

Актуальность создания российской стандартной панели геновариантов ВИЧ для повышения качества НАТ-диагностики

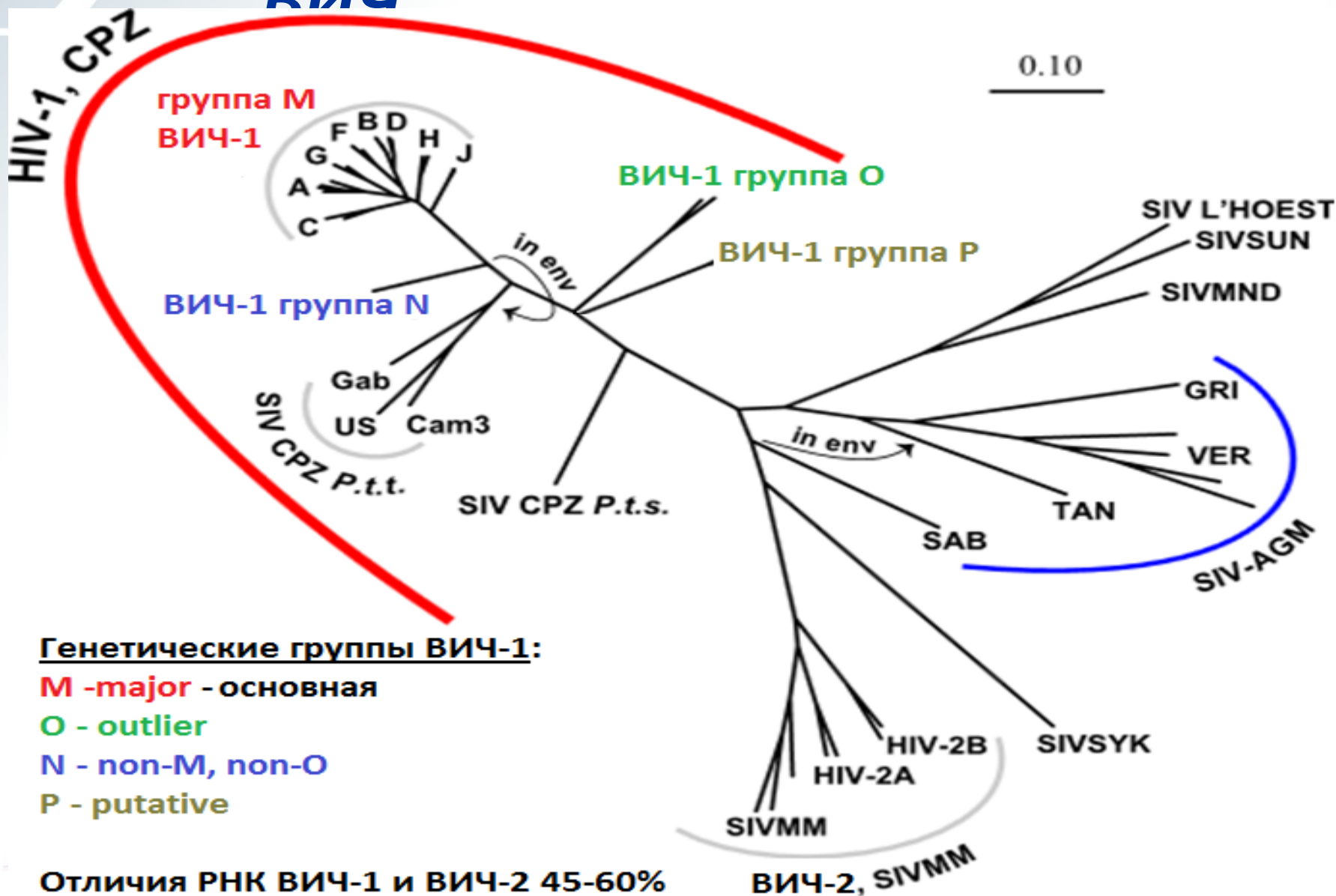


АО «Вектор-Бест»
Прасолова М.А., с.н.с.

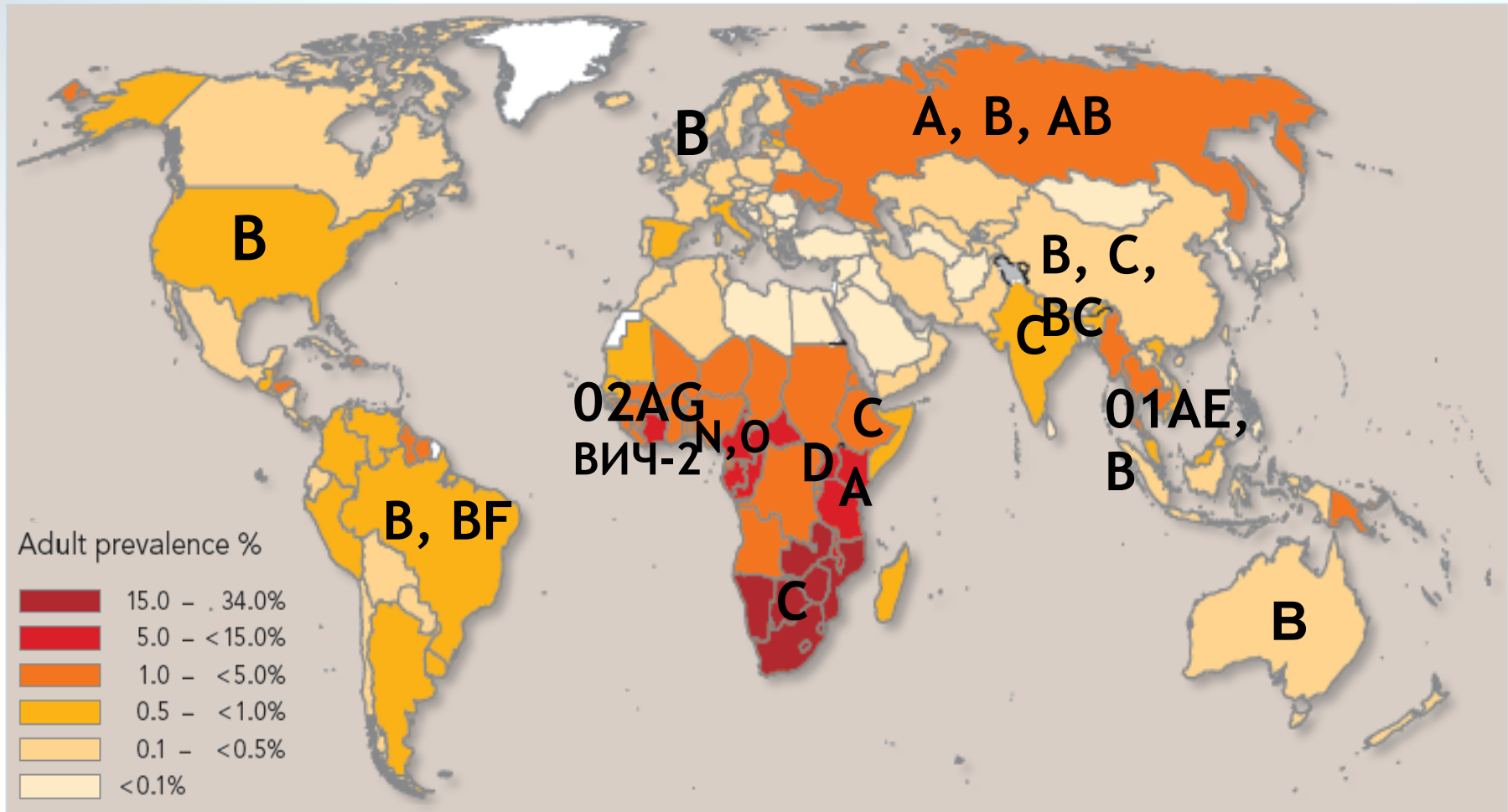
Сложности ПЦР-диагностики, связанные с особенностями ВИЧ

- В латентный период концентрация РНК ВИЧ-1 в плазме крови может быть очень низкой (10^2 - 10^3 копий/мл и ниже)
- Для контроля эффективности терапии требуется измерение вирусной нагрузки в области низких концентраций вплоть до предела обнаружения
- Высокое исходное разнообразие вариантов ВИЧ
- Высокая скорость появления новых мутаций в геноме
- Повышение генетической изменчивости в ответ на терапию

Генетическое разнообразие ВИЧ

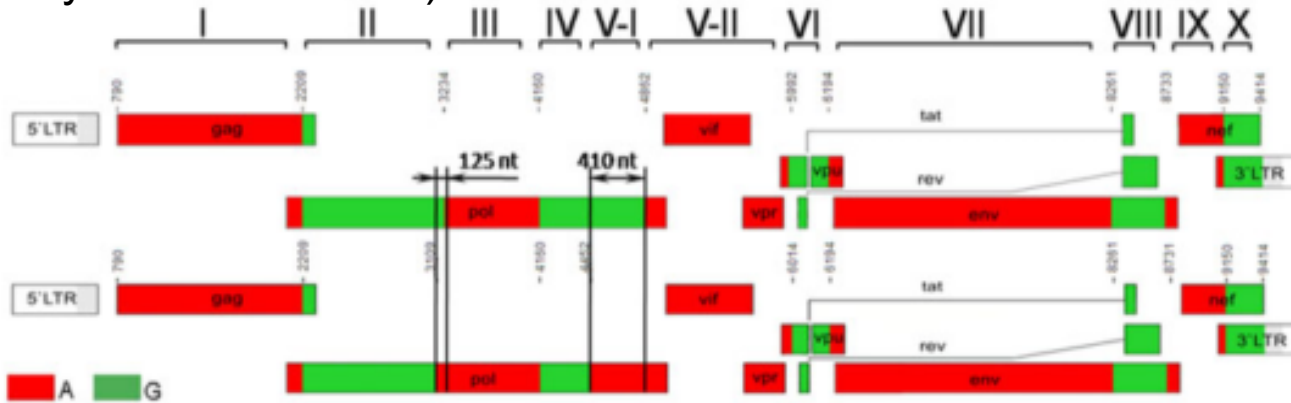


Генетическое разнообразие ВИЧ



Сибирский вариант ВИЧ-1

(Baryshev et al. 2012)

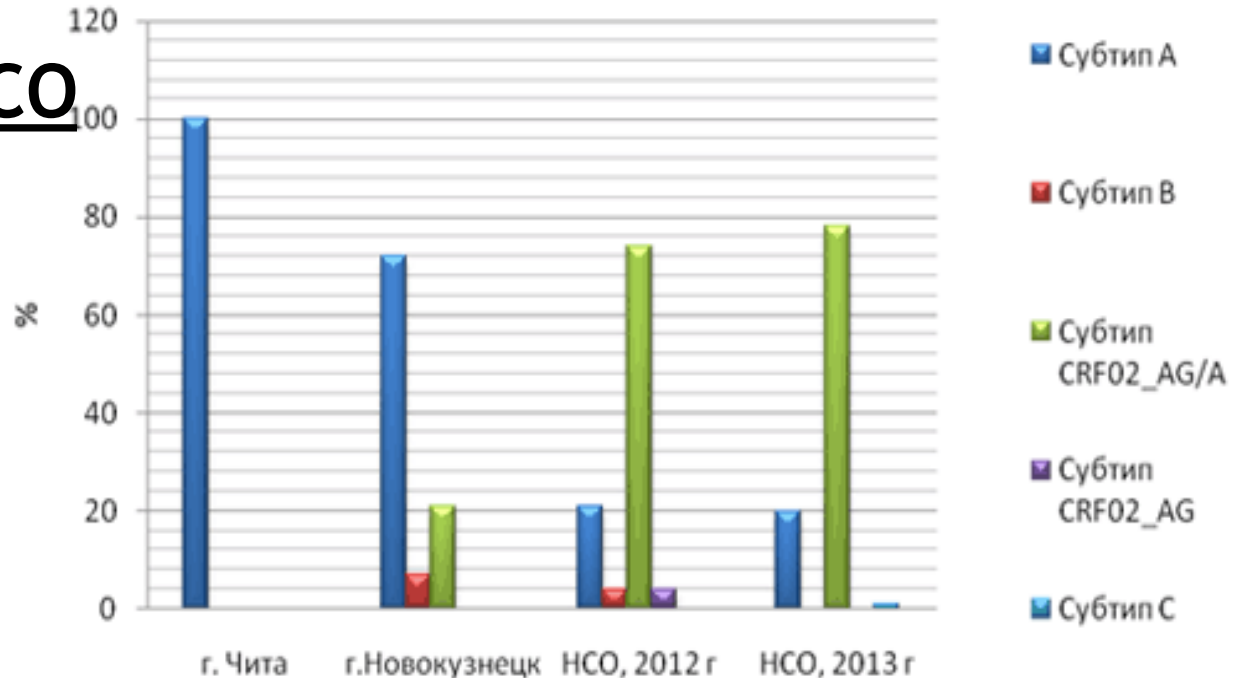


AG/Узбекистан

CRF63_02A1 /
Новосибирск

Доля CRF63 в НСО

2006г - 2%
2008г - 28%
2009г - 57%
2012г - 73%
2013г - 78%



Проблемы, создаваемые изменчивостью ВИЧ

Мутации в НК

Возможные ошибки при ПЦР-диагностике
(занижение концентраций, ложноотрицательные результаты)

Изменение структуры белков

Ускользание от иммунного ответа
Возможные ошибки при ИФА-диагностике

Появление лекарственной устойчивости в ответ на

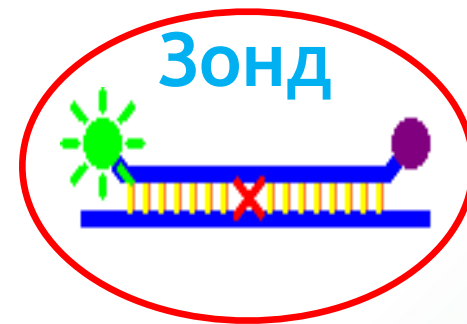
Затруднения в создании вакцины

ПЦР



Праймер

- Ухудшение гибридизации
- ↓
эффективности праймирования
- Ухудшение амплификации



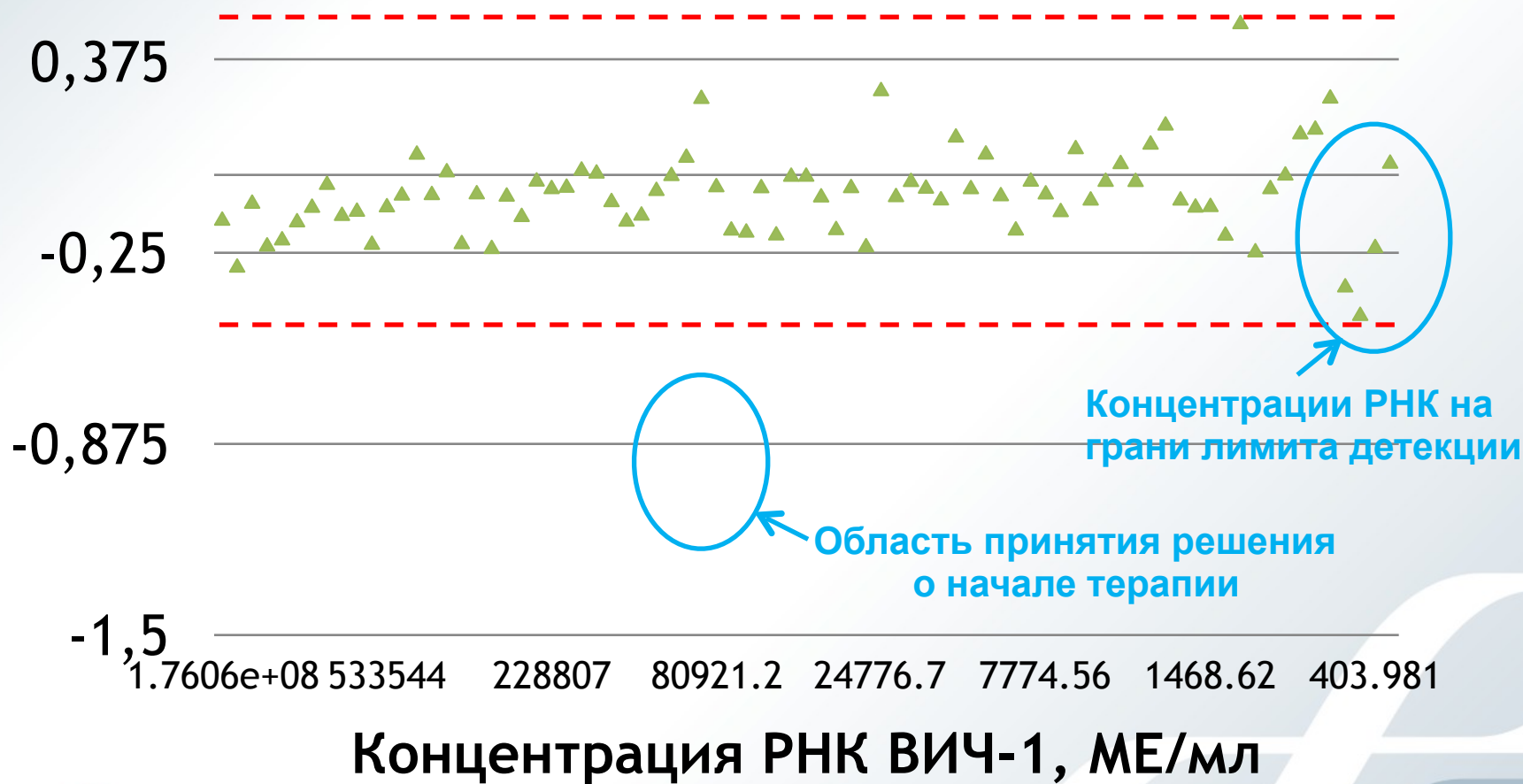
Зонд

- Ухудшение гибридизации
- ↓
эффективности расщепления
- Ухудшение детекции

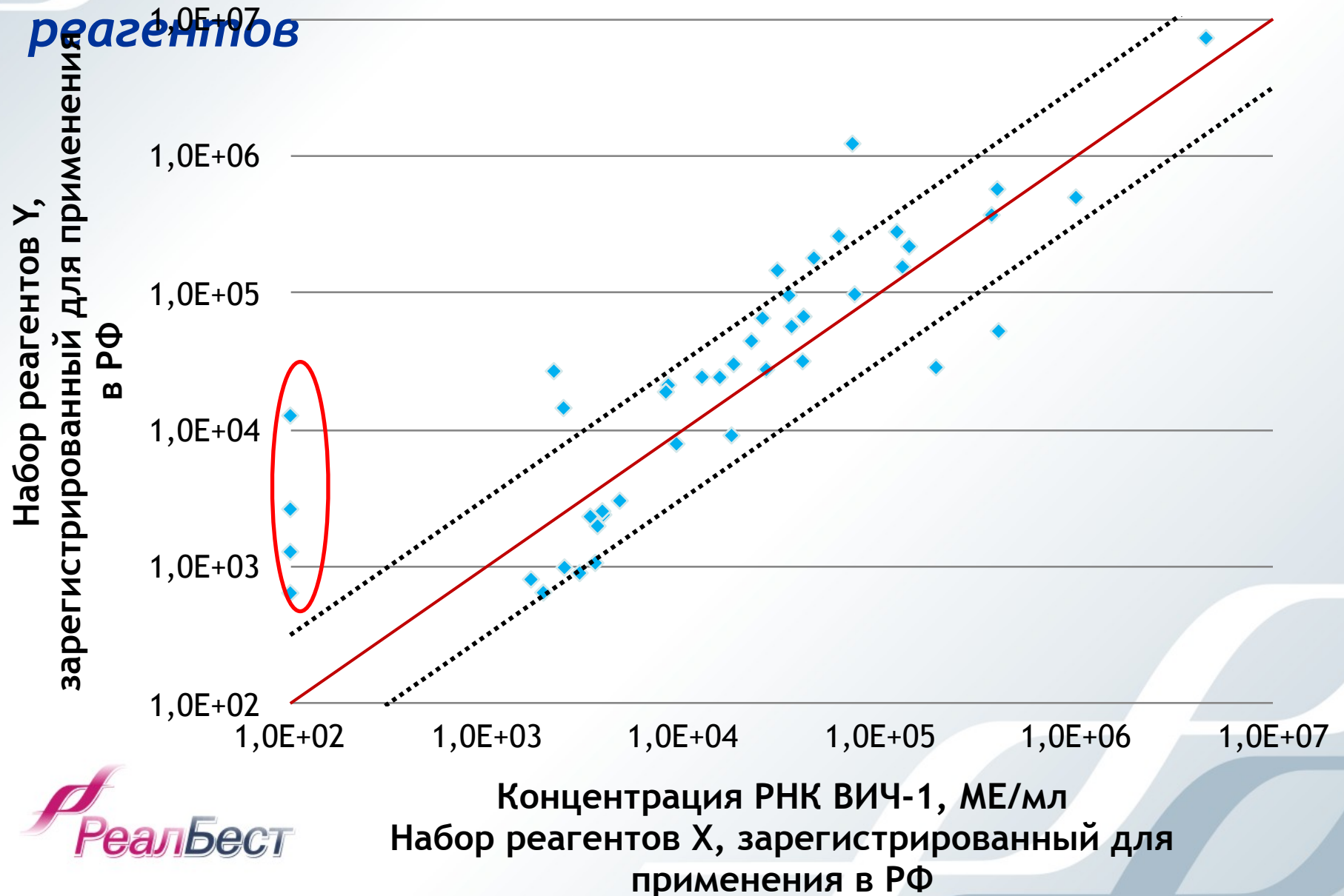
**Занижение в количественных
оценках, ложноотрицательные**

Моноклусный анализ vs. двухлокусный

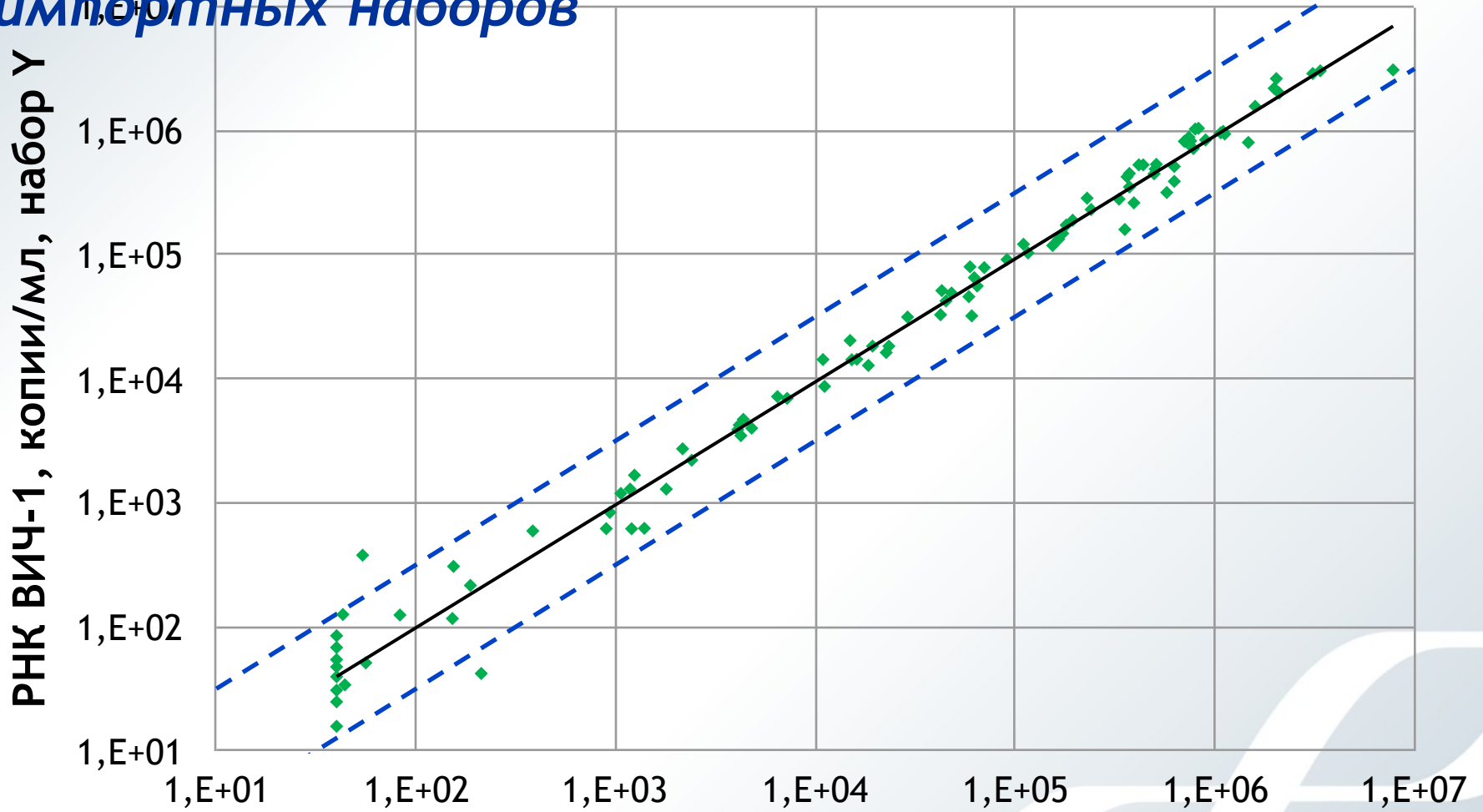
▲ локус 1
▲ локус 2



Сравнение результатов определения концентрации РНК ВИЧ-1 с помощью двух отечественных наборов реагентов



Сравнение результатов определения концентрации РНК ВИЧ-1 с помощью CE-маркированных импортных наборов



Концентрация РНК ВИЧ-1, копии/мл, набор X

COMMISSION DECISION 2009/886/EC

Table 2

NAT assays for HIV1, HCV, HBV, HTLV I/II (qualitative and quantitative; not molecular typing)

NAT	HIV1		HCV		HBV		HTLV I/II		Acceptance criteria
	qualitative	quantitative	qualitative	quantitative As for HIV quantitative	qualitative	quantitative As for HIV quantitative	qualitative	quantitative As for HIV quantitative	
Sensitivity Detection limit Detection of analytical sensitivity (IU/ml; defined on WHO standards or calibrated reference materials)	According to EP validation guideline (1): several dilution series into borderline concentration; statistical analysis (e.g. Probit analysis) on the basis of at least 24 replicates; calculation of 95 % cut-off value	Detection limit: as for qualitative tests; Quantification limit: dilutions (half-log ₁₀ or less) of calibrated reference preparations, definition of lower, upper quantification limit, precision, accuracy, "linear" measuring range, "dynamic range". Reproducibility at different concentration levels to be shown	According to EP validation guideline (1): several dilution series into borderline concentration; statistical analysis (e.g. Probit analysis) on the basis of at least 24 replicates; calculation of 95 % cut-off value		According to EP validation guideline (1): several dilution series into borderline		According to EP validation guideline (1): several dilution series into borderline		
Genotype/subtype detection/quantification efficiency	At least 10 samples per subtype (as far as available)	Dilution series of all relevant genotypes/subtypes, preferably of reference materials, as far as available	At least 10 samples per genotype (as far as available)						

Должны быть проверены серии разведений всех релевантных субтипов, желательно использовать референсные материалы, по мере их доступности

Референсная международная панель ВОЗ субтипов ВИЧ-1 (NIBSC 12/224)

Субтип/ группа	Исходны й штамм	Страна происхождения	Наличие последовательности полного генома в базе данных
A	92UG037	Уганда	Да
B	92TH014	Тайланд	Да
C	98TZ017	Танзания	Да
D	94UG114	Уганда	Да
AE	92TH001	Тайланд	Почти полный геном
F	93BR020	Бразилия	Да
G	RU570	Россия	Нет
AG-GH	VI525	Габон	Нет
N	YBF30	Камерун	Да
O	MVP5180	Камерун	Да

Коллекция для создания российской референсной панели субтипов и рекомбинантных форм ВИЧ-1

Государственный научный
центр вирусологии и
биотехнологии «Вектор»



научоград Кольцово, Новосибирская обл.



Коллекция для создания российской референсной панели субтипов и рекомбинантных форм ВИЧ-1

Места происхождения штаммов:

- Россия (Краснодар, Москва, Тюмень, Новосибирск, Кемерово, Томск, Новокузнецк, Алтайский край, Красноярск, Иркутск, Чита, Благовещенск, Хабаровск)
- Страны ВЕЦА (Узбекистан, Таджикистан, Киргизия, Казахстан, Азербайджан)

Время получения первичных изолятов: 2009-2019гг

Варианты субтипов: А (российский вариант А6, ранее IDU-A),



CRF02_AG (азиатский вариант), В,
CRF63_02A1

Референсная панель субтипов и рекомбинантных форм ВИЧ-1

- Инактивированные лиофилизированные препараты
- Длительный срок хранения без потери концентрации ВИЧ
- Упрощённые требования к условиям транспортировки
- Известная вирусная нагрузка, охарактеризованная с помощью SE-маркированных наборов и относительно международного стандарта ВОЗ
- Известные субтипы
- Известные нуклеотидные последовательности
- Релевантные штаммы для России сейчас

**Доступная для любого
российского потребителя**



Спасибо за
внимание!

 РеалБест

