

Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 10 (1988) 261 - 267

Institut für Hygiene (Vorstand: Prof. Dr. M. P. Dierich) (1)  
Ludwig Boltzmann-Institut für AIDS-Forschung  
(Vorstand: Prof. Dr. M. P. Dierich und Prof. Dr. H. Wachter) (2)

## Antigennachweis bei HIV-1-Infektionen

**P. Hengster<sup>1</sup>, C. Larcher<sup>1</sup>, F. Allerberger<sup>1</sup>, J. M. Hofbauer<sup>1, 2</sup>,  
B. Sölder<sup>1</sup>, H. Wachter<sup>2</sup>, M. P. Dierich<sup>1, 2</sup>**

### Einleitung

Bereits 1984 wurde der Befund erhoben, daß aus seronegativen Personen das AIDS-Virus HIV angezüchtet werden konnte (9). Ergänzend dazu wurde erkannt, daß es bei Infektionen mit HIV-1 zwischen der Infektion und dem Auftreten der Antikörper gegen HIV-1 eine diagnostische Lücke gibt (7, 11). Mit Methoden, die den Nachweis von viralem Antigen erlauben, versuchte man diese Lücken zu schließen. Eine weitere Einsatzmöglichkeit für den Antigentest ist die Quantifizierung von HIV-1-Antigenen im Serum, der neben anderen Parametern, wie Neopterin, eine prognostische Bedeutung zukommt (1, 4).

Erste Tests standen seit Anfang des Jahres zur Verfügung, erste euphorische Äußerungen von unerfahrenen Testern erwiesen sich als falsch. Unsere Ergebnisse mit zwei kommerziell erhältlichen Antigentests sind im folgenden beschrieben.

Angesichts des häufigen Auftretens von verschiedensten, vor allem parasitären Infektionen in Afrika, der damit einhergehenden Stimulation des Immunsystems und der daraus resultierenden Vermehrung von HIV, erschienen uns Seren aus Afrika prädestiniert für erhöhte Werte von HIV-Antigen. Deshalb haben wir 253 Sera aus Nordwest-Tansania auf ihren HIV-Antigen- und Antikörper-Status untersucht.

### Methoden

Serumproben:

Für 162 Seren wurden die Tests der Firma Abbott und Innostest verglichen. An weiteren insgesamt 1523 Seren aus dem Routine-Einsendegut wurde nur mittels Abbott Antigen EIA der Nachweis von HIV-1-Antigenen durchgeführt.

Weiters wurden 253 Seren aus Tansania auf HIV-Antigen und Antikörper gegen HIV untersucht (die Tests hierfür wurden von Abbott/Österreich freundlicherweise zur Verfügung gestellt).

Testmethoden:

Zum Nachweis von HIV-Antigen wurden die kommerziell erhältlichen Tests Abbott HTLV III-Antigen EIA und der VCA-HIV-Innotest verwendet. Der Aufbau der beiden

Tests ist im Prinzip nahezu identisch. Polystyrolkugeln (Abbott) bzw. Mikroelisastrifen sind mit einem humanen, polyklonalen Antikörper gegen HIV beschichtet. Die Festphase wird mit 200 µl unverdünntem Patientenserum inkubiert, eventuell vorhandenes Antigen bindet, ungebundenes Material wird durch einen Waschschrift entfernt. Beim Abbott-Test wird nun in zwei Schritten zuerst ein Kaninchen-Antikörper gegen HTLV III und nach einem Waschvorgang ein enzymmarkierter Ziegen-Antikörper gegen Kaninchen-IgG zugegeben, während beim Innostest ein enzymmarkiertes nicht näher definiertes gegen HIV gerichtetes Konjugat zugegeben wird.

Nach einem Waschvorgang wird bei beiden Tests die Substratreaktion durchgeführt und nach dem Stoppen der Reaktion der Farbumschlag abgelesen.

Zur Bestätigung der positiven Resultate muß beim Abbott-Test ein Neutralisations-test vorgenommen werden. Bei diesem Test wird das Patientenserum vorweg mit einem Antikörper gegen HTLV III inkubiert. Es wird geprüft, ob im Vergleich zum unbehandelten Serum eine mindestens 50%-ige Verminderung des Reaktionsausfalls erfolgt.

Beim Innostest wird zur Bestätigung ein mit anti-HIV-1-negativem Kontrollserum beschichteter Streifen zum Erkennen unspezifischer Reaktionen verwendet. Die Sensitivität wird bei beiden Herstellern mit ca. 50 pg HIV-Protein/ml angegeben. Diese HIV-Proteinmenge entspricht etwa  $10^6$  -  $10^7$  HIV-Partikeln.

## Ergebnisse

Tabelle 1 zeigt die Ergebnisse des Vergleichs der beiden Antigentests. Die Spalten zeigen der Reihe nach folgende Ergebnisse: den zugehörigen Antikörperbefund nach Bestätigungsreaktion, das Ergebnis des Innostest und der dabei empfohlenen Bestätigungsreaktion, die Anzahl der einzelnen Reaktionsmuster und die Anzahl der verschiedenen Sera. Bei den Antikörper-positiven Sera konnte beim Testvergleich in 41 Fällen kein Antigen und in 8 Fällen das Antigen bestätigt nachgewiesen werden. In 4 Fällen konnte ein Antigen-positiver Befund nur mit dem Abbott-Test, in einem Fall nur mit dem Innostest erhoben werden. In 7 Fällen war der Abbott-Test initial falsch positiv, in 25 Fällen der Innostest. Bei 72 Antikörper-negativen Sera war übereinstimmend kein Antigen nachweisbar, in 7 Fällen war der Abbott-Test initial falsch positiv, in 2 Fällen auch der Innostest. Ein negatives Ergebnis in der Bestätigung bedeutet unspezifische Reaktion bzw. Positivität nicht reproduzierbar, ein solches Serum wird als initial falsch positiv bezeichnet. Gegenüber dem Glykoprotein gp 41, dem transmembranalem Anteil der Virushülle, lassen sich nach unseren Untersuchungen im Serum Infizierter regelmäßig Antikörper nachweisen (2, 6). Somit müssen auch in dem als "catching antibody" verwendeten polyklonalem Humanserum Antikörper gegen gp 41 vorhanden sein. Wir haben daher von uns hergestelltes rekombinates gp 41 dem Test zugeführt (5, 10). Dieses Protein wurde in einer Konzentration von 70 µg/ml in beiden Tests mit einer ungefähr 1000-fach geringeren Sensitivität als der angegebenen Sensitivität von 50 pg Gesamtprotein/ml erkannt.

Um die Sensitivität für den Antigennachweis im Humanserum zu ermitteln, haben wir in beiden Tests bestätigt positive Seren ausverdünnt. Dabei zeigte sich, daß der Abbott-Test bis zu dreifach höheren Verdünnungen positiv ist als der Innostest.

Bei den 1523 Sera aus der Routinediagnostik ergab sich mit dem Abbott-Test folgendes Bild (Tab. 2): 1471 Seren waren sowohl Antigen- als auch Antikörper-negativ, 24 Seren waren bezüglich Antigen und Antikörper bestätigt positiv. Der Antigen-

TABELLE 1  
**Vergleich zweier kommerzieller HIV Antigentests**

Antikörperbefund	Abbott	Neutral.	Organon	Best.	Zahl	Anzahl Sera
+	-		-		41	41
+	+	+	+	+	8	8
+	+	+	-		4	4
+	-		+	+	1	1
+	+	-			7	} 29
+			+	-	25	
-	-		-		72	72
-	+	-			7	} 7
-			+	-	2	
						162

+ = positives Ergebnis · - = negatives Ergebnis

TABELLE 2  
**Nachweis von HIV-Antigen im Routine-Einsendegut**

Zahl	Antikörper bestätigt	HIV-Ag initial	HIV-Ag bestätigt
1471	-	-	
18	-	+	-
2	-	+	+
24	+	+	+
131	+	-	
2	+	+	-
6	+	+	nd
1523			

+ = positives Ergebnis · - = negatives Ergebnis · nd = nicht durchgeführt

nachweis war initial in 20 Fällen positiv, und zwar bei 18 Seren mit negativem und bei zwei Seren mit positivem Antikörperbefund, jedoch konnte dieses Ergebnis mit der Neutralisation nicht bestätigt werden. Bei einem Patienten mit negativem Antikörperbefund konnte im Abstand von einem Monat aus zwei Serumproben mit Neutralisation bestätigt nachgewiesen werden. In 6 Fällen mit positivem Antikörperbefund war auch der Antigentest initial positiv, die Neutralisation konnte in unserem Einsendegut

Antigen in 15% aller Antikörper-Positiven ohne Berücksichtigung der Klinik nachgewiesen werden. Dies entspricht etwa den in der Literatur berichteten Werten von 16% bei asymptomatischen Antikörper-Positiven, 40% der ACR-Patienten und 70% in AIDS-Patienten (7).

Über den Antigen-Nachweis von Serokonversion verfügen wir über keine eigenen Erfahrungen. Gemäß den Untersuchungen von GOUDSMIT liegt der Prozentsatz eines positiven Antigennachweises bei Serokonvertierenden bei 15% (3).

Bei unseren Serumproben aus Tansania war die Durchseuchungsrate gemessen an der Seropositivität entgegen den häufig verbreiteten Daten mit 2,4% relativ gering. Aus den 253 Proben (Tab. 3) konnte lediglich in zwei Fällen das HIV-Antigen gefunden und bestätigt werden und zwar in Patienten, bei denen keine klinischen Symptome und auch keine Antikörper nachweisbar waren. In den sechs HIV-Antikörper-positiven Patienten wurde trotz der zu erwartenden Stimulation des Immunsystems durch eine Vielzahl vor allem parasitärer Erreger kein Antigen nachgewiesen.

TABELLE 3  
HIV-Status von 253 Seren aus Nordwest-Tansania

ANTIGEN —	ANTIKÖRPER —	245 (96,8%)
ANTIGEN +	ANTIKÖRPER +	0 ( 0,0%)
ANTIGEN +	ANTIKÖRPER —	2 ( 0,8%)
ANTIGEN —	ANTIKÖRPER —	6 ( 2,4%)

## Diskussion

Die Sensitivität mit etwa 50 pg Virusantigen/ml ist technisch kaum zu verbessern. Unsere eigenen Versuche zur Herstellung eines Antigen-Tests haben ebenfalls gezeigt, daß es kaum möglich ist, eine höhere Sensitivität zu erreichen. Aufgrund dieser Limitierung ist die Antigenämie nur in maximal 15% der Fälle nachweisbar. Eine Verbesserung des Virusnachweises kann mittels Viruskultur und Antigennachweis aus der Kultur erreicht werden.

Von der Firma Innostest wird im besonderen darauf verwiesen, daß mit ihrem Antigen-test Virusproteine, auch gp 41, nachgewiesen werden. Die Sensitivität für dieses Protein, wenn in rekombinanter Form zugeführt, liegt hier nur bei etwa 70 µg/ml. In der Annahme, daß gp41 etwa  $\frac{1}{500}$  der HIV-Proteine ausmacht, entspricht das einer etwa 1000-fach geringeren Sensitivität der Antigentests für gp 41 als der für Gesamtprotein.

Der Vergleich der beiden Tests zeigt, daß der Abbott-Test in seiner Sensitivität dem Innostest überlegen ist. Darüber hinaus gibt es Diskrepanzen zwischen den Tests. Eines der im Innostest bestätigt positiven Seren wird im Abbott-Test negativ gefunden. Bezüglich der Spezifität finden sich bei Abbott initial 14, im Innostest 27 Seren, die bei der Neutralisation bzw. der Bestätigungsreaktion negativ reagieren. Die Ursache für

die initial auftretende Positivität, die wahlweise in dem einen oder anderen oder auch in beiden Tests auftritt, ist unbekannt. Der Rheumafaktor verursacht in unseren Händen keine Positivität.

Im Routine-Einsendegut stellt der initial positive Befund, der sich in der Neutralisation nicht bestätigen läßt, vor allem bei negativem Antikörperbefund, ein besonderes Problem dar. Immerhin wird in 18 Antikörper-negativen Seren eine positive Reaktion beobachtet, die sich nicht bestätigen läßt. Hinter der unspezifischen Reaktion könnte sich trotzdem eine Positivität verbergen. Und: was bedeutet ein bestätigt positiver Antigenbefund, ohne daß Antikörper nachweisbar sind? Im konkreten Fall konnte bei dem Patienten innerhalb eines Monats keine Serokonversionen beobachtet werden, eine weitere Serumprobe war bisher noch nicht beizubringen. Der Patient ist durch Wahrung seiner Anonymität für die Viruskultur nicht verfügbar.

Das Mitteilen eines solchen Befundes zum gegenwärtigen Zeitpunkt scheint aufgrund der unbekanntenen Verläßlichkeit solcher Ergebnisse und der damit verbundenen Beunruhigung des Patienten als nicht sinnvoll. Eine sehr wesentliche Erkenntnis ist, daß bei Zunahme von Antigen die Antikörper gegen p 24 wegen Neutralisation weniger gut nachweisbar werden, was als prognostisch ungünstiges Zeichen zu bewerten ist (8).

Bezüglich der Situation in Afrika fanden wir in einem ländlichen Gebiet eine Durchseuchung mit HIV-1 von nur 2,4% ohne positiven Antigennachweis und einen positiven Antigennachweis bei zwei Patienten (0,8%) mit negativem Antikörperbefund (Manuskript in Vorbereitung). Bei den untersuchten Seren aus Afrika kam es nicht wie erwartet zu einem massiven Nachweis von HIV-Antigenen trotz der anzunehmenden ausgeprägten Stimulation des Immunsystems durch verschiedenste, vor allem durch Protozoen verursachte Infektionen. Der positive Antigenbefund bei zwei Probanden ist ohne Virusisolierung bei der oben angeführten Problematik für uns vorläufig kein sicheres Zeichen für eine HIV-Infektion.

Zusammenfassend kann über die praktische Verwendbarkeit des HIV-Antigen-Tests folgendes gesagt werden.

1. Obwohl die Antigentests dem derzeit technischen Optimum entsprechen, ist die Nachweisgrenze für die praktische Verwendbarkeit zu hoch. Die Verwendung im Blutspendewesen und als früher Marker für Virusproduktion in vivo erscheint zum gegenwärtigen Zeitpunkt als wenig zweckmäßig.

2. Wenn der Test jedoch benutzt wird, so sind unbedingt die von den Firmen geforderten Bestätigungstests durchzuführen, da über 50% der initial erhaltenen Ergebnisse nicht bestätigt werden könne.

3. Der Antigen-Test kann sinnvoll in Kombination mit der Viruskultur zum quantitativen Nachweis von HIV-Antigen im Kulturüberstand verwendet werden.

4. Bei HIV-Antigen-positiven Patienten unter Therapie (z. B. AZT) kann der Antigentest als in vitro Parameter zur Messung der zirkulierenden Virusmenge und ihrer Veränderung während der Therapie eingesetzt werden.

5. Ein hoch positiver Antigen-Befund und die Zunahme des Antigens muß zweifelsfrei als prognostisch ungünstiges Zeichen gewertet werden. Die Zunahme des nachweisbaren Antigens geht mit einer Verminderung der Antikörper gegen p 24 einher.

## Zusammenfassung

Um die Relevanz des Antigennachweises und die Qualität der angebotenen Tests zu überprüfen, haben wir 162 Seren vergleichend in zwei kommerziellen Tests untersucht und bei weiteren 1523 Seren unserer Routinediagnostik und bei 253 Seren aus Tansania eine Antigenbestimmung nur mit dem Abbott-Test durchgeführt. Die im Vergleich gewonnenen Daten zeigen, daß der Abbott-Test bezüglich Sensitivität dem Innotest überlegen ist. Bezüglich Spezifität finden sich in beiden Tests über 50% Ergebnisse, die in der nachfolgenden Bestätigung nicht verifiziert werden können. Auch finden sich in beiden Tests bestätigt-positive Seren, die im anderen Test negativ reagieren. Die praktische Verwendbarkeit ist durch die zu geringe Sensitivität für den Nachweis von HIV-Antigen mit wenigen Ausnahmen von eher untergeordneter Bedeutung. Besonders auch durch die Probleme mit der Spezifität ist die Interpretation von positiven Ergebnissen in der Praxis schwierig.

## Schlüsselwörter

HIV-1-Antigen, Sensitivität, Spezifität

## Summary

### Antigen assays in HIV infection

To evaluate the relevance of the HIV antigen assay and the quality of the offered tests we have investigated 162 sera with two commercially available tests and additionally 1523 sera out our routine diagnostic and 253 sera from Tanzania for HIV antigen only with the Abbott test. Data on this comparative evaluation show, that the Abbott test is more sensitive than the Innotest. With respect to specificity both tests initially showed results that in more than 50% could not be verified with confirmatory testing. The practical usefulness of these tests is very low with few exceptions. Their low sensitivity, and also their lack of specificity render the interpretation of positive results very difficult.

## Key words

HIV-1 antigen, sensitivity, specificity

## Literatur

1. ALLAIN, J. P., LAURIAN, Y., DEBORAH, A. P., VERRON, F., LEUTHER, M., GAZENGEL, C., SENN, D., LARRIEU, M. J., BOSSER, C. (1987):  
Long-term evaluation of HIV antigen and antibodies to p 24 and gp 41 in patients with hemophilia. N. Engl. J. Med. 317, 1114 - 1121.
2. ASCHAUER, J., SCHULZ, T., HENGSTER, P., LARCHER, C., DIERICH, M. P. (1987):  
A recombinant p 41 in the serodiagnosis of HIV-infections. Immunobiology 175/4, 337.
3. GOUDSMIT, J., PAUL, D., LANGE, J. et al. (1986):  
Expression of human immunodeficiency virus antigen (HIV-Ag) in serum and cerebrospinal fluid during acute and chronic infection. Lancet. II, 177 - 180.

4. HENGSTER, P., BLECHA, H. G., DEINHARDT, F., ERFLE, V., FUCHS, D., GÖBEL, F. D., GÜRTLER, L. G., HAUSEN, A., HINTERHUBER, H., REIBNEGGER, R., RÖSSLER, H., SCHAUENSTEIN, K., SCHÖNITZER, D., SCVHULZ, T., TRAILL, K., WERNER, E. R., WACHTER, H., DIERICH, M. P. (1986):  
HTLV-III-Durchseuchung bei Personen mit intrevenösem Drogenmißbrauch, Korrelation von Antikörpern gegen HTLV-III mit Neopterin und TH/TS.  
Deutsche Medizinische Wochenschrift 12, 453 - 457.
5. HENGSTER, P., LARCHER, C., PÖCKL, E., SCHULZ, T., WACHTER, H., DIERICH, M. P. (1987):  
Detection of antibodies to HTLV-III: Comparison of different ELISAS's as screening test and western blot with immunofluorescence as confirmatory test.  
Wiener klinische Wochenschrift 4, 112 - 114.
6. HOFBAUER, J. M., SCHULZ, T. F., HANGSTER, P., LARCHER, C., ZANGERLE, R., KOFLER, H., FRITSCH, P., WACHTER, H., DIERICH, M. P. (1988):  
Comparison of a Western Blot (immunoblot) based on p 41 synthesized in E. coli with conventional tests for serodiagnosis of Human Immunodeficiency Virus infections.  
J. Clin. Microbiol. 26, 116 - 120.
7. KENNY, C., PARKIN, J., UNDERHILL, G. et al. (1987):  
HIV antigen testing.  
Lancet I, 565 - 566.
8. LANGE, J., PAUL, D., HUISMAN, H. et al. (1986):  
Persistant HIV antigenaemia and decline of HIV core antibodies associated with transition to AIDS.  
Brit. Med. J. 293, 1459 - 1462.
9. SALAHUDIN, S. Z., MARKHAM, P. D., GROOPMAN, J. E., SARNGADHARAN, M. G., REDFIELD, R., Mc LANE, M. F., ESSEX, M., SLISKY, A., GALLO, R. C. (1984):  
HTLV-III in symptom-free seronegative persons.  
Lancet II, 1418 - 1420.
10. SCHULZ, T. F., ASCHAUER, J. M., HENGSTER, P., LARCHER, C., WACHTER, H., FLECKENSTEIN, B., DIERICH, M. P. (1986):  
Envelope gene-derived recombinant peptide in the serodiagnosis of Human Immunodeficiency Virus infection.  
Lancet II, 111 - 112.
11. ULSTRUP, J. C., SKAUG, K., FIGENSCHAU, K. J., ORSTAVIK, I., BRUNN, J. N., PETERSEN, G. (1986):  
Sensitivity of Western-Blotting (compared with ELISA and Immunofluorescence ) during serokonversion after HTLV-III infection.  
Lancet I, 1151 - 1152.

KORRESPONDENZADRESSE:

Dr. Paul Hengster  
Institut für Hygiene  
Fritz-Pregl-Straße 3  
A-6010 Innsbruck  
Austria

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mitteilungen der Österreichischen Gesellschaft für Tropenmedizin und Parasitologie](#)

Jahr/Year: 1988

Band/Volume: [10](#)

Autor(en)/Author(s): Hengster Paul, Larcher C., Allerberger Franz, Hofbauer J. M., Sölder B., Wächter Helmut, Dierich M. P.

Artikel/Article: [Antigennachweis bei HIV-1-Infektionen. 261-267](#)