



На протяжении последних 6 лет я работал в лаборатории клинической иммунологии одного из наиболее престижных университетских госпиталей Нью-Йорка. Здесь я имел возможность лично выполнять и детально исследовать современные тесты, используемые для определения ВИЧ-статуса – ELISA (ИФА), Western Blot (иммуноблот) и ПЦР.

1. Разбавление сыворотки при использовании теста ELISA

ELISA является тестом для определения антител, которые, как полагают, вырабатываются против Вируса Иммунодефицита Человека (ВИЧ). Для проведения этого теста, сыворотка пациента должна быть разбавлена специальным раствором в соотношении 1:400. В соответствии с заявленными производителем параметрами, этот растворитель содержит: 0,1% тринитротолуола X-100, коровью и козью сыворотки (минимальная концентрация – 5%), человеческие лизаты Т-лимфоцитов (минимальный титр 1:7500), консервант – азид натрия – 0,1% (1).

Необходимость такого необычно большого растворения сыворотки пациента [400 раз] удивила меня. В большинстве серологических тестов, выявляющих присутствие антител к микробам используется чистая сыворотка [неразбавленная]. Например, в тестах, выявляющих антитела к вирусам гепатита А и В, вирусу коревой краснухи, сифилису, гистоплазме и криптококу, используется обычная сыворотка [неразбавленная]. Однако, во избежание ложноположительных реакций, в некоторых из серологических тестах используется разбавленная сыворотка; например в случае проведенных мною тестов на определение антител к вирусам кори, ветряной оспы и свинки использовалось разбавление в соотношении 1:16, к цитомегаловирусу – 1:20 и к вирусу Эпштейна-Барра – 1:10.

Возникают очевидные вопросы: что делает ВИЧ столь уникальным, что тестируемую сыворотку необходимо разбавить в соотношении 1:400 и что произойдет, если сыворотка не будет разбавлена?

2. Испытание теста ELISA без разбавления сыворотки

Для того, чтобы ответить на эти вопросы, я произвёл эксперимент в медицинской лаборатории Йорктаун Хайтс (Yorktown Heights), находящейся в Нью-Йорке. При проведении этого эксперимента я использовал те же реагенты тест-систем, которые обычно используются при постановке теста ELISA в большинстве клинических лабораторий по всему миру (1).

Сначала, я взял образцы крови, которые при разбавлении в соотношении 1:400 дали

отрицательный результат на антитела к ВИЧ. Затем, используя точно те же образцы сыворотки, я произвёл ещё одно тестирование, но на этот раз не разбавляя их. Неразбавленные, они все были положительными.

Я протестировал около 100 образцов, и всё время получал такой же результат. Я протестировал даже собственную кровь, которая при разбавлении 1:400 была негативной, но в соотношении 1:1 [неразбавленная] показывала положительную реакцию. Я должен упомянуть, что за исключением моей собственной крови, все остальные образцы [крови пациентов] были получены от врачей, запрашивавших ВИЧ-тестирование. Таким образом, наиболее вероятно, что большинство образцов крови протестированных мною принадлежали лицам, подверженным риску СПИДа.

Согласно Эббэтт Лабротэриз (Abbott Laboratories – один из ведущих производителей тест-систем – прим. переводчика), «степень оптической плотности [интенсивность жёлтого цвета] проявляется пропорционально количеству связанных антител к ВИЧ-1».

Что я заметил, это то, что степени оптической плотности образцов дававших отрицательный результат при разбавлении [1:400], но позитивных при тестировании неразбавленными [1:1], имели более низкие значения, чем те образцы, которые при разбавлении были положительны по ELISA и Western Blot. Это, вероятно, должно означать, что кровь, негативная при разбавлении, но позитивная, будучи неразбавленной, имеет более низкий уровень антител, чем разбавленная кровь, положительно реагирующая в обоих случаях и, таким образом, может быть негативна по Western Blot [если разбавлена]. Однако, у меня не было возможности проверить эту гипотезу.

Таблица расположенная ниже иллюстрирует то, как негативная реакция разбавленных в соотношении 1:400 образцов крови всегда изменяется на положительную, при постановке опыта с образцом 1:1.

Проведение теста ELISA для определения наличия антител к ВИЧ при двух различных конц

(а) Результаты при 1:400

(б) Результаты при 1:1

9112324b G5 0.076 ---

9112324b G5 0.262 реактивен

9112325b H1 0.081 ---

9112325b H1 0.259 реактивен

9112326b H2 0.071 ---

9112326b H2 0.329 реактивен

9112327b H3 0.060 ---

9112327b H3 0.401 реактивен

9112328b H4 0.073 ---

9112328b H4 0.345 реактивен

9112329b H5 0.062 ---

9112329b H5 0.343 реактивен

9112330b J1 0.060 ---

9112330b J1 0.234 реактивен

9112331b J2 0.077 ---

9112331b J2 0.306 реактивен

9112332b J3 0.067 ---

9112332b J3 0.248 реактивен

9112333b J4 0.086 ---

9112333b J4 0.222 реактивен

Колонка «а» демонстрирует 10 образцов, прореагировавших отрицательно при концентрации 1:400. Колонка «б» демонстрирует те же 10 образцов, прореагировавших

положительно при концентрации 1:1.

Важно заметить, что тест на антитела к «ВИЧ» Western Blot, так же предусматривает разбавление плазмы. Хотя и этот тест требует необычно большой степени разбавления, но, в данном случае, сыворотка пациента разбавляется в соотношении только лишь 1:50 (2). До настоящего времени у меня не было возможности провести тестирование неразбавленной [1:1] сыворотки при помощи Western Blot.

3. Дискуссия

Возможны три объяснения того факта, что неразбавленный образец крови всегда реагирует положительно при тестировании ELISA:

3.1. Антитела присутствуют у каждого из нас

Общепринято во всём мире, что ВИЧ-тест ELISA определяет наличие антител к тому, что известно как Вирус Иммунодефицита Человека (3, 4, 5, 6). И фармацевтические компании, наладившие серийное производство тест-систем ELISA утверждают, что: «Abbott HIVAB HIV-1 EIA является качественным иммуноферментным анализом для определения *in vitro* антител к Вирусу Иммунодефицита Человека типа 1 (ВИЧ-1) в человеческой сыворотке и плазме»(1). Поскольку все неразбавленные образцы крови реагируют положительно при тестировании ELISA, тестом, который, предположительно, определяет наличие антител к ВИЧ, то представленные здесь результаты подразумевают, что каждый человек имеет антитела к ВИЧ. И это подразумевает, что каждый человек подвергся воздействию ВИЧ-антигена.

Это могло бы означать что все мы подвержены воздействию вируса, который, как верят, является причиной СПИДа. Люди, реакция которых положительна даже при растворении [сыворотки] в соотношении 1:400, были бы теми, кто подвергся наибольшему риску воздействия ВИЧ-антигенов. Остальные, – те, чья реакция проявлялась при неразведённой сыворотке, – были бы теми, кто имел более низкий риск подверженности ВИЧ.

3.2. Каждый из нас имеет различный уровень антител к ВИЧ

Также общепринято во всём мире, что лицо реагирующее положительно на антитела к ВИЧ, не только подвержено риску, но инфицировано смертоносным вирусом, который является причиной иммунодефицита (3, 4, 5, 6). Таким образом, положительные реакции неразбавленных образцов сыворотки подразумевали бы, что каждый или, по крайней мере все те образцы крови, которые я тестировал, включая мой собственный, заражены «смертоносным» вирусом. Только те образцы, которые прореагировали в соотношении 1:400 имеют более высокий уровень «смертельной» инфекции, чем те, которые были реактивны [положительны – прим. переводчика] только при неразбавленной сыворотке.

3.3. Тест не является специфичным для ВИЧ

Результаты, представленные здесь могут, также, означать, что тесты, используемые для определения антител к ВИЧ не являются специфичными для ВИЧ, как было изложено выше (7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14). В этом случае, должны быть причины, отличные от ВИЧ-инфекции, в настоящем или прошлом, которые бы объясняли почему данное лицо реагирует позитивно на этот тест. Этот тест показывает положительную реакцию, также, при отсутствии ВИЧ (7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14).

В научной литературе задокументировано более чем 70 причин, отличных от инфицирования ВИЧ в прошлом или настоящем, при наличии которых возможна положительная реакция (7, 10, 11, 14, 15). Все эти причины имеют одно общее – полиантигенную стимуляцию (15, 16).

Даже Эббэтт Лэбротэриз (Abbott Laboratories) хорошо осведомлены о специфике проблем теста ELISA. Поэтому они и заявляют: «EIA-тестирование, само по себе, не может быть использовано для диагностирования СПИДа, даже если рекомендованное исследование реактивного образца предполагает высокую вероятность наличия антител к ВИЧ-1» и «Несмотря на применение теста EIA при всех клинических и общих медицинских исследованиях, как уровень реактивности сыворотки, так и уровень риска ВИЧ-1 для индивидуума могущие иметь значение при интерпретировании теста, не являются совершенными корреляциями. Таким образом, в большинстве случаев, надлежит исследовать воспроизводимо реагирующие образцы при помощи других, более специфичных или дополнительных тестов». (1)

Интересен тот факт, что в некоторых странах, – например в Великобритании, – диагностика ВИЧ-статуса проводится только лишь на основании [результатов] теста ELISA. Для этой цели не производится тестирование Western Blot или какие-либо иные тесты.

Существует только лишь один надлежащий путь установления чувствительности и специфичности данного теста – через золотой стандарт. Однако, в связи с тем, что ВИЧ никогда не был изолирован как вирусный элемент (17, 18, 19), не существует и золотого стандарта для ВИЧ. Чувствительность и специфичность тестов на антитела в ВИЧ была установлена исходя из предположения, что ВИЧ является причиной СПИДа. В этом случае, «Исследования Эббэтт Лэбротэриз (Abbott Laboratories) показывают, что чувствительность основывается на предполагаемой 100% превалентности антител к ВИЧ-1 у пациентов со СПИДом, которая по оценочным показателям составляет 100% (были протестированы 144 пациента)» и «Специфичность основывается на предполагаемой нулевой превалентности ВИЧ-1 у случайно отобранных доноров, которая по оценочным показателям составляет 99,9% (были протестированы 4777 случайно отобранных доноров)»(1). «На настоящий момент, не существует признанного стандарта для определения наличия и отсутствия антител к ВИЧ-1 в человеческой крови. Таким образом, чувствительность и специфичность была подсчитана, основываясь на клинических диагнозах СПИДа, и специфичность основывается на [реакциях] случайно отобранных доноров» (1) [подчёркнуто мною – автор].

В связи с тем, что не существует научного доказательства факта специфичности

теста ELISA к ВИЧ-антителам, реактивный тест может означать наличие неспецифичных или полиспецифичных антител (20). Эти антитела могут присутствовать во всех образцах крови. Они, наиболее вероятно, являются результатом стрессовой реакции и не имеют никакого отношения к каким бы то ни было ретровирусам, не говоря уже о ВИЧ (21, 22). В этом случае, реактивный тест может быть мерилем уровня подверженности стрессогенному фактору или оксидативным агентам (15, 16).

Неизбежный вывод состоит в том, что все положительные реакции на наличие антител к ВИЧ являются просто ложно положительными. Если никто не является ВИЧ-положительным, то те, кто люди, чья реакция позитивна при тестировании ELISA, имеют какую-либо иные, отличные от ВИЧ, причины для такой реакции.

4. Предложение по поиску настоящего значения тестов на «ВИЧ-антитела»

Для разоблачения смысла этих тестов, я предложил простой эксперимент: взять кровь у трёх групп людей и произвести тестирование при высоком уровне разбавления [образцов], при неразбавленных, и при различных уровнях разбавленности. Первая группа должна быть группой здоровых людей различных возрастных категорий; вторая группа состояла бы из людей, входящих в «группы риска», и третья была бы группой людей с клиническими состояниями как относящимися, так и не относящимися к СПИДу. Все группы должны быть протестированы ELISA и Western Blot. В дополнение к этому, все образцы должны пройти «тест на вирусную нагрузку ВИЧ».

Результаты этого эксперимента могли бы показать имеют ли данные тесты отношение к определению подверженности индивидуума стресс-факторам или оксидативным агентам. Если данное предположение получит своё подтверждение, то тестирование могло бы быть сохранено как инструмент для измерения уровня интоксикации индивидуума.

Позвольте нам найти экономическую поддержку, необходимую для проведения этого эксперимента. В то же время, в связи с тем, что люди реагируют положительно при проведении тестов, не являющихся специфичными для ВИЧ, пожалуйста, давайте остановим процесс навешивания на них ярлыков «ВИЧ-позитивные».

Выражение признательности

Я хотел бы поблагодарить господина Альберта Падовани (Mr. Albert Padovani), Директора медицинской лаборатории Йорктаун за возможность проведения экспериментов в его лаборатории и за предоставленные реагенты. Я, также, выражаю признательность Тому ДиФердинандо, исполнительному директору Health Education AIDS Liaison (HEAL) в Нью-Йорке за редактирования рукописи данной статьи и за его ценные замечания.

Роберто А. Жиральдо (Roberto A. Giraldo), Доктор Медицины, специалист по болезням внутренних органов, инфекционным и тропическим заболеваниям. Член Совета

директоров «Группы научной переоценки гипотезы ВИЧ-СПИД» (The Group for the Scientific Reappraisal of the HIV-AIDS Hypothesis) и «Health Education AIDS Liaison» (HEAL). Независимый исследователь СПИД. Автор книги «СПИД и стрессоры», Нью-Йорк, 1997.

E-mail: rgiraldo@cdiusa.com

Источник <http://vich-pravda.ru>

{jcomments on}