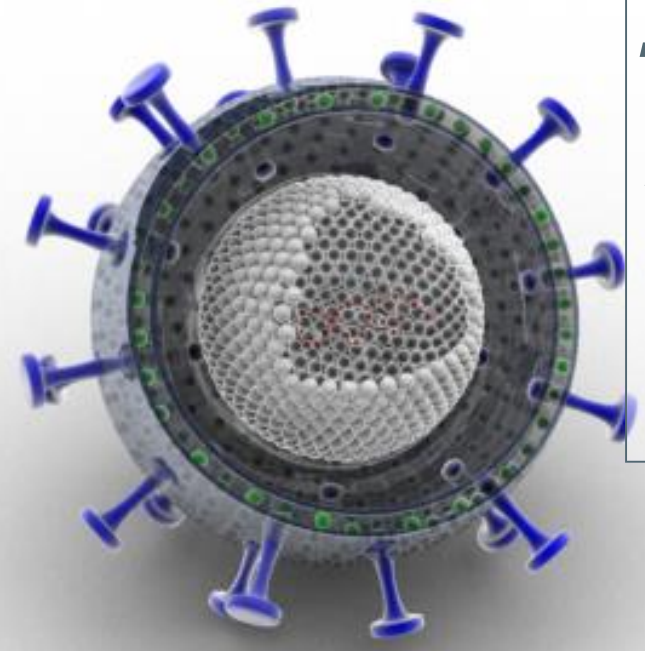
Современные технологии Point-of-Care для диагностики и контроля за ВИЧ-инфекцией по месту лечения



Дробченко Александр Евгеньевич

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

Биоград

POC - point of care, анализ по месту лечения

Биоград

Тесты по месту лечения (ВИЧ): до 2009

Биоград

Скрининг:

- экспресс тесты 2 и 3 поколения

Тесты по месту лечения (ВИЧ): 2016

Биоград

Скрининг:

- экспресс тесты 3 поколения
- экспресс-тесты 4 поколения

Мониторинг:

- исследование на CD4+ лимфоциты

Тесты двух различных производителей преквалифицированы ВОЗ

Тесты по месту лечения (ВИЧ): 2019-2020

Биоград

Скрининг:

- экспресс тесты 3 поколения
- экспресс-тесты 4 поколения

Мониторинг:

- исследование на CD4+ лимфоциты

Мониторинг: определение РНК ВИЧ

- Качественное (подтверждение и анализ у младенцев)
- Количественное (вирусная нагрузка)

Тесты двух различных производителей преквалифицированы ВОЗ

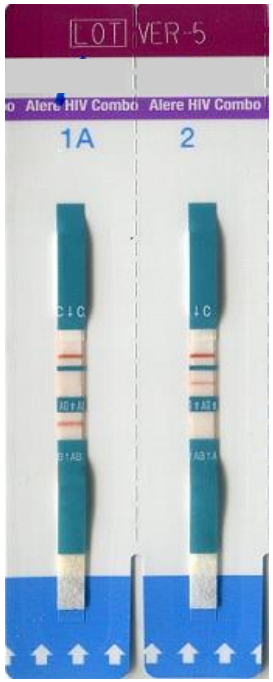
Экспресс тесты на ВИЧ 4-го поколения производства Alere Medical, Япония

Биоград

Alere™ HIV Combo

№ серии
Место для записи пациента

Зона контроля
Зона антигена p24 (Ag)
Зона антител к ВИЧ (Ab)



Alere Determine™ HIV-1/2 Ag/Ab Combo

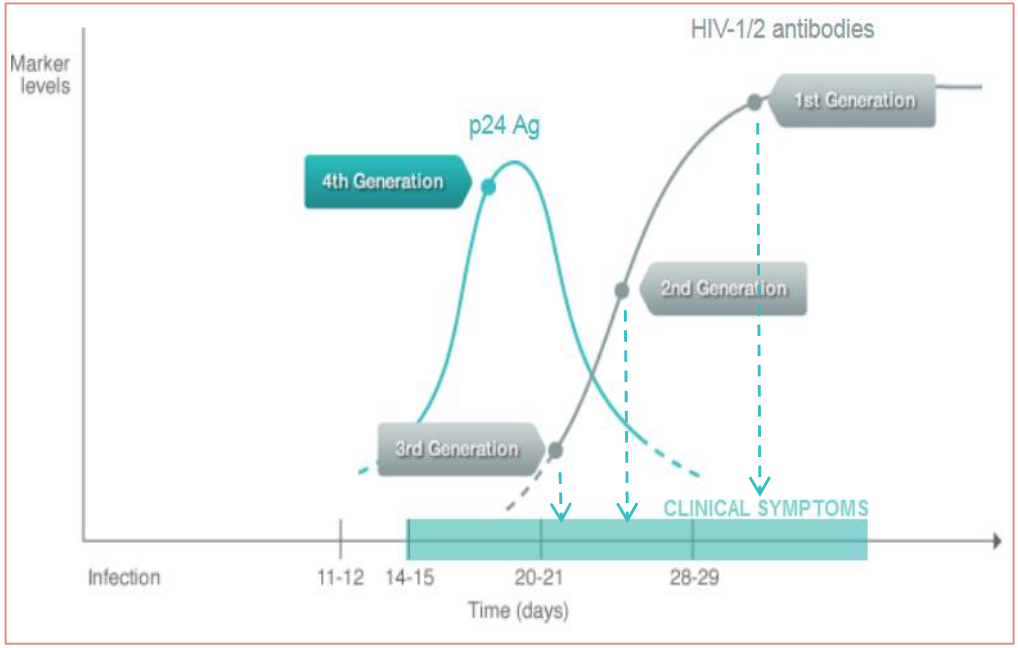
№ серии
Место для записи пациента

Зона контроля
Зона антигена p24 (Ag)
Зона антител к ВИЧ (Ab)

Тесты позволяют одновременно определять антитела к ВИЧ-1 и ВИЧ-2 (нижняя полоса) и антиген p24 ВИЧ-1 (средняя полоса)
Верхняя полоса является внутренним контролем

Как можно выявить ВИЧ?

ВИЧ может быть обнаружен путем обнаружения антител, антигенов, либо генетического материала вируса (РНК и к-ДНК).



Серологические тесты на ВИЧ

1-го поколения

Обнаруживают антитела IgG, с применением лизата вируса

2-го поколения

Обнаруживает антитела IgG к ВИЧ на основе рекомбинантных антигенов

3-го поколения

Обнаруживает IgG и IgM к ВИЧ (сэндвич)

4-го поколения

Обнаруживает антитела IgG и IgM к ВИЧ и антиген ВИЧ-1 p24

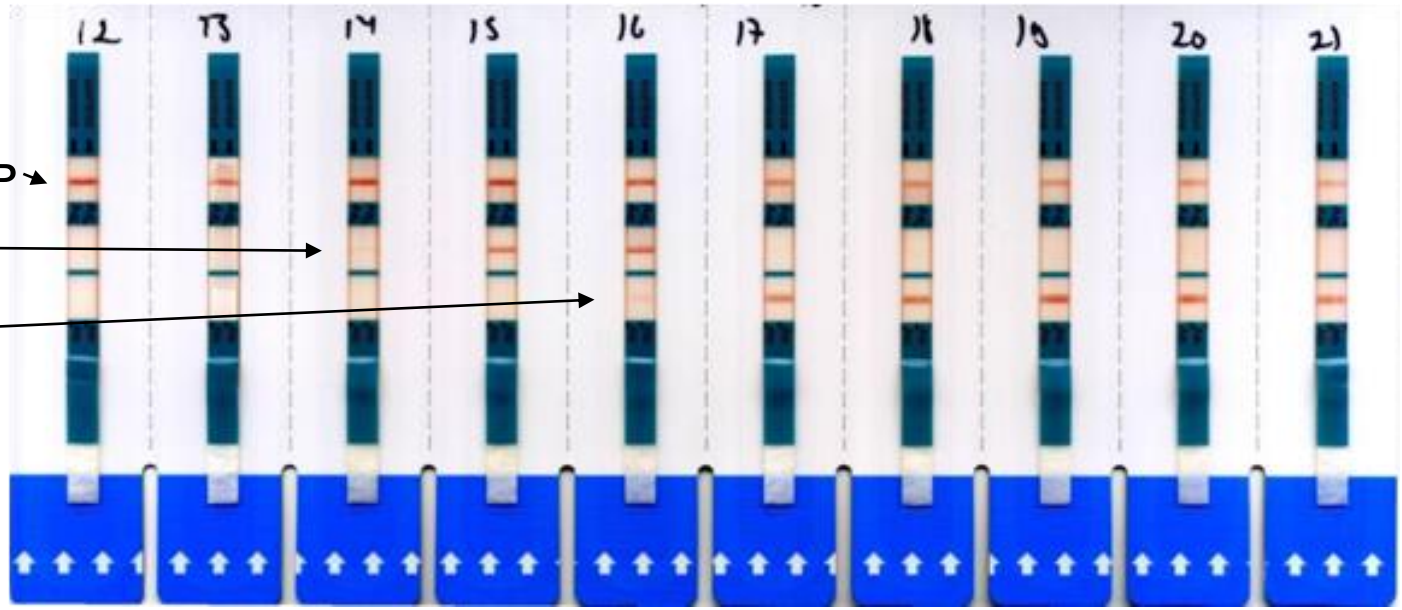
Временная шкала обнаружения

- Во время острой стадии ВИЧ-инфекциим в период до выработки антител («серонегативного окна») наблюдается высокое содержание вируса в крови (высокая вирусная нагрузка). Риск передачи вируса в это время выше, чем после выработки антител и снижения вирусной нагрузки в латентный период ВИЧ-инфекции.

- Тесты 3-его поколения, направленные на выявление антител к ВИЧ не диагностируют эту стадию.
- Тесты 4-го поколения способны выявлять не только антитела, но и антиген ВИЧ р-24, поэтому они могут определять ВИЧ-инфекцию раньше тестов 3 поколения, в том числе во время наибольшей концентрации вируса в крови.

Постановка сероконверсионной панели на экспресс-тесте 4 поколения

Биоград



43 47 50 54 57 61 64 70 72 77

Дней с первого образца панели

Сначала тест определяет наличие антигена p24 (с 14-го образца), при этом полоса антигена является слабой, затем интенсивность полосы антигена растет (15-16 образец) и, начиная с 16 образца, появляется слабая полоса антител. Далее интенсивность полосы антител возрастает, а полоса антигена исчезает (несвязанный с антителами антиген в образце отсутствует).

Alere HIV Combo - Обнаружение ВИЧ на ранних стадиях

Биоград

Зачем обнаруживать раннюю стадию … и быстро?

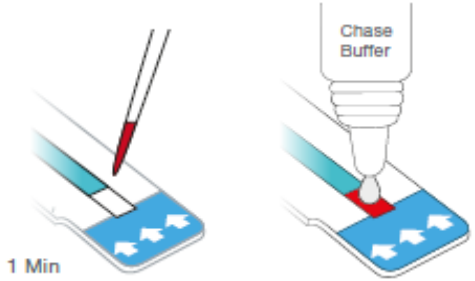
Острая инфекция составляет 5-20% всех случаев ВИЧ-инфекции среди лиц, ищущих тестирование.

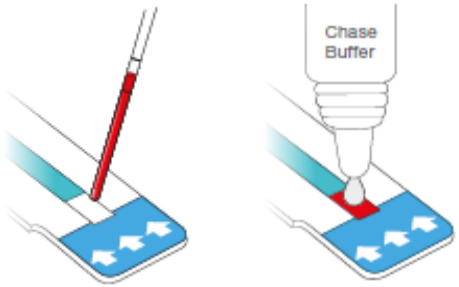
Ранняя идентификация:

- Увеличит выявляемость случаев ВИЧ на ранней стадии
- Содействует более раннему обращению к уходу
- Более раннее назначение терапии (в том числе раньше достигается неопределяемая вирусная нагрузка)
- Уведомление партнера

Ранняя диагностика важна

Alere HIV Combo
Постановка анализа





Цельная кровь из вены:
внесите **50 мкл** крови
на зону образца
через 1 минуту капните
1 каплю буфера

Цельная кровь из пальца:
внесите 50 мкл крови
на зону образца
подождите пока вся кровь впитается
и добавьте 1 каплю буфера

Сыворотка или плазма
внесите 50 мкл
на зону образца

Результат через 20 минут

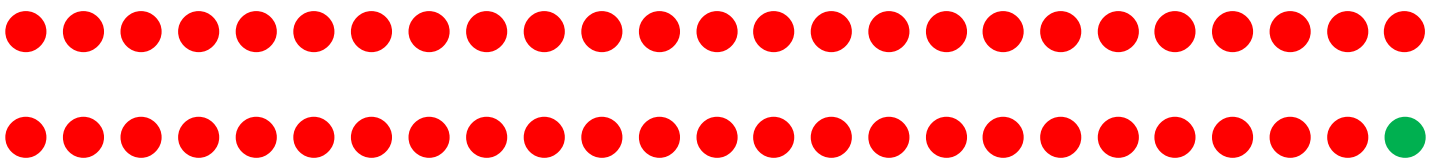
Считывать в <u>интервале 20-30 минут</u>

(облегчает постановку нескольких образцов)

Показатели качества работы теста

Биоград

Чувствительность

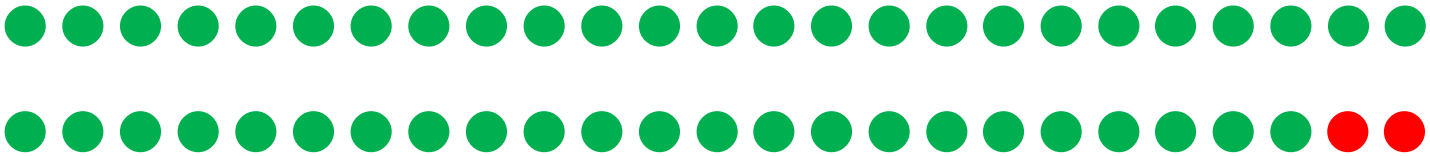


Панель

Тест

В случае определения 24 из 25 чувствительность = 96%

Специфичность



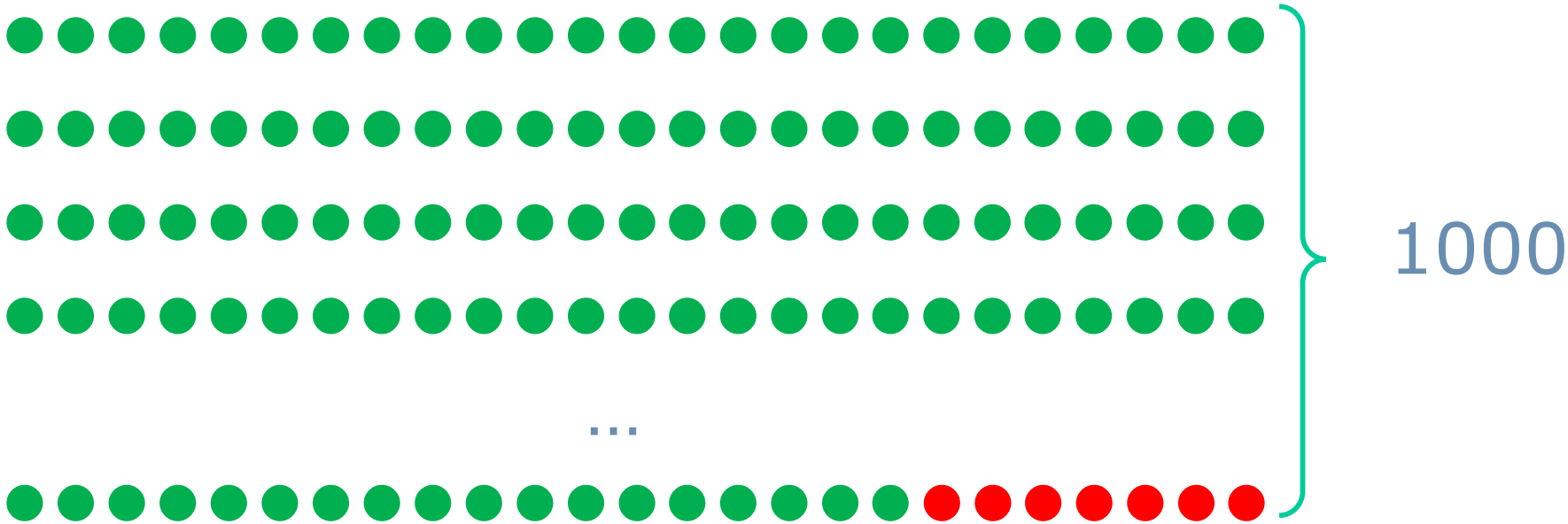
Панель

Тест

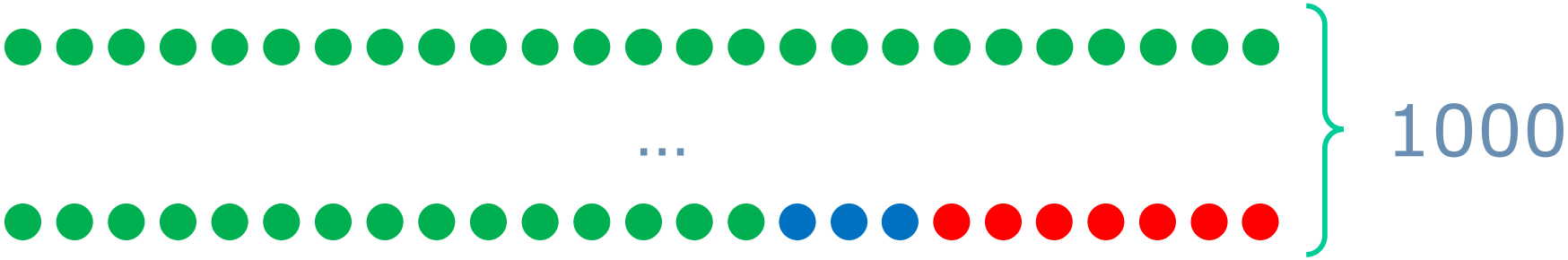
В случае определения 23 из 25 специфичность составит 92%

Анализ при низкой распространенности ВИЧ

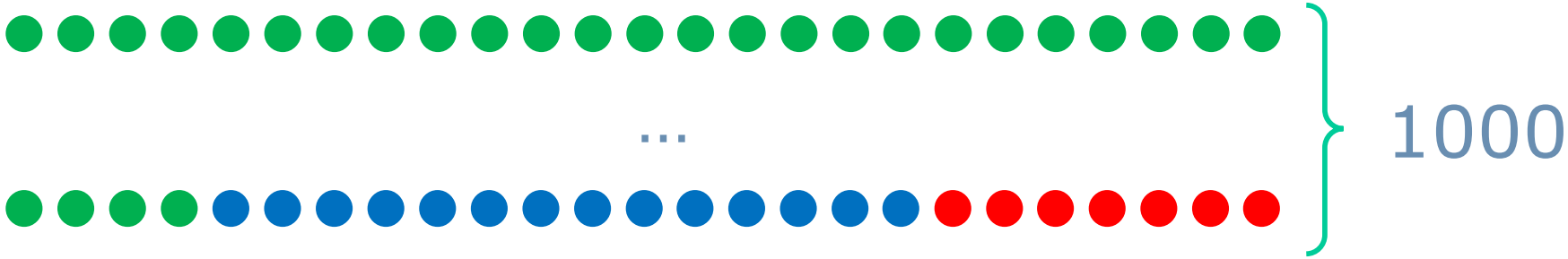
При распространенности ВИЧ в 0,7% реальная «панель» будет выглядеть так:



Ложноположительные результаты



Специфичность 99,72%:
10 положительных, из них 3 - ложно



Специфичность 98,6%:
21 положительный, из них 14 - ложно

Alere HIV Combo Специфичность

Биоград

Исследованы 2469 заведомо ВИЧ-отрицательных образцов:
1749 - доноры
218 - госпитализированные пациенты
206 - беременные женщины
296 — заболевания, кроме ВИЧ-инфекции, и присутствие потенциально интерферирующих веществ

Специфичность теста «Alere ™ HIV Combo» составила: 99,96% для полосы антител и 99,76% для полосы антигена и была выше специфичности теста Determine HIV-1/2 Ag/Ab Combo.

На специфичность «Alere™ HIV Combo» не влияет
20мг/дл билирубина,
500 мг/дл гемоглобина
3300 мг/дл триглицериды.

Чувствительность и специфичность тестов Alere

	Alere Determine HIV-1/2, 3 поколение	Alere Determine HIV-1/2 Ag-Ab Combo, 4 поколение (до 2018)	**Alere HIV Combo**, 4 поколение (с 2018)
Чувстви-тельность	100	100	100
Специ-фичность	99,68%	Ат: 99,23% Аг: 99,66%	Ат: **99,96%** Аг: **99,76%** Аг/Ат: **99,72%**

Выявление ВИЧ: сероконверсионные панели

	Alere HIV Combo (по сравнению с указанным тестом):			
	Кол-во панелей	Раньше	Одновременно	Позже
Alere Determine HIV-1/2	31	**28**	3	0
Alere Determine HIV-1/2 Ag/Ab Combo	31	**10**	21	0
Architect HIV Ag/Ab Combo	20	0	14	6

Alere HIV Combo
Чувствительность по антигену ВИЧ-1 p24 разных субтипов

48 различных культивированных изолятов ВИЧ : ВИЧ-1 группы М субтипы: A, B, C, D, F, G, H, CRF01-AE, CRF02-AG и ВИЧ-1 группы О

	Alere Determine HIV-1/2 Ag/Ab Combo	**Alere HIV Combo**
ВИЧ-1 субтип В	100% (7 из 7)	100% (8 из 8)
ВИЧ-1 не-В субтипы и ВИЧ-1 группы О	**45%** (18 из 40)	**100%** (40 из 40)

Alere HIV Combo

выявление ранних сероконверсионных образцов

Биоград

22 образца ранней сероконверсии ВИЧ были:

- положительные в 3 -х ИФА тест-системах 4-го поколения: "Genscreen Ultra HIV Ag-Ab", Bio-Rad, "ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo", Abbott, "ВИЧ-1 p24-антиген-ИФА-Бест", Вектор-Бест.

- отрицательные (неопределенные) в иммуноблоте NEW LAV BLOT I, Bio-Rad, и "ИФА-Блот-ВИЧ-1", ЗАО "ЭКОлаб"

- все образцы, кроме одного образца 14, у которого концентрация антигена была на уровне критической точки S/CO = 1,15, определены как положительные в экспресс-тесте 4-го поколения "Alere HIV Combo"

Alere HIV Combo

выявление ранних сероконверсионных образцов

Номер пробы	"Genscreen Ultra HIV Ag-Ab"	"ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo"	"ВИЧ-1 p24-антиген-ИФА-Бест"	Иммуноблот NEW LAV BLOTI ИФА-Блот-ВИЧ-1	"Alere HIV Combo"	
1 (282472)	положит.	положит.	положит.	неопределённый	Ab +	**Ag +/-**
2 (282023)	положит.	положит.	положит.	отрицательный	Ab -	**Ag +**
3 (281953)	положит.	положит.	положит.	отрицательный	Ab +/-	**Ag +/-**
4 (281698)	положит.	положит.	положит.	отрицательный	Ab -	**Ag +**
5 (281700)	положит.	положит.	положит.	неопределённый	Ab -	**Ag +**
6 (281520)	положит.	положит.	положит.	отрицательный	Ab +	**Ag +**
7 (281373)	положит.	положит.	положит.	неопределённый	Ab +	**Ag +/-**
8 (281405)	положит.	положит.	положит.	отрицательный	Ab -	**Ag +**
9 (281276)	положит.	положит.	положит.	отрицательный	Ab -	**Ag +**
10 (281206)	положит.	положит.	положит.	отрицательный	Ab +/-	**Ag +/-**
11 (281088)	положит.	положит.	положит.	неопределённый	Ab -	**Ag +**
12 (281015)	положит.	положит.	положит.	отрицательный	**Ab +**	Ag -
13 (280718)	положит.	положит.	положит.	отрицательный	Ab -	**Ag +**
14 (280723)	ОП сыв. = 0,366	S/CO = 1,15	ОП сыв.1,277	отрицательный	Ab -	Ag -
15 (280303)	положит.	положит.	положит.	отрицательный	Ab -	**Ag +/-**
16 (280108)	положит.	положит.	положит.	отрицательный	Ab -	**Ag +**
17 (280078)	положит.	положит.	положит.	неопределённый	Ab +/-	**Ag +**
18 (282835)	положит.	положит.	положит.	неопределённый	Ab +/-	**Ag +/-**
19 (282871)	положит.	положит.	положит.	отрицательный	Ab -	**Ag +**
20 (282757)	положит.	положит.	положит.	неопределённый	Ab +	**Ag +**
21 (282998)	положит.	положит.	положит.	отрицательный	Ab -	**Ag +**
22 (282887)	положит.	положит.	положит.	отрицательный	Ab +	**Ag +**

Alere™ PIMA CD4: мобильный анализатор

Биоград

- Подсчет Т-хелперов (CD3+/CD4+)
- Время анализа 20 минут
- Анализ капиллярной или венозной крови

Стандарты медицинской помощи (ВИЧ)

МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ЗАРЕГИСТРИРОВАНО
Регистрационный № 53008
от "13" декабря 2018

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(Минздрав России)

ПРИКАЗ

20 ноября 2018 г. № 797н

Москва

Об утверждении
стандарта первичной медико-санитарной помощи взрослым
при болезни, вызванной вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ)
(предпочтительная антиретровирусная терапия первого ряда)

- 7 новых стандартов утверждены 20 ноября 2018
- Расширяют возможности применения зарегистрированного Росздравнадзором мобильного анализатора CD4

Стандарты медицинской помощи (ВИЧ)

- 7 стандартов утверждены 20 ноября 2018

- Исследование CD4+ лимфоцитов (частота 1/кратность 3) - во всех 7 стандартах:

  Приказы Министерства здравоохранения Российской Федерации от 20.11.2018 № 796н, № 797н, № 798н, № 799н, № 800н, № 801н, № 802н

- Исследование CD8+ лимфоцитов (частота 0.3/1) – включено **только для установлении диагноза и подготовки к лечению:**
  Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 20.11.2018 № 796н

m-PIMA –мобильный ПЦР анализатор

Биоград

Определение РНК ВИЧ:

- в плазме
- в капиллярной цельной крови (в т.ч. из пальца)
- Качественное
- Количественное (вирусная нагрузка)

Результат за 60 минут

Возможен забор образца непосредственно в картридж

Экспресс-тест 4 поколения и подтверждение на ПЦР

Биоград

Meulbroek M, Pujol F, Pérez F, Et al. BCN Checkpoint: same-day confirmation of reactive HIV rapid test with Point Of Care HIV-RNA accelerates linkage to care and reduces anxiety. HIV Med. 2018 Feb;19 Suppl 1 63-65. doi:10.1111/hiv.12595. PMID: 29488706.

Быстрое подтверждение ВИЧ инфекции:

Экспресс-тесты 4 поколения подтверждались при помощи ПЦР по месту лечения с последующим анализом образцов в лаборатории при помощи иммуноблота (WB, проспективное исследование)

Проведено 11455 экспресс-тестов 4 поколения 7163 пациентам

249 первично положительных результатов

Для 216 результатов было проведено быстрое подтверждение с помощью ПЦР по месту лечения

Быстрое подтверждение ВИЧ-инфекции

Биоград

Для 216 результатов проведено быстрое подтверждение с помощью ПЦР по месту лечения:

В 91,2% случаев (197/216) удалось подтвердить наличие РНК ВИЧ, из них **3 случая острой ВИЧ-инфекции с высокой вирусной нагрузкой**, которые не могли быть подтверждены на WB

14 ложноположительных (из 10 тыс., **специфичность 99,86%**)

5 неподтвержденных случаев (3 элитных контроллера и 2 пациента, принимавших терапию)

Для 91,2% первично положительных пациентов была возможность начать терапию в тот же день

Alere Determine TB LAM Ag (диагностика туберкулеза)

Биоград

- Разработан для случаев коинфекции с ВИЧ
- время анализа 25 минут
- не требует забора образца мокроты – анализ по моче
- лучше работает при низких CD4, когда другие методы начинают работать хуже

BinaxNOW

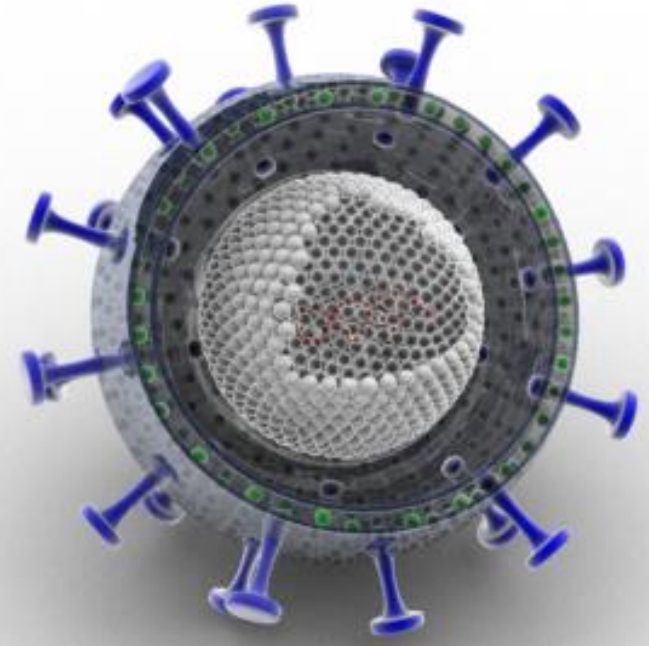
Биоград

Экспресс-тесты для быстрого определения антигенов респираторных инфекций:

- Грипп А и В
- РС-вирус
- Малярия
- Strep A (стрептококк группы А)
- S. pneumoniae (Пневмококковая пневмония)
- Legionella pneumophila (Легионеллез)

- За 15 минут по образцу мочи (не нужно сложного забора образца)
- Входит в стандарт при пневмонии тяжелой степени тяжести (А26.28.010)

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

Биоград