

Concetto di test HIV 2004: nuove direttive nel campo dello screening

Importanti progressi tecnici realizzati nel campo della diagnostica hanno portato la commissione laboratorio e diagnostica (CLD) a rivedere il concetto di test HIV e a stabilire una nuova direttiva per definire le esigenze dei laboratori e l'adeguamento delle procedure dei test. Per lo screening HIV nei laboratori clinici si raccomanda d'ora in poi l'esecuzione di un test di screening combinato anticorpi/antigeni (della 4^a generazione).

INTRODUZIONE

Nel 1985, l'Ufficio federale della sanità pubblica (UFSP), in collaborazione con la Commissione federale per i problemi legati all'AIDS (CFPA), ha introdotto un concetto di laboratorio HIV, rielaborato poi nel 1998. Il 29 novembre 1999, nel Bollettino dell'UFSP è stato pubblicato un complemento che descriveva l'introduzione dei test combinati (test di 4^a generazione). L'attuale revisione si basa sulle esperienze positive realizzate dopo l'introduzione di questi test sul mercato.

Il concetto di test coordina tre livelli:

- i laboratori di screening e gli studi medici che eseguono test di screening e test rapidi
- i laboratori regionali, designati dall'UFSP come laboratori di conferma (LC)
- il Centro nazionale per i retrovirus (CNR)

Secondo questo concetto, i campioni che nei test di screening risultano reattivi sono analizzati in uno dei laboratori di conferma con altri metodi (di regola con il Western blot e/o con il test antigene e/o con il PCR) per confermare eventualmente il risultato positivo. In caso di dubbio i campioni sono trasmessi al CNR per ulteriori accertamenti.

I laboratori di conferma dichiarano i campioni positivi confermati all'UFSP e al medico cantonale competente. Questo concetto di laboratorio ha preso piede nel corso degli anni e ha dato buoni risultati. Inoltre, i laboratori di conferma e il CNR hanno raccolto una grande esperienza trasmettendola ai laboratori di screening, contribuendo così al raggiungimento di un elevato standard della diagnostica HIV in Svizzera.

Con l'ulteriore sviluppo dei test diagnostici si è giunti a una 4^a generazione di test di screening, equivalenti ai test di 3^a generazione per quanto concerne la specificità. Questi progressi, che permettono di mettere in evidenza un'infezione a uno stadio precoce, hanno portato la Commissione laboratorio e diagnostica della CFPA ad adattare il concetto di laboratorio. Esso è suddiviso in un «concetto tecnico», che descrive la procedura dei test nell'ambito della diagnostica HIV, e in «criteri di qualità» che devono essere adempiti dai laboratori.

Il presente concetto si basa sull'ordinanza del 26 giugno 1996 riguardante i laboratori di microbiologia e sierologia che, nell'allegato 1, obbliga i laboratori attivi nella diagnostica HIV ad attenersi al concetto di test HIV dell'UFSP.

CONCETTO TECNICO

Si è potuta migliorare notevolmente la diagnostica HIV grazie all'introdu-

zione di nuovi test di screening combinati anticorpi/antigeni (test della 4^a generazione) dotati di un'eccellente sensibilità e specificità e grazie anche alla disponibilità di metodi quantitativi per la determinazione dell'RNA dell'HIV (carica virale) nel plasma.

Nuove conoscenze sul decorso dell'infezione HIV permettono parimenti di impiegare meglio e in modo più mirato gli strumenti diagnostici. Nella prima fase dell'infezione la replicazione virale è elevatissima. In pochi giorni si osserva un elevato titolo di virus accertabile nel sangue mediante il metodo quantitativo della reazione polimerasica a catena (PCR), che tuttavia si riduce nello spazio di poche settimane. In questa fase risulta positivo pure il test sull'antigene p24 (p24 è una proteina virale dell'HIV-1). In questo modo l'infezione da HIV può essere già rilevata con i test della 4^a generazione. Poco dopo appaiono i primi anticorpi nel test di ricerca degli anticorpi (il classico test HIV).

Per poter rilevare in modo ottimale l'infezione HIV anche nella sua fase iniziale (primoinfezione) la CLD raccomanda di procedere nel modo seguente:

Laboratori clinici

Dato che il test combinato anticorpi/antigeni rileva meglio la fase iniziale dell'infezione HIV rispetto al test della 3^a generazione, basato unicamente sulla prova della presenza di anticorpi, la CLD raccomanda ai laboratori clinici, per quanto concerne lo screening, di procedere di norma con un test della 4^a generazione. In

Tabella 1. Screening nel laboratorio clinico

Test e risultati	Interpretazione	Accertamenti ulteriori
Test combinato (Ac + p24) della 4 ^a generazione certificato dalla CE oppure autorizzato da Swissmedic/UFSP		
negativo	nessun indizio di un'infezione HIV	In caso di sospetto di una primoinfezione: ripetere dopo 1 o 2 settimane
valore limite	dubbio	Se alla ripetizione si ottiene di nuovo un risultato dubbio: far inviare sangue EDTA dopo 1 o 2 settimane direttamente al LC. Inviare il risultato al committente basandosi su quanto ottenuto dal LC
reattivo	nessun risultato definitivo	Inviare direttamente al LC un prelievo fresco di sangue EDTA. Inviare il risultato al committente basandosi su quanto ottenuto dal LC

caso di sospetto anamnestico o clinico di una primoinfezione, un risultato negativo può essere dovuto al fatto che il test sia stato eseguito troppo presto. In un caso simile si dovrebbe procedere a un controllo dopo una o due settimane. Per poter escludere definitivamente un'infezione HIV è necessario effettuare un nuovo test dopo 3 mesi. La valutazione e il seguito della procedura nei laboratori clinici sono presentati nella tabella 1.

Studi medici:

Negli studi medici in cui non possono essere effettuati test della 4ª generazione per motivi tecnici, si può continuare ad eseguire il test rapido HIV quando si tratta di escludere un'infezione HIV presente da lungo tempo (>3 mesi dopo l'esposizione potenziale). In caso di sospetto di una primoinfezione, il sangue deve essere imperativamente inviato ad un laboratorio. La valutazione e il seguito della procedura sono presentati nella tabella 2.

Se il risultato di un test di ricerca HIV effettuato in un laboratorio clinico o in uno studio medico è reattivo, deve essere inviato un nuovo prelievo di sangue EDTA a un laboratorio di conferma. Il vantaggio di un prelievo di sangue fresco EDTA consiste nel fatto che nel laboratorio di conferma, oltre al test sierologico di conferma, può essere eseguita una quantificazione dell'HIV-1 RNA (determinazione della carica virale). In questo modo si accresce sostanzialmente la sicurezza della diagnosi HIV che è comunque indispensabile per poter fare il punto della situazione del paziente sieropositivo.

Laboratorio di conferma:

Se il risultato di un test di ricerca HIV effettuato in un laboratorio di conferma è reattivo possono essere svolte ulteriori analisi direttamente sul campione reattivo. Visto che di regola il primo campione è un siero, si dovrà procedere ad un secondo test di screening con un test anticorpi HIV della 3ª generazione, Western blot o con un test antigeni p24. Si può quindi già avere una conferma dell'esito reattivo dello screening sul primo campione. Per avere una diagnosi certa di un'infezione HIV-1 è però indispensabile un secondo campione (sangue EDTA),

al fine di escludere l'eventualità di uno scambio e se del caso di determinare la carica virale. La conferma di un risultato reattivo nel primo materiale può tuttavia anche essere fornita come finora dal secondo prelievo di materiale (sangue EDTA) (tabella 3).

QUALI SONO LE NOVITÀ NEL CONCETTO DI LABORATORIO 2004?

Rispetto alla precedente procedura, sono effettuati ovunque sia possi-

bile test di screening della 4ª generazione. Questo porterà ad una migliore rilevazione delle primoinfezioni. Malgrado l'accertamento dell'antigene HIV-2 in alcuni di questi test non sia ottimale, ciò non dovrebbe pregiudicarne globalmente l'elevata sensibilità, visto che le infezioni HIV-2 in Svizzera sono molto rare e che la probabilità che un'infezione HIV-2 sia presente ad uno stadio di pre-sieroconversione è estremamente ridotta. Infine, l'elevata concentrazione di antigeni nella primoinfezione permette l'otteni-

Tabella 2. **Screening nello studio medico**

Test e risultati	Interpretazione	Accertamenti ulteriori
Test rapido certificato dalla CE oppure autorizzato da Swissmedic/UFSP		
negativo	nessun indizio di un'infezione da HIV	In caso di sospetto di una primoinfezione inviare ad un LC
valore limite	dubbio	Inviare sangue EDTA ad un LC
reattivo	nessun risultato definitivo	Inviare sangue EDTA ad un LC

Tabella 3. **Screening e conferma nei laboratori di conferma (LC)**

Screening		Conferma (dal primo o dal secondo materiale)		Accertamenti ulteriori
Test combinato della 4ª generazione (Ac + p24)	Interpretazione	Test di conferma secondo le direttive interne del LC	Interpretazione	
negativo	nessun indizio di un'infezione HIV			In caso di sospetto di una primoinfezione: ripetere dopo 1 o 2 settimane
valore limite	dubbio	positivo	sospetto di primoinfezione	In caso di primo campione richiedere secondo campione (EDTA) per la carica virale ed esame della resistenza + esclusione di un eventuale scambio In caso di secondo campione: carica virale ed esame della resistenza
		dubbio	dubbio	→ CNR
		negativo	falso reattivo	Nessun indizio di un'infezione da HIV
reattivo	probabile infezione da HIV	positivo	Infezione da HIV confermata	In caso di primo campione: richiedere secondo campione (EDTA) per la carica virale ed esame della resistenza + esclusione di un eventuale scambio
		dubbio	dubbio	→ CNR
		negativo	falso reattivo, contaminazione o scambio di campioni	Richiedere nuovo campione

mento di un risultato positivo anche con l'utilizzo di un test meno sensibile per l'HIV-2.

È stata introdotta un'interessante novità, utile soprattutto quando il test di screening sia altamente reattivo. Il test di conferma, infatti, può essere ora effettuato già su un primo campione. Come avvenuto fino ad adesso, un altro prelievo fresco di sangue-EDTA deve comunque essere inviato come secondo campione allo scopo di escludere uno scambio di provette e, se necessario, per effettuare un quadro sulla situazione clinica del paziente positivo (carica virale, numero delle cellule CD4, esame della resistenza).

Per quel che concerne lo screening HIV nell'ambito della trasfusione sanguigna non vi sono nuove proposte di cambiamento, dato che in questo settore la rilevazione di primoinfezioni è già garantita dalla prova dell'RNA in minipool di plasma.

REQUISITI DI LABORATORIO

Come già menzionato, i laboratori si suddividono in tre livelli: i laboratori di screening, i laboratori di conferma (che eseguono anche lo screening) ed infine il CNR. La conferma dei risultati positivi è limitata esclusivamente ai laboratori di conferma, che sono riconosciuti dall'UFSP. I laboratori che non possono o non vogliono procedere al test di conferma possono inviare il secondo campione ad un laboratorio di conferma riconosciuto dall'UFSP. In caso di risultato dubbio, entrambi i campioni possono essere trasmessi al CNR, come avveniva già in precedenza. I requisiti che devono essere adempiti dai laboratori di screening e di conferma nonché dal CNR non sono cambiati rispetto a quelli previsti nel concetto di test 1998 e sono definiti nel Bulletin dell'UFSP n. 18 del 27 aprile 1998 (in tedesco e francese).

DICHIARAZIONI

Come avvenuto finora, le dichiarazioni anonime dei risultati positivi vengono comunicate all'UFSP, solo dopo il test di conferma. I laboratori

di conferma sono obbligati, conformemente all'ordinanza sulla dichiarazione, a dichiarare tali risultati all'UFSP e al medico cantonale competente. Essi devono inoltre inviare al medico committente il formulario giallo «Questionario per le persone con test HIV positivo». Qualora il materiale sia stato inviato da un laboratorio di screening, lo stesso laboratorio ha l'obbligo di trasmettere il questionario al medico committente. Inoltre il nome e l'indirizzo del medico committente devono essere trasmessi al laboratorio di conferma o all'UFSP.

Il sistema di dichiarazione dell'HIV mira a rilevare, possibilmente senza lacune, tutte le diagnosi iniziali delle infezioni HIV. Allo scopo di non falsare la sorveglianza epidemiologica HIV, le dichiarazioni relative ai test complementari o ai test ripetuti più volte non devono essere trasmesse. Inoltre, per escludere che una comunicazione di un test venga effettuata più volte, il laboratorio di conferma è tenuto a possedere le strutture informatiche adeguate per eseguire internamente questo controllo. Allo scopo di poter riconoscere due prelievi sanguigni di uno stesso paziente, questi ultimi non devono essere inviati sotto due differenti denominazioni anonime.

COSTI

L'Elenco delle analisi dell'Ufficio federale delle assicurazioni sociali stabilisce i costi dei test effettuati. Il test di screening deve essere conteggiato come un solo test, sebbene si renda necessaria la verifica del risultato iniziale e quindi in realtà l'esame venga effettuato due volte. Il conteggio del test di conferma avviene allo stesso modo e secondo le tariffe previste nell'Elenco delle analisi.

Membri della commissione laboratorio e diagnostica:

Dr. Ph. Bürgisser (Losanna), Dr. med. R. W. Dubs (Zurigo), Prof. Dr. phil. P. Erb (Basilea), Dr. med. W. Fierz (San Gallo), Dr. phil. M. Gebhardt (UFSP), Sig.a Dr. med. M. Gorgievski (Berna), Dr. B. Güntert (Lucerna), PD Dr. med. L. Matter (Basilea), Dr. phil. nat. Chr. Niederhauser (Berna), Prof. Dr. med. L.

Perrin (Ginevra), Prof. Dr. J.-C. Piffaretti (Bellinzona), Dr. A. Schlegel (Berna). ■

RIASSUNTO

Nei laboratori clinici i test precedenti della 3ª generazione sono sostituiti da quelli della 4ª generazione che includono, oltre agli anticorpi HIV, anche l'antigene HIV.

La conferma di un risultato positivo può essere effettuata nel primo o nel secondo campione. Un secondo campione (sangue EDTA) è comunque sempre indispensabile per escludere l'eventualità di uno scambio di provette.

Ufficio federale della sanità pubblica
Epidemiologia e malattie infettive