**Алгоритм лабораторного исследования**

**вируса иммунодефицита человека**

ВИЧ состоит из геномной РНК, защищенной белковым капсидом и наружной оболочкой. Различают три подтипа ВИС-1,ВИЧ-2,ВИЧ-3. Оболочечные белки являются основными антигенами, вызывающими иммунный ответ. Серологическая диагностика основана на специфическом обнаружении антител к оболочечным и сердцевинным белкам вируса. Самого факта обнаружения антител в исследуемом образце достаточно для поставки лабораторного диагноза ВИЧ инфекции.

**Методы диагностики:**

Диагностика любой вирусной инфекций основывается на выявлении вируса, его ДНК или РНК, вирусных антигенов и специфических антител. Методы диагностики подразделяются на: 1-серологические, 2-вирусологические, 3-молекулярные.

В диагностике ВИЧ инфекции наиболее популярны серологические методы, такие как:

-Иммуноферментный анализ(ИФА);

-Western Blot или Иммуноблот(ИБ).

**Иммуноферментный анализ-ИФА или (Enzyme immunoassay):**

Иммуноферментный анализ – метод выявления антигенов и антител, основанный на определении комплекса антиген - антитело. Определение комплекса АГ+АТ происходит за счет введения в один из компонентов реакций ферментативной метки, с последующей детекцией метки соответствующим субстратом, изменяющим свою окраску. Основной проведения любого варианта ИФА служит определение продуктов ферментативных реакций при исследовании тестируемых образцов в сравнении с негативными и позитивными контролями.

Для определения антигенов и антител, в основном, применяется твердофазный вариант иммуноферментного анализа. Использование твердой фазы позволяет упростить процесс разделения компонентов на твердой фазе и удаления субстанций, не участвующих в реакции.

**Основные этапы твердофазного иммуноферментного анализа:**

-внесение образцов и контролей;

-инкубация с последующей промывкой;

-внесение коньюгата;

-инкубация с последующей промывкой;

-внесение хромогенного субстрата;

-инкубация;

-остановка ферментативной реакции;

-считывание.

Одним из наиболее важных вопросов при проведении иммуноферментного теста является вопрос о специфичности, чувствительности прогностической ценности используемого теста исследованиях.

Выбор теста зависит от выбора стратегии и тактики исследований, а они в свою очередь зависят от трех следующих критериев:

1. Цель тестирования
2. Чувствительность и специфичность применяемых тестов и
3. Уровень распространения ВИЧ среди тестируемого населения.

**Цели тестирования на антитела к ВИЧ:**

К трем основным целям тестирования на антитела к ВИЧ относятся следующие:

***Обеспечение безопасности трансфузии****.* Скрининг крови и кровепродуктов, получаемых от доноров.

***Эпиднадзор.***Несвязанное и анонимное тестирование сыворотки крови с целью мониторинга, как распространенности ВИЧ – инфекции, так и динамики этого показателя в данной популяции.

***Диагностика ВИЧ-инфекции.*** Добровольное тестирование сыворотки крови, получаемой как у лиц без клинических признаков заболевания, так и у лиц клиническими признаками или симптомами, позволяющими предположить наличие ВИЧ- инфекции или СПИДа.

**Чувствительность и специфичность тестов на антитела к ВИЧ:**

Чувствительность и специфичность - это два основных фактора, определяющие точность анализа с точки зрения разделения пациентов на инфицированных или неинфицированных.

***Чувствительность*** – это вероятность того, что результат теста будет положительным у людей, действительно имеющих антитела. Чувствительность ИФА варьирует от 93 до 100 процентов. В случае необходимости сведения к минимуму риска получения ложно отрицательных результатов (безопасность трансфузии) следует использовать лишь тесты с самой высокой чувствительностью.

***Специфичность*** *-* это вероятность того, что результат теста будет отрицательным у людей, не имеющих антитела. Специфичность ИФА также обычно высокая и составляет в среднем около 99 процентов. При ложно - положительных реакций Всемирная Организация Здравоохранения рекомендует проводить дополнительный тест с использованием тест - наборов ИФА с отличающейся антигенной специфичностью. Однако лучше всего подтверждать положительные реакции при помощи иммуноблота.

**Иммуноблот –** окончательный диагноз ВИЧ инфекции ставится на основании иммуноблота. Методика заключается в инкубировании сыворотки больного с нитроцеллюлозный полоской, на которой нанесен весь спектр вирусных белков ВИЧ1 или ВИЧ2, заведемо разделенных по молекулярному весу при помощи электрофореза. После инкубации могут обнаруживаться антитела к конкретным вирусным белкам, которые можно идентифицировать иммуноферментным способом - аналогично ИФА.

В Казахстане критерии положительного иммуноблота -2 полоски ENV и 1 полоса gag или pol. Кроме того, могут наблюдаться неопределенные результаты при наличии лишь одной или двух положительных линий. В таких случаях рекомендуется повторить иммуноблот через 2 недели, 1 месяц, 6 месяцев. При отсутствии нарастания белков, отсутствии клинических симптомов и эпидемиологических показаний, неопределенный результат оценивается как неспецифических ответ и рассматривается снятие пациента с сероконтроля. Важно отметить, что иммуноблот является отличным подтверждающим тестом, но его, ни в коем случае нельзя применять в качестве скринингового теста.

Заведующая лаборатории Суйебаева Г.А.