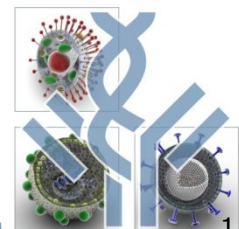
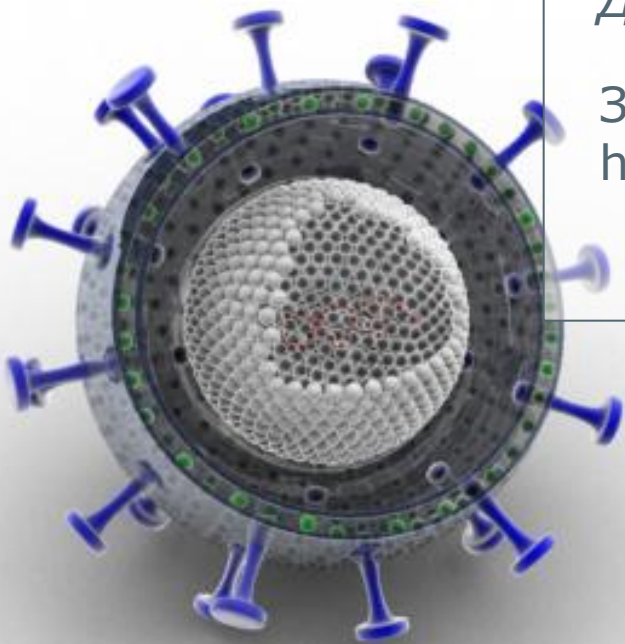


Бесприборные тесты для подтверждения ВИЧ-Инфекции

Дробченко А.Е

ЗАО «Биоград», Санкт-Петербург,
<http://www.biograd.ru>



© ЗАО «Биоград», 2010г.

Биоград

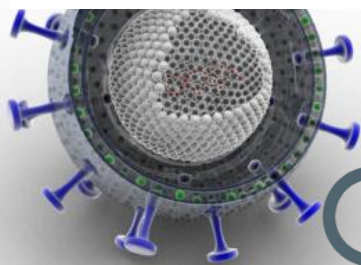
Алгоритм тестирования



В соответствии с диагностическим алгоритмом, утвержденным методическим письмом Минздравсоцразвития N 4174-РХ от 4.08.2006 г.

«Обнаружение антител к ВИЧ включает два этапа»

- «На первом этапе проводится выявление суммарного спектра антител против антигенов ВИЧ с использованием различных тестов»
- «На втором этапе методом иммунного блоттинга проводится определение антител к отдельным антигенам вируса.»



© ЗАО «Биоград», 2010г.

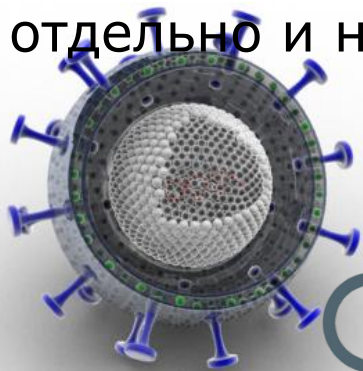
Подтверждающие тесты



В рамках централизованных мероприятий для подтверждения результатов положительных по ВИЧ в ИФА закупались 2 вида подтверждающих тестов:

«Лизатный иммуноблот» - Western Blot, спектр антигенов ВИЧ разделенных при помощи электрофореза. Антигены производятся из вирусного лизата. Непрерывный спектр.

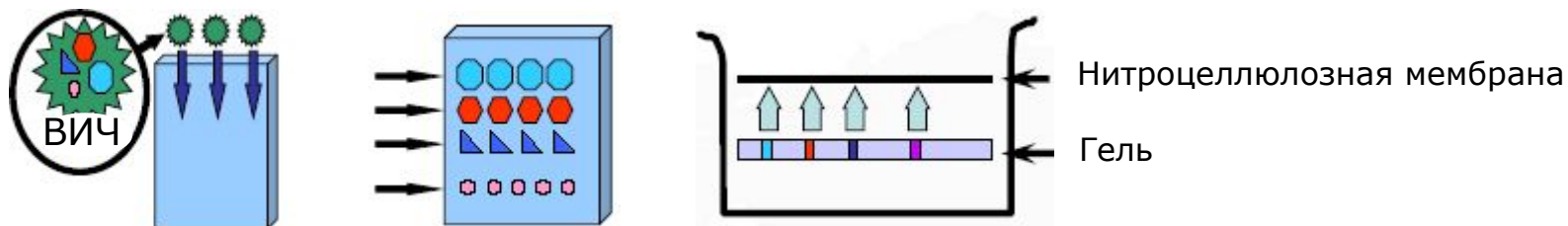
«Рекомбинантный иммуноблот» - рекомбинантные или синтетические антигены ВИЧ. Антигены производятся отдельно и наносятся дискретно.



© ЗАО «Биоград», 2010г.

Western Blot

Антигены из вирусного лизата распределяются по молекулярным весам при помощи электрофореза

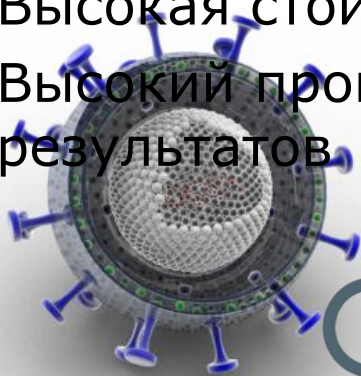
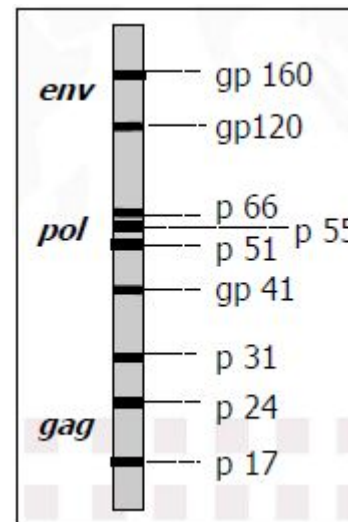


Сильные стороны:

- Полный спектр антител

Слабые стороны:

- Высокая стоимость
- Высокий процент неопределенных результатов

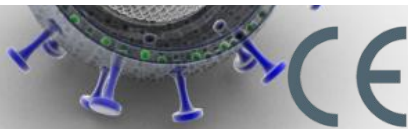


Неопределенные результаты



Производитель	Наименование	Тип	Кол-во неопределенных / отрицательных	Процент неопределенных результатов
Organics Ltd	ImmunoComb II HIV 1&2 CombFirm	рекомбинантный	4 / 154 ¹	2,6%
Bio-Rad	Genetic Systems HIV-1 Western Blot	лизатный	28 / 176 ² 32 / 298 ³	15,9% 10,7%
Bio-Rad	New Lav Blot I	лизатный	53 / 419 ⁴	12,6%
Bio-Rad	Pepti-Lav 1-2	рекомбинантный	4 / 214 ⁵	1,9%
InnoGenetics	Inno-LIA HIV I/II	рекомбинантный	10 / 300 ⁶	3,3%
Organon	LiaTek HIV III	рекомбинантный	10 / 146 ⁷	6,8%
Chiron (Novartis Diagnostics)	RIBA HIV-1/HIV-2 Strip Immunoblot Assay	рекомбинантный	22 / 548 ⁸	4,0%
Ora Sure	Ora Sure HIV-1 Western Blot	лизатный	100 / 495 ⁹ 45 / 264 ¹⁰	20,2% 17,0%

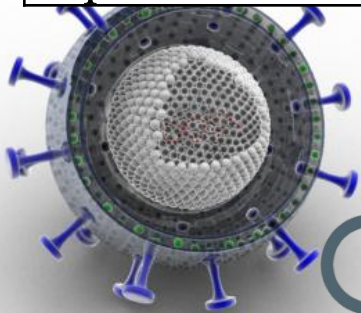
1. Инструкция по применению ImmunoComb II HIV 1&2 CombFirm, стр. 4
2. Инструкция по применению GS HIV-1 Western Blot, стр. 24 - данные для группы высокого риска, образцы отрицательные по EIA (ИФА)
3. Инструкция по применению GS HIV-1 Western Blot, стр. 22 - данные для доноров крови, образцы отрицательные по EIA (ИФА)
4. Инструкция по применению New Lav Blot I, стр. 10
5. Инструкция по применению Repti-Lav 1-2, стр. 9
6. Описание продукции на сайте производителя
7. Validation of a new immunoblot assay (LiaTek HIV III) for confirmation of human immunodeficiency virus infection, Transfusion, 1998 Aug;38(8):776-81.
8. Evaluation of Chiron HIV-1/HIV-2 Recombinant Immunoblot Assay, Journal of Clinical Microbiology, Nov. 1996, p. 2650–2653
9. Инструкция по применению Ora Sure HIV-1 Western Blot, стр. 14 — данные для группы низкого риска
10. Инструкция по применению Ora Sure HIV-1 Western Blot, стр. 14 — данные для группы высокого риска

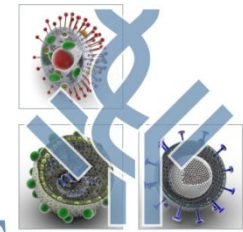


Критерии положительного результата



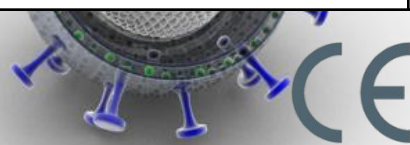
Критерии положительного результата (Western Blot):	
ВОЗ (рекомендованы в письме Минздравсоцразвития N 4174-РХ от 4.08.2006 г.)	два env (gp41, gp160, gp120)
CDC	любые два из: p24, gp41, gp 160/120
Американский Красный Крест	по одной полосе из env, gag и pol
CRSS Консорциум по стандартизации ретровирусной серологии	gag или pol И env (p24 или p31) И (gp41 или gp120/160)





Биоград

Наименование	Определяемые антитела:				Оборудование / подготовка растворов	Конъюгат	Время анализа
	к Env ВИЧ 1	к Gag ВИЧ 1	к Pol ВИЧ 1	к Env ВИЧ 2			
ImmunoComb® II HIV 1&2 CombFirm рекомбинантный	gp120, gp41	p24	p31	gp36	не требует / не требует (все растворы готовы к применению)	Конъюгат с щелочной фосфатазой	1 час
Биосервис, "Блот- ВИЧ 1/2 +0" рекомбинантный	gp160, gp41	p24/ p17	p51	gp110/ gp38	вакуумный насос и шейкер / приготовление растворов	Конъюгат с пероксидазой хрена	18-20 часов
Эколаб "ИФА Лайн- Блот ВИЧ-1,2" рекомбинантный	gp160, gp41	p24	p51	gp36	вакуумный насос и шейкер / приготовление растворов	Конъюгат с пероксидазой хрена	18-20 часов
Вio-Rad "NEW LAV BLOT I" лизатный	спектр gp160, gp120 gp41	спектр p24, p40, p55, p17	спектр p31, p51, p66	-	вакуумный насос и шейкер / восстановление из концентрата	Конъюгат с щелочной фосфатазой	3 часа



© ЗАО «Биоград», 2010г.

ИммуноКомб II ВИЧ 1+2 КомбФирм ImmunoComb® II HIV 1&2 CombFirm



Наименование	Определяемые антитела:			
	к Env ВИЧ 1	к Gag ВИЧ 1	к Pol ВИЧ 1	к Env ВИЧ 2
ImmunoComb® II HIV 1&2 CombFirm рекомбинантный	gp120, gp 41	p24	p31	gp36

- Время анализа – 1 час
- Не требует разведения реагентов
(все реагенты готовы к применению)

Внутренний контроль

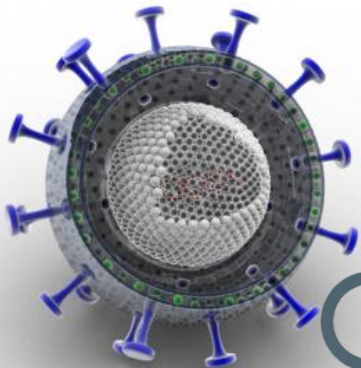
p24

p31

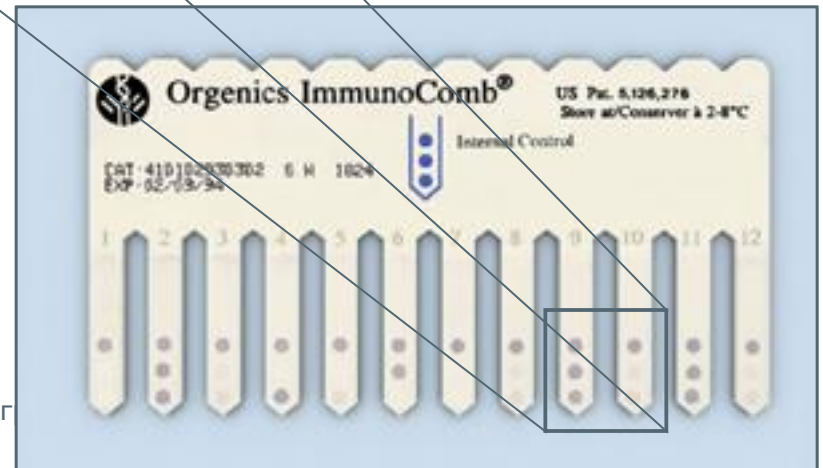
gp120

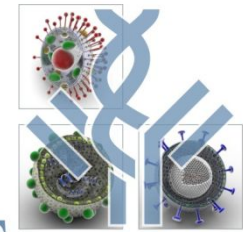
gp41

gp36



© ЗАО «Биогр

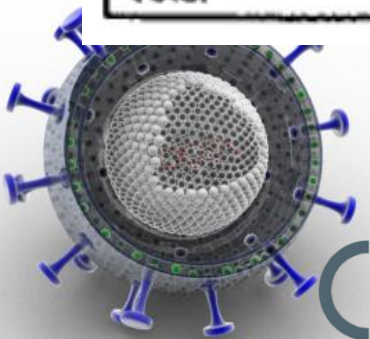




- Тест ИммуноКомб КомбФирм разрешен для подтверждения наличия антител к ВИЧ (приказ МЗ РФ № 292 от 30.07.2001).
- Результаты мультицентровых испытаний (Израиль, Франция, Бельгия, Бразилия, Сенегал)

HIV Status	WB	ImmuноComb II HIV 1&2 CombFirm				
		Neg	HIV-1	HIV-2	HIV-1+HIV-2	Ind.
Negative	260	242	0	0	0	18
Positive HIV-1	424	0	409*	0	0	15
Positive HIV-2	175	0	0	151	17	7
Positive HIV-1+HIV-2	9	0	0	0	9	0
Indeterminate	117	54	6	0	0	57
Total	985	296	415	151	26	97

* - включая 15 положительных по ВИЧ-1 группы О
Без учета неопределенных:
чувствительность 100%,
специфичность 100%



Типовой состав набора ИммуноКомб



1. Проявочная ванна (3 шт.)

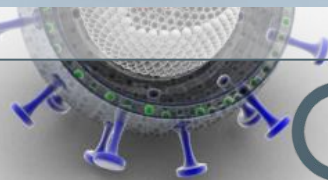
2. Пластиковый гребень в
алюминиевом пакете (3 шт.)

3. Положительный
контрольный образец

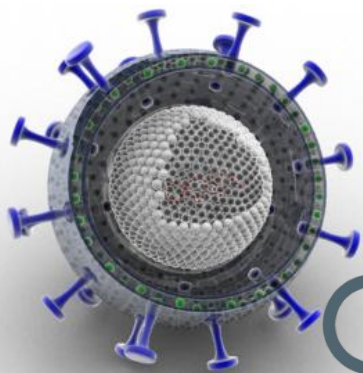
4. Отрицательный
контрольный образец

5. Перфоратор

6. Шкала КомбСкейл

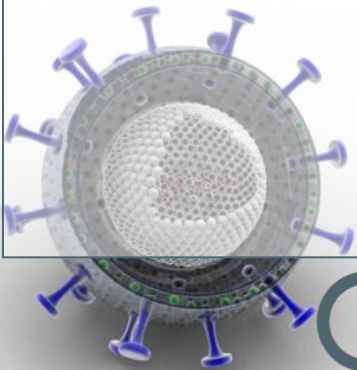


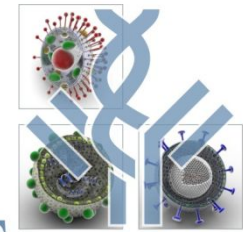
- Технология ИммуноКомб позволяет диагностировать широкий спектр инфекций: ВИЧ, HTLV, Гепатиты А, В, С, Цитомегалию, Токсоплазмоз, Хламидиоз, Краснуху, Хеликобактериоз, тропические инфекции.



Диагностика ВИЧ

- ИммуноКомб II HIV 1&2 Bispot
- ИммуноКомб II HIV 1&2 TriSpot Ag-Ab
- ИммуноКомб II HIV 1&2 CombFirm





Диагностика вирусных гепатитов

- ИммуноКомб II HBsAg 90'
- ИммуноКомб II Anti-HBs
- ИммуноКомб II HBc IgM
- ИммуноКомб II HBc IgG
- ИммуноКомб II HCV
- ИммуноКомб II HAV IgM
- ИммуноКомб II HAV Ab

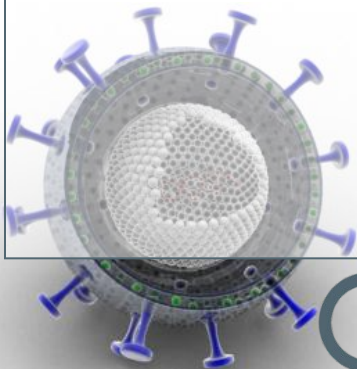
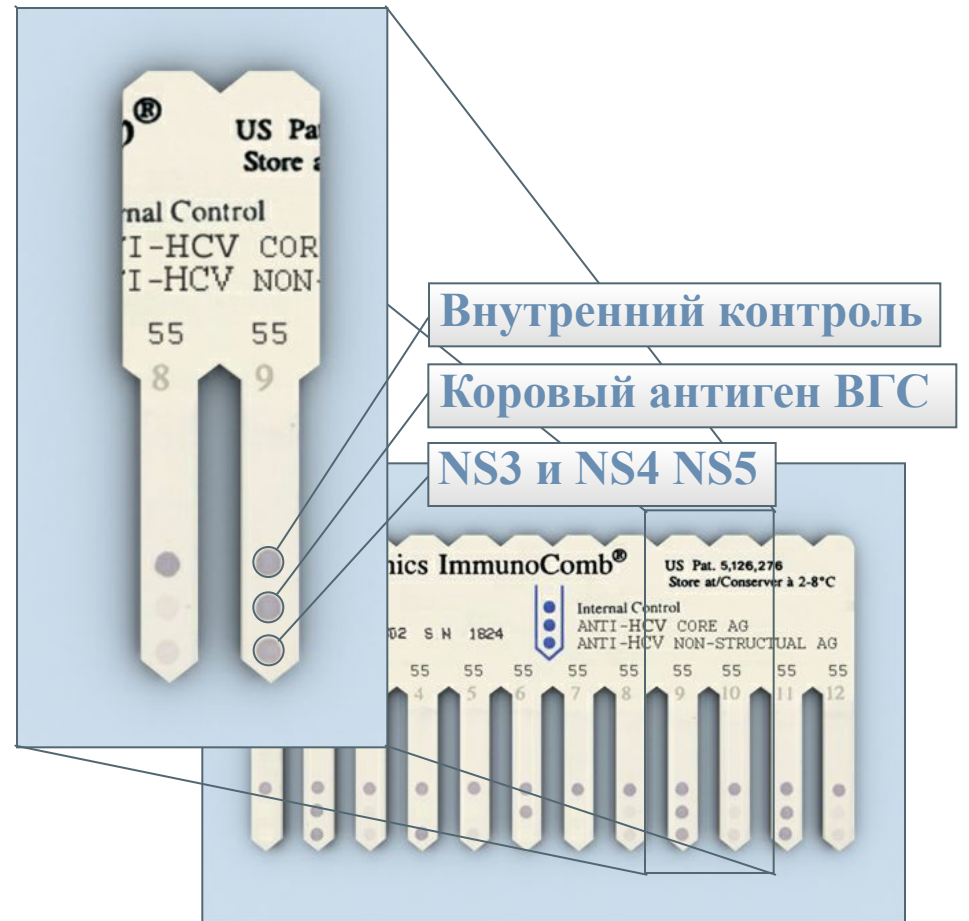


Схема постановки анализа



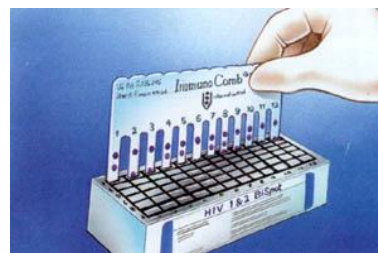
1. Для индивидуального тестирования гребешок можно согнуть и отломить необходимое количество зубцов.



4. Гребешок перемещается из ряда в ряд ванночки в соответствии с инструкцией (промывки и связывание с конъюгатом).



2. В ряд А ванночки вносятся образцы (сыворотка, плазма или цельная кровь) и контроли.



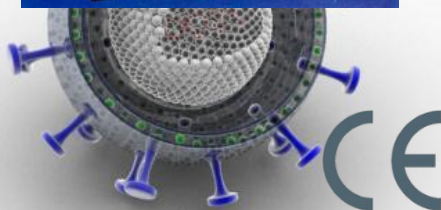
5. Цветная реакция в ряду F.



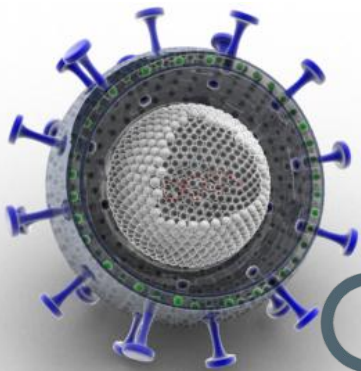
3. Гребешок вставляется в ряд А и инкубируется (реакция антиген-антитело).



6. Результат анализа в виде окрашенных точек. Верхняя точка: внутренний контроль. Нижняя точка и (или) средняя точки появляются в случае наличия - инфекции.



- Тесты ИммуноКомб сертифицированы CE и широко используются более чем в ста странах мира. Как достоверные, высокочувствительные и специфичные тесты ИммуноКомб отобраны для программ ВОЗ, UNAIDS, Красного Креста, допущены FDA (США) для поставок по специальным программам фонда Клинтона.



Спасибо за внимание.

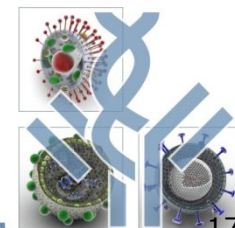
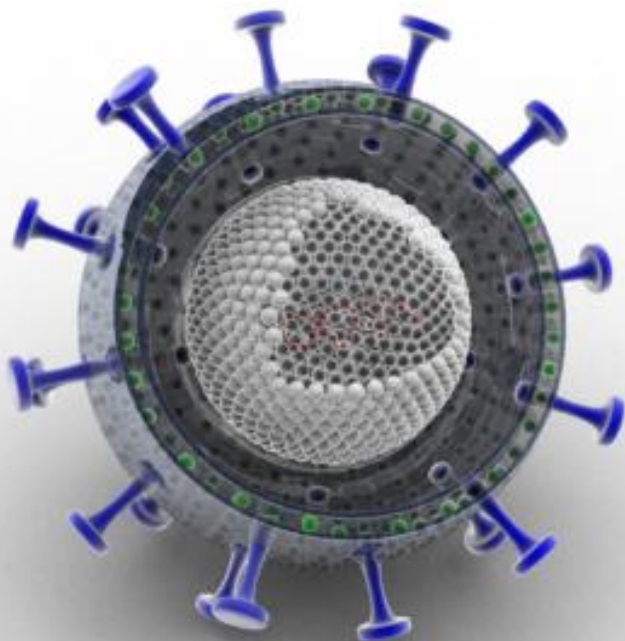
ЗАО «Биоград»

18 лет в России.

Адрес: 197101, г. Санкт-Петербург,
Петровский пр., д. 14, 19-Н

тел./факс: (812) **325 21 71, 325 21 70**
(многоканальные)

<http://www.biograd.ru>
biograd@biograd.ru



© ЗАО «Биоград», 2010г.

Биоград 17