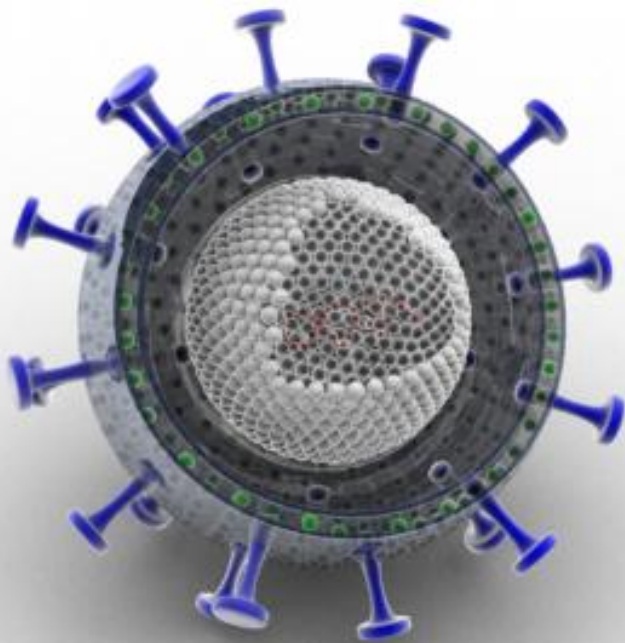
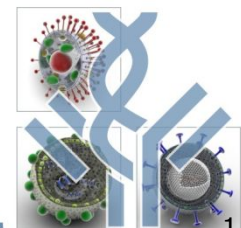


# Диагностические возможности иммуноферментных бесприборных тест-систем



*Дробченко А.Е*

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



© ЗАО «Биоград», 2011 г.

Биоград

# Бесприборные тесты для определения антител к ВИЧ



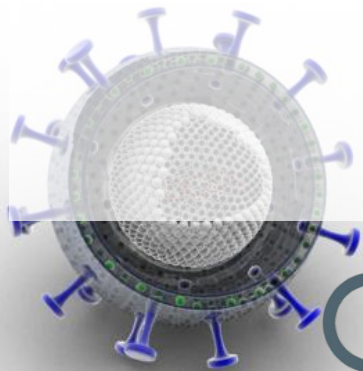
Бесприборные тесты, применяемые для определения антител к ВИЧ:

## **1. Иммунохроматографические**

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

## **2. Иммуноферментные**

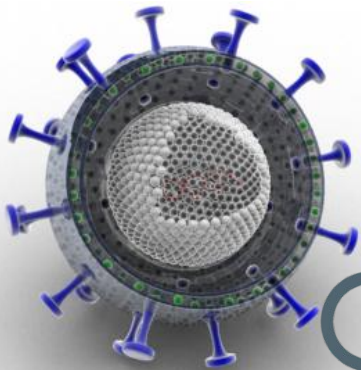
- Принцип анализа, Чувствительность и специфичность, соответствующие классическому ИФА
- Стабильность результата в течение лет



© ЗАО «Биоград», 2011г.

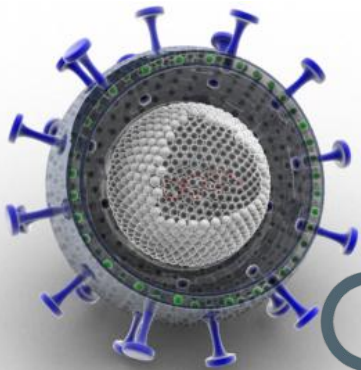
## 1. Иммунохроматографические

- 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)



## 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)



# Типовой состав набора ИммуноКомб

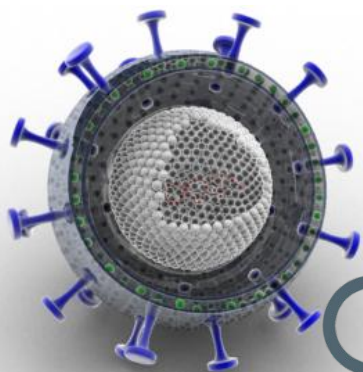


1. Проявочная ванна (3 шт)

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



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



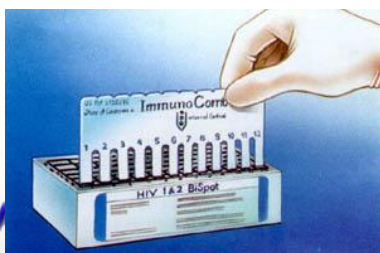
4. Гребень перемещается из ряда в ряд проявочной ванны в соответствии с инструкцией (промывки и связывание с конъюгатом).



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



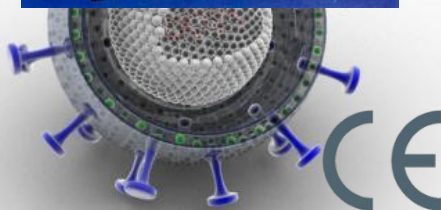
5. Цветная реакция в ряду F.



3. Гребень 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 антител или антигенов.

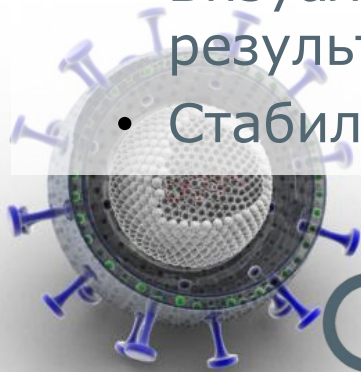


# Иммуноферментные бесприборные тест-системы



## 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.

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.

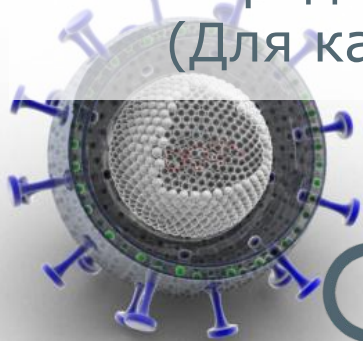




# Иммуноферментные бесприборные тест-системы

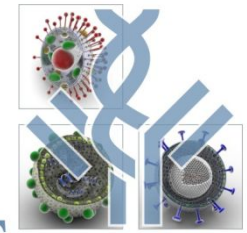


- ИммуноКомб II HIV 1&2 Bispot – скрининговый, 36 мин
  - Полноценный ИФА за 36 минут
- ИммуноКомб II HIV 1&2 TriSpot Ag-Ab – АГ-АТ, 84 мин
  - ИФА четвертого поколения (антиген-антитело)
  - Дифференцированный результат по антителам и антигену p24
- ИммуноКомб II HIV 1&2 CombFirm – подтверждающий (иммуоблот), 66 мин
  - Рекомбинантный иммуоблот (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



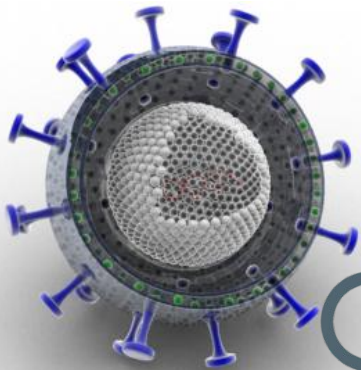
Биоград

| ИФА(ELISA) планшетные тест-системы<br>(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 Enzygnost -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 1/2, 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            | <b>1,01</b>              | 0,62                                      | <b>1,40</b>                     | <b>1,12</b>                      | -  | +                                 | -                         | -                      | -                |
| 8   | 19.01.98            | <b>1,43</b>              | 0,80                                      | <b>1,96</b>                     | <b>1,58</b>                      | -  | +                                 | -                         | -                      | -                |
| 9   | 23.01.98            | <b>2,23</b>              | <b>1,08</b>                               | <b>3,17</b>                     | <b>2,88</b>                      | -  | +                                 | -                         | -                      | +                |
| 10  | 27.01.98            | <b>3,51</b>              | <b>1,45</b>                               | <b>3,39</b>                     | -                                | +  | +                                 | +                         | +                      | +                |
| 11  | 30.01.98            | <b>4,12</b>              | <b>1,70</b>                               | <b>4,43</b>                     | <b>5,16</b>                      | +  | +                                 | +                         | +                      | +                |

# 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.

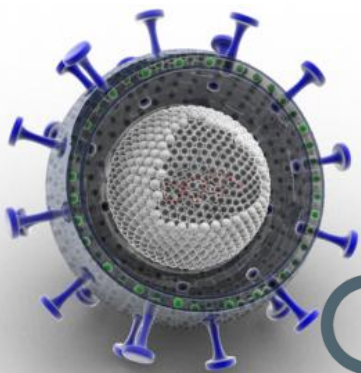


© ЗАО «Биоград», 2011г.

# 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 р24 – 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)



«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. »

...



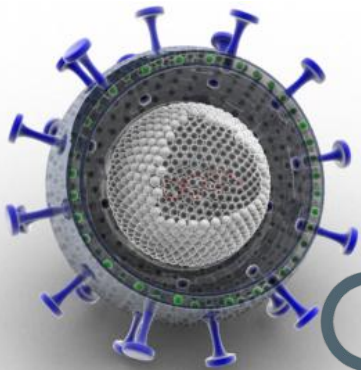
© ЗАО «Биоград», 2011г.



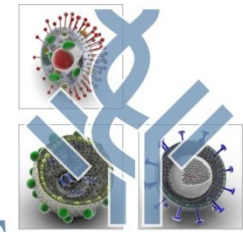
# Подтверждение скрининговых исследований



- 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)

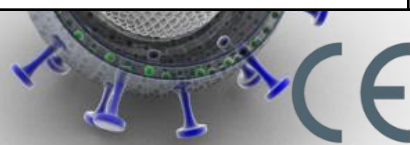


© ЗАО «Биоград», 2011г.



Биоград

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



© ЗАО «Биоград», 2011г.

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



| Наименование  | Определяемые антитела: |                |                |                |
|---|------------------------|----------------|----------------|----------------|
|   | к Env<br>ВИЧ 1         | к Gag<br>ВИЧ 1 | к Pol<br>ВИЧ 1 | к Env<br>ВИЧ 2 |
| ImmunoComb® II HIV 1&2<br>CombFirm <b>рекомбинантный</b><br><b>ИММУНОБЛОТ</b> | gp120,<br>gp 41        | p24            | p31            | gp36           |

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

**Внутренний контроль**

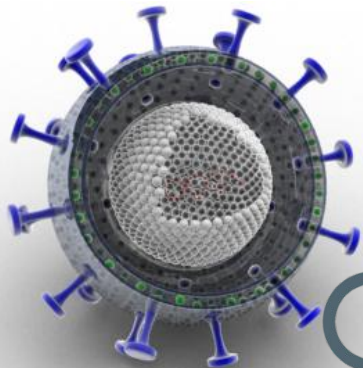
p24

p31

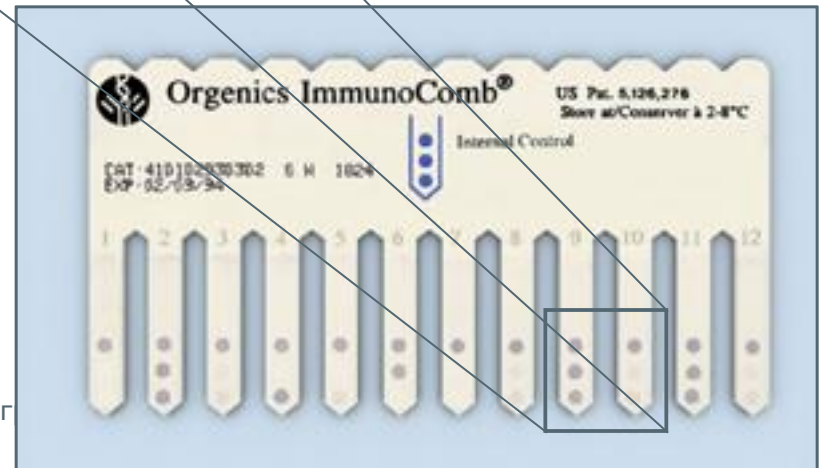
gp120

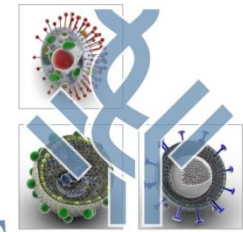
gp41

gp36



© ЗАО «Биогр»

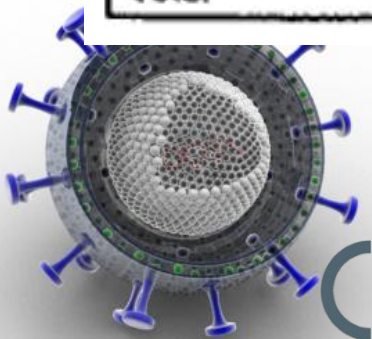




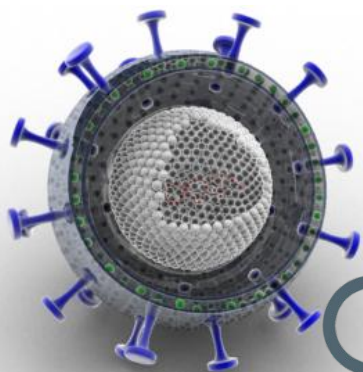
- Тест ИммуноКомб КомбФирм разрешен для подтверждения наличия антител к ВИЧ (приказ МЗ РФ № 292 от 30.07.2001).
- Результаты мультицентровых испытаний (Израиль, Франция, Бельгия, Бразилия, Сенегал)

| HIV Status           | WB  | 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 O  
Без учета неопределенных:  
чувствительность 100%,  
специфичность 100%



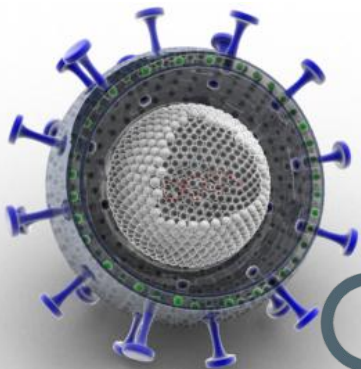
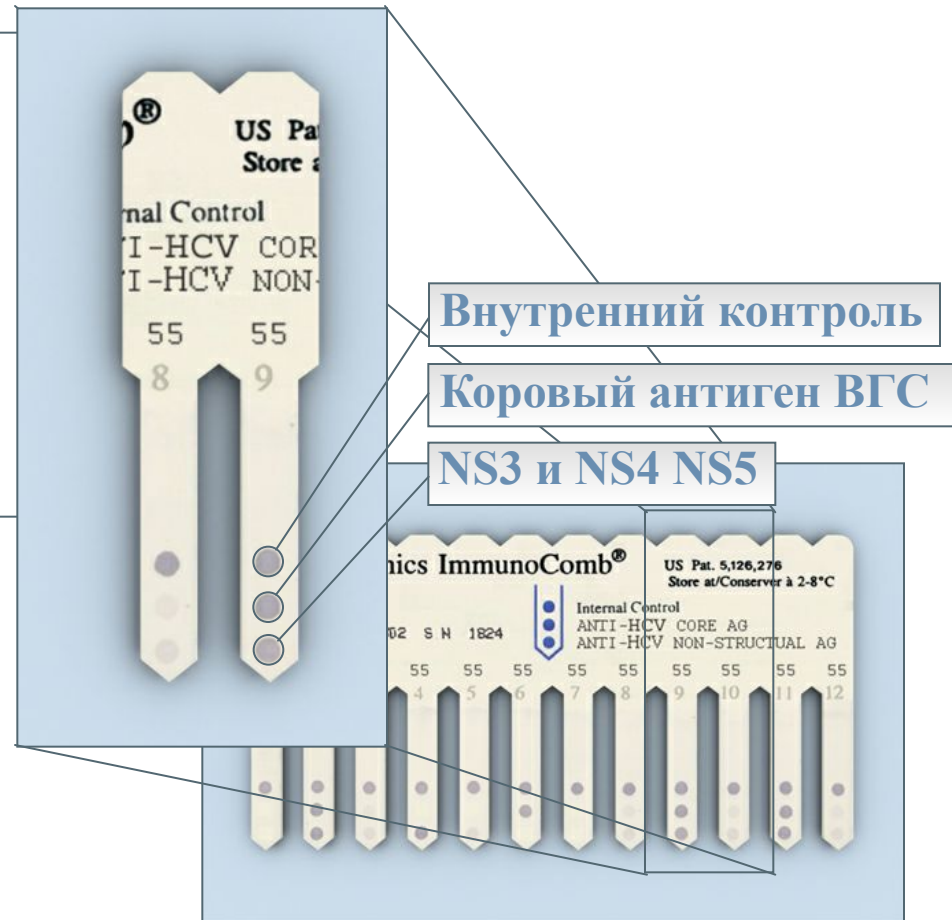
Технология ИммуноКомб позволяет диагностировать широкий спектр инфекций: ВИЧ, HTLV, Гепатиты А, В, С, ЦМВ, Токсоплазмоз, Хламидиоз, Краснуху, Хеликобактериоз, тропические инфекции.



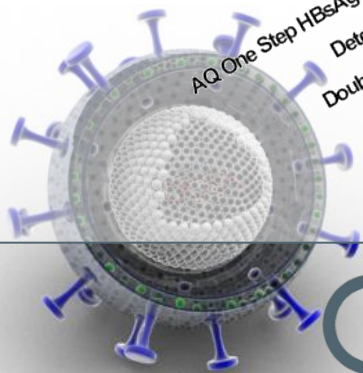
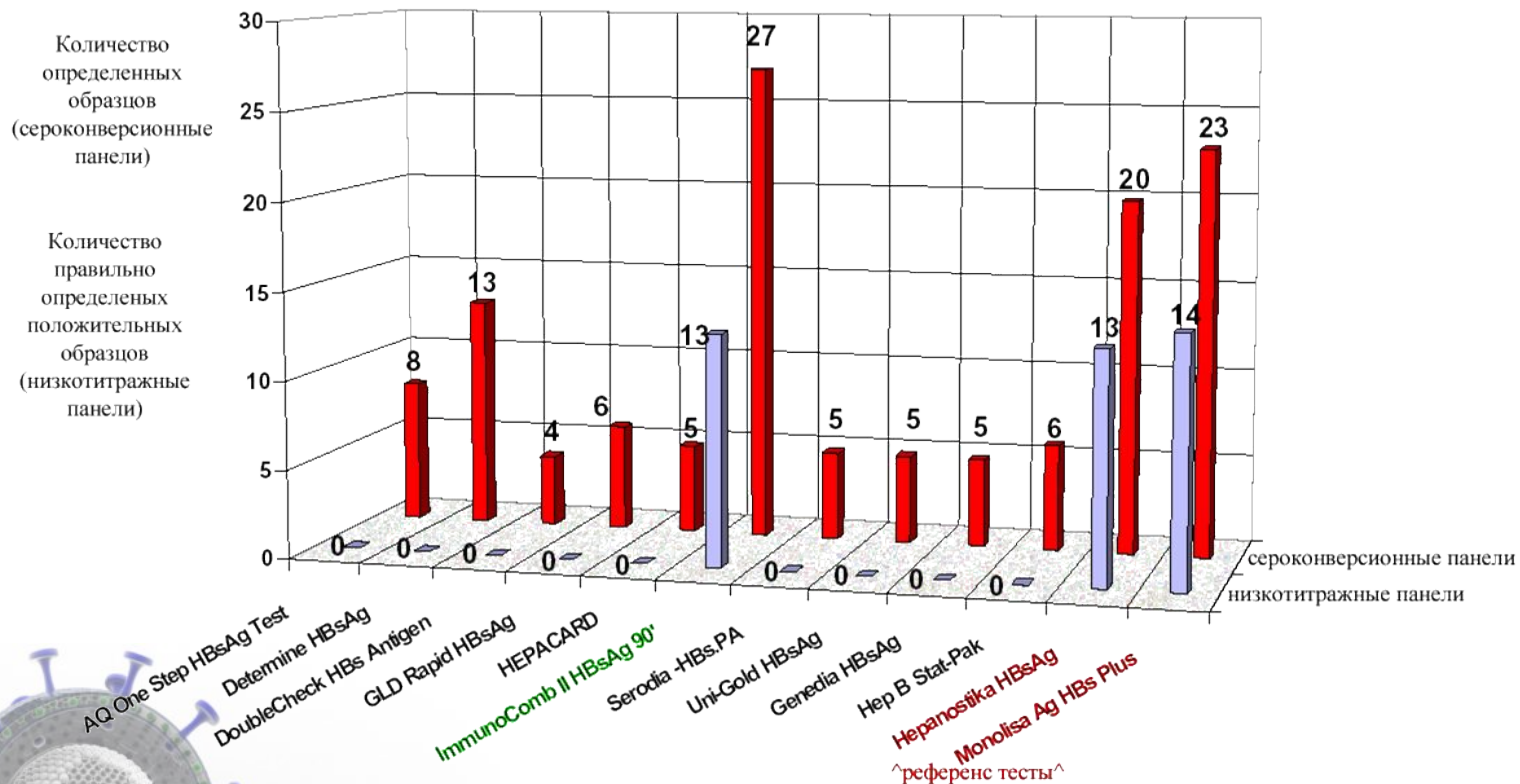


# Тест-системы для определения Гепатитов А, В и С

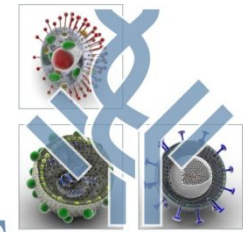
- ИммуноКомб II HBsAg 90'
- ИммуноКомб II Anti-HBs
- ИммуноКомб II Hbс IgG
- ИммуноКомб II HCV
- ИммуноКомб II HAV IgM
- ИммуноКомб II HAV Ab



# Испытания ВОЗ БПТ для выявления HBs Ag

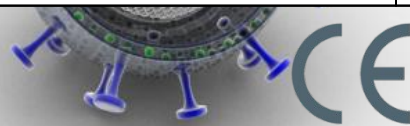


# Испытания ВОЗ БПТ для выявления HBs Ag на сероконверсионных панелях



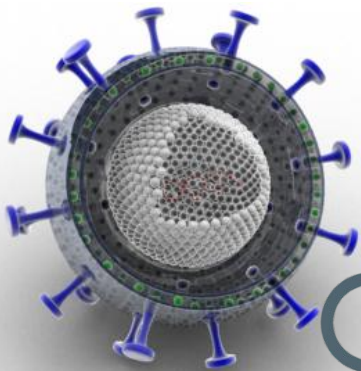
Биоград

| Панель        | Обнаружение HBs Ag, дней с момента забора первого образца |  |                         |
|---------------|---|--|-------------------------|
|               | <b>ИммуноКомб<br/>ИФА</b>                                 | Экспресс тесты<br>(иммунохроматографические<br>и агглютинационные) | ELISA<br>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                   |

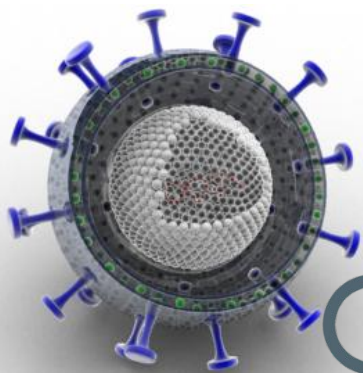


© ЗАО «Биоград», 2011г.

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.



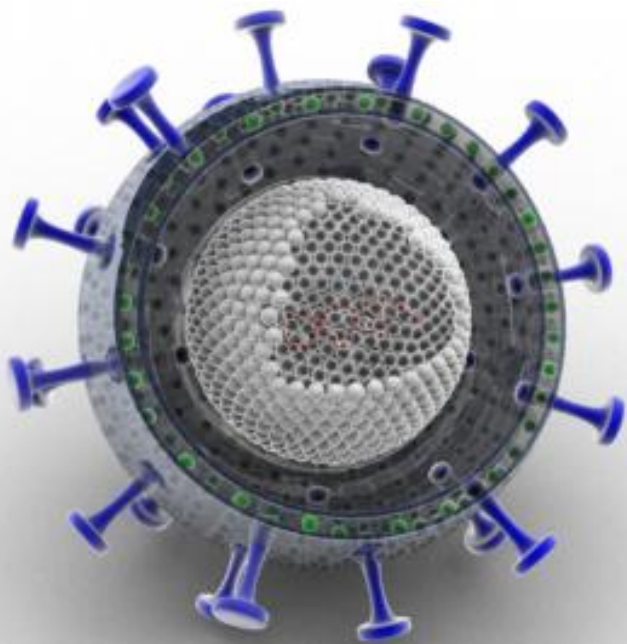
Тесты ИммуноКомб сертифицированы CE и широко используются более чем в ста странах мира. Как достоверные, высокочувствительные и специфичные тесты ИммуноКомб отобраны для программ ВОЗ, UNAIDS, Красного Креста, допущены FDA (США) для поставок по специальным программам фонда Клинтона.





# Спасибо за внимание.

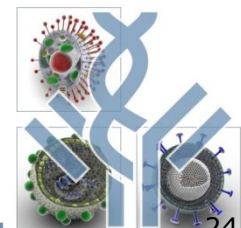
## ЗАО «Биоград»



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](mailto:biograd@biograd.ru)



© ЗАО «Биоград», 2011г.

Биоград 24