

## DIAGNOSTICUL DE LABORATOR AL INFECȚIEI HIV

## DIAGNOSTIC SEROLOGIC

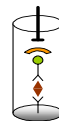
- investigații de triaj
  - imuno-enzimatice ELISA
- de confirmare
  - imunoamprente
  - radioimunoprecipitare
  - imunofluorescență
- de diferențiere (HIV 1/2)
- tehnici rapide de diagnostic

## Metode imunoenzimatic ELISA

- enzyme-linked immunosorbent assay**
- Permit detectarea anticorpilor.
- Este posibilă determinare cantitativă
- La reacții participă:
  - un reactant imunologic atașat de un suport solid (peretele unui recipient)
  - un reactant imunologic marcat enzimatic - peroxidaza
  - substrat specific (cromogenic)
  - substanțe pentru stoparea reacției
- Reacțiile au loc în aparate automate, semiautomate.

## Metode imunoenzimatic ELISA

Detectarea antigenelor



- Y anticorpi specifici
- anticorpi marcați enzimatic
- ◆ antigen?
- substrat cromogen

Detectarea anticorpilor



- ⊥ stoparea reacției
- anticorp anti-globulin marcat
- anticorp?
- ◆ antigen cunoscut

## Metode imunoenzimatic ELISA

- până la 5% rezultate false, prin erori tehnice.
- ELISA pozitivă trebuie confirmată prin
  - folosirea altor teste ELISA bazate pe alte principii
  - test de confirmare tip Western Blot (WB).
- Testele fals pozitive:
  - boli de collagen,
  - hepatite cronice,
  - malarie
  - persoane cu anumite fenotipuri HLA.

## Testul Western Blot

- permite identificarea individuală a anticorpilor anti-HIV specifici antigenelor virale.
- Antigenele sunt separate prin electroforeză și transferate pe membrane de nitroceluloză care se incubează cu serul pacientului.
- Anticorpii din ser leagă specific proteinele virale și sunt identificați prin comparare cu controale standard.
- o probă este pozitivă dacă prezintă benzi pozitive pentru cel puțin două din cele trei antigene majore *gag, pol, env*.



## Testul Western Blot

- Criteriile CDC de interpretare:
- cel puțin 2 din următoarele benzi:
  - p24, gp41 sau gp160/120 pentru un test pozitiv
  - nici una pentru un test negativ
  - prezența oricărei alteia pentru un rezultat indeterminat



## TESTELE RAPIDE

- conțin suspensii microscopice de particule (latex, gelatină, hematii tanate) cuplate cu antigen viral.
- Anticorpul din serul testat aglutinează aceste particule care formează un depozit vizibil cu ochiul liber sau la microscop după numai 5 minute.
- utile în zone endemice, dacă este necesară rapiditatea în orientarea diagnosticului serologic
- nu necesită echipamente speciale



## METODE DIRECTE

- Replicarea virală demonstrată prin:
  - evidențierea și dozarea antigenului p24,
  - detectarea unor secvențe genomice prin amplificare genică
  - izolarea virusului.
- Aceste tehnici evidentiază infecția în timpul „ferestrei imunologice” (seroconversiei).



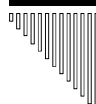
## METODE DIRECTE Ag p24

- determinarea cantității de antigen p24 liber din plasmă sau supernatantul din culturi celulare.
- Antigenemia p24 are valori mai mari inițial și apoi mai mici, tardiv în timpul infecției cu HIV
- tehnică ELISA de tip sandwich,
  - anticorpul anti-p24 se găsește în godeuri
  - se incubează cu serul sau plasma pacientului
  - antigenul liber se leagă specific
  - este măsurată intensitatea culorii.



## METODE DIRECTE Ag p24

- O caracteristică a infecției cu HIV
  - coexistența antigenului p24 cu anticorpul anti-p24 pe tot parcursul bolii, în concentrații diferite.
  - Creșterea antigenului p24 la valori detectabile în faza de seroconversie sau în faze terminale limitează utilizarea acestui test doar pentru aceste perioade.



## Reacția de polimerizare în lanț (PCR)

- Tehnica constă în amplificarea ADN existent în cantități foarte mici printr-o serie de cicluri replicative.
- oferă informații despre încărcătura virală. Cuantificarea acesteia este utilă în:
  - diagnosticul infecției, îndeosebi la nou-născuții din mame seropozitive
  - urmărirea evoluției bolii
  - evaluarea eficacității diverselor tratamente antiretrovirale.