

Патрушева Н.Б.¹, Желвакова Н.В.¹, Усольцева О.П.¹, Ахряпина И.А.¹, Бейкин Я.Б.^{1,2}

Значимость определения антигена p24 у лиц с отрицательным и сомнительным результатом иммунного блота на ВИЧ-инфекцию

1 - МАУ «Клинико-диагностический центр», г. Екатеринбург; 2 – Институт иммунологии и физиологии УрОРАН, г. Екатеринбург

Beikin Y.B., Patrusheva N.B., Zhelvakova N.V., Usoltseva O.P., Akhryapina I.A.

The importance of p24 antigen identification among people with negative and controversial results of HIV infection immune blot

Резюме

С целью определения целесообразности включения в стандартный алгоритм тестирования на ВИЧ-инфекцию анализа на антиген p24, были проанализированы результаты повторных исследований в иммунном блоте (ИБ) у 183 человек. Все пациенты при первичном обследовании имели положительные результаты в иммуноферментном анализе (ИФА) на ВИЧ и отрицательные или сомнительные результаты ИБ. У 71 пациента при первичном обследовании был выявлен антиген p24, у 112 получен отрицательный результат. В результате проведенного исследования было установлено, что использование данного теста повышает эффективность тестирования на ВИЧ, и в 84,5% случаев выявление антигена p24 у лиц с сомнительным и отрицательным результатом ИБ свидетельствует о наличии ранней стадии ВИЧ-инфекции. **Ключевые слова:** ВИЧ-инфекция, иммунный блот, антиген p24

Summary

In order to determine whether to include in the standard HIV testing algorithm p24 antigen analysis, the results of the repeated studies in immune blot (IB) of 183 people have been analyzed. All patients in the initial examination had HIV positive results in enzyme immunodetection and HIV negative or controversial results in immune blot. 71 patients were identified p24 antigen in the initial examination, and 112 people showed negative result. Our studies showed that the use of this test increases the efficiency of HIV testing, and in 84.5% of cases p24 antigen detection among people with controversial and negative immune blot results indicates the presence of HIV infection early stage.

Keywords: HIV infection, immune blot, p24 antigen

Введение

Глобальная эпидемия ВИЧ-инфекции развивается уже более 30 лет. Интенсивная международная миграция привела к заносу ВИЧ из зон первоначального распространения практически во все страны мира. Свердловская область и, в частности г. Екатеринбург, относится к числу наиболее пораженных ВИЧ регионов РФ. В Екатеринбурге и Свердловской области интенсивное распространение ВИЧ-инфекции началось с 2000 года, и по данным Федерального центра СПИД, начиная с 2002 года, Свердловская область занимает 2-3 место по заболеваемости и распространенности ВИЧ среди всех субъектов федерации.

По данным Федерального центра СПИД общее число россиян, инфицированных ВИЧ, зарегистрированных в Российской Федерации на 31 декабря 2014г. составило 907 607 человек. За 2014г. территориальными центрами по профилактике и борьбе со СПИД было сообщено о 85 252 новых случаях ВИЧ-инфекции среди граждан Рос-

сийской Федерации, что на 6,9% больше чем за 2013 г. Показатель заболеваемости составил в 2014 году 58,4 на 100 тыс. населения, превысив на 5% показатель 2013 года [1]. По показателям заболеваемости и пораженности ВИЧ-инфекцией на 31 декабря 2014 года Свердловская область занимала второе место в Российской Федерации после Кемеровской и Иркутской областей.

После заражения ВИЧ-инфекцией хронологическая последовательность появления в сыворотке маркеров, идентифицирующих инфекцию, является следующей: вирусная РНК, антиген p24 и антитела против ВИЧ. Точный момент времени, когда могут быть выявлены РНК ВИЧ, антиген p24 или антитела, зависит от нескольких факторов: методики исследования, индивидуального ответа организма и т.д. Вирусная РНК может быть определена с помощью метода ПЦР в самой начальной стадии заболевания. Антиген p24 ВИЧ может появляться уже через 2 недели после заражения и оставаться в течение 3-5

месяцев. Методы определения антител нового поколения могут выявлять антитела у большинства лиц приблизительно через 3-4 недели после заражения. [2].

Для скрининговых обследований населения на ВИЧ-инфекцию в настоящее время используют метод иммуноферментного анализа (ИФА). Тест-системы последнего поколения позволяют выявлять не только специфические антитела к ВИЧ, но и антиген р24 ВИЧ-1 посредством введения в систему моноклональных антител к белку р24 ВИЧ-1, что повышает чувствительность тест-системы и позволяет выявлять ВИЧ-инфекцию на ранних сроках, когда антитела к вирусу еще отсутствуют.

С 2011 года использование иммуноферментных тест-систем, выявляющих одновременно антигены и антитела ВИЧ, стало стандартным методом лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции, предписанным СП 3.1.5.2826-10 «Профилактика ВИЧ-инфекции». Для подтверждения положительных результатов ИФА применяют подтверждающие тесты (иммунный, линейный блот) (ИБ). При получении отрицательного и сомнительного результата в иммунном блоте рекомендовано исследовать сыворотку на определение антигена р24 или ДНК/РНК ВИЧ. При выявлении антигена р24 или ДНК/РНК ВИЧ повторное исследование в ИБ проводят через 2,4,6 недель [5].

Существует период времени от момента заражения до появления детектируемого уровня антител, когда у инфицированного лица может быть определен только отрицательный или сомнительный результат исследования в ИБ. Использование в этот период только одного ИБ на заключительной стадии лабораторного диагноза исключает выявление ВИЧ у лиц, имеющих положительный результат ИФА за счет антигенов ВИЧ, и приводит к тому, что лица с ранней стадией ВИЧ-инфекции не будут выявлены и получат отрицательные результаты лабораторного обследования. Исследования последних лет показали, что, примерно половина всех случаев заражения происходит от лиц, находящихся именно на ранней стадии инфицирования [3].

Определение антигена р24 с помощью иммуноферментного анализа – простой и экономный способ выявления вирусного белка в крови больного во время интенсивной репликации вируса в первые недели после инфицирования. Тест на антиген р24 доступен лабораториям, располагающим обычными возможностями для проведения ИФА. По сравнению с определением вирусной нагрузки методом полимеразной цепной реакции, он менее затратен и трудоемок. Следует учитывать, что данный тест выявляет только свободный антиген р24, не связанный с антителами [4]. До 2011 года данный тест не был включен в стандартный алгоритм постановки диагноза ВИЧ. В 2011г. он был рекомендован к использованию при получении отрицательного или сомнительного результата ИБ на ВИЧ [5].

Целью работы являлась оценка целесообразности включения метода определения антигена р24 ВИЧ-1 в стандартный алгоритм тестирования на ВИЧ-инфекцию.

Материалы и методы

Исследования на ВИЧ проводили в лаборатории диагностики ВИЧ МАУ «Клинико-диагностический центр» в соответствии СП 3.1.5.2826-10 «Профилактика ВИЧ-инфекции». В работе использовали коммерческие иммуноферментные тест-системы для одновременного выявления антител к ВИЧ 1 и 2 типов и антигена р24: «ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН», «ДС-ИФА-ВИЧ-АГ+АТ» производства НПО «Диагностические системы», «ВИЧ-1,2-АГ/АТ» производства ЗАО «Медико-биологический союз», «АГАТ-ВИЧ-1,2» производства ЗАО «ЭКОлаб»; наборы для проведения иммунного блота отечественного и зарубежного производства, разрешенные к применению на территории РФ: «МПБА-Блот-ВИЧ-1, ВИЧ-2» производства ООО «МПБА диагностика», «ИН-НОДЖЕНЕТИКС Н.В.», Бельгия; и иммуноферментную тест-систему для выявления антигена р24 ВИЧ-1 «ДС-ИФА-ВИЧ-АГ-скрин» производства НПО «Диагностические системы». При определении антигена р24 использовали как скрининговый, так и подтверждающий тест (реакция нейтрализации).

Исследования выполняли на оборудовании фирмы «BioRad»: спектрофотометр модель 680, вошер PW-40, автоматический иммуноферментный анализатор «Еволис», также использовали шейкер-термостаты германской фирмы «Heidolph».

Наличие ранней стадии ВИЧ-инфекции у лиц с отрицательным и сомнительным ИБ и положительной реакцией на антиген р24 подтверждали ретроспективно путем повторного тестирования сыворотки от пациентов в ИБ в сроки от 2 недель до 1,5 лет с момента обнаружения антигена р24 (время обращения пациента для повторного обследования).

Результаты и обсуждение

Были проанализированы результаты скрининга и подтверждающих исследований, проведенные в лаборатории диагностики ВИЧ МАУ «КДЦ» г. Екатеринбурга за период с декабря 2013г по ноябрь 2015г.

Всего за указанный период в ИБ было обследовано 5489 человек, из них у 1532 был выявлен отрицательный и у 288 сомнительный результат ИБ. Антиген р24 был обнаружен у 284 пациентов с сомнительным и отрицательным результатом ИБ. Из 284 пациентов на повторное исследование поступила кровь от 71 человека. Из них у 60 в ИБ был получен положительный, у 7 – сомнительный и у 4 - отрицательный результат. Из 60 пациентов с положительным результатом ИБ 20 при первичном обследовании имели сомнительный и 40 – отрицательный результат ИБ.

Повторно отрицательный результат ИБ был зарегистрирован у 4 пациентов, причем у двоих ИФА на антиген р24 был снова положительным.

Сомнительный результат ИБ при повторном обследовании был получен у 7 пациентов, из них двое при первичном обследовании имели отрицательный результат ИБ и пятеро – сомнительный. У двух человек из пяти

с первичным сомнительным результатом ИБ при повторном обследовании было выявлено нарастание спектра антител к ВИЧ.

Таким образом, определение антигена р24 у лиц с положительными результатами ИФА и отрицательным или сомнительным результатом ИБ является целесообразным и способствует ранней диагностике ВИЧ-инфекции. В большинстве случаев (84,5%) положительный результат ИФА на антиген р24 был выявлен у пациентов, которые находились на ранней стадии ВИЧ-инфекции, и при повторном обследовании у них был зарегистрирован положительный результат ИБ.

Было установлено, что при проведении ИФА на антиген р24 могут наблюдаться ложноположительные результаты. Из 71 повторно обследованных пациентов, у двух (2,8%) антитела к ВИЧ в ИБ в динамике не были выявлены, в то время как ИФА на антиген р24 продолжал оставаться положительным.

Также повторно были обследованы 112 серопозитивных в ИФА на ВИЧ, имеющие при первичном обследовании отрицательные и сомнительные результаты ИБ и отрицательные результаты ИФА на антиген р24. У четверых из них при повторном обследовании был выявлен положительный ИБ. Таким образом, из 112 пациентов у четверых (4,5%) результат ИФА на антиген р24 можно расценивать как ложноотрицательный. Наличие ложноотрицательных результатов можно объяснить тем, что антиген р24 в используемой тест-системе может быть выявлен только в том случае, если он находится в свободном, не связанном с антителами состоянии, а применение методов, разрушающих иммунные комплексы, при постановке на используемой тест-системе не предусмотрено.

Выводы

1. У 84,5% лиц с отрицательным и сомнительным результатом ИБ и положительным результатом ИФА на антиген р24 при повторном обследовании была зафикси-

рована сероконверсия и выявлен положительный результат ИБ на ВИЧ. Таким образом, включение в стандартный алгоритм диагностики ВИЧ-инфекции нового теста на выявление антигена р24 ВИЧ-1 повышает его эффективность за счет выявления ВИЧ-инфицированных на ранней стадии заболевания, до момента наработки антител в количестве достаточном для детекции современными методами лабораторной диагностики. Использование данного теста может иметь особое значение при обследовании беременных женщин и профессиональном травматизме медицинского персонала, когда несвоевременное назначение экстренной химиопрофилактики может привести к непоправимым последствиям.

2. Окончательная постановка лабораторного диагноза ВИЧ-инфекции у лиц с положительным результатом ИФА на антиген р24 при отрицательном или сомнительном результате ИБ должна основываться или на повторных результатах ИБ, или на подтверждении наличия вируса в организме молекулярно-генетическими методами, т.к. при проведении ИФА на антиген р24 могут иметь место как ложноположительные, так и ложноотрицательные результаты. ■

Патрушева Н.Б. – к.м.н., заведующая лабораторией диагностики ВИЧ МАУ «КДЦ», г. Екатеринбург; Желвакова Н.В. – врач лаборатории диагностики ВИЧ МАУ «КДЦ», г. Екатеринбург; Усальцева О.П. – биолог лаборатории диагностики ВИЧ МАУ «КДЦ», г. Екатеринбург; Ахряпина И.А. – врач лаборатории диагностики ВИЧ МАУ «КДЦ», г. Екатеринбург; Бейкин Я.Б. – д.м.н., профессор, главный врач МАУ «КДЦ», г. Екатеринбург, заведующий лабораторией иммунопатофизиологии УрОРАН, г. Екатеринбург; Автор, ответственный за переписку - Патрушева Н.Б., 620144, г. Екатеринбург, ул. 8 марта 78В, тел. (343)205-82-56, e-mail: pnb@kdc-lab.ru

Литература:

1. *Справка Федерального научно-методического Центра по профилактике и борьбе со СПИДом «ВИЧ-инфекция в Российской Федерации на 31 декабря 2014 г.» <http://hivruussia.metodlab.ru/files/spravkaHIV2014.pdf/>*
2. Шарипова И.Н., Пименов В.К., Уланова Т.И. и др. Новые тест-системы ИФА для раннего выявления маркеров ВИЧ. *Здравоохранение и медицинская техника 2004*, 9: 28.
3. Нешумаев Д.А. Прогностическая и эпидемиологическая значимость выявления антигена р24 в диагностическом алгоритме ВИЧ-инфекции (диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук). Омск: 1-119.
4. Нешумаев Д.А., Ольховский И.А., Баранова Е.Н. и др. Прогностическая значимость выявления антигена ВИЧ р24 при использовании тест-систем с повышенной аналитической чувствительностью. *Клиническая лабораторная диагностика 2009*, 2: 40-2.
5. Санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.5.2826-10 «Профилактика ВИЧ-инфекции».