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 kutatómunkát végző jelezte meg arról, hogy a HIV-1 elleni antitestek jelen vannak a fertőzöttek nyálában. Nyilvánvaló, hogy a nyál-tesztek, mint nem-invazív eljárásnak szánsa előnye van a szérummal végzett vizsgálattal szemben. A minták nyerése és kezelése biztonságosabb, könnyebb a vizsgálatokhoz megnyerése is a mintavételhez. Különösen ajánlott ez az eljárás az intravénas kábítószerezőknek, akiknél vénáik elhasználódása miatt igen nehéz vénamintát nyerni.

Korábban azonban több olyan szempont is felmerült, amelyek kétséget ébresztettek a nyálmesztek használhatóságát illetően. A fő problémák részben abból adódtak, hogy felismerték: a nyálmisták antitest koncentrációja erősen függ a mintavétel módszerétől. Sokszor azért is tűntek a nyálteszttel kapott eredmények meghiúsultnak, 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 képet mintákkal végezték, amelyeket a vizsgálati alanyok közvetlenül a gyűjtőedénybe köptek. A teljes nyálmintа a parotis, a submandibularis mirigyek és a kisebb nyálmirigyek secretumának keveréke, de tartalmaz mucint (amely nagy viszcozitása miatt megnehezíthetí a minta pipettázását), baktériumokat (melyek protease enzimjei az IgG antitesteket lebonthatják), levált epithelialis sejteket és nyálkahártya transsudatumot is. A teljes nyál IgG tartalma ariánylag kicsi, ez is a szájnyálkahártya transsudatumból származik. A szájnyálkahártya transsudatum (SZNYT) a vérplazma fehérjéinek az ínyen és a szájnyálkahártyán keresztül történő transsudatójának eredménye.

A nyálmisták használatával kapcsolatos fenti problémák kiküszöbölése céljából szerzők egy speciális eszközt alkalmaztak a SZNYT-k gyűjtésére. Az eszköz egy olyan szmotikus grádienst hoz létre, amely előnyeiti az intestitialis folyadék transsudatidját 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 erősíti az IgG degradációját is.

Vizsgálati egyének és módszerek
11 különböző vizsgálati helyen (védőnői állomások, STD klinikák, HIV-betegeket ellátó intézmények, hemofília klinport, egyéb egészségügyi intézmények) 3570 egyénétől gyűjtöttek az általuk kifejlesztett eszközzel SZNYT mintákat. Közülük 2380 alacsony HIV rizikójú egyénektől, 698 pedig fokozott HIV fertőzési kockázatnak kitett (homo- és bisznemszális férfiak, intravénás kábítószerezők, prostituáltak, hemofiliások, 1985 előtt vérátömlesztést kapottak, ill. szex szemszális partnerei) személyektől származott. 242 AIDS-es betegből is vettek SZNYT mintát. 248 minta pedig olyan személyektől származott, akiknek betegsége (nem-HIV vírus fertőzések, autoimmun betegségek, polyclonalis vagy monoclonalis gammopathia), ill. állapota (korábban több gyermeket szült nők) áb pozitív HIV-antitest teszttel eredményezhet. Valamennyi vizsgált egyén esetében az SZNYT minta mellett szérumminitáltól is megkértétek a HIV ellenanyag vizsgálat.

A SZNYT mintákat egy OraSure HIV-1 Oral Specimen Collection Device elnevezésű eszközzel gyűjtötték. Az eszköz egy műanyag pálcára rögzített pamutszálakból készült párnácskából áll, amelyet ellátálag a transsudatót előnyűlő hypertonás oldattal kezelnek. 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 előírt feltételek szerint juttatták el a vizsgáló laboratóriumokba, ahol ezeket 4oC-on tárolták és a gyűjtés után 3 héten belül megvizsgálták.

A minta vizsgálata az Organon Teknika Oral Fluid Viroosztika HIV-1 Microelisa System segítségével történt. Ez lényegében azonos a szérumvizsgálatra használt Viroosztika 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 különböző módszerekkel fokozták. Speciális, az SZNYT-ra erősen pozitív, gyengén pozitív és negatív kontrollokat is tartalmaz a kit. A minta hígítását a szérumhoz képest itt is jelentősen, csaknem hetedrészére csökkentették, és a mintával való inkubálás idejét 1 óráról 3 órára növelték meg. A vizsgálhajtott módosítások eredményképpen minimális mennyiségű SZNYT minta is elegendő volt a vizsgálathoz.

A vizsgálati protokoll szerint az első EIA teszthen 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 minősítették, ha a Western blot pozitív eredményt adott, a SZNYT mintát HIV pozitívnak tekintették, bizonytalan WB eredmény esetén ismételt mintát kértek a vizsgált egyéntől.

Eredmények
672 HIV szérumpozitív 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 minősítették, tehát egy minta sem volt verifikáltan él-negatív, a vizsgálat pozitív prediktív értékét 100%-nak lehetett minősíteni.

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

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

Megbeszélés
A kapott eredmények szerint az alkalmazott eszközzel nyert mintáknak a használt EIA és WB teszteklel történő vizsgálata igen pontos eredményt ad, egyetlen (a betegség igen késői stádiumában lévő beteg) kivételével mind a 3570 vizsgált egyén esetében korrekt eredményt kaptak. A 3569 személy közül 3558-ban már az első 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 fordulnak elő HIV fertőzöttek. 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 (kerekítve, mint 1 él-negatív 100 000 lakosra számítva).

Korábban két vizsgálatban használták az itt alkalmazott SZNYT mintavételi eszközt, hasonlóan jó eredményeket. Ezek az eredmények lényegesen jobbak, mint a közvetlen vizsgálati eljárége köpött vagy más mintavételi eszközzel kapott adatok. Ennek valószínűleg 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 felbiztosnál szükséges. A másik előnye jelen módszernek az, hogy a konzerváló folyadék megakadályozza az IgG lebomlását, amely az egy időben levett nyálmintákban gyorsan bekövetkezik.

A tanulmány megírása idején a mintavételi eszköz és a használt EIA és WB teszttek volt az egyetlen az FDA által a SZNYT-ok HIV-antitest tartalmának vizsgálására jóváhagyott módszer. A korábban már leírt előnyei (non-invazitvitása miatt nem áll fenn az egészségügyi dolgozók véletlen sérülésből eredő HIV fertőződésének veszélye, a vizsgálandó egyének könnyebben egyszerek bel a SZNYT, mint a vérmintа vételébe, az iv. kábítószerezőknél is alkalmazható, akiktől a vérvétel komoly nehézségbe ütközik) a cikkben leírt eljárás könnyen elvégezhető, a mintavételi eljárást könnyű betanítani, nem igényel képzett személyzetet. Mivel a minták levétel után stabilak (legalább 3 hetet kihúztunk még 37oC-on bőmérsékleten is) nem szükséges a vizsgálandó egyénekenek a mintavételt helyre utasítnuk, amely különösen a fejlődő országokban igen fontos szempont. Ha mind ezeket az előnyöket figyelembe veszzük, akkor a SZNYT vizsgálati rendszer költsége nem magasabb, vagy még alacsonyabb is lehet, mint a vérszérum teszteléséin alapuló rendszerek.

Szerzők hangsúlyozzák, hogy a HIV szerológiai vizsgálatok elvégzésének nemcsak epidemiológiai szempontból van jelentősége, de ezek igen lényegesek a vizsgált egyének szempontjából is. A negatív vizsgálati eredménye is arra készítetheti a vizsgált egyént, hogy szexuális magatartása megváltoztatásával a további fertőzési veszélyt csökkentse. Ha a vizsgált egyén fertőzöttsége bebizonyosodik, akkor a tanácsadás mellett lehetővé válik a kombinált terápia korai megindítása is, amely a legújabb

vizsgálatok szerint eredményes lehet és csökkentheti a verticalis átvitelt is. Egy egyszerű, nem-invazív, a vérszérum teszttekkel azonos érzékenységű és specificitású teszt használata a HIV szerológiai vizsgálatok további elterjedését segítheti elő.