

Адаптация методологии Сухой Капиллярной Капли Крови в программе Дозорного Эпидемиологического Надзора за ВИЧ/СПИД в Узбекистане

Кан Н., Онгарбаев А., Латипов Р.,
Мусабаев Э.И., Калашникова Т.В.

Ташкент
2008

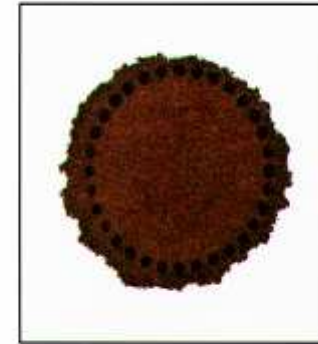
Поведенческие и технические трудности использования традиционной методики лабораторных исследований при ДЭН:

- Коллапсированные вены ПИН.
- Труднодоступные группы населения избегают посещения клиник, которые могут находиться под контролем органов правопорядка
- Для обеспечения безопасности сбор венозной крови должен производиться в условиях клиники.

Биообразец, рекомендованный для целей ДЭН

**«сухая капля крови»-
перенесенный и высушенный
на фильтровальной бумаге
образец капиллярной крови
(СККК)**

Valid Specimen



Использование СККК для целей ДЭН в мировом масштабе

США, (Clin Microbiol. 2005 Apr;43(4):1851-7)

Германии J Acquir Immune Defic Syndr. 2003 Feb;32 Suppl 1:S49-54.

Франции (J Clin Microbiol. 2005 Sep;43(9):4441-7.

Индии (Int J STD AIDS. 2004 Oct;15(10):658-61)

Уганде (J Infect Dis. 2006 Jan 1;193(1):9-15)

Камеруне (J Infect Dis. 2006 Jan 1;193(1):9-15. Epub 2005 Nov 18.)

Нигерии (Bull Soc Pathol Exot. 2005 Apr;98(1):5-8);

Южной Африке (Cent. Afr,J,Med, 2003)

И В ЦЕЛОМ РЯДЕ ДРУГИХ СТРАН

Преимущество образца «сухой капли крови» по сравнению с сывороткой

- Легко получить у лиц групп повышенного риска (особенно важно для группы ПИН)
- Взятие не требует клинических условий (важно при выездах на сайты)
- Не требует срочной дополнительной обработки (не надо выделять сыворотку из крови)
- Компактность при хранении и менее опасна в обращении (с учетом обследуемого контингента)
- Меньше вероятность контаминации

Цель

- Отработать методологию тестирования на антитела к ВИЧ, ВГС и сифилису в СККК с помощью коммерчески доступных в Узбекистане тест-систем

Задачи

- Оценить качество коммерчески доступных ИФА тест-систем, по отношению к тест-системам одобренных ВОЗ
- Отработать методологию тестирования СККК на анти-ВИЧ, анти-ВГС, и анти-T.Pallidum применительно к тест-системам, доступных в Узбекистане, для выявления указанных маркеров в сыворотке крови
- Оценить эффективность разработанной методологии по показателям чувствительности и специфичности

Материалы и методы

- Образцы сывороток крови и СКК были собраны у 800 ПИН Ташкентской Области.
- Образцы венозной крови собирались в пробирки “Vacutainer” без антикоагулянта и хранились не более чем 24 часа при температуре 4° С. Сыворотка отделялась от клеток крови путем центрифугирования и хранилась при температуре минус 20 ° С.
- Образцы капиллярной крови собирались на фильтровальную бумагу “S&S” и высушивались при комнатной температуре в течение 16-20 часов.
- Каждый образец запаковывался в индивидуальный воздухонепроницаемый пакет с влагопоглотителем и хранился при температуре минус 20 ° С.
[WHO/CDS/CSR/EDC/2001.16]

Материалы и методы(2)

- Наличие в сыворотках крови антител к ВИЧ определялось с помощью ИФА “Murex HIV 1.2.O” и “Ortho HIV1/HIV2 Ab-Capture” и подтверждалось с помощью иммуноблота “HIV Blot 1.2”
- Наличие в сыворотках крови антител к ВГС определялось с помощью референс ИФА тест-систем “Ortho HCV 3.0 SAve” и “Murex anti-HCV”
- Наличие в сыворотках крови антител к *T. pallidum* определялось с помощью ИФА тест-системы “ICE Syphilis” и подтверждалось ТРНА и VDRL тестами Wisconsin Laboratory (Алматы, Казахстан)
- Результаты тестирования сывороток крови использовались в качестве «Золотого стандарта»

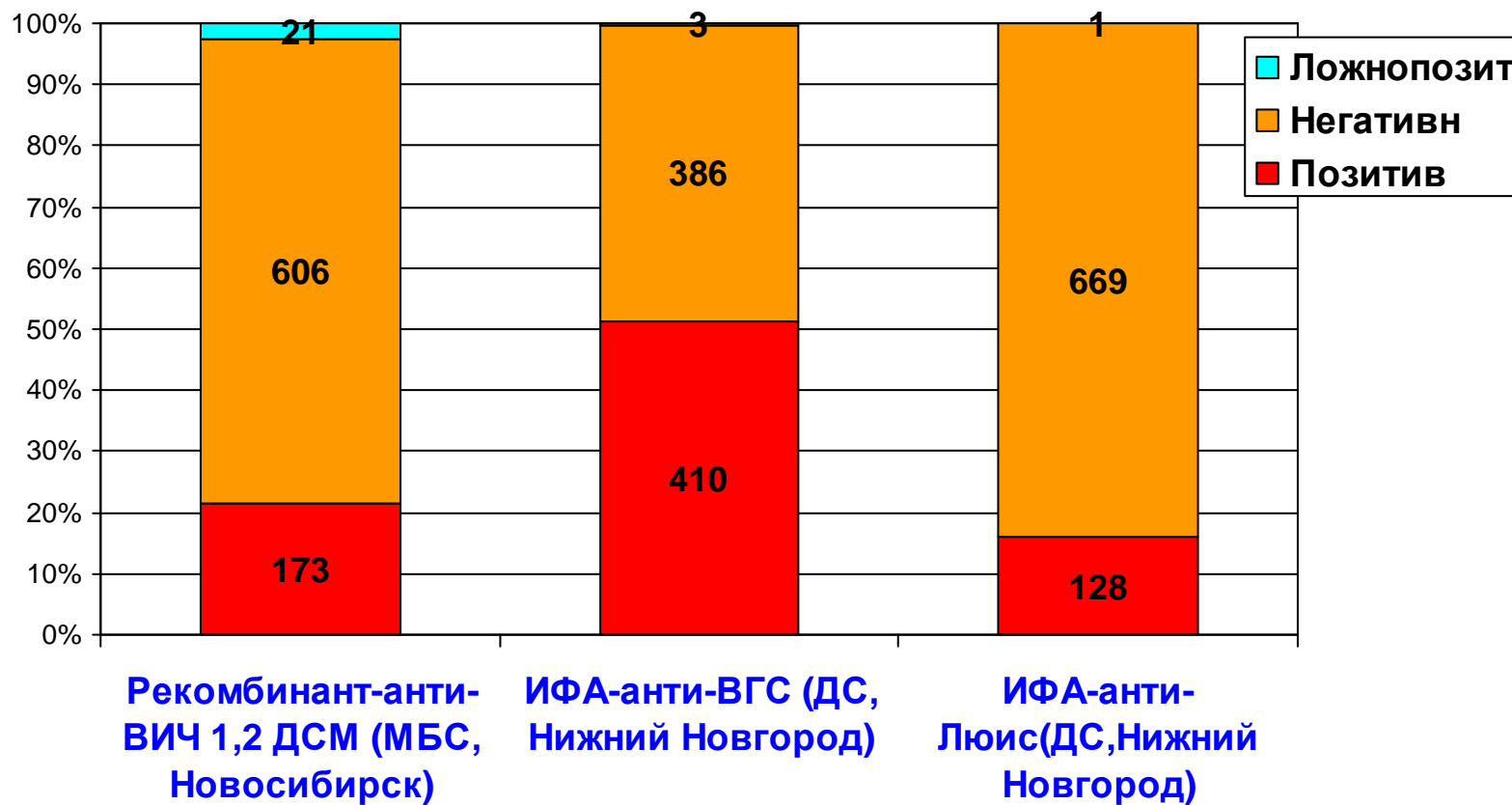
Материалы и методы (3)

- Для элюации использовались 5 мм диски СКК.
- Элюация проводилась в планшетах “Costar” в течение 16 часов при комнатной температуре (18-25 °C).
- В качестве элюента использовался стандартный фосфатно-солевой буфер с Tween, прилагаемый к тест-системе

Испытуемые ИФА тест-системы

- «Рекомбинант анти-ВИЧ 1,2 ДСМ»,
Медико-Биологический Союз, Россия
- «ИФА Анти-ВГС», Диагностические
системы, Россия
- «ИФА Анти-Люис», Диагностические
системы, Россия

Результаты оценки качества тест-систем по отношению к сыворотке



Чувствительность -100%

99,8%

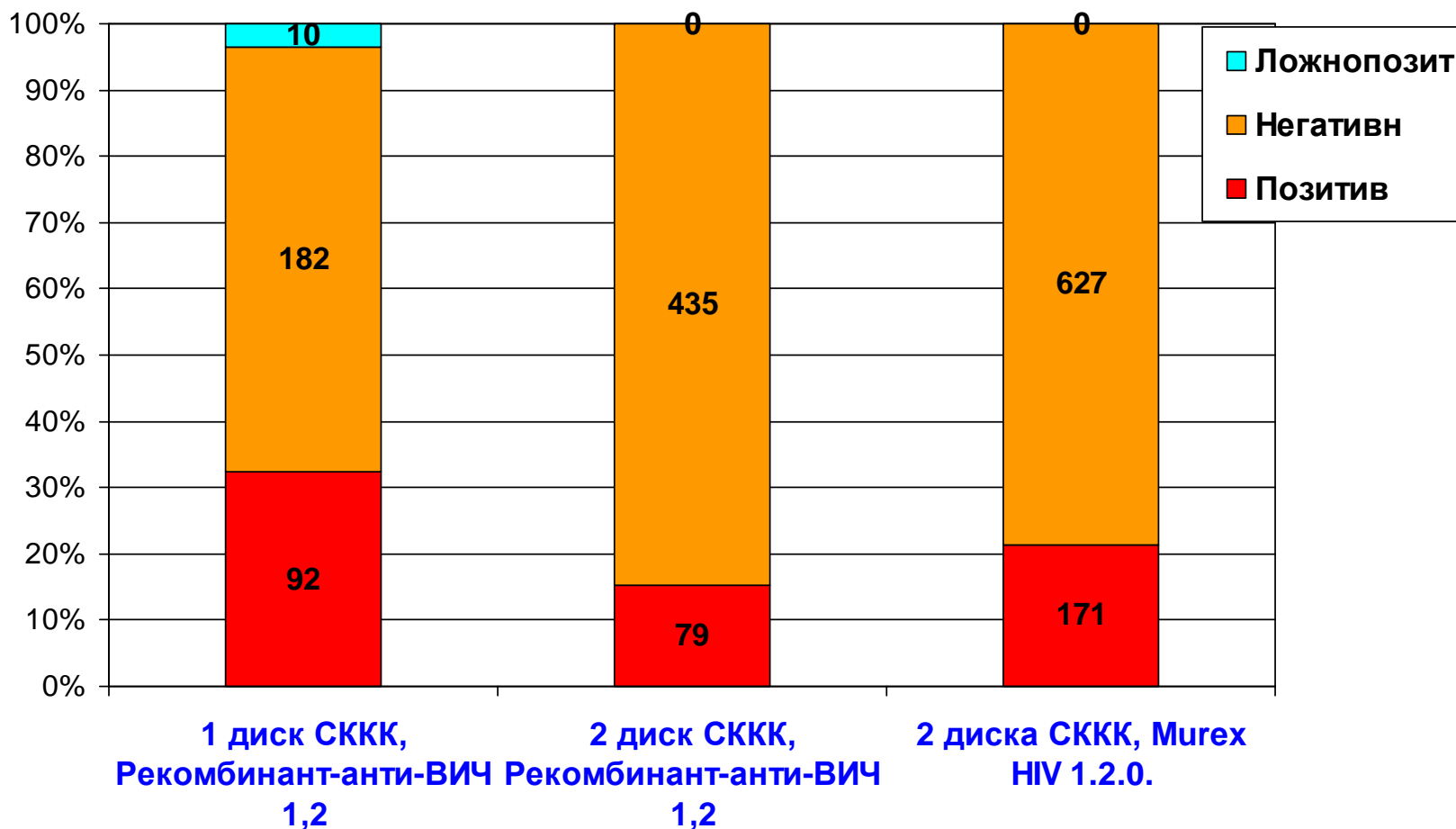
98,5%

Специфичность -96,7%

99%

99,9%

Оценка эффективности методологии тестирования СККК на ВИЧ по отношению к результатам тестирования сыворотки



Чувствительность 99%

99%

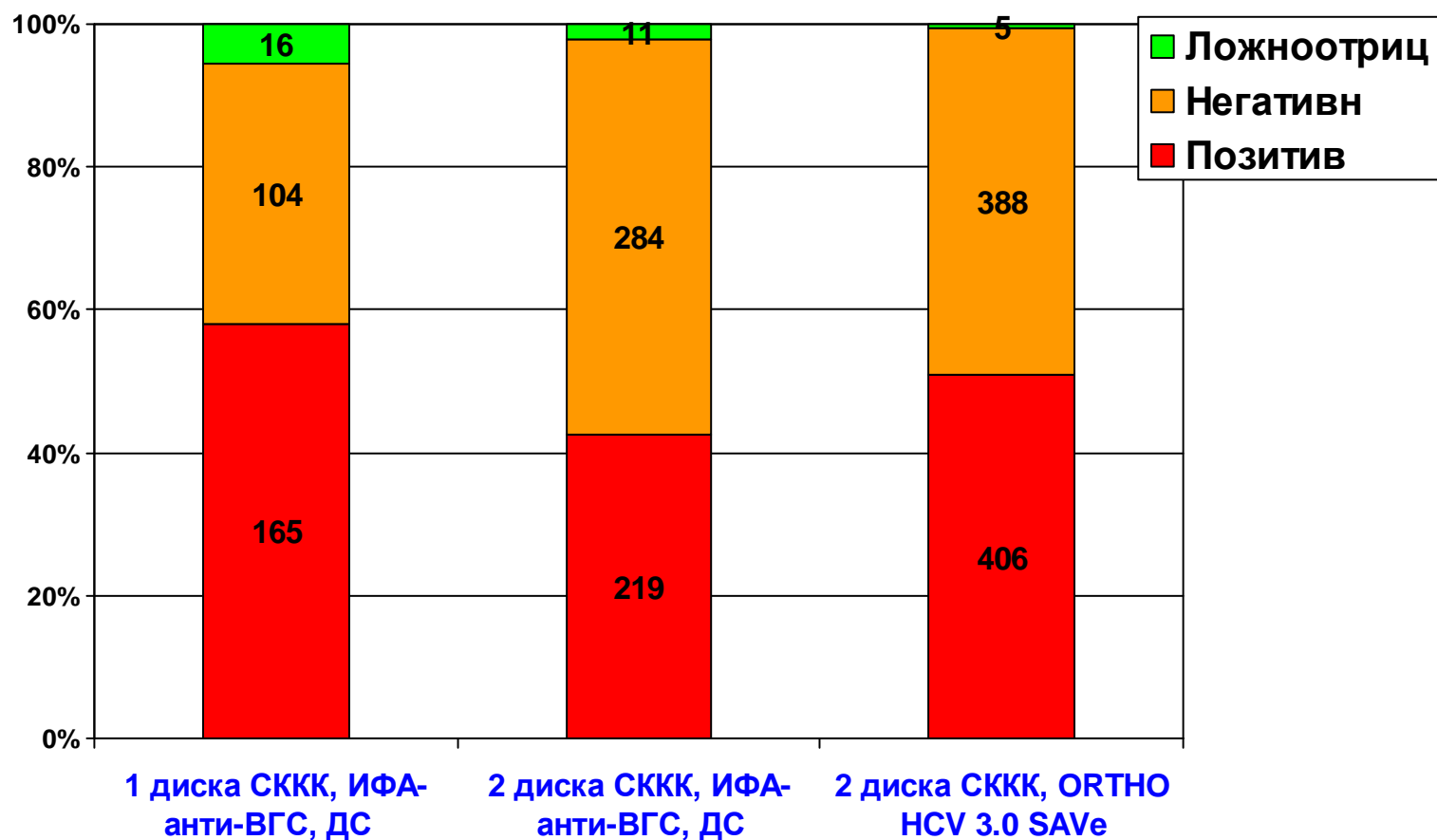
99%

Специфичность 95%

100%

100%

Оценка эффективности методологии тестирования СККК на ВГС



Чувствительность

91%

95%

98,7%

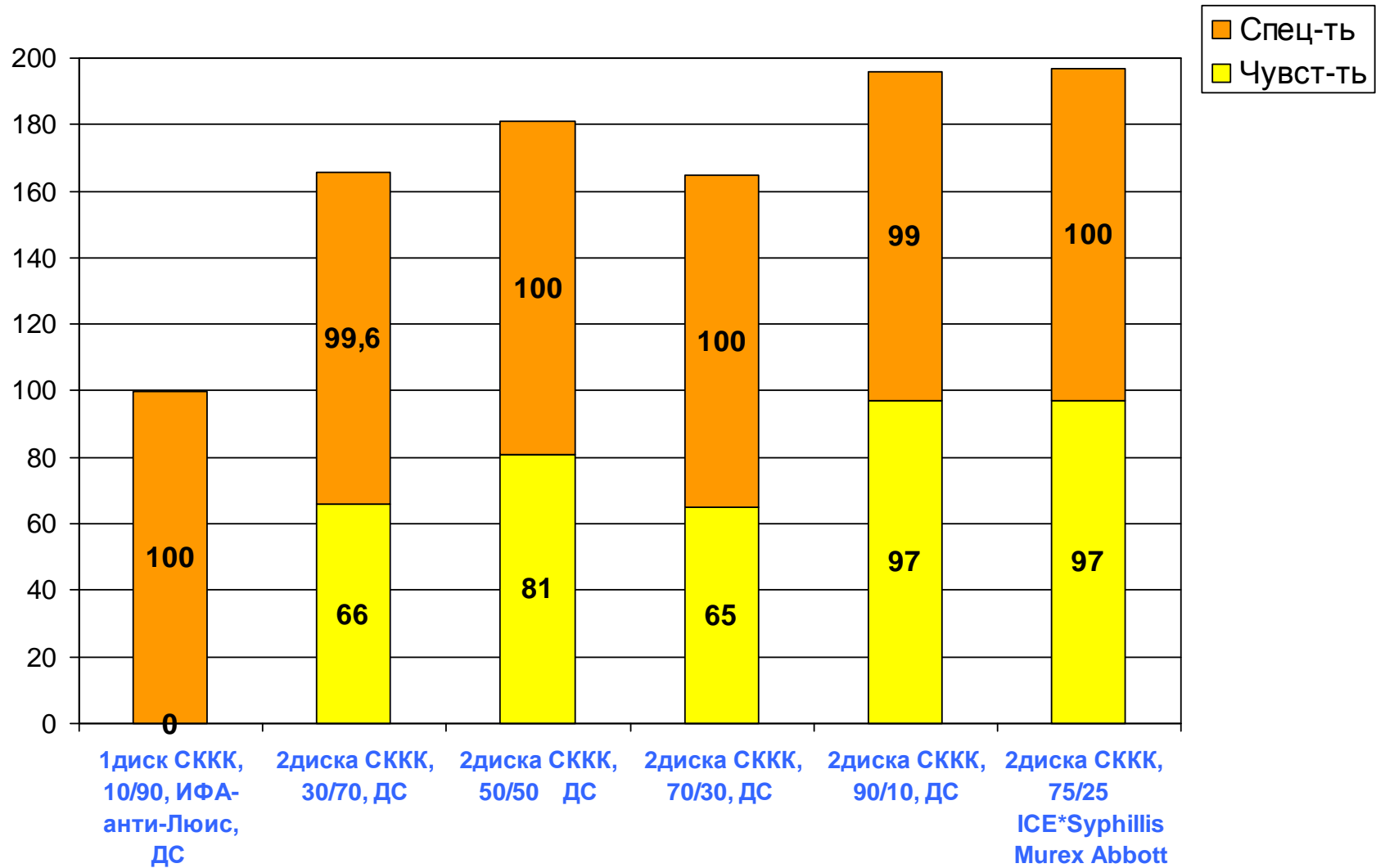
Специфичность

100%

99,6%

99,7%

Показатели чувствительности и специфичности (в %) различных модификаций тестирования СККК на анти-Сифилис



Заключение

- Результаты оценки качества коммерчески доступных тест-систем Российского производства, позволяют рекомендовать их для проведения ДЭН
- Отработаны модификации тестирования СККК применительно к ИФА тест-системам, доступным для Узбекистана
- В результате испытаний применительно к каждой тест-системе была выбрана методика, позволяющая гарантировать достаточную эффективность тестирования для целей ДЭН, а именно
 - Чувствительность 95% - 99%
 - Специфичностью 98% - 100%

Нормативно- правовая основа внедрения полученных результатов в проактику

- Приказ Министерства Здравоохранения Узбекистана за №413 от 18.09.2003г «Об организации и проведении ДЭН за ВИЧ-инфекцией в Андижанской, Самаркандской, Сурхандарьинской, Ташкентской областях и г.Ташкенте»
- Приказ №287 от 13.08.2005г «Об организации и проведении поведенческих исследований в Бухарской, Джизакской, Кашкадарьинской, Навоийской, Наманганской, Сырдарьинской, Ферганской, Хорезмской областях и Республике Каракалпакстан »
- Приказ №99 от 14.03.2006г «Об организации и проведении ДЭН за ВИЧ-инфекцией в Бухарской, Сырдарьинской, Ферганской и Хорезмской областях»
- Приказ №291 от 29.07.2007г «Об организации и проведении ДЭН за ВИЧ-инфекцией в Республике Каракалпакстан, Андижанской, Самаркандской, Сурхандарьинской, Кашкадарьинской, Джизакской, Навоийской, Наманганской, Ташкентской областях и г.Ташкенте»
- Приказ МВД о проведении ДЭН среди заключенных

Принципы обеспечения и контроля

- Контролирующая функция РЛ
 - Верификация 10% отрицательных образцов СККК
 - Подтверждение всех положительных результатов в течении 2004-2005г, и с 2007 совместно с РЦСПИД и ОблЦСПИД
- Подтверждение статуса РЛ, как имеющую максимальную правильность измерения, это:
 - Участие в международной программе ВОК по тестированию анти-ВИЧ в сыворотке (anti-HIV MPEP, CDC, Atlanta (с 2004г, 2 раза в год)
 - Участие в международной программе ВОК по тестированию анти-ВИЧ в СККК (anti-HIV DBS, CDC, Atlanta (с 2004г, 4 раза в год)