

Лабораторная диагностика ВИЧ-инфекции



Санитарно-эпидемиологические правила

СП 3.1.5.2826:10 «ПРОФИЛАКТИКА ВИЧ-ИНФЕКЦИИ»

утверждены постановлением главного санитарного врача РФ в 2011г., редакция изменений утверждена в 2016г.

«5.2. Освидетельствование на ВИЧ-инфекцию проводится **добровольно**, за исключением случаев, когда такое освидетельствование является обязательным.»

«5.3. По желанию освидетельствуемого лица добровольное тестирование на ВИЧ **может быть анонимным.**»

«5.6. Освидетельствование на ВИЧ-инфекцию проводится с обязательным **до- и послетестовым консультированием** по вопросам профилактики ВИЧ-инфекции...»

Показания для обследования на ВИЧ-инфекцию

СП 3.1.5.2826:10 «Профилактика ВИЧ-инфекции»

Приложение N 1. «Контингенты, подлежащие обязательному медицинскому освидетельствованию на ВИЧ-инфекцию и рекомендуемые для добровольного обследования на ВИЧ-инфекцию»

Обязательному обследованию подлежат:

- > Доноры биологических жидкостей, тканей, органов
- > Медработники, работающие с ВИЧ, с больными ВИЧ-инфекцией, медработники хирургического профиля
- > Военнослужащие и курсанты военных учебных заведений
- > Иностранцы граждане и лица без гражданства

Рекомендуются для добровольного обследования:

> Беременные и их половые партнеры

> Дети с перинатальным контактом по ВИЧ-инфекции

> Уязвимые группы населения:

- наркопотребители
- MSM
- КСР
- внутренние трудовые мигранты
- контактные лица при проведении эпид.расследования
- участники аварийной ситуации
- заключенные
- больные ЗППП
- больные ВГВ и ВГС

> Лица в возрасте 18 - 60 лет при обращении за медпомощью и диспансеризации в регионах с генерализованной стадией эпидемии

> По клиническим показаниям: список более чем 30 состояний, маркирующих ВИЧ-инфекцию и СПИД

> Добровольно по инициативе пациента

Словарь терминов

- Чувствительность теста – способность точно выявлять все случаи инфицирования
- Специфичность теста – способность точно подтверждать отсутствие инфицирования
- Сероконверсия – процесс выработки специфических антител
- Серонегативное окно – период от инфицирования до завершения сероконверсии

Методы лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции

I. Серологические методы, основанные на реакции связывания «антиген-антитело», где выявляют антитела и/или антигены ВИЧ-1/2.

1. ИФА – иммуноферментный анализ (ELISA)

2. ИХЛА – иммунохемилюминисцентный анализ (CLIA)

3. ЭХЛА – электрохемилюминисцентный анализ (ECL)

4. Иммунный блот (Western Blot, вестерн-блот)

5. Линейный иммунный анализ

6. Реакция иммунофлуоресценции

Выявление суммарных антител

Выявление антител к определенным антигенам

I. Молекулярно-генетические методы: обнаружение РНК и ДНК ВИЧ

1. ПЦР – полимеразная цепная реакция (качественная, количественная)

2. транскрипционная амплификация нуклеиновых кислот (NASBA)

3. разветвленная ДНК-гибридизация (bDNA) –количественный тест

4. методики для генотипирования ВИЧ, секвенирования ДНК

III. Вирусологические методы

Основа лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции

выявление антител к ВИЧ и
антигенов ВИЧ

в особых случаях *

выявление провирусной ДНК ВИЧ и
вирусной РНК ВИЧ

- * - у детей первого года жизни
- у лиц, находящихся в инкубационном периоде

Алгоритм тестирования на ВИЧ-инфекцию

I этап: СКРИНИНГ

ИФА / ИХЛА / ЭХЛА

Критерии выбора тест-системы:

- максимальная чувствительность
- определение антител ВИЧ-1 и ВИЧ-2
- IV поколение тестов

II этап:
ПОДТВЕРЖДЕНИЕ

ИММУННЫЙ БЛОТ
ПЦР

Серологические тесты на ВИЧ-инфекцию

Поколение	Источник антигена и характеристики тестов
Первое поколение	Непереработанный вирусный лизат в качестве антигена.
	Относительно чувствительные, но с дефицитом относительной специфичности. Выявляют только <u>иммуноглобулины G (IgG)</u> .
Второе поколение	Рекомбинантные белки и синтетические пептиды в качестве антигена.
	<u>Улучшенная специфичность и чувствительность. Определяют только IgG.</u>
Третье поколение	Рекомбинантные белки в качестве антигена с таким же антигеном, конъюгированным с ферментом (антигенный сэндвич).
	Еще более высокие чувствительность и специфичность. <u>Определяют IgG и IgM.</u>
Четвертое поколение	Рекомбинантные белки в качестве антигена и моноклональные антитела.
	<u>Определяют антитела IgM и IgG, а также ВИЧ-р24-антиген; в результате повышена чувствительность к ранним стадиям инфекции, то есть в период сероконверсии.</u>

Выявление ВИЧ-инфекции с помощью тестов различных форматов и поколений в процессе естественного течения инфекции

Число дней после заражения



Источник. Rosenberg NE et al. // Curr Opin HIV AIDS. 2015 Jan;10(1):61-8.

Этап I. Скрининг

ИФА/ИХЛА тест-система IV поколения

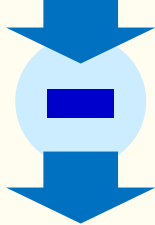
повтор ИФА/ИХЛА дважды



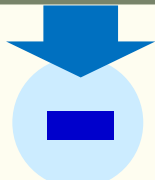
Первично-положительный скрининг

Этап II. Подтверждение в референс-лаборатории

ИФА/ИХЛА альтернативная тест-система



ИФА/ИХЛА **иная** альтернативная тест-система



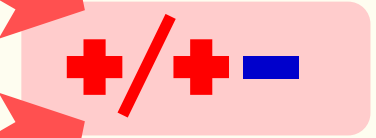
Иммунный/линейный блот

Результат

Положительный

Неопределённый

Отрицательный



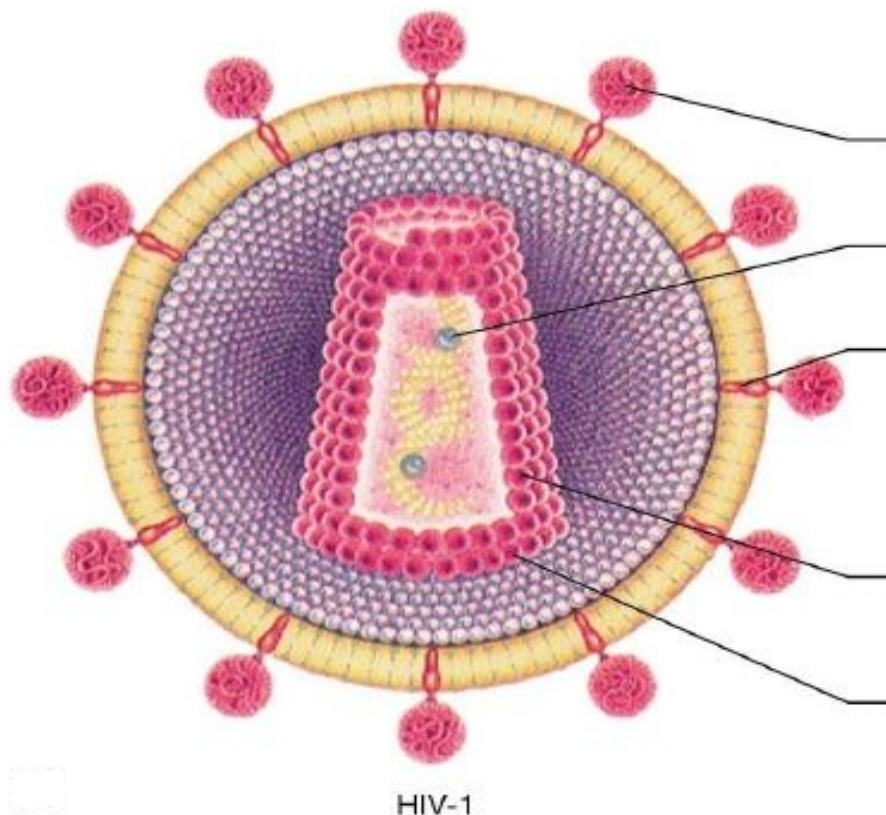
Определение антигена p25/24 ВИЧ или ДНК/РНК ВИЧ; обследование на ВИЧ-2

выявлен антиген p25/24 ВИЧ или ДНК/РНК ВИЧ

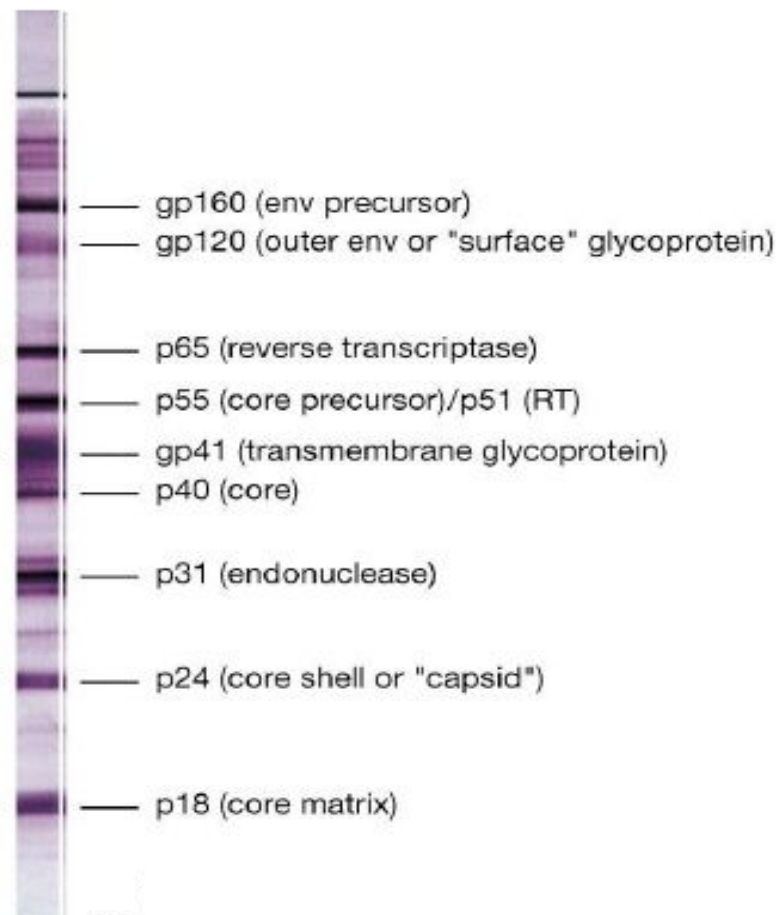
Дообследование в специализированной мед. организации

Повторить серологическое исследование через 2 недели, через 3 месяца

ИММУННЫЙ БЛОТ



Строение ВИЧ-1

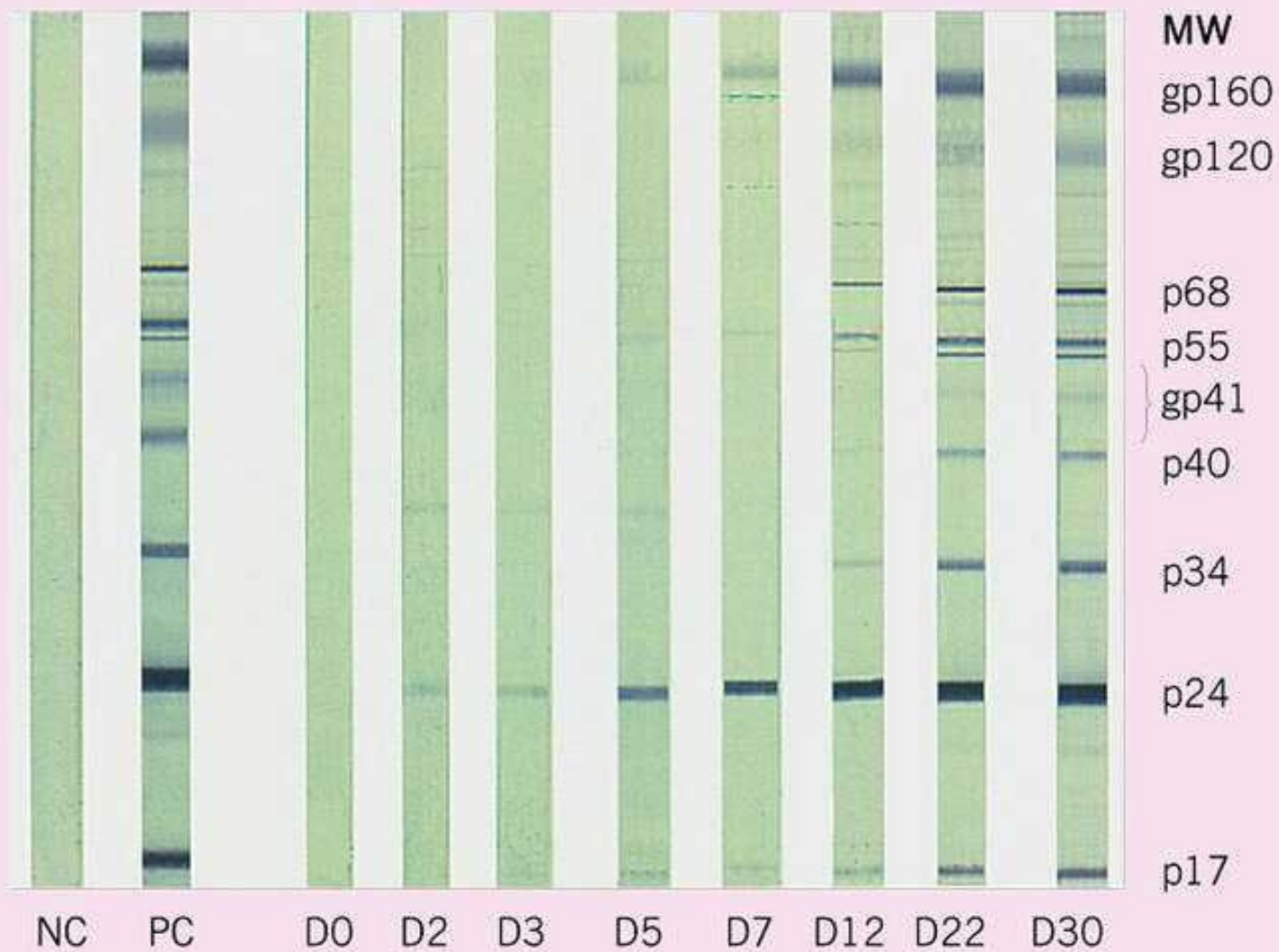


Полный иммунный блот с типичным набором антител к антигенам ВИЧ-1

Результаты иммунного блота

- Положительный: обязательно присутствуют антитела к двум из трех гликопротеинов ВИЧ (gp 160, gp 120, gp 41), соответствует завершению сероконверсии
- Отрицательный: антитела отсутствуют
- Неопределённый (сомнительный): набор антител не соответствует критериям положительного результата (сероконверсия не завершена или ложноположительная реакция)

Процесс сероконверсии в иммунном блоте





184426

Подтверждающее исследование на ВИЧ-инфекцию № 184426

Дата поступления: 23.09.2014 Дата исследования: 25.09.2014

Результаты исследования

1. Анти-HIV 1,2 и АГ HIV-1 (т/с "Genscreen Ultra HIV Ag - Ab")
Серия 3G0676 Срок годности до: 15.12.2014 Положительный 0,285 / 3,371
2. Анти-HIV 1,2 и АГ HIV-1 (т/с "ARCHИТЕКТ HIV Ag/Ab Combo Reagent Kit")
Серия 39865LI00 Срок годности до: 25.01.2015 Положительный 1,000 / 34,880
3. Антиген р24 ВИЧ-1 (т/с "ВИЧ-1 р24-антиген-ИФА-Бест")
Серия 1552 Срок годности до: 17.03.2015 Положительный 0,095 / 2,555
4. Спектр антител к HIV-1 (т/с "ИФА-Блот-ВИЧ-1" ЗАО "ЭКОлаб")
Серия 39 Срок годности до: 31.12.2014 Неопределённый

ENV			GAG				POL		
Gp 160	Gp 120	Gp 41	P 55	P40	P 24	P 18	P 68	P 52	P 34
+/-	-	-	-	-	+/-	-		-	-

Заключение: Результат неопределенный



189235

Подтверждающее исследование на ВИЧ-инфекцию № 189235

Дата поступления: 23.12.2014 Дата исследования: 25.12.2014

Результаты исследования

1. Анти-HIV 1,2 и АГ HIV-1 (т/с "Genscreen Ultra HIV Ag - Ab")
Серия 4H0693 Срок годности до: 30.01.2016 Положительный 0,295 / 5,775
2. Анти-HIV 1,2 и АГ HIV-1 (т/с "ARCHИТЕКТ HIV Ag/Ab Combo Reagent Kit")
Серия 39865LI00 Срок годности до: - 25.01.2015 Положительный 1,000 / 852,140
3. Спектр антител к HIV-1 (т/с "ИФА-Блот-ВИЧ-1" ЗАО "ЭКОлаб")
Серия 40 Срок годности до: 31.01.2015 Положительный

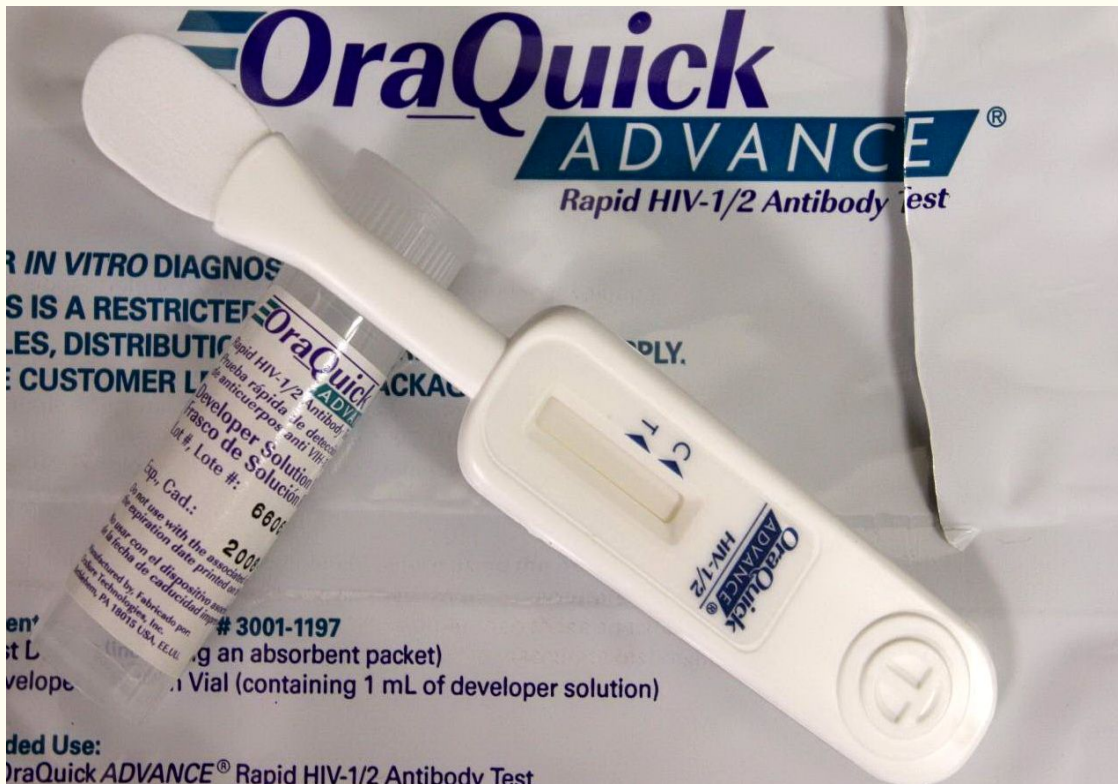
ENV			GAG				POL		
Gp 160	Gp 120	Gp 41	P 55	P40	P 24	P 18	P 68	P 52	P 34
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Заключение: Результат положительный



БЫСТРЫЕ ТЕСТЫ НА ВИЧ-ИНФЕКЦИЮ (ЭКСПРЕСС-ТЕСТЫ)

- Соответствуют скрининговым тестам, требуют подтверждения стандартными методами
- Результат через 15-30 минут
- Не требуют специального оборудования и сложного обучения
- Материал: плазма и сыворотка крови, цельная кровь, в т. ч. капиллярная, моча, транссудат слизистой оболочки ротовой полости (околодесенная жидкость)



ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ:

- > Беременные с неизвестным ВИЧ-статусом в предродовом периоде
- > Экстренные операции
- > Аварийные ситуации
- > Работа с труднодоступными группами населения

ЛОЖНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ СЕРОЛОГИЧЕСКИХ ТЕСТОВ

Ложноотрицательные результаты при поиске антител:

- Период «серологического окна»
- поздние стадии ВИЧ-инфекции, истощение иммунной системы

Ложноположительные результаты при поиске антител:

- кросс-реактивность при стимуляции иммунной системы
 - > беременность
 - > аутоиммунные заболевания
 - > поствакцинальный период
 - > хронический диализ
 - > инфекционные заболевания
- технические ошибки



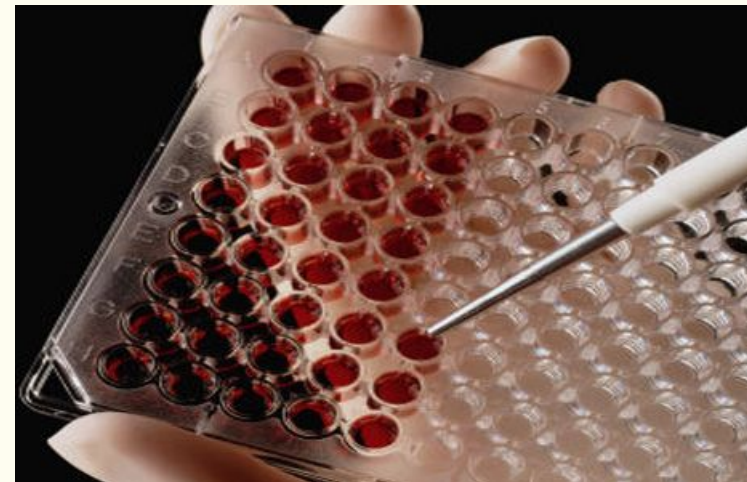
ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ

Показания к проведению ПЦР для подтверждения ВИЧ-инфекции:

- период «серологического окна»
- сомнительный результат иммунного блота
- обследование детей, родившихся от ВИЧ-инфицированных матерей
- обследование донорской крови

Ложноотрицательные результаты ПЦР:

- Инфицирование ВИЧ-2
- Мутации ВИЧ
- «Элитные контроллеры»
- Эффективная АРВТ



«5.1. ...Присутствие антител к ВИЧ, РНК или ДНК ВИЧ является **лабораторным доказательством** наличия ВИЧ-инфекции ... »

«5.11.3. **Диагноз болезни**, вызванной вирусом иммунодефицита человека, устанавливается врачом Центра по профилактике и борьбе со СПИД или врачом уполномоченной специализированной медицинской организации ... **на основании комплекса эпидемиологических данных, результатов клинического обследования и лабораторных исследований** (в том числе только на основании выявления ДНК или РНК ВИЧ) ... »

(Санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.5.2826:10
«Профилактика ВИЧ-инфекции»
(от 11.01.2011г, с изменениями от 21.07.2016г))

ИММУНОГРАММА

- Дополнительное исследование
- Определение клеточного состава (иммунофенотипирование) лимфоцитов крови методом проточной цитофлуориметрии



- Т-хелперы (CD4+ лимфоциты)
норма > 500 кл/мкл; > 35 %
- Иммунорегуляторный индекс

$$\frac{CD4 +}{CD8 +} \text{ма} > 1)$$

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

- Лабораторное исследование на ВИЧ-инфекцию в РФ проводят добровольно, с согласия человека и после обязательного консультирования по вопросам профилактики
- Основой лабораторного подтверждения ВИЧ-инфекции является выявление антител и антигенов ВИЧ, а в особых случаях, выявление ДНК/РНК ВИЧ
- Лабораторное исследование проводят в два этапа: скрининг (ИФА/ИХЛА) и подтверждение (иммунный блот, ПЦР)
- При обнаружении антител/антигенов/ДНК/РНК ВИЧ человека направляют для дообследования в специализированную медицинскую организацию
- Диагноз «ВИЧ-инфекция» устанавливают на основании комплекса эпидемиологических, клинических и лабораторных данных

ЛИТЕРАТУРА

Санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.5.2826:10
«Профилактика ВИЧ-инфекции»
(от 11.01.2011г, с изменениями от 21.07.2016г)

Национальные рекомендации по диспансерному наблюдению и лечению больных ВИЧ-инфекцией. Клинический протокол. 2016.

Consolidated guidelines on HIV testing services. Geneva: World Health Organization; 2015. (Сводное руководство по услугам тестирования на ВИЧ. ВОЗ. Женева, 2015)

ВИЧ 2014/15 (www.hivbuch.de) / Под ред. Кристиана Хоффмана (Christian Hoffmann) и Юргена К. Рокштро (Jürgen K. Rockstroh). Medizin Fokus, 2015.

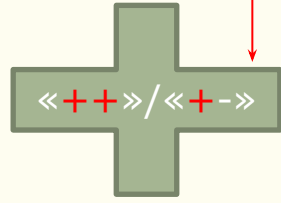
БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ

I. Скрининг

ИФА/ИХЛА тест-система IV поколения



повтор ИФА/ИХЛА дважды



Первично-положительный скрининг

II. Подтверждение в референс-лаборатории

ИФА/ИХЛА альтернативная тест-система



Иммунный/линейный блот



Неопределенный (сомнительный) результат

Отрицательный результат

ИФА/ИХЛА иная альтернативная тест-система



Положительный результат

Определение антигена p-25/24 ВИЧ или ДНК/РНК ВИЧ; обследование на ВИЧ-2

Дообследование в специализированной мед. организации

выявлен антиген p-25/24 ВИЧ или ДНК/РНК ВИЧ

Повторить серологическое исследование через 2 недели, 3 месяца, 6 месяцев

