

ЛАБОРАТОРНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДАВНОСТИ ИНФИЦИРОВАНИЯ ВИЧ У ПАЦИЕНТОВ С ПОЛОЖИТЕЛЬНЫМ РЕЗУЛЬТАТОМ ИММУННОГО БЛОТА
Мастерова А.А., Нешумаев Д.А., Осипов Н.В., Ольховский И.А., Шевченко Н.М.,
Виноградова М.Н., Уланова Т.И., Баранова Е.Н, Шарипова И.Н. КГБУЗ
«Красноярский краевой центр по профилактике и борьбе со СПИД и
инфекционными заболеваниями», Красноярск, ГОУ ВПО «Красноярский
государственный медицинский университет имени В.Ф. Войно-Ясенецкого»,
Красноярск Красноярский филиал ГНЦ РАМН, Красноярск,
НПО «Диагностические системы», Нижний Новгород

Введение. Стандартный алгоритм диагностики ВИЧ-инфекции принятый в РФ не предусматривает определение вероятного срока инфицирования пациентов.

Для оценки динамики инфекционного процесса необходимо знать не столько общее количество инфицированных пациентов, сколько количество вновь зараженных лиц за определенный промежуток времени. Еще один немаловажный аспект применения таких данных - оценка частоты передачи штаммов, имеющих мутации лекарственной резистентности ВИЧ. Отечественные производители диагностических тест-систем, не производят наборов для определения срока инфицирования, также нет зарубежных тест-систем, разрешенных к применению на территории РФ, в связи с чем ввоз в страну и их использование представляют определенные трудности.

Цель: разработать лабораторные тесты для выявления лиц с ранней (до 12 мес) и поздней стадией (более 12 мес) заражения ВИЧ-инфекцией и определить их прогностическую значимость.

Материалы и методы. Работа проведена на базе КГБУЗ «Краевой Центр СПИД». По лабораторной базе данных, были отобраны 124 пациента, с подтвержденным диагнозом ВИЧ и известным сроком инфицирования. Далее, сыворотки этих пациентов, с положительным результатом исследования в иммунном блоте (ИБ), были отобраны из архива лаборатории, где хранились в замороженном виде при -60 -80°C . Зная примерный срок заражения ВИЧ-инфекцией и дату взятия материала, мы разделили образцы на две группы: до 12 месяцев (70 образцов) и более 12 месяцев (75 образцов).

Далее определение давности инфицирования проводилось несколькими способами:

1) Определение авидности антител в параллельном исследовании цельного и разведенного образца сыворотки в тест-системе ДС-ИФА-ВИЧ-АТ/АГ-СПЕКТР (НПО «Диагностические системы»). Оптимальное разведение было подобрано опытным путем.

2) Выявление изотипспецифического IgG3, в стандартной и модифицированной реакции ИБ («ВИЧ- 1,2+0-Блот- Авиценна», С.Петербург).

Модификация была произведена посредством замены конъюгата входящего в тест-систему, на биотилинированные мышинные античеловеческие IgG3 (Calbiochem) и стрептавидин щелочную фосфатазу (Calbiochem). Реагенты Calbiochem были приобретены за счет средств внутривузовского гранта КрасГМУ. Время инкубации с каждым из этих реагентов, объем внесения и режимы отмывки были подобраны опытным путем.

3) Использование метода, основанного на применении специфического иммунодоминантного пептида gp41, антитела к которому вырабатываются на ранних стадиях ВИЧ-инфекции. Исследование проведено с использованием тест-системы BED EIA (Calypse, USA), любезно приобретенной для нас фирмой НПО «Диагностические системы».

Достоверность полученных отличий определяли по критерию χ^2

Результаты и обсуждение. Наиболее надежным маркером для определения срока инфицирования в тест-системе ДС-ИФА-ВИЧ-АТ/АГ- СПЕКТР явился белок gp41. При тестировании сыворотки по данному пептиду удается предсказать срок инфицирования на уровне 80% случаев. При этом, если проба была взята в срок до 12 месяцев от момента заражения, оптическая плотность в разведенном образце снижается, по сравнению с неразведенным образцом. Если сыворотка же забрана в более поздний срок, оптическая плотность повышается или остается на прежнем, высоком уровне.

Модифицированный ИБ, в большинстве случаев выявил изотипспецифические антитела подкласса IgG3 к белкам вируса ВИЧ p17, p24, gp160. Вместе с тем, анализ единичных стрипов, полученных в модифицированном ИБ, не позволил статистически достоверно разделить когорты пациентов на ранней или на поздней стадии инфекции. Более плодотворной оказалась идея одновременного комбинированного учета присутствия или отсутствия соответствующих полос в модифицированном и стандартном варианте ИБ. Использование данного подхода, позволило предсказать с 95% вероятностью срок инфицирования в 50,6% случаев.

Использование тест-системы BED EIA (Calypse) позволило правильно определить срок инфицирования в 80% случаев. Наибольший процент ошибок (31%) был выявлен в группе инфицированных более 12 месяцев. Точность определения когорты сероконверторов составила более 90%.

Вывод. Наиболее эффективным для определения срока инфицирования является использование белка gp41, при этом точность диагностики достигает 80% ($p < 0,05$). Определение давности заражения методом изотипспецифических антител класса IgG3, позволяет правильно классифицировать срок инфицирования только в 50% случаев.