

Сандырева Т.П., Подымова А.С., Прохорова О.Г.

Совершенствование подходов лабораторного выявления ВИЧ-инфекции

ГБУЗ СО «Свердловский областной центр профилактики и борьбы со СПИД», г. Екатеринбург

Sandyreva T. P., Podymova A. S., Prokhorova O. G.

Improving approaches to laboratory detection of HIV infection

Резюме

Статья посвящена анализу алгоритма тестирования на ВИЧ-инфекцию, который требует совершенствования в связи с появлением новых технологий. Показана необходимость внесения изменений в структуру алгоритма, отказ от повторяющихся однотипных тестов на уровне скрининговых лабораторий. Анализ результатов скрининговых исследований показал низкую предсказательную ценность метода иммуноблота (70%), особенно при использовании отборочных тестов с невысокими аналитическими характеристиками. Предложено при определении метода подтверждающего теста ориентироваться на значение коэффициента реактивности (КР): при получении значения КР более 500 прогностическая ценность иммуноблота не менее 99,9%, также высока прогностическая ценность первично – положительного результата при значении КР в диапазоне 100-500, составившая 94,1%. При низких значениях КР рекомендовано в качестве подтверждающего теста использовать ПЦР анализ. Предложен новый алгоритм тестирования на ВИЧ-инфекцию, где количество тестов сокращено до 2-4

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, алгоритм тестирования, иммуноблот, ПЦР-анализ, коэффициент реактивности

Для цитирования: Сандырева Т.П., Подымова А.С., Прохорова О.Г., Совершенствование подходов лабораторного выявления ВИЧ-инфекции, Уральский медицинский журнал, №04 (187) 2020, с. 25—29, DOI 10.25694/URMJ.2020.04.04

Summary

The article is devoted to the analysis of the modern algorithm of testing for HIV infection, which requires improvement due to the emergence of new technologies. The article shows the need to make changes in the structure of the algorithm, the rejection of repetitive tests of the same type at the level of screening laboratories. Analysis of the results of screening studies showed a low predictive value of the immunoblot method (70%), especially when using selection tests with low analytical characteristics. The proposed method in determining the confirmatory test to focus on the value of the reactivity coefficient (RC): when getting the value of CU over 500 predictive value of immunoblot not less than 99.9%, also a high predictive value of the primary – positive results in the value of CU in the range of 100-500 amounted to 94.1%. For low CR values, it is recommended to use PCR analysis as a confirmation test. Algorithm for testing for HIV infection is proposed, where the number of tests is reduced to 2-4

Key words: HIV infection, testing algorithm, immunoblot, PCR analysis, reactivity coefficient

For citation: Sandyreva T. P., Podymova A. S., Prokhorova O. G., Improving approaches to laboratory detection of HIV infection, Ural Medical Journal, №04 (187) 2020, p. 25—29, DOI 10.25694/URMJ.2020.04.04

Введение

В соответствии с программой ЮНЭЙДС «90-90-90» (2014 г.) 90% ВИЧ-инфицированных должны знать свой ВИЧ-статус, 90% должны получать антиретровирусную терапию и у 90%, получающих антиретровирусную терапию, должна быть подавлена репликация вируса. Отправным моментом для достижения цели по снижению количества новых случаев ВИЧ-инфекции и смертности от ВИЧ-инфекции, является раннее выявление и своевременное информирование об инфекционном статусе ВИЧ-инфицированных лиц [1].

Действующий в настоящее время лабораторный алгоритм выявления ВИЧ-инфекции, утвержденный Санитарными правилами 3.1.5.2826-10 «Профилактика ВИЧ-инфекции» (2011г.), регламентирует при получении первично-положительного результата повторное последовательное исследование данной сыворотки в той же тест-системе, а при получении ещё хотя бы одного положительного результата - направление этого образца в арбитражную лабораторию, в которой проводятся подтверждающие тесты серологическими и молекулярными методами. В общей сложности для выявления и

верификации ВИЧ-инфицированного пациента необходимо провести 6-7 лабораторных тестов [2]. Лаборатории диагностики ВИЧ низкой и средней производительности, входящие в сеть скрининговых лабораторий, имеют удлиненный технологический цикл за счёт низкой кратности исследований (1-2 раза), что приводит к увеличению сроков тестирования на этапе лабораторного скрининга. Отдаленность от арбитражной лаборатории затрудняет логистику и удлиняет сроки доставки, в связи с этим пациент часто не получает своевременно информацию о своем позитивном ВИЧ-статусе.

Современный опыт направлен на использование укороченных алгоритмов тестирования на ВИЧ, зачастую без применения длительного и дорогостоящего иммуноблота (ИБ). Так в алгоритме, предложенном ВОЗ, комплекс применяемых тестов определяется prevalентностью ВИЧ-инфекции на конкретной территории (<5% - низкая, ≥5% - высокая). При высокой распространённости ВИЧ-инфекции в популяции достаточно получения двух положительных результатов ИФА/ИХЛА тестов для выдачи лабораторного заключения, а при обследовании популяции с низкой распространённостью ВИЧ-инфекции для постановки диагноза необходимо получить три положительных результата в разных тест системах. Считается, что при использовании тестов с хорошими аналитическими характеристиками достаточно использование скрининговых тестов для постановки предварительного диагноза «высоко-подозрительный на ВИЧ» и направления пациента в специализированное учреждение для постановки клинического диагноза, с применением ПЦР [3]. В рекомендациях Центра по контролю и профилактике заболеваний США (CDC) также на этапе алгоритма подтверждения при скрининге не используют тест ИБ, после получения положительного результата иммунохимического теста проводят дифференцировку между ВИЧ 1 и ВИЧ 2, для отрицательных образцов проводят уточнение с использованием теста на молекулярные маркеры ВИЧ (РНК/ДНК ВИЧ) методом ПЦР[4]. В действующих рекомендациях по тестированию на ВИЧ в Европейских странах, учитывая низкую распространённость ВИЧ в общей популяции, но высокую распространённость инфекции среди диагностируемых пациентов, после первого положительного результата выполняют ИБ, на втором образце перед оценкой вирусной нагрузки выполняют серологический (ИФА/ИХЛА) тест с использованием другой тест-системы. В случае отрицательного результата ИБ рекомендовано исследование на выявление антигена р24 ВИЧ-1 или РНК/ДНК ВИЧ методом ПЦР[5].

Цель работы: на основе анализа организации и длительности процедуры лабораторного тестирования на выявление ВИЧ и качества алгоритмов предложить оптимизированный диагностический алгоритм тестирования на ВИЧ-инфекцию.

Материалы и методы

В ходе исследования проанализированы результаты скрининговых исследований на ВИЧ-инфекцию ЛДС Свердловской области по срокам, кратности обследова-

ния и времени доставки материала в арбитражную лабораторию. Использованы результаты скрининговых и верификационных исследований на ВИЧ, проведенные в ГБУЗ СО «ОЦ СПИД» с применением диагностических тест-систем для совместного выявления антител к ВИЧ-1,2 и антигена р24 методом иммуноферментного анализа (ИФА) «ДС-ИФА-ВИЧ-АГ+АТ» (НПО «Диагностические системы» Россия), «ARCHITEST HIV Ag/Ab Combo» (Эбботт, США). Подтверждение наличия антител к ВИЧ-1,2 проводилось методом иммунного блота на тест-системах «Инно Лиа ВИЧ-1,2» (Инодженетик, Бельгия), «МПБА_Блот-ВИЧ-1, ВИЧ-2» (ООО «МПБА диагностика», Россия), а также методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием тест-системы «РеалБест РНК ВИЧ» (ЗАО Вектор-Бест, Россия). Проанализированы результаты исследований на маркеры выявления ВИЧ серологическими методами (ИФА, ИХЛА, иммуноблот) - 51974 пациентов в возрасте от 18 месяцев, 66 990 исследований.

Результаты и обсуждение

В лабораторном выявлении ВИЧ-инфекции на территории Свердловской области задействованы более 40 лабораторий диагностики СПИД (ЛДС) всех форм собственности, в том числе 22 подведомственных Министерству здравоохранения Свердловской области (без учета лабораторий службы крови).

Лабораторный скрининг на ВИЧ-инфекцию в лабораториях областных учреждений здравоохранения проводится в рамках государственного задания с четким закреплением каждой территории за ЛДС. Исходя из потока проб, технической оснащённости и персонала в структуре службы имеется 8 лабораторий высокой производительности, 6 средней производительности и 11 лабораторий малой производительности. Анализ деятельности ЛДС показал, что только 48% лабораторий выполняют постановку лабораторных тестов на ВИЧ ежедневно, 35% ЛДС из-за логистических проблем производят отpravку позитивных клинических образцов в арбитражную лабораторию не чаще двух раз в месяц, в итоге в 60% положительный результат выдается арбитражной лабораторией через 10 и более дней с момента поступления клинического образца в скрининговую лабораторию. Учитывая, что средняя продолжительность пребывания пациентов в круглосуточных и дневных стационарах в 2018 г. составила соответственно 10,8 и 9,8 дней [6], большая часть ВИЧ-инфицированных пациентов покидает лечебные учреждения без информации о выявлении положительного результата тестирования на ВИЧ.

В рамках работ по оптимизации алгоритма тестирования нами были проанализированы результаты исследований на маркеры выявления ВИЧ серологическими методами (ИФА, ИХЛА, иммуноблот). Были проанализированы результаты 51974 пациентов в возрасте от 18 месяцев (66 990 исследований). При проведении верификационных тестов в подтверждающий тест ИБ было направлено 5179 образцов, положительный результат получен у 3 685 пациентов (71%), неопределенный и от-

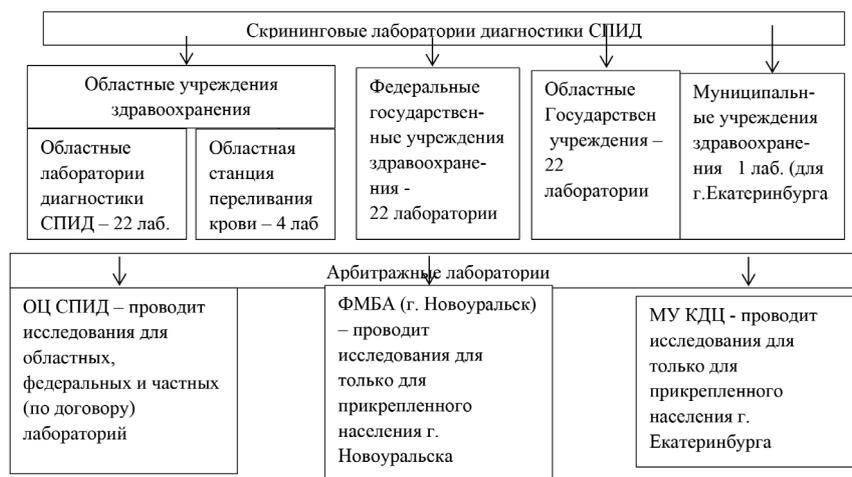


Рисунок 1. Схема организации лабораторной диагностики ВИЧ в Свердловской области

рицательный результат получен у 356 (7%) и 1138 (22%) пациентов соответственно. В ходе наблюдения и повторного тестирования 118 пациентов стали положительными в иммуноблоте (из неопределенного – 87 (24%), из отрицательного – 31(3%)). Следует отметить, что 1338 (89,6%) пациентов не явились для повторного тестирования, т.е. покинули лечебную сеть без верификации диагноза возможно инфицированные пациенты. Низкая предсказательная ценность результата ИБ связана с особенностью данной технологии выявления специфических антител класса G, т.е. выявления инфекции в стадии развернутой сероконверсии, а также направленных образцов с ложноположительным результатом ИФА, полученным вследствие использования тест-систем с плохой специфичностью. Анализ результатов при использовании тест-систем с улучшенными характеристиками по специфичности («ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo», ИХЛИА) в первичном скрининговом тесте показал, что из 2520 пациентов с положительными результатами отборочных тестов и направленных в иммуноблот положительный результат был получен в 80% случаев (2029 образцов), только лишь незначительно улучшив предсказательную ценность ИБ, т.к. данная технология предназначена для выявления ВИЧ-инфекции в стадии развернутой сероконверсии (устойчивая продукция антител класса Ig G).

При применении тестов с улучшенными аналитическими характеристиками нами проанализированы значения коэффициентов реактивности (КР) для определения прогностической ценности первично-положительного результата, полученного с использованием набора «ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo». Для этого значения КР были разделены на следующие диапазоны: [1-10]; [10-100]; [100-500]; >500. Всего обследовано 22880 образцов. Для подтверждения ВИЧ в иммуноблоте (ИБ) отобраны 2535 образцов.

Результаты, представленные в таблице 1, показали, что прогностическая ценность положительного результата в подтверждающем тесте не менее 99,9% при получении значения КР более 500, также высока прогностическая ценность первично – положительного ре-

зультата при значении КР в диапазоне 100-500, составившая 94,1%.

Из 142 образцов повторно обследованных впоследствии стали положительными в ИБ 118 (83%). 74% образцов отрицательных в ИБ имели КР ниже 10, а из 83 образцов с отрицательным ИБ и КР выше 10 впоследствии стали положительными в ИБ 47%. С другой стороны, при получении результатов со значениями КР в диапазоне 1-100 высока вероятность отрицательного результата в иммуноблоте не менее 88,3%.

Это позволило прогнозировать положительный результат в ИБ по значению КР:

- если КР образца 1-10, то вероятность ИБ быть позитивным 1,7%;
- если КР образца 10-100, то вероятность положительного результата в ИБ – 40% и неопределенного – 45%;
- если КР образца 100-500, то вероятность положительного результата более 94%;
- при КР > 500 вероятность, что этот пациент ВИЧ-инфицированный не менее 99%.

Исходя из полученных результатов исследования имеется возможность направления первично-положительного образца с высокими значениями КР (100 и более) на подтверждающее исследование методом иммуноблота без проведения дополнительных верификационных тестов. Однако необходимо отметить, что эта возможность может быть реализована при использовании тест-систем с высокими аналитическими характеристиками. В то же время первично-позитивные образцы с КР до 100 целесообразно направить на подтверждение молекулярно-биологическими методами выявления нуклеиновых кислот ВИЧ, что наиболее оптимально для диагностики ранней острой ВИЧ-инфекции.

Таким образом, показана высокая эффективность применения теста ARCHITECT ВИЧ КОМБО Ag/Ab и его прогностическая возможность по КР. Установлено, что при высоком КР (>100) и отрицательном или неопределенном ИБ велика вероятность у этих пациентов ранней острой ВИЧ-инфекции, следовательно целесообразно выполнить исследование на РНК-ВИЧ. У низко-реактив-

Таблица 1. Распределение образцов по значениям коэффициента реактивности и интерпретация результатов по первому образцу

Результат ИБ на том же образце	Значения коэффициента реактивности (КР)			
	[1-10]	[10-100]	[100-500]	>500
Положительный ИБ (%)	1,7	40,9	85,2	98,3
Вероятность ВИЧ-положительного ИБ (%), не менее	1,7	45,0	94,1	99,9
Вероятность отрицательного ИБ (%), не менее	88,3	13,5	5,8	1,1
На последующих образцах - были «отрицательные» стали (абс.):				
«отрицательными»	11	1	0	0
стали «неопределенными»	2	1	1	0
стали «положительными» (45)	1	11	19	9+5(Ag)
нет данных	198	21	15	2
На последующих образцах - были «неопределенные» стали (абс.): «отрицательными»				
остались «неопределенными»	2	2	0	0
стали «положительными» (73)	0	7	4	0
нет данных	2	29	35	4+3 (Ag)
	20	67	16	0

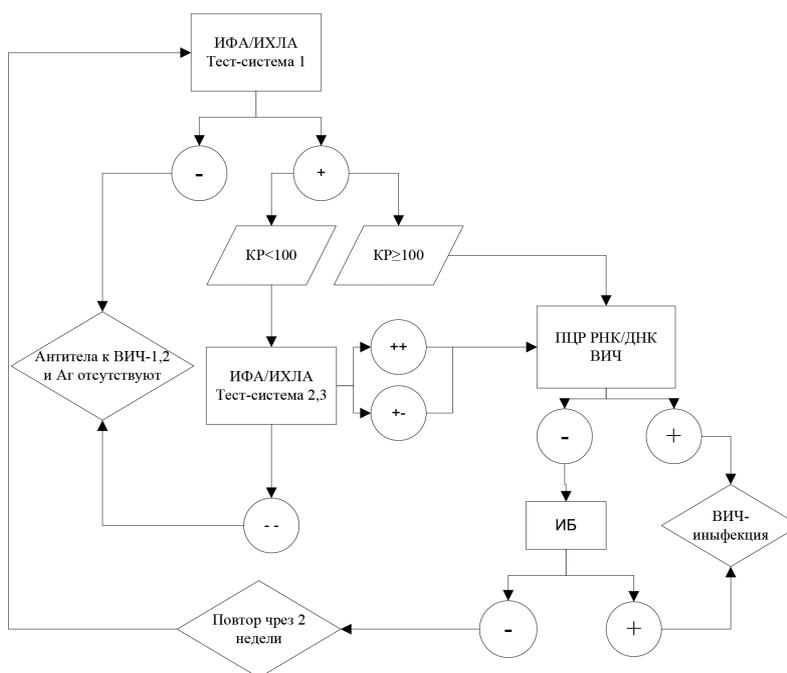


Рисунок 2. Оптимизированный алгоритм лабораторного выявления ВИЧ-инфекции

ных образцов (<100) следует использовать альтернативный метод ПЦР.

Нами разработан алгоритм тестирования на ВИЧ при использовании высококачественных тестов (рисунок 2). Предлагается при получении результата с $KP > 100$ в первичном ИФА и расценивая это как высокий прогностический результат наличия ВИЧ-инфекции, провести подтверждающее исследование методом ИБ без промежуточных верификационных тестов и определить пациента как «подозрительного» на ВИЧ-инфекцию, организовать экстренное консультирование пациента и обследование на иммунный статус и вирусную нагрузку. При получении результатов с KP в диапазоне $1 \leq KP < 100$ целесообразно провести верификационные исследования методом ИФА/ИХЛА с использованием тест-систем дру-

гих производителей с аналогичными или улучшенными аналитическими характеристиками. В случае получения отрицательного результата в обоих тестах выдвигается заключение об отсутствии антител к ВИЧ. При получении дискордантных (противоречивых) результатов верификационных тестов пациента рассматривают как с ранней стадией ВИЧ-инфекции либо неспецифической ложноположительной реакцией, в данном случае для дифференциальной диагностики необходимо выполнить исследования методом ПЦР. При получении коркордантных результатов верификационных тестов высока вероятность нахождения пациента в стадии острой ВИЧ-инфекции, поэтому тесты выбора должны быть направлены на выявление в первую очередь вирусных белков (p24Ag ВИЧ-1) и нуклеиновых кислот (РНК/ДНК ВИЧ

ПЦР), т.к. применение антительных тестов в период до сероконверсии нецелесообразно.

Значимой составляющей при расширении лабораторного скрининга на ВИЧ-инфекцию в регионах с генерализованной эпидемией может стать уведомительное тестирование всех пациентов в возрасте 18-60 лет при обращении за медицинской помощью. Для этого предлагается отменить информированное согласие на проведение освидетельствования на ВИЧ-инфекцию, а обследование проводить на основании общего информированного добровольного согласия на виды медицинских вмешательств, включенные в Перечень определенных видов медицинских вмешательств, на которые граждане дают информированное добровольное согласие при выборе врача и медицинской организации для получения первичной медико-санитарной помощи (утв. приказом Минздрава России от 20.12.2012 № 1177н). Данное предложение обосновано тем, что в данный Перечень включены лабораторные методы обследования, в том числе вирусологические, к которым относится выявление ВИЧ-инфекции (приказ Минздрава России от 21.02.2000 №64 «Об утверждении номенклатуры клинических лабораторных исследований»).

Для внедрения в регионах с генерализованной эпидемией ВИЧ-инфекции уведомительного тестирования необходимо внести соответствующие изменения в пп. 5.6-5.8 Санитарных правил 3.1.5.2826-10 «Профилактика ВИЧ-инфекции». При этом, крайне важно обеспечить сообщение положительного результата тестирования на ВИЧ-инфекцию и направить пациента в центр СПИДа

или уполномоченную медицинскую организацию для установления диагноза и оказания медицинской помощи.

Заключение

Достижению целевых показателей программы ЮНЭЙДС «90-90-90» и Государственной стратегии противодействия распространению ВИЧ-инфекции в Российской Федерации может способствовать оптимизация системы выявления ВИЧ-инфекции, которая предусматривает увеличение охвата населения обследованием и изменение алгоритма лабораторного скрининга с укорочением процедуры тестирования - 2-3 теста вместо 6-7, что приведет к сокращению сроков тестирования для своевременного информирования пациента о положительном тесте на ВИЧ-инфекцию, а также к экономическим эффектам. ■

Татьяна Павловна Сандырева, Россия, г. Екатеринбург, заведующая отделом лабораторной диагностики ГБУЗ СО «Свердловский областной центр профилактики и борьбы со СПИД», Анжелика Сергеевна Подымова, Россия, г. Екатеринбург, д.м.н., главный врач ГБУЗ Свердловской области «Свердловский областной центр профилактики и борьбы со СПИД», Ольга Геннадьевна Прохорова, Россия, г. Екатеринбург, к.м.н., заведующая отделом профилактики ВИЧ/СПИД и психосоциального консультирования ГБУЗ СО «Свердловский областной центр профилактики и борьбы со СПИД». Автор, ответственный за переписку: Сандырева Т. П. 620102, г. Екатеринбург, ул. Ясная, 46, spid-lab@mis66.ru. Телефон (343)243-05-39.

Литература:

1. «90-90-90» Амбициозная цель в области лечения, направленная на прекращение эпидемии СПИДа. Объединенная программа Организации Объединенных Наций по ВИЧ/СПИДу (ЮНЭЙДС) - 2014 г. [электронный ресурс] -- <http://www.unaids.org> (дата обращения 25.02.2020г.).
2. Профилактика ВИЧ-инфекции: санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.5.2826-10: утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 11 января 2011 г. № 1 (ред. от 21 июля 2016 г.) [электронный ресурс] – Консультант Плюс: <http://www.consultant.ru>. (дата обращения 25.02.2020г.).
3. Сводное руководство по услугам тестирования на ВИЧ. Всемирная организация здравоохранения – 2016г. [электронный ресурс] – <http://www.euro.who.int>(дата обращения 25.02.2020г.).
4. Laboratory Testing for the Diagnosis of HIV Infection Updated Recommendations. Центр по контролю и профилактике заболеваний (CDC), США – 2014г. [электронный ресурс] – <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/23447> (дата обращения 25.02.2020г.).
5. HIV testing in Europe. Технический отчет Европейского центра по профилактике и контролю заболеваний – 2018г. [электронный ресурс] – <https://docviewer.yandex.ru/view> (дата обращения 25.02.2020г.).
6. Об итогах реализации Территориальной программы государственных гарантий бесплатного оказания гражданам медицинской помощи в Свердловской области за 2018 год. Постановление Правительства Свердловской области от 20 мая 2019 года N 294-ПП. [электронный ресурс] – <http://docs.cntd.ru/document/553275797> (дата обращения 25.02.2020г.).