

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИММУНОЭНЗИМНОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ПОВЫШЕННОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ

Т. Ю. Трохимчук¹

В. Г. Сердюк¹

Л. А. Ганова²

Ю. И. Горлов¹

С. В. Михалач¹

Н. Я. Спивак²

¹Частное акционерное общество
«Научно-производственная компания Диапроф-Мед», Киев
Украина

²Институт микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного
НАН Украины, Киев

E-mail: T.Trochimchuk@rambler.ru

Получено 24.12.2013

Проблема ранней диагностики вируса иммунодефицита человека остается актуальной и может быть решена путем внедрения в лабораторную практику высокочувствительных диагностических иммуноэнзимных тест-систем 4-го поколения. Преимуществом этого комбинированного анализа является возможность одновременного определения в сыворотке крови антигена р24 ВИЧ-1 и суммарных ВИЧ-специфических антител (IgG, IgM, IgA), что позволяет выявлять инфекцию на ранних этапах развития.

В ЧАО «НПК Диапроф-Мед» разработана модифицированная версия тест-системы 4-го поколения DIA-HIV-Ag/Ab повышенной чувствительности, в которой использована смесь синтетических аналогов вирусных антигенов в составе иммуноэнзимных конъюгатов на двух этапах реакции. Значительное усиление специфического сигнала достигается введением в систему стрептавидина, конъюгированного с полимерной формой пероксидазы хрена. Аналитическая чувствительность тест-системы по выявлению 1-го Международного стандарта WHO HIV р24 (NIBSC) составила 0,78 МЕ/мл. Способность тест-системы выявлять раннюю ВИЧ-инфекцию, исследованная на 9 сероконверсионных панелях сывороток (7 — производства ZeptoMetrix Corp. и 2 — SeraCare Life Sciences, США), сопоставима с ее аналогами ведущих фирм-производителей тест-систем. Диагностические характеристики тест-системы проверены на стандартных панелях, включающих разведенные сыворотки крови ВИЧ-инфицированных, и неразведенных сыворотках с антителами к ВИЧ-1 (1 869 образцов) и ВИЧ-2 (41 образец). В этих исследованиях тест-система позволяла выявить ВИЧ с большим соотношением ОП/ГЗ по сравнению с аналогичными коммерческими тест-системами 4-го поколения.

Диагностическая специфичность тест-системы DIA-HIV-Ag/Ab по результатам, полученным при исследовании крови доноров из различных учреждений службы крови Украины (93 788 исследований), составила 99,95%.

Ключевые слова: иммуноэнзимная тест-система для выявления ВИЧ-инфекции 4-го поколения, диагностическая чувствительность и специфичность.

ВИЧ-инфекция представляет серьезную угрозу для человечества. Число новых случаев заболевания ВИЧ/СПИДом продолжает увеличиваться. По данным ООН, в настоящее время в мире насчитывается около 40 млн. человек инфицированных, из них 17,6 млн. женщин и 2 млн. детей в возрасте до 15 лет [1]. Умерло от СПИДа более 25 млн. человек [2].

В связи с этим своевременное выявление ВИЧ-инфекции, внедрение новых и усовершенствование существующих методов диагностики остается основным направле-

нием при проведении мероприятий по снижению распространения данного заболевания [3].

Характерные маркеры ВИЧ-инфекции появляются в крови в такой последовательности: вирусная РНК, антиген р24, антитела к ВИЧ-специфическим антигенам. Комбинированные иммуноэнзимные тест-системы 4-го поколения предназначены для одновременного выявления в исследуемой сыворотке крови антигена р24 ВИЧ-1 и вирус-специфических антител. По сравнению с тест-сис-

темами третьего поколения такие диагностикумы выявляют ВИЧ раньше, на этапе, когда специфические антитела в организме инфицированного еще отсутствуют (период «сероконверсионного окна»). Конструкция тест-системы позволяет также определять ВИЧ на поздних стадиях развития заболевания, когда уровень антител к антигену p24 ВИЧ-1 резко снижается и этот антиген вновь начинает персистировать в организме. В то же время способность тест-систем 4-го поколения определять суммарные антитела к ВИЧ-1 и ВИЧ-2 (ВИЧ 1/2) обуславливает их большую диагностическую возможность по выявлению ВИЧ в сравнении с тест-системами, которые определяют только антиген p24 ВИЧ-1 [4, 5].

Разработанная тест-система 4-го поколения DIA-HIV-Ag/Ab повышенной чувствительности сконструирована в «сэндвич»-варианте с двухэтапной постановкой реакции и амплификацией специфического сигнала при взаимодействии биотина со стрептавидином. Существенное увеличение чувствительности анализа достигнуто применением в составе конъюгатов, выявляющих иммунные комплексы, смеси коротких рекомбинантных и синтетических антигенов — аналогов наиболее иммуногенных участков вируса.

Исследованы качественные характеристики и диагностические возможности данной тест-системы с использованием коммерческих панелей сывороток, образцов сывороток или плазмы крови больных с подтвержденным диагнозом ВИЧ/СПИД и доноров, проходящих обследование в учреждениях службы крови.

Материалы и методы

Иммуноэнзимный анализ (ИЭА)

В составе иммуносорбента тест-системы DIA-HIV-Ag/Ab использовали рекомбинантные протеины ВИЧ 1/2 и моноклональные антитела (МКАТ) к p24 ВИЧ-1. При постановке ИЭА в лунки планшета вносили по 30 мкл конъюгата № 1, состоящего из смеси биотинилированных мышинных МКАТ к p24 ВИЧ-1, рекомбинантных протеинов и синтетических антигенов — аналогов иммунодоминантных участков ВИЧ 1/2. Далее в каждую лунку добавляли по 70 мкл исследуемой сыворотки или плазмы крови человека. После инкубирования иммуносорбента при 37 °С в течение 1 ч его промывали фосфатно-солевым буфером с детергентом и вносили по 100 мкл конъюгата № 2, в состав которого входят стрептавидин, конъюгиро-

ванный с полимерной формой пероксидазы хрена, и конъюгаты вирус-специфических антигенов с пероксидазой. Планшет инкубировали в течение 30 мин при 18–25 °С, затем проводили процедуру промывки (указанным выше буфером). После добавления проявителя (ТМБ — 3,3',5,5'-тетраметилбензидин в растворе, содержащем пероксид водорода) планшет выдерживали при 18–25 °С в течение 30 мин в темноте и останавливали реакцию стоп-реагентом (раствор 0,5 М серной кислоты). Учет результатов проводили на спектрофотометре в двухволновом режиме при 450/620 нм. Граничное значение (ГЗ) рассчитывали по среднему арифметическому оптической плотности (ОП) отрицательного контроля в трех повторениях, который суммировали с поправочным коэффициентом 0,1 : ГЗ = К-ср.+0,1 (согласно инструкции по использованию тест-системы). Результат анализа ИЭА считали положительным, если величина ОП исследуемого образца больше ГЗ, и отрицательным, если она меньше ГЗ. Согласно инструкции к тест-системе значение ОП отрицательного контроля должно быть не более 0,2. Если его величина больше, то данный образец не учитывается при подсчете среднего арифметического значения повторов отрицательного контроля. В наших исследованиях величина ОП отрицательных контролей составляла 0,030–0,040 оптических единиц.

В сравнительных исследованиях тест-систем разного производства результат анализа по каждой тестируемой сыворотке выражали соотношением ОП/ГЗ, где ОП — оптическая плотность, полученная при анализе исследуемого образца, ГЗ — граничное значение, которое рассчитывали в соответствии с инструкцией, прилагаемой к используемой тест-системе. Подобный учет результата анализа позволяет проводить сравнительные исследования качественных характеристик тест-систем разного производства, в которых формула вычисления ГЗ и его величина определяются изготовителем тест-системы. При соотношении ОП/ГЗ больше 1,0 результат анализа положительный, меньше 1,0 — отрицательный. Величина ГЗ в этом случае соответствует 1,0 для всех тест-систем и не зависит от формулы его подсчета и величины, установленной фирмой-изготовителем. Чем больше соотношение ОП/ГЗ, тем выше параметр чувствительности тест-системы.

Тест-системы сравнения

ВИЧ 1,2 АГ/АТ МБА (МБА, Россия), ДС-ИФА-ВИЧ АГАТ СКРИН («Диагностические тест-системы», Россия), Genscreen

HIV1/2 Version 2 Genscreen ULTRA HIVAg-Ab (BioRad, США).

Панели, стандарты, образцы сывороток крови

Аналитическую чувствительность тест-системы по антигену р24 ВИЧ-1 определяли с использованием 1-го Международного стандарта WHO HIV p24 (NIBSC code 90/636).

Способность тест-системы к диагностике ранней ВИЧ-инфекции исследовали на 9 сероконверсионных панелях сывороток: HIV6240, HIV 6243, HIV6248, HIV9012, HIV9017, HIV12007 (ZeptoMetrix, США) и PRB 965, PRB 966 (SeraCare Life Sciences, США).

Параметр чувствительности тест-системы определяли при тестировании 73 сывороток крови, из которых 32 образца с антителами к ВИЧ-1 и 41 — к ВИЧ-2 (коллекция Института Пауля-Эрлиха, Германия), 1 837 сывороток крови от больных ВИЧ-1 из Института эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л. В. Громашевского НАМН Украины.

Сравнительные исследования уровня чувствительности тест-системы DIA-HIV-Ag/Ab и ее коммерческих аналогов проведены с использованием стандартной панели сывороток крови «СПП-ВІЛ 1/2» (ЧАО «НПК Диапроф-Мед»), включающей 20 разведенных сывороток крови от ВИЧ-инфицированных, из которых 18 образцов с антителами к ВИЧ-1 и 2 — к ВИЧ-2.

Уровень специфичности тест-системы DIA-HIV-Ag/Ab исследовали с использованием стандартных панелей отрицательных сывороток «СПН-ВІЛ 1/2» (ЧАО «НПК Диапроф-Мед», Украина) из 12 и «Стандарт АТ(-) ВИЧ МБА» (ООО «МедБиоАльянс», Россия) из 20 образцов.

Диагностическую специфичность тест-системы DIA-HIV-Ag/Ab устанавливали по

результатам исследования сывороток крови доноров из различных учреждений службы крови Украины (93 788 исследований), используя формулу:

$$\text{Специфичность} = \frac{O}{O+ЛП} \times 100\%,$$

где O — количество отрицательных результатов ИЭА;

ЛП — количество ложноположительных результатов ИЭА.

Статистическая обработка результатов исследований.

Каждый образец сыворотки исследовали в трех повторениях, вычисляли его среднее значение и стандартную ошибку. Достоверность различий результатов, полученных при тестировании сыворотки в дублях, определяли по *t*-критерию Стьюдента для 95% -го уровня значимости [6].

Результаты и обсуждение

Исследование способности тест-системы DIA-HIV-Ag/Ab выявлять антиген р24 ВИЧ-1 проводили с использованием 1-го Международного стандарта WHO HIV p24 (NIBSC), последовательно разведенного 1:2 согласно прилагаемой инструкции, отрицательной сывороткой от 25 до 0,04 МЕ/мл. По результатам тестирования данных образцов в трех повторениях (табл. 1) в разных сериях тест-системы ее порог чувствительности по антигену р24 ВИЧ-1 составил 0,78 МЕ/мл ($P < 0,05$), различия между тремя сериями тест-системы не были установлены ($P < 0,05$).

Способность тест-системы DIA-HIV-Ag/Ab выявлять раннюю стадию ВИЧ-инфекции

Таблица 1. Аналитическая чувствительность тест-системы DIA-HIV-Ag/Ab по выявлению антигена р24 ВИЧ-1

Концентрация р24 ВИЧ-1 (NIBSC), МЕ/мл	Результаты ИЭА трех серий тест-системы DIA-HIV-Ag/Ab (ОП/ГЗ)*		
	1	2	3
25,00	18,64±0,50	18,21±0,49	18,42±0,50
12,50	10,64±0,32	10,90±0,32	10,77±0,32
6,25	6,03±0,18	6,15±0,02	6,09±0,18
3,25	3,35±0,10	3,21±0,09	3,28±0,09
1,56	1,88±0,05	1,82±0,5	1,85±0,05
0,78	1,07±0,03	1,29±0,04	1,18±0,03
0,39	0,64±0,02	0,64±0,02	0,64±0,02
Отрицательная сыворотка для разведения стандарта	0,24±0,01	0,25±0,01	0,25±0,01

Примечание. Здесь и в табл. 4 * — при соотношении ОП/ГЗ больше 1,0 результат анализа положительный, меньше 1,0 — отрицательный.

определяли с использованием 9 сероконверсионных панелей сывороток крови (7 панелей производства ZeptoMetrix и 2 панели — SeraCare Life Sciences). Каждая панель сывороток крови состояла из образцов от ВИЧ-инфицированного пациента, отобранных в различные сроки и исследованных в коммерческих иммуноэнзимных тест-системах и иммуноблоте. В табл. 2 представлены результаты тестирования панелей сывороток производства ZeptoMetrix в тест-системе DIA-HIV-Ag/Ab по сравнению с коммерческим аналогом 4-го поколения, тест-системой для выявления антигена р24 ВИЧ-1 и иммуноблотом. Результаты тестирования сывороток в коммерческих тест-системах приведены из паспортных данных на панели.

Согласно паспортным данным на панель HIV 6240, образцы №№ 7–13 (21–45 сут от первой донации крови) содержат антиген

р24 ВИЧ-1, иммуноблот определяет антитела к ВИЧ только с 10-го образца. Тест-система DIA-HIV-Ag/Ab и ее коммерческий аналог HIV Ag/Ab Combo Abbott ARCHИТЕКТ дают возможность выявлять ВИЧ начиная с 8-го образца (23 сут от первого забора крови у пациента).

При тестировании панелей HIV 6243, HIV 6248, HIV 9017, HIV 12007 тест-системы 4-го поколения позволяют определять все сыворотки как положительные, начиная с первого образца, в котором обнаружен антиген р24 ВИЧ-1.

В табл. 3 представлены результаты исследования двух сероконверсионных панелей сывороток крови производства SeraCare Life Sciences в тест-системе DIA-HIV-Ag/Ab по сравнению с другими диагностикумами. Результаты тестирования сывороток в коммерческих тест-системах приведены из паспортных данных на панели.

Таблица 2. Тестирование панелей сывороток производства ZeptoMetrix в тест-системе DIA-HIV-Ag/Ab по сравнению с коммерческими диагностикумами

№ образцов панелей	Срок забора крови (дни)	Тест-системы			
		Genetic Sitems HIV-1 Ag EIA*	HIV Ag/Ab Combo Abbott ARCHИТЕКТ*	DIA-HIV Ag/Ab	Иммуноблот*
		Результат анализа			
Всего 13:		Панель HIV6240			
1–6	0–16	–	–	–	–
7	21	+	–	–	–
8–9	23–28	+	+	+	–
10–12	30–45	+	+	+	± gp41
13	53	–	+	+	p24, p17, gp120, gp160
Всего 10:		Панель HIV 6243			
1–6	0–20	–	–	–	–
7–8	25–28	+	+	+	–
9–10	33–35	+	+	+	± gp41
Всего 7:		Панель HIV 6248			
1–5	0–14	–	–	–	–
6–7	18–25	+	+	+	–
Всего 11:		Панель HIV 9018			
1–7	0–21	–	–	–	–
8	25	+	–	–	–
9–10	28–32	+	+	+	–
11	35	+	+	+	± gp41
Всего 9:		Панель HIV 9017			
1–3	0–54	–	–	–	–
4–5	117–119	+	+	+	–
6–9	124–133	+	+	+	+ gp41, p24/p26
Всего 5:		Панель HIV 12007			
1–3	0–54	–	–	–	–
4–5	117–119	+	+	+	–

Примечание. Здесь и далее * — результат анализа приведен из паспортных данных на панели.

Таблица 3. Панели сывороток производства SeraCare Life Sciences в тест-системе DIA-HIV-Ag/Ab по сравнению с коммерческими диагностикумами

№ образцов панелей	Срок забора крови (дни)	Тест-системы			
		Genetic Sitems HIV-1 Ag EIA*	HIV Ag/Ab Combo Abbott ARCHИТЕСТ*	DIA-HIV Ag/Ab	Иммуноблот*
Результат анализа					
Всего 6:		Панель PRB-965			
1	0	-	-	-	-
2-3	5-7	+	+	+	-
4-5	12-14	+	+	+	± gp160
6	21	-	+	+	± gp160
Всего 10:		Панель PRB-966			
1-7	0-37	-	-	-	-
8-10	44-51	+	+	+	-

В соответствии с полученными данными тест-система DIA-HIV-Ag/Ab и ее коммерческий аналог 4-го поколения HIV Ag/Ab Combo Abbott ARCHИТЕСТ позволяют выявлять ВИЧ в те же сроки, что и тест-система, предназначенная для определения антигена р24 ВИЧ-1, и раньше, чем иммуноблот.

Способность тест-системы DIA-HIV-Ag/Ab к определению антител к ВИЧ-1 и ВИЧ-2 по сравнению с коммерческими диагностикумами 4-го и 3-го поколений была изучена с использованием стандартной панели сывороток «СПП-ВІЛ 1/2» (табл. 4).

Согласно полученным данным, с помощью разработанной тест-системы все сыворотки панели «СПП-ВІЛ 1/2» были определены как положительные, также как и в тест-системах сравнения, но с большим соотношением ОП/ГЗ ($P < 0,05$). Исключением были тест-системы производства Genscreen: тест-система 3-го поколения Genscreen HIV1/2 Version 2 дала возможность определить ВИЧ-2 (образцы №№ 19 и 20) со значением ОП, близким к граничному, тест-система 4-го поколения Genscreen ULTRA HIVAg-Ab не позволила выявить в этих образцах специфические антитела.

Таблица 4. Тестирование панели сывороток «СПП-ВІЛ 1/2» в тест-системе DIA-HIV-Ag/Ab и коммерческих диагностикумах

№ сыворотки	Результаты ИЭА (ОП/ГЗ)*				
	Тест-системы				
	ВИЧ 1,2 АГ/АТ МБА	ДС-ВИЧ- АГАТ-СКРИН	Genscreen HIV1/2 Version 2	Genscreen ULTRA HIVAg-Ab	DIA-HIV-Ag/Ab
1	14,8±0,44	17,3±0,51	21,1±0,63	11,1±0,33	25,1±0,75
2	7,4±0,22	17,6±0,52	21,0±0,63	11,2±0,33	22,0±0,66
3	5,4±0,16	17,3±0,51	21,1±0,63	11,2±0,33	24,7±0,74
4	9,2±0,27	17,4±0,52	21,0±0,63	11,1±0,33	23,9±0,71
5	3,1±0,09	4,8±0,14	21,2±0,63	11,6±0,34	22,8±0,68
6	15,1±0,45	6,1±0,18	18,7±0,56	10,0±0,30	22,5±0,67
7	15,6±0,46	7,7±0,23	20,3±0,60	10,6±0,31	22,8±0,68
8	9,7±0,29	13,4±0,40	23,0±0,69	11,4±0,34	22,2±0,66
9	10,2±0,30	16,8±0,50	21,3±0,63	11,6±0,34	23,4±0,70
10	14,3±0,42	17,6±0,52	22,3±0,66	11,2±0,33	22,9±0,68
11	3,2±0,09	16,3±0,48	21,2±0,63	11,2±0,33	23,3±0,69
12	11,1±0,33	17,1±0,51	20,6±0,61	11,2±0,33	25,6±0,76
13	9,9±0,29	17,1±0,51	20,5±0,61	11,5±0,33	23,2±0,69
14	10,8±0,32	18,7±0,56	19,1±0,57	10,2±0,30	23,8±0,71
15	15,1±0,45	5,7±0,17	21,2±0,63	10,9±0,32	23,4±0,70
16	13,7±0,41	9,2±0,27	21,8±0,65	11,4±0,34	24,6±0,73
17	15,9±0,47	11,3±0,33	20,7±0,62	10,4±0,31	23,7±0,71
18	8,9±0,26	16,1±0,48	19,9±0,59	10,6±0,31	22,9±0,68
19	3,9±0,11	17,0±0,51	1,1±0,33	0,5±0,01	22,1±0,66
20	4,3±0,12	15,6±0,46	1,0±0,30	0,4±0,01	21,2±0,63

При большой концентрации специфических антител в сыворотке крови существует вероятность получения ложноотрицательных результатов (так называемый хук-эффект). Способность тест-системы DIA-HIV-Ag/Ab выявлять ВИЧ в таких сыворотках была проверена на неразведенных сыворотках больных с высокими титрами антител к ВИЧ-1 (1869 образцов) и ВИЧ-2 (41 образец). Данные сыворотки были получены из коллекции Института Пауля-Эрлиха (Германия) и Института эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л. В. Громашевского НАМН Украины (Киев). В этих исследованиях все образцы были определены в разработанной тест-системе как положительные (данные не представлены).

Уровень специфичности тест-системы DIA-HIV-Ag/Ab устанавливали с использованием стандартных панелей отрицательных сывороток: «СПН-ВІЛ1/2» (ЧАОНПК «Диапроф-Мед», Украина) из 12 образцов и «Стандарт АТ(-) ВИЧ МБА» (ООО «МедБиоАльянс», Россия) из 20 образцов. При тестировании этих панелей в тест-системе DIA-HIV-Ag/Ab ложноположительных результатов не наблюдали.

Диагностическую специфичность тест-системы DIA-HIV-Ag/Ab оценивали по результатам тестирования 93 788 сывороток крови доноров из различных учреждений

службы крови Украины. Из них 119 образцов определены в данной тест-системе ВИЧ-положительными и 93 669 сывороток — отрицательными. В Центре СПИДа (Киев) при проверке положительных сывороток в тест-системах Genscreen PLUS HIVAg-Ab (BioRad, США) 4-го поколения, HIV EIA (Ani Labsystems Ltd., Финляндия) 2-го поколения, ДС-ИФА-ВИЧ-АГ-СКРИН («Диагностические системы», Россия) и иммуноблоте New Lav Blot I (BioRad, США) 73 сыворотки подтверждены как ВИЧ-положительные, 46 образцов — ложноположительные в тест-системе DIA-HIV-Ag/Ab. Согласно полученным данным по общепринятой формуле, указанной в разделе «Материалы и методы», диагностическая специфичность тест-системы DIA-HIV-Ag/Ab составляет 99,95%, что соответствует требованиям для тест-систем, предназначенных для диагностики ВИЧ и имеющих CE-маркировку.

Таким образом, проведенные исследования продемонстрировали высокое качество разработанной тест-системы DIA-HIV-Ag/Ab и соответствие ее диагностических характеристик современным требованиям для ИЭА-диагностикумов, применяемых в службе крови, что позволит повысить безопасность донорской крови и снизит риск парентерального заражения ВИЧ.

REFERENCES

1. Global UNAIDS report on the AIDS epidemic 2013: Geneva, World Health Organisation. 2013, 106 p. Available at: <http://www.unaids.org>.
2. The HIV infection. *Informacionnyj bjulleten. 2012, № 36. Moscow: Federal'nyj nauchno-metodicheskij centr po profilaktike i bor'be so SPIDom.* Available at: <http://www.hivrussia.org>.
3. Mazus A. I., Kaminsky G. D., Zimia V. M., Bessarab T. P., Pronin A. U., Tsiganova E. V., Golokhvastova E. L., Olshansky A. J., Carenko S. P., Shimonova T. E., Petrosyan T. P., Serebrjakov E. M., Ivanova T. V., Orlova-Morozova E. A. National clinical guidelines for the diagnosis and treatment of HIV infection in adults. *Moscow: «Centr po profilaktike i bor'by so SPIDom i infekcionnym zabojevanijam».* 2013, 9 p. (In Russian).
4. The HIV infection in Ukraine. *Informacijnij bjulleten. 2012, N. 40, Kyiv: MOZ Ukrainy,* 37 p. (In Ukrainian).
5. Ivanska N. V., Kislyh O. M., Maksimenok J. V., Sergeeva T. A., Raevska G. E., Pilipenko V. G. Practical guide to ELISA analysis. (Ed.) Gural A. L., Spivak M. Ja. *Kyiv: DMP „Polimed”.* 2003, 51p. (In Ukrainian).
6. Lapach S. N., Chubenko A. V., Babich P. N. Statistical methods in biomedical research using Excel. *Kyiv: Morion.* 2001, 407p. (In Russian).

ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ІМУНОЕНЗИМНОЇ ТЕСТ-СИСТЕМИ ПІДВИЩЕНОЇ ЧУТЛИВОСТІ ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ ВІЛ-ІНФЕКЦІЇ

Т. Ю. Трохимчук¹, В. Г. Сердюк¹,
Л. О. Ганова², Ю. І. Горлов¹,
С. В. Михалап¹, М. Я. Співак²

¹Приватне акціонерне товариство «Науко-
во-виробнича компанія Діапроф-Мед»,
Київ, Україна

²Інститут мікробіології та вірусології
ім. Д. К. Заболотного НАН України, Київ

E-mail: T.Trochimchuk@rambler.ru

Проблема ранньої діагностики ВІЛ-інфекції залишається актуальною і може бути вирішена впровадженням у лабораторну практику високочутливих діагностичних імуноензимних тест-систем 4-го покоління. Перевагою цього комбінованого аналізу є можливість одночасного визначення в сироватці крові антигену р24 ВІЛ-1 і сумарних ВІЛ-специфічних антитіл (IgG, IgM, IgA), що дає змогу виявляти інфекцію на ранніх етапах розвитку.

У ПрАТ «НВК Діапроф-Мед» розроблено модифіковану версію тест-системи 4-го покоління DIA-HIV-Ag/Ab підвищеної чутливості, в якій використано суміш синтетичних аналогів вірусних антигенів у складі кон'югатів на двох етапах реакції. Значне посилення специфічного сигналу досягається введенням у систему стрептавідину, кон'югованого з полімерною формою пероксидази хрому. Аналітична чутливість тест-системи щодо виявлення 1-го Міжнародного стандарту WHO HIV р24 (NIBSC) становила 0,78 МО/мл. Здатність тест-системи виявляти ранню ВІЛ-інфекцію, досліджена на 9 сероконверсійних панелях сироваток (7 — виробництва ZeptoMetrix Corp. та 2 — SeraCare Life Sciences, США), є подібною до її аналогів провідних фірм-виробників тест-систем. Діагностичні можливості тест-системи перевірено на стандартних панелях, що включають розведені сироватки крові ВІЛ-інфікованих, і на не розведених сироватках з антитілами до ВІЛ-1 (1 869 зразків) та ВІЛ-2 (41 зразок). У цих дослідженнях тест-система давала змогу виявляти ВІЛ з більшим співвідношенням ОГ/ГЗ порівняно з аналогічними комерційними тест-системами 4-го покоління.

Діагностична специфічність тест-системи DIA-HIV-Ag/Ab за результатами, одержаними під час дослідження в різних установах служби крові України (93 788 досліджень), становила 99,95%.

Ключові слова: імуноензимна тест-система для виявлення ВІЛ-інфекції 4-го покоління, діагностична чутливість і специфічність.

DIAGNOSTIC CHARACTERISTICS OF HYPERSENSITIVE IMMUNOENZYME ASSAY KIT TO HIV-INFECTION

T. Yu. Trochimchuk¹, V. G. Serdyuk¹,
L. O. Ganova², Y. I. Gorlov¹,
S. V. Mihalap¹, N. Ya. Spivak²

¹Private Joint Stock Company
«Scientific and Production Company Diaproph-Med»,
Kyiv, Ukraine

²Institute of Microbiology and Virology of the
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

E-mail: T.Trochimchuk@rambler.ru

The problem of early diagnosis of human immunodeficiency virus remains relevant and can be solved by introduction the highly sensitive 4th generation ELISA test kits in the laboratory practice. The advantage of this analysis is simultaneous determination of serum antigen p24 HIV-1 and HIV-specific total antibody (IgG, IgM, IgA), that can detect the infection in the early stages of development.

In Private Joint Stock Company «Scientific and Production Company Diaproph-Med» a modified version of the test kit of the 4th generation DIA-HIV-Ag/Ab hypersensitivity was developed, which uses a mixture of synthetic analogs of viral antigens in the immune-enzyme conjugates at two stages of reaction. Significant amplification of specific signal is achieved by introducing a streptavidin which is conjugated to horseradish peroxidase polymeric form. The analytical sensitivity of the test kit to identify the 1st International Standard WHO HIV p24 (NIBSC) was 0.78 IU/ml. The ability to test kit to detect early HIV infection has been examined for 9 seroconversion panels of sera (7 production ZeptoMetrix Corp. and 2 — SeraCare Life Sciences, USA) and is comparable to its peers, the leading manufacturers of test kits. The diagnostic characteristics of the test kit tested on standard panels, including dilution of serum of HIV- infected people, and not diluted sera with antibodies to HIV-1 (1 869 samples) and HIV-2 (41 sample). In these studies, the test kit detected HIV in a large ratio OD/cut off compared to similar commercial test kits for the 4th generation. The diagnostic specificity of the test kit DIA-HIV-Ag/Ab according to the results obtained in the study of blood donors from various transfusion services in Ukraine (93 788 researches) was 99.95%.

Key words: HIV ELISA test kit of the 4th generation, the diagnostic sensitivity and specificity.