

TURUN YLIOPISTO  
Lääketieteellinen tiedekunta

JESKANEN, MARJA: Ultrasensitiivisen HIV-1 p24 ELISA-  
määritysmenetelmän karakterisointi veritäplillä

Pro gradu –tutkielma, 85 s.

Lääkekehitystiede  
Joulukuu 2016

---

HIV-1 eli ihmisen immuunikatovirus on retrovirus, joka kuuluu lentivirusten ryhmään. HIV on noin 100 nanometriä halkaisijaltaan oleva pyöreä partikkeli ja sen genomi koostuu kahdesta yksisäikeisestä RNA-molekyylisestä. HIV tuhoaa immuunijärjestelmän soluja ja tartunnan saaneista 30-50%:lle kehittyy mononukleoosia muistuttava ensitauti 2-6 viikon kuluessa tartunnasta, jota seuraa oireeton vaihe, joka voi kestää jopa kymmenen vuotta. AIDS-vaiheesta puhutaan silloin kun potilas saa ainakin yhden opportuneista seurannaistaudeista, joista tavallisimpia ovat ruokatorven- ja suun hiivainfektio, atyyppisen mykobakteerin aiheuttama infektio, *Pneumocystis jirovecii* –sienen aiheuttama keuhkokuume ja Kaposin sarkooman. HIV tarttuu veren välityksellä, suojaamattomassa seksissä ja äidistä lapseen.

Saharan eteläpuoleisessa Afrikassa asuu 68% koko maailman HIV-infektoituneista, vuosittain lähes kaksimiljoonaa saa tartunnan, joista lapsia on 350 000. Näihin kehittymättömiin maihin tarvittaisiinkin nopeita, halpoja ja alkeellisissa olosuhteissa helposti tehtäviä määritysmenetelmiä HIV:n diagnosoimiseen vastasyntyneiltä, koska markkinoilla olevia vasta-aineisiin perustuvia pikatestejä ei voida käyttää, koska äidin vasta-aineita on vastasyntyneen veressä 18 kuukauden ajan.

Erikoistyössä aloitettiin vastasyntyneiden HIV-diagnostiikkaan kehitettävän veritäplän näytteenä käytävän herkän ELISA-antigeenimääritysmenetelmän testaus. Veritäplät on valittu näytteiksi siksi, koska ne on helppo tehdä, säilyttää ja kuljettaa alkeellisissa oloissa. Tarkoituksena on yhdistää olemassa oleva HIV-1 p24-antigeeni ELISA määritysmenetelmä, jossa käytetään näytteenä seerumia tai plasmaa ELAST amplifikaatiomenetelmän kanssa, jolloin määrityksen herkkyyks kasvaa jopa 25 kertaiseksi. Määrityksen alussa suoritetaan Mark Bobrowin PerkinElmerin Bostonin yksikössä kehittämä happokäsittelyllä tehtävä eluaatio veritäplille, joka sisältää immuunikompleksin hajotuksen ja viruksen hajotuksen. Tätä uutta menetelmää ei ole aiemmin testattu.

Määritys saatiin toimimaan, mutta ongelmaksi muodostui rinnakkaisten näytteiden suuri variaatio. Tutkimalla eluaatiomenetelmän jokaista vaihetta erikseen saatiin variaation lähteeksi eluaatiovaihe. Varmaa selvyttä variaation lähteestä ei