


СОВРЕМЕННЫЕ ЭКСПРЕСС-ТЕСТЫ В СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ



*С.Д. Зайко,
Начальник группы
иммунохимии отдела
производства
ЗАО «АНАЛИТИКА»*

 пидемическая ситуация в Российской Федерации по распространению ВИЧ-инфекции весьма серьезна. По данным Федерального научно-методического центра по профилактике и борьбе со СПИДом число людей, инфицированных ВИЧ, в 2012 году превысило 700 000 человек, из них более 50 000 — новые случаи. При этом, по оценкам специалистов, сопоставимое число ВИЧ-инфицированных лиц не подозревает о своем статусе.

Поэтому одной из важнейших задач является максимально широкий скрининг среди населения, имеющий целью выявление лиц, инфицированных ВИЧ и не знающих об этом. В США, в соответствии с рекомендациями 2006 года [1], объектом таких скрининговых исследований должны быть все лица, обращающиеся за помощью в медицинские учреждения, и все беременные женщины. Скрининг проводится на добровольной основе, но используются все предоставляющиеся возможности для обследования. Каждому человеку, обращающемуся за медицинской помощью, предлагается провести определение серологических маркеров ВИЧ-инфекции и разъясняется целесообразность этого. Письменного согласия больного на проведение исследования не требуется. Анализ проводится, если больной не отказывается от него.

В России, согласно существующим нормативным документам [2], обязательному обследованию подлежат: доноры; медицинские и научные работники, имеющие контакт с ВИЧ-инфицированными лицами и материалами; медицинские работники хирургического профиля; военнослужащие; иностранные граждане, обращающиеся за видом на жительство или разрешением на работу. Рекомендуется также обследование всех беременных женщин (с обязательным письменным согласием). Обследование остального населения, в том числе пациентов лечебных учреждений общего профиля, является добровольным. Представляется, что дополнительные пропагандистские усилия, направленные на расширение контингента обследованных лиц, могли бы быть важным фактором, сдерживающим распространение эпидемии.

Важнейшим фактором, позволяющим решать задачу широкого скрининга, является наличие высокочувствительных и специфичных средств лабораторной диагностики. Для первичного исследования обычно используют тест-системы, основанные на методе иммуноферментного анализа (ИФА), с дальнейшим подтверждением положительных результатов в реакции имму-

ноблоттинга. Это стандартный алгоритм тестирования, которое, как правило, занимает несколько дней.

В последние годы все больший интерес вызывают иммунохроматографические экспресс-тесты. Их чувствительность практически не уступает чувствительности ИФА. В то же время, две основные их особенности — малое время и простота методики анализа — в ряде случаев определяют преимущество использования этих тестов перед стандартным алгоритмом. Это относится к экстренным ситуациям. Как правило, время анализа не превышает 20-30 минут, положительный результат обычно регистрируется еще раньше. Кроме того, экспресс-тесты можно использовать в условиях, когда применение обычных скрининговых тестов ИФА невозможно, например, в отдаленных или изолированных территориях. Тесты достаточно просты, для их проведения не требуется оборудование. Они хранятся при комнатной температуре и для их транспортировки не нужна «холодовая цепь». Экспресс-тесты могут быть использованы медперсоналом без специальной подготовки и при слабой инфраструктурной оснащенности территории. Важным фактором является возможность использования для анализа цельной крови, в том числе капиллярной.

Возможность применения экспресс-тестов предусмотрена Санитарно-эпидемиологическими правилами «Профилактика ВИЧ-инфекции» (2010). Применение экспресс-тестов будет эффективно в следующих случаях:

Обследование беременных женщин с неизвестным ВИЧ-статусом непосредственно перед родами и в процессе родов. В соответствии с рекомендациями [3], при получении положительного результата рекомендуется немедленное применение антиретровирусной терапии с целью снижения риска заражения новорожденного. Экспресс-исследование рекомендуется и при родах женщин, входящих в высокую группу риска инфицирования ВИЧ, даже если проведенные ранее во время беременности обследования дали отрицательные результаты;

Установленный или предполагаемый контакт медицинского персонала с кровью или другими биологическими жидкостями больного, ВИЧ-статус которого неизвестен. Существующие рекомендации предусматривают срочное использование экспресс-тестов для выяснения статуса больного и, при положительном результате, немедленное начало профилактической антиретровирусной терапии [4];

Экстренная гемотрансфузия — при отсутствии предварительного тестирования крови;

Трансплантология — при заборе органов для пересадки;

Первичная серологическая диагностика при обстоятельствах, когда использование иммуноферментных тест-систем невозможно или затруднительно;

Первичное серологическое обследование представителей маргинальных групп населения, обратившихся за той или иной медицинской помощью, если есть основания предполагать, что повторный визит с целью узнать результат обследования может не состояться;

В некоторых случаях — срочная дифференциальная диагностика у больного с неизвестным ВИЧ-статусом, но входящего в группу высокого риска инфицирования (например, исключение пневмонии, вызванной *Pneumocystis jirovecii*, у больного в тяжелом состоянии, поступившего по скорой помощи).

Современные экспресс-тесты, предназначенные для серологической диагностики ВИЧ-инфекции, имеют чувствительность более 99,5% и не уступают по этому показателю ИФА тест-системам. Стандартом для современной ИФА тест-системы является одновременное выявление антител к ВИЧ-1 и ВИЧ-2 и антигена р24 ВИЧ — формат, позволяющий за счет обнаружения антигена в среднем на 6-8 дней сократить «сероконверсионное окно». В последние годы появились и иммунохроматографические экспресс-тесты четвертого поколения, с помощью которых можно одновременно выявлять и антиген ВИЧ, и антитела к ВИЧ-1/ВИЧ-2. В отличие от стандартных наборов ИФА, по результату теста можно сразу определить, какой именно из определяемых маркеров инфекции присутствует в крови больного.

Рассмотрим принцип работы современного экспресс-теста на примере иммунохроматографической тест-системы **SD BIOLINE HIV Ag/Ab Combo** производства компании Standard Diagnostics, Inc. (Южная Корея). Тестовое устройство представляет собой помещенную в пластмассовый корпус полоску нитроцеллюлозной мембраны, на которой в виде полос иммобилизованы: а) рекомбинантные антигены ВИЧ-1 и ВИЧ-2; б) стрептавидин; в) козы поликлональные антитела к IgG мыши. К мембране прилегает пористая прослойка, в которой находится: 1) антигены ВИЧ-1 и ВИЧ-2, конъюгированные с частицами коллоидного золота; 2) моноклональные антитела к р24, конъюгированные с частицами коллоидного золота; 3) биотинилированные моноклональные антитела к антигену р24. При этом антитела, использованные для биотинилирования и приготовления конъюгата, являются продуктом разных гибридом и распознают разные эпитопы антигена р24.

Образец (50 мкл), добавленный в специальное окошко, растворяет лиофилизированные конъюгаты. Если в образце присутствуют антиген р24 или антитела к ВИЧ, они связываются соответственно с антителами и антигенами конъюгатов. Образовавшаяся смесь движется вдоль стрипа. При наличии в образце антител к ВИЧ-1/ВИЧ-2 комплекс «конъюгат гликопротеинов + антитела из образца» связывается с гликопротеинами, иммобилизованными в зоне 1. Если в образце присутствует антиген р24, комплекс «конъюгат антител к р24 + р24 из образца + биотинилированные антитела к р24» захватывается молекулами стрептавидина, иммобилизованными в зоне 2. В результате фиксации иммунных комплексов происходит концентрирование частиц коллоидного золота и образование окрашенных полос.

При отсутствии в образце маркеров ВИЧ-инфекции иммунные комплексы не образуются и соответствующие окрашенные полосы не появляются. В контрольной зоне фиксируются молекулы конъюгата антител к р24, не захваченные в зоне 2. Образовавшаяся контрольная полоса свидетельствует о том, что молекулы реакционной смеси дошли до конца рабочей области мембраны, т.е. хроматография проведена корректно.

Использование высокоаффинных моноклональных антител позволяет добиться уровня чувствительности, сопоставимого с чувствительностью современных иммуноферментных тест-систем. Так, при исследовании экспресс-теста, проведенного в рамках программы Всемирной организации здравоохранения

специалистами Института тропической медицины (Антверпен, Бельгия), были получены следующие результаты [5]:

1. При исследовании панели ВОЗ (1081 клинический образец, 423 положительных и 658 отрицательных, охарактеризованных ИФА и иммуноблоттинга) чувствительность составила 100% (99,1-100%, доверительный интервал 0,95), специфичность — 99,1% (98,0-99,7%, 0,95).
2. Исследование 8-ми сероконверсионных панелей (производства компании BBI, США) показало, что экспресс-тест **SD BIOLINE HIV Ag/Ab Combo** выявляет первый положительный образец, содержащий антиген р24, не хуже, чем референсная ИФА тест-система.
3. Исследование панели PRB205 (часть положительных образцов панели содержит антиген, часть — антитела в разных титрах) — чувствительность и специфичность 100%.
4. При титровании стандартного образца антигена р24 (NIBSC 90/636) экспресс-тест **SD BIOLINE HIV Ag/Ab Combo** выявлял р24 в концентрации 3,125 МЕ/мл (референсная ИФА тест-система — 6,25 МЕ/мл).
5. Экспресс-тест выявляет антитела к ВИЧ-2 и ко всем исследованным субтипам ВИЧ-1, включая субтип O, при исследовании панели NIBSC 02/210.

В качестве референсной тест-системы использовался набор **VIRONOSTIKA HIV Ag/Ab** (bioMerieux, Франция).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что экспресс-тест **SD BIOLINE HIV Ag/Ab Combo** может быть использован для проведения первичного (скринингового) серологического исследования на ВИЧ-инфекцию. При этом, в соответствии с утвержденным алгоритмом исследования, полученные результаты должны быть подтверждены другим методом (ИФА), а затем в реакции иммуноблоттинга.

Применение средств серологической экспресс-диагностики ВИЧ-инфекции, не уступающих по качеству иммуноферментным наборам является единственной возможностью экстренного определения ВИЧ-статуса больного или биологического материала и открывает дополнительные возможности для расширения обследования населения с целью выявления носителей вируса и своевременного начала их лечения, что, в свою очередь, способствует снижению риска инфицирования других лиц.

Литература

1. Recommendations for HIV Testing of Adults, Adolescents, and Pregnant Women in Health-Care Settings. CDC Morbidity and Mortality World Report, 55 (RR14), 1-17, 2006.
2. Санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.5.2826-10. Профилактика ВИЧ-инфекции. М., 2010.
3. Афонина Л.Ю., Воронин Е.Е., Фомин Ю.А., Юрин О.Г., Козырина Н.В. Современные подходы к применению антиретровирусных препаратов в комплексе мер, направленных на профилактику передачи ВИЧ от матери ребенку (практические рекомендации). М., 21 ноября 2011 г.
4. Ладная Н.Н., Нарсия Р.С., Юрин О.Г., Козырина Н.В., Буравцова Е.В. «Постконтактная профилактика заражения ВИЧ-инфекцией». Пособие для медицинских работников. М., 2009.
5. WHO evaluation of SD BIOLINE HIV Ag/Ab Combo (Standard Diagnostics), Final Report. WHO Collaborating Centre for HIV/AIDS Diagnostic and Laboratory Support Department of Clinical Science, Institute of Tropical Medicine, Antwerp, Belgium, 27 February 2013 who.int/diagnostics_laboratory/evaluations/130322_0069_012_00_public_report_final_v1.pdf



ЖУРНАЛ ДЛЯ ВРАЧЕЙ

ЛАБОРАТОРИЯ

LABORATORY

№3
2014

- 25 ЛЕТ ЗАО «АНАЛИТИКА»
- АНАЛИТИЧЕСКОЕ КАЧЕСТВО. ВКК + ВОК
- СЕРОДИАГНОСТИКА СИСТЕМНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ
СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ
- О МАРКЕРАХ ИНФЕКЦИИ ЭПШТЕЙНА-БАРР
- БЕСПРИБОРНАЯ ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКА ВИЧ-ИНФЕКЦИИ
- БАВТОМАТИЗАЦИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ В ГЕМОСТАЗИОЛОГИИ

ВАША ЛАБОРАТОРНАЯ АНАЛИТИКА



МЕТОДИЧЕСКАЯ
ПОДДЕРЖКА



Expert Plus
(Biochrom)



RAMP Clinical Reader
(Response Biomedical)



EasyStat
(Medica)



ТЕХНИЧЕСКИЙ
СЕРВИС



Combilyzer Plus
(Human)



DREW-3
(Drew Scientific)



EasyLyte
(Medica)

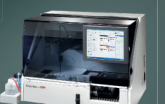


Elisis Quattro
(Human)

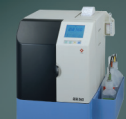


Humascope Fluo LED
(Human)

Response
Biomedical Corporation



Elisis Duo
(Human)



AIA-360
(Tosoh)



Humascope Premium
(Human)



MEDICA
Products for Health Care



BeneSphera



ПРЕАНАЛИТИКА И
КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

VEDA LAB...



TOSOH

Mercodia
Developing diagnostics



ГЕМАТОЛОГИЯ



АНАЛИЗ
КРИТИЧЕСКИХ
СОСТОЯНИЙ



МИКРОСКОПИЯ



ИММУНОХИМИЯ

LDN



EUROIMMUN



АНАЛИЗ МОЧИ



КОАГУЛОЛОГИЯ



ЭКСПРЕСС-
ДИАГНОСТИКА

biochrom



Tcoag



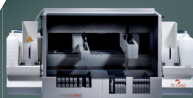
КОАГУЛОЛОГИЯ



АЛЛЕРГО-
ДИАГНОСТИКА

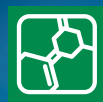
SD

SD BIOSENSOR, INC.



Destiny Max
(Tcoag)

Trinity Biotech



БИОХИМИЯ

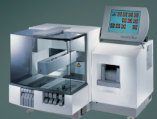
BIOMERICA



r-biopharm

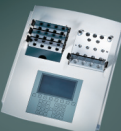


RIDA X-Screen
(R-Biopharm)



Destiny Plus
(Tcoag)

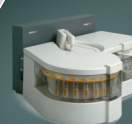
human



KC4 Delta
(Tcoag)



Humastar 600
(Human)



EasyRA
(Medica)



Humacdot Duo Plus
(Human)



SD Check Gold
(SD Biosensor)



KC1 Delta
(Tcoag)



Humalyzer 2000
(Human)



Humacdot Junior
(Human)



АВТОМАТИЗАЦИЯ



БЫСТРАЯ
ДОСТАВКА

ЗАО «АНАЛИТИКА»
т. (495) 737-0363, 748-1169, (800) 200-1989
info@analytica.ru www.аналитика.рф www.analytica.ru