

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2025

Ротанов С.В.<sup>1, 2</sup>, Акиншина Ю.А.<sup>1</sup>, Марданлы С.Г.<sup>1, 3</sup>

## ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ДЕФИЦИТНЫХ СОСТОЯНИЙ ПО ВИТАМИНУ D И ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ЕГО СОДЕРЖАНИЯ В КРОВИ



<https://elibrary.ru/lrpnaj>

<sup>1</sup> АО «ЭКОлаб», 142530, Электрогорск, Россия;

<sup>2</sup> ФБУН «ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, 142279, Серпухов, п. Оболенск, Россия;

<sup>3</sup> ГОУВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет», 142611, Орехово-Зуево, Россия

*В свете современных знаний о роли витамина D в метаболизме, актуально лабораторное определение уровня его содержания в крови пациентов.*

**Цель работы** – разработка экспресс набора для лабораторного количественного/полуколичественного исследования активных метаболитов витамина D в крови человека.

**Материалы и методы.** Технология иммунохроматографического полуколичественного исследования целевого анализа в крови и обеспечение процесса исследования иммуноактивными соединениями.

**Результаты.** Разработан новый набор «Тест-система иммунохроматографическая для полуколичественного определения множественных форм 25-гидроксивитамина D в цельной капиллярной крови человека «ИХА-Витамин D-полуколичественный», позволяющий оценивать содержания 25(OH)D по 3 градуирующим уровням: дефицит ( $D < 10$  нг/мл), недостаточный ( $10 \leq D < 30$  нг/мл) и достаточный ( $30 \leq D < 100$  нг/мл). Технические доклинические испытания нового набора с набором реагентов сравнения и верифицирующие иммуноферментные исследования продемонстрировали высокие показатели клинической чувствительности, специфичности и воспроизводимости результатов. Установлено отсутствие потенциально интерферирующего влияния на результаты ИХА со стороны ряда активных соединений эндогенной и экзогенной природы.

**Заключение.** Набор рекомендован для использования в медицинских учреждениях РФ и при самотестировании населением (РУ № РЗН 2023/21510 от 10.11.2023 г.).

**Ключевые слова:** лабораторная диагностика; витамин D; 25(OH)D; иммунохроматография; набор реагентов

**Для цитирования:** Ротанов С.В., Акиншина Ю.А., Марданлы С.Г. Эпидемиология дефицитных состояний по витамину D и иммунохроматографический контроль его содержания в крови. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2025; 30; 1: 39-46.

DOI: <https://doi.org/10.51620/3034-1981-2025-30-1-39-46>

EDN: LRPNAJ

**Для корреспонденции:** Ротанов Сергей Владимирович, вед. научн. сотрудник отдела информатизационных технологий ФБУН «ГНЦ ПМБ» Роспотребнадзора; e-mail: svrotanov@mail.ru

**Финансирование.** Исследование выполнено в соответствии с научным производственным планом АО «ЭКОлаб».

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 19.01.2025

Принята к печати 10.03.2025

Rotanov S.V.<sup>1,2</sup>, Akinshina Yu.A.<sup>1</sup>, Mardanly S.G.<sup>1,3</sup>

## EPIDEMIOLOGY OF VITAMIN D DEFICIENCY STATUS AND IMMUNOCHROMATOGRAPHIC CONTROL OF ITS CONTENT IN BLOOD

<sup>1</sup> JSC «EKOlab», 142530, Elektrogorsk, Russia;

<sup>2</sup> Federal budgetary institution of Science «State Scientific Centre of Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор, 142279, Obolensk, Russia;

<sup>3</sup> State educational institution of higher education of the Moscow region «State Humanitarian University of Technology», 142611, Orekhovo-Zuyevo, Russia

*In light of current knowledge about the role of vitamin D, laboratory determination of its level in patients' blood is relevant.*

**The aim** of the work is to develop an express kit for laboratory quantitative/semi-quantitative study of active metabolites of vitamin D in human blood.

**Materials and methods.** Technology of immunochromatographic semi-quantitative study of the target analyte in blood and providing the study process with immunoactive compounds.

**Results.** A new kit "Immunochromatographic test system for semi-quantitative determination of multiple forms of 25-hydroxyvitamin D in human whole capillary blood "ICA-Vitamin D-semi-quantitative" has been developed, which allows to estimate the content of 25(OH)D by 3 graduated levels: deficiency ( $D < 10$  ng/ml), insufficient ( $10 \leq D < 30$  ng/ml) and sufficient ( $30 \leq D < 100$  ng/ml). Technical preclinical tests of the new kit with a set of comparison reagents and verifying enzyme immunoassays demonstrated high rates of clinical sensitivity, specificity and reproducibility of the results. The absence of a potential interfering effect on the results of ICA from a number of active compounds of endogenous and exogenous nature was established.

**Conclusion.** The kit is recommended for use in medical institutions of the Russian Federation and for self-testing by the population (RU No. RZN 2023/21510 dated 11/10/2023).

**Key words:** laboratory diagnostics; vitamin D; 25(OH)D; immunochromatography; reagent kit

**For citation:** Rotanov S.V., Akinshina Yu.A., Mardanly S.G. Epidemiology of Vitamin D deficiency status and immunochromatographic control of its content in blood. *Epidemiologiya I Infektsionnye bolezni (Epidemiology and infectious dis-*

eases). 2025; 30; 1: 39-46 (in Russ.).

DOI: https://doi.org/10.51620/3034-1981-2025-30-1-39-46

EDN: LRPNAJ

**For correspondence:** *Sergey V. Rotanov*, leading researcher of the department of information technologies of the Federal State Budgetary Scientific Institution "State Scientific Center of Applied Medical Biology" of Rospotrebnadzor; e-mail: svrotanov@mail.ru

**Information about authors:**

Rotanov S.V., <https://orcid.org/0000-0002-3222-1401>;

Akinshina Yu.A., <https://orcid.org/0000-0002-9223-3455>;

Mardanly S.G., <https://orcid.org/0000-0003-3650-2363>.

**Funding.** *The study had no sponsor support.*

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

Received 19.01.2025

Accepted 10.03.2025

**Введение.** С началом XXI века наблюдается существенное увеличение внимания научных медицинских работников к изучению роли витамина D в нормальной и патологической физиологии человека. Прежние представления о том, что это соединение в организме обеспечивает кальций-фосфорный обмен и костный метаболизм, было существенно расширено. Так, было установлено, что разнообразные клетки организма человека имеет рецепторы к активным формам витамина D, что свидетельствует об их активном участии в нормальной физиологии тканей (включая модуляцию клеточного роста, нервно-мышечную проводимость, иммунитет и воспаление).

По химическому строению витамин D относят к группе жирорастворимых секостероидов; они действительно ответственны за всасывание соединений кальция, железа, магния, фосфора и цинка в кишечнике человека. В настоящее время выделяют две фракции витамина D: эргокальциферол (D<sub>2</sub>) и холекальциферол (D<sub>3</sub>). Установлено, что витамин D<sub>3</sub> естественным образом образуется в коже человека при достаточном ультрафиолетовом (солнечном) облучении, в то время как витамин D<sub>2</sub> поступает в организм из продуктов питания или с пищевыми добавками. Нативные формы витамина D биологически мало активны, их трансформация в активные формы D-гормонов происходит при первичном гидроксировании в печени с образованием 25-гидроксивитамина D [25(OH)D] – кальцидиол и при вторичном гидроксировании в почках, завершающемся синтезом 1,25-дигидроксивитамина D [1,25(OH)<sub>2</sub>D] – кальцитриол. Содержание D-гормонов в сыворотке крови зависит от эффективности их связывания белками-носителями, а также активности фактора роста фибробластов и ряда ферментов, регулируемых паратиреоидным гормоном. [1, 2].

Дефицитные состояния по содержанию витамина D у пациента оценивают по снижению уровня 25(OH)D в крови ниже оптимальных значений. По критериям, установленным Российской академией эндокринологов, выделяют следующие градации содержания витамина D в крови взрослого человека:

– адекватные (оптимальные) уровни – при 30-100 нг/мл (75-250 нмоль/л) – это обеспечивают оптимальное подавление паратиреоидного гормона и сохранение плотности костной ткани;

– целевые уровни в процессе терапии – достижение показателя 30-60 нг/мл (75-150 нмоль/л) – минимизация

выраженности наблюдаемых патологических изменений;

– недостаточность – в интервале концентрации  $\geq 20$ , но  $< 30$  нг/мл ( $\geq 50$ , но  $< 75$  нмоль/л) – имеется низкий риск потери костной ткани и развития вторичного гиперпаратиреоза, нейтральный эффект костной ткани на падения (без переломов);

– дефицит – при показателях  $< 20$  нг/мл ( $< 50$  нмоль/л) – повышенный риск потери плотности костной ткани, развития вторичного гиперпаратиреоза, возникновения переломов при падениях;

– выраженный дефицит – при  $< 10$  нг/мл ( $< 25$  нмоль/л) – имеется повышенный риск рахита, остеопороза, вторичного гиперпаратиреоза, миопатии, возникновения переломов при падениях и травмах;

– уровни с возможным проявлением токсичности витамина D – при концентрации 25(OH)D  $> 150$  нг/мл ( $> 375$  нмоль/л) – развитие различных форм гиперкальциемии, гиперкальциурии, нефролитиаза, эктопической кальцификации и др.) [1, 2].

Как было отмечено ранее, главным источником витамина D является его синтез под воздействием УФ спектра солнечных лучей; однако современные клинические рекомендации по предотвращению фотостарения кожи и развитию меланомы, ограничивают время пребывания человека на солнце и содержат указания на применение гелиопротективных кремов с высокими показателями УФ защиты; соблюдение таких рекомендаций приводит к снижению синтеза витамина D в коже до 95-98 % от исходного уровня [3]. Кроме этого, способность кожи к продукции витамина D<sub>3</sub> понижается с возрастом; у пожилых людей его синтез в 3 раза ниже при прочих равных условиях в сравнении с молодыми людьми [3, 4], а лицам с естественным темным тоном дермы требуется в 3-5 раз более длительная инсоляция для выработки такого же количества витамина D<sub>3</sub>, чем человеку со светлой кожей [5]. Некоторые генетические и расовые различия в метаболизме витамина D влияют на уровни его индивидуального потребления и содержания в крови [6, 7]. Было установлено, что увеличение в популяции числа лиц с избыточной массой тела также приводит к дефициту витамина D; это обусловлено его первичным депонированием в подкожно-жировой клетчатке и снижением биодоступности для центрального кровотока; до 60-90% лиц с морбидным ожирением имеют дефицит витамина D [8-10].

Вклад в развитие дефицита витамина D вносит гео-

графическое расположение места жительства пациента. Исследования, проведенные в Канаде и США, показали, что в северных широтах (выше 35 параллели) за счет более острого угла падения солнечных лучей и их значительного рассеивания в атмосфере в период с ноября по март кожа людей практически не вырабатывает витамин D вне зависимости от времени, проводимого человеком на солнце [11]. Следовательно, вся территория Европы (тем более Российской Федерации), расположена в зоне высокого риска по D-витаминной недостаточности. Например, Москва имеет координаты 55°45', Санкт-Петербург – 59°57', Сочи – 43°35', Владивосток – 43°07' северной широты. По данным И.Н. Захаровой с соавт. (2012), на уровне 55° северной широты (локация городов Москва, Нижний Новгород, Казань и ряд других) регулярная инсоляция имеет потенциал синтеза адекватного количества витамина D в коже лишь в течение 4 месяцев в году (с середины апреля до середины августа) [12-16].

Необходимо учитывать также количество солнечных дней в разных регионах страны и температуру воздуха, позволяющую обеспечить инсоляцию открытых участков кожи для синтеза необходимого количества витамина D. Исследование уровня кальцидиола в летний период у здоровых детей и подростков в возрасте 4–18 лет (n = 140), постоянно проживающих в средней полосе России, выявило недостаточность витамина D в 39 % случаев, а в 3 % – тяжелый дефицит по витамину D [17, 18]. По данным белорусских специалистов в Российской Федерации 66 % детей (в возрасте до 3 лет) имеют недостаточный уровень обеспечения витамином D; в то время как в возрасте 7-14 лет не более 10 % адекватно обеспечены этим витамином [19].

В Республике Беларусь, по данным Э.В. Руденко и Л. Янковской, у 75-78 % постменопаузальных женщин выявлен дефицит витамина D (<20 нг/мл), у 17 % – его недостаточность, а оптимальное содержание – всего у 5 % [20].

В исследовании А.И. Козлова с соавт. (2012) показано пониженное содержание кальцидиола (<50 нмоль/л) у 47 % обследованных подростков Пермского края, в то время как по Республике Коми недостаточное содержание витамина D было выявлено у 86 % школьников в осенний период и у 98 % – в начале весеннего сезона [18, 20, 21].

Таким образом, перечисленные природно-климатические и географические факторы сами по себе обуславливают возможность развития и поддержания дефицита витамина D у взрослого и детского населения Российской Федерации [11-21].

Дополнительными причинами возникновения дефицита витамина D являются нарушения его поступления или усвоения с пищей при различных патологических синдромах, первичном гиперпаратиреозе, при снижении уровня транспортных белков крови, нарушении синтеза гидроксимирующей ферментов, у пациентов после операций с резекцией части желудка, а также в результате потери витамина D с мочой при патологии почек, при увеличенном физиологическом расходе запасов витамина D, а также при приеме некоторых лекарственных препаратов, оказывающих влияние на метаболизм витамина D в организме. Среди пищевых продуктов наиболее богатыми по содержанию витами-

на D являются рыбные продукты (в том числе и в консервированном виде) и облученные ультрафиолетом грибы и, в меньшей мере, молочные продукты, желтки птичьих яиц, печень животных.

Недостаточность витамина D (менее 30-20 нг/мл 25(OH)D в крови) широко распространена во всем мире. Так, по данным эпидемиологических наблюдений, содержание активных фракций 25(OH)D менее 30 нг/мл определяется у 50 % женщин в постменопаузе в Таиланде и Малайзии, 75 % – в США, 74-83,2 % – в России, 90 % – в Японии и Южной Корее. Выраженный дефицит витамина D (менее 10 нг/мл. при средних уровнях – 4-12 нг/мл) часто наблюдается у жителей Ближнего Востока и Южной Азии [1, 2, 20, 22, 23].

Исследования последних лет установили сложные механизмы опосредованного воздействия 25(OH)D через имеющиеся витамин-D-рецепторы на поверхности эпителиальных клеток кожи, респираторного тракта, кишечника и паращитовидных желез, а также макрофагов и иммунокомпетентных клеток, что обеспечивает активацию и выраженную иммунную защиту с участием процессов врожденного и адаптивного иммунитета [18-20, 24-26].

Таким образом, в современном мире недостаточность и дефицит 25(OH)D представляют собой пандемию, которая затрагивает не только нормальный обмен кальция и фосфора, но и механизмы иммунной защиты у преобладающей части народонаселения, включая детей и подростков, беременных и кормящих женщин, женщин в менопаузе, взрослых и пожилых людей.

Как уже было указано, определение общего 25(OH)D в сыворотке крови является общепризнанным маркером для оценки статуса витамина D у пациента, так как это соединение представляет собой основную циркулирующую форму витамина D и отражает как его поступление с пищей и пищевыми добавками, так и синтезированный в коже при воздействии солнечного облучения. В качестве диагностических лабораторных технологий применяют иммунохимические методы исследования 25(OH)D в сыворотке крови (иммуноферментный анализ – ИФА, качественный и полуколичественный, а также иммунохроматографический анализ – ИХА, качественный и полуколичественный) [19, 27, 28]. Преимущество ИФА заключается в точности и определении конкретного количественного показателя, в то время ИХА обеспечивает значительную экономию времени, исследование вне большой аналитической серии и получение ответа в разработанном интервале.

**Цель** работы состояла в разработке нового иммунохроматографического (ИХ) набора реагентов для полуколичественного экспресс-исследования множественных форм 25(OH) витамина D в цельной капиллярной крови человека.

**Материалы и методы.** Применена классическая технология полуколичественного ИХ определения целевых маркеров в крови человека [28-34], а также обеспечение исследовательского процесса высокочувствительными иммуноактивными соединениями.

При оценке диагностических характеристик использовали: разработанный набор «ИХА-Витамин D-полуколичественный» опытно-экспериментальных серий 01 и 02, от 13-14.02.2023, годных до 13-14.01.2025 и набор реагентов сравнения «Экспресс-

тест "Vitamin D", (РУ № РЗН 2022/17073 от 05.05.2022), серии NV100006, годной до 09.2024.

Для количественного определения содержания 25(OH)D в клинических образцах методом ИФА и верификации результатов исследований сравниваемыми ИХА-наборами применяли "25-Hydroxy Vitamin Ds EIA" («Иммунодиагностик Системс Лтд», Англия; РУ № РЗН 2022/17463 от 03.06.2022), лот J52723, годность до 25.06.2024.

Для внутренних клинико-лабораторных испытаний на предприятии были депонированы 774 образца, полученные и исследованные непосредственно после получения в ДЦ "Ei'Clinic" АО «ЭКОлаб» (г. Электрогорск, лицензия № Л041-01162-50/00365571 от 08.04.2015). От каждого пациента получали образец капиллярной крови и сыворотки венозной крови. Часть образцов капиллярной крови (n = 144) была собрана в капиллярные трубки с гепарином; они использованы для обогащения эндогенными соединениями, потенциально способными оказывать интерферирующее влияние на результаты ИХА (гемоглобин, свободный и связанный билирубин, триглицериды) или кросс-реагирующими экзогенными веществами (витаминами В<sub>12</sub>, С, Е или К<sub>1</sub>).

**Результаты.** При выборе технологии разработки нового набора реагентов приоритетное внимание получила экспресс технология ИХА, так как она обеспечивает высокую специфичность и чувствительность результатов при существенной экономии затрат времени, а кроме того, допускает исследование отдельных образцов вне аналитической серии. Принципиальной новацией разработки явился полуколичественный подход в оценке результатов проводимого ИХА с использованием референс-карты с цветовой шкалой в качестве из-

мерительного инструмента.

Разработанный на предприятии АО «ЭКОлаб» набор реагентов получил наименование «Тест-система иммунохроматографическая для полуколичественного определения множественных форм 25-гидроксивитамина D в цельной капиллярной крови человека «ИХА-Витамин D-полуколичественный»; базовая его комплектация включает: тест-кассету в индивидуальной защитной упаковке, флакон-капельницу с буферным раствором, пластиковую пипетку, стерильный скарификатор, спиртовую салфетку, референс-карту и инструкцию по применению. Внутри тест-кассеты содержится композитная ИХ мембрана, на ней проводится исследование образца капиллярной крови (рис.1). Основу стрипа составляет плотная подложка, на которой последовательно закреплены отдельные активные мембраны, каждая из которых для обеспечения наилучшего контакта внахлест перекрывает последующую:

- мембрана для образца впитывает образец крови и фильтрует форменные элементы, позволяя плазме крови продвигаться дальше;
- мембрана конъюгатов (пропитана коллоидными наночастицами золота, соединенными с кроличьими антителами к 25(OH)D3 и 25(OH)D2, и коллоидными наночастицами золота, соединенными с IgG кролика);
- мембрана-иммуносорбент, на ней в виде поперечной линии в тестовой зоне (Т) иммобилизованы активные формы витамина D: 25(OH)D3 и 25(OH)D2, а в зоне контроля (С) - козы антигенов к IgG кролика;
- мембрана для адсорбции благодаря своей впитывающей способности обеспечивает прохождение через иммуносорбент максимального количества исследуемой плазмы и удаление неактивных соединений.



Рис. 1. Схематическое изображение ИХ мембраны в составе набора реагентов «ИХА-Витамин D-полуколичественный»

**Проведение исследования.** После извлечения ИХ тест-кассеты из индивидуальной упаковки ее маркируют и размещают на горизонтальной поверхности. С помощью ланцета прокалывают кожу на пальце руки, первую

каплю крови удаляют, пластиковой пипеткой набирают кровь из второй капли до контрольной метки и переносят ее (объем 20 мкл) в "S" (Sample) окошко тест-кассеты, затем из флакона-капельницы добавляют 2 капли буферно-

го раствора в окошко, маркированное знаком "В" (Buffer). Через 10 минут оценивают результат реакции визуально,

сравнивая интенсивность тестовой линии (Т) с предоставленной цветовой шкалой референс-карты.



Рис. 2. Проведение ИХ исследования: 2-а – заполнение пипетки капиллярной кровью; 2-б – внесение образца крови и буфера в окна на тест-кассете

**Принцип действия.** Молекулы 25(OH)D исследуемого образца конкурирует с иммобилизованным на мембране 25(OH)D за ограниченное количество антител к 25(OH)D в конъюгате, в результате чего в тестовой зоне (Т) образуется окрашенный иммунный комплекс. Чем выше концентрация 25(OH)D в образце – тем светлее линия в Т зоне. Конъюгат контроля взаимодействует с антивидовыми антителами в С зоне с образованием окрашенного иммунокомплекса, независимо от концентрации 25(OH)D.

**Интерпретация результатов исследования.** Интенсивность окрашивания тестовой линии сравнивают с референс-картой (рис.3), входящей в комплект, и интерпретируют результат в соответствии с возможными критериями оценки (рис. 4):

– **4-а** – проявляются две розовые линии, одна из них в контрольной, вторая – в тестовой зоне; интенсивность окраски Т линии соответствует или темнее линии «D < 10 нг/мл» на референс-карте – у пациента имеется дефицит 25(OH)D – **D < 10 нг/мл (0-25 нМ/л)**;

– **4-б** – проявляются две розовые линии, одна из них линия в контрольной, вторая – в тестовой зоне; интенсивность окраски Т линии соответствует или темнее линии «10 ≤ D < 30 нг/мл» на референс-карте – у пациента определен недостаточный уровень 25(OH)D – **10 ≤ D < 30 нг/мл (25-75 нМ/л)**;

– **4-в** – проявляются две розовые линии, одна линия - в контрольной, вторая – в тестовой зоне; интенсивность окраски Т линии соответствует или темнее линии «30 ≤ D ≤ 100 нг/мл» на референс-карте – у пациента имеется достаточный уровень 25(OH)D - **30 ≤ D < 100 нг/мл (75-250 нМ/л)**;

– **4-г** – не появляется окрашенной линии в контрольной зоне (С) или **4-д** – ни в контрольной и ни в тестовой зонах – результат исследования недействительный и учету не подлежит; необходимо повторить исследование.

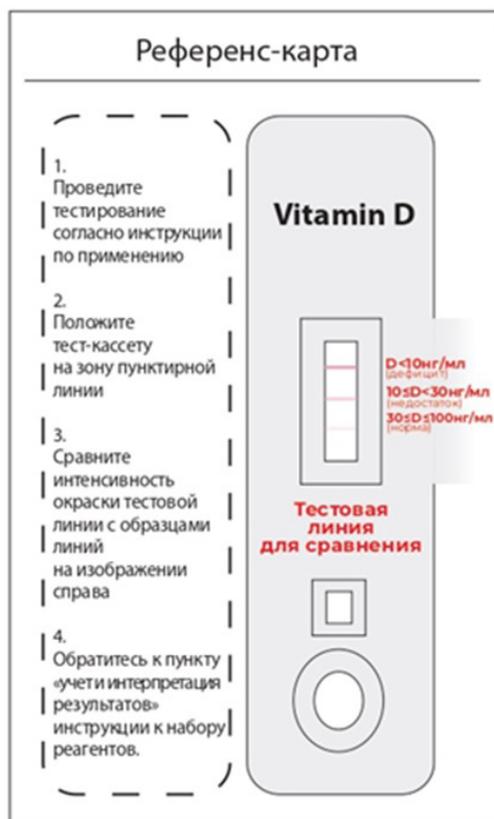


Рис. 3. Референс-карта для оценки результата ИХ исследования с набором реагентов «ИХА-Витамин D-полуколичественный»

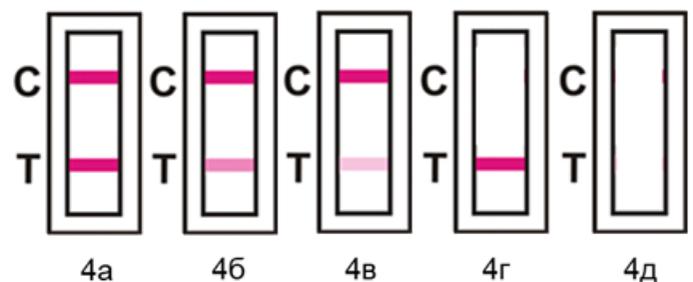


Рис. 4. Варианты результатов ИХ исследования

Технические испытания проведены с разработанной панелью Стандартных образцов предприятия (СОП), в ходе них были установлены аналитические и диагностические показатели разработанного набора. Панель СОП-346 включала образцы № 1 и № 2 – не содержавшие 25(OH)D и № 3 – № 8, содержавшие 25(OH)D в концентрации 5, 15, 25, 35, 55 и более 100 нг/мл соответственно.

**Результаты внутренних доклинических испы-**

**таний.** Для испытаний были приготовлены модельные образцы капиллярной крови, содержавшие разные концентрации 25(OH)D (достаточный, недостаточный и дефицитный уровни) и потенциально интерфериру-

ющие биологически активные вещества в повышенной концентрации (гемоглобин, свободный и связанный билирубин, триглицериды) и кросс-реагирующие соединения (витамин В<sub>12</sub>, С, Е или К<sub>1</sub>) (таблица 1).

Таблица 1

**Характеристика модельных образцов, подготовленных для внутренних доклинических и технических испытаний набора реагентов «ИХА-Витамин D-полуколичественный»**

№ п/п	Характеристика группы клинических образцов капиллярной крови человека	Количество образцов
1	с достаточным уровнем витамина D ( $30 \leq D \leq 100$ нг/мл)	50
2	с недостаточным уровнем витамина D ( $10 \leq D \leq 30$ нг/мл)	50
3	с дефицитным уровнем витамина D ( $D \leq 10$ нг/мл)	50
4	с разными уровнями витамина D и повышенной концентрацией гемоглобина (150-220 г/л)	75
5	с разными уровнями витамина D и повышенной концентрацией свободного билирубина (0,5-2 мг/дл)	75
6	с разными уровнями витамина D и повышенной концентрацией связанного билирубина (0,2-0,7 мг/дл)	75
7	с разными уровнями витамина D и повышенной концентрацией триглицеридов (150-250 мг/дл)	75
8	содержавшие витамин D в различной концентрации	144
9	с гепарином, содержавшие витамин D в достаточной концентрации, на их основе приготовлены модельные образцы:	144
9-а	с гепарином, содержавшие достаточный уровень витамина D и витамин В <sub>12</sub> (в концентрации 100 нг/мл)	36
9-б	с гепарином, содержавшие достаточный уровень витамина D и витамин С (в концентрации 100 мкг/мл)	36
9-в	с гепарином, содержавшие достаточный уровень витамина D и витамин Е (в концентрации 100 мкг/мл)	36
9-г	с гепарином, содержавшие достаточный уровень витамина D и витамин К <sub>1</sub> (в концентрации 100 мкг/мл)	36

При проведении сравнительных ИХ испытаний клинических образцов (n=150), содержавших достаточный уровень ( $30 \leq D \leq 100$  нг/мл), недостаточный уровень ( $10 \leq D \leq 30$  нг/мл) и дефицитный уровень витамина D ( $D \leq 10$  нг/мл) с разработанными наборами «ИХА-Витамин D-полуколичественный» и наборами сравнения «Экспресс-тест «Vitamin D» во всех случаях было получено полное совпадение результатов исследования, что позволило охарактеризовать диагностическую чувствительность и специфичность нового набора как высокую, соответствующую аналогичным показателям зарегистрированного в России набора реагентов сравнения.

Испытания повторяемости и воспроизводимости результатов ИХА с разработанным набором выполнены с образцами, охарактеризованными по уровню содержания 25(OH) D (по 20 образцов каждого уровня, каждый в пяти повторях с каждой из 2 серий изделия; n = 120). Межсерийную вариацию результатов оценивали в исследованиях 20 образцов каждого диагностически значимого уровня (n = 60). Результаты испытаний установили 100 % воспроизводимость/повторяемость результатов ИХА с новым набором и отсутствие значимой межсерийной вариации результатов.

Верифицирующие испытания 144 образцов проведены с применением технологии более высокого порядка – ИФА (с набором для количественного определения 25(OH)D и других гидроксированных метаболитов "25-Hydroxy Vitamin Ds EIA") и новым ИХ набором. Полученные результаты демонстрировали полное соответствие в параллельных исследованиях.

Дополнительные испытания проведены с целью выявления потенциально интерферирующего влияния на результаты ИХА биологически активных соединений, характерных для крови, но в повышенных концентрациях (гемоглобин, свободный и связанный билирубин, триглицериды; n = 300) и перекрестной реактивности в отношении ряда витаминов (витамин В<sub>12</sub>, С, Е или К<sub>1</sub>; n

= 144). Результаты испытаний показали высокую специфичность ИХ технологии и полное отсутствие интерферирующего или перекрестного влияния со стороны использованных добавок в повышенной концентрации. Не выявлено также и хук-эффекта, то есть влияния на результаты ИХ исследования высоких концентраций самого определяемого аналита – 25(OH)D.

**Аналитические и диагностические характеристики** набора реагентов «ИХА-Витамин D-полуколичественный»:

- предел обнаружения 25(OH)D – 5 нг /мл;
- чувствительность (процент положительных ответов с образцами СОП, содержащими не менее 5 нг/мл витамин D в различной концентрации) – 100%;
- специфичность (процент отрицательных ответов с образцами СОП, не содержащими витамин D или содержащими менее 5 нг/мл) – 100 %;
- диагностическая чувствительность набора реагентов: 99,72-100 % (с доверительной вероятностью 95%), определена на выборке охарактеризованных клинических образцов;
- диагностическая специфичность набора реагентов: 99,44-100 % (с доверительной вероятностью 95 %), определена на выборке охарактеризованных клинических образцов;
- воспроизводимость/повторяемость результатов – 100 и 100 %;
- потенциальную интерференцию не наблюдали при исследовании образцов, дополнительно к разным уровням 25(OH)D содержавших гемоглобин, свободный и связанный билирубин или триглицериды;
- не выявлено перекрестной реактивности при исследовании образцов, содержавших повышенные концентрации витаминов (В<sub>12</sub>, С, Е или К<sub>1</sub>);
- хук-эффект не выявлен до концентрации 25(OH)D – 100 мкг/мл.

**Заключение.** На АО «ЭКОлаб» при выполнении по-

ставленной научно-практической цели был разработан и зарегистрирован в России новый набор реагентов «Тест-система иммунохроматографическая для полуколичественного определения множественных форм 25-гидроксивитамина D в цельной капиллярной крови человека «ИХА-Витамин D-полуколичественный» (РУ № РЗН 2023/21510 от 10.11.2023 г.), позволяющий проводить единичные экспресс-исследования с получением достоверного результата в рамках количественных градаций разработанной шкалы.

При внутренних технических испытаниях были исследованы 774 образца капиллярной крови, содержащих витамин D в различной концентрации или витамин D с добавлением потенциально интерферирующих или перекрестно реагирующих биологически активных веществ, которые могут содержаться в крови. Результаты сравнительных испытаний разработанного набора совпадали с результатами исследования тех же образцов, с помощью зарегистрированного в РФ набора реагентов сравнения, а также с результатами исследования крови в ИФА – технологии более высокого порядка.

В ходе испытаний было подтверждено качество и функциональное назначение разработанного медицинского изделия. Набор может быть рекомендован для применения в учреждениях здравоохранения Российской Федерации при оказании медицинской помощи населению и для самотестирования.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 3-7, 10-11, 24-26 см.  
REFERENCES)

1. Пигарова Е.А., Рожинская Л.Я., Белая Ж.Е., Дзеранова Л.К., Каронова Т.Л., Ильин А.В. и др. Клинические рекомендации Российской ассоциации эндокринологов по диагностике, лечению и профилактике дефицита витамина D у взрослых. *Проблемы эндокринологии*. 2016; 62; 4: 60-84.
2. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Мокрышева Н.Г., Пигарова Е.А., Поваляева А.А., Рожинская Л.Я. и др. Проект Федеральных клинических рекомендаций по диагностике, лечению и профилактике дефицита витамина D. *Остеопороз и остеопатии*. 2021; 24(4): 4-26.
8. Вербовой А.Ф., Шаронова Л.А., Капишников А.В., Демидова Д.В. Витамин D3, остеопротегерин и другие гормонально-метаболические показатели у женщин с сахарным диабетом 2 типа. *Ожирение и метаболизм*. 2012; 4: 23-27.
9. Дедов И.И., Мазурина Н.В., Огнева Н.А., Трошина Е.А., Рожинская Л.Я., Яшков Ю.И. Нарушения метаболизма витамина D при ожирении. *Ожирение и метаболизм*. 2011; 2: 3-10.
12. Захарова И.Н., Коровина Н.А., Дмитриева Ю.А. Современный взгляд на патогенез и профилактику рахита у детей. *Практика педиатра*. 2012; 3: 34-40.
13. Каронова Т.Л., Гринева Е.Н., Никитина И.Л., Цветкова Е.В., Тодиева А.М., Беляева О.Д. и др. Распространенность дефицита витамина D в Северо-Западном регионе РФ среди жителей г. Санкт-Петербурга и г. Петрозаводска. *Остеопороз и остеопатии*. 2013; 3: 3-7.
14. Керимов С.Г., Абдуллаева Г.Г., Мирзоев А.Х. Сравнительный анализ эпидемиологии микозов по регионам Азербайджана. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2024; 29; 4: 242-248.
15. Леонова О.Н., Грибова А.В., Черкес Н.Н., Краснова О.Г., Иванов И.Б., Эсауленко Е.В. Клинико-эпидемиологический анализ летальных исходов пациентов с ВИЧ-инфекцией, умерших в отчетный год постановки диагноза. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2024; 29; 4: 254-261.
16. Кумпан Л.В., Блох А.И., Рудаков Н.В. Этапы развития и прогноз заболеваемости Сибирским клещевым тифом в РФ. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2024; 29; 4: 249-253.
17. Витебская А.В., Смирнова Г.Е., Ильин А.В. Витамин D и показатели кальций-фосфорного обмена у детей, проживающих в средней полосе России, в период максимальной инсоляции. *Остеопороз и остеопатии*. 2010; 2: 4-9.
18. Потрохова Е.А., Соболюк Н.В., Бочанцев С.В., Голочалова С.А., Шлыкова Е.Э., Мажукина Н.Г. Недостаточность витамина D. *Педиатрическая фармакология*. 2014; 11(2): 30-33.
19. Почкайло А.С., Галашевская А.А., Голобородько Н.В. Дефицит витамина D в педиатрической практике: современные подходы к медицинской профилактике, диагностике, лечению: учебно-методическое пособие. Минск: Капитал Принт, 2021.
20. Панасюк Г.Д., Цуканов А.Н., Бронская К.В. Дефицит витамина D у взрослых: современные подходы к диагностике, лечению и профилактике. Практическое пособие для врачей. Гомель: ГУ «РНПЦ РМиЭЧ», 2018.
21. Козлов А.И., Атеева Ю.А., Вершубская Г.Г., Рыжаенков В.Г. Содержание витамина D у детей школьного возраста Приуралья и Северо-Запада РФ. *Педиатрия*. 2012; 1: 144-148.
22. Болдырева Ю.В., Лебедев И.А., Гаджиумарова Е.А. Клинический профиль пациента с дефицитом витамина D. *Фармация*. 2022; 71(7): 49-56.
23. Суплотова Л.А., Авдеева В.А., Пигарова Е.А., Рожинская Л.Я., Каронова Т.Л., Трошина Е.А. Первое российское многоцентровое неинтервенционное регистровое исследование по изучению частоты дефицита и недостаточности витамина D в Российской Федерации у взрослых. *Терапевтический архив*. 2021; 93 (10): 1209-1216.
27. Самойлова М.В., Воропаева Е.А., Затевалова А.М., Косырева Т.Ф., Жиленкова О.Г., Тутуров Н.С. Лабораторно-экспериментальное обоснование применения антиоксидантного геля с астаксантином и полипренолом. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2024; 30 (2): 107-113.
28. Акиншина Ю.А., Марданлы С.Г., Ротанов С.В., Помазанов В.В., Киселева В.А. О количественном определении D-димера в крови иммунохроматографическим методом. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67(2): 91-96.
29. Серякова П.В., Марданлы С.Г. Разработка иммунохроматографической тест-системы для качественного определения миоглобина. *Известия ГГТУ. Медицина, фармация*. 2022; 1: 53-54.
30. Акиншина Ю.А., Марданлы С.Г., Ротанов С.В., Малышев В.В., Змеева Т.А., Гумилевский Б.Ю., Хуторская Ю.Г. Разработка иммунохроматографического набора реагентов для выявления ротавирусов. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68 (11): 672-679.
31. Акиншина Ю.А., Марданлы С.Г., Ротанов С.В. Об иммунохроматографическом выявлении *Helicobacter pylori* у человека. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (2): 14-18.
32. Самосадова П.В., Ханина М.А., Басов А.А., Жернов Ю.В., Высокочанская С.О. Опыт использования новой иммуноферментной тест-системы для выявления антител к дифтерийному экзотоксину. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2024; 29 (2): 90-93.
33. Ротанов С.В., Акиншина Ю.А., Марданлы С.Г. Лабораторный контроль факторов устойчивости энтеробактерий к карбапенемам. Сборник тезисов IV Ежегодной конференции по инфекционным болезням («Покровские чтения» 01-02.11.2024). М.: Медицинское маркетинговое агентство, 2024: 50-51.
34. Ротанов С.В., Акиншина Ю.А., Марданлы А.Г., Марданлы С.Г. Дифференцированное качественное определение у человека антигенов коронавируса и вирусов гриппа А и В на основе технологии иммунохроматографического анализа. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (10): 536-547.

REFERENCES

1. Pigarova E.A., Rozhinskaia L.Ia., Belaya Zh.E., Dzeranova L.K., Karonova T.L., Ilyin F.V. et al. Russian Association of Endocrinologists recommendations for diagnosis, treatment and prevention of vitamin D deficiency in adults. *Problemy endokrinologii*. 2016; 62(4): 60-84. DOI: https://doi.org/10.14341/probl201662460-84 (In Russian)
2. Dedov I.I., Melnichenko G.A., Mokrysheva N.G., Pigarova E.A., Povalyaeva A.A., Rozhinskaya L.Ya. et al. Draft Federal clinical guidelines for the diagnosis, treatment and prevention of vitamin D deficiency. *Osteoporoz i osteopatii*. 2021; 24(4): 4-26. DOI: https://doi.org/10.14341/osteo12937 (In Russian)
3. Matsuoka L.Y., Ide L., Wortsman J., Maclaughlin J.A., Holicj M.F. Sunscreens suppress cutaneous vitamin D3 synthesis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1987; 64(6): 1165-1168.

4. Wacker M., Holick M.F. Sunlight and Vitamin D: A global perspective for health. *Dermatoendocrinology*. 2013; 5(1): 51-108.
5. Clemens T.L., Henderson S.L., Adams J.S., Holick M.F. Increased skin pigment reduces the capacity of skin to synthesise vitamin D3. *Lancet*. 1982; 319(8263): 74-76.
6. Hong J., Hatchell K., Bradfield J., Bjornnes A., Chesi A., Lai Ch.-Q. et al. Transethnic evaluation identifies low-frequency loci associated with 25-hydroxyvitamin D concentrations. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2018; 103(4): 1380-1392. DOI: <https://doi.org/10.1210/jc.2017-01802>
7. Mao S., Huang S. Vitamin D receptor gene polymorphisms and the risk of rickets among Asians: A meta-analysis. *Arch. Dis. Child.* 2014; 99(3): 232-238.
8. Verbovoy A.F., Sharonova L.A., Kapishnikov A.V., Demidova D.V. Vitamin D3, osteoprotegerin and other hormonal-metabolic indices in women with type 2 diabetes mellitus. *Ozhirenie i metabolismism*. 2012; 4: 23-27. (In Russian)
9. Dedov I.I., Mazurina N.V., Ogneva N.A., Troshina E.A., Rozhinskaya L.Ya., Yashkov Yu.I. Disturbances in vitamin D metabolism in obesity. *Ozhirenie i metabolismism*. 2011; 2: 3-10. (In Russian)
10. Pereira-Santos M., Costa P.R.F., Assis A.M.O., Santos C.A.S.T., Santos D.B. Obesity and vitamin D deficiency: A systematic review and metaanalysis. *Obes. Rev.* 2015; 16(4): 341-9.
11. Webb A.R., Kline L., Holick M.F. Influence of season and latitude on the cutaneous synthesis of vitamin D3: exposure to winter sunlight in Boston and Edmonton will not promote vitamin D3 synthesis in human skin. *J Clin Endocrinol Metab.* 1988; 67: 373-37.
12. Zakharova I.N., Korovina N.A., Dmitrieva Yu.A. Modern view on pathogenesis and prevention of rickets in children. *Praktika pediatria*. 2012; 3: 34-40. (In Russian)
13. Karonova T.L., Grineva E.N., Nikitina I.L., Tsvetkova E.V., Todieva A.M., Belyaeva O.D. et al. Prevalence of vitamin D deficiency in the North-West region of the Russian Federation among residents of St. Petersburg and Petrozavodsk. *Osteoporoz i osteopatii*. 2013; 3: 3-7. (In Russian)
14. Kerimov S.G., Abdullaeva G.G., Mirzoev A.Kh. Comparative analysis of epidemiology of mycoses in the regions of Azerbaijan. *Epidemiologiya I Infektsionnye bolezni*. 2024; 29; 4: 242-248. DOI: <https://doi.org/10.51620/3034-1981-2024-29-4-242-248>. (in Russian)
15. Leonova O.N., Gribova A.V., Cherkes N.N., Krasnova O.G., Ivanov I.B., Esaulenko E.V. Clinical and epidemiologic analysis of mortality in patients with HIV infection who died in the reporting year of diagnosis. *Epidemiologiya I Infektsionnye bolezni*. 2024; 29; 4: 254-261. DOI: <https://doi.org/10.51620/3034-1981-2024-29-4-254-261> (in Russian)
16. Kumpan L.V., Blokh A.I., Rudakov N.V. Stages of development and forecast of anthrax tick-borne typhus morbidity in Russia. *Epidemiologiya I Infektsionnye bolezni*. 2024; 29; 4: 249-253. DOI: <https://doi.org/10.51620/3034-1981-2024-29-4-249-253> (in Russian)
17. Vitebskaya A.V., Smirnova G.E., Ilyin A.V. Vitamin D and calcium-phosphorus metabolism indices in children living in central Russia during the period of maximum insolation. *Osteoporoz i osteopatii*. 2010; 2: 4-9. (In Russian)
18. Potrokhova E.A., Sobotyuk N.V., Bochantsev S.V., Golochalova S.A., Shlykova E.E., Mazhukina N.G. Vitamin D deficiency. *Pediatricheskaya farmakologiya*. 2014; 11(2): 30-33. (In Russian)
19. Pochkaylo A.S., Galashevskaya A.A., Goloborodko N.V. Vitamin D deficiency in pediatric practice: modern approaches to medical prevention, diagnostics, treatment: a teaching aid. Minsk: Capital Print, 2021. ISBN 978-985-7161-54-6. (In Russian)
20. Panasyuk G.D., Tsukanov A.N., Bronskaya K.V. Vitamin D deficiency in adults: modern approaches to diagnosis, treatment and prevention. Practical guide for doctors. Gomel: State Institution "RSPC PM&ECh", 2018. (In Russian)
21. Kozlov A.I., Ateyeva Yu.A., Vershubskaya G.G., Ryzhaenkov V.G. Vitamin D content in school-age children of the Urals and North-West of the Russian Federation. *Pediatriya*. 2012; 1: 144-148. (In Russian)
22. Boldyreva Yu.V., Lebedev I.A., Gadzhumarova E.A. Clinical profile of a patient with vitamin D deficiency. *Farmaciya*. 2022; 71(7): 49-56. DOI: <https://doi.org/10/29296/25419218-2022-07-07> (In Russian)
23. Suplotova L.A., Avdeeva V.A., Pigarova E.A., Rozhinskaya L.Ya., Karonova T.L., Troshina E.A. The first Russian multicenter non-interventional registry study to study the incidence of vitamin D deficiency and insufficiency in Russian Federation. *Terapevticheskii Arkhiv*. 2021; 93 (10): 1209-1216. DOI: <https://doi.org/10.26442/00403660.2021.10.20107> (In Russian)
24. Carlberg C. Current understanding of the function of the nuclear vitamin D receptor in response to its natural and synthetic ligands. *Recent Results Cancer Res*. 2003; 164: 29-42.
25. Karatekin G., Kaya A., Salihoglu O., Balci H., Nuhoglu A. Association of subclinical vitamin D deficiency in newborns with acute lower respiratory infection and their mothers. *Eur J Clin Nutr*. 2009; 63 (4): 473-477.
26. Von Essen M.R., Kongsbak M., Schjerling P., Olgaard K., Odum N., Geisler C. Vitamin D controls T cell antigen receptor signaling and activation of human T cells. *Nat. Immunol*. 2010; 11: 344-349.
27. Samoilova M.V., Voropaeva E.A., Zatevalov A.M., Kosyreva T.F., Zhilenkova O.G., Tuturov N.S. Laboratory and experimental rationale for the use of antioxidant gel with astaxanthin and polyphenol. *Epidemiologiya I infektsionnye bolezni*. 2024; 30 (2): 107-113. DOI: <https://doi.org/10.51620/3034-1981-2024-29-2-107-113>. (in Russian)
28. Akinshina Yu.A., Mardanly S.G., Rotanov S.V., Pomazanov V.V., Kiseleva V.A. On the quantitative determination of D-dimer in the blood by the immunochromatographic method. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2022; 67(2): 91-96. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-02-91-96> (In Russian)
29. Seryakova P.V., Mardanly S.G. Development of an immunochromatographic test system for the qualitative determination of myoglobin. *Izvestiya GGTU. Medicina, farmaciya*. 2022; 1: 53-54. (In Russian)
30. Akinshina Yu.A., Mardanly S.G., Rotanov S.V., Malyshev V.V., Zmeeva T.A., Gumilevsky B.Yu., Khutorskaia Yu.G. Development of an immunochromatographic reagent kit for the detection of rotaviruses. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2023; 68 (11): 672-679. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-11-672-679> (In Russian)
31. Akinshina Yu.A., Mardanly S.G., Rotanov S.V. On immunochromatographic detection of Helicobacter pylori in humans. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2024; 69 (2): 14-18. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-02-14-18>. (In Russian)
32. Samosadova P.V., Khanina M.A., Basov A.A., Zhernov Yu.V., Vysochanskaya S.O. Experience in using a new enzyme immunoassay system to detect antibodies to diphtheria exotoxin. *Epidemiologiya I infektsionnye bolezni*. 2024; 29 (2): 90-93. DOI: <https://doi.org/10.51620/3034-1981-2024-29-2-90-93> (in Russian)
33. Rotanov S.V., Akinshina Yu.A., Mardanly S.G. Laboratory control of enterobacteria resistance factors to carbapenems. Collection of abstracts of the IV Annual Conference on infectious diseases ("Pokrovskie chteniya" 01-02.11.2024). M.: Medicinskoe marketingovoe agentstvo, 2024: 50-51. (In Russian)
34. Rotanov S.V., Akinshina Yu.A., Mardanly A.G., Mardanly S.G. Differentiated qualitative determination of coronavirus and influenza A and B virus antigens in humans based on immunochromatographic analysis technology. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2024; 69 (10): 536-547. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-10-536-547> (In Russian)