

Diagnostika AIDS

Standardní diagnostika HIV

Pro diagnostiku infekce virem lidské imunodeficiency (HIV) způsobujícím syndrom získaného selhání imunity (AIDS) se používá jednotný algoritmus několika testů. Základem je ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) test doplněný western blotem. V případě problémů s diagnostikou či s pacientem je připravena celá škála dalších testů, které pomohou infekci HIV potvrdit či vyvrátit. Celý doporučený postup je schematicky znázorněn na obrázku č. 1 a bude vysvětlen v dalším textu.

ELISA test

Základem testování přítomnosti HIV v organismu je detekce protilátek v séru nebo ostatních tělních tekutinách. ELISA je jednou z metod, jak u pacienta zjistit tvorbu protilátek proti viru. Specifita i senzitivita tohoto testu je více než 99 %. ELISA se tudíž používá ve většině případů jako první test v případě podezření na infekci HIV.

V případě, že je výsledek testu **negativní**, není žádný důvod pro podezření na infekci HIV a pacient je považován za zdravého. Může ovšem nastat situace, kdy pacient byl infikován v nedávné době, čímž se ocitl v tzv. *window period* (diagnostickém okně). Infekce sice v organismu přítomná je, ale ještě se nezačaly vytvářet protilátky v detekovatelném množství. Diagnostické okno může trvat až 12 týdnů (podle typu ELISA). Falešně negativní může být ELISA i v případech autoimunního onemocnění, ledvinného selhání, hemodialýzy, cystické fibrózy, vícečetného těhotenství či transfúzí a jaterních onemocnění.

Pokud se test ukáže **pozitivní**, ELISA se opakuje, protože samozřejmě může docházet k falešné pozitivitě testu. Příčiny jsou stejné jako u falešné negativity testu, navíc lze dojít k falešně pozitivním výsledkům i při intravenózní aplikaci návykových látek, očkování (hepatitida, vztekлина,...) nebo vakcinací proti HIV v rámci výzkumu. Je-li druhý ELISA test opět pozitivní, přistupuje se k dalšímu testování (western blot) pro vysokou pravděpodobnost přítomnosti infekce. Když jsou výsledky obou testů rozdílné (pozitivní a negativní), testuje se ještě jednou. Výhodné je provádět testy se vzorky odebranými stejnou metodou a vyhodnocené ve stejné laboratoři.

Western blot

Western blot detekuje přítomnost protilátek proti proteinům viru: core-proteiny (p17, p24, p55), polymerázy (p31, p51, p66) a envelope-proteiny (gp41, gp120, gp160). Hodnotí se vždy přítomnost určitých skupin protilátek. Pokud jsou přítomny jen některé protilátky, které nevyhovují kritériím pozitivního testu, je výsledek testu označen jako neurčitý.

Pozitivní výsledek western blotu v kombinaci s pozitivním ELISA testem již znamená téměř jistou přítomnost HIV, pacient je HIV pozitivní a může být zahájena léčba. Specifita western blotu je 97,8 %, což ale znamená, že více než 2 % testů jsou falešně pozitivní. Chyba může být způsobena záměnou vzorků, kontaminací negativních vzorků pozitivními vzorky nebo protilátkami proti HLA antigenům v lyzátu virů používaném při testu a chybnou interpretací elektroforetických proužků ze vzorku.

Výsledek negativní je hodnocen jako nepřítomnost infekce a pacient je tudíž HIV negativní. U pacientů s vysokým rizikem nákazy se ovšem doporučuje opakované testování, neboť stejně jako u ELISA testu může být pacient infikován nedávno a testován zrovna v diagnostickém okénku.

Neurčitý výsledek může mít mnoho příčin. Testování v diagnostickém okénku způsobí, že některé protilátky nejsou ve vzorku přítomny v detekovatelném množství. Provedení testu v pozdní fázi infekce HIV může mít za následek nezachycení protilátek proti core-proteinům viru. Někteří zdraví lidé mohou bez zřejmého důvodu vytvářet protilátky, které vykazují zkříženou reakci se specifickými HIV-1 peptidy nebo rekombinantními antigeny.

Jedná-li se o pacienta s vysokým rizikem nákazy HIV, doporučuje se sledovat jej alespoň po dobu 6 měsíců. U klientů s nízkou pravděpodobností infekce můžeme považovat test za negativní, ovšem také s možností dalšího sledování. V případě neurčitého výsledku western blotu je na řadě test množství virové RNA přítomné v plazmě: Plasma Viral Load.

Plasma Viral Load

Plasma Viral Load je komplex testů zjišťujících kvantitativně přítomnost virové RNA v plazmě pacienta. Skládá se ze tří částí:

- **PCR assay** – Polymerase Chain Reaction Assay;
- **bdNA assay** – Branched-DNA Assay;
- **NASBA** – Nucleic Acid Sequence-Based Amplification.

Nejčastějšími důvody pro Plasma Viral Load (PVL) jsou:

- v anamnéze je důvodné podezření pro nákazu HIV, nebo pacient udává příznaky svědčící pro virovou infekci;
- neurčité výsledky testů na HIV protilátky u pacienta s vysokým rizikem nákazy;
- potvrzení nově diagnostikované infekce HIV;
- pozorování pacientů bez antivirotické léčby;
- test před nasazením nebo změnou antivirotické léčby;
- testování během léčby pro porovnání výsledků.

Na obrázku č. 2 lze vidět vývoj výsledků testů PVL. Během diagnostického okénka ELISA a western blotu, kdy ještě nejsou vytvořeny protilátky, lze zachytit určité množství virové RNA v plazmě. Limit citlivosti se může pohybovat až na úrovni 20-50 molekul RNA v mililitru plazmy. PVL test se ovšem jako počáteční užívá jen výjimečně, protože jeho cena je mnohem vyšší, než u ostatních standardních testů.

Pro zjištění stupně nemoci se zjišťuje také počet CD4+ T-lymfocytů v krvi, nejčastěji pomocí průtokové cytometrie. Toto vyšetření slouží i ke kontrole účinků antiretrovirální léčby. Nové testy ukazují, že v oblastech bez možnosti rychlého transportu chlazené a antikoagulované krve do laboratoře zřejmě bude možno pro sčítání CD4+ buněk a Plasma Viral Load použít vysušené krevní nátěry zpracované pomocí EIA (Enzyme Immunoassay).

Nové metody detekce HIV

Podle studií provedených v roce 1995 v USA se zhruba 25% HIV pozitivních a 33% HIV negativních klientů nedostavila po testech na HIV pro své výsledky. Problém se netýká jen rozvinutých zemí. V rozvojových zemích existuje ztížená možnost laboratorního testování – správný a rychlý transport vzorků, nedostatek vybavení, apod. Bylo tedy nutno zajistit rychlé, pohodlné, levné a přitom spolehlivé metody, jak realizovat HIV testování.

Rychlé testování

Rychlé testy mohou být hotovy již během 30 minut. Zahrnují test na HIV-1 a HIV-2 protilátky s použitím různých nosičů (latexová aglutinace, immunoassay,...). Tyto testy se používají například v severoafrických zemích jakožto alternativa ELISA a western blotu. Rychlé testy mají specifitu více než 96% a senzitivitu okolo 99% při nízké ceně testování.

Amplifikace RNA

Tato metoda je v současnosti ve fázi výzkumů. Existuje několik různých komerčních testovacích sad, které jsou zkoušeny na dobrovolnících. Amplifikace virových nukleových kyselin umožňuje zkrátit diagnostické okno až na 8 dnů.

Domácí testovací sady

Domácí testovací sady umožňují jednoduše odebrat vzorek krve a speciální filtrační papírek se vzorkem označeným pouze anonymním číslem odeslat do laboratoře. Klient je s výsledkem obeznámen telefonicky a je mu poskytnuta základní konzultace spolu s doporučením dalšího postupu.

Neinvasivní testy

Neinvasivní testy zahrnují odběr transsudátu z ústní sliznice, moči a vaginálního sekretu. Pro analýzu vzorků se používá ELISA. Schopnost detekce je samozřejmě nižší, než u klasických metod, ovšem mezi výhody neinvasivního testování patří pohodlnost pro pacienta a také menší riziko komplikací pro pacienta i pro zdravotníka. Zmíněné tělní tekutiny obsahují IgG protilátky, které lze pomocí ELISA testu detekovat.

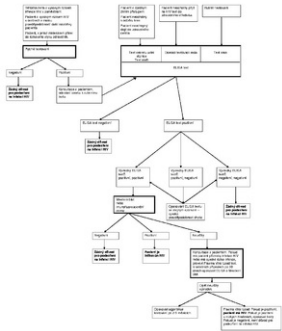
Vyšetření HIV u dárců krve

Vyšetření HIV se netýká jen pacientů, nýbrž i dárců krve. V České republice se podle vyhlášky o lidské krvi 143/2008 Sb. při každém odběru krve musí provést vyšetření diagnostických vzorků na přítomnost infekce HIV-1 a HIV-2 metodou stanovení protilátek a antigenu p24. Tím se minimalizuje riziko přenosu HIV z infikovaného dárce krve na příjemce.

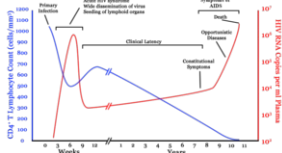
Odkazy

Související články

- HIV
- AIDS
- Epidemiologie AIDS



Obr. 1: Doporučený postup při diagnostice HIV.



Obr. 2: Vývoj výsledků testů během infekce HIV.

Použitá literatura

- CHENG, B., A. LANDAY a V MILLER. Research needs and challenges in the development of HIV diagnostic and treatment monitoring tests for use in resource-limited settings. *Current Opinion in HIV and AIDS* [online]. July 2008, vol. 3, s. 495-503, dostupné také z <<http://ovidsp.tx.ovid.com/sp-3.5.1a/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=fulltext&D=ovft&AN=01222929-200807000-00014&NEWS=N&CSC=Y&CHANNEL=PubMed>>. ISSN 1746-630X.
- MYLONAKIS, E., M. PALIOU a M. LALLY, et al. Laboratory testing for infection with the human immunodeficiency virus: established and novel approaches. *The American Journal of Medicine* [online]. Nov 2000, vol. 109, s. 568-576, dostupné také z <http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6TDC-41JKV3D-8&_user=1490772&_coverDate=11%2F30%2F2000&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_sort=d&_docanchor=&view=c&_acct=C000053052&_version=1&_urlVersion=0&_userid=1490772>. ISSN 0002-9343.
- MYLONAKIS, E., M. PALIOU a J RICH. Plasma Viral Load Testing in the Management of HIV Infection. *American Family Physician* [online]. Feb 2001, vol. 63, s. 483-490, dostupné také z <<https://www.aafp.org/afp/2001/0201/p483.html>>. ISSN 0002-838X.
- MASOUST, J. a R ROČKOVÁ. Význam rozšíření screeningového vyšetření HIV infekce u dárců krve a krevních složek v České republice. *Transfuze a hematologie dnes*. 2003, vol. 2, s. 59-64,