Сложности в лабораторной диагностике ВИЧ-инфекции

Белоглазова В.А.
Лисицина З.Н.

Санкт-Петербург
15 марта 2019 г.

Случай № 1

- Пациент И. 1997 г.р.
- Болен с февраля – марта 2015 года. Лихорадка до 39 градусов несколько дней, сухой кашель.
- В июне 2015 обратился в детскую поликлинику, где был обследован (алт – 174 ед/л, аст – 299 ед/л) и был выставлен диагноз: о. гепатит.
- В клиническом анализе крови – лейкопения и анемия. СОЭ 82 мм/час.
- Заподозрен острый лейкоз и пациент был направлен к гематологу.
- А также сдал кровь на ВИЧ – результат оказался неопределенным.

Иммуноферментный анализ

Наименование тест системы	ОП кр/ОП образца	Результат (ИФА)
Genscreen HIV Ultra Ag-Ab	0.295 / 4.876	Положительный
Architect HIV Ag/Ab Combo	1 / 91.520	Положительный
«ВИЧ – 1 р 24 – антиген - ИФА – Бест»	0.104 / 4.899	Положительный

Иммунный блотинг

ENV			GAG				POL		
gp 160	gp 120	gp41	p55	p40	p24	p18	p68	p52	p34
-	-	-	-	-	+/-	-	-	-	-

Результат неопределенный от 18.06.2015 г.

Центр СПИД

26.06.15

- ВН - более 10 000 000 копий/мл
- CD4 лимфоциты – 79 кл/мкл

01.07.15

Госпитализирован в стационар Центра в тяжелом состоянии

При выявлении стадия была расценена как 2 В, так как у пациента был неопределенный иммунный блот и р24 антиген.

- АРВТ 11.07.15

Видекс 250, ламивудин 300, эфавиренз 600

ВН – 63 254 копий/мл (за месяц уменьшилась в 158 раз)

CD 4 – 179 кл/мкл (увеличились в два раза)

- При плановом обследовании в октябре, ноябре того же года вирусная нагрузка более 10 000 000 копий/мл
- CD 4 лимфоциты - 69 кл/мкл

Повторная госпитализация в стационар

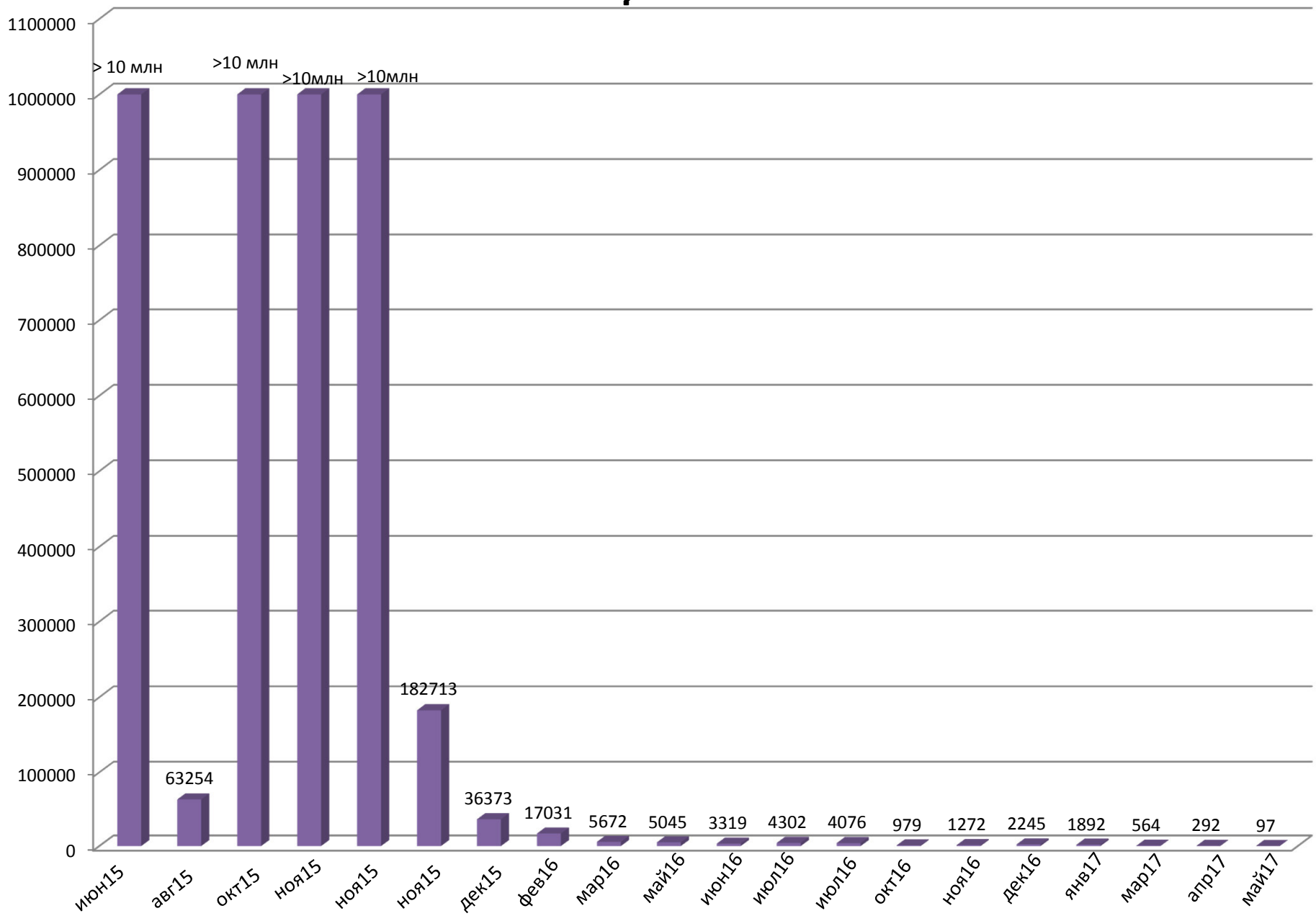
Проведен тест на резистентность

↓

Смена терапии

- Положительная иммунологическая и вирусологическая динамика
- ВН – 182 713 копий /мл
- CD4 лимфоциты – 362 кл/мкл
- Выписан из стационара.

Количество РНК ВИЧ копий в 1 мл плазмы крови пациента



Повторное исследование на резистентность.

⇩

Тест на тропность вируса к CCR5 рецепторам

⇩

Изменение схемы терапии

Ралтегравир 800, Маравирок 600, Тенофовир 300

⇩

Вирусная нагрузка – 97 копий /мл
CD 4 – 443 клеток/мкл

Сравнительная характеристика выявления антител/антигена на разных тест -системах

Дата	Наименование тест системы	ОП кр/ ОП образца	Результат (ИФА)	Результат р 24, Cobas
26.05.15	Genscreen HIV Ultra Ag-Ab	0.28/3.968	Положительный	Положительный
	Cobas HIV Combi Ag/Ab	1/34,5	Положительный	
20.07.15	Genscreen HIV Ultra Ag-Ab	0,256/0,694	Положительный	Положительный
	Cobas HIV Combi Ag/Ab	1/8,89	Положительный	
	Architect HIV Ag/Ab Combo	1/3,81	Положительный	
15.10.15	Genscreen HIV Ultra Ag-Ab	0,296/4,135	Положительный	Положительный
	Architect HIV Ag/Ab Combo	1/166,31	Положительный	
02.11.15	Genscreen HIV Ultra Ag-Ab	0,288/4,071	Положительный	Положительный
	Architect HIV Ag/Ab Combo	1/120,72	Положительный	

Продолжение

Дата	Наименование тест системы	ОП кр/ ОП образца	Результат, ИФА	Результат p24, Cobas
30.06.16	Genscreen HIV Ultra Ag-Ab	0,255/0,062	Отрицательный	Отрицательный
	Cobas HIV Combi Ag/Ab	1/1,07	Положительный	
	Architect HIV Ag/Ab Combo	1/0,2	Отрицательный	
17.10.16	Genscreen HIV Ultra Ag-Ab	0,249/0,044	Отрицательный	Отрицательный
	Cobas HIV Combi Ag/Ab	1/0,736	Отрицательный	
07.11.16	Genscreen HIV Ultra Ag-Ab	0,272/0,079	Отрицательный	Отрицательный
	Cobas HIV Combi Ag/Ab	1/0,738	Отрицательный	
	Architect HIV Ag/Ab Combo	1/0,12	Отрицательный	
26.05.17	Genscreen HIV Ultra Ag-Ab	0,261/0,133	Отрицательный	Отрицательный
	Cobas HIV Combi Ag/Ab	1/3,83	Положительный	
	Architect HIV Ag/Ab Combo	1/0,32	Отрицательный	

Результаты иммунного блота

Дата	Наименование тест системы	Белковый профиль										Результат
		ENV			GAG				POL			
		gp 160	gp 120	gp 41	p 55	p 40	p 24	p 18	p 68	p 52	p 34	
18.06.15	NEW LAV BLOT I	-	-	-	-	-	+/-	-	-	-	-	Сомнит.
26.06.15	NEW LAV BLOT I	-	-	-	+/-	-	+	-	+/-	-	-	Сомнит.
20.07.15	NEW LAV BLOT I	-	-	-	-	-	+/-	-	-	-	-	Сомнит.
15.10.15	NEW LAV BLOT I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Отриц.
02.11.15	NEW LAV BLOT I	-	-	-	+/-	-	-	-	+/-	-	-	Сомнит.
30.06.16	NEW LAV BLOT I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Отриц.
17.10.16	NEW LAV BLOT I	-	-	-	-	-	+/-	-	+/-	+/-	-	Сомнит.
07.11.16	NEW LAV BLOT I	-	-	-	-	-	+/-	-	+/-	+/-	-	Сомнит.
26.05.17	NEW LAV BLOT	-	-	-	-	-	+/-	-	+/-	+/-	-	Сомнит.

С начала прошлого года у пациента стабильное снижение вирусной нагрузки.

Наблюдается сероконверсия и **иммунный блот** стал положительным ИФА

Наименование тест системы	ОП кр/ ОП образца	Результат (ИФА)
Genscreen HIV Ultra Ag-Ab	0.290 / 4.425	Положительный
Architect HIV Ag/Ab Combo	1 / 4,380	Положительный
«ВИЧ – 1 р 24 – антиген - ИФА – Бест»	1/0,283	Отрицательный

ENV			GAG				POL		
gp 160	gp 120	gp41	p55	p40	p24	p18	p68	p52	p34
+	+	+/-	-/+	-	-	-	-/+	-/+	-

Случай № 2

- Пациентка 2000 г.р.
- Диагноз «ВИЧ – инфекция» на основании результатов исследований:

  ПЦР ДНК ВИЧ (+) от 21.06.2001 г.

  ПЦР РНК ВИЧ 400785 копий/мл от 21.02.2002 г.

  Иммунный блот (+)
- С сентября 2002 года была назначена противовирусная терапия :

С 28.01.2003 г. ВН стабильно ниже уровня определения.

- Ребенок воспитывается в приемной семье
- До 10 лет наблюдался в ФКУ РКИБ МЗ РФ
- В Центре «СПИД» с 2010 года
- Диагноз: В23.2. Стадия 4А
- Объективно: состояние удовлетворительное, есть жалобы на отставание в речевом развитии, но учится в общеобразовательной школе, с программой справляется. У ребенка наблюдаются психические расстройства в виде скованности, зажатости, трудности к социальной адаптации.
- Диагноз ребенок не знает.
- Привержен к терапии. Без иммуносупрессии.
- Терапия – Видекс, Зиаген, Калетра таб. и Калетра сироп

Терапию переносит хорошо.

В 2013 году в связи с побочными эффектами в виде болей в животе, верхних и нижних конечностях Видекс заменили на Эпивир.

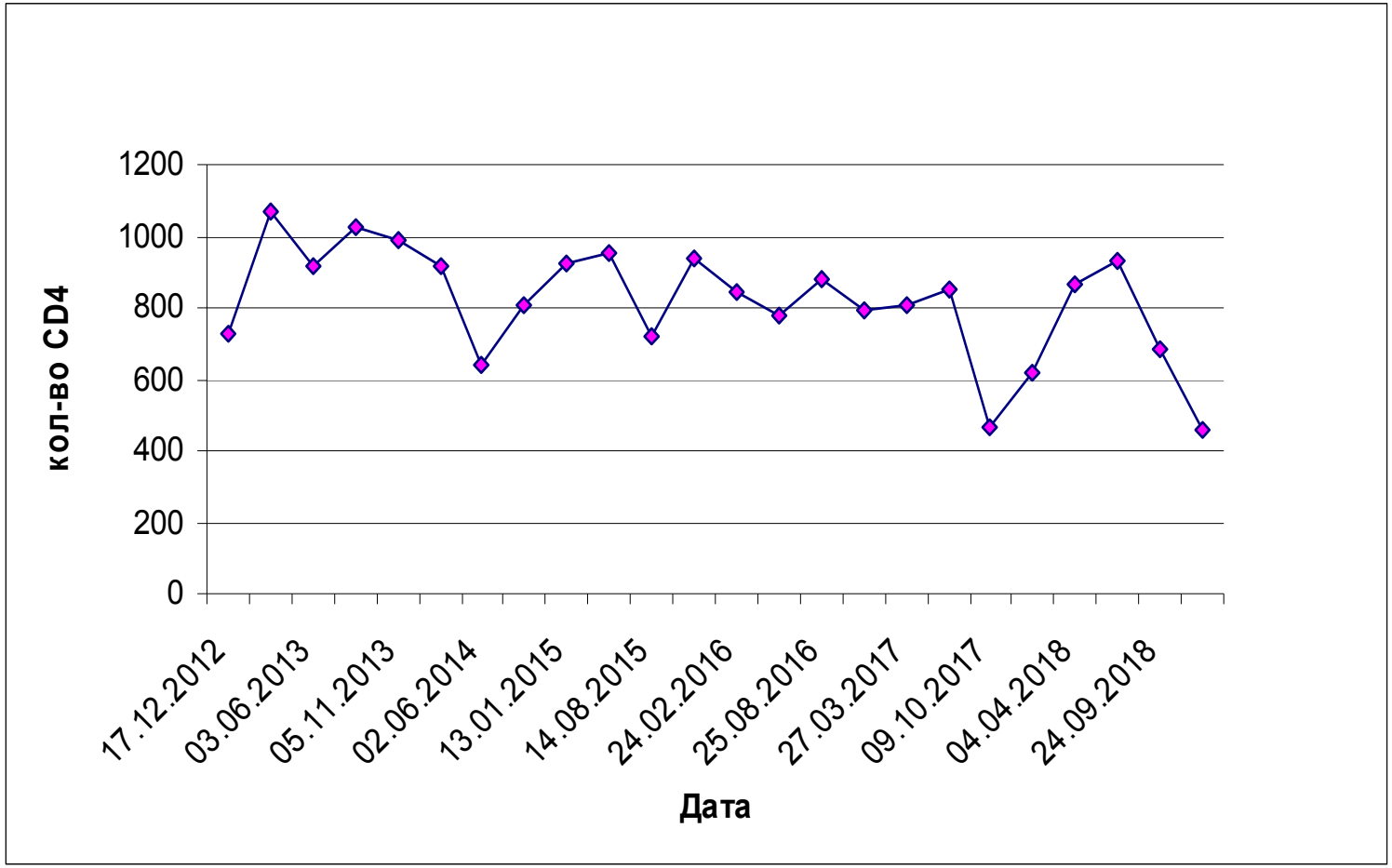
С 2014 года жалобы на эпизоды афтозного стоматита. Местное лечение не помогало.

2015 год смена терапии: Кивекса, Калетра.

- С 17 лет ребенок на прием приходит один.
- С июня 2018 года еще одна смена терапии в связи с диспепсическими явлениями, и для улучшения приверженности назначена Эвиплера - 1т – 1 р в день.
- В 18 лет была переведена на взрослое отделение
- При общении с психологом выявлена низкая самооценка, коммуникативные трудности, низкая мотивация на обучение.

Лабораторные показатели вирусной нагрузки и CD 4		
Дата	ВН копий/мл	CD 4
15.10.2010	не обн (<500)	966
23.08.2011	не обн (<20)	846
17.12.2012	не обн (<40)	725
28.03.2013	не обн (<20)	1069
03.06.2013	не обн (<150)	919
23.08.2013	обн. (<40)	1022
05.11.2013	обн. (<20)	988
17.02.2014	не обн (<20)	918
02.06.2014	не обн (<40)	643
22.08.2014	не обн (<40)	808
13.01.2015	не обн (<20)	921
06.05.2015	не обн (<40)	951
14.08.2015	не обн (<150)	718
06.11.2015	не обн (<150)	937
24.02.2016	не обн (<150)	846
01.06.2016	не обн (<20)	775
25.08.2016	не обн (<20)	878
07.12.2016	не обн (<150)	790
27.03.2017	не обн (<40)	807
19.06.2017	не обн (<40)	852
09.10.2017	не обн (<40)	465
09.01.2017	не обн (<40)	617
04.04.2018	не обн (<40)	862
26.06.2018	не обн (<40)	931
24.09.2018	не обн (<40)	687
27.12.2018	не обн (<20)	456

Количество CD 4



- 18.11.2018 г. Пошла в некоммерческую организацию «Берег» , где сдала кровь на ф-50 анонимно и получила отрицательный результат:

Наименование тест-системы	ОП кр/ ОП образца	Результат ИФА
Murex HIV Ag-Ab Combination	0,231 / 0,072	**Отрицательный**
Architect HIV Ag/Ab Combo	1,0 / 0,280	**Отрицательный**
ВИЧ -1 p24 антиген-ИФА -Бест	0,092 / 0,021	**Отрицательный**

Иммуноферментный анализ и результат иммунного блота от 20.12.2018 г

Наименование тест-системы	ОП кр/ ОП образца	Результат ИФА
Genscreen HIV Ultra Ag-Ab	0,283/1,604	Положительный
Cobas HIV Combi PT	1,0/11,180	Положительный
Cobas HIV Ag (ВИЧ Аг p24)	1,0/0,375	**Отрицательный**

ENV			GAG				POL		
gp 160	gp 120	gp 41	p55	p40	p24	p18	P68	p52	p34
-	-	-/+	+	+/-	+	-	+/-	-/+	-/+

Результат ИБ - неопределенный

РНК ВИЧ - не обнаружено (<40 копий/ мл)

ДНК ВИЧ – положительно

Таблица результатов ИФА

Наименование тест-системы	ОП кр/ ОП образца	Результат ИФА
Genscreen HIV Ultra Ag-Ab	0,283/1,604	Положительный
Cobas HIV Combi PT	1,0/11,180	Положительный
Murex HIV Ag-Ab Combination	0,231/0,072	Отрицательный
Architect HIV Ag/Ab Combo	1,0/0,280	Отрицательный
Cobas HIV Ag (ВИЧ Аг p24)	1,0/0,375	Отрицательный

Ложноположительные серологические реакции (ЛПР) на ВИЧ

- При скрининговом обследовании беременных женщин имеет место ЛПР на ВИЧ
- При исследовании одних и тех же образцов крови в разных тест-системах могут быть разные результаты, в т ч и ЛПР.
- Тест – системы ИФА на ВИЧ имеют специфичность >= 98-99,5 %

Возможные причины ЛПР на ВИЧ

1**. Другие инфекционные заболевания:**
- ОРВИ, грипп
- Туберкулез
- Малярия
- Вирусные гепатиты

2. Вакцинация (недавняя)
- Против гриппа
- Гепатита В
- Столбняка

3. Аутоиммунные заболевания
- Ревматоидный артрит.
- Системная красная волчанка и др.

4. Беременность (образуются специфические белки, меняется гормональный состав, антитела)

5. Качество биологического материала
- Гемолиз
- Гиперлипемия

6. Неинфекционные болезни
- Злокачественные новообразования (рак)
- Гемофилия
- Цирроз
- Миеломная болезнь
- Ожоги

7. Гемодиализ

8. Технические погрешности тест-систем

9. Ошибки, допущенные на преаналитическом и аналитическом этапе.

Ложноотрицательные результаты на ВИЧ

- 1. Состояние иммунодефицита (на поздних стадиях ВИЧ – инфекции)
- 2. Технические ошибки при постановке реакции
- 3. Чувствительность и специфичность тест-систем
- 4. Период «серологического окна»

Выводы

- Важно применять тест-системы **IV поколения** для определения ВИЧ-инфекции, позволяющие выявлять не только антитела, но и антиген ВИЧ.
- По литературным данным на поздних стадиях заболевания у пациентов может происходить сероревертия.
- Также сероревертия может наблюдаться у пациентов , у которых благодаря ВААРТ удалось добиться восстановления иммунной системы на длительный срок.

Выводы

- У пациентов, которые начали получать ВААРТ на стадии острой ВИЧ-инфекции также может происходить сероревертия.
- Для точной диагностики и обнаружения ВИЧ-инфекции необходимо использовать комплексный подход, а именно, исследовать на тест-системах разных производителей, с различным форматом постановки реакции, использовать ПЦР диагностику.
- В силу особенностей вируса и, возможно, особенностей организма у некоторых пациентов выработка антител происходит очень слабо.

Благодарю за внимание!