

Comparison of the New Alere HIV Combo with Alere Determine HIV-1/2 Ag/Ab Combo in Acute Primo and Established HIV Infections

Cornelia Ottiger* and Andreas R. Huber**

Institute of Laboratory Medicine*, Cantonal Hospital of Aarau AG**, CH-5001 Aarau, Швейцария

Абстракт

Обоснование: Большинство тестов на вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) выявляют антитела, но не антиген р24. Люди с острой или ранней первичной ВИЧ-инфекцией, как правило, имеют высокую вирусную нагрузку, но пока не вырабатывают антитела. Первое 4-ое поколение экспресс-тестов Alere Determine™ HIV-1/2 Ag/Ab Combo давало редко положительные результаты р24-антиген в острой или ранней стадии инфекции. Для повышения чувствительности был разработан новый тест: комбинированный тест 4-го поколения Alere HIV Combo

Методы и выводы: Пилотное исследование должно прояснить чувствительность нового экспресс-теста Alere HIV Combo по сравнению с Alere Determine™ HIV-1/2 Ag/Ab Combo, и с эталонным методом. Образцы ВИЧ-1 и ВИЧ-2 инфекций пациентов, которые ранее не проходили антиретровирусное лечение, были протестированы как с помощью нового экспресс-теста Alere HIV Combo, так и с помощью Alere Determine™ HIV-1/2 Ag/Ab Combo. Результаты были сопоставлены с результатами Вестерн-блоттинга и РНК из референс-лаборатории. Пятнадцать образцов были взяты у пациентов с установленной инфекцией ВИЧ-1, а два-ВИЧ-2; шесть образцов-от острой или ранней первичной инфекции ВИЧ-1. Пятнадцать образцов имели отрицательный ВИЧ-статус. Alere Determine™ HIV-1/2 Ag/Ab Combo дал правильные результаты в установленных инфекциях, где антитела присутствуют - выработаны, тогда как при первичных инфекциях только в образцах ВИЧ-1 субтип В прореагировал слабо в окне учета р24-антигена. Новый экспресс-тест Alere HIV Combo очень хорошо выявлял все положительные образцы всех субтипов, а также острой или ранней первичной инфекции.

Заключение: новый экспресс-тест Alere HIV Combo эффективен в обнаружении как антител к ВИЧ так антигена р24.

Введение

Ранняя диагностика острых инфекций вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) с помощью экспресс-скрининговых тестов позволяет быстро получить информацию о ВИЧ-статусе у пациентов с неспецифическими симптомами, СПИДом, определяющим болезнь или для профилактики распространения инфекции в специализированных медицинских центрах первичной медико-санитарной помощи. В частности, лица с острой или ранней первичной ВИЧ-инфекцией имеют высокие вирусные нагрузки, что делает их очень заразными.

Быстрые тесты часто используются в медицинских учреждениях в соответствии с Европейским руководством по ВИЧ тестированию [1]. Для ВИЧ-инфекций с 1996 года существуют системы быстрого тестирования [2]. Как правило, положительные результаты анализа тест-полосок получают на поздней стадии ВИЧ-инфекции, где присутствуют только антитела. Однако выявление острых или ранних ВИЧ-инфекций в таких системах по-прежнему является проблемой [3].

В 2009 году было введено первое экспресс-тест 4-го поколения с объединенным определением антител против ВИЧ и антигена р24. Alere Determine™ HIV-1/2 Ag/Ab Combo - это быстрый иммунохроматографический анализ на антитела к ВИЧ-1, антитела к ВИЧ-2 и р24-антиген. Инфекцию можно обнаружить на пять дней раньше, чем на тестах третьего поколения [4,5]. Однако случаи ложноотрицательных в ранних стадиях инфекции результатов скрининга на Alere Determine™ HIV-1/2 Ag/Ab Combo, были описаны [6,7]. Таким образом, недавно Alere разработал новый быстрый экспресс-тест на ВИЧ-инфекцию с целью улучшения обнаружения антигена р24.

Экспериментальное исследование должно разъяснить полезность нового экспресс-теста 4-го поколения Alere HIV Combo в качестве скринингового теста на ВИЧ. Новый экспресс-тест сравнивают с Alere Determine™ HIV-1/2 Ag/Ab Combo, и проверяют с помощью эталонных методов определения Вестерн-блоттинга и РНК. Особый интерес представляет возможность обнаружения острых или ранних первичных инфекций, которые содержат только p24-антиген.

Методы

ВИЧ-скрининг с образцами нашего третичного медицинского учреждения был проведен на Abbott Architect i2000SR с помощью анализа хемилюминесценции 4-го поколения HIV-1/2 и p24 Combo. Реактивные результаты были подтверждены швейцарскими органами здравоохранения [8] швейцарской справочной лабораторией в Национальном центре ретровирусов в Цюрихском университете, Швейцария. Образцы хранились при -20 ° C, а отрицательные и истинные положительные образцы были выбраны для сравнения с обоими тестами: Alere Determine™ HIV-1/2 Ag/Ab Combo, (маркировка CE, REF 7D2646) и новый Alere HIV Combo (маркировка CE, REF 7D2846). Испытания проводились, как описано изготовителем. Вкратце, 50 мкл образца сыворотки наносят на зону образца, и результаты считывают в окне результатов через 20 мин и через 40 мин. Не было найдено никаких недопустимых результатов.

Информированное согласие пациентов не требовалось, так как все образцы были от рутинного тестирования и были повторно протестированы анонимно в этом исследовании. Это согласуется с Этическим комитетом нашего учреждения. Результаты не были показаны врачу, и, следовательно, управление пациентами не изменилось из-за этих результатов.

Результаты

Тридцать восемь образцов сыворотки (таблица 1), из которых 23 были подтверждены как положительные с помощью эталонной лаборатории, сравнивались с обоими быстрыми тестами: новый Alere HIV Combo (REF 7D2846) и Alere Determine™ HIV-1/2 Ag/Ab Combo, (REF 7D2646). Все положительные образцы были у пациентов, которые недавно были диагностированы, а не находились под высокоактивной антиретровирусной терапией (ВААРТ), за исключением ВИЧ-2.

Таблица 1: Количество опробованных образцов и демографические данные.

	Количество образцов	Средний возраст годы	f/m *
Установленная ВИЧ-1	15	46 (мин. 29, макс. 66)	7/8
Установленная ВИЧ-2	2	40 (мин. 38, макс. 42)	2/0
Острая/ранняя первичная	6	35 (мин. 26, макс. 60)	1/5
Пограничный реактивный	5	55 (мин. 17, макс. 67)	1/4
Отрицательный	10	38 (мин. 18, макс. 79)	5/5

* f (female) -женский пол; m (male)-мужской

Пятнадцать образцов с установленной по иммуноблоттингу инфекцией ВИЧ-1 правильно выявлялись в окне учета антител с помощью обоих экспресс-тестов. Однако в окне учета p24-антигена реакция не возникала, хотя вирусные нагрузки ВИЧ-1 составляли до $1,3 \times 10^6$ копий / мл. Только один случай $c > 107 \text{ copies / ml}$ показал слабую реакцию с Alere Determine™ HIV-1/2 Ag/Ab Combo, (таблица 2). Это вероятно, было вызвано образованием комплексов антитело-антиген, как описано производителем.

Только два образца с антителами к ВИЧ-2 могут быть протестированы, так как пациенты с ВИЧ-2-инфекцией в нашем регионе очень редки. Оба образца дали правильные полосы антител с обоими экспресс-тестами Alere, и отсутствие полосы p24-антигена.

Таблица 2: Сравнение нового экспресс-теста Alere HIV Combo с Alere Determine™ HIV-1/2 Ag/Ab Combo и результатами, подтверждающих анализов из референс лаборатории

Пацент	Determine Alere HIV-1/2 Ag/Ab Combo Ref. Nr. 7D2646		Новый Alere HIV Combo Ref.Nr. 7D2846		Abbott Architect i2000SR	NCR1)		Субтип
	anti-ВИЧ-1 или ВИЧ-2 антитела	p24 антиген	anti-ВИЧ антитела	p24 антиген	anti-HIV-1/2 p24 Combo (cutoff S/CO <1)	ВИЧ Вестерн-блоттинг	ВИЧ RNA копий/мл	
Anti ВИЧ-1 антитела								
1	позитивный	негативный	позитивный	негативный	632	ВИЧ-1	363	A1
2	позитивный	негативный	позитивный	негативный	504	ВИЧ-1	191024	A1
3	позитивный	негативный	позитивный	негативный	253	ВИЧ-1	718	B
4	позитивный	негативный	позитивный	негативный	486	ВИЧ-1	4044	B
5	позитивный	негативный	позитивный	негативный	919	ВИЧ-1	29472	B
6	позитивный	негативный	позитивный	негативный	321	ВИЧ-1	75720	B
7	позитивный	негативный	позитивный	негативный	678	ВИЧ-1	92000	B
8	позитивный	очень слабо позитивный	позитивный	негативный	1142	ВИЧ-1	>10000000	B
9	позитивный	негативный	позитивный	негативный	873	ВИЧ-1	23637	C
10	позитивный	негативный	позитивный	негативный	839	ВИЧ-1	23700	CRF01_AE
11	позитивный	негативный	позитивный	негативный	633	ВИЧ-1	26265	CRF01_AE
12	позитивный	негативный	позитивный	негативный	313	ВИЧ-1	1379981	CRF01_AE
13	позитивный	негативный	позитивный	негативный	428	ВИЧ-1	2537	CRF02_AG
14	позитивный	негативный	позитивный	негативный	613	ВИЧ-1	282000	CRF02_AG
15	позитивный	негативный	позитивный	негативный	257	ВИЧ-1	59572	D
Anti-ВИЧ-2 антитела								
16	позитивный	негативный	позитивный	негативный	83	ВИЧ-2	PERT 911 nU RNA/ml = 17659 копий/мл	
17	позитивный	негативный	позитивный	негативный	-	ВИЧ-2	under HAART	
p24-антиген только								
18	негативный	очень слабо позитивный	негативный	слабо позитивный	49.1	no Ab	1808956	B
19	негативный	очень слабо позитивный	очень слабо позитивный	позитивный	251	очень слабо позитивный HIV-1 Ab	1983752	B
20	негативный	очень слабо позитивный	негативный	позитивный	128	no Ab	>10000000	B
21	негативный	негативный	негативный	позитивный	91	no Ab	>10000000	C
22	негативный	негативный	негативный	слабо позитивный	50.5	no Ab	>10000000	CRF01_AE

В шести образцах пациентов с острой или ранней первичной инфекцией ВИЧ-1 с отсутствием антител, имелись вирусные нагрузки ВИЧ-1 > 1,8 × 10⁶ до > 10⁷ копий / мл. тест Alere Determine™ HIV-1/2 Ag/Ab Combo(REF 7D2646) дал очень слабые положительные реакции в полосе p24-антиген только в трех из шести образцов. Эти три образца были из Субтипа B ВИЧ-1.

Нереактивными образцами были все не-B-субтипы.

Новый экспресс-тест Alere HIV Combo (REF 7D2846) хорошо выявлял p24-антиген со всеми шестью образцами. Некоторые реакции были немного слабее других, но все еще хорошо видны. Все тестируемые субтипы ВИЧ-1 - B, C, CRF01_AE и CRF02_AG - дали положительные реакции.

Проанализировано 15 образцов с отрицательным ВИЧ-статусом. Пять из них слабо реагировали, а 10 образцов были отрицательными с Abbott Architect HIV-1/2 Ag / Ab Combo. Слабые реактивные образцы были отрицательными в анализах подтверждения. Оба экспресс-теста Alere дали отрицательные результаты во всех 15 случаях, поэтому ложноположительная реакция не была зарегистрирована.

Обсуждение

Европейские руководящие принципы профилактики и борьбы с ВИЧ-инфекцией настаивают на важности разработки новых стратегий тестирования на ВИЧ, направленных на труднодоступных лиц высокого риска [1]. Проблема тестирования отрицательных образцов в период окна между инфекцией и продуцированием антител с помощью тестов на антитела детекцию по-прежнему остается. С момента введения экспресс-теста 4-го поколения были обнаружены более позитивные и более ранние случаи [5]. Однако неудачи с выявлением p24-антигена в острых и ранних первичных инфекциях были тревожно высокими [3,6]. Появился новый экспресс-тест - новый Alere HIV Combo, который мы тестировали по сравнению со старым.

Наши результаты с Alere Determine™ HIV-1/2 Ag/Ab Combo показали хорошую реактивность по полосе антител, но были некоторые неудачи с обнаружением p24-антигена, как описано другими [3,5,6]. Антитела против ВИЧ-1 или ВИЧ-2, если они присутствуют, были обнаружены, но проявления полос p24-антигена были редкими. Особенно отсутствовало обнаружение p24-антигена при острых или ранних первичных инфекциях. Только образцы с ВИЧ-1 субтипа В дали очень слабые реакции в окне учета p24-антигена, тогда как не-В-субтипы оставались отрицательными, поэтому отсутствовало выявление 50% наших первичных инфекций. В Европе и США преобладают субтипы В, не-В-субтипы в Африке и Юго-Восточной Азии [9,10]. Тем не менее, 57% наших образцов были не-В-субтипов, как и у других [11], что означает, что тесты с низким сродством к не-В-субтипам пропускают значительное количество инфекций даже в нашем регионе.

Из-за этих неудовлетворительных результатов производитель улучшил тест, представив дополнительную прокладку на тест-полоске в окне учета антигена, чтобы разрушить комплексы антиген-антитело и улучшить учет антигена. Наше исследование показало, что новый Alere HIV Combo дает тестовую линию со всеми положительными образцами, то есть либо в окне учета антител с установленной ВИЧ-инфекцией, либо в окне учета p24-антигена в острых или ранних первичных случаях.

Хотя контрольная линия p24-антигена не проявлялась в окне учета, когда присутствовали антитела, вероятно, все еще из-за комплексов антиген-антитело, это не проблема в скрининговом анализе, так как инфекция уже обнаруживается демонстрацией реакции антитела. Тем не менее, дальнейшее тестирование на подтверждение вестерн-блоттингом и определение РНК следует проводить при обнаружении реактивного результата экспресс-теста на ВИЧ [8].

Более важным было то, что тестовая линия p24-антигена появилась во всех случаях первичных инфекций, когда антитела еще не производились. Это было замечено с проверенными субтипами ВИЧ-1 В, С, CRF01_AE и CRF02_AG, но будет ли это справедливо для всех субтипов. Таким образом, новый Alere HIV Combo обнаружил все острые или ранние инфекции даже в образцах пациентов, которые заразились за четыре недели до диагноза.

Низкое количество образцов острых или ранних ВИЧ-инфекций, которые были доступны, является ограничением для этого исследования. Поэтому для подтверждения этих предварительных результатов необходимы дальнейшие многоцентровые исследования.

Вывод

Наше экспериментальное исследование подтверждает, что Alere Determine™ HIV-1/2 Ag/Ab Combo обнаруживает в основном антитела против ВИЧ-1 и ВИЧ-2, и редко p24-антигены. Новый Alere HIV Combo обнаружил все положительные образцы либо антитела против ВИЧ-1/2 в установленных ВИЧ-инфекциях, либо p24-антиген при острых или ранних инфекциях.

Подтверждение

Финансирование: финансирование не получалось, за исключением того, что реактивы для анализа Alere HIV Combo были бесплатно предоставлены Alere Switzerland GmbH. Никакого влияния на результат результатов не было.

Этическое утверждение

Информированное согласие пациентов не требовалось, так как все образцы были от рутинного тестирования и были повторно протестированы анонимно в этом исследовании. Это согласуется с Этическим комитетом нашего учреждения. Результаты не были показаны врачу, и, следовательно, управление пациентами не изменилось из-за этих результатов.

Ссылки:

1. (2012) European Centre for Disease. Prev, Control. HIV testing: increasing uptake and effectiveness in the European Union, Stockholm: ECDC, Stockholm
2. Ecker B, Vollenhofer S, Bares T, Schalkhammer T, Schinkinger M, et al. (1996) Overexpression and purification of a recombinant chimeric HIV type 2/HIV type 1 envelope peptide and application in an accelerated immunobased HIV type 1/2 antibody detection system (AIBS): a new rapid serological screening assay. *AIDS Res Hum Retroviruses* 12: 1081-1091.
3. Rosenberg NE, Kamanga G, Phiri S, Nsona D, Pettifor A, et al. (2012) Detection of acute HIV infection: a field evaluation of the determine® HIV-1/2 Ag/Ab combo test. *J Infect Dis* 205: 528-534.
4. Fiebig EW, Wright DJ, Rawal BD, Garrett PE, Schumacher RT, et al. (2003) Dynamics of HIV viremia and antibody seroconversion in plasma donors: implications for diagnosis and staging of primary HIV infection. *AIDS* 17: 1871-1879.
5. Masciotra S, Luo W, Youngpairoj AS, Kennedy MS, Wells S, et al. (2013) Performance of the Alere Determine™ HIV-1/2 Ag/Ab Combo Rapid Test with specimens from HIV-1 seroconverters from the US and HIV-2 infected individuals from Ivory Coast. *Clin Virol* 1: e54-58.
6. Lanzafame M, Zorzi A, Rigo F, Adami I, Del Bravo P, et al. (2013) Performance of Alere Determine HIV-1/2 Ag/Ab Combo rapid test for acute HIV infection: a case report. *Infez Med* 23:48-50.
7. Faraoni S, Rocchetti A, Gotta F, Ruggiero T, Orofino G, et al. (2013) Evaluation of a rapid antigen and antibody combination test in acute HIV infection. *J Clin Virol* 57: 84-87.
8. (2006) Bundesamt für Gesundheit: Das schweizerische HIV-Testkonzept – aktualisierte Übersicht über Technisches Konzept und Laborkonzept. *Bulletin* 51: 1022-1034.
9. Vetter BN, Shah C, Huder JB, Böni J, Schüpbach J (2014) Use of reverse-transcriptase-based HIV-1 viral load assessment to confirm low viral loads in newly diagnosed patients in Switzerland. *BMC Infect Dis* 14: 84.
10. Gao F, Morrison SG, Robertson DL, Thornton CL, Craig S, et al. (1996) Molecular cloning and analysis of functional envelope genes from human immunodeficiency virus type 1 sequence subtypes A through G. The WHO and NIAID Networks for HIV Isolation and Characterization. *J Virol* 70: 1651-1667.
11. Schüpbach J, Bisset LR, Regenass S, Bürgisser P, Gorgievski M, et al. (2011) HIV Cohort Study: High specificity of line-immunoassay based algorithms for recent HIV-1 infection independent of viral subtype and stage of disease. *BMC Infect Dis* 11: 254.