

- Initial evaluation of the analysis of 3500 donors // Rev. Fr. Transfus. Immunohematol. — 1985. — Vol. 28 (2). — P. 125–136.*
17. Fotheringham J., Donati D., Akhyani N. et al. Association of human herpesvirus-6—B with mesial temporal lobe epilepsy // *PLoS Med.* — 2007. — Vol. 4 (5). — P. 180.
 18. Gilden Don, Cohrs J., Mahalingam R., Nagel M.A. Varicella zoster virus vasculopathies: diverse clinical manifestations, laboratory features, pathogenesis and treatment // *Lancet Neurol.* — 2009. — Vol. 8. — P. 731–740.
 19. Ho M. *Cytomegalovirus: biology and infection.* — New York: Plenum, 1991. — 440 p.
 20. Jay V., Becker L.E., Blaser S., Hwang P., et al. Pathology of chronic herpes infection associated with seizure disorder: a report of two cases with tissue detection of herpes simplex virus 1 by the polymerase chain reaction // *Pediatr. Pathol. Lab. Med.* — 1995. — Vol. 15 (1) — P. 131–146.
 21. Lutz von Muller, Mertens T. Human cytomegalovirus infection and antiviral immunity in septic patients without canonical immunosuppression // *Med. Microbiol. Immunol.* — 2008. — Vol. 197. — P. 75–82.
 22. Lv J., Zhang H., Zhou F., et al. Antiglomerular basement membrane disease associated with Castleman disease // *Am. J. Med. Sci.* — 2009. — Vol. 337 (3). — P. 206–209.
 23. Mann M., Guns D., Chaves S.S., et al. Advisory Committee on Immunization Practices, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevention of varicella: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm. Rep.* — 2007. — 56 (RR-4). — P. 1–40.
 24. Oksenhendler E., Clauvel J.P., Pringuet R., et al. Reversal of polyclonal hypogammaglobulinemia after HIV infection in a patient with myeloma // *N. Engl. J. Med.* — 1988. — Vol. 318 (23). — P. 1540.
 25. Padlan E. Anatomy of the antibody molecule // *Mol. Immunol.* — 1994. — Vol. 31 (3). — P. 169–217.
 26. Primary immunodeficiency diseases. Report of a WHO scientific group // *Clin. Exp. Immunol.* — 1997. — Vol. 109 (1). — P. 1–28.
 27. Rao R.S., Prakash A., Medhi B. Role of different cytokines and seizure susceptibility: a new dimension towards epilepsy research // *Indian. J. Exp. Biol.* — 2009. — Vol. 47 (8). — P. 625–634.
 28. Saunders N.R., Knott G.W., Dziegielewska K.M. Barriers in the immature brain // *Cell Mol Neurobiol.* — 2000. — № 20. — P. 29–40.
 29. Steiner I., Kennedy Peter G.E., Pachner A.R. The neurotropic herpes viruses: herpes simplex and varicella zoster // *Lancet Neurol.* — 2007. — Vol. 6. — P. 1015–1028.
 30. Uesugi H., Shimizu H., Maehara T., et al. Presence of human herpesvirus 6 and herpes simplex virus detected by polymerase chain reaction in surgical tissue from temporal lobe epileptic patients // *Psychiatry Clin. Neurosci.* — 2000. — Vol. 54 (5). — P. 589–593.
 31. Van Guilder H.D., Vrana K.E., Freeman W.M. Twenty-five years of quantitative PCR for gene expression analysis // *Biotechniques.* — 2008. — Vol. 44. — P. 619–626.
 32. Weiss N., Miller F., Cazaubon S., Couraud P.O. The blood-brain barrier in brain homeostasis and neurological diseases // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2009. — Vol. 1788. — P. 842–857.
 33. Yamashita N., Morishima T. HHV-6 and seizures // *Herpes.* — 2005. — Vol. 12 (2). — P. 46–49.
 34. Zhu Z., Zhu S., Guo X., et al. Retrospective seroepidemiology indicated that human enterovirus 71 and coxsackievirus A16 circulated widely in central and southern China before large-scale outbreaks from 2008 // *Virol. J.* — 2010. — Vol. 4(7). — P. 300.

МОДИФИЦИРОВАННАЯ МЕТОДИКА СРАВНИТЕЛЬНЫХ СЕРОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ПЕРСИСТИРУЮЩЕЙ ГЕРПЕСВИРУСНОЙ НЕЙРОИНФЕКЦИИ

Д.В. Мальцев, В.Е. Казмирчук

Разработанный способ диагностики персистирующей герпесвирусной нейроинфекции отличается тем, что в известном способе диагностики путём сравнительных серологических исследований согласно предложенной методике одновременно определяют концентрацию специфических IgG к 4-м герпесвирусам различных видов в сыворотке крови и ликворе методом твердофазного иммуноферментного анализа, рассчитывая в дальнейшем индексы соотношения путём деления величины сывороточной концентрации на ликворную и диагностируя персистирующую герпесвирусную нейроинфекцию при индексе соотношения, который ниже единицы или, по крайней мере, вдвое меньше, нежели аналогичные показатели для других герпесвирусов.

MODIFIED METHODS OF COMPARATIVE SEROLOGICAL TESTING TO DIAGNOSE A PERSISTENT HERPESVIRUS NEUROINFECTION

D.V. Maltsev, V.Ye. Kazmirchuk

The method developed to diagnose a persistent herpesvirus neuroinfection is different in the fact, that with the known diagnosis method by comparative serologic testing, according to the proposed methods a concentration of specific IgG is simultaneously determined for up to four different herpesvirus species in blood serum and liquor by enzyme-linked immunosorbent assay technique with further estimation of correlation coefficients. They are calculated by dividing a serum concentration index by that of the liquor to establish a diagnosis of the persistent herpesvirus neuroinfection with a correlation coefficient being less than one or at least twice as small as the analogous indices for other herpesviruses.

УДК 616.096.578.828

**Т.Ю. Трохимчук, Л.О. Ганова,
С.В. Міхалап, Н.В. Іванська**

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ТЕСТ-СИСТЕМ РІЗНИХ ГЕНЕРАЦІЙ ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ ВІЛ-ІНФЕКЦІЇ

Науково-виробнича компанія
“Діапроф-Мед”

ВІЛ-інфекція стала однією з найважливіших та найактуальніших медико-соціальних проблем нашої країни. Боротьба з ВІЛ-інфекцією та синдромом набутого імунного дефіциту (СНІД) в Україні давно вже отримала статус загально-

державної пріоритетної програми. Починаючи з 1987 р., увагу Міністерства охорони здоров'я нашої країни звернено на максимальне виявлення ВІЛ-інфікованих та осіб, хворих на СНІД; це особливо стосується певних прошарків населення, що належать до груп підвищеного ризику інфікування. Опрацьовано систему епідеміологічного нагляду за ВІЛ-інфекцією, організовано мережу діагностичних лабораторій, кабінетів довіри, обласних та міських центрів профілактики та боротьби зі СНІДом. Неодноразово створювались та вдосконалювались директивно-методичні документи. Верховна Рада України прийняла закон “Про запобігання захворювання на СНІД та соціального захисту населення”, прийнята загальнодержавна програма “Про забезпечення профілактики ВІЛ-інфекції, лікування, догляду та підтримки ВІЛ-інфікованих і хворих на СНІД” на 2009–2013 рр., затвердженої Законом України від 19.02.2009 р. № 1026-VI [2]. Проте, поширення ВІЛ-інфекції/СНІДу триває [1]. Тому не зникає потреба в діагностичних засобах та методах виявлення ВІЛ-інфекції [3].

Щороку в нашій країні має проводитись біля 4 млн. досліджень на ВІЛ-інфекцію, включаючи обстеження 2 млн. донорів та біля 1,5–2 млн. осіб за клінічними та епідеміологічними показниками [8].

Для скринінгових досліджень ВІЛ-інфекції частіше використовуються тест-системи третього покоління, які дозволяють виявляти антитіла до ВІЛ класів IgA, IgM, IgG на 28 день з моменту інфікування [9–11, 13].

Наступним успіхом в розробці тест-систем на основі ІФА було створення комбінованих тестів 4 покоління, призначених для одночасного виявлення як антитіл до ВІЛ, так і вірусного антигену р24 ВІЛ-1. За даними фірм-виробників, такі діагностикуми дають змогу виявляти маркери інфікування ВІЛ на 4–8 днів раніше, ніж при використанні наборів 3 покоління, а при високій концентрації антигену р24 у пробі сироватки крові тести 4 покоління скорочують період “сероконверсійного вікна” в середньому на 2 тижні [12, 14].

Мета нашої роботи полягала в розробці імуноферментної тест-системи 4-ї генерації з підвищеною чутливістю для ранньої діагностики ВІЛ-інфекції та в проведенні порівняльного аналізу показників її інформативності (чутливості та специфічності) з тест-системами третього та четвертого покоління.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Рекомбінантні білки — аналоги природних поліпептидів ВІЛ1 Env-1 (gp120, gp41), Gag-1 (p24, p17) і ВІЛ 2 — Env-2 (gp36) — отримані шляхом експресії в клітинах *Escherichia coli*. Нуклеотидна послідовність, що кодує імунодомінантні регіони вірусних білків, підтверджена даними, отриманими на секвенаторі “3100–Avant Genetic Analyzer” (США).

Моноклональні антитіла (МКАТ). Для виявлення антигену р24 ВІЛ1 використовували мишачі МКАТ, які розпізнають нативний білок р24 ВІЛ.

Специфічні імуноферментні кон'югати. При проведенні ІФА антитіла до ВІЛ1 та ВІЛ2 в досліджуваних зразках крові виявляли кон'югатами, сконструйованими нами рекомбінантних білків Env-1 та Env-2 з пероксидазою хрому. Синтез кон'югатів проводили за модифікованим протоколом періодатного метода [14].

Для виявлення антигену р24 ВІЛ1 використовували комерційні біотинільовані МКАТ (виробництва BioMARIC N.V.) та стрептавідин, кон'югований з пероксидазою хрому.

Імуноферментні тест-системи.

Імуноферментна тест-система третього покоління для виявлення антитіл до вірусу імунодефіциту людини першого і другого типів [6]. При виготовленні імуносорбенту використовували полістиролові 96-лункові планшети PolySorp (Nunc, Данія), в лунки яких було сорбовано рекомбінантні білки ВІЛ1 (Env-1, Gag-1) та ВІЛ2 (Env-2) в 0,05М карбонат-бікарбонатному буфері (рН 9,6). В специфічному кон'югаті використовували суміш рекомбінантних білків ВІЛ 1 (Env-1, Gag-1) і ВІЛ 2 (Env-2), кон'югованих з пероксидазою хрому. Реакція ІФА — одноетапна з одночасною інкубацією досліджуваних сироваток і кон'югата. При внесенні в лунки планшетів кон'югату і зразків сироваток крові специфічні антитіла, якщо вони знаходяться у сироватці, зв'язуються як з рекомбінантними антигенами на твердій фазі, так і з антигенами імунопероксидазного кон'югату, створюючи комплекси антиген-антитіло.

Тест-система імуноферментна четвертого покоління для одночасного визначення антитіл до ВІЛ 1/2 і корового антигену р24 ВІЛ-1 [7]. При виготовленні імуносорбенту використовували полістиролові 96-лункові планшети MaxiSorp (Nunc, Данія), в лунках яких було сорбовано рекомбінантні білки ВІЛ-1 і ВІЛ-2 — Env1 (gp120,

gp41), Env2 (gp36), відповідно, та моноклональні антитіла до р24 ВІЛ1. Під час проведення імуноферментного аналізу досліджувані сироватки інкубували одночасно з рекомбінантними антигенами, кон'югованими з пероксидазою хрому, та біотинільованими антитілами проти білку р24 ВІЛ1. Fab-фрагменти специфічних антитіл в досліджуваних сироватках зв'язуються як з рекомбінантними антигенами на твердій фазі, так і з антигенами в складі пероксидазних кон'югатів. Для визначення антигену р24 ВІЛ1 застосовано метод біотин-стрептавідинового підсилення специфічного сигналу. Для виявлення корового антигену р24 ВІЛ1 застосовували МКАТ до р24 ВІЛ1 як в складі імуносорбенту, так і в складі біотинільованого кон'югату. Утворені імунні комплекси виявляли кон'югатом стрептавідину з пероксидазою хрому.

Імуноферментна тест-система з підвищеною чутливістю для одночасного визначення антитіл до ВІЛ 1/2 і антигену р24 ВІЛ1 для раннього виявлення ВІЛ-інфекції. Особливість тест-системи полягає в використанні комбінації біотин-стрептавідинового та біотин-тирамінового підсилення сигналу, що дозволяє збільшити чутливість тест-системи (ELAST-test). При внесенні в лунки планшету зразків сироваток інфікованої крові антиген р24 ВІЛ1 зв'язується одночасно зі специфічними МКАТ до р24 ВІЛ1 на твердій фазі та в складі біотинільованого кон'югату № 1. Створені імунні комплекси виявляються кон'югатом стрептавідину з пероксидазою хрому (кон'югат № 2). Ампліфікація сигналу здійснюється за рахунок введення в систему біотин-тираміну і подальшою інкубацією з кон'югатом стрептавідину з пероксидазою хрому (кон'югат № 3). Специфічні антитіла до ВІЛ в досліджуваному зразку зв'язуються як з рекомбінантними антигенами Env-1 і Env-2, сорбованими на твердій фазі, так і з антигенами в складі пероксидазного кон'югату № 1, утворюючи комплекси антиген-антитіло.

В усіх тест-системах як проявник реакції використовували тетраметилбензидин (ТМБ) та буфер з перекисом водню. Розвиток кольорової реакції зупиняли стоп-реагентом (0,5 М сірчана кислота). Визначення оптичної густини в лунках планшету проводили за допомогою спектрофотометру Labsystems Multiskan (Фінляндія) в двохвильовому режимі 450/620 нм. Як негативний контроль використовували сироватку крові людини, яка не містила антитіла до ВІЛ,

поверхневий антиген р24 ВІЛ1, HBsAg, антитіла до вірусу гепатиту С та *Treponema pallidum*.

Для розведення кон'югату використовували фосфатно-буферний розчин з додаванням знежиреного молока та тритону X-100 як компоненти, що блокують неспецифічні сигнали.

Для промивання планшетів використовували фосфатно-буферний розчин з додаванням 0,1% твіну 20.

Результати ІФА враховували за співвідношенням значення оптичної густини (ОГ) проб до граничного значення (ГЗ) ОГ/ГЗ. Позитивними вважали сироватки, в яких ОГ/ГЗ було більшим за 1 та негативними — в яких ОГ/ГЗ було меншим за 1.

Кожен досліджуваний зразок сироватки крові тестували у чотирьох повторях. Обробка отриманих результатів проводилася з урахуванням критерію Стьюдента [4].

Досліджувані зразки:

- антиген р24 ВІЛ-1 виробництва АВІ (USA);
- міжнародний стандартний антиген р24 ВІЛ-1 (NIBSC, UK);
- панель сироваток крові “Стандарт АТ(+) ВІЛ-1-МБА” виробництва ТОВ “Медбіоальянс” (Росія), яка містить 16 сироваток крові хворих з антитілами до ВІЛ1 у різних концентраціях;
- панель сироваток крові “Стандарт АТ(+) ВІЛ-2-МБА” виробництва ТОВ “Медбіоальянс” (Росія), яка містить 8 сироваток крові хворих з антитілами до ВІЛ2 у різних концентраціях;
- 27 позитивних зразків сироватки крові, з яких 23 зразки містять антитіла до ВІЛ1 та 4 — до ВІЛ2, і 32 зразки, що не містять антитіла до ВІЛ. Усі зразки сироватки попередньо перевірені на тест-системах: “Genscreen plus HIVAg-Ab” (BioRad, Франція), “ІФА-Анти-ВІЛ-Уніф” (Диагностические системы, Н. Новгород) та тест-системі для імуноблотингу “New Lav Blot I” (BioRad, Франція);
- 60 зразків крові, які не містять антитіла до ВІЛ. Усі зразки сироватки попередньо перевірено на тест-системах: “Genscreen plus HIVAg-Ab” (BioRad, Франція), “ІФА-Анти-ВІЛ-Уніф” (Диагностические системы, Н. Новгород) та тест-системі для імуноблотингу “New Lav Blot I” (BioRad, Франція);
- 70 зразків сироватки крові, які не містять антитіла до ВІЛ, але можуть давати хибно-позитивні результати в ІФА. Дані зразки отримані від вагітних, хворих на туберкульоз, цук-

ровий діабет, ревматоїдний артрит, гепатити В і С, а також від онкологічних хворих. Хибно-позитивні сироватки виявлені в тест-системі другого покоління Labsystems (Фінляндія),

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Імуноферментна тест-система 4 покоління з підвищеною чутливістю для ранньої діагностики ВІЛ-інфекції сконструйована на основі рекомбінантних білків та МКАТ. Одночасно в одному аналізі можливо виявляти як антигени ВІЛ, так і антитіла до них. Особливість набору полягає у використанні біотин-стрептавідинової ампліфікації специфічного сигналу з додатковим підсилюванням сигналу за рахунок введення біотин-тираміну, що дозволяє збільшити чутливість тест-системи і виявляти до 2,5 пкг/мл антигену р24 ВІЛ1 на 3–5 днів раніше, ніж при використанні наборів 4 покоління, в яких використовують тільки біотин-стрептавідинове підсилювання сигналу.

В табл. 1 представлені результати порівняльного дослідження параметра чутливості тест-систем різних конструкцій: 3 покоління — для виявлення антитіл до ВІЛ1/2; 4 покоління — для одночасного визначення антитіл до ВІЛ1/2 і корового антигену р24 ВІЛ1, серед яких для підсилення сигналу використовували в одному випадку тільки біотин-стрептавідин, а в другому — додатково біотин-тирамін.

Для тестування використовували сироватки крові, попередньо перевірені в комерційних імуноферментних тест-системах, та антиген р24 ВІЛ1 (АВІ) в послідовних двократних розведеннях негативною сироваткою.

Згідно з даними, наведеними в табл. 1, усі досліджувані зразки від ВІЛ-інфікованих пацієнтів виявлені позитивними при тестуванні на трьох тест-системах. Але тест-система четвертого покоління з підвищеною чутливістю виявляє в сироватках специфічні антитіла із значеннями співвідношення ОГ/ГЗ значно вищими. В фор-

Таблиця 1

Визначення чутливості тест-системи з підвищеною чутливістю в порівнянні з тест-системами третього та четвертого покоління

Панелі сироваток	Тест-системи, ОГ/ГЗ		
	3-го покоління	4-го покоління	4-го покоління з підвищеною чутливістю
1	2	3	4
99	3,9±0,11	4,1±0,12	8,5±0,25
97	5,2±0,15	5,0±0,15	8,8±0,26
100	4,9±0,14	5,0±0,15	9,4±0,28
101	2,4±0,07	2,1±0,06	3,9±0,11
109	5,4±0,16	5,0±0,15	11,7±0,35
114	4,3±0,12	4,2±0,12	10,0±0,3
302	5,8±0,17	6,0±0,18	15,3±0,45
305	2,6±0,07	2,4±0,07	6,9±0,2
179	13,9±0,41	13,7±0,41	16,1±0,48
318	14,1±0,42	10,8±0,32	16,3±0,48
319	16,7±0,5	16,1±0,48	15,7±0,47
324	7,5±0,22	7,8±0,23	15,7±0,47
№8	5,2±0,15	5,0±0,15	5,8±0,17
№13	7,1±0,21	6,9±0,2	7,5±0,22
№14	3,8±0,11	3,5±0,1	5,1±0,15
№4	4,6±0,13	4,8±0,14	6,3±0,18
АВІ 20пкг/мл	—	2,2±0,06	8,6±0,25
АВІ 10пкг/мл	—	1,0±0,03	4,4±0,13
АВІ 5пкг/мл	—	0,7±0,02	2,6±0,07
АВІ 2,5пкг/мл	—	0,5±0,1	1,6±0,04
418/1400	4,1±0,12	4,3±0,12	6,8±0,2
429/1600	1,8±0,05	1,5±0,04	2,0±0,06
460/650	7,9±0,23	8,0±0,2	13,2±0,39
462/10	5,4±0,16	5,5±0,16	12,8±0,38
463/1600	4,3±0,12	4,1±0,12	9,0±0,27
467/1400	2,7±0,08	2,5±0,07	7,1±0,21
469/2100	6,4±0,19	6,0±0,18	14,3±0,42
478/2000	6,1±0,18	6,1±0,18	13,9±0,41
484/5000	16,4±0,49	16,1±0,48	16,0±4,8
497/320	2,8±0,08	2,9±0,08	5,7±0,17
523/50	4,8±0,14	4,9±0,14	10,7±0,32
ГЗ	0,126	0,142	0,166

маті даної тест-системи антиген р24 ВІЛ1, який реєструється одним з перших при інфікуванні ВІЛ, виявлено з показником ОГ/ГЗ=1,6 в концентрації 2,5 пкг/мл. В той же час звичайна тест-система четвертого покоління таку концентрацію вірусного білку не виявляє (ОГ/ГЗ=0,5).

Межа чутливості тест-системи при виявленні білку р24 ВІЛ1 з використанням міжнародного стандартного антигену р24 ВІЛ1, концентрація якого визначається в МО/мл складає 0,25 МО/мл.

Дані порівняння тест-системи четвертого покоління з підвищеною чутливістю з тест-системою третього покоління для виявлення антитіл до ВІЛ 1/2 та тест-системою четвертого покоління на стандартних панелях МБА: “Стандарт АТ(+)-ВІЛ-1-МБА” та “Стандарт АТ(+)-ВІЛ-2-МБА” представлено в табл. 2.

Усі досліджувані тест-системи показали високу чутливість (100%), але співвідношення ОГ/ГЗ в тест-наборах четвертого покоління з підви-

щеною чутливістю в 2–2,5 рази вищі, ніж при використанні тест-систем третього та четвертого покоління.

При тестуванні на панелі негативних до ВІЛ сироваток — специфічність тест-системи склала 100%. На сироватках, які можуть давати хибно-позитивні результати в тест-системі другого покоління Labsystems (Фінляндія), специфічність тест-системи склала 99,8%.

Імуноблотинг (ІБ) використовують як підтверджувальний тест при виявленні ВІЛ-специфічних антитіл. Але як скринінговий тест його не застосовують, тому, що він має ряд недоліків, а саме: ІБ не дає чітких результатів з сироватками від хворих на стадії сероконверсійного вікна. В останні роки в науковій літературі накопичується все більше відомостей щодо порівняльної оцінки ІБ та ІФА і вважається, що використання для підтвердження лабораторного діагнозу ІФА завдяки високій чутливості тест-систем для одночасного виявлення як антигену ВІЛ, так

Таблиця 2

Порівняння чутливості тест-системи з підвищеною чутливістю з тест-системами третього та четвертого покоління на панелях МБА

Панелі МБА	Тест-система, ОГ/ГЗ		
	3-го покоління	4-го покоління	4-го покоління з підвищеною чутливістю
ВІЛ1-1	3,4±0,1	3,5±0,1	6,6±0,19
ВІЛ1-2	2,4±0,07	2,3±0,6	4,2±0,12
ВІЛ1-3	6,5±0,19	6,4±0,19	10,5±0,3
ВІЛ1-4	4,5±0,13	4,4±0,13	7,5±0,22
ВІЛ1-5	2,3±0,06	2,2±0,06	3,9±0,11
ВІЛ1-6	1,1±0,03	1,2±0,03	2,0±0,06
ВІЛ1-7	6,3±0,18	6,2±0,18	10,9±0,32
ВІЛ1-8	3,4±0,09	3,4±0,1	6,0±0,18
ВІЛ1-9	3,5±0,1	3,0±0,09	3,7±0,11
ВІЛ1-10	17,1±0,5	16,7±0,5	16,2±0,48
ВІЛ1-11	12,3±0,36	11,0±0,3	15,2±0,45
ВІЛ1-12	9,4±0,28	9,2±0,27	14,9±0,44
ВІЛ1-13	6,8±0,2	6,5±0,19	11,1±0,33
ВІЛ1-14	3,4±0,1	3,8±0,11	5,9±0,17
ВІЛ1-15	11,8±0,35	12,6±0,37	16,1±0,48
ВІЛ1-16	12,7±0,38	13,8±0,41	17,0±0,51
ВІЛ2-1	18,6±0,55	18,5±0,55	15,5±0,46
ВІЛ2-2	17,1±0,5	16,7±0,5	13,5±0,4
ВІЛ2-3	14,9±0,44	15,4±0,4	11,9±0,35
ВІЛ2-4	9,4±0,28	9,6±0,25	7,8±0,23
ВІЛ2-5	14,9±0,44	15,1±0,4	13,2±0,39
ВІЛ2-6	8,2±0,24	8,5±0,25	7,9±0,23
ВІЛ2-7	2,4±0,07	2,5±0,07	2,1±0,06
ВІЛ2-8	2,0±0,06	1,9±0,05	1,9±0,05
АВІ 20 пкг/мл	—	2,2±0,06	8,6±0,25
АВІ 10 пкг/мл	—	1,0±0,03	4,4±0,13
АВІ 5пкг/мл	—	0,7±0,02	2,6±0,07
АВІ 2,5пкг/мл	—	0,5±0,01	1,6±0,04
НІВSC 1 МО/мл	—	1,0±0,03	3,5±0,1
НІВSC 0,5 МО/мл	—	0,6±0,02	2,5±0,07
НІВSC 0,25 МО/мл	—	0,6±0,02	1,3±0,35
ГЗ	0,126	0,142	0,166

і антитіл проти ВІЛ першого та другого типів період сероконверсійного вікна значно зменшується [5].

ВИСНОВКИ

Аналіз порівняльних даних доводить, що імуноферментна тест-система четвертого покоління з підвищеною чутливістю, яка опрацьована в наукових лабораторіях АТЗТ НВК “ДіапрофМед”, є високочутливою та високо специфічною і може бути рекомендована для застосування в практиці клінічних лабораторій при діагностиці ВІЛ-інфекції.

ЛІТЕРАТУРА

1. ВІЛ-інфекція в Україні. Інформаційний бюлетень. — К., 2010. — № 34. — 31 с.
2. Загальнодержавна програма МОЗ України / Наказ від 03.12.2009 р. № 912.
3. Кислих О.М. Застосування комбінованих антиген-антитільних тестів для імуноферментної діагностики ВІЛ-інфекції // Лаб. діагностика. — 2003. — № 4. — С. 37–42.
4. Лапач С.Н., Губенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. — К.: Морион, 2001. — 407 с.
5. Лобзин Ю.В., Жданов К.В., Пастушенков В.Л. ВИЧ-инфекция, клиника, диагностика, лечение. — С.-Петербург: Фолиант, 2003 — 452 с.
6. Патент 17187 Україна, МПК (2006) А61К 39/21 С12Н 7/00. Тест-система імуноферментна для виявлення антитіл до ВІЛ1, ВІЛ2, ВІЛ-0 (DIA-HIV 1/2-0) / Семиноженко В.П., Шевчук О.А., Пилипенко В.Г. та ін.; заявник і патентовласник НВК “Діапроф-Мед”. — № u200603071; заяв. 22.03.2006; публ. 15.09.2006. Бюл. № 9.
7. Патент 68845 А Україна МПК (2003) 7 А 61К39/21. Тест-система імуноферментна для одночасного виявлення антигену р24 вірусу імунодефіциту людини першого та другого типів (ВІЛ 1/2) та анти-ВІЛ антитіл (DIA-HIV1/2-Ag/AT) / Горлов Ю.І., Раєвська Г.Є., Семиноженко В.П. та ін.; заявник і патентовласник НВК “Діапроф-Мед”. — № 2003 1110110; заяв. 10.11.2003; публ. 16.08.2004, бюл. № 8.
8. Покровский В.В. ВИЧ-инфекция: клиника, диагностика и лечение / В.В. Покровский, Т.Н. Ермак, В.В. Беляева, О.Г. Юрин. — М.: Гэотар Медицина, 2000. — 489 с.
9. Раєвська Г.Є., Співак М.Я. Сучасні методи лабораторної діагностики ВІЛ-інфекції // Мікробіол. журнал. — 2000. — Т. 62, № 4. — С. 56–65.
10. Серологічна діагностика ВІЛ-інфекції. Практичний посібник. — К., 2006. — 76 с.
11. ELISA from Wikipedia. The free encyclopedia (2009) // <http://en.wikipedia.org/wiki/ELISA>
12. Gurtler L., Muhlbacher A., Michl U. et al. Reduction of the diagnostic window with a new combined p24 antigen and human immunodeficiency virus antibody screening assay // J. Virol. Meth. — 1998. — Vol. 75. — P. 27–38.
13. Ly T.D., Laperche S., Courouce A.M. Early detection of human immunodeficiency virus infection using third- and fourth-generation screening assays // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. — 2001. — Vol. 20, № 1. — P. 104–110.
14. Tijssen P., Kustak E. Highly efficient and simple methods for the preparation of peroxidase and active peroxidase antibody conjugates for enzyme immunoassays // Annal. Biochemistry. — 1984. — Vol. 136, № 2. — P. 451–457.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ТЕСТ-СИСТЕМ РАЗНЫХ ГЕНЕРАЦИЙ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ

Т.Ю. Трохимчук, Л.А. Ганова, С.В. Михалап,
Н.В. Иванская

Разработана иммуноферментная тест-система 4 поколения с повышенной чувствительностью для одновременного выявления антигена р24 ВИЧ1 и антител к ВИЧ1 и ВИЧ2. Чувствительность и специфичность разработанной верстии тест-системы были исследованы в сравнении с тест-системами 3 и 4 поколения, созданных на основе рекомбинантных белков и моноклональных антител. Анализ данных свидетельствует, что разработанная тест-система 4 поколения показала более высокую чувствительность и специфичность и может быть рекомендована для диагностики ВИЧ-инфекции в клинических лабораториях.

COMPARISON OF DIFFERENT GENERATIONS ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAYS FOR HIV DIAGNOSIS

T.Yu. Trokhymchuk, L.A. Ganova,
S.V. Mihalap, N.V. Ivanskaya

The 4th generation Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) with increased sensitivity for the simultaneous detection of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) p24 antigen and antibodies to HIV-1 and HIV-2 was developed. Sensitivity and specificity of developed assay versus kits of 3th and 4th generations, constructed on the base of recombinant protein and monoclonal antibodies, were investigated. It was indicated that new 4th generation ELISA kit possess high both specificity and sensitivity and could applied for clinical investigations of HIV infection.