

ОСОБЕНОСТИ В СПЕЦИФИЧНАТА ДИАГНОСТИКА И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ПРИ HIV-ИНФЕКЦИЯТА



проф. д-р Ралка
Аргирова

Адъбгадем Сити
Клиник ДКЦ и Токуга
Болница, гр. София

Прозоречен период е времето между заразяването с HIV и появата в кръвта на биохимично измерими маркери на инфекцията (най-често антители, но като маркери могат да бъдат използвани и вирусспецифични антигени, както и вирусна РНК). Сероконверсия е моментът, в който се откриват биохимично измеримите маркери (най-често антители към HIV, които най-вероятно се формират по-рано, отколкото се откриват).

Практически, прозоречният период е времето между заразяването и откриването на антивирусните антители. HIV антителата се откриват най-рано 2 седмици след заразяването, в 60-65% от случаите се откриват след 4 седмици, в 80% – след 6 седмици, в 90% – след 8 седмици и в 95-98% – след 12 седмици. При съвременните тестове от 4^{то} поколение освен анти-р24 антителата, се открива и р24 антигена – около 4-5 дни преди появата на антителата. Най-ранно определяемият лабораторен маркер е HIV РНК, която пък се открива около 6-7 дни преди р24 антигена. Следователно, няма никакъв смисъл да се търсят специфични маркери на HIV преди началото на втората седмица след заразяването.

Специфичните диагностични методи при HIV-инфекция включват:

- Съвременни методи за доказване на HIV-инфекцията.
- Съвременни методи за мониторирането ѝ.

Диагностицирането на HIV инфекцията се базира на лабораторен скринингов тест. Най-често това е ELISA или хемилуминисцентен тест.

Двукратно реактивен резултат от тези тестове трябва да бъде погледен на потвърдително изследване на същия серум (плазма) с теста Western blot.

Скриниращият тест обикновено е с висока чувствителност, т.е. не пропуска инфекция. Такива са използваните днес тестове 4^{то} поколение, определящи едновременно както антитела към HIV, така и циркулиращ вирус (вирусен антиген). Голямото им предимство е, че те силно скъсяват прозоречния период, тъй като могат да определят и вирусни антигени, ако антивирусните антители все още не са се образували. Скриниращите тестове имат специфичност 99.0-99.5%. Това означава, че при специфичност напр. 99.5% една от 200 отрицателни проби ще покаже положителен резултат, който всъщност е фалшиво-положителен. Това именно се наблюдава в страни с ниско разпространение на инфекцията (както е у нас), за които потвърдителният тест е задължителен. Фалшиво-положителните резултати най-често са резултат от стимулиране на имунната система от различни фактори (бременност, автимуни заболявания, други вирус-

Преди да опишем особеностите в специфичната диагностика на HIV-инфекцията, ще дефинираме някои основни понятия от областта HIV/СПИН. HIV-инфекцията се определя като периода от момента на заразяване с HIV до смъртта при естествен ход на инфекцията. СПИН е последната фаза на HIV инфекцията, като съществуват ясно определени критерии (клинични и лабораторни) за поставяне на диагнозата СПИН. Симптомите на остра/хронична HIV инфекция при възрастни и деца са описани в Приложение 1 към чл.10, т.1 на Наредба N47 на МЗ, обнародвана в ДВ, бр.103/29.12.2009 г. В Приложение 2 към чл.10, т.2 на същата Наредба са описани индикаторните заболявания за СПИН.

ни инфекции, понякога неотдавнашни ваксинации, хемодиализа и др.).

Лицензираните скриниращи тестове „познават“ всички известни до днес на науката типове и субтипове на HIV-1 и HIV-2.

Определяните антитела са от типа IgG и скриниращите тестове не ги различават поотделно, т.е. отчитат се общо антивирусните антитела и/или антигени.

Днес все по-често се използват и т.нар. „бързи“ тестове за HIV. Практически те съответстват на скрининговите тестове, но резултатът от тях излиза много бързо (10-15 мин.), изпълняват се с капиларна кръв (убождане на пръста) и са особено полезни при спешни случаи. За потвърждение на „реактивните“ резултати от скрининговите тестове най-често се използва методът Western blot. Формулирани са и критериите за трите възможни резултата от Western blot (WB): позитивен, негативен и неопределен профил. Типичният позитивен профил изисква наличие на антитела срещу всички вирусни белтъци или поне на две антитела, едното от които задължително е срещу някой от гликопротеините (gp120/gp160, gp41). Последният профил се наблюдава най-често при неотдавнашна инфекция, когато сероконверсията вече е налице, но е непълна. Негативният профил говори за липса на антитела срещу вирусните антигени, т.е. в серума (плазмата) на изследваното лице не се откриват антитела към HIV към момента на вземането на кръвта. При неопределения WB се наблюдават антитела, но в нетипична комбинация – липсват тези срещу гликопротеините, поради което не може да се приеме положителен резултат. Неопреде-



леният WB не трябва да се тълкува като несигурен лабораторен резултат, а като находка, изискваща допълнително наблюдение и изследване. В този смисъл неопределеният профил не е окончателен резултат.

Съвременни методи за измерване на вирусния товар. PCR като допълнителен метод за потвърдителна диагностика и за мониториране на HIV инфекцията.

Вирусният товар (Viral Load – VL) е параметър, включен днес в рутинното лабораторно мониториране на HIV инфекцията, независимо дали

болният е на терапия, или тя му предстои. Вирусният товар, заедно с броя на CD4+клетките, са най-важните маркери на развиващата се инфекция. Вирусният товар дава информация доколко висок е рискът от прогресиране на инфекцията, както и доколко терапията е успешна, ако вече се прилага. Индиректно този параметър подсказва и за настъпване на резистентност към някой от препаратите, влизащи в протокола на антиретровирусната терапия (ART). Вирусният товар измерва количеството на вирусния генетичен материал HIV РНК, която

директно корелира с броя на вирусните. Параметърът се изразява в копия/мл (напр. 100 000 копия HIV РНК/мл) или в логаритъм с основа 10 (напр. в дадения пример $\log_{10} = 5,0$). Параметърът „вирусен товар“ при HIV инфекцията измерва директно вирусната концентрация и е тясно свързан с броя на CD4+ клетките, определящи функционалното състояние на имунната система на заразения индивид.

Напоследък все по-често в практиката PCR се използва като потвърдителна диагностика, още преди провеждането на WB. Според нови препоръки на CDC, PCR анализът може да се използва за потвърждаване на „реактивен“ резултат след скриниращия тест вместо WB при определени условия. Това се обуславя от високата 100% чувствителност на този тест и от по-ранното му позитивиране – често преди WB, практически в края на 1^{-ма} седмица след заразяването. При използване на 4^{-то} поколение скринингов тест (както е в много лаборатории у нас) реактивният резултат, обусловен от открития вирусен антиген/и може да се открие чрез PCR още преди формирането на антителата, т.е. по време на прозоречния период, преди настъпване на сероконверсията. В този случай PCR тестът ще се позитивира. Възможен е обаче и т.нар. втори фалшиво отрицателен диагностичен прозоречен период – такъв ще настъпи, ако нивата на р24 антигена и anti-p24 антителата се изравнят. Най-добрата диагностика на острата HIV-инфекция се базира на откриване на вирусна репликация – позитивен PCR при отсъствие на антивирусни антитела, т.е. в условията на пре-сероконверсия. В практиката това се наблюдава при „неопределен“ WB. Именно

в този случай най-чувствителният тест е PCR, откриващ HIV-1 РНК.

Но PCR тестът се счита „позитивен“, само ако вирусният товар е над 1000 копия/мл, според някои автори над 2000 копия/мл. Известно е, че във фазата на острата HIV инфекция вирусният товар е от порядъка на милиони копия вирусна РНК/мл. Ако вирусният товар е под 1000-2000 копия/мл, PCR тестът се счита за „негативен“ и WB е абсолютно задължителен за изключване на инфекцията. Не се препоръчва HIV PCR тестът да се използва като скринингов, включително и поради факта че са възможни фалшиво отрицателни резултати. Следователно, серологичният скринингов тест не може и не бива да бъде подценяван и изместван.

Ето някои причини за фалшиво отрицателен PCR резултат:

1. Търговските HIV PCR тестове обикновено не откриват HIV-2 (рядко срещащ се в Европа), необходимо е допълнително провеждане на HIV-2 PCR. В същото време, както вече казахме, скрининговите тестове от 4^{-то} поколение откриват всички известни досега субтипове на HIV-1 и HIV-2.
2. По-малко от 1% от пациентите, заразени с HIV, могат да потискат вирусната репликация без лечение с антиретровирусна терапия – ART („елитни контроли“). При такива пациенти PCR тестът ще е „отрицателен“, но скрининговите тестове и WB ще докажат инфекцията.
3. Както е известно, целта на антиретровирусната терапия е да редуцира вирусния товар до неопределимо ниво. Лица след терапия ще покажат „отрицателен“

PCR, но тестът WB ще остане винаги „позитивен“.

Скъсяването на прозоречния период при използване на скрининговите тестове от 4^{-то} поколение, както и възприетото започване на антиретровирусната терапия веднага след диагностициране на инфекцията, ще налага все по-честото използване на PCR теста за доказване на инфекцията преди настъпването на сероконверсията.

Редно е използването на PCR теста преди настъпила сероконверсия (най-често при неопределен WB, но „реактивен“ резултат в скрининговите тестове от 4^{-то} поколение) да бъде регламентирано и внедрено рутинно в потвърдителната диагностика.

Брой на CD4+ клетките (хелперните клетки). Измерването им става обикновено чрез флоуцитометричен анализ с помощта на моноклонални антитела. Техният брой говори за функционалното състояние на заразения пациент, като определя и индивидуалния риск от прогресиране на инфекцията. Всеки индивид, живещ с HIV, трябва да има брой на CD4+ клетки на 6-месечен интервал. Наблюденията показват, че достигането на 200 кл./ μ л значително повишава риска от прогресия към СПИН, като под 100 кл./ μ л практически са налице СПИН-индикаторни заболявания и/или опортюнистични инфекции.

В заключение, най-важната стъпка при диагностицирането на HIV инфекцията е да се мисли за нея. Хипотезата за HIV инфекция вече води до скринингов тест при определени условия и до PCR тест, определящ HIV РНК. ■