

# Zalecenia Polskiego Towarzystwa Diagnostyki Laboratoryjnej dotyczące postępowania diagnostycznego w kierunku wykrycia zakażenia ludzkim wirusem niedoboru odporności (HIV; ang. *Human Immunodeficiency Virus*) 2024

## 2024 The Guidelines from the Polish Society for Laboratory Diagnostics on the diagnostic of the Human Immunodeficiency Virus infection

Rafał Nikodem Włazęł (ORCID: 0000-0003-3316-4063)<sup>1,2,12</sup> (Przewodniczący), Monika Jabłonowska<sup>3,13</sup>, Piotr Ząbek<sup>4</sup>, Bernadetta Jakubowicz<sup>5</sup>, Hanna Czeszko-Paprocka<sup>6</sup>, Sylwia Magdalena Moskwa (ORCID: 0000-0002-8129-1481)<sup>7,8</sup>, Łukasz Łysiak<sup>9</sup>, Jolanta Mrochem-Kwarciak<sup>10</sup>, Katarzyna Winsz-Szczotka (ORCID: 0000-0003-3574-4133)<sup>11</sup> (Współprzewodniczący)

<sup>1</sup>Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej i Biochemii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, Polska

<sup>2</sup>Medyczne Laboratorium Diagnostyczne – CKD Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej Centralnego Szpitala Klinicznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, Polska

<sup>3</sup>Medyczne Laboratorium Diagnostyczne Diagnostyka S.A., Polska

<sup>4</sup>Pracownia Diagnostyki Molekularnej, Wojewódzki Szpital Zakaźny w Warszawie, Polska

<sup>5</sup>Zakład Mikrobiologii, Szpital Uniwersytecki w Krakowie, Polska

<sup>6</sup>Centralne Laboratorium Analityczne, Wojewódzki Szpital Zakaźny w Warszawie, Polska

<sup>7</sup>Zakład Mikrobiologii i Laboratoryjnej Immunologii Medycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, Polska

<sup>8</sup>Medyczne Laboratorium Pediatryczne Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej Centralnego Szpitala Klinicznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, Polska

<sup>9</sup>Dział Diagnostyki Laboratoryjnej, Wojewódzki Specjalistyczny Szpital im. dra Władysława Biegańskiego w Łodzi, Polska

<sup>10</sup>Zakład Analityki i Biochemii Klinicznej, Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie, Państwowy Instytut Badawczy Oddział w Gliwicach, Polska

<sup>11</sup>Katedra i Zakład Chemii Klinicznej i Diagnostyki Laboratoryjnej Wydziału Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Polska

<sup>12</sup>Konsultant wojewódzki w dziedzinie diagnostyki laboratoryjnej dla województwa łódzkiego

<sup>13</sup>Konsultant wojewódzki w dziedzinie diagnostyki laboratoryjnej dla województwa mazowieckiego

Received: 05.05.2024

Accepted: 12.05.2024

Published: 19.05.2024

DOI: 10.5604/01.3001.0054.6848

### Corresponding author:

dr n. med. Rafał Nikodem Włazęł, Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej i Biochemii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, 92-213 Łódź, ul. Pomorska 251, e-mail: rafal.wlazel@umed.lodz.pl

### Cite the article as:

Włazęł RN, Jabłonowska M, Ząbek P, Jakubowicz B, Czeszko-Paprocka H, Moskwa SM, Łysiak Ł, Mrochem-Kwarciak J, Winsz-Szczotka K. 2024 The Guidelines from the Polish Society for Laboratory Diagnostics on the diagnostic of the Human Immunodeficiency Virus infection. *Diagn Lab.* 2024; 60(2): 84–98



### Open access

The content of the journal is available in Open Access formula which means free access to scientific data for researchers and readers.



### Copyright

This material is available under the Creative Commons – Attribution-NonCommercial 4.0

## Streszczenie

Niniejsze zalecenia Polskiego Towarzystwa Diagnostyki Laboratoryjnej dotyczą strategii diagnostycznej w kierunku wykrycia zakażenia ludzkim wirusem nabytego niedoboru odporności (HIV; ang. *Human Immunodeficiency Virus*), realizowanej przy udziale medycznych laboratoriów diagnostycznych w Polsce. Rekomenduje się, aby medyczne laborato-

rium diagnostyczne zapewniło kompleksowe przeprowadzenie procesu diagnostycznego, łącznie z wykonaniem – w razie potrzeby – testu potwierdzającego. W celu testowania przesiewowego zaleca się wykorzystanie serologicznych testów immunochemicznych 4. generacji. Do diagnostyki potwierdzającej zaleca się wykorzystanie testów amplifikacji kwasów nukleinowych wykorzystujących specyficzne sondy molekularne, z detekcją sygnału luminescencyjnego w czasie rzeczywistym. Należy zwrócić szczególną uwagę na zabezpieczenie odpowiedniej objętości i rodzaju materiału biologicznego, wykorzystywanego w całym procesie diagnostycznym. Dokument uwzględnia różne profile placówek medycznych realizujących badania, różne potrzeby zleceńodawców oraz odrębności analityczne dostępnych na rynku testów diagnostycznych. Uwzględniając aktualną wiedzę w zakresie profilaktyki, diagnostyki i leczenia zakażenia HIV, stanowi wskazówki do ujednolicenia procesu diagnostycznego na terenie kraju.

**Słowa kluczowe:** HIV, ludzki wirus nabytego niedoboru odporności, test potwierdzający, test przesiewowy, testy amplifikacji kwasów nukleinowych, testy immunochemiczne 4. generacji

## Abstract

These recommendations of the Polish Society for Laboratory Diagnostics concern the diagnostic strategy for detecting infection with the Human Immunodeficiency Virus (HIV), implemented with the participation of medical laboratories in Poland. A medical diagnostic laboratory should ensure that the diagnostic process is performed completely, including confirmatory test if needed. The use of 4<sup>th</sup> generation immunoassay tests is recommended for screening testing. For confirmatory diagnostics, it is recommended to apply nucleic acid amplification tests, using specific molecular probes with real-time detection of the luminescent signal. Particular attention should be paid to obtaining the appropriate amount and type of biological material used in the entire diagnostic process. The document considers the different profiles of medical facilities doing tests, the diverse needs of clients and the analytical differences of assays available on the market. Considering current knowledge in prevention, diagnosis, and treatment of HIV infection, it constitutes guidelines for unifying the diagnostic process in the country.

**Keywords:** 4<sup>th</sup> generation immunoassay tests, confirmatory test, HIV, Human Immunodeficiency Virus, nucleic acid amplification tests, screening test

International (CC BY-NC 4.0). The full terms of this license are available on: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>

### Licence

Some right reserved: Polish Society of Laboratory Diagnostics. Published by Index Copernicus Sp. z o.o.

### Conflict of interests

The authors declare that they have no competing interests.

**SPIS TREŚCI**

<b>WYKAZ SKRÓTÓW .....</b>	<b>87</b>
<b>1. CEL REKOMENDACJI .....</b>	<b>88</b>
<b>2. ZAŁOŻENIA WSTĘPNE .....</b>	<b>88</b>
<b>3. ALGORYTM LABORATORYJNEGO POSTĘPOWANIA DIAGNOSTYCZNEGO W KIERUNKU WYKRYCIA ZAKAŻENIA HIV .....</b>	<b>89</b>
3.1. Pobieranie materiału biologicznego do badań laboratoryjnych .....	89
3.2. Testy serologiczne w diagnostyce przesiewowej .....	89
3.3. Sprawozdanie z wykonania badań laboratoryjnych .....	89
3.4. Wyniki wskazujące na reaktywność próbki .....	91
3.5. Ocena liczby pobrań materiału biologicznego do badań .....	91
3.6. Testy potwierdzające reaktywność próbki .....	91
3.7. Raportowanie w przypadku odmiennych wyników testu przesiewowego i potwierdzającego .....	91
3.8. Alternatywna weryfikacja reaktywności próbki .....	92
<b>4. UWAGI KOŃCOWE .....</b>	<b>92</b>
<b>5. PIŚMIENNICTWO .....</b>	<b>93</b>

## WYKAZ SKRÓTÓW

**Ab** – ang. *antibody*

**Ag** – ang. *antigen*

**CLIA** – ang. *Chemiluminescent Immunoassay*

**CMIA** – ang. *Chemiluminescent Microparticle Immunoassay*

**ECLIA** – ang. *Electrochemiluminescence Immunoassay*

**EDTA** – ang. *Ethylenediaminetetraacetic acid*

**EIA** – ang. *Enzyme Immunoassay*

**ELFA** – ang. *Enzyme-Linked Fluorescent Assay*

**ELISA** – ang. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

**HIV** – ang. *Human Immunodeficiency Virus*

**MLD** – medyczne laboratorium diagnostyczne

**NAAT** – ang. *Nucleic Acid Amplification Test*

**NAT** – ang. *Nucleic Acid Test*

**PCR** – ang. *Polymerase Chain Reaction*

**PEP** – ang. *Post-Exposure Prophylaxis*

**PrEP** – ang. *Pre-Exposure Prophylaxis*

## 1. CEL REKOMENDACJI

Na przestrzeni ostatniej dekady obserwuje się w Polsce stały wzrost wykrywalności zakażeń ludzkim wirusem nabytego niedoboru odporności (HIV; ang. *Human Immunodeficiency Virus*), którego szczególną akcelerację daje się zaobserwować po pandemii COVID-19. Niniejszy algorytm postępowania diagnostycznego w kierunku wykrycia zakażenia HIV jest efektem ujednoczenia treści dokumentów krajowych i międzynarodowych oraz zaleceń innych towarzystw naukowych w zakresie diagnostyki laboratoryjnej. Zgodnie z wiedzą autorów uwzględniają one najnowsze osiągnięcia medycyny laboratoryjnej, współczesne aspekty związane z prewalencją i kontrolą zakażeń, takie jak stosowanie profilaktyki przedekspozycyjnej oraz udział w badaniach klinicznych nad szczepionką przeciwko HIV, a także wieloletnie doświadczenie diagnostów laboratoryjnych różnych podmiotów systemu opieki medycznej z całego kraju, zarówno leczenia otwartego, jak i szpitalnego oraz związane z nim potrzeby. Celem niniejszych zaleceń jest ujednoczenie postępowania diagnostycznego w kierunku wykrycia zakażenia HIV, realizowanego przy udziale medycznych laboratoriów diagnostycznych.

## 2. ZAŁOŻENIA WSTĘPNE

Niniejsze zalecenia dotyczą strategii diagnostycznej w kierunku wykrycia zakażenia HIV, realizowanej przy udziale placówek systemu opieki medycznej – medycznych laboratoriów diagnostycznych, opisywanych dalej jako: „MLD”. Algorytm odnosi się do osób powyżej 18. miesiąca życia i nie uwzględnia strategii diagnostycznych w przebiegu leczenia antyretrowirusowego.

Zastosowane w niniejszych zaleceniach określenie: „test przesiewowy”, należy rozumieć jako element szerszej strategii diagnostycznej, mającej na celu wczesne wykrywanie i odpowiednią interwencję medyczną, a nie konkretny test analityczny. Analogiczne wyjaśnienie dotyczy również określenia: „test potwierdzający”.

W odniesieniu do cytowanych w niniejszych zaleceniach źródeł określenia: „białko p24”, „p24 Ag”, należy rozumieć jako: antygen p24 HIV, a określenia:

„anty-HIV”, „przeciwciała anty-HIV”, „anty-HIV Ab” należy rozumieć jako przeciwciała do antygenów HIV.

W odniesieniu do cytowanych w niniejszych zaleceniach źródeł określenie: „test EIA” należy rozumieć jako szerszą grupę serologicznych testów immunochemicznych, wykrywających analit z wykorzystaniem nowoczesnej technologii generowania i detekcji sygnału pomiarowego (np.: ELISA, ELFA, CLIA/CMIA, ECLIA). Chociaż testy te wykorzystują różne znaczniki (w tym fluorescencyjne, chemiluminescencyjne, elektrochemiluminescencyjne), wszystkie są kontynuacją założenia testu immunoenzymatycznego (EIA; ang. *enzyme immunoassay*), jakim jest wykorzystanie metody immunochemicznej powiązanej z reakcją enzymatyczną (albo analogiczną do enzymatycznej) w celu wygenerowania sygnału mierzalnego. Pomimo że testy wykorzystujące luminescencję różnią się technologicznie od tradycyjnych testów immunoenzymatycznych, to z reguły cechują się wyższą od nich czułością i swoistością analityczną. Jednocześnie należy mieć na uwadze, że do definicji takich testów nie zaliczają się testy immunochromatograficzne (tzw. szybkie testy kasetkowe), niezależnie od wykrywanych nimi analitów czy sposobu generowania i detekcji sygnału mierzalnego.

Jako „test 4. (czwartej) generacji” należy rozumieć serologiczny test immunochemiczny, umożliwiający jednoczesne wykrycie antygeny p24 HIV oraz przeciwciał do antygenów HIV, w tym również test umożliwiający – poprzez rozróżnienie pomiędzy antygenem i przeciwciałami – dokładne określenie charakteru reaktywności próbki. Charakterystyki wydajności testów 4. generacji umożliwiają skrócenie okna diagnostycznego zakażenia HIV nawet do 2 tygodni.

Jako „NAT/NAAT” (ang. *nucleic acid test / nucleic acid amplification test*) należy rozumieć test wykrywający materiał genetyczny wirusa metodą amplifikacji kwasów nukleinowych, metodycznie wykorzystujący specyficzne molekularne sondy luminescencyjne, z reguły oparty na łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR; ang. *polymerase chain reaction*).

Ileokroć w niniejszych zaleceniach pojawia się słowo „lub”, należy je rozumieć jako alternatywę łączną,

dopuszczającą prawdziwość wszystkich części zdania złożonego, w którym występuje. Ilekroć w niniejszych zaleceniach pojawia się słowo „albo”, należy je rozumieć jako alternatywę rozłączną, wykluczającą jednoczesną prawdziwość składowych zdania złożonego, w którym występuje.

Zapisy znajdujące się w poszczególnych częściach niniejszych zaleceń należy interpretować w odniesieniu do całości dokumentu.

### 3. ALGORYTM LABORATORYJNEGO POSTĘPOWANIA DIAGNOSTYCZNEGO W KIERUNKU WYKRYCIA ZAKAŻENIA HIV

Na rycinie 1. przedstawiono schemat algorytmu laboratoryjnego postępowania diagnostycznego w kierunku wykrycia zakażenia HIV, ze wskazaniem kluczowych aspektów dotyczących poszczególnych faz procesu. Poniżej znajdują się wyjaśnienia do odwołań zastosowanych w algorytmie.

#### 3.1. Pobieranie materiału biologicznego do badań laboratoryjnych

W wewnętrznych procedurach MLD należy uwzględnić zalecenia producenta wykorzystywanego testu, odnośnie do rodzaju i ilości materiału biologicznego potrzebnego do badania. Zaleca się pobieranie osobnej próbki materiału w celu wykonania badań serologicznych w kierunku zakażenia HIV (i innych zakażeń), w ilości wystarczającej do ewentualnego wykonania testu potwierdzającego. Nie zaleca się wykonywania diagnostyki w kierunku zakażenia HIV w próbkach materiału biologicznego pozostających po wykonaniu innych badań laboratoryjnych. Należy mieć na uwadze możliwość kontaminacji krzyżowej, w szczególności materiałem genetycznym lub czynnikami powodującymi jego degradację, co może wpływać na wiarygodność wyników testów wykrywających materiał genetyczny wirusa.

#### 3.2. Testy serologiczne w diagnostyce przesiewowej

W celu wstępnej diagnostyki przesiewowej zaleca się wykorzystanie serologicznych testów immunochemicznych 4. generacji.

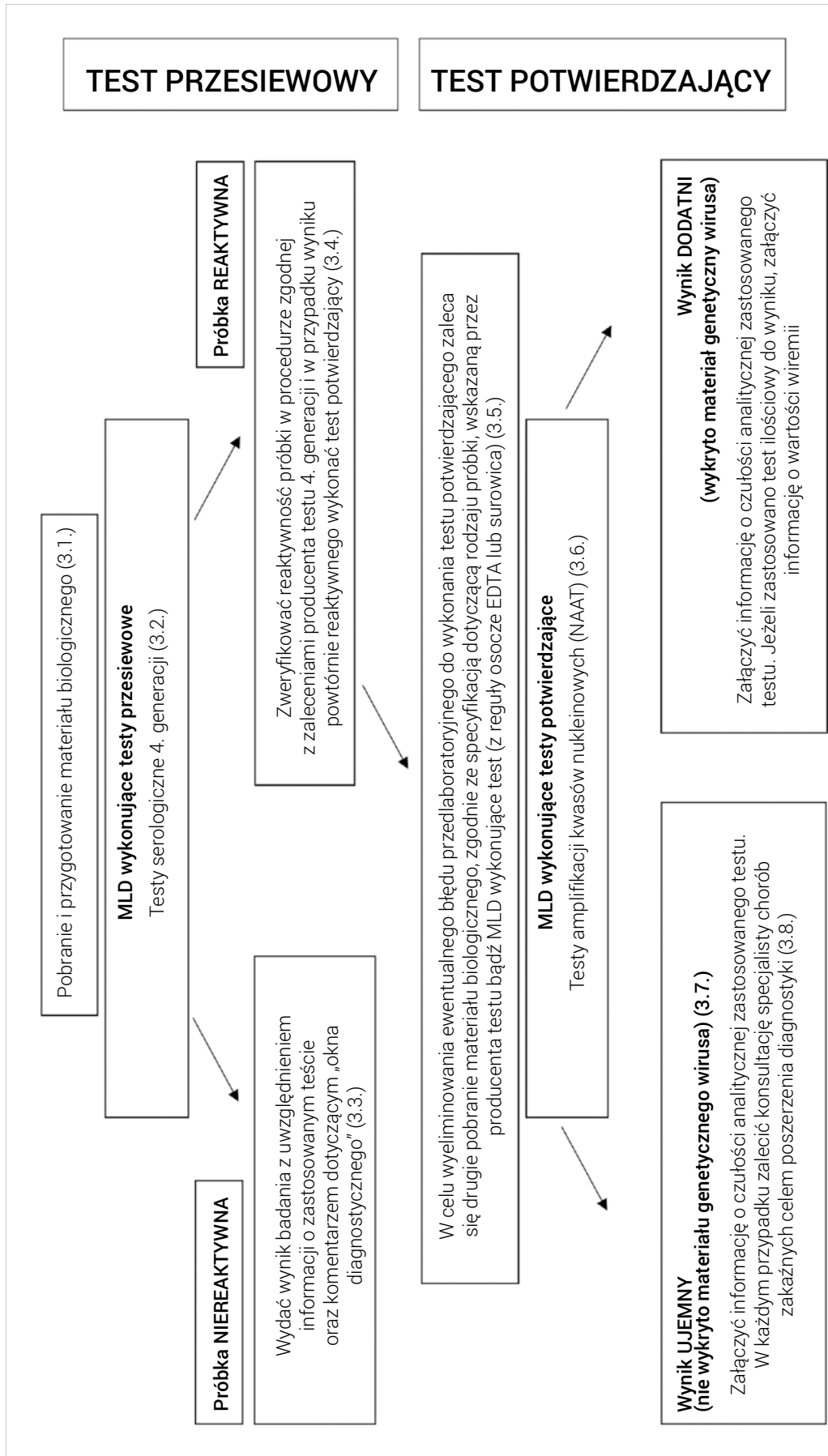
#### 3.3. Sprawozdanie z wykonania badań laboratoryjnych

1. Zamieszczona w sprawozdaniu z wykonania badań laboratoryjnych nazwa wykonanego badania powinna dokładnie określać zakres wykrywanych analitów, np.: „HIV (przeciwciała do HIV1/2 lub antygen p24 HIV)”. Nie zaleca się używania sformułowań: „test combo”, „test duo” itp., ze względu na ich niejednoznaczność i nieprofesjonalny charakter. W przypadku testów jednoznacznie identyfikujących reaktywność próbki, zaleca się zamieścić odpowiednią informację dotyczącą zakresu reaktywności, np.:

- przeciwciała do HIV1/2 – próbka reaktywna; antygen p24 HIV – próbka niereaktywna;
- przeciwciała do HIV1/2 – próbka niereaktywna; antygen p24 HIV – próbka reaktywna;
- przeciwciała do HIV1/2 – próbka reaktywna; antygen p24 HIV – próbka reaktywna.

2. W opisie wyniku zaleca się umieścić informacje o użytym teście przesiewowym, uwzględniając: generację i rodzaj testu immunochemicznego, nazwę handlową oraz producenta testu, nazwę analizatora wykorzystanego do przeprowadzenia oznaczenia, np.: „Badanie wykonano testem N. generacji (nazwa testu), firmy (nazwa firmy), z wykorzystaniem metody (nazwa sposobu generowania i detekcji sygnału mierzalnego) i analizatora (nazwa analizatora)”.

3. W komentarzu do wyniku zaleca się sprecyzowanie „okna diagnostycznego”, z uwzględnieniem możliwości stosowania przez pacjenta profilaktyki po albo przedekspozycyjnej (PEP; ang. *Post-Exposure Prophylaxis* / PrEP; ang. *Pre-Exposure Prophylaxis*). Należy mieć na uwadze, że ujemny wynik testu serologicznego 4. generacji po 6 tygodniach od ekspozycji pozwala zakończyć diagnostykę, jednak w przypadku stosowania PEP/PrEP zakończenie diagnostyki następuje po 6-8 tygodniach od zakończenia przyjmowania leków. W przypadku stosowania preparatu iniekcyjnego kabotegrawiru w PrEP decyzję o zakończeniu diagnostyki podejmuje lekarz specjalista chorób zakaźnych.



**Rycina 1.** Schemat algorytmu laboratoryjnego postępowania diagnostycznego w kierunku wykrycia zakażenia HIV. Numeracja odwołań zastosowana w schemacie odpowiada numeracji podrozdziałów w dokumencie.

### 3.4. Wyniki wskazujące na reaktywność próbki

W odniesieniu do wyników wskazujących na reaktywność próbki należy postępować zgodnie z zaleceniami producenta testu serologicznego 4. generacji. Z reguły wymagane jest wykonanie 2 dodatkowych oznaczeń w próbce i uzyskanie w sumie co najmniej 2 wyników jednoimiennych. Jeżeli stosuje się strategię diagnostyczną na podstawie 2 niezależnych pobrań materiału biologicznego, weryfikację reaktywności zaleca się wykonać w próbce pochodzącej z 2. pobrania. Ostateczny wynik badania, określający próbkę jako reaktywną, należy zweryfikować testem potwierdzającym w celu wykluczenia niespecyficznego reakcji, typowych dla testów przesiewowych.

### 3.5. Ocena liczby pobrań materiału biologicznego do badań

Na podstawie analizy ryzyka fazy przedanalizacyjnej, dotyczącej określonego MLD, powinno się rozważyć, czy algorytm diagnostyczny ograniczyć do jednego czy dwóch niezależnych pobrań materiału biologicznego. Rodzaj materiału wykorzystywany do wykonania testu potwierdzającego powinien być zgodny ze specyfikacją producenta testu lub walidacją testu przeprowadzoną w MLD wykonującym test potwierdzający. Jeżeli proces diagnostyczny nie będzie mógł być zakończony w czasie 24 godzin od pobrania materiału biologicznego, zaleca się pobranie do próbki z żelem separującym (o ile producent testu dopuszcza taki rodzaj próbki) albo zabezpieczenie próbki poprzez odseparowanie osocza/surowicy od elementów morfotycznych krwi. W szczególnych przypadkach (np. w przypadku odmowy pacjenta na ponowne pobranie materiału) dopuszcza się wykonanie testu potwierdzającego w próbce pochodzącej z pierwszego pobrania, o ile we właściwy sposób zabezpieczono odpowiednią ilość materiału oraz MLD wykonujące test potwierdzający dopuści taki rodzaj próbki. W tym kontekście należy również rozważyć rodzaj testu potwierdzającego.

### 3.6. Testy potwierdzające reaktywność próbki

Do celów diagnostyki potwierdzającej reaktywność próbki, wykazaną w teście przesiewowym, zaleca się stosowanie testów wykrywających materiał genetyczny wirusa metodą amplifikacji kwasów nukleinowych, z detekcją sygnału luminescencyjne-

go w czasie rzeczywistym. Nazwa wykonanego badania powinna dokładnie określać zakres wykrywanych analitów, np. „HIV1 RNA – test ilościowy”. W opisie wyniku zaleca się umieścić informacje o użytym teście wraz z wykorzystaną technologią oznaczenia, nazwą handlową i producenta testu oraz nazwą analizatora wykorzystanego do przeprowadzenia oznaczenia (jeżeli test był wykonany z wykorzystaniem dedykowanego analizatora), np. „Badanie wykonano metodą amplifikacji kwasów nukleinowych w czasie rzeczywistym (rRT-PCR), przy użyciu testu (nazwa testu), firmy (nazwa firmy)”. W sprawozdaniu z wykonania badań laboratoryjnych powinna znaleźć się informacja, czy wynik uzyskano w materiale z pierwszego czy niezależnego pobrania oraz odpowiedni komentarz informujący o sposobie rozpoznania zakażenia, np. „Ostateczne rozpoznanie zakażenia HIV stwierdza lekarz specjalista chorób zakaźnych, który może uznać, że konieczne jest rozszerzenie lub powtórzenie ścieżki diagnostycznej – w tym celu zalecana jest konsultacja w poradni nabytych zaburzeń odporności (poradni diagnostyczno-leczniczej zakażenia HIV)”.

### 3.7. Raportowanie w przypadku odmiennych wyników testu przesiewowego i potwierdzającego

1. Należy mieć na uwadze różnice w czułości analitycznej testów ilościowych i jakościowych, co może mieć znaczenie, gdy pacjent był kiedykolwiek poddawany farmakoterapii antyretrowirusowej. Istnieje również możliwość, że pacjent jest leczony antyretrowirusowo i ma niewykrywalną wiramię, może być osobą naturalnie kontrolującą wiramię bądź brał udział w badaniach klinicznych dotyczących szczepionek przeciwko HIV.
2. W sytuacji szczególnej, gdy ujemny wynik badania potwierdzającego nie jest jednoimienny z wynikiem badania przesiewowego (próbka reaktywna), zaleca się zamieszczenie wraz z wynikiem testu potwierdzającego informacji o tym fakcie, uwzględniając zalecenia dotyczące raportowania o reaktywności próbki, wskazane w pkt. 3.3.1. W przypadku, gdy test potwierdzający wykonywany jest w innym MLD niż test przesiewowy, informację o zakresie reaktywności próbki zaleca się zamieścić w sprawozdaniu z wykonania



badania laboratoryjnych, dotyczącym testu przesiewowego. Sprawozdanie takie powinno również zawierać informację o konieczności interpretowania wyniku łącznie z wynikiem testu potwierdzającego oraz identyfikację odpowiedniego dokumentu, np. „Wynik niniejszego badania, określający próbkę jako reaktywną, należy interpretować wraz z wynikiem testu potwierdzającego, załączonym w sprawozdaniu nr (identyfikacja sprawozdania) wystawionym dn. (data) przez (identyfikacja MLD wykonującego test potwierdzający) i w odniesieniu do wywiadu pacjenta”.

### 3.8. Alternatywna weryfikacja reaktywności próbki

W odniesieniu do sytuacji opisanych w pkt. 3.5., 3.7. powinno rozważyć się weryfikację reaktywności próbki w zakresie przeciwciał. W tym kontekście testy wykorzystujące technologię immunoblottingu (w tym metoda: *Line Immuno Assay*) należy również traktować jako testy potwierdzające. Oprócz wyższej swoistości analitycznej (niż testy serologiczne 4. generacji), dodatkowo testy takie z reguły zapewniają możliwość rozróżnienia typów wirusa: HIV1 i HIV2. Nie należy jednak w tym celu istotnie wydłużać procesu diagnostycznego.

## 4. UWAGI KOŃCOWE

Nie należy wykonywać badań laboratoryjnych w materiale pulowanym, na żadnym z etapów diagnostycznych.

Pomimo że testy 4. generacji – jako wynik oznaczenia – generują sygnał ilościowy, nie zaleca się umieszczania na sprawozdaniu z wykonania badań laboratoryjnych informacji liczbowej o uzyskanym wyniku, a jedynie jego interpretację jakościową. W zapisach dotyczących wyniku badania zaleca się stosownie sformułowań użytych w schemacie niniejszego algorytmu.

W zależności od czułości analitycznej zastosowanego testu 4. generacji, niektóre z nich mogą raportować wynik liczbowy pomiaru w przedziale tzw. szarej strefy, niepoddający się jednoznacznej interpretacji – wynik nierozstrzygujący. W przypadku uzyskania takiego wyniku należy bezwzględnie postę-

pować zgodnie z zaleceniami producenta testu, a w szczególności rozważyć powtórne pobranie materiału lub wykonanie oznaczenia alternatywnym testem 4. generacji. W tym kontekście, w przypadku testów jednoznacznie identyfikujących źródło reaktywności próbki, należy mieć na uwadze algorytm obliczeniowy, który producent testu stosuje do przedstawienia ogólnego wyniku dotyczącego reaktywności próbki.

W sytuacji, gdy wykonanie testu potwierdzającego jest zlecane podwykonawcy, zaleca się, aby wraz z próbką materiału biologicznego przekazać pełne informacje o dotychczasowej diagnostyce przeprowadzonej w MLD wykonującym test przesiewowy. Należy wcześniej ustalić sposób i tryb raportowania wyników badań w kierunku biologicznych czynników chorobotwórczych, a w szczególności, które MLD dokonuje zgłoszenia organom sanitarno-epidemiologicznym. Zaleca się, aby było to MLD wykonujące test potwierdzający.

Należy przestrzegać wymogów producenta testu, w szczególności w odniesieniu do zapewnienia jakości fazy przedanalizacyjnej. Jeżeli stosuje się strategię diagnostyczną na podstawie jednorazowego pobrania próbki, należy uzyskać odpowiedni rodzaj i ilość materiału biologicznego w celu zabezpieczenia pełnego procesu diagnostycznego już z pierwszego pobrania, ze szczególnym uwzględnieniem zasad przechowywania próbki w kontekście degradacji materiału genetycznego wirusa.

Badania laboratoryjne w próbkach materiału biologicznego pobranego *post mortem* zaleca się wykonywać tylko z wykorzystaniem testów, których producent wyraźnie wskazał taką możliwość i zawsze z zachowaniem warunków wskazanych w odniesieniu do tego typu materiału biologicznego. Zaleca się, aby w sprawozdaniu z wykonania takiego badania zamieścić pełną informację dotyczącą fazy przedanalizacyjnej oraz jakości próbki poddanej badaniu.

Nie zaleca się stosowania w rutynowym postępowaniu diagnostycznym w kierunku wykrycia zakażenia HIV algorytmów opartych wyłącznie na testach immunochemicznych. Należy mieć na uwadze, że definicje przypadku potwierdzonego, zawarte

w niektórych dokumentach źródłowych, cytowanych w niniejszych zaleceniach, powstały na użytek nadzoru epidemiologicznego i służą temu właśnie celowi.

W sytuacjach nieopisanych w niniejszych zaleceniach należy mieć na uwadze potrzebę szybkiej identyfikacji pacjentów zakażonych HIV i postępować zgodnie z aktualną wiedzą medyczną, wskazaniem towarzystw naukowych, zaleceniami producenta wykorzystywanych testów diagnostycznych oraz – jeżeli tylko jest to możliwe – w konsultacji z lekarzem zlecającym

badanie. Zaleca się umieszczenie w komentarzu do sprawozdania z wykonania badań laboratoryjnych również innych, niż wskazane wyżej, informacji, które mogą mieć wpływ na interpretację wyniku i dalsze postępowanie diagnostyczne.

Niniejszy algorytm wymaga uszczegółowienia na szczeblu MLD w celu przystosowania do wewnętrznych procedur, szczególnie w zakresie współpracy z punktem pobrania materiału biologicznego oraz ewentualnym podwykonawcą.

## 5. PIŚMIENICTWO

1. Zasady opieki nad osobami zakażonymi HIV. Zalecenia PTN AIDS, [https://www.ptnaids.pl/images/pliki/aids\\_2023-zakladki.pdf](https://www.ptnaids.pl/images/pliki/aids_2023-zakladki.pdf) (05.05.2024).
2. Definicje przypadków chorób zakaźnych na potrzeby nadzoru epidemiologicznego, NIZP-PZH 2020, [https://wwwold.pzh.gov.pl/oldpage/epimeld/inne/Def\\_PL2\\_6b.pdf](https://wwwold.pzh.gov.pl/oldpage/epimeld/inne/Def_PL2_6b.pdf) (05.05.2024).
3. ROZPORZĄDZENIE MINISTRA ZDROWIA z dnia 24 czerwca 2020 r. w sprawie zgłaszania wyników badań w kierunku biologicznych czynników chorobotwórczych u ludzi, <https://isap.sejm.gov.pl/isap.nsf/download.xsp/WDU20200001118/O/D20201118.pdf> (05.05.2024).
4. DECYZJA WYKONAWCZA KOMISJI (UE) 2018/945 z dnia 22 czerwca 2018 r. w sprawie chorób zakaźnych i powiązanych szczególnych problemów zdrowotnych, które mają być objęte nadzorem epidemiologicznym, a także odpowiednich definicji przypadków, <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PL/TXT/PDF/?uri=CELEX:32018D0945&from=EN> (05.05.2024).

Pomimo faktu, że epidemia HIV jest stabilna w krajach Unii Europejskiej to region Europy Wschodniej i Azji Środkowej WHO stoi w obliczu najszybciej rozwijającej się epidemii HIV z 160 000 [130 000-180 000] osób nowo zakażonych HIV w 2021 r., 48% wzrostem liczby nowych zakażeń i 32% wzrostem liczby zgonów związanych z AIDS w ciągu ostatnich 10 lat [1]. Szacuje się, że w regionie Europy Wschodniej Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) mieszka 1,4 miliona osób żyjących z HIV, przy czym większość nowych zakażeń występuje lokalnie i nie jest związana z migracjami między krajami [2, 3].

Od pierwszego udokumentowanego przypadku w 1985 r. do końca 2023 r. w Polsce zdiagnozowano HIV-1 u ponad 30 000 osób, z których ponad 19 000 otrzymuje obecnie terapię antyretrowirusową (ART). Przed wojną na Ukrainie częstość zakażeń HIV w Polsce utrzymywała się na stabilnym poziomie około 0,1% populacji, dotycząc głównie mężczyzn w wieku 30-39 lat. W ostatnich dwóch latach sytuacja epidemiologiczna uległa zmianie ze względu na migrację wojenną z Ukrainy, kraju z istotnie wyższą częstością występowania zakażenia HIV. Do końca 2020 r. na Ukrainie zdiagnozowano 309 971 osób z HIV, z drugą najwyższą częstością występowania (po Rosji) zakażeń HIV-1 w Europie (37,5 przypadków na 100 000 osób w porównaniu do 1,9 na 100 000 w Polsce) [1]. Migracja ludności z Ukrainy wpłynęła na epidemiologię HIV w całej Europie, zwiększając liczbę rozpoznanych zakażeń HIV, zwłaszcza w populacji kobiet, a także znacząco wpływając na liczbę dzieci zakażonych okołoporodowo, które wymagają opieki w zakresie HIV [4]. W 2022 r. 10,2% wszystkich diagnoz HIV w UE/EOG odnotowano wśród ukraińskich uchodźców, co oznacza 10-krotny wzrost w porównaniu z 2021 r. [5]. Co ważne, 9,3% z nich zostało zakwalifikowanych jako nowe diagnozy HIV, większość (61%) stanowiły kobiety z dominującym heteroseksualnym trybem transmisji (76,6%), a następnie dożylnie stosowanie narkotyków (IDU) (10,2%) wśród osób o znanej drodze zakażenia.

Po rozpoczęciu pełnoskalowej rosyjskiej inwazji na Ukrainie w lutym 2022 r. w Polsce odnotowano wzrost liczby pacjentów z tym zakażeniem o 18-20%. Zmienia się również charakter zmienności genotypowej i dominujący subtyp wirusa. Zmiany w dynamice epidemiologicznej, wynikające z migracji wojennej i rosnącej różnorodności molekularnej, wymagają uaktualnienia strategii testowania zakażenia HIV [6].

Co niezwykle istotne, według UNAIDS, w 2022 r. tylko 62% osób żyjących w regionie Europy Wschodniej i Azji Środkowej WHO było świadomych zakażenia HIV, a 51% osób żyjących z HIV otrzymało leczenie antyretrowirusowe. Przekłada się to na fakt, że tylko 48% osób żyjących z HIV w tym regionie miało niewykrywalną wiramię HIV [3]. Powszechne (>50%) są późne rozpoznania zakażenia HIV (z rozpoznaniem AIDS lub liczbą limfocytów T CD4 + <350 komórek/ $\mu$ l w momencie rozpoznania), co dodatkowo zwiększa ryzyko transmisji w populacji [7, 8]. Późne diagnozy stanowią 57,6% wszystkich nowych diagnoz w Polsce i > 75%

wśród migrantów z Ukrainy. Spośród nich u jednej trzeciej zdiagnozowano zaawansowane zakażenie HIV (stan definiujący AIDS).

Istotnym zagadnieniem jest również szybkie rozpoznanie zakażenia HIV u osób z wczesnymi etapami zakażenia z ostrą i wczesną infekcją retrowirusową. Jest to szczególnie ważne w przypadkach bezobjawowych lub skąpoobjawowych lub z objawami ostrej choroby, które typowo pojawiają się po 2-6 tygodniach od ekspozycji i utrzymują się około 2 tygodni. Czas ostrej choroby retrowirusowej to okres, w którym wirus HIV jest wykrywalny i często wysoka. Antygen p24 jest wykrywalny po około 10-14 dniach od zakażenia. Z kolei przeciwciała anti-HIV mogą pojawić się dopiero po 20 dniach od ekspozycji (III etap zakażenia w skali Fiebig) [9]. Co kluczowe, to właśnie molekularne analizy wykrywające obecność materiału genetycznego HIV są podstawowym markerem laboratoryjnym w diagnostyce ostrej infekcji retrowirusowej, pozwalającym na postawienie szybkiego rozpoznania i bezzwłocznego wdrożenia terapii antyretrowirusowej. W przypadku zastosowania testów opartych na wykrywaniu przeciwciał anti-HIV zakażenie może pozostać niepotwierdzone, co wiąże się z opóźnieniem rozpoznania, a co za tym idzie narażeniem kolejnych osób na zakażenie.

Kolejnym istotnym zagadnieniem jest coraz szersze stosowanie profilaktyki przedekspozycyjnej HIV (PreP); aktualnie preparatem dostępnym w Polsce jest doustny preparat skojarzony tenofowiru i emtrycytabiny, ale w wielu krajach świata wdrażany jest również w tym celu długodziałający preparat iniekcyjny – kabotegrawir. Skuteczność prawidłowo stosowanej PreP wynosi ok. 90%, ale w przypadku zakażenia serokonwersja może być opóźniona lub charakter dynamiki pojawiania się wirusii HIV zmieniony.

Prezentowane „Zalecenia Polskiego Towarzystwa Diagnostyki Laboratoryjnej dotyczące postępowania diagnostycznego w kierunku wykrycia zakażenia ludzkim wirusem niedoboru odporności HIV 2024” mają na celu zharmonizowanie strategii diagnostycznej związanej z wykryciem zakażenia HIV. Zalecenia odnoszą się do 2-etapowej strategii wykrywania i potwierdzania tego zakażenia z zastosowaniem testów serologicznych opartych na technikach immunochemicznych, testów złożonych umożliwiających wykrycie zarówno antygenu p24 wirusa, jak i przeciwciał anti-HIV, a także testów wykrywających materiał genetyczny wirusa (test NAT/NAAT – ang. *nucleic acid (amplification) test*).

Algorytm przedstawia precyzyjne zasady zarówno pobierania materiału biologicznego, jak i sprawozdawania wyników badań laboratoryjnych wraz ze stosowanymi komentarzami. Diagnostyka pozostaje jasno podzielona na dwa etapy – diagnostykę przesiewową testem serologicznym wykrywającym zarówno antygen p24 wirusa, jak i przeciwciała anti-HIV (tzw. test czwartej generacji). Istotna jest również informacja na temat zakresu reaktywności dotycząca obecności przeciwciał HIV 1 / 2 lub wykrycia antygenu p24. W przypadku wyniku

niereaktywnego testu przesiewowego zwraca się szczególną uwagę na informację na temat „okna diagnostycznego” w ostrej infekcji retrowirusowej związanego z opóźnieniem pojawienia się i możliwości wykrycia antygenu p24 lub przeciwciał anti-HIV. Ta informacja jest kluczowa dla użytkowników i daje podstawę do powtórzenia testu, w zależności od czasu, który upłynął od narażenia.

Powtarzalnie reaktywne próbki testów przesiewowych podlegają weryfikacji testem potwierdzenia, preferencyjne z kolejnego pobrania materiału biologicznego. Testem potwierdzającym zakażenie jest test wykrywający materiał genetyczny wirusa (test amplifikacji kwasów nukleinowych), który będzie dodatni (wykrywalna obecność materiału genetycznego HIV-1) u osób nieleczonych antyretrowirusowo z nowo wykrytym zakażeniem HIV.

Niezwykle istotną informacją zawartą w algorytmie diagnostycznym jest ta dotycząca konieczności łącznej interpretacji testu przesiewowego z testem potwierdzającym oraz konsultacji z lekarzem specjalistą z dziedziny chorób zakaźnych w przypadku rozbieżności pomiędzy testem przesiewowym (wynik reaktywny) a testem wykrywającym materiał genetyczny wirusa (wynik ujemny/nie wykryto materiału genetycznego). Taka rozbieżność może wynikać z kilku sytuacji klinicznych, których rozstrzygnięcie powinno odbywać się na poziomie diagnostyki specjalistycznej poza medycznym laboratorium diagnostycznym. Konkretnie sytuacje te dotyczą:

- Skutecznego leczenia antyretrowirusowego całkowicie hamującego replikację HIV, gdy pacjent wykona diagnostykę przesiewową, pomimo uprzedniego rozpoznania i będąc już leczonym. Taka sytuacja jest szczególnie często obserwowana w przypadku osób żyjących z HIV migrujących z Ukrainy, które decydują się na zatajenie faktu rozpoznania i leczenia.
- Zakażeniem HIV-2 (wyjątkowo rzadkie w Polsce), gdyż dostępne na europejskim rynku testy amplifikacji kwasów nukleinowych nie wykrywają tej grupy wirusów.
- Osób z naturalną kontrolą wirerii (ang. *elite controllers*), u których pomimo zakażenia wirusiem HIV jest naturalnie utrzymywanie poniżej progu detekcji metody. Jest to wyjątkowa niewielka grupa osób, a przypadki naturalnej kontroli wirerii są niezwykle rzadkie.
- Osób przyjmujących długodziałające preparaty w profilaktyce przedekspozycyjnej (długodziałający kabotegrawir aktualnie niedostępny w Polsce), u których doszło do zakażenia i tzw. zespołu LEVI (ang. *long-acting early inhibition syndrome*) [10], w którym może dochodzić nie tylko do opóźnienia serokonwersji, lecz także częściowego i czasowego wyhamowania replikacji HIV.
- Osób, które przyjmowały szczepionkę przeciw HIV (aktualnie badania naukowe nad szczepionką profilaktyczną są wstrzymane).

W takich przypadkach zakażenie można potwierdzić testem immunoenzymatycznym (ang. *immunoblotting, line immunoassay*, różnicujące również HIV-1 i HIV-2),

ale ze względu na opisaną powyżej złożoność sytuacji klinicznych wymaga to wspomnianej powyżej konsultacji specjalistycznej z pogłębieniem wywiadu i zaplanowaniem optymalnej ścieżki diagnostycznej.

Należy podkreślić, że do zalet prezentowanego algorytmu diagnostycznego należą przejrzystość, zgodność z rekomendacjami PTN AIDS, a także jasne określenie zasad interpretacji wyników oraz ich ograniczeń. Z pewnością pozwoli on na lepsze zrozumienie i harmonizację diagnostyki zakażenia HIV i stanie się podstawą do szerokiego wdrożenia w laboratoriach diagnostycznych. Jest to cenna i wartościowa inicjatywa poprawiająca diagnostykę w kluczowej chorobie zakaźnej.

## PIŚMIENNICTWO

1. Catchpole M, Ekdahl K, Kissling E, et al. European Centre for Disease Prevention and Control/WHO Regional Office for Europe. HIV/AIDS surveillance in Europe 2021 – 2020 data. Stockholm: ECDC, 2021.
2. European Centre for Disease Prevention and Control. Continuum of HIV care. Monitoring implementation of the Dublin Declaration on partnership to fight HIV/AIDS in Europe and Central Asia: 2022 progress report. <https://www.ecdc.europa.eu/en/infectious-disease-topics/hiv-infection-and-aids/prevention-and-control/monitoring-implementation> (11.08.2024).
3. European Centre for Disease Prevention and Control, WHO Regional Office for Europe. HIV/AIDS surveillance in Europe 2022 – 2021 data. Copenhagen. 2022. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/hiv-aids-joint-report-surveillance-2021-data> (11.08.2024).
4. UNAIDS. IN DANGER: UNAIDS Global AIDS Update 2022. Geneva, Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO available on-line <https://www.unaids.org/en/resources/documents/2022/in-danger-global-aids-update-2022>. (11.08.2024).
5. Reyes-Urueña J, Marrone G, Noori T, et al. HIV diagnoses among people born in Ukraine reported by EU/EEA countries in 2022: impact on regional HIV trends and implications for healthcare planning. *Euro Surveill* 2023; 28(48): 1–6. DOI: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2023.28.48.2300642>.
6. Parczewski M, Jabłonowska E, Wójcik-Cichy K, et al. Clinical Perspective on Human Immunodeficiency Virus Care of Ukrainian War Refugees in Poland. *Clin Infect Dis* 2023; 76(10): 1708–1715.
7. Croxford S, Stengaard AR, Brännström J, et al. Late diagnosis of HIV: An updated consensus definition. An updated consensus definition. *HIV Med.* 2022; 23(11): 1202–1208. DOI: 10.1111/hiv.13425.
8. The Lancet HIV. Time to tackle late diagnosis. *The Lancet HIV* 2022; 9(3): e139.
9. Fiebig EW, Wright DJ, Rawal BD, et al. Dynamics of HIV viremia and antibody seroconversion in plasma donors; implications for diagnosis and staging of primary HIV infection. *AIDS.* 2003; 17: 1871–1879.
10. Eshleman S. HIV Infections in the Setting of Long-Acting Early Viral Inhibition: the LEVI Syndrome; HPTN HIV Prevention Trials Network Annual Meeting; Johns Hopkins Univ School of Medicine June 7, 2022.
11. Zasady opieki nad osobami zakażonymi HIV. Zalecenia PTN AIDS, [https://www.ptnaids.pl/images/pliki/aids\\_2024-zakladki](https://www.ptnaids.pl/images/pliki/aids_2024-zakladki) (11.08.2024).

*prof. dr hab. n. med. Miłosz Parczewski*

*Kierownik Kliniki Chorób Zakaźnych, Tropikalnych i Nabytych Niedoborów Immunologicznych, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie  
Konsultant krajowy ds. chorób zakaźnych*

Opracowany algorytm laboratoryjnego postępowania diagnostycznego w kierunku wykrycia zakażenia HIV opiera się na wykorzystaniu zaawansowanych testów przesiewowych, które pozwalają na wczesne wykrywanie zakażeń i skracają okno diagnostyczne. Poprzez zastosowanie testów NAT (ang. *Nucleic Acid Test*) zwiększa się dokładność diagnostyczną, minimalizując ryzyko błędnych wyników. Standaryzacja procedur w różnych laboratoriach istotnie wpływa na jakość i porównywalność wyników badań. Proponowany algorytm uwzględnia różne scenariusze kliniczne, co jest istotne dla przeprowadzenia odpowiedniego postępowania diagnostycznego. Jego wprowadzenie ma na celu skuteczną i efektywną diagnostykę na każdym etapie tego procesu.

*Prof. dr hab. n. med. Barbara Dołęgowska  
konsultant krajowy w dziedzinie diagnostyki laboratoryjnej*