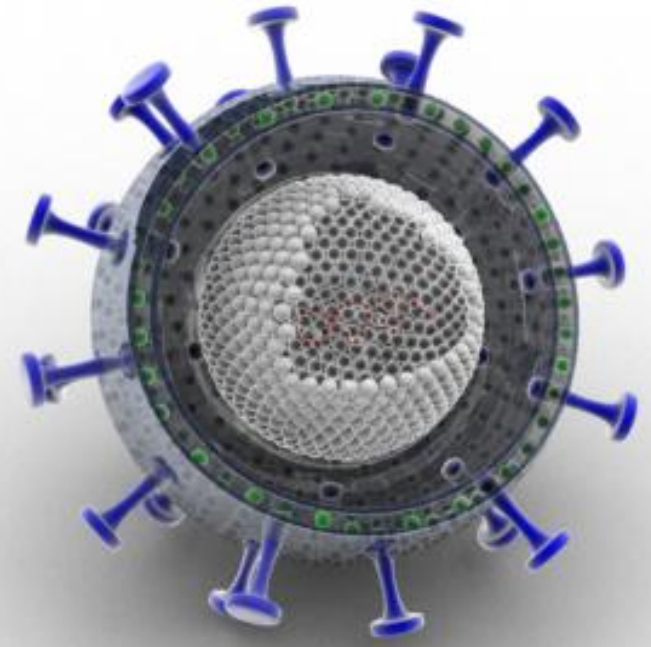
Диагностические возможности иммуноферментных бесприборных тест-систем



Дробченко А.Е

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

© ЗАО «Биоград», 2011 г.

Бесприборные тесты для определения антител к ВИЧ

Биоград

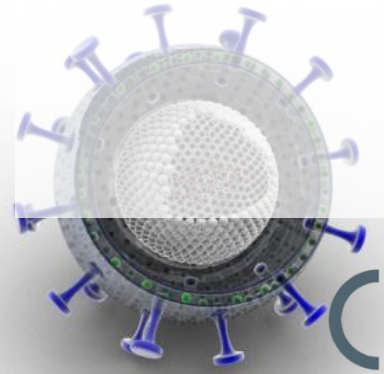
Бесприборные тесты, применяемые для определения антител к ВИЧ:

1. Иммунохроматографические

- Минимальное время реакции
- Принцип анализа, отличный от классического ИФА
- Визуальное считывание, нестабильные результаты

2. Иммуноферментные

- Принцип анализа, Чувствительность и специфичность, соответствующие классическому ИФА
- Стабильность результата в течение лет

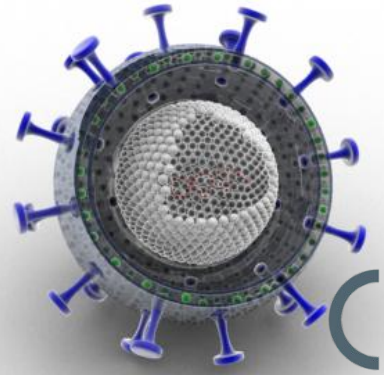


© ЗАО «Биоград», 2011г.

Биоград

1. Иммунохроматографические

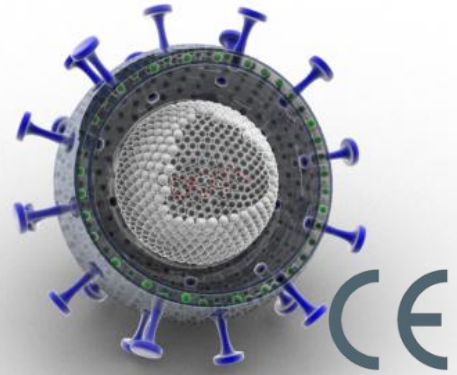
- Минимальное время реакции
- Принцип анализа, отличный от классического ИФА
- Визуальное считывание,
  нестабильные результаты
- Окрашивание на основе связывания окрашенных частиц в виде полосы в области результата (отличается от ИФА/ELISA)



© ЗАО «Биоград», 2011г.

2. Иммуноферментные

- Принцип анализа, Чувствительность и специфичность, соответствующие классическому ИФА
- Стабильность результата в течение лет
- Окрашивание на основе каталитической ферментативной реакции (так же, как в классическом ИФА/ELISA и иммуноблотах)



© ЗАО «Биоград», 2011г.

Типовой состав набора ИммуноКомб

1. Проявочная ванна (3 шт)

2. Пластиковый гребень в алюминиевом пакете (3 шт)

3. Положительный и отрицательный контрольные образцы

4. Перфоратор

---

5. Шкала КомбСкейл

© ЗАО «Биоград», 2011г.

Схема постановки анализа

Биоград

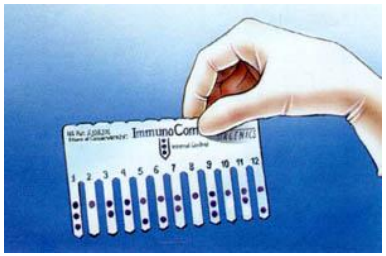
1. Для индивидуального тестирования гребень можно согнуть и отломить необходимое количество зубцов.

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

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

4. Гребень перемещается из ряда в ряд проявочной ванны в соответствии с инструкцией (промывки и связывание с конъюгатом).

5. Цветная реакция в ряду F.



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

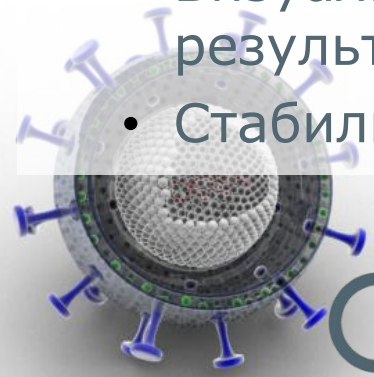
© ЗАО «Биоград», 2011г.

Иммуноферментные бесприборные тест-системы

Биоград

Особенности Иммуноферментных бесприборных тест-систем ИммуноКомб:

- Чувствительность и специфичность, соответствующая классическому ИФА
- Внутренний контроль в каждом тесте (верхняя точка)
- Положительный и отрицательный контроли поставляются в составе набора
- Отдельные точки для разных маркеров – одновременная постановка нескольких маркеров
- Визуальное или автоматическое считывание результатов (на приборе КомбСкан)
- Стабильность окраски результатов



© ЗАО «Биоград», 2011г.

Биоград

Санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.5.2826-10 "Профилактика ВИЧ-инфекции" устанавливают следующее требование:

«4.8.2. Каждое исследование на ВИЧ с применением простых/быстрых тестов **должно сопровождаться** обязательным параллельным исследованием той же порции крови классическими **методами ИФА, ИБ.**»

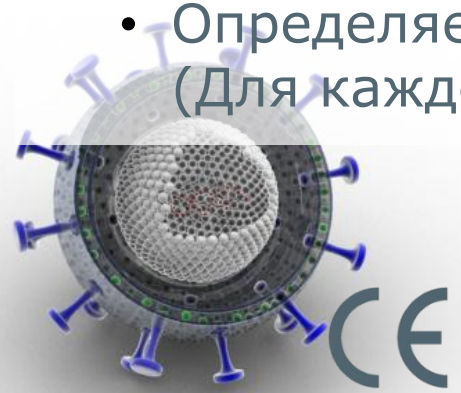
Иммуноферментные тесты ИммуноКомб позволяют поставить полноценный ИФА, поэтому повтор не требуется.

© ЗАО «Биоград», 2011г.

Иммуноферментные бесприборные тест-системы

Биоград

- ИммуноКомб II HIV 1&2 Bispot – скрининговый, 36 мин
  - Полноценный ИФА за 36 минут
- ИммуноКомб II HIV 1&2 TriSpot Ag-Ab – АГ-АТ, 84 мин
  - ИФА четвертого поколения (антиген-антитело)
  - Дифференцированный результат по антителам и антигену p24
- ИммуноКомб II HIV 1&2 CombFirm – подтверждающий (иммуноблот), 66 мин
  - Рекомбинантный иммуноблот (подтверждающий тест)
  - Определяет антитела к 5 различным антигенам ВИЧ (Для каждого анализа используется по 2 зубца)



© ЗАО «Биоград», 2011г.

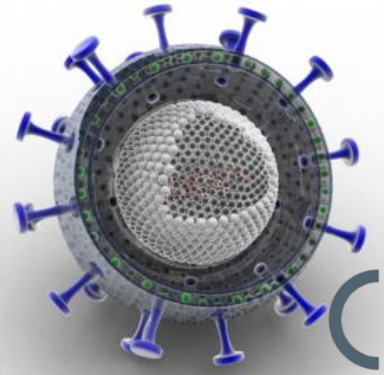
Результаты испытаний тест-систем на сероконверсионной панели HIV 9017, Bioclinical Partners, США

Биоград

ИФА(ELISA) планшетные тест-системы (Данные производителя панели)						**Отчет** о сравнительных испытаниях диагностических иммуноферментных тест-систем для выявления антител к ВИЧ, разрешенных к применению в РФ, **МЗ РФ** 22.03.04, таблица 24				
№ образца	Дата забора образца	Abbott AxSYM Anti-HIV1/2	Organon Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ab	Roche Enzymum -Test HIV Combi	Abbott Architect HIV Ag/Ab Combo	Serodia HIV-1/2, ИХА	ИммуноКомб II **ВИЧ 1+2 БиСпот, ИФА**	Genie II HIV-1/HIV-2, ИХА	Детерм ин ВИЧ ½, ИХА	Ретрочек ВИЧ ИХА
1	26.12.97	0,31	0,47	0,23	0,74	-	-	-	-	-
2	29.12.97	0,31	0,50	0,23	0,19	-	-	-	-	-
3	02.01.98	0,39	0,48	0,25	-	-	-	-	-	-
4	05.01.98	0,40	0,52	0,25	0,15	-	-	-	-	-
5	09.01.98	0,68	0,57	0,31	-	-	-	-	-	-
6	12.01.98	0,93	0,69	0,57	0,43	-	**+**	-	-	-
7	16.01.98	**1,01**	0,62	**1,40**	**1,12**	-	**+**	-	-	-
8	19.01.98	**1,43**	0,80	**1,96**	**1,58**	-	**+**	-	-	-
9	23.01.98	**2,23**	**1,08**	**3,17**	**2,88**	-	**+**	-	-	**+**
10	27.01.98	**3,51**	**1,45**	**3,39**	-	**+**	**+**	**+**	**+**	**+**
11	30.01.98	**4,12**	**1,70**	**4,43**	**5,16**	**+**	**+**	**+**	**+**	**+**

Результаты испытаний тестов

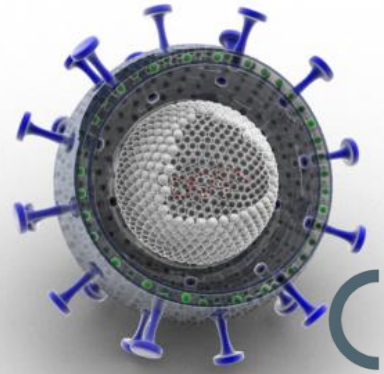
- Иммуноферментные тесты **Иммунокомб II HIV 1&2 Bispot** выявили антитела к ВИЧ на **11-15 дней раньше,** чем экспресс-тесты, основанные на принципе иммунохроматографии.



© ЗАО «Биоград», 2011г.

Первый в мире бесприборный тест 4 поколения (АГ-АТ)

- ИммуноКомб II HIV 1&2 TriSpot Ag-Ab – АГ-АТ, 84 мин
  - ИФА четвертого поколения без дополнительного оборудования
  - Дифференцированный результат по антителам и антигену p24 – результат более информативен, чем в совмещенных тестах, что позволяет интерпретировать статус инфекции на ранних стадиях



© ЗАО «Биоград», 2011г.

Алгоритм тестирования (СП 3.1.5.2826-10)

Биоград

«4.4.2. На втором этапе (референс-лаборатория).

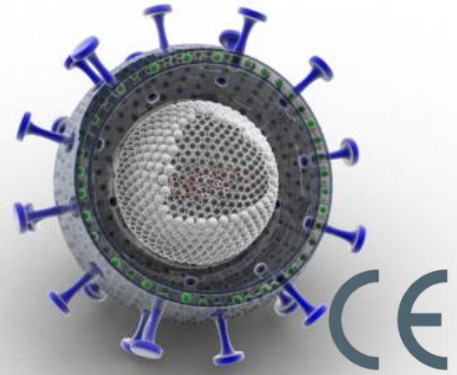
Первично положительная сыворотка повторно исследуется в ИФА во второй тест-системе другого производителя, ***отличающейся от первой по составу антигенов, антител или формату тестов***, выбранной для подтверждения. При получении отрицательного результата сыворотка повторно исследуется в третьей тест-системе другого производителя, ***отличающейся от первой и второй по составу антигенов, антител или формату тестов***. В случае получения отрицательного результата (во второй и третьей тест-системах) выдается заключение об отсутствии антител к ВИЧ. »

…

© ЗАО «Биоград», 2011г.

Подтверждение скрининговых исследований

- ИммуноКомб II HIV 1&2 CombFirm – подтверждающий (иммуноблот), 66 мин
  - Рекомбинантный иммуноблот (подтверждающий тест)
  - Определяет антитела к 5 различным антигенам ВИЧ (Для каждого анализа используется 2 зубца)



© ЗАО «Биоград», 2011г.

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
Bio-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», 2011г.

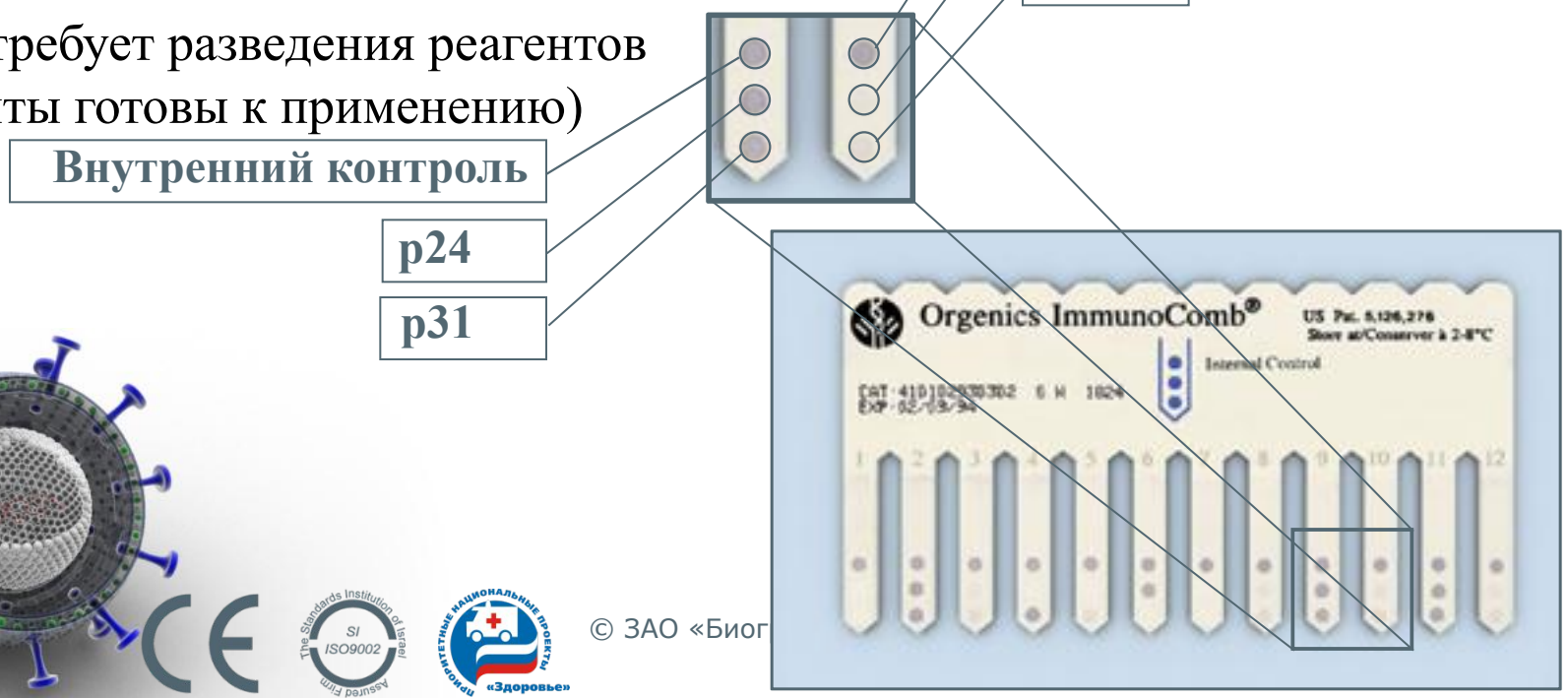
ИммуноКомб II ВИЧ 1+2 КомбФирм
ImmunoComb® II HIV 1&2 CombFirm

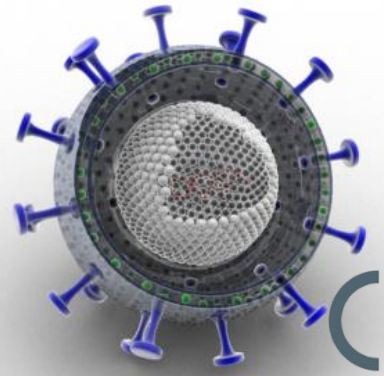
Биоград

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 иммуноблот	gp120, gp 41	p24	p31	gp36

- Время анализа – 1 час
- Не требует разведения реагентов

(реагенты готовы к применению)

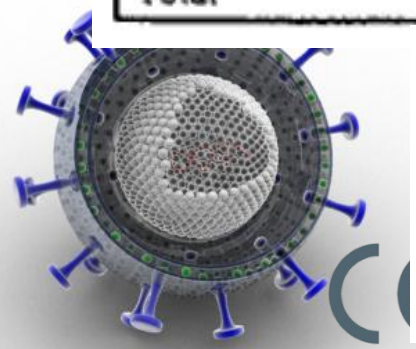




© ЗАО «Биог

- 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	ImmunoComb 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

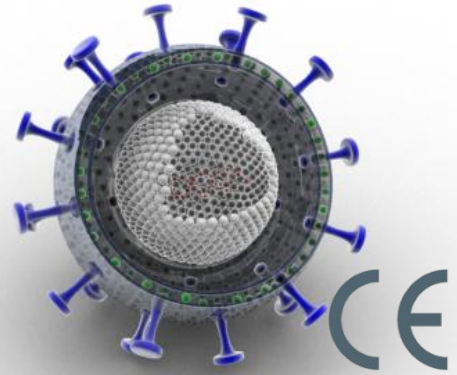


* - включая 15 положительных по ВИЧ-1 группы О

Без учета неопределенных:
чувствительность 100%,
специфичность 100%

Биоград

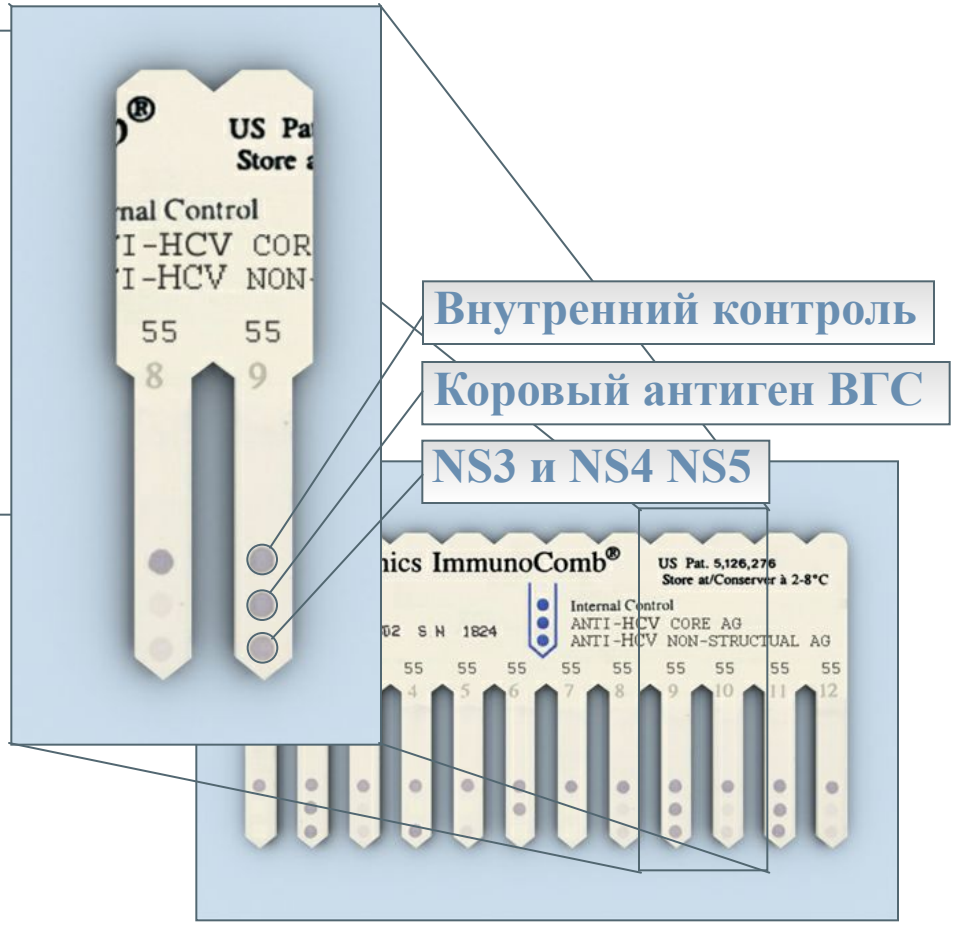
Технология ИммуноКомб позволяет диагностировать широкий спектр инфекций: ВИЧ, HTLV, Гепатиты А, В, С, ЦМВ, Токсоплазмоз, Хламидиоз, Краснуху, Хеликобактериоз, тропические инфекции.



© ЗАО «Биоград», 2011г.

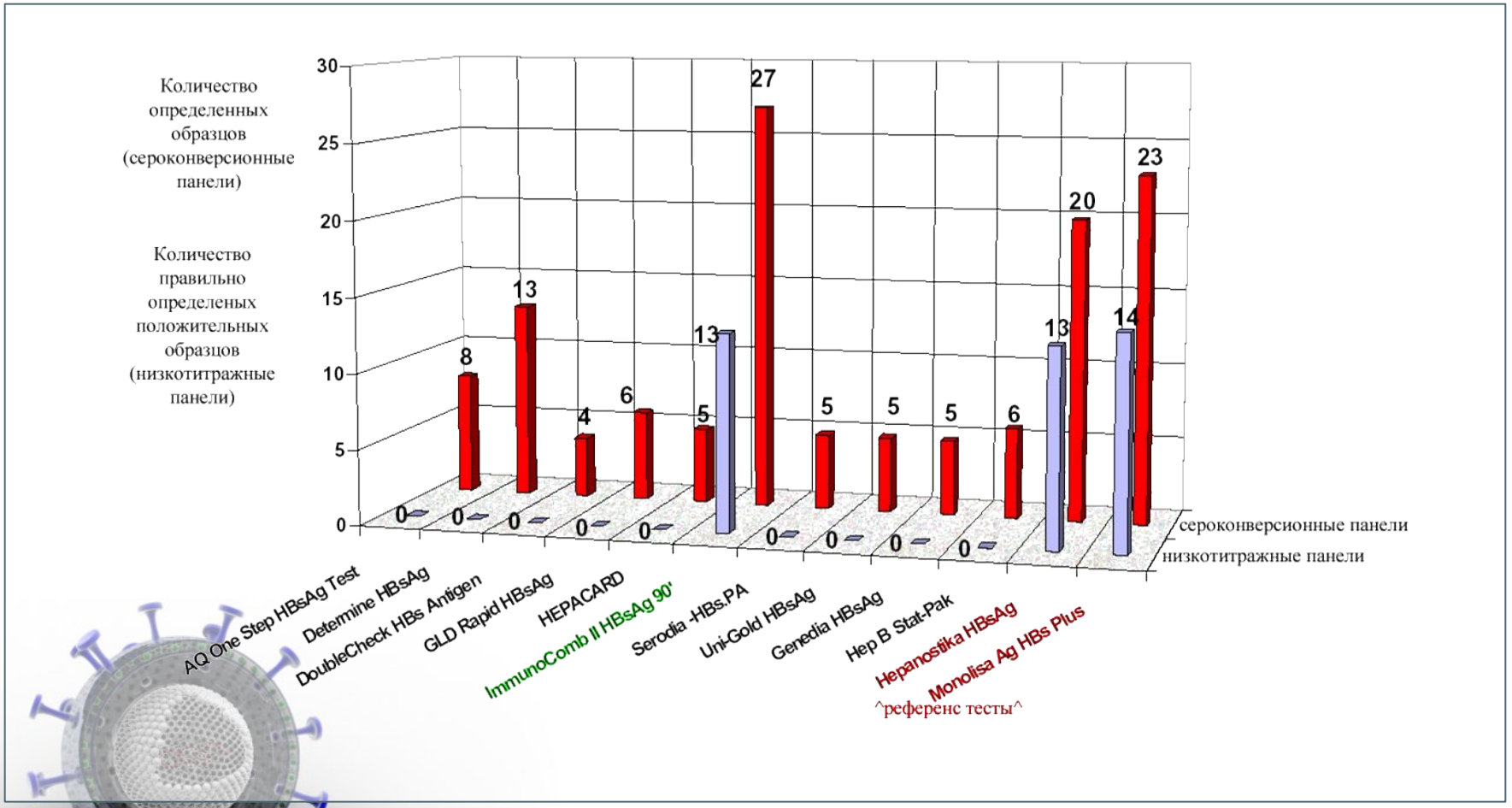
Тест-системы для определения Гепатитов А, В и С

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



© ЗАО «Биоград», 2011г.

Испытания ВОЗ БПТ для выявления HBs Ag



© ЗАО «Биоград», 2011г.

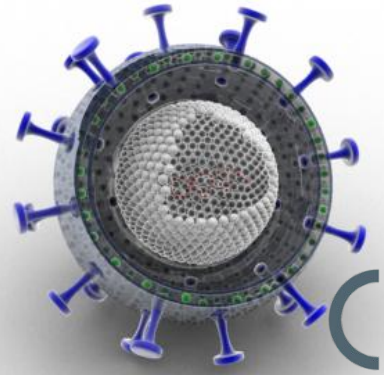
Испытания ВОЗ БПТ для выявления HBs Ag на сероконверсионных панелях

Панель	Обнаружение HBs Ag, дней с момента забора первого образца		
	ИммуноКомб ИФА	Экспресс тесты (иммунохроматографические и агглютинационные)	ELISA референс-тесты
PHM 901 (BBI)	0	8-16	2-8
PHM 902 (BBI)	57	85-88 и более	71-73
PHM 903 (BBI)	14	17 и более	14
PHM 907 (BBI)	50	57-64	50
PHM 910 (BBI)	42	46-49 и более	35-42

© ЗАО «Биоград», 2011г.

Биоград

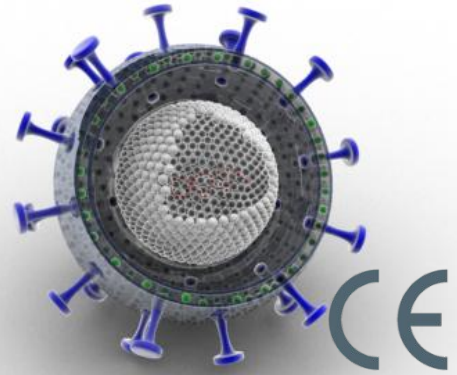
Агглютационные, мембранные и иммунохроматографические тесты, обеспечивающие короткое время получения результата (15мин), менее чувствительны и специфичны на образцах сероконверсионных панелей, чем Иммуноферментные бесприборные тест-системы ИммуноКомб, основанные на иммуноферментном твердофазном анализе.



© ЗАО «Биоград», 2011г.

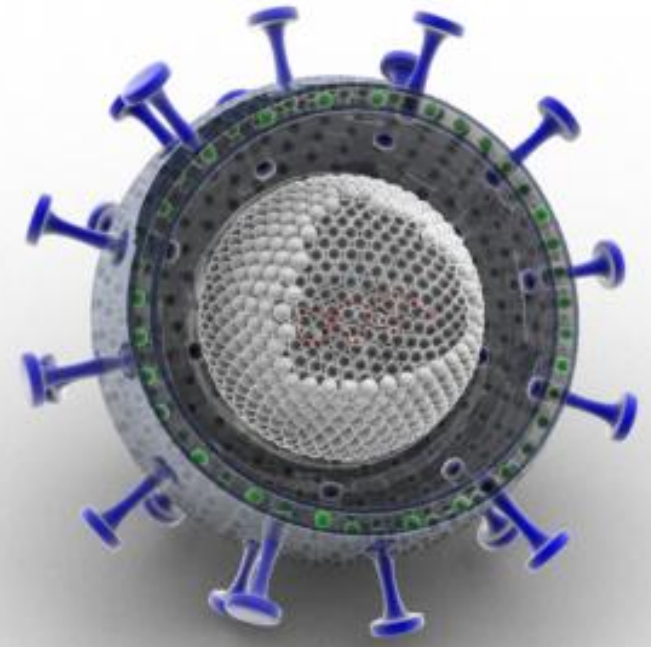
Биоград

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.



© ЗАО «Биоград», 2011г.

Спасибо за внимание.
ЗАО «Биоград»



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», 2011г.