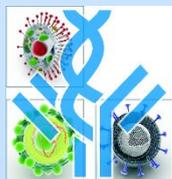


# ИФА и ИХА тест-системы для диагностики инфекционных и паразитарных заболеваний в ветеринарии. Современные методы, их особенности и различия.



Островский М.В.  
к.в.н. начальник отдела ветеринарии  
ЗАО «Биоград».



***В современной ветеринарной практике большую роль играет лабораторная диагностика, как один из основных инструментов постановки диагноза при инфекционных и паразитарных заболеваниях***

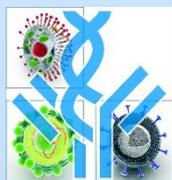


# Быстрые тесты на заболевания

Необходимость в любых условиях оперативно проводить исследования дала толчок появлению быстрых тестов,

Современные быстрые тесты позволяют

- Поставить анализ без дорогостоящего оборудования
- Получить результат анализа сразу на приеме либо в течение часа
- Не требуют обязательной отправки в лабораторию
- Применяются врачами как на приеме так и на выездах и в полевых условиях

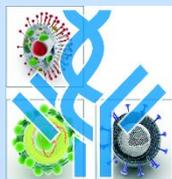


# Принципы работы быстрых тестов

Иммунологический метод анализа основан на реакции между антигеном и соответствующим ему антителом (реакция антиген – антитело)

**Антиген** - это вещество, которое чужеродное для организма животного и которое может запустить иммунную систему (защитную реакцию).

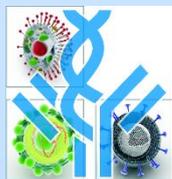
**Антитела** - это белки, которые выделяются клетками организма животного при внедрении в него антигена



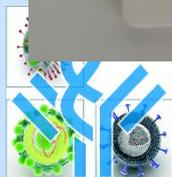
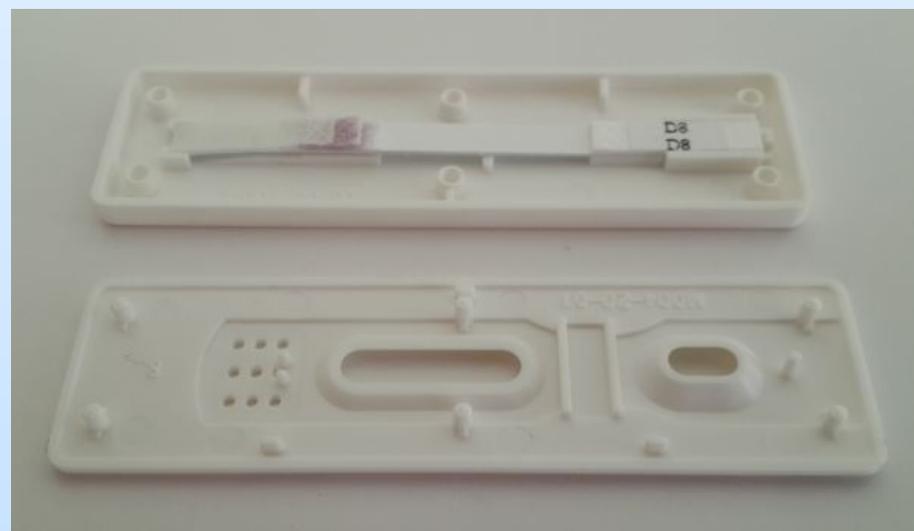
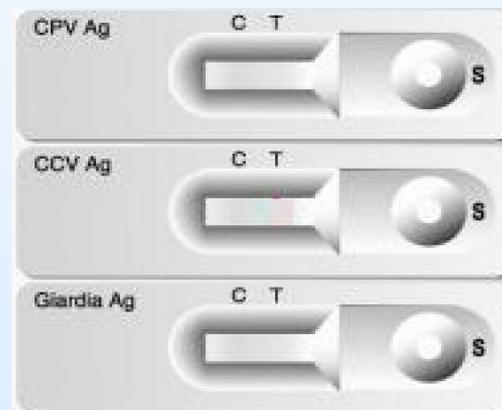
# Типы быстрых тестов

В настоящее время применяемые в ветеринарии быстрые тесты на заболевания подразделяются на:

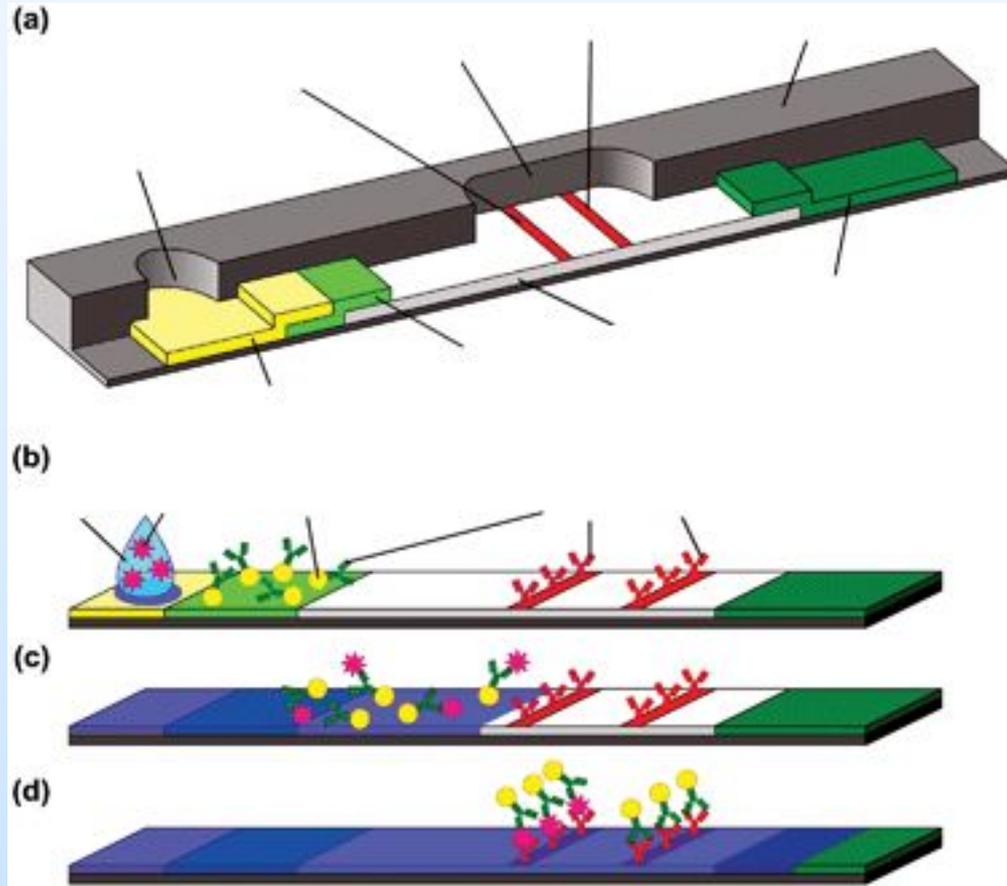
- Иммунохроматографические (ИХА) :  
много производителей
- Иммуноферментные (ИФА):  
Idexx SNAP, Biogal ImmunoComb



# Экспресс-тесты – ИХА: внешний вид



# Что такое экспресс-тест ИХА?



- **В основе теста** лежит метод **иммунохроматографического анализа (ИХА)**. В результате теста происходит **классическая реакция "антиген-антитело"** с образованием иммунных комплексов, которые можно **визуально обнаружить** на тест-полоске.
- **Принцип действия** состоит в том, что при погружении тест-полоски в биологическую жидкость (или другой жидкий образец), она **начинает мигрировать** вдоль полоски по принципу тонкослойной хроматографии. Вместе с ней движутся нанесенные на нижнюю часть тест-полоски **меченые специфические антитела**, которые **аффинно (прочно и родственно) связываются** с анализируемым веществом.

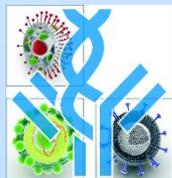
# Основными преимуществами использования иммунохроматографических тестов являются:

## Быстрота:

- Одношаговая процедура с получением результата обычно в течение 10-15-20 минут.

## Удобство:

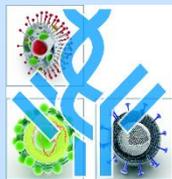
- Простой в использовании и легкий в прочтении результатов



# Однако иммунохроматографические тест-полоски не лишены недостатков.

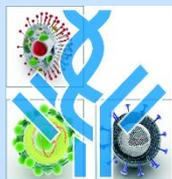
Касается это, в первую очередь, *надежности и чувствительности* тестов.

- **Надежность и чувствительность** зависит, во-первых, от качества используемых в тесте реагентов и, во-вторых, от концентрации антигена в биоматериале.
- **Качество используемых реагентов** зависит от способов их получения, очистки и фиксации на полоске.
- **Концентрация антигена** – от стадии заболевания и количества биоматериала.
- **Количество биоматериала** особенно важно при использовании цельной крови.
- Существенную роль играет **гематокрит**, т.е. соотношение плазмы и форменных элементов. **При высоком гематокрите снижается** доля элементов антигена из плазмы по сравнению с форменными элементами



## Кроме того:

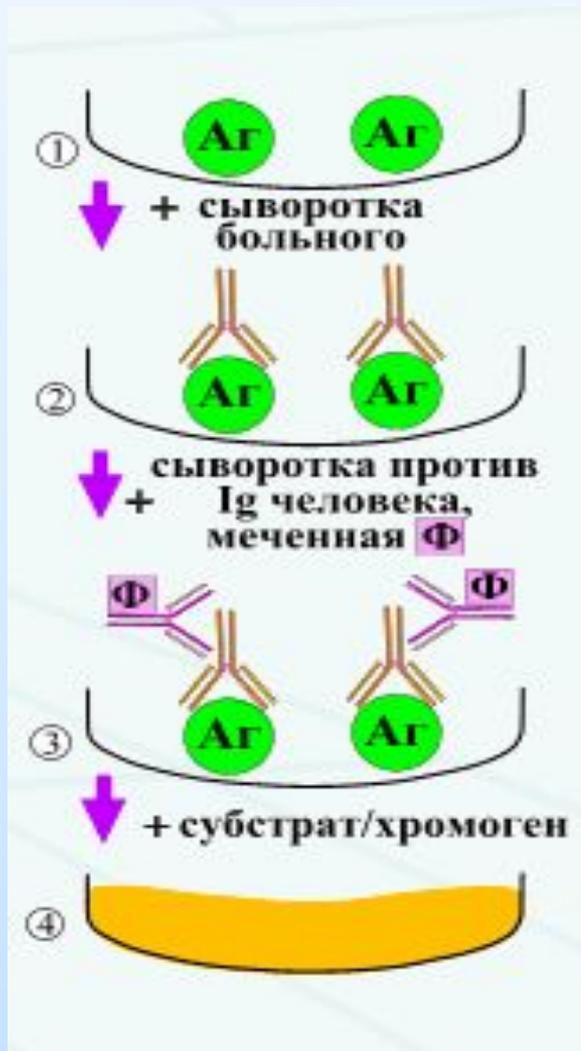
- ИХА-тесты обеспечивают только **качественный результат** (да - нет), измерение концентрации невозможно. При некоторых заболеваниях, они могут быть малоинформативными (например FIP).
- Экспресс-тесты (антигенные) **«работают» только в течение ~ 3-7 дней** после заражения (только при первоначальном воздействии антигена на организм животного) ( вирусные заболевания).
- Минимальная определяемая ИХА концентрация антигена или антител сильно выше, чем у ИФА, что может давать **«ложноотрицательный»** результат на ранней стадии, поскольку уровень антигена/антител может быть **слишком низким**, чтобы обнаружить заболевание на ранней стадии.
- Большой процент **«ложноположительных»** результатов, что мешает при исследовании животных на вирусносительство.



# Что такое ИФА-анализ (ELISA) ?

Основной *отличительной чертой* иммуноферментного анализа является то, что **комплекс «антиген-антитело»** выявляется с помощью **субстрата**, который расщепляется ферментом с появлением окрашивания (ферментативное окрашивание).

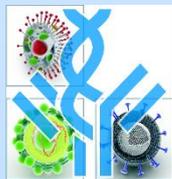
При ферментативном окрашивании для достижения окраски требуется меньшее количество комплексов антиген-антитело, так как каталитические свойства ферментов позволяют действовать им в качестве усилителей: одна молекула фермента может способствовать образованию более  $1 \cdot 10^5$  молекул продукта каталитической реакции в минуту, что обуславливает высокую чувствительность ИФА.



# Основными преимуществами использования ИФА- тестов являются:

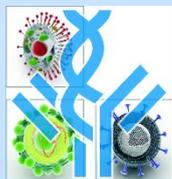
- Иммуноферментный анализ – более надежный и чувствительный метод для поиска антител и антигенов и оценки их концентрации.
- Обеспечивает не только качественный, но и количественный результат.
- Определяет относительный уровень титра - диагностирует болезнь, *на гораздо более низком уровне титра*, чем положительное пороговое значение в ИХА - тестах.
- Позволяет подтверждать *подозрительные случаи* заболевания, за которыми в дальнейшем может быть изменение титра.

*ИФА – анализ более точный* в определении, он позволяет не только диагностировать заболевание , но и определить его стадию и отследить динамику развития болезни.



# Однако, у классического ИФА - анализа есть свои сложности и недостатки:

- Длительность и сложность постановки по сравнению с ИХА – методом и невозможность количественного учета результатов без специального оборудования.
- Необходимо большое количество образцов (8-96) для постановки анализа.
- Требуется специальная подготовка специалистов
- Высокая стоимость оборудования для оснащения лаборатории.



## Преимущество ИХА -тестов с классическим ИФА:

<b>ИХА -тест</b>	<b><u>Классический ИФА</u></b>
1. Простой 2. Портативный - удобен для «полевых» исследований.	Требует аппарата для считывания результатов ИФА.
Определяет до 3 инфекций в 1 анализе	Один результат на лунку планшета
Нужно небольшое количество образцов.	Необходимо большое количество образцов.
Быстрый срок выполнения анализа.	Более длительный срок выполнения анализа.
Выполняется непосредственно ветврачом в клинике или на вызове.	Выполняется специалистом в лаборатории.

# Преимущества классического ИФА

## Сравнение с ИХА тестами

### Классический ИФА

Обеспечивает количественный результат.

Точный и надежный.

Определяет относительный уровень титра - диагностирует болезнь на гораздо более низком уровне титра, чем положительное пороговое значение у ИХА- тестов.

Может подтверждать подозрительные случаи заболевания, за которыми в дальнейшем может быть изменение титра.

Более точный в определении, не только если, но также и до какой степени животное заражено.

### ИХА тесты

Обеспечивает только качественный результат (даёт ответ только да/нет).

Положительное пороговое значение для заболевания может давать «ложноотрицательный» результат, поскольку уровень антигена/антител может быть слишком низким, чтобы обнаружить заболевание на ранней стадии.

Не даёт возможности определять стадию болезни и динамику её развития.

# ImmunoComb®

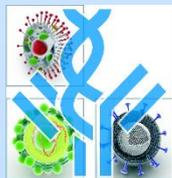


# Подведем итоги:

- Любой Ветеринарный врач **ставит диагноз** на основании анамнеза и клинических признаков, которые могут изменяться от легких до тяжелых. При необходимости, в дополнении к ним, делаются анализы крови. А так же кала, мочи и др. в зависимости от предполагаемого заболевания.
- Иммунологические исследования **помогут** ветеринарному врачу получить информацию об иммунном статусе животного. Они **либо подтвердят либо опровергнут** предполагаемый диагноз, а так же **могут помочь различить** (отдифференцировать) одно заболевание от другого заболевания, инфекционного или неинфекционного характера.

**Не бывает правильных или неправильных тестов.**

Всё зависит от того, какой случай рассматривается у животного (больно оно или же здорово) и то, какой ответ (для каких целей ставился тест) необходимо получить при его постановке.



*Спасибо за внимание*

