

Institut für Laboratoriumsmedizin und Bluttransfusionsdienst (Leiter: Prof. Dr. C. Maurer)
des Städtischen Krankenhauses Heilbronn (1)
Institut für Medizinische Virologie und Immunologie (Komm. Direktor: Priv. Doz. Dr. O. Thraenhart)
am Universitätsklinikum Essen (2)

Einsatz von Schnelltests zur HIV-Diagnostik: Tropenmedizinische Aspekte

C. Maurer¹, N. Scheiermann¹, M. Gesemann²

Einleitung

Die Standardmethoden der serologischen Diagnostik von HIV-Infektionen garantieren im Vergleich zu vielen anderen viralen Infektionen ein hohes Maß an diagnostischer Treffsicherheit. Die Sensitivität des Screening-Tests mit ELISA-Verfahren beträgt nahezu 100%. Auch die Spezifität liegt bei über 98%, was vor allem bei einer niedrigen Prävalenz in der Gesamtbevölkerung wichtig ist.

Die Sicherung der positiven Ergebnisse erfolgt durch die indirekte Immunfluoreszenz und den sogenannten Westernblot.

In dieser Situation muß die Frage gestellt werden, ob die Einführung alternativer Verfahren sinnvoll ist, wenn sie keine Verbesserung der oben genannten Kriterien mit sich bringen oder sogar von geringerer Zuverlässigkeit sind.

Unter einem Schnelltest verstehen wir eine Untersuchung, die innerhalb kurzer Zeit ein Ergebnis liefert. Unausgesprochen nehmen wir dabei eine geringere Sensitivität oder Spezifität in Kauf. Im weiteren Sinne subsumieren wir aber gedanklich auch eine schnelle und einfache Handhabung ohne aufwendige technische Voraussetzungen.

Bei Anforderungen an unser Untersuchungsinstitut aus dem stationären und ambulanten Bereich und dem Spenderscreening der eigenen Blutbank ergibt sich nur äußerst selten die Notwendigkeit zum Einsatz eines Schnelltests. Diese wenigen Ausnahmen sind gegeben bei der Bereitstellung von maschinellen Thrombozytenhochkonzentraten oder anderen kurzlebigen Spezialpräparationen. Ähnliches gilt für die Transplantationsmedizin. Einer weiteren Anwendungsmöglichkeit, nämlich der Erkennung von infizierten Patienten beispielsweise in der Notfallambulanz, zur Sicherstellung besonderer Vorsichtsmaßnahmen für das medizinische Personal, steht man bei uns aus juristischen Gründen eher ablehnend gegenüber.

Methodik

Tabelle 1 zeigt eine Aufstellung der verfügbaren oder in Entwicklung befindlichen Methoden zum vereinfachten bzw. zeitsparenden Nachweis von HIV-Antikörpern. Die von Du-Pont und Eastman-Kodak entwickelten Verfahren können im weitesten Sinne als sogenannte Pillbox-Methoden bezeichnet werden. Der Serodia-Test der Firma Fujirebio ist ein Agglutinations-Test mit Gelatinepartikeln, die mit GP 41 beschichtet sind.

TABELLE 1

Methoden zum vereinfachten und/oder zeitsparenden Nachweis von HIV-Antikörpern

Hersteller	Produkt	Prinzip	Zeitaufwand
Du-Pont	HIV-Check	"Pill-box"	< 10'
Eastman-Kodak	N. N.	"Pill-box"	< 10'
Fujirebio	Serodia	Agglutination von Gelatine-Partikeln	120' (30')
Cambridge Bioscience	Rekombigen [®] LA-HIV	Agglutination von Latex-Partikeln	15'
Agen Biomedical	N. N.	Passive Hämagglutination	2'
Salck	Quick-PHT-HIV	Passive Hämagglutination	45'
Abbott	N. N.	Passive Hämagglutination	?
Immucor	N. N.	Solid-Phase-Test	15'
BAG	Inspektor-HIV	Immunfluoreszenz	20'

Der Recombigen-HIV-Test der Firma Cambridge Bioscience verwendet dagegen Latex-Partikel. Die Tests von Agen Biomedical, Salck und Abbott bedienen sich der passiven Hämagglutination. Der Test von Agen ist der einzige, der die Verwendung von Vollblut zuläßt. Das Reagenz besteht aus einem blockierenden Antikörper gegen menschliche Erythrozyten, an den eine Polypeptidsequenz aus GP 41 gekoppelt ist (1). Bei einer positiven Reaktion kommt es innerhalb von 2 Minuten zu einer sichtbaren Agglutination. Beim Quick-PHT-HIV-Test der Firma Salck ist das Envelope-Protein direkt an die Erythrozytenoberfläche gekoppelt und bei dem Abbott-Test sind es GP 41 und P 24. Der Test der Firma Immucor bedient sich der Solid-Phase-Technik. Auf Mikrotiterplatten ist Virus-Antigen aufgebracht. In den Proben vorhandene Antikörper werden gebunden und nach Auswaschen ungebundener Proteine werden mit Antihämoglobulin beschichtete Erythrozyten zugegeben, die je nach Reaktionsausfall ein charakteristisches Muster ergeben. Und als letzter der Inspector-HIV-Test der Firma BAG, ein Schnelltest auf der Basis der indirekten Immunfluoreszenz.

Wir konnten nur den HIV-Check der Firma Du-Pont, den Serodia-Test von Fujirebio und den HIV-Inspector-Test der Firma BAG einer vergleichenden Prüfung unterziehen. Die übrigen Tests konnten uns nicht zur Verfügung gestellt werden. Zugelassen sind lediglich der Serodia-Test und der Inspector-HIV-Test, beim HIV-Check wird das Zulassungsverfahren noch einige Zeit in Anspruch nehmen. Für die übrigen Tests ist offensichtlich eine Zulassung in Europa gar nicht vorgesehen. Bei den Tests der Firmen Abbott und Immucor kann dies nach Angaben des Herstellers als sicher gelten.

Erfahrungen mit der Durchführung der Schnelltests

HIV-Check Testprinzip

Eine poröse Nitrozellulosemembran im Zentrum dieses Plastikscheibchens ist mit einem rekombinanten Polypeptid mit 285 Aminosäuren aus dem HIV-Envelope-Protein

beschichtet. Im Wechsel werden zunächst drei Tropfen einer Pufferlösung, darauffolgend zwei Tropfen der Probe und schließlich nochmals zwei Tropfen der Pufferlösung aufgetragen und mit zwei Tropfen einer Waschlösung nachgespült. Darauf werden zwei Tropfen eines Protein-A-Goldreagenz und abschließend drei Tropfen der Waschlösung zugegeben. Bei einer positiven Reaktion kommt es durch eine Anfärbung der gebundenen Antikörper zu einer Rotfärbung. Auf unserem Testpanel sind eine Reihe von positiven und negativen Reaktionen nebst positiven und negativen Kontrollen abgebildet. Der charakteristische kreisrunde Fleck ist trotz unterschiedlicher Hintergrundanfärbung zu erkennen. Interpretationsschwierigkeiten können sich ergeben, wenn bei älteren oder mehrfach gefrorenen Seren Trübungen und Ausflockungen entstehen. Diese verhindern das schnelle Einziehen der Probe in die Reaktionsmembran. Die Testdauer beträgt daher manchmal 10 Minuten. Durch Zentrifugation oder eine Verdünnung des Serums kann dieses Problem behoben werden. Falsch positive oder falsch negative Ergebnisse wurden danach nicht mehr beobachtet.

Serodia-Testprinzip

Gelatine-Partikel sind mit P 24 beschichtet. In der Standardausführung ist diese Methode durchaus kein Schnelltest, da die lange Inkubationszeit nach Zugabe des Probandenserums einen höheren Zeitaufwand als ein ELISA-Test bedingt. Der Vorteil liegt in der einfachen Handhabung und dem geringen technischen Aufwand. Der Test ist jedoch nur für Serienuntersuchungen geeignet. Für Einzelbestimmungen, wie sie für Schnelltests in der Regel erforderlich sind, ist der Test nicht geeignet. In dem von uns geprüften Verfahren mit verkürzter Inkubationszeit wurden falsch negative Resultate nicht beobachtet. Die Inkubationszeiten reichen jedoch für eine einwandfreie Ablesung nicht immer aus. Den Angaben des Herstellers über eine Sensitivität von 99,9% und einer Spezifität von 98,9% muß mit dem Vorbehalt begegnet werden, daß von den Untersuchern eine entsprechende Erfahrung vorausgesetzt werden muß, wie sie in Laboratorien nur üblich ist, wo Hämagglutinationsverfahren zum Routineprogramm gehören. In einem Bericht eines HIV-Referenzlaboratoriums (2) wird über eine sehr hohe Variabilität der Ablesungsergebnisse selbst unter erfahrenen Laborassistenten berichtet.

Die gleiche Einschränkung gilt auch für die indirekte Immunfluoreszenztechnik, die als anerkanntes Bestätigungsverfahren unverzichtbarer Bestandteil der HIV-Diagnostik geworden ist. Eine Verkürzung des Verfahrens mit Inkubationszeiten von insgesamt nur 20 Minuten ist durchaus möglich, ohne daß falsch negative Ergebnisse registriert werden konnten. Die 12 eingesetzten positiven Seren ergaben selbst noch in Verdünnungen von 1 : 10 bis 1 : 100 eindeutig positive Ergebnisse. Unspezifisch positive Resultate lassen sich unter Beachtung der Fluoreszenzmuster und der nicht infizierten Kontrollzellen eindeutig erkennen. Doch neben einer entsprechenden Erfahrung, die nur dort vorausgesetzt werden kann, wo diese und andere Nachweise mit Hilfe der Immunfluoreszenz routinemäßig durchgeführt werden, sind apparative Investitionen erforderlich, die etwa denen für eine mechanisierte Durchführung der Enzymimmunoassays entsprechen.

Vergleichende Untersuchungen

In einer vergleichenden Studie haben wir 33 Seren aus der Routinediagnostik und aus einer AIDS-Beratungsstelle geprüft (Tab. 2). Die positiven Seren stammen von chronisch HIV-infizierten Personen. Neben den eindeutig seronegativen und seropositiven Proben wurden 11 Seren von Dialyse- und Tumorpatienten getestet, die grenzwertige oder unspezifisch positive Ergebnisse zeigten. Alle Test wurden im Westernblot überprüft. Sie ergaben in der ersten Gruppe ein eindeutig negatives Ergebnis, in der zweiten Gruppe ein bis zwei Banden im Bereich von P 24, GP 41, P 51, P 65 und GP 160. In keinem Fall allerdings waren Banden in P 24 und GP 41 gleichzeitig vorhanden. In der

TABELLE 2

Überprüfung verschiedener Seren mittels Enzymimmunoassays und dreier Schnelltestverfahren sowie des Westernblot Tests zum Nachweis von HIV 1-Antikörpern

Western Blot n = 33	Elavia Pasteur	EIA Du-Pont	Recomb- nant EIA Abbott	HAT Mast	HIV Inspector BAG IFT	HIV Check Du-Pont
negativ n = 10	0/10	0/10	3/10 ³⁾	2/10	3/10 ²⁾	0/10
1 - 2 Banden ¹⁾ fraglich positiv n = 11	5/11	4/11	4/11	5/11	4/11 ²⁾	0/11
≥ 3 Banden positiv n = 12	12/12	12/12	12/12	12/12	12/12	12/12

¹⁾ Banden im Bereich P 24 und GP 41 nicht gleichzeitig nachweisbar.

²⁾ Vergleich mit den nicht infizierten Kontrollzellen ergab eindeutig Unspezifität.

³⁾ Grenzwertnähe.

Gruppe der Positiven waren die Ergebnisse eindeutig positiv. Es waren in einem Fall drei Banden, in den übrigen sechs bis neun Banden erkennbar. Auf eine Beschreibung der einzelnen Enzymimmunoassays und des Westernblot kann hier verzichtet werden.

Diskussion

Die Notwendigkeit zur Durchführung eines Schnelltests ist nach unserer Ansicht unabhängig von der Seroprävalenz. Den ins Auge stechenden Vorteilen eines schnellen und vereinfachten Verfahrens stehen eine Reihe von Nachteilen gegenüber. Geringere Sensitivität und Spezifität stellen bei einigen Tests die Brauchbarkeit in Frage. Dies gilt nach Literaturberichten (3, 4) vor allem für die Agglutinationsmethode. Wir konnten dies beim Serodia-Test in der Schnelltestversion ebenfalls beobachten. Bei allen Methoden, die auf der Agglutination menschlicher Erythrozyten beruhen, ist mit unspezifischen Reaktionsausfällen zu rechnen, wie sie aus der Immunhämatologie gut bekannt sind.

Bei erhöhter Vorsicht in der visuellen Beurteilung nicht eindeutiger Resultate werden die Kosten für die Bestätigungstests deutlich höher liegen, als bei den Standardverfahren. Aber auch ohne eine Zunahme der Zahl von Bestätigungstests werden die Gesamtkosten beträchtlich höher sein und zwar aus folgenden Gründen:

1. Im Vergleich zum Screening-Verfahren mittels Enzymimmunoassays würden die Mehrkosten des HIV-Check beispielsweise bereits bei 10.000 Tests pro Jahr die Beschaffungskosten für eine apparative Einrichtung zur Durchführung mechanisierter Enzymimmunoassays übersteigen.

2. Die Schnelltests binden ungleich stärker das technische Personal, so daß wesentlich mehr Arbeitskräfte benötigt werden.

3. Verlangt die visuelle Beurteilung im Gegensatz zur apparativen Messung besser geschultes Personal.

Es darf daher bezweifelt werden, ob diese Tests tatsächlich eine Alternative in den Entwicklungsländern darstellen (5).

Zusammenfassung

Es wird eine Übersicht über in Entwicklung befindliche und bereits zugelassene Schnelltests zum Nachweis von HIV-Antikörpern gegeben. Drei Tests mit den Produktnamen HIV-Check, Serodia-Test und Inspector-HIV-IF wurden geprüft und mit den Ergebnissen von Standardverfahren verglichen. Dem Einsatz dieser Tests muß mit gewissen Vorbehalten begegnet werden.

Schlüsselwörter

HIV-Schnelltests

Summary

Applications of rapid and simplified methods in diagnosis of HIV-infections: aspects for tropical medicine

A review of rapid and simplified tests for the detection of HIV-antibodies which are under development or already licensed is presented. Three tests with the trade names "HIV-Check", "Serodia" and "Inspector-HIV-IF" were evaluated and compared with the results of standard methods. Applications of these tests must be considered with certain reservation.

Key words

Rapid HIV-Tests

Literatur

1. KEMP, B. E. et al. (1988):
Autologous Red Cell Agglutination Assay for HIV Antibodies: Simplified Test with Whole Blood.
Science Vol. 241, 1352 - 1354.
2. CROFT, N. J. et al. (1987):
Particle Agglutination Assay for Anti-HIV.
Lancet ii, 797 - 798.
3. KABEYA, C. M., SPIELBERG, F., KUFUANI, N. K., RYDER, R., HEYWARD, W., QUINN, T. (1988):
Comparison of Rapid HIV Antibody Screening Assays, Mama Yemo Hosp., Kinshasa, Zaire.
Abstract 5595 (Book 2), p. 262,
IV International Conference on AIDS, Stockholm, Sweden 1988.
4. VAN DE PERRE, P. et al. (1988):
Comparison of Six Serological Assays for Human Immunodeficiency Virus Antibody Detection in Developing Countries.
J. Clin. Microbiology, Vo. 26, No. 3, 552 - 556.
5. ANONYMUS (1987):
AIDS in Africa.
Lancet ii, 192 - 194.

KORRESPONDENZADRESSE:

Prof. Dr. C. Maurer
Institut für Laboratoriumsmedizin und Bluttransfusionsdienst
des Städtischen Krankenhauses Heilbronn

Jägerhausstraße 26
D-7100 Heilbronn · Bundesrepublik Deutschland

ZOBODAT - 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: 1989

Band/Volume: [11](#)

Autor(en)/Author(s): Maurer C., Scheiermann N., Gesemann Michael

Artikel/Article: [Einsatz von Schnelltests zur HIV-Diagnostik: Tropenmedizinische Aspekte. 305-309](#)