

СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ БЕСПРИБОРНОЙ ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ (НА ПРИМЕРЕ ТЕСТОВ SD BIOLINE HIV 1/2 3.0)

Н. В. ЛЕБЕДЕВА

Старший специалист по продукции ЗАО «АНАЛИТИКА», Москва

Резюме. Во всем мире вопрос своевременной постановки диагноза «ВИЧ-инфекция» продолжает оставаться крайне острым в связи с пандемичным распространением этого неизлечимого заболевания. Применение для диагностических целей быстрых и простых в постановке тестов наиболее целесообразно в лабораторных отделениях с небольшим потоком анализов, а также во всех случаях, когда отсутствуют технические возможности, высококвалифицированный персонал и время для проведения стандартных лабораторных исследований крови на наличие антител к ВИЧ методом ИФА. На примере иммунохроматографического (ИХ) экспресс-теста SD BIOLINE HIV 1/2 3.0 фирмы Standard Diagnostics, Inc, (Корея) показана высокая эффективность применения быстрых бесприборных методов для выявления антител к ВИЧ-1 и 2.

В статье приведены сравнительные данные экспертизы ВОЗ 20 коммерческих тест-систем для быстрой бесприборной диагностики ВИЧ, в т.ч. тест-систем, разрешенных к применению в РФ. Даны описания конструктивных особенностей, процедуры исследования и сфер применения различных форматов бесприборных экспресс-тестов: кассет для анализа цельной крови, сыворотки или плазмы; тест-полосок и мультикассет для сыворотки или плазмы крови. Представлены схемы выполнения анализа для ИХ теста SD BIOLINE HIV 1/2 3.0, описаны преимущества его использования в повседневной практике медицинских учреждений, осуществляющих диагностику ВИЧ-инфекции.

Ключевые слова: экспресс-диагностика, экспресс-тест, иммунохроматографический тест, РОСТ, ВИЧ-инфекция, антитела к ВИЧ, диагностика СПИД, ВИЧ-1, ВИЧ-2, экспертиза ВОЗ, SD BIOLINE, Standard Diagnostics.

MODERN POSSIBILITIES OF NON-DEVICE EXPRESS-DIAGNOSIS OF AIDS (TESTS SD BIOLINE HIV 1/2 3.0)

N. V. LEBEDEVA

Chief specialist for production of "Analytica" Company, Moscow

Summary. All over the world the AIDS diagnostics is remaining one of the main important problems due to the pandemic spread of this incurable disease. Use of the simple and rapid tests for diagnosis of this condition is preferred in the small laboratories and in all the cases in absence of technical possibilities, highly qualified personell and time for standard laboratory investigation of AIDS antibodies by immune fluorescence method. Using the example of immune chromatography based express test SD BIOLINE HIV 1/2 3.0 produced by Standard Diagnostics, Inc (Korea) the high efficacy of the rapid non-device methods in detection of HIV-1 and -2 antibodies

The article discusses the comparative analysis of WHO expertise of 20 commercial test-systems for rapid non-device diagnosis of AIDS including test-systems allowed for use in Russia. Description of the construction peculiarities, procedure of investigation and spheres of use of different formats of non-device test-systems for express-analysis: test-papers and multicassetes for serum or plasma. Schemes of the analysis for immune chromatography for SD BIOLINE HIV 1/2 3.0 are given, its benefits in practical use for medical organizations, performing the AIDS diagnosis are given.

Key words: express-diagnosis, express-test, РОСТ, HIV-1, HIV-2, antibodies to HIV, AIDS diagnostics, WHO expertise SD BIOLINE SD BIOLINE, Standard Diagnostics.

С момента обнаружения ВИЧ в 1983 году ВИЧ-инфекция является единственным неизлечимым инфекционным заболеванием с неизбежным летальным исходом. В настоящее время распространение ВИЧ-инфекции во всем мире носит пандемичный характер. По данным Минздравсоцразвития РФ, Россия лидирует по количеству ВИЧ-инфицированных в регионе Восточной

Европы и Центральной Азии. На данный момент случаи заболевания ВИЧ-инфекцией зарегистрированы на всей территории РФ. Общее число обнаруженных инфицированных ВИЧ россиян превысило 400 тысяч, а общее расчетное число ВИЧ-позитивных людей, живущих на территории России, составляет не менее 1 миллиона человек. Вследствие многолетнего бессимптомного те-

чения заболевания у многих инфицированных диагностика ВИЧ-инфекции осуществляется только на стадии клинически выраженного СПИДа. Очень важно, чтобы все желающие могли пройти тестирование, т. к. раннее выявление ВИЧ-инфицированных лиц вносит существенный вклад в предотвращение распространения заболевания.

В настоящее время стандартная модель обследования пациента включает в себя тестирование на ВИЧ методом ИФА. Однако, по мнению ВОЗ, в связи с тем, что обследование занимает несколько дней, не все пациенты обращаются за результатами и получают последующие консультирование, лечение, поддержку и профилактику. Таким образом, на сегодняшний день остро стоит проблема увеличения доступности и гибкости услуг тестирования.

Согласно приказу Минздрава РФ № 292 от 30.07.2001 г. «Об использовании иммуноферментных тест-систем для выявления антител к ВИЧ в сыворотке крови человека» разрешается использование простых/быстрых (экспресс) тестов для обследования пациентов в условиях, когда нет временных и технических возможностей для проведения анализа на антитела к ВИЧ стандартным методом.

Экспресс-диагностика объединяет в себе все многообразие тестов на основе различных иммунохимических методов, характеризующихся двумя основными критериями: «просто» и «быстро». Наиболее популярными среди них являются тесты на основе иммунохроматографического метода, который отличается следующими преимуществами:

- предельная простота постановки анализа,
- кратчайшее время между началом постановки и получением результата (5–20 минут),
- бесприборная диагностика, не требующая специального оборудования.

Принцип иммунохроматографической диагностики ВИЧ-инфекции заключается в образовании иммунных комплексов антиген–антитело, несущих на себе метку-краситель. В качестве такого красителя используется конъюгат рекомбинантных антигенов ВИЧ и частиц коллоидного золота. При внесении образца в тестовое устройство антитела к ВИЧ, если они присутствуют в пробе, реагируют с конъюгатом коллоидного золота, после чего образовавшиеся комплексы продвигаются вдоль нитроцеллюлозной мембраны к тестовой зоне, где реагируют с антигенами, закрепленными неподвижно. В результате в тестовой зоне образуется окрашенная полоса из комплексов антиген–антитело–конъюгат. Результат анализа оценивается визуально по наличию или отсутствию окрашенных полос через 10–15 минут после начала анализа. Если в образце отсутствуют антитела к ВИЧ или их содержание ниже предела чувствительности тест-системы, то образуется только одна полоса (контрольная), наличие которой свидетельствует о правильной работе самой тест-системы. На положительный результат указывает наличие двух полос — в тестовой и контрольной зонах.

Современный российский рынок экспресс-диагностики предлагает ряд иммунохроматографических тест-систем зарубежного производства для выявления антител к ВИЧ. Принцип действия этих тестов одинаков, но

Таблица 1

Результаты испытаний ВОЗ экспресс-тестов различных производителей

Характеристика	Instant CHEK HIV 1+2	GENIE II HIV-1/HIV-2	Efoora HIV Rapid	OraQuick HIV-1/2 Rapid	SD BIOLINE HIV 1/2 3.0
Чувствительность, %* n = 157	99,4 (96,5–100,0)	100 (97,7–100,0)	96,2 (91,9–98,6)	98,1 (94,5–99,6)	100,0 (97,7–100,0)
Специфичность, %* n = 296	97,6 (95,2–99,0)	99,7 (98,1–100,0)	98,0 (95,6–99,3)	100 (98,8–100,0)	99,3 (97,6–99,9)
Неопределенные результаты, %	0,0	0,2	0,4	0,2	0,0
ППЗ 0,1%**	4,1	3,20	0,48	100,0	1,41
6,0%**	72,6	95,50	75,40	100,0	90,12
ОПЗ 0,1%**	99,99	100,0	100,0	99,99	100,0
6,0%**	99,96	100,0	99,75	99,88	100,0

Примечания:

* — 95% доверительный интервал;

** — значения данных величин зависят не только от технических характеристик теста, но и от распространенности диагностируемого заболевания;

ППЗ — положительное прогнозируемое значение;

ОПЗ — отрицательное прогнозируемое значение.

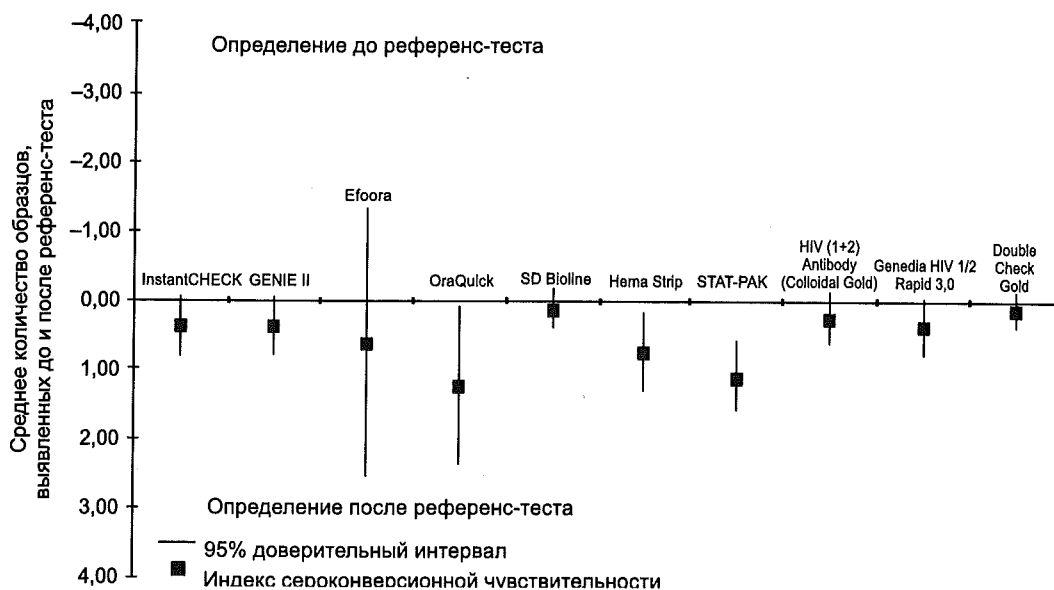


Рис. 1. Относительная чувствительность по сероконверсионным панелям в сравнении с референсной ИФА тест-системой (Enzygnost Anti-HIV 1/2 Plus)

существуют значительные различия в их аналитических и технических характеристиках, таких как время ожидания результата, чувствительность, специфичность, спектр определяемых антител.

Для обеспечения национальных программ по контролю за СПИДом в развивающихся странах Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) проводит централизованные закупки тестов, дающих наиболее точные результаты при наименьшей возможной цене. Для этого ВОЗ периодически проводит сравнительные экспертизы предлагаемых тестов. В 2004 году ВОЗ провела сравнительные испытания экспресс-тестов 5 производителей для обнаружения антител к ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Одни из лучших результатов показали экспресс-тесты SD BIOLINE HIV 1/2 3.0: чувствительность 100% и специфичность 99,3% (табл. 1).

В испытаниях ВОЗ оценивались специфичность и чувствительность тестов, а также сравнивались результаты, полученные на восьми сероконверсионных панелях (Boston Biomedica, Inc., США). В качестве референсных методов использовали ИФА и вестерн-блот. Экспресс-тест SD BIOLINE HIV 1/2 3.0 показал высокие специфичность и чувствительность, а также продемонстрировал результаты на сероконверсионных панелях, близкие к референсной ИФА тест-системе Enzygnost Anti-HIV 1/2 Plus (рис. 1).

В испытаниях ВОЗ, проведенных в 1988–2004 гг., SD BIOLINE HIV 1/2 3.0 указан как один из наиболее подходящих и простых в применении тестов для экспресс-диагностики ВИЧ-инфекции (табл. 2).

Применение быстрых простых тестов для исследований на ВИЧ-инфекцию наиболее целесообразно

в диагностических лабораториях с небольшим потоком исследований, а также во всех случаях, когда отсутствует время и технические возможности для проведения стандартного обследования крови на наличие антител к ВИЧ ИФА методом.

Преимуществами иммунохроматографических тестов, таких как SD BIOLINE HIV 1/2 3.0, являются наглядность и быстрота получения результата, которые повышают доступность тестирования для населения, сокращают время ожидания результатов и способствуют обследованию большего числа пациентов за единицу времени. Существенным плюсом теста SD BIOLINE HIV 1/2 3.0 является возможность раздельного определения антител к ВИЧ-1 и ВИЧ-2, а также длительный срок годности, составляющий 24 месяца, и возможность хранения при комнатной температуре (от 1 до 30°C).

Тесты SD BIOLINE HIV 1/2 3.0 имеют маркировку CE (от франц. "Conformite Europeenne"), означающую возможность их медицинского применения в Европейском Сообществе. CE-маркировка указывает на соответствие продукции требованиям Европейской директивы 98/79/ЕС, устанавливающей общие требования и правила подтверждения соответствия для медицинской продукции *in vitro*.

Для получения CE-маркировки в 2008 году тесты SD BIOLINE HIV 1/2 3.0 были апробированы в Национальном центре эпидемиологии (Венгрия) и в Институте им. Пауля Эрлиха (Германия). Диагностическая чувствительность и специфичность теста, полученные исследованием образцов ВИЧ-инфицированных пациентов и неинфицированных доноров, составили 100 и 99,87% соответственно (табл. 3 и 4).

Экспресс-тесты на ВИЧ, прошедшие экспертизу ВОЗ

Тест-система (производитель)	Отчет №	Чувстви- тельность (%)	Специфич- ность (%)	Стоимость 1 теста, \$US (год)	Простота применения	Приемле- мость	Неопред. результата- ты
AccuSpot HIV-1 and 2 (Specialty BioSystems Inc.)	11	100,0 (99,6–100)	86,3 (82,5–90,1)	2,5 (1995)	Очень легко	Подходя- щий	5,0
BIONOR HIV-1&2 (Bionor A/S)	11	100,0 (99,6–100)	98,8 (97,6–100)	2,5 (1995)	Очень легко	Подходя- щий	0,2
SEROCARD HIV (Trinity Biotech plc)	11	100,0 (99,6–100)	97,9 (96,4–99,1)	4,0 (1994)	Очень легко	Наиболее подходящий	0,2
HIV 1&2 DoubleCheck (Organics)	11	100,0 (99,6–100)	99,4 (98,6–100)	2,0 (1996)	Очень легко	Наиболее подходящий	0,2
EasiDot HIV/EasiSpot HIV (Nubenco Diagnostics)	11	95,3 (92,7–97,9)	71,3 (66,4–76,2)		Очень легко	Подходя- щий	12,5
InstantCHECK HIV 1+2 (EY Laboratories Inc.)	14	99,4 (96,5–110)	97,6 (95,2–99,0)	1,0 (2003)	Легко	Подходя- щий	0,0
GENIE II HIV-1/HIV-2 (Bio-Rad)	14	100,0 (97,7–100)	99,7 (98,1–100)	2,55 (2003)	Легко	Наиболее подходящий	0,2
Efoora HIV Rapid (Efoora Inc.)	14	96,2 (91,9–98,6)	98,9 (95,6–99,3)	0,75–2,60 (2003)	Очень легко	Подходя- щий	0,4
OraQuick HIV-1/2 Rapid (OraSure Technologies Inc.)	14	98,1 (94,5–99,6)	100,0 (98,8–100)	NA	Очень легко	Наиболее подходящий	0,4
SD Biotline HIV 1/2 3.0 (Standard Diagnostics, Inc.)	14	100,0 (97,7–100)	99,3 (97,6–99,9)	1,10 (2003)	Очень легко	Наиболее подходящий	0,0
Hema Strip® HIV 1/2 (Chembio Diagnostics Inc.)	14	98,1 (94,5–99,6)	100,0 (98,8–100)	1,85–2,5 (2003)	Очень легко	Наиболее подходящий	0,0
Serodia-HIV (Fujirebio)	1	100 (97,6–100)	96,9 (93,4–99)	1,1 (1988)	Легко	Подходя- щий	
PATH HIV Dipstick (PATH)	4	99,5 (97,3–100)	98,2 (97,1–99,1)	< 1,5 (1991)	Легко	Наиболее подходящий	0,0
SUDS Murex HIV-1 Ab test (Murex Corporation)	5	100 (98,5–100)	75,1 (69,3–80,9)	4,5 (1991)	Очень легко	Подходя- щий	11,7
Serodia-HIV-1/2 (Fujirebio)	8	100 (98,5–100)	100 (98,5–100)	2,8 (1993)	Не очень легко	Подходя- щий	0,0
SPAN COMBAIDS VISUAL (Span Diagnostics Ltd.)	8	96,5 (93,5–99,5)	100 (98,3–100)	0,4 (1993)	Легко	Наиболее подходящий	0,0
CAPILLUS HIV-1/HIV-2 (Trinity Biotech plc)	9	100 (99,6–100)	98,8 (97,6–100)	2,2 (1994)	Очень легко	Наиболее подходящий	0,0
Immunocomb II BiSpot HIV 1&2 (PBS Organics)	9	100 (99,6–100)	99,7 (99,1–100)	1,7 (1994)	Очень легко	Наиболее подходящий	0,2
SPAN COMBAIDS VISUAL (Span Diagnostics Ltd.)	10	100 (99,6–100)	88 (84,5–91,5)	0,5 (1994)	Легко	Подходя- щий	3,2
HIV TRI-DOT (J. Mitra & Co. Ltd.)	11	99,6 (98,9–100)	99,7 (99,1–100)	2,0 (1996)	Очень легко	Наиболее подходящий	0,2

Таблица 3

Определение чувствительности

Кол-во образцов	Кол-во образцов, положительных в тесте SD BIOLINE HIV 1/2 3.0 // Кол-во истинно положительных образцов	Чувствительность
600	600 // 600	100%

Таблица 4

Определение специфичности

Кол-во образцов	Кол-во образцов, отрицательных в тесте SD BIOLINE HIV 1/2 3.0 // Кол-во истинно отрицательных образцов	Специфичность
1500	1498 // 1500	99,87%

Также был проведен сравнительный анализ ВИЧ-отрицательных образцов цельной крови (венозной и капиллярной), сыворотки и плазмы (содержащей гепарин, ЭДТА, цитрат). Тесты SD BIOLINE HIV 1/2 3.0 признаны пригодными для использования с вышперечисленными образцами, а сами образцы — эквивалентными (табл. 5 и табл. 6).

Таблица 5

Изучение влияния на результаты типа образца (сыворотка / цельная кровь / капиллярная кровь)

Тип образца	Кол-во образцов, отрицательных в тесте SD BIOLINE HIV 1/2 3.0 // Кол-во истинно отрицательных образцов
Сыворотка	50 // 50
Венозная кровь	50 // 50
Капиллярная кровь	50 // 50

Таблица 6

Изучение влияния на результаты типа образца (сыворотка / плазма)

Тип образца	Кол-во образцов, отрицательных в тесте SD BIOLINE HIV 1/2 3.0 // Кол-во истинно отрицательных образцов
Сыворотка	50 // 50
Плазма (гепарин)	50 // 50
Плазма (ЭДТА)	50 // 50
Плазма (цитрат)	50 // 50

Отличительной особенностью тестов для выявления антител к ВИЧ SD BIOLINE HIV 1/2 3.0 является разнообразие выпускаемых форматов:

1) **Тест-кассеты** (набор рассчитан на 30 определений, кат. № 03FK10) представляют собой мембранные стрипы, заключенные в пластиковую кассету. Каждая кассета упакована в индивидуальный фольгированный пакет с влагопоглотителем. Образец (цельная кровь, сыворотка, плазма) добавляется в специальное окно, учет результата производится через 5–20 минут (рис. 2).

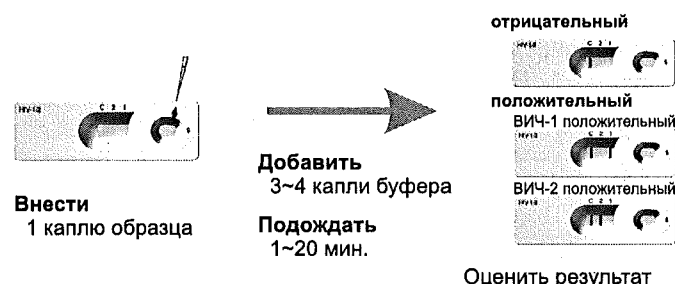


Рис. 2. Схема выполнения анализа с использованием тест-кассеты

Помимо основной (на 30 определений), тест-кассеты имеют различные дополнительные комплектации:

- для индивидуального применения, вариант РОСТ “Point of Care Testing” (1 тест-кассета, ланцет для взятия крови, капиллярная пипетка, спиртовая салфетка), кат. № 03FK13, набор на 1 определение;
- с дополнительным оборудованием (ланцеты для взятия крови, капиллярные пипетки), кат. № 03FK16, набор на 25 определений.

Так как каждая тест-кассета упакована индивидуально, формат кассеты очень удобен для лабораторий с небольшим потоком анализов.

2) **Тестовые полоски** (набор на 25 определений, кат. № 03FK12) упакованы в пенал и предназначены для исследования сыворотки или плазмы крови. Это экономичный вариант, удобный для лабораторий с большим потоком исследований. Процедура анализа: в пробирку с образцом опускают тестовую полоску и через 5–20 минут учитывают результаты (рис. 3).



Рис. 3. Схема выполнения анализа с использованием тест-стрипа

3) **Мультикассеты** (набор рассчитан на 100 определений, кат. № 03FK11) представляют собой мембранные стрипы, заключенные в пластиковые корпуса, которые, в свою очередь, соединены по 10 штук в мультикассету.

Каждая мультикассета упакована в индивидуальный фольгированный пакет с влагопоглотителем. Мультикассеты разламываются на необходимое количество частей, что позволяет оптимизировать расход кассет в зависимости от количества анализов. Образец (сыворотка или плазма) добавляют в окно для образца и через 5–20 минут учитывают результат (рис. 4).

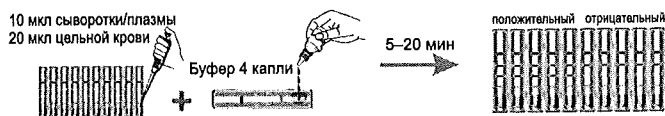


Рис. 4. Схема выполнения анализа с использованием мультикассеты

Формат мультикассеты удобен для использования в лабораториях с большим потоком анализов.

Удобство применения, быстрота получения результата, экономичность, а также высокие чувствительность и специфичность делают экспресс-тест SD BIOLINE HIV 1/2 3.0 незаменимым в различных ситуациях повседневной практики медицинских учреждений, осуществляющих диагностику ВИЧ-инфекции:

- в небольших лабораториях с потоком анализов менее 90 образцов в день;
- в кабинетах анонимного обследования и доврачебного контроля;
- при тестировании хирургических и госпитализируемых пациентов;
- при urgentных ситуациях — родовспоможении, травмах;
- при необходимости быстрого обследования индивидуальных доноров;

- в выездных бригадах скорой и неотложной помощи;
- в блоках интенсивной терапии.

Литература:

1. МЗиСР РФ и Федеральная служба исполнения наказаний, Фонд «Российское здравоохранение», Проект «Профилактика, диагностика, лечение туберкулеза и СПИДа». Противоэпидемические мероприятия при ВИЧ-инфекции в Российской Федерации // Сборник нормативно-правовых актов и методических документов по вопросам диагностики, лечения, эпидемиологического и поведенческого надзора ВИЧ/СПИД и сопутствующих заболеваний. — М., 2007. — Том III.
2. WHO. HIV assays: operational characteristics (Phase 1)/ Report 14/Simple/Rapid tests. — 2004 (http://www.who.int/diagnostics_laboratory/publications/hiv_assays_rep_14.pdf).
3. WHO. Operational characteristics of commercially available assays to determine antibodies to HIV-1 and/or HIV-2 in human sera/ Report 11. — 1999 (http://www.who.int/diagnostics_laboratory/publications/en/op_characteristics_HIV_rep11.pdf).
4. ВОЗ. Руководство по вопросам ВИЧ-тестирования и консультирования по инициативе медицинских работников в лечебно-профилактических учреждениях. — 2007 (http://whqlibdoc.who.int/publications/2007/9789244595565_rus.pdf).
5. Приказ МЗ РФ № 292 от 30.07.2001 г. «Об использовании иммуноферментных тест-систем для выявления антител к ВИЧ в сыворотке крови человека».
6. Меньшиков В. В. Исследования вне лаборатории. Средства, технологии, условия применения. — М., 2008.
7. Сидельникова В. И., Лифшиц В. М. Внелабораторная экспресс-диагностика. — М., 2004.
8. MRG-NCE. Performance evaluation report: evaluation of the SD BIOLINE HIV-1/2 3.0 rapid test for the detection of antibodies to human immunodeficiency virus (HIV) in sera from European individuals. — Hungary, 2008.