

ELISA – HIV-Test

[BAD_1093049.DOC]



AIDS - Zahlen und Fakten

Aids ist eine globale Katastrophe. Schätzungen von UNAIDS, rund infiziert. Im Vergleich damit sind in uns leben etwa 63.500 Menschen mit

Weltweit sind, nach korrigierten 33 Millionen Menschen mit HIV Deutschland die Zahlen relativ günstig. Bei HIV. Allerdings scheint die Wachsamkeit in der Bevölkerung etwas nachzulassen, denn seit dem Jahr 2000 nimmt die Anzahl neuer HIV-Diagnosen wieder zu, so meldet das RKI für 2008 rund 3000 Fälle in Deutschland.

In Deutschland sind etwa drei Viertel der Infizierten Männer, etwa ein Viertel Frauen. 90% der HIV-Infektionen werden sexuell übertragen. Knapp zwei Drittel aller Infektionen in Deutschland sind auf ungeschützten Sex zwischen Männern zurück zu führen.

Durch neue Medikamente konnte die Lebenserwartung und Lebensqualität von Menschen mit HIV und Aids erheblich verbessert werden. Jedoch entgegen vieler immer wieder verbreiteten und auch gern geglaubten Meldungen: ein Heilmittel gegen HIV gibt es nicht! HIV-Infizierte, die mit Medikamenten behandelt werden, leben mit dem Risiko schwerster Nebenwirkungen und der Gefahr von Ausgrenzung und Verarmung.

Daher sind die wirksamsten und wichtigsten Instrumente bei der Bekämpfung von HIV nach wie vor Aufklärung, Schutz und Solidarität. Die deutschen Maßnahmen und Kampagnen reagieren dabei ständig auf neue Entwicklungen, Bedarfslagen und Präventionsmöglichkeiten. Dabei stützen sie sich fortlaufend auf gesicherte Erkenntnisse und Zahlen nationaler und internationaler Institutionen.

HIV-Übertragung

HIV ist der Erreger der Krankheit Aids. Im Vergleich mit anderen Krankheitserregern gilt er als schwerer übertragbar. Darum wird HIV in alltäglichen sozialen Kontakten nicht übertragen, auch nicht beim Husten oder Niesen, nicht bei der Krankenpflege und nicht in Saunen und Schwimmbädern. Jedoch kann HIV übertragen werden, wenn eine Körperflüssigkeit, die eine genügend große Menge HI-Viren enthält, in den Körper eines anderen Menschen gelangt. Als Körperflüssigkeiten sind für eine HIV-Ansteckung Samen- oder Scheidenflüssigkeit, Blut oder Blutspuren von Bedeutung.

Eine Übertragung von HIV ist vor allem in folgenden Situationen möglich:
Ungeschützter Geschlechtsverkehr. Dazu gehören:

- * Vaginalverkehr (Scheidenverkehr),
- * Analverkehr (Darmverkehr) und
- * Oralverkehr (Mundverkehr).

Während der Menstruation besteht durch das Menstruationsblut ein erhöhtes Risiko der HIV-Infektion. Bei Oralverkehr besteht die Gefahr einer HIV-Übertragung vor allem dann, wenn der Samenerguss im Mund erfolgt oder wenn Scheidenflüssigkeit aufgenommen wird.

Über die Virusmenge im so genannten Lusttropfen kann man keine sicheren Angaben machen. Das Risiko einer HIV-Ansteckung dadurch allein (also ohne dass Sperma in den Körper gelangt) ist nach heutiger Kenntnis als äußerst gering einzustufen.

Gemeinsame Benutzung von Spritzbestecken

Gemeinsame Benutzung von Spritzbestecken (Nadeln, Kanülen, Spritzen) bei intravenösem Konsum von Drogen. Einzelheiten zu dieser Möglichkeit der HIV-Übertragung finden Sie auf den Webseiten der Deutschen Aidshilfe.

Schwangerschaft, Geburt und Stillen

Schwangerschaft, Geburt und Stillen können bei HIV-positiven Müttern zu einer Ansteckung des Kindes führen. Durch medizinische Vorsichtsmaßnahmen lässt sich das Risiko jedoch sehr stark senken. Deshalb wird in der Schwangerschaftsvorsorge auch ein HIV-Test angeboten und empfohlen.

Medizinische Behandlung mit Blut und Blutprodukten

Bei Blutplasmaprodukten ist in Deutschland durch die Herstellung sichergestellt, dass sie kein HIV enthalten. Blutspenden werden in der Bundesrepublik durchweg sehr genau auf HIV überprüft, so dass hier nur ein äußerst geringes Restrisiko durch den Zeitraum zwischen einer eventuellen Ansteckung des Spenders und der Nachweisbarkeit von HIV-Antikörpern oder Virusbestandteilen besteht.

Quelle: www.gib-aids-keine-chance.de

Krankheitsverlauf

Eine HIV-Infektion verläuft in vier Phasen:

Phase1 : Akute Phase

Zwei bis sechs Wochen nach einer Infektion können grippeähnliche Symptome wie Fieber, Nachtschweiß, geschwollene Lymphknoten, Übelkeit usw. auftreten – bei manchen Patienten verläuft diese Phase vollkommen ohne Symptome.

Phase2 : Latenzphase

Die Latenzzeit dauert im Durchschnitt neun bis elf Jahre und verläuft ohne Symptomatik. Manche Patienten (vor allem wenn sie von der Erkrankung wissen) entwickeln eine psychische Symptomatik. Es gibt sowohl Patienten, die innerhalb von Monaten nach der Ansteckung AIDS entwickeln, als auch solche, bei denen trotz Ansteckung in den 80er Jahren und ohne antivirale Therapie bis heute keine Krankheitsfortschritt eingetreten ist.

Phase3 : (A)ids (R)elated (C)omplex

Es treten die gleichen Beschwerden wie in der Akutphase auf. Sie gehen jedoch nicht mehr zurück.

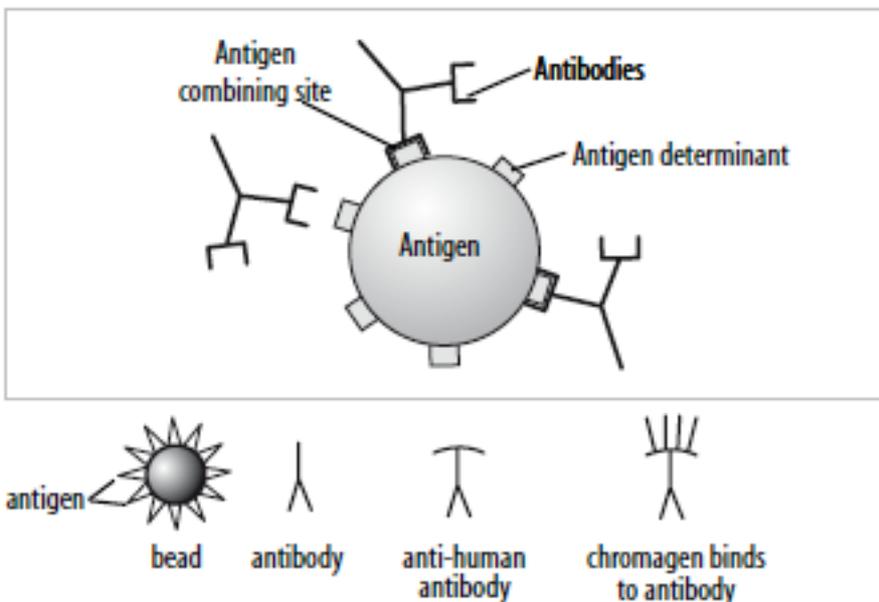
Phase4 : Krankheitsphase

Die Diagnose AIDS wird gestellt, wenn bei einem HIV-Positiven bestimmte Infektionen oder bösartige Tumoren, die sogenannten AIDS definierenden Erkrankungen, festgestellt werden. Die Infektionen werden als opportunistische Infektionen bezeichnet.

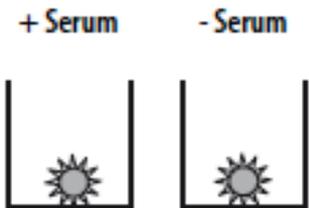
ELISA-Technik

Der ELISA-Test (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) ist eine weit verbreitete und sehr empfindliche immunologische Methode mit der bestimmte Moleküle (hauptsächlich Proteine) nachgewiesen werden können.

Dabei nutzt man die Mechanismen des Immunsystems: Wird eine Substanz (Antigen) vom Immunsystem als fremd erkannt bildet es „Antikörper“, die an das fremde Molekül andocken und es so markieren. Diese so genannte Antikörper-Antigen-Reaktion wird für den ELISA-Test genutzt. Soll ein bestimmtes Protein (Antigen) nachgewiesen werden, müssen die dazu passenden Antikörper verfügbar sein, welche zuvor mit verschiedenen gentechnischen oder zellbiologischen Verfahren hergestellt werden.



Der Test wird in Mikrotiterplatten durchgeführt und läuft wie folgt ab: Zunächst bindet man gereinigtes oder auch genetisch hergestelltes HIV-Virus auf den Boden einer jeden Vertiefung der Mikrotiterplatte



Dann gibt man in jede Vertiefung etwas vom Patienten-Serum dazu, welches im Falle einer positiven Probe die HIV-Antikörper enthalten sollte und ermöglicht so eine Bindung an das bereits fixierte HIV-Antigen.



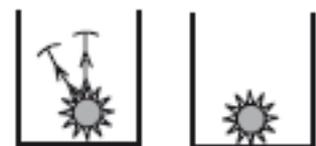
Der flüssige Inhalt der Mikrotiterplatte wird dann entfernt und dadurch auch ungebundenes Serum verworfen. Die Vertiefungen werden mehrfach gewaschen um wirklich alle Spuren des ungebundenen Materials zu entfernen. Die gebundenen HIV-Antikörper bleiben auf dem Boden der Vertiefung am Antigen haften.



Zum jetzigen Zeitpunkt kann man eigentlich nicht sehen, ob die Probe positiv oder negativ ist. Der Komplex ist „unsichtbar“ – man arbeitet mit optisch leeren Vertiefungen weiter!



Die Vertiefungen werden mit einem Konjugat behandelt, welches einen zweiten Antikörper enthält, er an menschliche HIV-Antikörper bindet.



Anschließend wird erneut gewaschen um ungebundenes Material zu entfernen – der HIV-Antigen // HIV-Antikörper // Konjugat bleibt am Boden der Vertiefung haften.



Der im Konjugat enthaltene Zweit-Antikörper ist direkt oder indirekt an ein Enzym gebunden, welches eine Reaktion auslöst, die zu einer messbaren oder sichtbaren Farbänderung führt.

Die Genauigkeit eines kombinierten Western-Blot und ELISA-Tests liegt bei über 90%. Es werden pro Ansatz Positiv- und Negativkontrollen mitgeführt um falsch-positive Ergebnisse ausschließen zu können.



The Body's Defense Against Infection

I

Barriers

Skin

Mucous Membranes

Physical barriers preventing foreign organisms (pathogens) entering the body.



II

Non-Specific Internal Response

When physical barriers are broken and infectious organisms (pathogens) pass through and enter the body.

Inflammation

Extra blood flows to infected tissue site. It becomes red, hot, swollen and painful.

Phagocytosis

White blood cells, mainly the neutrophils and the monocytes (macrophages) ingest (swallow) the pathogens and destroy them.

Fever

Body's temperature is raised. Heat slows down the activity of bacteria and viruses allowing the body's own defense cells time to act.

Antimicrobial Effects

of body secretions eg. Hydrochloric acid of gastric juice, acidity of saliva, enzyme action, etc.



III

Specific Immune Response

Immunity means the body's ability to protect itself against, and build a resistance to, specific foreign substances (antigens) causing disease.

White Blood Cells

Monocytes (Macrophages)

Phagocytes that link the **non-specific** and the **specific** responses. They ingest pathogens, break them up and deposit fragments of them on the macrophage surface for the T cell's to recognize as antigens (foreign substances).

Lymphocytes

B Lymphocytes form Antibodies

Antibodies only react with the **specific antigens** that stimulated their formation. They are secreted into the blood and act by: a) binding to their **specific antigen** and b) activating the **complement system**. These actions **destroy antigens** by causing:

- Agglutination (clumping together)
- Lysis (rupturing the cell wall)
- Opsonisation (Making it susceptible to phagocytes)
- Neutralization (of toxins)

Future Immunity (Resistance)

Some **antibodies** are stored as "**memory antibodies**" that react immediately against **specific antigens** if they enter the body again.

T Lymphocytes become Sensitized T cells

Act against specific antigens in the body. There are 3 types of T cells: **Killer T cells** - attach to and destroy infected cells. **Helper T cells** (CD 4 cells) - stimulate B lymphocytes to form antibodies and killer T cells to destroy infected cells. **Suppressor T cells** - switch off the Immune Response.

Future Immunity (Resistance)

Some **T cells** are stored as "**memory T cells**" and will react immediately against **specific antigens** if it attacks again.

Laborexperiment – Patientenszenario

Jan

Jan ist 21 Jahre alt und hat ein Verhältnis mit Jerry. Jerry war immer ehrlich zu Jan und hat ihm auch gesagt, dass er HIV positiv ist. Beide schützen sich beim Verkehr um zu verhindern, dass sich Jan ansteckt. Nichtsdestotrotz möchte Jan sich auf HIV testen lassen.

Lynn

Lynn ist verheiratet und Mutter von drei Söhnen. Sie wurde kürzlich Zeuge eines Unfalls und half sofort vor Ort den Verwundeten zu versorgen. Dabei trug sie keine Handschuhe, es war sehr viel Blut am Unfallort und sie fürchtet nun, dass der Verletzte eventuell HIV positiv war und sie sich angesteckt hat.

Baby Elizabeth

Elizabeth ist neun Monate alt. Mutter Jennifer hat herausgefunden, dass ihr Ehemann HIV positiv ist, sie selbst positiv ist und möchte nun wissen, ob ihr Baby auch positiv ist – da man ihr nicht vom Stillen abgeraten hat.

Roger

Roger ist ein junger Medizinstudent und selbst Bluter – über die Jahre hat er bereits viele Transfusionen erhalten und möchte gerne wissen, ob nicht eine der Transfusionen das HIV-Virus enthielt.

Bob

Bob ist 35 Jahre, Vater von vier Kindern, verheiratet und war Truckfahrer. Mittlerweile ist er arbeitslos, weil oft krank ist und sehr stark hustet. Sein Arzt möchte ihn auf TB und HIV testen und bittet um Zustimmung den Test durchführen zu dürfen.

Tony

Ist ein junger Mann der gerade aus Südafrika zurückgekommen ist und gelesen hat, dass 25 Millionen Menschen dort die Krankheit durch Moskitobisse bekommen haben – auch wenn der Arzt diesen Übertragungsweg ausschließt will er den Test.

Richard

Richard ist 25 Jahre als und Heroinabhängig. Er ist dünn, kränklich und schwach – der Arzt vermutet AIDS. Seine Freundin Katie ist Krankenschwester und versichert, sich besser um ihn kümmern zu können, wenn sie die Diagnose kennen.

Tania

Tania ist 25 Jahre alt und wurde vergewaltigt. Ihr Arzt gab ihr bereits direkt nach der Vergewaltigung anti-retrovirale Medikamente um einer Infektion vorzubeugen – dennoch rät er zu HIV-Tests in 2 aufeinanderfolgenden Monaten

William

William ist Student und hatte ungeschützten Geschlechtsverkehr mit einem Mädchen. Er kennt weder ihren Namen, noch hat er sie jemals wiedergesehen ... nun fürchtet er, dass er sich vielleicht mit einer sexuell übertragbaren Krankheit angesteckt hat.

Versuchsdurchführung

Du solltest während des gesamten Versuches einen Laborkittel, Handschuhe und eine Schutzbrille tragen!

Je Schülergruppe wird Folgendes benötigt:

- 12 Glasperlen, die mit dem simulierten HIV-Antigen ge-coated sind
- 1 Streifen mit Microvertiefungen
- 1 Plastikpipette
- 1 Mikrospatel

Für die ganze Klasse wird folgendes benötigt:

- 10 ml simulierter anti-human Antikörper (enzym-gebunden)
- 10 ml simuliertes Chromagen
- 10 ml simuliertes Patientenserum
- 10 ml simuliertes Kontrollserum (negativ)
- 10 ml simuliertes Kontrollserum (gering-positiv)
- 10 ml simuliertes Kontrollserum (hoch-positiv)

Und los geht es

Schritt 1

Du erhältst von Deinem Lehrer zwei 8-well-Microstripes (Streifen mit 8 Vertiefungen). Beschrifte die Wells #1-12 und gib mit dem Mikrospatel in jedes eine Glasperle mit gebundenem, (simuliertem) HIV-Antigen.

Schritt 2

Gib mit der Pipette auf jedes Well 2 Tropfen Wasser

Schritt 3

Gib zwei Tropfen in folgende Wells:

- negative Kontrolle zu #1
- low-positive Kontrolle zu #2
- high-positive Kontrolle zu #3

Schritt 4

Gib zwei Tropfen Patientenserum in folgende Wells:

4 Jan

5 Lynn

6 Elizabeth

7 Roger

8 Bob

9 Tony

#10 Richard

#11 Tania

#12 William

Schritt 5

Inkubiere die Stripes für 3 min bei Raumtemperatur

Schritt 6

Gib zwei Tropfen Konjugat in jedes der 12 Wells.

Schritt 7

Inkubiere die Stripes für 3 min bei Raumtemperatur

Schritt 8

Gib zwei Tropfen Chromagen in jedes der 12 Wells.

Schritt 9

Auswertung der visualisierten Ergebnisse:

Negativ: farblos oder hellgelb

Gering-positiv: hell-orange

Hoch-positiv: dunkelrot

→ schreibe die Ergebnisse in einer Tabelle auf. Positiv sind Personen zu werden, deren Ergebnis dunkler oder gleiche Farbe wie die Positivkontrollen aufweisen. Negativ sind Personen, deren Ergebnisse farblos oder heller als die Positivkontrollen ausfallen.

Schritt 10

Entsorge allen Müll und spüle Deine Arbeitsmaterialien gut mit laufendem Wasser ab.

Well Number	Patient	Result	Observations/Comments
1	Negative Control		
2	Low positive Control		
3	High Positive Control		
4	Jan		
5	Lynn		
6	Baby Elizabeth		
7	Roger		
8	Bob		
9	Tony		
10	Richard		
11	Tania		
12	William		

Fragen:

1. Denkst Du Jan und Jerry handeln verantwortungsbewusst? Begründe
2. Lynn: welche Sicherheitsvorkehrungen hätte Lynn treffen sollen, bevor sie dem Unfallopfer geholfen hat?
3. Würdest Du einem blutenden Menschen helfen? Falls ja, triffst Du Vorkehrungen? Welche?
4. Elizabeth: Wie kann sich das Baby bei der Mutter anstecken? Ist sie positiv? Wird Sie AIDS entwickeln?
5. Ist es richtig von Jenny ihr Kind zu stillen?
6. Roger: Was können Blutbanken tun um sicherzustellen, dass die Transfusionen nicht kontaminiert sind
7. Bob: Wie viele Kinder verwaisen in den USA / EU weil ihre Eltern an Aids sterben?
8. Richard: Kann Katie sich impfen lassen? Gibt es Medikamente die Richard heilen werden?
9. In welchem Krankheitsstadium befindet sich Richard? Begründe
10. Tony: Kann man sich durch einen Mosquito-Biss anstecken?
11. In welchen Körperflüssigkeiten befindet sich das HIV-Virus?
12. Tania: Kann der zweite Test positiv sein?
13. Denkst Du gestell Vergewaltiger sollten ohne Einwilligung einem AIDS-Test unterzogen werden?
14. Hätte William eine Infektion vermeiden können? Was kann er machen um ein gesundes und aktives Leben nach der Infektion zu haben?