

**С.Н. Дробченко**, к.х.н. тел.812-3252170; **Б. Ривец**, проф.; **Ф. Сэмюэльс**, проф.  
 ЗАО «Биоград», Санкт-Петербург, Organics LTD, Израиль, Organics PBS, Франция  
<http://www.biograd.ru>

## БЕСПРИБОРНЫЕ ТЕСТЫ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ВИЧ

**В 2007–2009 годах в рамках Приоритетного национального проекта в сфере здравоохранения для экспресс скрининга на наличие антител к ВИЧ в медицинские учреждения России поставлялись следующие бесприборные тесты для экспресс определения антител к ВИЧ: Ретрочек ВИЧ, ИммуноКомб ВИЧ 1+2 БиС-пот, Детермин ВИЧ-1/2, и ИХА-ВИЧ 1,2 -Фактор. Эти тесты могут проводиться в лабораториях, клиниках, машинах медицинских служб, кабинетах врачей и т.п.**

В данной статье проанализированы результаты Российских государственных испытаний указанных выше тестов и приведены данные ВОЗ. Исходя из приведенных данных по чувствительности, специфичности тестов и распространённости ВИЧ в России, рассчитана прогностическая ценность положительного результата (PPV) теста.

**МЕТОДЫ:** Тесты Ретрочек, Детермин, Фактор основаны на принципе иммунохроматографии (ИХА). ИХА-тесты выполнены в виде тест-полоски или тест-кассеты. Принцип действия ИХА-теста состоит в том, что физиологическая жидкость, нанесенная на тест-полоску или тест-кассету начинает мигрировать вдоль полоски по принципу тонкослойной хроматографии. Подвижной фазой в данном случае является физиологическая жидкость. Анализируемый образец сыворотки (плазмы) или цельной крови всасывается поглощающим участком тест-кассеты.

Для проведения анализа на ИХА-тестах вносится 1–2 капли (примерно 25–50 мкл) сыворотки или плазмы в область образца тестовой кассеты, далее добавляется 1 капля буфера (примерно 40 мкл) и через 10–20 минут получается результат. Наличие видимых линий в тестовой и контрольной позициях означает положительный результат, появление только контрольной линии свидетельствует об отрицательном образце, отсутствие контрольной линии указывает на недействительность теста. Не допускается считывание результата после 20 минут, так как окраска линий не стабильна. К преимуществам данных тестов относится получение результата в течение 10–20 минут, возможность использования без дополнительного оборудования, хранение при комнатных условиях. Однако иммунохроматографические тест-полоски не лишены недостатков. Касается это надежности, чувствительности и экономичности тестов. Чувствительность и специфичность ИХА-тестов не достигает показателей иммуноферментного анализа. Надежность и чувствительность зависит, во-первых, от качества используемых в тесте реагентов и, во-вторых, от концентрации антигена в биоматериале. Качество используемых реагентов зависит от способов их получения, очистки и фиксации на полоске. Концентрация антигена – от стадии заболевания и количества биоматериала.

Отличительной особенностью тестов ИммуноКомб является проведение полноценного иммуноферментного анализа (ИФА) без использования оборудования. Тес-

ты ИммуноКомб выполнены в оригинальном формате ИммуноГребней. Такой формат, с твердой фазой ИФА анализа, расположенной на выступах-зубцах полимерного Гребня, позволяет переносить твердую фазу между растворами реагентов, необходимых для проведения ИФА. Все необходимые реагенты: разбавитель образца, промывочные растворы, конъюгат, помещены производителем в лунки планшеты – Проявочной Ванны. В отличие от классического ИФА, где в лунки планшеты, содержащей твердую фазу анализа, последовательно заливаются необходимые реагенты, перенос твердой фазы между лунками планшеты, содержащей готовые растворы, значительно проще осуществлять вручную, без использования дорогостоящего оборудования, при этом процесс промывки от неспецифических взаимодействий и образование комплекса на твердой фазе обеспечивает более высокую специфичность и чувствительность. Это позволило фирме Орженикс создать тест, воспроизводящий классический ИФА без использования оборудования за меньшее время (36 минут) и с возможностью индивидуального анализа. Для обеспечения высокой чувствительности тестов ИммуноКомб подобрана реакция связывания с использованием фосфатазно-щелочного конъюгата. Французское агентство по контролю за медикаментами (ADA), оценивая тесты, разрешенные для использования в клиниках Европы, подчеркивает, что использование фосфатазно-щелочного конъюгата позволяет достичь наиболее высокой чувствительности по сравнению с тестами, основанными на пероксидазной реакции. Результаты анализа проявляются в виде серо-голубых точек на зубцах Гребня, при этом окраска формируется на твердой фазе и стабильна после остановки реакции, что позволяет документировать результаты анализа. В тесте предусмотрен также внутренний контроль (третья точка), подтверждающий достоверность проведенного анализа и сохранность реагентов во время транспортировки и хранения.

Для проведения анализа образец (сыворотка или плазма крови) в количестве 50 мкл вносится в ячейки первого ряда Проявочной Ванны. Анализ проводится переносом Гребня из одного ряда Проявочной Ванны в другой с инкубацией на каждом шаге. Результаты анализа проявляются через 36 минут в виде окрашенных точек на зубце. Появление только верхней точки (внутренний контроль) указывает на то, что исследуемый образец не содержит антител к ВИЧ-1 и ВИЧ-2.

Появление на зубце вместе с верхней средней точкой указывает на присутствие в образце антител к ВИЧ2. Круглая окрашенная нижняя точка указывает на присутствие в образце антител к ВИЧ1.

Технология ИммуноКомб специально разрабатывалась для выявления антител на ранних стадиях сероконверсии. При синтезе и нанесении антигенов на твердую фазу (зубцы Гребня) были учтены особенности первых антител, которые отличаются от антител, образующихся на более поздних стадиях иммунного ответа (различные изотипы синтезированных антител, различная аффинность и авидность, направленность на различные эпитопы антигенов).

Тесты ИммуноКомб сочетают достоинства ИФА – высокую чувствительность (100%) и специфичность (99,7%), с достоинствами ИХА – простотой и быстротой постановки анализа, возможностью индивидуального тестирования.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ:** Российские государственные испытания [1] показали, что ИФА тест ИммуноКомб II ВИЧ 1+2 БиСпот выявляет антитела к ВИЧ во всех образцах сероконверсионной панели ВВИ HIV 9017, начиная с 6-го, ИХА тесты Детермин ВИЧ 1/2, Serodia ВИЧ 1/2, Genie ВИЧ 1/2 – с 10-го образца, ИХА тест Ретрочек ВИЧ – с 9-го образца, тесты ИХА-ВИЧ 1,2 -Фактор в испытаниях не участвовали. По данным BioClinical Partners (США) [2] – производителя сероконверсионной панели ВВИ HIV 9017, ИФА тест-системы производства Abbot и Roche выявляют антитела к ВИЧ с 7-го образца данной панели, производства Organon – с 9-го образца.

В соответствии с данными [2] о дате забора образцов данной сероконверсионной панели, ИФА тест ИммуноКомб II ВИЧ 1+2 БиСпот выявляет антитела к ВИЧ на 11-15 дней раньше чем экспресс-тесты, основанные на принципе иммунохроматографии, и на 4-11 дней опережает планшетные ИФА тест-системы известных зарубежных производителей.

Таким образом применение тестов ИммуноКомб II ВИЧ 1+2 БиСпот для экспресс – скрининга на ВИЧ обеспечивает сокращение периода окна, что особенно важно при обследовании доноров и профилактике вертикальной передачи ВИЧ от матери к ребенку.

Испытания, проведенные ВОЗ [3] на сероконверсионных панелях показали, что тест ИммуноКомб II ВИЧ 1+2 БиСпот выявляет антитела к ВИЧ-1 на 8,5 дней раньше референс-теста Enzygnost Anti-HIV 1/2 Plus. Тесты Детермин и Ретрочек выявляли антитела позже референс теста. Данные по испытаниям ВОЗ тест-систем ИХА-ВИЧ 1,2 -Фактор отсутствуют. По результатам испытаний ВОЗ, чувствительность тестов ИммуноКомб, Детермин, Ретрочек составляет 100%, специфичность тестов ИммуноКомб II ВИЧ 1+2 БиСпот (99,7%) превосходит специфичность тестов Детермин ВИЧ (99,4%) в два раза, специфичность тестов Ретрочек ВИЧ (99,1%) в три раза (количество ложноположительных результатов 0,3%, 0,6% и 0,9% соответственно).

В таблице представлены значения PPV (прогностическая ценность положительного результата), рассчитанные в зависимости от распространенности ВИЧ-инфекции.

**Таблица: PPV экспресс-тестов при различной распространенности ВИЧ**

Распространенность ВИЧ	Прогностическая ценность положительного результата (PPV)		
	ИФА ИммуноКомб II ВИЧ 1+2 БиСпот	ИХА Детермин ВИЧ-1/2	ИХА Ретрочек ВИЧ
0,01% – данные ВОЗ	3,23%	1,64%	1,1
0,10%	25,02%	14,30%	10,01
0,30% – средняя по РФ	50,08%	33,40%	25,06
1,00%	77,10%	62,74%	53,5
6,00% – данные ВОЗ	95,51%	91,41%	87,64

Для значений распространенности 0,01% и 6,00% в таблице приведены данные PPV, указанные в отчетах ВОЗ [3]. Для остальных значений распространенности PPV рассчитаны по формуле, используемой ВОЗ.

При среднем по России уровне распространенности ВИЧ (0,30%) прогностическая ценность положительного результата у тестов ИммуноКомб II ВИЧ 1+2 БиСпот составляет 50%, у тестов Детермин ВИЧ 1/2 – 33%, у тестов Ретрочек ВИЧ – 25%. Это означает что количество подтверждающих тестов, необходимых при работе с тест-системами ИммуноКомб II ВИЧ 1+2 БиСпот будет в полтора раза меньше, чем при работе с тест-системами Детермин ВИЧ 1/2 и в два раза меньше, чем при работе с тестами Ретрочек ВИЧ.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ:** Применение тестов ИммуноКомб II ВИЧ 1+2 БиСпот для экспресс скрининга на ВИЧ обеспечивает сокращение периода окна, минимизацию ложноположительных результатов, которые особенно нежелательны при назначении химиопрофилактики при родах и в период новорожденности.

Минздравсоцразвития рекомендует тесты ИммуноКомб для обследования доноров крови, органов и тканей человека, скрининговых исследований; для подтверждения результатов скрининговых исследований (приказ № 292 от 30.07.2001, № 322 от 21.10.2002, № 336 от 07.09.2000). Как достоверные, высокочувствительные и специфичные тесты ИммуноКомб, сертифицированы CE, отобраны для программ ВОЗ, UNAIDS, Красного Креста

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

1. Отчет о сравнительных испытаниях диагностических тест-систем для выявления антител к ВИЧ, разрешенных к применению в РФ, МЗРФ 22.03.04, таблица 24.
2. BioClinical Partners Inc., Franklin, MA, 02038, USA Seroconversion Panel Catalog no. HIV 9017.
3. World Health Organization. HIV Assays: Operational Characteristics Report 16 / Simple/Rapid tests; Geneva: WHO, 2009, Annex 2, p.38.