

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

# ВИЧ

СОВРЕМЕННЫЕ РЕАЛИИ

МЕТОДЫ И АЛГОРИТМЫ ДИАГНОСТИКИ  
ДИАГНОСТИКА ВИЧ В РОССИИ  
СОЧЕТАНИЕ ВИЧ И ГЕПАТИТА С

# Лабораторная диагностика ВИЧ. Современные реалии.

Автор: Оганнес Зардарян

Редакция: Дарья Филатова

Оформление: Матвей Карпов

Верстка: Матвей Карпов

[Веб-версия](#)

**Вирус иммунодефицита человека** – грозное хроническое инфекционное заболевание, которое захлестнуло человечество во второй половине XX века. Бессимптомное течение, невозможность окончательного излечения и сокращение длительности жизни при отсутствии антиретровирусной терапии – ВИЧ ужасал и обезоруживал в своем дебюте.

Но прогресс не стоит на месте. За более чем сорокалетнюю историю заболевания, медицина достигла значительных успехов в изучении ВИЧ, в частности – в алгоритмах и методах диагностики вируса.

В этой статье мы расскажем, как обстоят дела с лабораторной диагностикой ВИЧ и разберемся в современных тенденциях выявления данного заболевания.

Этот текст мы подготовили совместно с [Imbian](#) – компанией, которая разрабатывает и производит медицинские тест-системы для диагностики заболеваний человека.

## С чего все началось

После выделения и описания вируса, связанного со СПИДом, в 1983 году были разработаны диагностические тесты с использованием отдельных изолятов HTLV III (Abbot и Electronucleonics) и вируса лимфаденопатии (LAV) (*генетические системы*). В этих иммуноферментных анализах (ИФА) и методах хемилюминесценции в качестве антигенных мишеней использовались белки, выделенные из инфицированных вирусом культур тканей. Анализы выявляли только антитела IgG к ВИЧ-1.

Тесты первого поколения обладали высокой чувствительностью, но имели диагностическое окно до 12 недель или более после заражения и обладали низкой специфичностью. Последнее приводило к частым ложноположительным результатам, которые были связаны с инфекциями, аутоиммунными заболеваниями, беременностью и неуточненными состояниями.

Поэтому (*аналогично тестированию на сифилис*) был добавлен второй уровень тестирования для улучшения специфичности. Две процедуры были одобрены FDA в качестве подтверждающих тестов только на антитела к ВИЧ-1: иммунофлюоресцентный анализ HTLV III (*метод флуоресцирующих антител, МФА*) и вестерн-блоттинг или иммуноблоттинг. Как и скрининговые анализы, каждый из них обнаруживал только IgG против ВИЧ и имел отрицательные на антитела окна 6 недель или более.

Был разработан алгоритм тестирования, при котором наблюдалась реакция в двух образцах крови. Если один или оба образца были реактивными, выполнялась процедура подтверждения. Только образцы, которые неоднократно реагировали в скрининговом тесте и проявлялись в подтверждающем тесте, имели окончательную интерпретацию как положительную. Но даже при такой комбинации с тестами первого поколения невозможно было избавиться от диагностических ошибок. Этот момент породил потребность в более совершенных тестах, которые можно было бы использовать для диагностики ВИЧ-инфекции.

Тесты на ВИЧ второго поколения, разработанные в конце 1980-х годов, улучшили специфичность и, следовательно, положительную прогностическую ценность процедур скрининга за счет добавления рекомбинантных антигенов, в частности ВИЧ-1 p24, в антигенную среду. Часто производители добавляют в антигенный препарат белок ВИЧ-2 и белок ВИЧ-1 группы O, чтобы обнаружить антитела к этим вирусам.

Тесты второго поколения сократили отрицательное на антитела окно до 4-6 недель после заражения. Поскольку эти анализы могли обнаруживать антитела к ВИЧ-2 в дополнение к антителам к ВИЧ-1, в алгоритм было добавлено подтверждающее тестирование и на ВИЧ-2.

Добавление обнаружения IgM к процедуре анализа привело к тесту на ВИЧ третьего поколения. Хотя специфическое обнаружение IgM не было клинически полезным, комбинация IgG/IgM сократила отрицательное окно антител примерно до 3 недель после заражения. Также может быть выполнен ИФА для обнаружения антигена p24, который обнаруживает вирус уже через 2 недели после заражения. Однако общий алгоритм тестирования остался прежним, и результаты повторного реактивного скрининга по-прежнему подтверждались иммуноблоттингом или МФА.

В конце 1990-х годов производители разработали анализы на ВИЧ, которые сочетали обнаружение антител и антигенов. Как и прежде, это были процедуры на основе ИФА и хемилюминесценции. Эти тесты сократили окно отрицательного результата теста примерно до 2 недель. Хотя в этих процедурах были обнаружены как антитела, так и антиген, тест давал только один результат и не дифференцировал, был ли положительный результат связан с присутствием антигена ВИЧ-1 p24 или с наличием антител к ВИЧ-1 или ВИЧ-2. Хотя эти тесты использовались за пределами Соединенных Штатов в течение многих лет, первой процедурой четвертого поколения, одобренной FDA, был метод Abbot Architect, который был одобрен в августе 2010 года.

Когда в Соединенных Штатах были приняты тесты на ВИЧ четвертого поколения, понадобился новый алгоритм тестирования. Последующее тестирование требовало обнаружения как антигена, так и антител. Иммуноблоттинг, который имеет 4-6-недельное окно с отрицательным результатом на антитела, может давать ложноотрицательные результаты у пациентов с ранней инфекцией, которые могут быть идентифицированы с помощью анализа четвертого поколения. Таким образом, иммуноблоттинг был заменен анализом дифференцировки антител к ВИЧ.

Первоначально Центр по контролю и профилактике заболеваний (CDC) предложил два отдельных алгоритма тестирования четвертого поколения: один для районов с низким риском заражения ВИЧ и один для районов высокого риска. Однако в 2014 году был доработан единый алгоритм. Новый алгоритм следовал тесту четвертого поколения с процедурой дифференцировки ВИЧ-1/2, чтобы определить, есть ли у пациента антитела к ВИЧ-1 или ВИЧ-2. Образцы, которые неоднократно реагировали с помощью анализа четвертого поколения и все же были отрицательными по процедуре дифференцировки ВИЧ-1/2, должны были быть протестированы с использованием качественного анализа ПЦР РНК ВИЧ-1, чтобы определить, присутствует ли ВИЧ-1.

В 2015 году FDA одобрило метод мультиплексного анализа скринингового теста на ВИЧ пятого поколения в качестве диагностического анализа. Этот тест, как и процедуры четвертого поколения, обнаруживает как антитела к ВИЧ, так и антиген ВИЧ-1 p24, но дает отдельные результаты для каждого аналита. Однако на данный момент нет четкого алгоритма с использованием тестов пятого поколения, поэтому все пока остаются на тестах предыдущего поколения.

## Методы и алгоритмы диагностики ВИЧ

Существует несколько способов диагностики ВИЧ-инфекции. Выбор наиболее подходящего метода зависит от понимания естественного течения ВИЧ-инфекции, т.е. от того, какой маркер присутствует в данный момент после заражения (рис. 1).

Вирус иммунодефицита человека реплицируется при попадании в организм экспрессирует антиген на поверхности инфицированных клеток. Нарастает иммунный ответ, при этом активированные клетки CD4 и макрофаги мигрируют к очагу инфекции. По иронии судьбы, эти активированные клетки являются основными мишенями ВИЧ, и после заражения они вызывают более сильный иммунный ответ, способствуя дальнейшему распространению инфекции. Этот процесс занимает от 3 до 4 дней после воздействия (в течение периода «затмения» (*eclipse period*), который определяется как время между воздействием и возможностью обнаружения РНК ВИЧ в плазме). Как только достигается критическая масса клеток иммунной системы, репликация вируса увеличивается в геометрической прогрессии, производя от 10 до 100 миллиардов вирионов в день. Эти вирусные частицы могут быть обнаружены уже на 5-й день после установления инфекции и достигают своего пика на 20-й день, когда начинает действовать более эффективный иммунный ответ, контролирующий инфекцию. Вирусный антиген (белок p24) можно обнаружить примерно на 14-й день.

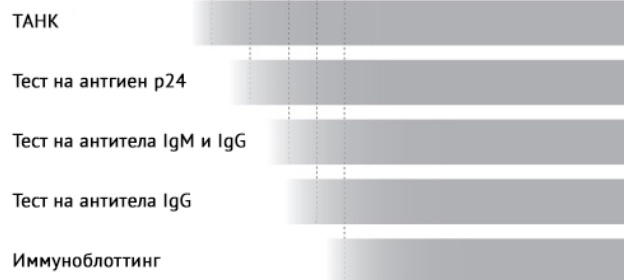
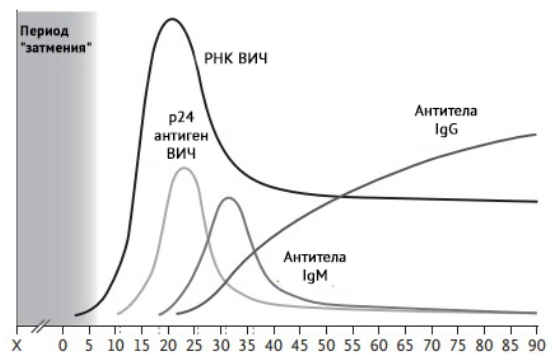


Рисунок 1 | Прогрессирование вирусемии ВИЧ и иммунного ответа после первоначального заражения.

Точка времени X указывает на момент первоначального воздействия, а день 0 указывает на установление инфекции. ТАНК – тест амплификации нуклеиновых кислот. Для справки: полимеразная цепная реакция (ПЦР) – более узкий подтип ТАНК.

В зависимости от силы иммунного ответа симптомы острого сероконверсионного синдрома могут развиваться у пациента примерно на 7–12-й день. Признаки иммунного ответа можно обнаружить на 20-й день как положительная реакция на антитела IgM. Вскоре после этого обнаруживаются антитела IgG в сыворотке.

Итак, что это значит при выборе метода диагностики:

- В период «затмения» до установления вирусемии на 5-е сутки инфицирование не выявляется.
- К 6-8 дню вирус можно обнаружить с помощью теста амплификации нуклеиновых кислот (ТАНК или NAAT – *nucleic acid amplification test*).
- Вирусные белки (антиген p24) можно обнаружить между 13 и 20 днями.
- Антитела, изначально в форме IgM, обнаруживаются к 20 дню, а IgG обнаруживаются к 30 дню.

Из-за высокой стоимости NAAT уступает первенство комбинированным тестам антиген-антитело, в которых используется антиген p24 для выявления инфекции на ранних стадиях, в настоящее время являются стандартными тестами в больницах и коммерческих лабораториях. Большинство этих тестов могут выявить инфекции ВИЧ-1 и ВИЧ-2.

**NB!** Да, существует 2 вида ВИЧ: более распространенный ВИЧ-1 и редкий ВИЧ-2. Предполагается, что эти вирусы возникли в результате независимой передачи людям SIV (вируса иммунодефицита обезьян) от шимпанзе и мангобеев соответственно.

Для первичной и подтверждающей (верификационной) диагностики ВИЧ CDC разработал определенный алгоритм действий. Первоначальное тестирование на ВИЧ следует проводить с помощью иммуноанализа

антиген-антитело, который выявляет антитела к ВИЧ 1-го типа (ВИЧ-1) и ВИЧ 2-го типа (ВИЧ-2), а также антиген р24 ВИЧ-1. Если тест не реагирует на первоначальный иммуноанализ, он считается отрицательным, и дальнейшее тестирование не показано, если только нет клинического подозрения на очень раннюю инфекцию (до того, как может быть обнаружен антиген р24); в этом случае проводится NAAT ВИЧ-1 для выявления РНК ВИЧ. Образцы с результатами иммуноанализа на реактивный антиген и антитела должны быть протестированы с помощью дополнительного иммуноанализа на антитела, который отличает антитела к ВИЧ-1 от антител к ВИЧ-2; реактивный результат этого теста интерпретируется как положительный на антитела к ВИЧ-1 или антитела к ВИЧ-2 соответственно. Образцы, которые реагируют на исходный анализ на антиген и антитела, но не реактивные (или неопределенные) при анализе на ВИЧ-1-специфичные и ВИЧ-2-специфичные антитела, следует протестировать с помощью NAAT на ВИЧ-1. Положительный NAAT в данном случае является диагностическим признаком острой инфекции ВИЧ-1. Отрицательный результат NAAT на ВИЧ-1 и не реактивный или неопределенный результат иммуноферментного анализа на дифференцировку антител к ВИЧ-1 указывают на ложноположительный результат на ВИЧ-1.

Помимо классических “лабораторных” методов тестирования, существует экспресс-тестирование. В экспресс-тестах в качестве образцов может использоваться либо цельная кровь (<10–50 мкл), взятая из пальца, либо мазок из полости рта (слюна или десневое отделяемое). Эти тесты удобны и просты в применении, поэтому отлично подходят и для самообследования.

Лабораторное тестирование на ВИЧ более точное, но экспресс-тесты имеют высокий уровень чувствительности и специфичности и могут выручить: например, когда поход в больницу или лабораторию невозможен или затруднен.

## Диагностика ВИЧ в России

**NB!** Тестирование на ВИЧ доступно в большинстве городов России. Тест сдается только по желанию пациента, его можно сдать анонимно. Проведение теста без согласия тестируемого является незаконным.

В отечественных реалиях также используются системы тестирования 4-го поколения для выявления ВИЧ, в том числе – экспресс-тестирование. Однако в системе подтверждения ВИЧ-серопозитивности используются методы ПЦР и иммуноблоттинга.

Диагностику ВИЧ в России условно можно разделить на три этапа:

- 1. Скрининговый:** предназначен для выполнения первичных исследований крови на ВИЧ-инфекцию.
- 2. Референтный:** позволяет с помощью специальных методических приемов уточнить первичный результат, полученный на скрининговом этапе.
- 3. Экспертный:** предназначен для окончательного подтверждения или исключения наличия специфических маркеров ВИЧ-инфекции, выявленных на предыдущих этапах лабораторной диагностики

Для проведения скрининга используются комбинированные тест-системы для одновременного выявления антител к ВИЧ-1,2 и антигена р24 ВИЧ-1

---

*В России одним из разработчиков и производителей таких систем экспресс-тестирования является компания **Imbian**. Они производят тест системы 4-го поколения для выявления ВИЧ на ранних сроках заражения с возможностью определить антиген р24 (белок вируса) и антитела к вирусу ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Важно – система подходит и для самостоятельного тестирования.*

---

При получении отрицательного результата на фоне имеющихся у пациента серьезных эпидемиологических предпосылок и характерных для декомпенсированного иммунодефицита клинических проявлений (СПИД) рекомендуется повторное ИФА-исследование с использованием тест-систем четвертого поколения или ПЦР.

Первичный положительный результат проверяется выполнением повторного исследования образца в той же тест-системе. При получении отрицательного второго результата исследование проводится третий раз, по возможности, в тест-системе другой серии. Все результаты заносятся в журнал повторных исследований. В случае получения первого положительного и двух последующих отрицательных результатов выдается заключение об отсутствии антител к ВИЧ-1,2 и антигена р24 ВИЧ-1.

Если же результаты ИФА или ПЦР являются положительными, пациент направляется на экспертный этап обследования, где проводится иммуноблоттинг. Данный метод является окончательным способом подтверждения/исключения ВИЧ и проводится в референс-лаборатории. Для этого исследуемый образец сыворотки аликвотируется, составляется сопроводительное письмо и все это отправляется это в референс-лабораторию из скрининговой лаборатории.

## Сочетание ВИЧ и вирусного гепатита С

У пациентов с ВИЧ стремительно развиваются гепатиты, сифилис, туберкулез и многие другие заболевания. Это напрямую связано с повреждением иммунной системы и неспособностью организма противостоять инфекционным агентам.

Отдельного внимания во всем многообразии возможных коинфекций заслуживают пациенты с сочетанием ВИЧ и вирусного гепатита С (ВГС). По данным Всемирной организации здравоохранения от 2 до 15% инфицированных ВИЧ также страдают от ВГС, а CDC заявляет 21% людей с коинфекцией в Соединенных Штатах.

В общем, сочетание ВИЧ и ВГС – частая проблема. И серьезная – ввиду длительного бессимптомного течения вирусного гепатита С.

Несмотря на всю сложность ситуации и возможных последствий для пациента, с точки зрения диагностики все относительно просто. При уже верифицированном ВИЧ производится исследование на вирусный гепатит С – при помощи экспресс-тестирования, а также методами ИФА и ПЦР в России, с использованием ИФА и ПЦР/NAAT – в странах Европы.

---

*Компания **Imbian** выпускает тест-системы для выявления вирусных гепатитов, в т. ч. и ВГС. Результат известен через 10-15 минут - это удобно в ситуации когда нет лаборатории под рукой.*

---

## Вместо заключения

Время и прогресс в области медицины позволяют создавать более совершенные методы диагностики ВИЧ. Уже сейчас разрабатываются алгоритмы для использования тест-систем пятого поколения, которые будут еще точнее и быстрее выявлять ВИЧ.

Все же, что остается врачам на данный момент: соблюдать алгоритмы диагностики и заниматься просвещением населения о важности обследования на предмет ВИЧ.

Материал выпущен при поддержке Imbian

## Список литературы

1. Alexander T. S. Human immunodeficiency virus diagnostic testing: 30 years of evolution //Clinical and Vaccine Immunology. – 2016. – Т. 23. – №. 4. – С. 249-253.
2. Deeks S. G. et al. HIV infection //Nature reviews Disease primers. – 2015. – Т. 1. – №. 1. – С. 1-22.
3. Saag M. S. HIV infection—screening, diagnosis, and treatment //New England Journal of Medicine. – 2021. – Т. 384. – №. 22. – С. 2131-2143.
4. HIV and Hepatitis C | NIH
5. Pooled NAAT following Various HIV Antibody Tests
6. Жданов К. В. ВИЧ-инфекция. Диагностика, лечение и профилактика в Вооруженных Силах Российской Федерации (методические указания) //СПб: ВМедА. – 2019.

