствительные тесты продемонстрировали выраженное аналитическое смещение (систематическую ошибку) в значениях концентрации биотина, которые возникают при терапии высокими дозами препарата.

Полученные данные демонстрируют высокую вариабельность толерантности к биотину при проведении исследований с использованием тест-систем производства "Roche". Построение кривой зависимости "доза-эффект" дает более детальную информацию, чем приведенная информация толерантности к биотину. Соответственно, эти данные могут быть использованы лабораториями для более точной оценки риска при прогнозировании влияния биотина на результаты исследований. Приведенные данные также могут быть экстраполированы для определения сроков исследования образцов крови у пациентов, получающих терапию высокими дозами биотина: это характеризует величину периода полувыведения, необходимого для определения среднего времени удерживания биотина, чтобы снизить его концентрацию до достижения уровня заданной толерантности теста [18].

Иммунохимические тест-системы на автоматических платформах, используемые для оценки ФЩЖ, могут быть подвержены воздействию различных интерферирующих веществ (интерферентов), которые могут исказить результаты лабораторных исследований и приводить к неверным клиническим решениям.

В исследовании Бельгийских авторов (Favresse J. et al., 2018) представлен подробный обзор шести основных видов интерферентов, которые, как известно, могут оказывать влияние на результаты определения уровня ТТГ, Т4св и Т3св, среди которых: макро-ТТГ (макротиротропинемия), биотин, антистрептавидиновые антитела, антитела, меченные рутениевым комплексом, АТ-ТПО и ГА [19].

Поскольку распространенность некоторых патологических состояний, вызванных дисфункцией ЩЖ, по литературным данным, приближается к 1%, и для контроля работы ЩЖ важно систематически определять маркеры, масштаб поднимаемой проблемы может оказаться значительным. Присутствие потенциальных интерферентов при проведении лабораторной оценки функциональной активности ЩЖ следует заподозрить всякий раз, когда наблюдается несоответствие между биохимическими показате-

лями и клиническими признаками заболевания. Их идентификация обычно основывается на дополнительных лабораторных исследованиях, включая сравнительные исследования в тест-системах разного формата, исследование разведенных образцов сыворотки крови, тестирование блокирующих реагентов и использование методики преципитации с ПЭГ. На основании изменений паттернов теста для оценки тиреоидной функции, для скрининга шести вышеупомянутых видов интерферентов авторами был предложен алгоритм, который должен облегчить их идентификацию на практике.

В настоящем исследовании авторы также оценивали клиническую значимость влияния интерференции на результаты тиреоидных тестов. Изучив данные историй болезни более чем 150 пациентов, авторы обнаружили эффект интерференции в $\geq 50\%$ протоколов исследований с использованием тиреоидных тестов, что приводило к ошибочной диагностике и/или назначению неадекватной или ненужной терапии (с неблагоприятными клиническими эффектами в некоторых ситуациях), неадекватной супрессивной терапии или модификации длительной (поддерживающей) терапии или проведению ненужных дополнительных исследований, таких как скинтиграфия (сканирование) ЩЖ с ^{123}I . Исследователи подчеркнули необходимость тесного взаимодействия между лечащими врачами и специалистами лабораторий во избежание описанных ошибок [19].

Препараты с различным содержанием биотина доступны для широкого потребления, отпускаются без рецепта врача и используются в медицинских и косметических целях при проблемах с волосами и ногтями, а также для метаболической терапии у пациентов с ПРС.

Серию случаев ошибочной лабораторной диагностики при оценке тиреоидной функции, связанных с потреблением препаратов биотина в 2019 г. представили также и медицинские специалисты из Басры (Odhaib S.A. et al., 2019) [20].

Авторы данного исследования описывают четыре клинических случая, связанных с потреблением 20-30 мг биотина в течение различных периодов времени, что привело к ложноположительным результатам тестов для оценки ФЩЖ, на основании которых была ошибочно диагностирована болезнь Грейвса. Во всех четырех случаях у пациентов отсутствовали признаки и симптомы гипертиреоза, и во всех случаях показатели лабораторных исследований возвращались к исходным значениям в течение 24-48 часов после отмены препаратов биотина. В данном исследовании описаны выявленные случаи влияния интерференции биотина на результаты тиреоидных тестов, полученных в специализированном медицинском центре в течение года. Группировка результатов анализов и доз принимаемого биотина проводилась методом случайной выборки. В первом случае при плановом обследовании у 23-летней женщины была диагностирована болезнь Грейвса после приема внутрь в течение 3-х месяцев препарата биотина в предписанной дозе 20 мг/сутки для приостановления чрезмерного выпадения волос. Во втором случае пациентка - 19-летняя женщина, с выявленной железодефицитной анемией, приведшей к проблемам, связанным с изменением состояния волос и ногтей. Пациентка принимала биотин в дозе 20 мг/сутки в течение месяца. Она об-

ратилась к врачу-эндокринологу по поводу повышенного содержания тиреоидных гормонов в крови, при отсутствии клинической симптоматики гипертиреоза. В третьем случае пациентом оказался 45-летний мужчина с субтотальной тиреоидэктомией по поводу ретростернального многоузлового зоба с компрессионными симптомами. Обычная доза принимаемого им левотироксина была снижена со 100 до 50 мкг в день, в результате чего пациент почувствовал недомогание, набрал четыре лишних килограмма веса, у него были обнаружены признаки и симптомы гипотиреоза. При наличии клинических признаков гипотиреоза результаты лабораторных исследований соответствовали гипертиреоидному состоянию, что было алогичным. По назначению врача пациент принимал препарат биотина в дозе 30 мг, для лечения изменений ногтей, вызванных недавно диагностированным псориазом. Четвертый случай - это случай одного из авторов данного исследования, который добровольно согласился принимать 30 мг биотина ежедневно в течение одной недели. Результаты его первоначальных анализов были в пределах нормы, но в дальнейшем, по истечении указанного периода, изменились и стали практически аналогичными таковым при болезни Грейвса, без признаков или симптомов патологии.

В заключение авторы отметили, что прием внутрь препаратов биотина в дозе 20 мг или более может привести к клинически значимой ошибке тестирования, связанной с интерференцией в иммунологическом анализе на гормоны ЩЖ. Врачам-клиницистам необходимо учитывать этот факт для правильной интерпретации результатов любых тиреоидных тестов [20].

Принимая во внимание тот факт, что интерференция биотина представляет серьезную проблему при определении уровня тиреоидных гормонов в сыворотке крови, поскольку может способствовать имитации определенного гормонального профиля болезни Грейвса при отсутствии клинических признаков этого заболевания, исследователи из "Клиники ядерной медицины и молекулярной визуализации" и "Координационного центра по патологии щитовидной железы", Швейцария (Giovanella L., Imperiali M. et al., 2019) представили результаты своей работы [21].

Авторы выявили и описали два клинических случая биотиновой интерференции, которая привела к недостоверным результатам лабораторных исследований на тиреоидные гормоны. В обоих случаях в клинику были направлены пациенты, имеющие по лабораторным данным очень высокие уровни Т3 и Т4 и сниженный уровень ТТГ, характерные для гипертиреоза, с отсутствием типичных клинических симптомов гиперактивности ЩЖ, а данные физикального осмотра были без особенностей. Оба пациента находились на лечении в специализированном неврологическом центре по поводу рассеянного склероза и получали высокие дозы биотина в ходе экспериментальных клинических исследований, но пациенты и их лечащие врачи не знали о возможном влиянии биотина на результаты анализов, это свидетельствовало о том, что данный риск недостаточно хорошо изучен.

По результатам собственного наблюдения исследователи сформулировали ряд рекомендаций для медицинских специалистов. В случае выявления любой интерфе-

ренции в клиническом лабораторном исследовании, необходимо проводить дополнительные обследования с использованием других методов и средств. В частности, важно чтобы тиреоидная дисфункция, обнаруженная по результатам определения лабораторных показателей, была подтверждена результатами клинических исследований и средств визуализации (например, ультразвукового исследования или, если показано, скинтиграфии ЩЖ - радиоизотопного сканирования с определением уровня поглощения изотопа щитовидной железой). При этом проведение ненужных исследований, показавших отрицательный результат, может привести к назначению неадекватной терапии. Конечно, лечение можно начинать и на основании положительного результата лабораторного теста, без других подтверждающих обследований, но только в том случае, если у пациента есть явные клинические симптомы гипертиреоза (например, учащенное сердцебиение, потеря веса). Однако при отсутствии четких признаков и симптомов болезни начинать лечение, основываясь только на лабораторных показателях уровня биомаркеров в крови, не рекомендуется [21].

Choi J. и Yun S.G. - специалисты клинической лабораторной диагностики медицинского колледжа Корейского университета (Сеул, Корея) в 2020 г. опубликовали результаты сравнительного исследования по изучению влияния биотиновой интерференции на результаты анализов ИХТ 2-го и 3-его поколения, производства компании "Roche Diagnostics" (Индианаполис, США), предназначенных для определения уровня Т4св [22].

Авторы настоящей работы отмечают, что поскольку тест "Roche Elecsys" основан на системе "стрептавидин - биотин", возможно получение ошибочных результатов при исследовании образцов плазмы крови с высокой концентрацией биотина. Определение уровня Т4св с использованием ИХТ "конкурентного" формата, производства "Roche Diagnostics", показало, что высокая концентрация биотина в крови приводит к ложно-завышенным результатам в тесте 2-го поколения "Elecsys FT4II". Недавно компания "Roche Diagnostics" выпустила тест 3-его поколения "Elecsys FT4 III", который, как утверждается, лучше работает в присутствии биотина в исследуемых образцах. Настоящее исследование является первым исследованием по оценке интерференции биотина в тестах для определения уровня Т4св, проведенного путем сравнения недавно выпущенного теста "Elecsys FT4 III" с тестом "Elecsys FT4 II" предыдущего поколения с использованием анализатора Cobas e602 ("Roche Diagnostics"). Экспертный совет клиники "Анам" при Корейском Университете (Сеул, Корея) одобрил результаты данного исследования. Пул образцов сыворотки от 10 пациентов с тремя разными концентрациями аналита - Т4св (высокий уровень концентрации составляет >3 нг/дл; нормальный: $0,89 - 1,8$ нг/дл; низкий уровень $<0,8$ нг/дл) получали путем смешивания трех или четырех образцов сыворотки крови, оставшихся после проведения рутинных клинических исследований на Т3 и Т4св.

Биотин был приобретен в компании "Sigma-Aldrich" (Сент-Луис, штат Миссури, США) для приготовления рабочего раствора (4000 нг/мл) для исследования пула сыворотки крови (по 4 мл на каждый уровень концентрации

аналита). Образцы с высокой, нормальной и низкой концентрацией аналита смешивали с исходным рабочим раствором биотина ($9:1$, пул с высоким содержанием биотина). Для каждого образца, ранжированного по содержанию Т4св, пулы сыворотки с нулевым и высоким содержанием биотина последовательно разбавляли для получения образцов с биотиновой добавкой (с содержанием биотина в концентрации $12,5; 25, 50, 100, 200$, и 400 нг/мл). Для обоих тестов на Т4св все образцы анализировали в двух повторях при помощи анализатора Roche Cobas e602. Все исследования были завершены менее чем за восемь часов. Относительную систематическую ошибку (смещение) вычисляли по формуле: $\text{смещение} (\%) = ([\text{обработанный биотином аналит}] - [\text{необработанный аналит}]) / [\text{необработанный аналит}]$.

Для определения концентрации биотина, вызывающего интерференцию, клинически значимое смещение (отклонение) было определено как изменение результата на 10% . Для теста "Elecsys FT4 II" концентрация биотина ≥ 50 нг/мл вызывала положительное смещение при исследовании образцов с низкой и высокой концентрацией аналита, в то время как образцы с нормальной концентрацией демонстрировали смещение $>10\%$, начиная с 100 нг/мл биотина. Для теста "Elecsys FT4 III" пулы образцов сыворотки крови с низкой и нормальной концентрацией аналита показали положительное смещение в $32,5$ и $27,7\%$ при 400 нг/мл биотина соответственно. Для образцов с высокой концентрацией положительное смещение составило $39,2$ и $43,8\%$ при концентрациях биотина 200 и 400 нг/мл соответственно. В техническом паспорте на "Elecsys FT4 II" указан порог биотиновой интерференции ≤ 25 нг/мл. Таким образом, результаты исследования продемонстрировали, что тест "Elecsys FT4 III" менее чувствителен к биотиновой интерференции и подтверждают показатель откорректированного порога биотиновой интерференции (≤ 100 нг/мл).

В заключение авторы данного исследования констатируют, что при использовании теста 3-его поколения "Elecsys FT4 III" наблюдалось уменьшение (ослабление) влияния биотиновой интерференции по сравнению с тестом предыдущей версии, но было отмечено большое количество ложных результатов [22].

Наряду с этим, исследователи подчеркивают, что специалисты по лабораторной диагностике, врачи-клиницисты и пациенты должны быть осведомлены о потенциальной биотиновой интерференции в ИХТ, основанных на взаимодействии стрептавида и биотина, и принимать меры для минимизации риска получения ложных результатов. При подозрении на биотиновую интерференцию для снижения риска получения ложных результатов могут быть проведены дополнительные исследования образцов сыворотки/плазмы крови, в том числе: тестирование при помощи тестов с альтернативным форматом (без биотина) постановки, использование разбавителя образца или удаление избытка биотина при помощи магнитных шариков, покрытых стрептавидином (Gifford J.L. et al., 2018; Trambas C. et al., 2018). Кроме того, основываясь на анализе данных популяционной фармакокинетики влияния экзогенного биотина, авторы данной работы рекомендуют исследовать образцы биоматериала от пациентов, получающих высокодозную терапию препаратами биотина (>5 мг/сут) не раньше, чем через 8 часов после последне-

го введения/приема биотина (Grimsey P. et al., 2017; Peyro Saint Paul L. et al., 2016; Trambas C. et al., 2018) [22].

Группа исследователей из онкологического центра им. М.Д. Андерсона (шт. Техас, США) в 2018 г. провела исследование по выявлению влияния биотина на результаты иммунохимических исследований при определении нескольких аналитов. Использовали пул образцов сывороток крови пациентов с различной концентрацией биотина в них. Содержание аналитов в образцах сыворотки крови определяли при помощи ИХТ "сэндвич" или "конкурентного" формата на платформе Roche Cobas 8000 e602 [23].

Результаты данной работы продемонстрировали ложное занижение показателей при определении уровня высокочувствительного кардиомаркера тропонина Т, ТТГ и ФСГ в ИХТ "сэндвич" формата и ложное завышение результатов при определении Т3 и витамина D в ИХТ "конкурентного" формата.

Авторы данного исследования в очередной раз подчеркнули, что интерференция биотина может оказывать влияние на результаты иммунологических исследований и приводить к ошибочным результатам. В связи с этим лечащие врачи должны проявлять предельную осторожность при затруднительной интерпретации или аномальных результатах анализов у пациентов, принимающих биотин-содержащие препараты [23].

Интерференция биотина при определении кардиомаркеров

Аналитическая интерференция со стороны биотина является серьезной проблемой клинической лабораторной диагностики и здравоохранения в целом, поскольку ИХТ на основе взаимодействия стрептавидина и биотина используются не только для определения уровня гормонов при эндокринной патологии, но также и ряда биомаркеров в диагностике анемии, злокачественных новообразований, сердечно-сосудистых, аутоиммунных, инфекционных и некоторых других заболеваний [5].

Определение концентрации маркеров повреждения миокарда (кардиомаркеров) в крови больного с использованием ИХТ является основой современной лабораторной диагностики инфаркта миокарда (ИМ) и острого коронарного синдрома (ОКС). Кроме того, измерение концентрации тропонинов имеет большое значение для выбора стратегии и тактики лечения пациентов с ИМ без стойкого подъема сегмента ST на электрокардиограмме (ЭКГ). В настоящее время в кардиологии достигнут большой прогресс, благодаря разработке достаточно простых, но вместе с этим высокочувствительных и специфичных ИХТ для определения маркеров повреждения миокарда. К таким биомаркерам в первую очередь относят кардиотропонины (сTnI и сTnT), мозговой натрийуретический пептид и его предшественник (BNP и NTproBNP) [24].

Уникальная биохимическая структура изоформ сTnI и сTnT позволяет создавать тест-системы с высочайшей клинической чувствительностью и специфичностью в отношении повреждения миокарда. Для сTnI и сTnT пороговым значением выявления поражения сердца признана 99-я перцентиль распределения полученных результатов, то есть у 99% здоровых людей уровень соответствующего аналита в плазме крови ниже этой величины. Согласно ре-

комендациям Международной Федерации клинической химии и лабораторной медицины (IFCC) аналитическая чувствительность метода должна быть примерно в 5 раз ниже клинически значимого порогового уровня [25].

Кроме того, общая погрешность, определяемая коэффициентом вариации (CV), на верхний референсный предел (ВРП) не должна превышать 10%, иначе тест будет приводить к появлению ЛПР и ЛОР [25]. Чем меньше значения CV, тем меньше отличия при повторных измерениях в одном и том же образце, тем выше точность и тем меньше положительных диагнозов [26].

Появление высокочувствительных (hs-high sensitive) тестов (или тестов для определения высокочувствительных тропонинов, hs-Tn), определяющих очень низкие концентрации тропонинов (1-20 нг/л), находящиеся ниже значений, соответствующих 99-й перцентили у здоровой популяции, с CV не более 10%, значительно расширило диагностические возможности использования тестов на сердечные биомаркеры (Apple F.S., Collinson P.O., 2012). Были разработаны и всесторонне проверены алгоритмы ранней диагностики/исключения повреждений миокарда, позволяющие проводить исследования путем однократного измерения hs-Tn в крови при поступлении в стационар или после серийного измерения в течение 1-2 часов в подгруппе пациентов с подозрением на ОКС без подъема сегмента ST на ЭКГ. Согласно рекомендациям как Европейского кардиологического общества (2015) [27], так и Национальной академии клинической биохимии по лабораторной медицинской практике использования биохимических маркеров при острых коронарных синдромах и сердечной недостаточности (США) определение концентрации кардиотропонинов следует проводить у всех больных при подозрении на ОКС. Сходные клинические рекомендации приняты и Российским кардиологическим обществом (утв. Минздравом России, 2020) [28]. Всегда следует иметь в виду, что использование тестов на Tn, в том числе hs-Tn, зависит от способности надежно измерять очень низкие концентрации Tn и от незначительной величины погрешности при повторных измерениях. Поэтому появляющиеся сообщения о риске получения ЛОР при определении концентрации Tn у пациентов, принимающих биотин-содержащие БАД, вызывают серьезное беспокойство у профильных специалистов.

Ранее большинство дискуссий, последовавших за внедрением hs-Tn тестов, было связано с "ложноположительными" результатами. Несмотря на то, что иногда при проведении исследований могут регистрироваться истинные ЛПР тестов на Tn, преаналитические и аналитические причины их возникновения в основном те же, что и при использовании ИХТ для измерения других аналитов. Основное предназначение лабораторных исследований на Tn в клинической практике - быстрое исключение или подтверждение повреждения миокарда или ИМ. В этом отношении hs-Tn тесты являются превосходным инструментом клинической лабораторной диагностики; их высокая чувствительность является основой алгоритмов диагностики/исключения ИМ. Повышение уровня Tn вне ОКС, указывающее на повреждение миокарда, связано с неблагоприятным прогнозом, независимо от причины (Brigger D. et al., 2017; Campbell A.R. et al., 2018). Отсутствие повышения уровня кардиальных тропонинов свидетель-

ствуется о благоприятном прогнозе для пациента и сокращает сроки его пребывания в стационаре. Поэтому документальное подтверждение интерференции биотина в иммуноанализе как потенциальной причины ЛОР исследований вызывает серьезную обеспокоенность специалистов в связи с риском постановки неправильного диагноза.

На современном этапе время от времени появляются сообщения специалистов разных стран о результатах проведенных исследований в данном направлении.

Впервые факт интерференции в иммуноанализе с использованием ИХТ на основе взаимодействия стептавидина и биотина был зарегистрирован в 1996 г. (Henry J.G. et al., 1996). Однако вероятность обнаружения высоких концентраций биотина в крови пациентов вне применения определенных схем лечения, как считалось, была маловероятной (Elston M.S. et al., 2016). Ожидается, что официальная документация на биотин-содержащие лекарственные препараты будет содержать предостережение о том, что прием этих препаратов может приводить к интерференции в иммуноанализе и к искажению результатов лабораторных исследований. Однако ажиотажный спрос на биотин-содержащие БАД для улучшения состояния волос и ногтей показал, что большое количество людей принимают биодобавки, содержащие биотин в дозе 10 мг в сутки, но доказательств пользы такой практики пока мало (Lipner S.R., 2018). Влияние интерференции биотина на результаты ИХ анализов было продемонстрировано при употреблении биотина в дозе 10 мг (Li D. et al., 2017), однако интерферирующее влияние зависит от вида иммунохимического анализа и концентрации биотина в крови (Trambas C. et al., 2018).

Во многих исследованиях подчеркивается, что ключевым вопросом является понимание различий между рисками, связанными с аналитической интерференцией и рисками, связанными с установлением неправильного клинического диагноза у пациентов. В первую очередь врачи заинтересованы в выявлении клинически значимых интерференций.

Katzman B.M. et al. (2018, США) провели исследование по изучению распространенности употребления биотин-содержащих БАД 1944 амбулаторными пациентами (при опросе методом анкетирования) и определению концентрации биотина в плазме крови 1442 пациентов, поступивших в отделение неотложной медицинской помощи (ОНМП) клиники Мэйо (шт. Миннесота, США). По результатам проведенных опросов на употребление препаратов биотина указали 7,7% (95% ДИ, 6,6-8,9%) респондентов, а лабораторное определение содержания биотина в плазме крови пациентов ОНМП показало, что в 7,4% (95% ДИ, 6,2-8,9%) случаев концентрация биотина в плазме крови составила >10 нг/мл (на уровне или выше самого низкого порогового значения биотина при выявлении интерференции в ИХТ, производства "Roche Diagnostics") [29].

По оценкам разных исследователей при превышении концентрации биотина 10 мкг/л, доля риска составила 0,8% (популяция ОНМП) (Trambas C.M. et al., 2019) и 0,2% (рутинные лабораторные анализы) (Ijpelaar A. et al., 2020) [30].

Степень риска неправильной диагностики из-за интерференции биотина может значительно варьировать в зависимости от результатов в разных тест-системах, и для возникновения клинически значимых ошибок необходима

комбинация пиковых концентраций биотина в крови и высокой чувствительности теста; например, пороговые значения биотина, вызывающего интерференцию в тест-системах для определения уровня кардиомаркеров (тропонинов), по данным ряда авторов, находятся в диапазоне от 2,5 до 10000 нг/мл (Saenger A.K., Jaffe A.S., Body R. et al., 2018; Trambas C. et al., 2018). Несмотря на то, что на результаты большинства тест-систем, производства "Roche Diagnostics" минимальное влияние оказывают концентрации биотина 15,6 и 31,3 нг/мл (имитирующие потребление 5 и 10 мг биотина соответственно), некоторые тест-системы демонстрируют большую чувствительность при определении таких аналитов, как TnT, ТТГ и АТ-ТПО [18].

Что касается определения уровня TnT, исследование, проведенное Mumma B. et al. в 2018 г. показало, что повышенный уровень биотина (> 20 нг/мл) редко встречается у пациентов с подозрением на ОКС, и вероятность ложноотрицательного прогноза ОИМ из-за биотиновой интерференции при исследовании в тест-системе "Elecsys TroponinT Gen 5" была очень низкой (0,026%), и через 3 часа она оказывала минимальное влияние на прогностическую ценность отрицательного результата анализа (93,4%) [31].

В недавнем исследовании Mumma B. et al. (2020, США) сообщили о новом подходе к оценке риска интерференции биотина. В рамках клинического исследования в двух разных когортах образцов биоматериала от пациентов авторы оценивали распространенность повышенного уровня кардиомаркеров в сочетании с моделированием риска влияния биотина на диагностику ОИМ. В первую когорту вошли образцы сыворотки крови пациентов с подозрением на ОКС, во вторую когорту - случайно отобранные образцы для рутинного анализа в лаборатории, во всех определяли концентрацию биотина. В обеих когортах отмечено повышение уровня биотина (выше 20 мкг/л). Затем исследователи провели имитационное моделирование для того, чтобы определить вероятность неправильной классификации ОИМ на основе неверных значений уровня Tn (на основе 99-ого перцентиля) из-за влияния повышенной концентрации биотина. Во второй когорте исследователи дополнительно предприняли попытку смоделировать потенциальное интерферирующее влияние повышенной концентрации биотина при исследовании единственного образца (в рамках стратегии для исключения ИМ), путем понижения концентрации Tn ниже порогового значения. В популяции ОКС доля образцов, содержащих биотин в концентрации >20 мкг/л, составила 0,13%. В лабораторной популяции этот показатель составил 0,74%. В популяции пациентов с ОКС риск неправильной классификации ОИМ (на основе 99-го перцентиля) определен в 0,026% случаев. В общей лабораторной популяции риск неправильной классификации ОИМ составил 0,025%, а для единственного образца из выборки по стратегии исключения ИМ - 0,063%.

В связи с опубликованными в настоящее время результатами проведенных экспериментов у исследователей возникает ряд закономерных вопросов, связанных с оценкой распространенности повышенного уровня биотина в крови, с используемыми разновидностями методов (тест-систем), с определением порога интерференции биотина и фармакокинетическими параметрами перорально принимаемого биотина [30].

Методы для измерения концентраций биотина не стандартизированы. В оригинальном исследовании Katzman B.M., et al. (2018) измерение концентрации биотина проводили методом жидкостной хроматографии и тандемной-масс-спектрометрии (LC-MS/MS; ЖХ-МС/МС). Этот метод использовали также специалисты двух других коллективов, зарегистрировавшие значения концентрации биотина в крови выше 10 мкг/л (Trambas C.M. et al., 2019; Jpelaar A. et al., 2020). Определение уровня общего биотина в сыворотке крови авторы проводили при помощи теста на основе ИФА. Аргументом в его пользу стал тот факт, что этот метод позволяет обнаруживать все виды биотина, включая его метаболиты, поэтому с большей вероятностью обнаруживает концентрации биотина, которые могут повлиять на результаты исследований. Несмотря на то, что ИФА был откалиброван по уровням биотина, измерениям в ЖХ-МС/МС, результаты анализа свидетельствовали о недостаточном восстановлении концентраций, что было нехарактерно для ИФА, предназначенного для измерения уровня общего биотина (включая другие его формы), а не только биологически активного вещества.

По результатам исследований с использованием ИХТ 5-ого поколения для определения TnT при концентрациях биотина < 20 мкг/л интерференционных помех не обнаружено (Fitzgerald R.L. et al., 2019). Trambas C. et al. (2018) изучавшие влияние интерференции биотина на результаты анализа, продемонстрировали, что концентрации биотина 15,6 мкг/л или выше могут вызывать значительные помехи. Таким образом, выбор концентрации биотина 20 мкг/л в качестве порога интерференции рассматривается исследователями как наиболее приемлемый по результатам экспериментов с использованием биодобавок. В исследовании Frame I.J. et al. (2019), приняли участие пять здоровых добровольцев, принимавшие БАД, содержащие биотин в рекомендованной суточной дозе 10 мг. Ожидалось, что после приема препарата внутрь обнаруженные концентрации биотина в крови повлияют на результаты исследования Tn и приведут к значительному снижению его уровня (Frame I.J. et al., 2019). Данное исследование продемонстрировало также вариабельность индивидуальной реакции у разных людей на активное вещество после приема биотина в указанной дозе. Исследователи обращают внимание, что используемые в экспериментах *in vitro* мегадозы биотина не могут имитировать биологический эффект, наблюдаемый при приеме биотина в рекомендованной дозе (отдельно или в виде поливитаминного препарата), так и от влияния метаболитов биотина и других примесей присутствующих в составе биотин-содержащих препаратов. В тех случаях, когда биотин принимается в качестве добавки, полученные значения измеренных концентраций биотина, по мнению исследователей, не всегда отражают тот уровень, при котором возникают помехи в анализе.

Таким образом, два исследования, проведенные специалистами США, продемонстрировали использование разных методов для измерения концентраций биотина в разных популяциях, с разными пороговыми значениями. На основании результатов этих исследований можно сделать вывод, что значение риска интерференции биотина в анализе, вероятнее всего, находится в диапазоне между 0,8% и 0,063-0,025% и определяется при оценке доли по-

мех выше определенного порогового значения. Shah A.S. et al. (2015) из Великобритании отмечают, что риск ЛОР при интерференции биотина в анализе ниже, чем риски, связанные со "стратегиями быстрого исключения". Приблизительный уровень ошибочного диагноза составляет ~ 0,5%, что считается клинически приемлемым (Shah A.S. et al., 2015). Полученные данные позволяют предположить, что количество пропущенных (не диагностированных) случаев может быть небольшим.

По мнению исследователей, использование быстрых протоколов исключения диагноза станет нормой, поэтому у пациента с подозрением на ИМ/ОКС будут исследовать только единственный образец сыворотки/плазмы крови, а повторные отборы и дополнительные исследования образцов проводить не будут, поскольку со временем происходит естественное физиологическое снижение содержания биотина в крови. Исследователи также отмечают, что в контексте стратегий быстрой диагностики ИМ/ОКС предложенные стратегии для снижения риска интерференции биотина в анализе реализовать на практике будет трудно (Bowen R. et al., 2019; Mrosewski I. et al., 2019).

Интерференционное влияние биотина по-прежнему остается причиной ЛОР, появления которых можно избежать. Поэтому обнадеживающим является тот факт, новое поколение высокочувствительных ИХТ для определения TnT - это тест-системы с гораздо более высоким пороговым значением для интерференции со стороны биотина [30].

В настоящее время проблеме интерференции биотина при использовании ИХТ для определения концентрации кардиомаркеров особое внимание уделяется в рекомендательных документах ряда национальных и международных профильных организаций.

В 2019 г. FDA (США) разместило новое информационное сообщение "Интерференция биотина при использовании тест-систем для определения тропонина, подверженных влиянию биотина" (в дополнение к рекомендациям 2017 г.) с перечнем соответствующих тест-систем и компаний-производителей [32].

Совсем недавно (2019 г.) Международная федерация клинической химии по сердечным биомаркерам (IFCC-CB) также привлекла внимание профессионального сообщества к проблеме интерференции в лабораторном анализе и выдвинула на первый план два фактора, которые могут оказывать негативное влияние на результаты исследований, это - гемолиз (свободный гемоглобин) и биотин (витамин B7). Комитет IFCC-CB собрал данные от большинства производителей ИХТ для определения hs-cTnI, hs-cTnT и и натрийуретических пептидов (NP) об аналитических характеристиках выпускаемых ими тест-систем, об используемых автоматизированных платформах и о потенциальном влиянии интерференции свободного гемоглобина (гемолиза) и биотина на результаты исследований. Вся собранная информация была систематизирована и наглядно представлена в виде таблиц. Справочные материалы рекомендованы специалистам лабораторий и врачам-клиницистам для использования в качестве учебного пособия и для решения проблем (выявления и устранения причин), приводящих к получению недостоверных результатов анализа на сердечные биомаркеры, не соответствующих клинической ситуации [33].

Интерференция биотина при оценке иммуногенности лекарственных препаратов

Достоверность результатов исследований при помощи одностадийных мостиковых тест-систем, используемых в рутинной практике для оценки иммуногенности лекарственных препаратов, может вызывать сомнение из-за возможной биотиновой интерференции, связанной с бесконтрольным употреблением доступных пищевых биотин-содержащих добавок или с воздействием высокодозной терапии препаратами биотина, назначенной врачом.

С учетом этого положения специалисты из Германии (Pohler A. et al., 2019) провели исследование по оценке потенциального влияния интерференции биотина на результаты тестирования иммуногенности лекарственных препаратов [34]. Авторы исследовали эффект биотиновой интерференции в двух одностадийных тест-системах, предназначенных для определения антител к лекарственным веществам в сыворотке крови человека. При использовании обеих тест-систем была обнаружена интерференция биотина; при этом в тесте, базирующемся на использовании пептидов, интерференция была менее выражена, чем в тесте на основе антител. Эффект биотиновой интерференции был снижен минимально необходимой адаптацией к разведению с 10 до 1% и устранен путем предварительной очистки образцов на основе ионообменной сорбции.

Повышенные концентрации биотина в крови потенциально могут оказывать интерферирующее влияние на результаты тест-систем для оценки иммуногенности лекарственных средств, содержащих биотин в своем составе. Поскольку степень интерференции в разных тест-системах неодинакова, авторы рекомендуют проводить ее оценку на этапе разработки диагностикумов. Минимальная корректировка допустимых пределов разведения или предварительная обработка (очистка) исследуемого образца - предложенные авторами варианты для снижения или устранения биотиновой интерференции [34].

Стратегии снижения риска интерференции биотина

В публикациях по рассматриваемой теме значительный акцент сделан на необходимости повышения информированности и улучшения просвещения специалистов клинико-диагностических лабораторий и врачей-клиницистов по вопросам, связанным с влиянием интерференции биотина на результаты иммунологических анализов, адекватной оценки и управления потенциальными рисками в каждом конкретном случае. Авторы исследований выражают надежду, что осведомленность специалистов - практиков поможет снизить вероятность возникновения лабораторных и клинических ошибок и приводят ряд практических рекомендаций и потенциальные стратегии по минимизации негативного влияния интерференции на результаты лабораторных исследований обеспечения точной диагностики заболеваний.

Особое внимание специалистам следует обращать на результаты лабораторных тестов у пациентов с определенными видами заболеваний (например, у пациентов с РС) или на некорректные результаты исследований, не соответствующие клинической картине заболевания.

Несмотря на то, что в настоящее время деятельность

КДЛ подвергается большим изменениям, ориентированным на совершенствование качества результатов анализов, наблюдаемые в последние годы в ряде стран тенденции, связанные с употреблением препаратов, содержащих мегадозы биотина, увеличили опасения профессионального медицинского сообщества по поводу негативного воздействия биотиновой интерференции на результаты анализов с использованием ИХТ для *in vitro* диагностики.

В связи с этим медицинские специалисты обязаны соблюдать определенные меры предупредительного характера. В частности, при подозрении на интерференцию биотина необходимо выяснить у пациента употребляет ли он (или употреблял ли в недавнем прошлом) препараты с биотином. Полезными могут оказаться рекомендации пациентам по подготовке к лабораторным исследованиям; в числе прочих - временно отказаться (по согласованию с лечащим врачом) от приема некоторых биотин-содержащих лекарственных препаратов или БАД до забора крови для анализа.

Наряду с этим подчеркивается, что усилия компаний - производителей медицинских изделий для диагностики *in vitro* должны быть направлены на систематическое информирование медицинских специалистов и персонала лабораторий о создании ИХТ, чувствительных к воздействию биотина, а также на четкое изложение в эксплуатационной документации на выпускаемую продукцию информации о возможных интерференционных помехах.

Исследователи из США (Bowen R. et al., 2019) опубликовали работу о лучших практиках в области снижения риска влияния интерференции биотина при лабораторном тестировании и предложили алгоритм рабочего процесса для специалистов лабораторий, позволяющий оценивать противоречивые результаты иммунологических тестов, включающий: (1) серийное разведение анализируемых образцов; (2) повторное лабораторное тестирование после очистки от биотина и/или повторное тестирование с использованием ИХТ на альтернативной платформе; и (3) подтверждение наличия биотина в исследуемом образце плазмы/сыворотки крови после ее истощения или прямым измерением его концентрации. При этом правила надлежащей лабораторной практики, по мнению авторов, также должны содержать необходимую информацию о предупреждении, способах выявления и устранения биотиновой интерференции в иммуноанализе [35].

Рекомендации зарубежных организаций в сфере лабораторной диагностики

В настоящее время ряд организаций из разных стран мира, курирующих вопросы развития и совершенствования и применения новых технологий в лабораторной диагностике различных патологических состояний, опубликовал рекомендации, касающиеся мер выявления, предотвращения и контроля интерференции биотина в клинической лабораторной практике.

Рекомендации FDA (США)

В ноябре 2017 г. FDA (США) выпустило комплексные рекомендации, предназначенные для людей принимающих (или планирующих принимать) биотин-содержащие препараты, клинических специалистов, персонала медицин-

ских лабораторий, компаний-разработчиков и производителей тест-систем для диагностики *in vitro*; впоследствии, в ноябре 2019 г., они были дополнены новой информацией [32]. Многие положения этого документа перекликаются с рекомендациями, выпущенными ранее производителями тест-систем, выступающими за более широкое информирование всех вышеуказанных категорий лиц о серьезных последствиях ошибочной лабораторной диагностики для пациентов, принимавших биотин-содержащие препараты и БАД к пище до проведения лабораторных исследований. FDA сообщило об увеличении числа неблагоприятных событий, связанных с биотиновой интерференцией, но из-за отсутствия достаточной полноты данных не установило каких-либо конкретных временных рамок для прекращения приема препаратов биотина перед запланированной сдачей биоматериала (крови) для лабораторных исследований.

В контексте тематики настоящего дайджеста приводим основные положения указанных рекомендаций FDA, адресованные специалистам клиничко-диагностических лабораторий и производителям диагностикумов.

Для минимизации возможной интерференции и предотвращения получения ошибочных результатов исследований персоналу лабораторий FDA рекомендует:

- налаживать взаимодействие специалистов лабораторий, использующих ИХТ на основе биотина, с врачами медицинских учреждений и с пациентами по вопросам назначения и приема биотин-содержащих препаратов, поскольку зачастую бывает сложно идентифицировать и количественно определить биотин в исследуемых образцах;
- при заборе образцов биоматериала для исследования в лаборатории - опрашивать пациентов о приеме препаратов, содержащих в составе биотин;
- информировать медицинских специалистов ЛПУ о возможном влиянии биотина на результаты исследований с использованием ИХТ, применяемых в данной лаборатории;
- принимать во внимание, что употребление биотина в дозе выше рекомендованной суточной нормы потребления 0,03 мг (30 мкг) может оказать негативное влияние на результаты лабораторных анализов, поэтому важно помнить, что БАД могут содержать до 20 мг биотина, а препараты для терапии РС до 300 мг/сутки;
- обязательно иметь в виду, что концентрация биотина в образцах, полученных от пациентов, принимающих биотин в высоких дозах, может достигать уровня более 100 нг/мл; а в образцах биоматериала пациентов, принимающих до 300 мг в сутки - до 1200 нг/мл.

Учитывая большое количество коммерческих диагностических ИХТ и их разнообразие, FDA рекомендует специалистам клинических лабораторий связываться с компаниями-производителями тестов в случаях возникновения у них вопросов о влиянии биотина на результаты исследований.

Разработчикам и производителям наборов реагентов рекомендовано изучить потенциальное влияние биотина (не менее 1200 нг/мл биотина) на результаты исследований при помощи ИХТ на основе технологии биотина, а также определить самую низкую концентрацию биотина в крови, которая может привести к клинически значимым ошибкам в результатах анализов. FDA не дает конкретных указаний относительно значений порогового уровня интерференции биотина, являющегося значимым, но боль-

шинство производителей диагностикумов устанавливают размер допустимой ошибки в пределах $\pm 10\%$ в качестве уровня существенности для аналитических показателей.

В идеале разработчики и производители тест-систем чувствительных к биотину должны вносить дополнения в инструкции к тестам или выпускать пояснительные уведомления для потребителей и продолжать оказывать им помощь и поддержку при решении возникающих вопросов. Это может касаться рекомбинантных белков (антител) или других реагентов, используемых при производстве тест-систем. В качестве примера в рекомендациях FDA приведен случай из недавней практики одной компании-производителя тест-систем, которая выпустила пояснение к своим тестам для определения уровня ТТГ и сТп в ответ на опасения о росте числа лабораторных ошибок, вызванных биотиновой интерференцией. Принимая во внимание тот факт, что продолжительность временного периода от первоначального дизайна тестов до внесения изменений в тексты инструкций и получения государственной регистрации, может составлять несколько месяцев (или лет), лабораториям и врачам - клиницистам необходимо знать о существовании этой проблемы и проявлять бдительность [32].

После официального опубликования данного руководства FDA в 2017 году некоторым компаниям-производителям ИХТ удалось уменьшить негативное влияние биотина на результаты анализов с использованием своих тестов, однако FDA продолжало получать отчеты из лабораторий об интерференционном влиянии биотина на результаты иммунологических исследований. В связи с серьезной обеспокоенностью недостоверными (ложнозаниженными или ложнозавышенными) результатами определения кардиомаркера сТп с использованием некоторых ИХТ в 2019 г. на своей веб-странице FDA разместило новое информационное сообщение "Интерференция биотина при использовании тест-систем для определения тропонина, подверженных влиянию биотина" (в дополнение к рекомендациям 2017 г.), для того, чтобы уведомить профессиональное сообщество о тех ИХТ для определения сТп, при использовании которых риск интерференционного влияния биотина изучен недостаточно. FDA опубликовало список 6 компаний-производителей наборов реагентов для диагностики *in vitro*, предназначенных для определения сТп, подверженных влиянию биотина, но не учитывающих этот риск. В него вошли "International Point of Care, Inc." (2 тест-системы), "Nano-Ditech Corp." (3), "Ortho Clinical Diagnostics" (1), "Princeton Biomeditech Corp." (3), "Roche Diagnostics GmbH" (5) и "Siemens Healthcare Diagnostics, Inc." (3 тест-системы). Особо было подчеркнуто, что некорректные результаты определения этого биомаркера могут привести к постановке неверного диагноза, назначению неадекватной терапии, а в конечном итоге к серьезным, угрожающим жизни пациента последствиям [36].

Рекомендации АСВ (Великобритания)

Наряду с рекомендациями FDA, содержащими предупреждение о том, что прием биотина (витамина В7) может оказывать влияние на результаты некоторых лабораторных ИХТ, Научный Совет Ассоциации по клинической биохимии и лабораторной медицине (АСВ, Великобритания) также распространил уведомление о вероятности возникновения риска интерференции биотина при выполнении

клинических лабораторных (иммунологических) исследований. Научный Совет АСВ отметил, что ИХТ на основе взаимодействия стрептавидина и биотина, получили довольно широкое распространение: некоторые компании-производители наборов реагентов активно используют стрептавидин-биотиновые комплексы в большинстве своих тест-систем, другие—только для выявления определенных целевых аналитов, а ряд производителей—не используют совсем. Интерференция биотина является одной из наиболее сложных проблем для выявления и поиска способов устранения; вероятность ее обнаружения связана с высокой вариабельностью и специфичностью разных тестов. АСВ призывает специалистов лабораторной службы к осознанию необходимости изучения этой проблемы и соблюдению четко прописанных рабочих процедур для решения практических вопросов по снижению риска получения некорректных результатов анализа, а медицинских работников—к организации и проведению обучающих семинаров и консультаций по вопросам, связанным с риском неблагоприятных последствий ошибочной диагностики заболеваний вследствие рассматриваемой интерференции. [37].

Рекомендации SIBioC (Италия)

В Италии опубликован документ Национального общества клинической биохимии и молекулярной биологии (SIBioC), содержащий серию согласованных рекомендаций, касающихся выявления, предотвращения и контроля интерференции биотина в клинической лабораторной практике, одобренных Рабочей группой по экстра-аналитической вариабельности (WG-VEA) результатов исследований. Наиболее важные положения рекомендаций включают:

- проведение оценки локальных рисков, связанных с возможной интерференцией и получением ошибочных результатов,
- регулярный сбор данных об употреблении биотина как стационарными, так амбулаторными больными,
- информирование врачей-клиницистов о конкретных потенциально биотин-чувствительных ИХТ,
- необходимость проведения повторного тестирования образца биоматериала через 24 - 48 часов после последнего приема препаратов биотина, наряду с
- рассмотрением вопроса о возможном включении в лабораторный отчет примечания с указанием тестов, наиболее подверженных негативному влиянию биотина. При этом проводить измерение концентрации биотина во всех исследуемых образцах в настоящее время не рекомендуется [38].

Руководство ААСС (США)

В январе 2020 г. Американская ассоциация по клинической химии (American Association for Clinical Chemistry; ААСС, США) выпустила Руководство по предотвращению, идентификации и подавлению (устранению) интерференции биотина в лабораторных иммунологических исследованиях, которое предназначено для специалистов клинической лабораторной диагностики и врачей-клиницистов. На основании результатов исследований *in vivo* и *in vitro* показано, что концентрация биотина, приводящая к интерференции, варьируется в широком диапазоне в зависимости от вида определяемого аналита, формата и дизайна тест-

систем, выпускаемых разными компаниями-производителями. Настоящий документ содержит такие разделы, как: особенности механизмов интерференции биотина в разных форматах ИХТ, основы фармакокинетики и результаты исследований *in vitro* и *in vivo* с примерами тест-систем, на результаты исследований с использованием которых, как известно, оказывает влияние высокий уровень концентрации биотина. В таблицах приведены пороговые значения для биотин-зависимой интерференции, полученные из сопроводительной документации к ИХ тест-системам на различные аналиты 4-х разных компаний-производителей - "Beckman Coulter, Inc." (для 6 тест-систем), "Ortho Clinical Diagnostics" (26 тест-систем), "Roche Diagnostics" (57 тест-систем) и "Siemens" (58 тест-систем).

Кроме того, даны рекомендации для специалистов лабораторий и врачей-клиницистов по идентификации биотиновой интерференции в ИХТ, а также информация о возможных путях решения указанной проблемы [39].

В частности, сотрудникам лабораторий, врачам-клиницистам и пациентам рекомендовано расширять обмен информацией о влиянии биотина на результаты ИХТ, основанных на технологиях с использованием биотина.

Специалистам лабораторий необходимо определить ИХТ, при использовании которых наблюдается эффект биотиновой интерференции, и информировать врачей-клиницистов о получаемых результатах. Взаимодействие может осуществляться несколькими способами, от написания официальных служебных записок и выпуска информационных бюллетеней по лабораторной диагностике до участия в медицинских конференциях, конгрессах и съездах для специалистов разных профилей.

Сотрудникам лабораторной службы рекомендовано также в доступной форме информировать пациентов о возможном влиянии биотина на результаты лабораторных исследований. Одним из способов информирования пациентов может быть, например, размещение в холлах амбулаторных медицинских учреждений плакатов о возможных отклонениях в результатах лабораторных исследований при употреблении препаратов биотина. Во время стационарной/амбулаторной процедуры регистрации пациентов в учреждениях здравоохранения при сборе анамнеза необходимо обращать внимание на употребление ими биотин-содержащих препаратов и пищевых добавок. Клиницисты могут подробно расспросить пациентов об использовании пищевых добавок с биотином, дать соответствующие рекомендации и представить, при необходимости, дополнительные разъяснения. Записи в электронной медицинской документации должны периодически обновляться для того, чтобы врачи-клиницисты своевременно получали информацию о конкретных тест-системах на определенные маркеры заболеваний, при использовании которых идентифицирована интерференция биотина, и учитывали это при назначении необходимых лабораторных исследований.

Взаимодействие врачей-клиницистов и персонала лаборатории необходимо в тех случаях, когда результаты лабораторных исследований не соответствуют клинической картине заболевания у пациента или когда известно, что пациент принимал препараты, содержащие биотин в дозе более 5 мг (Sulaiman R.A., 2016; Chun K.Y., 2017). Поскольку ежедневно в лаборатории проводятся исследования

сотни (или тысячи) образцов биоматериала от пациентов, сотрудники лаборатории в своей работе довольно часто взаимодействуют с лечащими врачами, что позволяет выявлять проблемы по результатам тестирования.

В лабораториях рекомендовано использовать различные методы для верификации потенциальной биотиновой интерференции, включая смешивание образца с разбавителем (Gifford J.L. et al., 2018), удаление избытка биотина при помощи покрытых стрептавидином магнитных шариков (Trambas C. et al., 2018), количественное определение биотина с помощью ЖХ-МС/МС или других процедур. В идеале биологические образцы с подозрением на присутствие биотинового интерферента следует анализировать при помощи другой тест-системы, в дизайне которой биотин не используется (Chun K.Y., 2017; Gifford J.L. et al., 2018).

Кроме того, специалисты лаборатории могут исследовать другой образец биоматериала пациента, полученный после отмены приема препаратов биотина. Забор крови для лабораторных исследований у пациентов, принимавших препараты биотина в дозе 5-10 мг, рекомендовано осуществлять спустя как минимум 8 часов после приема (Grimsey P. et al., 2018; Willeman T. et al., 2017; Chun K.Y., 2017).

Для предотвращения интерференции в тестах с пороговым значением интерференции <30 нг/мл (<122,8 нмоль/л) может потребоваться более длительный период отмывки - до 72 часов (Grimsey P. et al., 2018). При отсутствии противопоказаний с медицинской точки зрения, пациентам, получающим терапию высокодозными препаратами биотина (≥ 100 мг/сут), следует воздерживаться от приема препаратов биотина как минимум 72 часа до взятия крови (Sedel F. et al., 2015; Willeman T. et al., 2017; Lam L., Kyle C.V., 2017). Необходимо принимать во внимание тот факт, что у пациентов с почечной недостаточностью могут наблюдаться более высокие концентрации циркулирующего биотина в крови и низкая скорость элиминации. Сообщать пациентам о результатах исследования после разведения образца или устранения интерферирующего фактора не рекомендуется до получения валидированных результатов лабораторных исследований (Chun K.Y., 2017; Lam L., Kyle C.V., 2017; Piketty M.L. et al., 2017) [39].

Выводы и перспективы на будущее

В настоящее время лабораторные исследования при помощи ИХТ широко используются в практическом здравоохранении. Иногда при анализе некоторых образцов сыворотки/плазмы крови могут возникать ошибки, которые необходимо тщательно исследовать для улучшения иммунохимического тестирования. Специалистам лабораторий следует знать о возможном возникновении подобных случаев, в частности о влиянии биотина, прием которого может привести к получению как ЛПР, так и ЛОР на ИХТ, в основе которых лежит взаимодействие стрептавидина и биотина.

Несмотря на улучшение технологий иммунохимического тестирования, проблему биотиновой интерференции еще предстоит решить. Следует опасаться роста распространенности интерференции биотина из-за широкого использования технологии и все более частого его применения в дозах превышающих физиологические.

Исследования на возможную интерференцию должны и могут проводиться в каждой лаборатории. Они включают, кроме перечисленных выше рекомендаций, тестирование на линейность, повторное тестирование после отмены или удаления из образца влияющего фактора и подтверждение результата с помощью альтернативного метода [40].

Важно еще раз подчеркнуть, что результаты лабораторных исследований не следует рассматривать изолированно от объективных данных. Для того чтобы получить целостную клиническую картину заболевания и избежать неправильной постановки диагноза необходимо в совокупности оценивать субъективные симптомы, данные физикального обследования пациента, результаты лабораторных исследований и методов инструментальной диагностики [8].

Критический подход к результатам иммунохимических исследований, знание аналитических принципов метода, постоянное взаимодействие между специалистами лабораторий, врачами-клиницистами и пациентами остаются лучшей стратегией, позволяющей избежать некорректной диагностики и неадекватной терапии из-за непредвиденной интерференции [40].

Литература.

1. Берестовская В.С. Пять вопросов об интерференции биотина в иммунном анализе. *Диагностика в диалоге*. 2019; 9:10-12
2. Sturgeon C.M., Viljoen A. Analytical error and interference in immunoassay: minimizing risk. *Ann Clin Biochem*. 2011; 48 (Pt 5):418-32
3. Tate J., Ward G. Interferences in immunoassay. *Clin Biochem Rev*. 2004 May; 25(2):105-20
4. Li D., Ferguson A., Cervinski M.A., Lynch K.L., Kyle P.B. AACC guidance document on biotin interference in laboratory tests. [Epub] *J Appl Lab Med*. January 13, 2020:1-12
5. Samarasinghe S., Meah F., Singh V., Basit A., Emanuele N., Emanuele M.A. et al. Biotin interference with routine clinical immunoassays: understand the causes and mitigate the risks. *Endocr Pract*. 2017; 23 (8): 989-98
6. Смирнов В.А., Климошкин Ю.Н. *Витамины и кофакторы: учеб. пособие*. Ч.2. - Самара: Самар. гос. тех. ун-т; 2008 - 91с
7. Методические рекомендации Роспотребнадзора РФ - МР 2.3.1.2432-08 "Рациональное питание. Нормы физиологических потребностей и энергии в пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации" от 18.12.2008 г.
8. Giovanella L. The impact of biotin interference on laboratory testing and patient diagnosis in clinical practice. *Int J of Pharmacokinet*. 2019; 4(1):1-4
9. Grimsey P., Frey N., Bendig G., Zitzler J., Lorentz O., Kaspapic D., Zaugg C.E. Population pharmacokinetics of exogenous biotin and the relationship between biotin serum levels and in vitro immunoassay interference. *Int. J. Pharmacokinet*. 2017; 2(4):247-56
10. Piketty M.L., Polak M., Flechtner I., Conzaes-Briceno L., Souberbielle J.C. False biochemical diagnosis of hyperthyroidism in streptavidin-biotin-based immunoassays: the problem of biotin intake and related interferences. *Clin. Chem. Lab. Med*. 2017 May 1; 55(6):780-8

11. Ostrowska M., Bartoszewicz Z., Bednarczuk T., Walczak K., Zgliczynski W., Glinicki P. The effect of biotin interference on the results of blood hormone assays. *Endokrynol Pol.* 2019; 70(1):102-21
12. Al-Salameh A., Becquemont L., Brailly-Tabard S., Aubourg P., Chanson P. A somewhat bizarre case of Graves disease due to vitamin treatment. *J Endocr Soc.* 2017 Mar 23; 1(5):431-5
13. Elston M.S., Sehgal S., Du Toit S., Yarnley T., Conaglen J.V. Factitious Graves' disease due to biotin immunoassay interference - a case and review of the literature. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016 Sep; 101(9):3251-5
14. Barbesino G. Misdiagnosis of Graves' diseases with apparent severe hyperthyroidism in a patient taking biotin magadose. *Thyroid.* 2016 Jun; 26 (6): 860-3
15. De Roeck Y., Philipse E., Twickler T.B., Van Gaal L. Misdiagnosis of Graves' hyperthyroidism due to therapeutic biotin intervention. *Acta Clin Belg.* 2018 Oct; 73 (5): 372-6
16. Lam L., Bagg W., Smith G., Chiu W.W., Middleditch M.J., Lim J.C. et al. Apparent hyperthyroidism caused by biotin-like interference from IgM anti-streptavidin antibodies. *Thyroid.* Aug 2018; 28 (8): 1063-7
17. Bergoglio M.T., Sosa G.A., Inchauspe M.E., Andrada M.C. Anti-streptavidin antibodies. Diagnostic confusion by biochemical interference. *Medicina (B Aires).* 2019; 79(5):419-23
18. Trambas C., Lu Z., Yen T., Sikaris K. Characterization of the scope and magnitude of biotin interference in susceptible Roche Elecsys competitive and sandwich immunoassays. *Ann Clin Biochem.* 2018; 55 (2): 205-15
19. Favresse J., Burlacu M.C., Maiter D., Gruson D. Interferences with thyroid function immunoassays: clinical implications and detection algorithm. *Endocr Rev.* 2018 Oct 1; 39(5):830-50
20. Odhaib S.A., Mansour A.A., Haddad N.S. How biotin induces misleading results in thyroid bioassays: case series. *Cureus.* 2019 May; 11(5): e4727
21. Giovannella L., Imperiali M, Kasapic D., Ceriani L., Trimboli P. Euthyroid Graves' disease with spurious hyperthyroidism: a diagnostic challenge. *Clin Chem Lab Med.* 2019 Apr 24; 57(5):94-6
22. Choi J., Yun S.G. Comparison of biotin interference in second- and third-generation Roche free thyroxine immunoassays. *Ann Lab Med* 2020; 40:274-6
23. Li J., Wagar E. A., Meng Q.H. Comprehensive assessment of biotin interference in immunoassays. *Clin Chim Acta.* 2018 Dec; 487: 293-8
24. Чаулин А.М., Дупляков Д.В. Повышение кардиальных тропонинов, не ассоциированное с острым коронарным синдромом. Ч. 2.; *Кардиология. Новости, мнение, обучение.* 2019; Т 7, 2(21): 24-35
25. International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine: Task Force on Clinical Applications of Cardiac Bio-Markers. Analytical Characteristics of Commercial Cardiac Troponin I and T Assays Declared by the Manufacturer. <http://www.ifcc.org/ifcc-educationdivision/emd-committees/task-force-on-clinical-applications-of-cardiac-biomarkers-tf-cb>
26. Morrow D.A., Cannon C.P., Jesse R.L., et al. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines: clinical characteristics and utilization of biochemical markers in acute coronary syndromes. *Clin. Chem.* 2007; 53:552-74
27. ESC guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: task force for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J.* 2016; 37:267-315
28. Министерство здравоохранения Российской Федерации. *Клинические рекомендации. Острый коронарный синдром без подъема сегмента ST на электрокардиограмме.* 2020 <https://www.scardio.ru/>
29. Katzman B.M., Lueke A.J., Donato L.J., Jaffe A. S., Baumann N.A. Prevalence of biotin supplement usage in outpatients and plasma biotin concentrations in patients presenting to the emergency department. *Clin Biochem.* 2018 Sep; 60:11-16
30. Collinson P. Biotin interference in cardiac troponin immunoassay - where the wild things are? *Clin Chem Lab Med.* 2020 Oct 25; 58(11):1769-71
31. Mumma B. Diercks D., Ziegler A., Dinkel-Keuthage C., Tran N. Quantifying the prevalence of elevated biotin in a cohort with suspected acute coronary syndrome. 70th AACC; Annual Scientific Meeting Abstracts. *Clin.Chem.* 2018; 64:35
32. The FDA warns that biotin may interfere with lab tests: FDA safety communication. <https://www.fda.gov/medical-devices/safety-communications/update-fda-warns-biotin-may-interfere-lab-tests-fda-safety-communication> (November 28, 2017; accessed November 2019)
33. Saenger A.K., Jaffe A.S., Body R., Collinson P.O., Kavsak P.A., Lam C.S.P. et al. Cardiac troponin and natriuretic peptide analytical interferences from hemolysis and biotin: educational aids from the IFCC Committee on Cardiac Biomarkers (IFCC C-CB). *Clin Chem Lab Med.* 2019 Apr 24; 57(5):633-40
34. Pohler A., Faigle J., Staack R.F. Evaluation of potential biotin interference in immunogenicity testing. *Bioanalysis.* 2019; 11 (17): 1547-54
35. Bowen R., Benavides R., Colon-Franco J.M., Katzman B.M., Muthukumar A., Sadzadeh H. et al. Best practices in mitigating the risk of biotin interference with laboratory testing. *Clin Biochem.* 2019 Dec; 74:1-11
36. Megan Brooks. FDA: Biotin interference with troponin, lab tests still a concern medscape (November 05, 2019) <https://www.medscape.com/viewarticle/920847>
37. Avery G. Biotin interference in immunoassay: a review for the laboratory scientist. *Ann Clin Biochem.* 2019 Jul; 56(4):424-30
38. Lippi G., Bonetti G., Modenese A., Padoan A., Giavarina D. Biotin interference in immunoassays: recommendations of the SIBioC working group on extra-analytical variability (WG-VEA). *Biochim. Clin.* 2019; 43(2):343-7
39. Li D., Ferguson A., Cervinski M.A., Lynch K.L., Kyle P.B. AACC guidance document on biotin interference in laboratory tests. [Epub] *J Appl Lab Med.* January 13, 2020:1-12
40. Мошкин А.В. Обнаружение интерференции как составляющая валидации результата лабораторного исследования. *Лабораторная служба.* 2018;7(4): 3-4

Интерференционные эффекты при проведении лабораторных исследований на новую коронавирусную инфекцию COVID-19

ООО "НПО "Диагностические системы", г. Нижний Новгород

В декабре 2019 г. в г. Ухань (Китайская Народная Республика, КНР) произошла вспышка новой коронавирусной инфекции, возбудителю которой было дано временное название 2019-nCoV. Вскоре инфекция распространилась по всей территории Китая, а затем и в большинстве стран мира.

В феврале 2020 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) присвоила официальное название инфекции, вызванной новым коронавирусом – COVID-19 (Coronavirus disease 2019), Международный комитет по таксономии вирусов присвоил официальное название возбудителю инфекции – SARS-CoV-2. В марте 2020 г. ВОЗ объявила пандемию в связи с COVID-19 [1, 2].

Особую значимость в сложившейся эпидемиологической ситуации приобрели вопросы диагностики, лечения и предотвращения распространения данной инфекции.

Для идентификации SARS-CoV-2 во многих странах мира в короткие сроки были разработаны вирусологические и серологические тесты. Наряду с тестами для обнаружения РНК вируса, созданными на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР) серологические тест-системы для детекции антител IgA, IgM и IgG к SARS-CoV-2 оказались полезным дополняющим инструментом для диагностики COVID-19 (Zhang W. et al., 2020).

Многие из этих тест-систем получили разрешение Управления по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств (FDA, США) на использование в экстренных ситуациях. Однако возможность перекрестных реакций с антителами, присутствующими в крови пациентов, имеющих другие (сопутствующие) заболевания, остается в значительной степени недостаточно изученной [3]. Это определяет актуальность исследований по изучению влияния возможных интерферирующих факторов на достоверность результатов серологических тестов на SARS-CoV-2.

Поскольку рассматриваемая тема является новой, на сегодняшний день имеется небольшое количество научных публикаций зарубежных авторов, в которых представлены данные о негативном влиянии возможных интерферирующих факторов (веществ) на результаты лабораторных исследований, выполняемых с использованием серологических тестов.

В настоящем дайджесте мы приводим наиболее интересные и значимые результаты научно-исследовательских работ применительно к обозначенной проблеме.

Так, Wang Q. et al. (2020), КНР, в своей работе изучали факторы интерференции, приводящие к ложноположительным результатам (ЛПР) исследований на IgM к SARS-CoV-2 с использованием тест-систем, основанных на иммунохроматографическом (ИХА) и иммуноферментном (ИФА) анализах.

Авторы проанализировали образцы сывороток крови 86 пациентов с разными заболеваниями, в том числе: по 5 образцов от пациентов инфицированных вирусами гриппа типа А (Flu A) и типа В (Flu B) с наличием IgM к этим вирусам, по 5 IgM-позитивных образцов – от пациентов с пневмониями, вызванными *Mycoplasma pneumonia* и *Legionella pneumophila*, 6 образцов – от ВИЧ-инфицированных пациентов, 36 образцов сывороток крови от пациентов с ревматическими заболеваниями с наличием ревматоидного фактора (IgM РФ), 5 образцов – от пациентов с гипертонической болезнью, 5 образцов – от больных сахарным диабетом и 14 образцов сыворотки крови от пациентов с новой COVID-19 [2].

Для обнаружения интерференции в случаях ЛПР детекции IgM к SARS-CoV-2 использовали тест на диссоциацию мочевины с подбором соответствующей концентрации. При помощи двух видов тест-систем IgM к SARS-CoV-2 были выявлены в 22 образцах сывороток крови с повышенным содержанием (от среднего до высокого уровня) IgM РФ и в 14 образцах сыворотки от пациентов с COVID-19; результаты исследования остальных 50 образцов сывороток оказались отрицательными.

При значении концентрации мочевины в крови 6 моль/л положительные результаты на IgM к SARS-CoV-2 были выявлены ИХА-тест-системой в 1 образце сыворотки крови с повышенным содержанием IgM РФ и в 14 образцах сывороток от пациентов с COVID-19.

При уровне диссоциации мочевины в 4 моль/л и при значении индекса аффинности ниже 0,371, установленном как отрицательный, положительные результаты исследований на IgM к SARS-CoV-2 при помощи ИФА тест-системы выявлены в 3 образцах сыворотки с повышенным уровнем IgM РФ и во всех 14 образцах сыворотки крови пациентов с COVID-19.

Результаты сравнительного исследования с использованием ИХА- и ИФА-тест-систем представлены в табл. 1.

Результаты детекции IgM к SARS-CoV-2 в образцах сыворотки крови пациентов с различными заболеваниями [2]

Группа	Количество исследованных образцов (n)	Количество позитивных образцов, абс. (%)	
		ИХА	ИФА
IgM-BGA (Flu A)	5	0 (0,0)	0 (0,0)
IgM-BGB (Flu B)	5	0 (0,0)	0 (0,0)
IgM-M. pneumoniae	5	0 (0,0)	0 (0,0)
IgM-L. pneumophila	5	0 (0,0)	0 (0,0)
Гипертоническая болезнь	5	0 (0,0)	0 (0,0)
Сахарный диабет	5	0 (0,0)	0 (0,0)
ВИЧ-инфекция	6	0 (0,0)	0 (0,0)
IgM РФ	36	22 (61,1)	22 (61,1)
SARS-CoV-2	14	14 (100,0)	14 (100,0)

Как видно из табл. 1, в подавляющем большинстве случаев кросс-реактивность с антителами, присутствующими в сыворотках крови пациентов с различными заболеваниями не выявлена. Исключение составили образцы сывороток крови от лиц с наличием IgM РФ. У всех пациентов с подтвержденным диагнозом COVID-19 были обнаружены IgM к SARS-CoV-2.

По результатам проведенного исследования авторы пришли к выводу, что повышенное содержание в крови IgM РФ (от среднего до высокого уровня) может привести к ЛПР исследований на IgM к SARS-CoV-2, выполняемых при помощи ИХА и ИФА тест-систем, а применение теста на диссоциацию мочевины может быть полезным для снижения количества ЛПР исследований на IgM к SARS-CoV-2 [2].

Ранее подобная интерференция в тестах на коронавирусы была изучена Wang Y.S. et al. (2003-2004 гг.) на примере тестов для выявления инфекции, вызванной SARS-CoV.

Первоначально (в 2003 г.) авторы анализировали причины ЛПР серологических диагностических тестов на антитела к коронавирусу у пациентов с системной красной волчанкой (СКВ). С этой целью они протестировали образцы сыворотки крови 66 здоровых лиц контрольной группы и 31 пациента с СКВ без ТОРС (тяжелого острого респираторного синдрома/атипичной пневмонии) в анамнезе. Образцы исследовали на наличие антител к SARS-CoV с использованием тест-систем на основе ИФА и на наличие PHK SARS-CoV при помощи ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР). По результатам исследования в контрольной группе IgM к SARS-CoV не выявлены, а IgG к SARS-CoV детектированы в 2 случаях из 66 (3,0%); в группе пациентов с СКВ обнаружены отдельно как IgM так и IgG к SARS-CoV в 29% (9/31) и 58,1% (18/31) случаев, соответственно, а в 7 (22,6%) случаях детектированы оба вида антител. Во всех образцах, позитивных на IgM и IgG к SARS-CoV, PHK SARS-CoV в ОТ-ПЦР тест-системе не обнаружена. Полученный результат свидетельствует о том, что ИФА-тест-система обладает высокой специфичностью, отмечена низкая частота ЛПР исследований на IgM и IgG к SARS-CoV.

В заключение авторы высказали предположение, что ЛПР в исследованиях на антитела к SARS-CoV у пациентов с СКВ могут быть связаны с присутствием в крови этих пациентов аутоантител, обладающих высоким сродством к антигенам SARS-CoV, сорбированным на поверхности лунок планшетов ИФА тест-систем [4].

Годом позднее (2004 г.) этот же коллектив авторов провел исследование на коронавирусы у пациентов с такими аутоиммунными заболеваниями (АИЗ), как ревматоидный артрит (РА), синдром Шегрена, СКВ и смешанное заболевание соединительной ткани (СЗСТ), результаты которого подтвердили ранее (2003 г.) высказанное предположение [5].

В ходе исследования авторы изучали значимость определения антител к SARS-CoV. При помощи тест-систем на основе ИФА и реакции непрямой иммунофлуоресценции (РНИФ) с использованием лизатов клеток Vero E6 зараженных SARS-CoV исследовали 114 образцов сыворотки крови от здоровых лиц контрольной группы, без ТОРС в анамнезе, и 104 образцов сыворотки крови от пациентов с АИЗ.

Результаты ИФА показали, что при исследовании образцов сывороток из контрольной группы IgM к SARS-CoV не обнаружены во всех 114 (100%) образцах, а IgG к SARS-CoV выявлены в 4 (3,5%) случаях. Специфичность теста на IgG к SARS-CoV у пациентов с ТОРС составила 96,5%, а специфичность теста на суммарные IgM и IgG к SARS-CoV у этих пациентов составила 100%. В 58 случаях у пациентов с СКВ доля положительных результатов отдельно на IgM и IgG к SARS-CoV составила 32,8% (19/58) и 8,6% (5/58), соответственно. В 11 случаях (19%) у этих пациентов были обнаружены как IgM, так и IgG к SARS-CoV. При исследовании образцов сыворотки крови от 10 пациентов с синдромом Шегрена доля положительных результатов на IgM и IgG к SARS-CoV составила 10% (1/10); при исследовании 16 образцов сыворотки крови от пациентов со СЗСТ доля положительных результатов на IgG к SARS-CoV составила 37,5% (6/16), а при определении IgM и IgG к SARS-CoV - 6,3% (1/16); при исследовании 20 образцов сывороток от пациентов с РА IgG к SARS-CoV были обнаружены в одном

случае (5%) (табл. 2). Однако во всех образцах сыворотки крови от пациентов с АИЗ и здоровых лиц, в которых детектированы IgM и IgG к SARS-CoV в ИФА тест-системе, РНК SARS-CoV в ОТ-ПЦР и антитела к SARS-CoV в ИФЛА тестах

не обнаружены. Все сыворотки, как положительные так и отрицательные в ИФА тесте, продемонстрировали аналогичные результаты в ИФЛА тесте с использованием лизатов клеток Vero E6 [5].

Таблица 2

Частота детекции IgM и IgG к SARS-CoV в образцах сывороток крови (n=218) [5]

Группа обследованных лиц	Количество (n)	IgM, %	IgG, %	IgM + IgG, %
Здоровые	114	0 (0,0)	4 (3,5)	0 (0,0)
Пациенты с синдромом Шегрена	10	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (10,0)
Пациенты с ревматоидным артритом	20	0 (0,0)	1 (5,0)	0 (0,0)
Пациенты с СЗСТ	16	0 (0,0)	6 (37,5)	1 (6,3)
Пациенты с СКВ	58	5 (8,6)	19 (32,8)	11 (19,0)

В противоположность этим данным в работах ряда других авторов, проводивших исследования на разные виды вирусов из семейства коронавирусов (*Coronaviridae*), интерференция, вызванная присутствием аутоантител в крови, не выявлена.

Так, Teng J. et al. (2020) провели свое исследование для выявления возможной кросс-реактивности в образцах сыворотки крови пациентов с АИЗ при тестировании на SARS-CoV-2. При этом они основывались на результатах работы Zhou P. et al. (2020), в которой показана перекрестная реактивность антител против SARS-CoV-2 с антителами против других коронавирусов, таких как SARS-CoV, имеющего высокую идентичность геномной последовательности с SARS-CoV-2, и данных исследования Wang Y. et al. (2004), продемонстрировавших, что при тестировании на SARS-CoV возможна перекрестная реактивность с аутоантителами, выявляемыми в образцах сыворотки пациентов с АИЗ. Для исследования авторы данной работы (Teng J. et al., 2020) отобрали 290 образцов сыворотки крови от пациентов с АИЗ, хранившихся в банке сывороток крови, в том числе 98 образцов от пациентов с РА, 100 образцов от пациентов с СКВ и 92 образца от пациентов с синдромом Шегрена. Все образцы сывороток крови были собраны в период с 1 января 2016 г. по 30 июня 2019 г., то есть до начала пандемии COVID-19. Серологическое тестирование с использованием моноклональных антител IgM и IgG к SARS-CoV-2 было проведено при помощи тест-системы на основе нано-частиц коллоидного золота, производства "Innovita Biotechnology Co" (Таншань, Китай). На нитроцеллюлозный мембранный фильтр в этих тест-системах с коллоидным золотом нанесены два вида антигенов SARS-CoV-2 (N-белок и S-белок). Общая чувствительность тестирования составила 89% (352/397), а специфичность - 91% (116/128).

В результате исследования в сыворотках крови пациентов с АИЗ антитела IgM и IgG к SARS-CoV-2 обнаружены не были, что указывало на отсутствии перекрестной реакции между аутоантителами и антителами к SARS-CoV-2 [6]. Однако авторы исследования отметили, что образцы сывороток пациентов с АИЗ были проанализированы в тест-

системе только одного формата и одного производителя. Использование диагностикомов разных производителей (с различающимися функциональными свойствами и аналитическими характеристиками) может оказывать значительное влияние на результаты лабораторных анализов.

Противоречивыми являются данные о наличии/отсутствии перекрестной реактивности тестов для выявления антител против SARS-CoV-2 с антителами к распространенным коронавирусом человека (например, таких как SARS-CoV и MERS). В то время, как результаты исследований Phipps W.S. et al. (2020) и Wang Y.S. et al. (2004) указывают на отсутствие кросс-реактивности при использовании диагностикомов на другие коронавирусы, Zhou P. et al. (2020) в своем исследовании продемонстрировали подобную интерференцию [3,4,7]. Одним из возможных объяснений таких различий может служить наличие гомологии в строении N-полипептида различных коронавирусов, в частности, его высококонсервативного мотива N 111-118, который присутствует в N-белках всех коронавирусов (Gimenez L.G. et al., 2009). По данным Ahmed S.F. et al. (2020) идентичность строения N-белка SARS-CoV-2 и SARS-CoV достигает порядка 90,6% и 45,9% у SARS-CoV-2 и MERS.

Таким образом, возможность перекрестной реакции во многом определяется структурными особенностями тестов, используемых в лабораториях. Так, применение диагностикомов на основе полноразмерного N-пептида SARS-CoV может привести к ЛПР анализа у пациентов, ранее инфицированных другими вирусами (Yasmon A. et al., 2012).

Данные относительно небольшого количества (опубликованных с начала пандемии COVID-19) научных трудов, посвященных изучению влияния интерферирующих веществ на достоверность результатов серологических тестов на SARS-CoV-2, свидетельствуют о недостаточной изученности этой проблемы. Вместе с тем, даже единичные опубликованные работы позволяют предположить широту и непредсказуемость влияния различных факторов на качество лабораторных исследований. Это определяет необходимость продолжения изучения интерференции в ходе выработки оптимального алгоритма для лабораторной

диагностики COVID-19 как для производителей специфических диагностикумов, так и для сотрудников клинических лабораторий, выполняющих исследования.

В Российской Федерации проводится активная работа по созданию ИХТ для диагностики SARS-CoV-2. В настоящее время (по состоянию на 25.08. 2020 г.) в России официально зарегистрировано и применяется на практике 34 диагностических набора реагентов для выявления РНК SARS-CoV-2 (на основе ПЦР), 51 тест-система (на основе ИФА и ИХЛА) для выявления иммуноглобулинов к SARS-CoV-2, 50 экспресс-тестов для выявления иммуноглобулинов к SARS-CoV-2 и 4 диагностическим наборам для выявления антигена SARS-CoV-2; перечень зарегистрированных в Российской Федерации диагностических наборов реагентов представлен в Государственном реестре медицинских изделий. Все этапы лабораторных исследований (преаналитический, аналитический и постаналитический) проводятся в строгом соответствии с инструкциями производителей применяемых наборов реагентов [8].

В инструкциях по применению тест-систем для диагностики *in vitro* в соответствии с требованиями ГОСТ Р ИСО 18113-3-2015 "Национальный стандарт РФ. Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Клинические лабораторные исследования и медицинские системы для диагностики *in vitro*. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка) Часть 3. Инструменты для диагностики *in vitro* для профессионального применения" компании-производители ИХТ должны размещать информацию об известных интерференциях, которые представляют значительный риск [9].

Вопросы лабораторной диагностики COVID-19 в нашей стране регламентированы рядом нормативных документов Минздрава России и Роспотребнадзора РФ, информация в которых периодически актуализируется в соответствии с обновляющимися данными, получаемыми в ходе изучения возбудителя инфекции. Так во "Временных методических рекомендациях Минздрава России "Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19), версия 9 от 26.10.2020 г. (Приложение 3-2. "Инструкция по проведению диагностики COVID-19 с применением иммунохимических методов"), четко прописано, что "Интерпретация результатов иммунохимических исследований должна проводиться с учетом анамнеза и клинических данных, а также результатов других лабораторных и инструментальных исследований.

Необходимо учитывать вероятность получения ложноположительных и ложноотрицательных результатов.

Ложноположительные результаты могут появиться при наличии в крови пациента так называемых "перекрестно-реагирующих" антител, сходных по своим иммунохимическим свойствам со специфическими антителами (других коронавирусов, ревматоидным фактором IgM).

Ложноотрицательные результаты могут быть при исследовании биологических образцов, взятых на серонегативном этапе развития инфекции, или при применении тест-систем/наборов реагентов с низким уровнем чув-

ствительности. Ложноотрицательные результаты могут быть получены при обследовании пациентов со сниженным иммунитетом.

Ложноположительные и ложноотрицательные результаты могут также появляться при нарушении правил проведения лабораторных исследований на всех этапах. Для исключения ложноположительных результатов необходимо ввести алгоритм последовательного тестирования пациентов, у которых получены первоначальные положительные результаты с использованием другого теста. С этой целью необходимо использовать тест-систему с максимальными чувствительностью и специфичностью, а также с одновременным выявлением антител классов А, М, G, которая будет играть роль референтной (верифицирующей) тест-системы" [8].

Литература

1. Elfiky A.A. Natural products may interfere with SARS-CoV-2 attachment to the host cell. *J Biomol Struct Dyn*. 2020 May; 5: 1-10
2. Wang Q., Du Q., Guo B., Mu D., Lu X., Ma Q. et al. A method to prevent SARS-CoV-2 IgM false positives in gold immunochromatography and enzyme-linked immunosorbent assays. *J Clin Microbiol*. 2020 May 26; 58(6): 1-7
3. Phipps W.S., SoRelle J.A., Li Q.-Zh., Mahimainathan L., Araj E., Markantonis J. et al. SARS-CoV-2 antibody responses do not predict COVID-19 disease severity. *Cell. and Molec. Immun.* 2004; 1(4):304-7
4. Wang Y.S., Shen H., Sun S.H., Jiang L.H., Liu Y., Zhu Z.W. et al. Analysis of false-positive associated with antibody tests for SARS-CoV in SLE patients. *Shi Yan Sheng Wu Xue Bao*. 2003 Aug; 36(4):314-7.
5. Wang Y.S., Sun Sh., Shen H., Jiang L., Zhang M., Xiao D. et al. Cross-reaction of SARS-CoV antigen with autoantibodies in autoimmune diseases. *Cel Mol Immunol*. 2004 Aug; 1(4): 304-7
6. Teng J., Dai J., Su Y., Zhou Z., Chi H., Wan L., et al. Detection of IgM and IgG antibodies against SARS-CoV-2 in patients with autoimmune diseases. *Lancet Rheumatol*. 2020 Jul; 2(7):e384-e385
7. Zhou P., Yang X.L., Wang X.G., Hu B., Zhang L., Zhang W. et al., A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* 2020. 579: 270-3
8. Временные методические рекомендации министерства здравоохранения РФ "Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19), версия 9 от 26.10.2020 г. - 235 с.
9. ГОСТ Р ИСО 18113-3-2015 - Национальный стандарт РФ. Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Клинические лабораторные исследования и медицинские системы для диагностики *in vitro*. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка) Часть 3. Инструменты для диагностики *in vitro* для профессионального применения. <http://docs.cntd.ru/document/1200125972>

**Тест-системы для диагностики новой коронавирусной инфекции (COVID-19)
производства ООО "НПО "Диагностические системы"**

Наименование тест-системы краткое описание	Каталожный номер	Количество анализов	Срок годности
ДС-ИФА-Анти-SARS-CoV-2 Тест-система иммуноферментная для выявления антител к коронавирусу SARS-CoV-2 (COVID-19) методом иммуноферментного анализа <i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i>	S - 2372	96	12 месяцев
ДС-ИФА-Анти-SARS-CoV-2-G Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса G к коронавирусу SARS-CoV-2 (COVID-19) методом иммуноферментного анализа <i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i>	S - 2382	96	12 месяцев
ДС-ИФА-Анти-SARS-CoV-2-M Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса M к коронавирусу SARS-CoV-2 (COVID-19) методом иммуноферментного анализа <i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i>	S - 2392 S - 2394	96 480	12 месяцев

Аналитические характеристики тест-систем, подтвержденные результатами клинических испытаний:

ДС-ИФА-АНТИ-SARS-COV-2 ¹⁾

Показатель	Объект исследования	Полученные данные
Диагностическая чувствительность	Парные образцы сывороток крови от 25 пациентов с COVID-19.	100% (95% ДИ*: 86,68 - 100%) Показано увеличение титра антител (КП) в парных образцах.
Диагностическая специфичность	25 образцов сыворотки крови доноров (случайная выборка)	100% (95% ДИ*: 86,68 - 100%)
	перекрёстно-реагирующие образцы сыворотки (плазмы) крови (n=150)	100% (95% ДИ*: 97,50 - 100%)
Потенциально интерферирующие вещества	Панель интерферирующих веществ IN. VENT Diagnostica GMBH, кат.№ IFPA 4.5.1.1., серия 181206 (n=50): гемолиз, билирубин, липиды, человеческие антимышьи антитела (НАМА), антитела к <i>E. coli</i> , ревматоидный фактор, беременность	Нет влияния гемоглобина (2 650 мг/л), билирубина (502 мкмоль/л), липидов (661 мг/дл), ревматоидного фактора (77,4 МЕ/мл) Отсутствуют ложноположительные результаты, вызванные НАМА, антителами к <i>E. coli</i> , беременностью
Исследование эквивалентности образцов сыворотки/плазмы крови	Сыворотка/плазма (ЭДТА, цитрат натрия, гепарин) от пациентов с подтвержденным диагнозом COVID-19, а также от доноров случайной выборки	Эквивалентны
Воспроизводимость	Внутриплащечная, межсерийная	Коэффициент вариации менее 10%

¹⁾ По данным акта клинических испытаний ФГБУ "НМХЦ им. Н. И. Пирогова" Минздрава России от 18.05.2020 №2

ДС-ИФА-АНТИ-SARS-COV-2-G ²⁾

Показатель	Объект исследования	Полученные данные
Диагностическая чувствительность	Парные образцы сыворотки крови от 23 пациентов с COVID-19	100,00% (95% ДИ*: 86,68-100,00%) Продemonстрировано увеличение титра антител (КП) в парных образцах
Определение титра антител	58 положительных образцов сыворотки крови от пациентов с COVID-19, отобранных на разных стадиях заболевания	Расчетный и фактический титры совпадают
Диагностическая специфичность	134 образца сыворотки крови доноров (случайная выборка)	100,00 % (95% ДИ*: 97,19 - 100,00%)
	перекрёстно-реагирующие образцы сыворотки (плазмы) крови (n=185)	99,46% (95% ДИ*: 97,00 - 99,90%)
Потенциально интерферирующие вещества	Панель интерферирующих веществ IN. VENT (n=50): гемолиз, билирубин, липиды, человеческие антимышьи антитела (НАМА), антитела к <i>E. coli</i> , ревматоидный фактор, беременность	Нет влияния гемоглобина (2,65 мг/мл), билирубина (502 мкмоль/л (0,3 мг/мл)), триглицеридов (6,61 мг/мл), холестерина (204 мг/дл (2,04 мг/мл)), ревматоидного фактора (77,4 МЕ/мл). Отсутствуют ложноположительные результаты, вызванные НАМА, антителами к <i>E. coli</i> , беременностью
Исследование эквивалентности образцов сыворотки/плазмы крови	Сыворотка/плазма (ЭДТА, цитрат натрия, гепарин) от пациентов с COVID-19, от доноров случайной выборки	Эквивалентны
Воспроизводимость	Внутриплащечная, межплащечная, межсерийная	Коэффициент вариации менее 10%

²⁾ По данным акта клинических испытаний ФБУЗ ЦОМЦ ФМБА России от 26.05.2020 г. №2

СПИСОК АББРЕВИАТУР

АГ	антиген	РА	ревматоидный артрит
АИЗ	аутоиммунные заболевания	РНК	рибонуклеиновая кислота
АТ	антитело	РС	рассеянный склероз
АТ-рТТГ	антитела к рецепторам ТТГ	РФ (RF)	ревматоидный фактор
АТ-ТПО	антитела к тиреопероксидазе	РЭА	раково-эмбриональный антиген
АКТГ	адренокортикотропный гормон	СА 19-9	углеводный антиген 19-9, онкомаркер
АФП	альфа - фетопроtein	СА 125	углеводный антиген 125, онкомаркер
БАД	биологически активные добавки	СЗСТ	смешанное заболевание соединительной ткани
ВГВ (HBV)	вирус гепатита В	СК	синдром Кушинга
ВГС (HCV)	вирус гепатита С	СКВ	системная красная волчанка
ВИЧ (HIV)	вирус иммунодефицита человека	СПИД	синдром приобретенного иммунодефицита
ВОЗ	Всемирная организация здравоохранения	СТГ	соматотропный гормон
ВПГ	вирус простого герпеса	ТГ	тиреоглобулин
ГА	гетерофильные антитела	ТСГ	тироксин-связывающий глобулин
ДИ	доверительный интервал	ТТГ (TSH)	тиреотропный гормон
ИБ	иммунный блоттинг	Т4	тироксин
ИМ	инфаркт миокарда	Т3	трийодтиронин
ИФР-1	инсулиноподобный фактор роста-1	ФСГ	фолликулостимулирующий гормон
ИФА	иммуноферментный анализ	ФЩЖ	функция щитовидной железы
ИФЛА	иммунофлуоресцентный анализ	ХГЧ (HCG)	хорионический гонадотропин человека
ИХЛА	иммунохемилюминесцентный анализ	β-ХГЧ	свободная β-субъединица ХГЧ
ИХА	иммунохроматографический анализ	ЭХЛА	электрохемилюминесцентный анализ
ИХЛ (CLIA)	реакция иммунохемилюминесценции	ААСС	(American Association for Clinical Chemistry) - Американская ассоциация по клинической химии
ИХТ	иммунохимические тесты (тест-системы)	CDC	(Centers for Disease Control) - Центр по контролю и профилактике заболеваний, США
КВ (CV)	коэффициент вариации	COVID-19	(Coronavirus disease 2019) - инфекция, вызванная новым коронавирусом SARS-CoV-2
КП	коэффициент позитивности	сТн	кардиотропонины
ЛГ	лютеинизирующий гормон	EASL	(European Association for the Study of the Liver) - Европейская ассоциация по изучению болезней печени
ЛОР	ложноотрицательные результаты/реакции	FDA	(Food and Drug Administration) - Управление по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных препаратов, США
ЛПР	ложноположительные результаты/реакции	HAАА	(human anti-animal antibodies) антитела человека к клеткам животных
МАК	моноклональные антитела	HAMA	(human anti-mouse antibody) - антимышьи антитела человека
НУП (BNP)	натрийуретический пептид В-типа	HBsAg	поверхностный антиген вируса гепатита В
ОКС	острый коронарный синдром	IFCC-CB	(The International Federation for Clinical Chemistry Committee on Cardiac Biomarkers) - Комитет по сердечным биомаркерам Международной федерации клинической химии
ОП	оптическая плотность	MERS	(Middle East Respiratory Syndrome) - Ближневосточный респираторный синдром (БВРС), вызываемый коронавирусом MERS-CoV
ПСА (PSA)	простатспецифический антиген	SARS	(Severe Acute Respiratory Syndrome) - тяжелый острый респираторный синдром (ТОРС, атипичная пневмония), вызванный коронавирусом SARS-CoV
ПРС	прогрессирующий рассеянный склероз		
ПТГ	паратиреоидный гормон		
ПЦР	полимеразная цепная реакция		
ПЭГ	полиэтиленгликоль		

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Нижний Новгород

**Центральный офис
ООО «НПО «Диагностические системы»:**

603024, г. Нижний Новгород
ул. Горького, д. 195
тел./факс канцелярии (831) 434-86-83
тел. 8-800-555-03-00 (звонок по России бесплатный)
E-mail: info@npods.ru, selling@npods.ru
официальный сайт: <http://www.npods.ru>

Служба поддержки клиентов:
тел. (831) 467-82-18 (доб. 7647, 7655)
E-mail: help-ds@npods.ru

Представительства

Москва	Диагностические системы—Столица 123317, г. Москва, Пресненская наб, д. 12, Деловой комплекс "Федерация", Башня "Восток", 29-й этаж тел. (495) 653-81-31, 653-81-32 ds-stolica@bk.ru
Санкт-Петербург	Диагностические системы—СПб 194214, г. Санкт-Петербург, ул. Рашетова, д. 14, пом. 12Н тел./факс (812) 414-46-56 info@spb-npods.ru
Красноярск	ООО "Диагностические системы—Сибирь" 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 16 д тел./ факс (3912) 78-19-83, 54-16-55, 54-17-58 sbit@ds-s.ru
Екатеринбург	ООО "Диагностические системы—Урал" 620100, г. Екатеринбург, Сибирский тракт, 12, стр. 5, вход 6 отдел продаж: (343) 272-33-08 ds-ural@npods.ru
Республика Украина	ООО «Диагностические системы Украина» 04107, г. Киев, ул. Багговутовская, 8/10 Тел. +380443615576 ua@npods.ru, ds-u@ukr.net
Казахстан	ТОО "FORTIS PAI" (ФОРТИС ПАЙ) 050019, Республика Казахстан, г. Алматы, ул. Чаплина, 71, оф. 2, тел. факс +7-727-234-46-44, +7-727-231-05-12 sales@fortispai.ru www.fortispai.kz
Узбекистан	ООО "INSTEP" 100090, Республика Узбекистан, г. Ташкент, ул. М. Таробий, 29 А, тел. +99871-254-00-26, тел./факс +99871-254-07-05, instep@inbox.ru www.instep.uz

ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ COVID-19 ПРОИЗВОДСТВА ООО «НПО «ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ»

ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2

Набор реагентов для выявления антител классов М и G к коронавирусу SARS-CoV-2, в сыворотке или плазме крови человека методом ИФА

ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G

Набор реагентов для выявления антител класса G к коронавирусу SARS-CoV-2, в сыворотке или плазме крови человека методом ИФА

ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-M

Набор реагентов для выявления антител класса М к коронавирусу SARS-CoV-2, в сыворотке или плазме крови человека методом ИФА

Тесты созданы на основе рекомбинантных антигенов SARS-CoV-2: аналогов нуклеокапсидного (N) и spike (S) белков, включающих домены-мишени потенциально нейтрализующих антител

ПОЛУКОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G *

*Количественное определение возможно только при наличии аттестованного международного стандарта, несуществующего на данный момент



Результат может быть представлен в виде титра антител или коэффициента позитивности (КП)

Минимальный расход
1-2 лунки на 1 образец
46-92 образца на планшет



**ЭКОНОМИЧЕСКИ
ВЫГОДНО**

Эти показатели отражают относительное количество IgG в исследуемом образце, позволяют уточнить иммунный статус пациента и отслеживать изменение уровня антител в крови человека в динамике

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Выявление лиц ранее инфицированных вирусом SARS-CoV-2

Арбитражный метод диагностики в случае отрицательного результата ПЦР при подозрении на COVID-19 (исследование парных образцов)

Эпидемиологические расследования и отслеживание контактных лиц

Скрининг населения для изучения популяционного иммунитета

Мониторинг напряженности иммунитета среди переболевших лиц и среди групп повышенного риска заражения (медперсонал, организованные коллективы, силовые структуры и т.п.)

Обследование реконвалесцентов-доноров гипериммунной плазмы

Оценка уровня антител до и после вакцинации (при доступности специфической профилактики)

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ТЕСТОВ

- Диагностическая чувствительность тестов ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2, ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G и ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-M составляет 100% (> 17 дней от появления симптомов)
- Диагностическая специфичность тестов

Исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови	Специфичность ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2, %	Специфичность ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G, %	Специфичность ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-M, %
Случайная выборка доноров	95,90	99,80	99,70
Перекрестно-реагирующие образцы, полученные от:			
беременных	98,46	100,00	97,90
пациентов с инфекционными заболеваниями	96,84	99,50	100,00
госпитальных пациентов с неинфекционными заболеваниями	98,57	99,20	99,00
Искусственные образцы, содержащие молекулы моноклональных/поликлональных антител к возбудителям SARS и MERS	100,00	100,00	---

РУ ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2 № РЗН 2020/10464 от 22.05.2020; № РЗН 2020/11490 от 24.07.2020

РУ ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-M № РЗН 2020/11502 от 24.07.2020

РУ ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G № РЗН 2020/10642 от 03.06.2020

