Egy szájnyálkahártya transsudatumot használó HIV-1 antitest- szûrési és verifikációs vizsgálati rendszer értékelése

Cikk: **Gallo D. és mtsai - JAMA 277, 254, 1997**

Az elmúlt 10 év során számos közlemény jelent meg arról, hogy a HIV-1 ellenes antitestek jelen vannak a fertõzöttek nyálában. Nyilvánvaló, hogy a nyál-tesztnek, mint nem-invazív eljárásnak számos elõnye van a szérummal végzett vizsgálattal szemben. A minták nyerése és kezelése biztonságosabb, könnyebb a vizsgálandók megnyerése is a mintavételhez. Különösen ajánlott ez az eljárás az intravénás kábítószerezõknél, akiktõl vénáik elhasználtsága miatt igen nehéz vérmintát nyerni.

Korábban azonban több olyan szempont is felmerült, amelyek kétséget ébresztettek a nyáltesztek használhatóságát illetõen. A fõ problémák részben abból adódtak, hogy felismerték: a nyálminták antitest koncentrációja erõsen függ a mintavétel módszerétõl. Sokszor azért is tûntek a nyálteszttel kapott eredmények megbízhatatlannak, mert a minták vizsgálatát a nélkül végezték, hogy az eredetileg szérumvizsgálatra kidolgozott eljárásokat adaptálták volna a nyálminták kisebb antitest koncentrációjához.

A legkorábbi vizsgálatokat olyan nyál vagy köpet mintákkal végezték, amelyeket a vizsgálati alanyok közvetlenül a gyûjtõedénybe köptek. A teljes nyálminta a parotis, a submandibularis mirigyek és a kisebb nyálmirigyek secretumának keveréke, de tartalmaz mucint (amely nagy viscositása miatt megnehezítheti a minta pipettázását), baktériumokat (melyek protease enzimjei az IgG antitesteket lebonthatják), levált epithelialis sejteket és nyálkahártya transsudatumot is. A teljes nyál IgG tartalma aránylag kicsi, ez is a szájnyálkahártya transsudatumból származik. A szájnyálkahártya transsudatum (SZNYT) a vérplazma fehérjéinek az ínyen és a szájnyálkahártyán keresztül történõ transsudatiójának eredménye.

A nyálminták használatával kapcsolatos fenti problémák kiküszöbölése céljából szerzõk egy speciális eszközt alkalmaztak a SZNYT-k gyûjtésére. Az eszköz egy olyan ozmotikus grádienst hoz létre, amely elõsegíti az intestitialis folyadék transsudatióját a szájnyálkahártyán és az ínyen át. Korábbi vizsgálatok szerint az ezzel az eszközzel nyert SZNYT kb. 4-szer több IgG-t tartalmaz, mint a teljes nyál. Az eljárás használhatóságát tovább javítja egy nem-toxikus stabilizáló konzerváló folyadék használata, amely megakadályozza a baktériumok elszaporodását a vizsgálati mintában, és ezáltal az IgG degradációját is.

Vizsgálati egyének és módszerek
11 különbözõvizsgálati helyen (véradó állomások, STD klinikák, HIV-betegeket ellátó intézmények, hemofília központ, egyéb egészségügyi intézmények) 3570 egyéntõl gyûjtöttek az általuk kifejlesztett eszközzel SZNYT mintákat. Közülük 2380 alacsony HIV rizikójú egyénektõl, 698 pedig fokozott HIV fertõzési kockázatnak kitett (homo- és biszexuális férfiak, intravénás kábítószerezõk, prostituáltak, hemofiliások, 1985 elõtt vérátömlesztést kapottak, ill. ezek szexuális partnerei) személyektõl származott. 242 AIDS-es betegtõl is vettek SZNYT mintát. 248 minta pedig olyan személyektõl származott, akiknek betegsége (nem-HIV vírus fertõzések, autoimmun betegségek, polyclonalis vagy monoclonalis gammopathia), ill. állapota (korábban több gyermeket szült nõk) ál-pozitív HIV-antitest tesztet eredményezhet. Valamennyi vizsgált egyén esetében az SZNYT minta mellett szérummintából is megtörtént a HIV ellenanyag vizsgálat.

A SZNYT mintákat egy OraSure HIV-1 Oral Specimen Collection Device elnevezésû eszközzel gyûjtötték. Az eszköz egy mûanyag pálcára ráerõsített pamutszálakból készült párnácskából áll, amelyet elõzõleg a transsudatiót elõsegítõ hypertoniás sóoldattal kezeltek. Az eszközt az alsó fogsor ínye és a pofa nyálkahártya közé helyezik, és itt tartják 2 percen keresztül. Ezután a párnácskát nem-toxikus konzerváló oldatot tartalmazó edénybe helyezik. A mintákat a gyártó által elõírt feltételek szerint juttatták el a vizsgáló laboratóriumokba, ahol ezeket 4oC-on tárolták és a gyûjtés után 3 héten belül megvizsgálták.

A minta vizsgálata az Organon Teknika Oral Fluid Vironostika HIV-1 Microelisa System segítségével történt. Ez lényegében azonos a szérumvizsgálatra használt Vironostika kittel, azonban az eljárást úgy módosították, hogy nem 1:75, hanem 1:2 arányban történik a SZNYT minta hígítása. A kapott eredmények verifikálása az Epitope Inc. által kifejlesztett speciális Western blot kit segítségével történt. A teszt érzékenységét különbözõmódszerekkel fokozták. Speciális, az SZNYT-ra erõsen pozitív, gyengén pozitív és negatív kontrollokat is tartalmaz a kit. A minta hígítását a szérumhoz képest itt is jelentõsen, csaknem hetedrészére csökkentették, és a mintával való inkubálás idejét 1 óráról 3 órára növelték meg. A végrehajtott módosítások eredményeképpen minimális mennyiségû SZNYT minta is elegendõ volt a vizsgálathoz.

A vizsgálati protokoll szerint az elsõ EIA tesztben nem-reaktív mintákat HIV antitest negatívnak tekintették. A reaktív mintákat ismételten megvizsgálták. Ha legalább 2/3 esetben reaktív volt a teszt, elvégezték a verifikációs vizsgálatot is a Western blottal. Ha ez utóbbi negatív volt, a mintát HIV-negatívnak minõsítették, ha a Western blot pozitív eredményt adott, a SZNYT mintát HIV pozitívnak tekintették, bizonytalan WB eredmény esetén ismételt mintát kértek a vizsgált egyéntõl.

Eredmények
672 HIV szeropozitív egyén esetében történt meg a SZNYT minta vizsgálata is. 65 esetben pozitív, 7-ben bizonytalan volt az EIA teszt eredménye, negatív eredményt egy esetben kaptak, amelyet a WB vizsgálatban bizonytalannak találtak. Tehát a SZNYT EIA vizsgálat érzékenysége 99,9% (672/673) volt. Mivel a WB vizsgálat elvégzése után valamennyi EIA reaktív mintát vagy pozitívnak vagy bizonytalannak minõsítették, tehát egy minta sem volt verifikáltan ál-negatív, a vizsgálat pozitív prediktív értékét 100%-nak lehetett minõsíteni.

2897 HIV szeronegatív egyéntõl származó SZNYT mintát teszteltek. 2880 egyénnél az EIA non-reaktívnak bizonyult, míg 17 minta (ezek közül 14 alacsony rizikójú, 3 magas rizikójú egyéntõl származott) ismételten reaktív volt az EIA tesztben. Ezek közül a Western blot 13-ban negatív eredményt adott. Így a 2897 HIV-vel nem fertõzött egyén közül 2893-at (99,9%) a SZNYT vizsgálat alapján is nem-fertõzöttnek lehetett minõsíteni. A maradék 4 minta a WB vizsgálatban bizonytalan eredményt adott, így végeredményben a vizsgálat negatív prediktív értéke 99,97% volt.

Amikor az ugyanazon egyénektõl nyert szérum és SZNYT mintákban végzett WB vizsgálat eredményeit összehasonlították, azt találták, hogy a csíkok száma és erõssége általában megegyezik a kétféle minta esetében.

Megbeszélés
A kapott eredmények szerint az alkalmazott eszközzel nyert mintáknak a használt EIA és WB tesztekkel történõ vizsgálata igen pontos eredményt ad, egyetlen (a betegség igen késõi stádiumában lévõ beteg) kivételével mind a 3570 vizsgált egyén esetében korrekt eredményt kaptak. A 3569 személy közül 3558-ban már az elsõ EIA teszt reaktivitása alapján megállapítható volt a helyes HIV-antitest státusz. A vizsgálat pozitív, ill. negatív prediktív értéke igen jó (100, ill. 99,97%) volt. A vizsgált populációban nagy gyakorisággal fordultak elõ HIV fertõzöttek. Kiszámítható, hogy egy alacsony rizikójú populációban (pl. az USA összlakosságában, ahol a HIV-szeroprevalencia 0,4%) a vizsgálat negatív prediktív értéke meghaladná a 99,999%-ot (kevesebb, mint 1 ál-negatív 100 000 lakosra számítva).

Korábban két vizsgálatban használták az itt alkalmazott SZNYT mintavételi eszközt, hasonlóan jó eredménnyel. Ezek az eredmények lényegesen jobbak, mint a közvetlen vizsgálati edénybe köpött vagy más mintavételi eszközzel kapott adatok. Ennek valószínûleg két oka van: a) a SZNYT mintákban az IgG koncentráció (7,2-100 mg/l) lényegesen magasabb, mint az a 0,5 mg/l IgG koncentráció, amely Mortimer és Parry (Clin.Diagn.Virol. 2,231,1994) mérései szerint a HIV-antitestek kimutatásához a nyálmintákban feltétlenül szükséges. A másik elõnye jelen módszernek az, hogy a konzerváló folyadék megakadályozza az IgG lebomlását, amely az egy idõben levett nyálmintákban gyorsan bekövetkezik.

A tanulmány megírása idején a mintavételi eszköz és a használt EIA és WB tesztek volt az egyetlen az FDA által a SZNYT-ok HIV-antitest tartalmának vizsgálatára jóváhagyott módszer. A korábban már leírt elõnyei (non-invazivitása miatt nem áll fenn az egészségügyi dolgozók véletlen sérülésbõl eredõ HIV fertõzõdésének veszélye, a vizsgálandó egyének könnyebben egyeznek bel a SZNYT, mint a vérminta vételébe, az iv. kábítószereseknél is alkalmazható, akiktõl a vérvétel komoly nehézségbe ütközik) a cikkben leírt eljárás könnyen elvégezhetõ, a mintavételi eljárást könnyû betanítani, nem igényel képzett személyzetet. Mivel a minták levétel után stabilak (legalább 3 hetet kibírnak még 37oC-os hõmérsékleten is) nem szükséges a vizsgálandó egyéneknek a mintavételi helyre utazniuk, amely különösen a fejlõdõ országokban igen fontos szempont. Ha mind ezeket az elõnyöket figyelembe vesszük, akkor a SZNYT vizsgálati rendszer költsége nem magasabb, vagy még alacsonyabb is lehet, mint a vérszérum tesztelésén alapuló rendszereké.

Szerzõk hangsúlyozzák, hogy a HIV szerológiai vizsgálatok elvégzésének nemcsak epidemiológiai szempontból van jelentõsége, de ezek igen lényegesek a vizsgált egyének szempontjából is. A negatív vizsgálati eredménye is arra késztetheti a vizsgált egyént, hogy szexuális magatartása megváltoztatásával a további fertõzési veszélyt csökkentse. Ha a vizsgált egyén fertõzöttsége bebizonyosodik, akkor a tanácsadás mellett lehetõvé válik a kombinált terápia korai megindítása is, amely a legújabb

vizsgálatok szerint eredményes lehet és csökkentheti a verticalis átvitelt is. Egy egyszerû, nem-invazív, a vérszérum tesztekkel azonos érzékenységû és specificitású teszt használata a HIV szerológiai vizsgálatok további elterjedését segítheti elõ.