

Lothar Thomas
Labor und Diagnose

Indikation und Bewertung von Laborbefunden
für die medizinische Diagnostik

6. Auflage, vom 1. März 2005

43.35.2 Labordiagnostik

Untersuchung auf HIV-Antikörper

ELISA: Er ist der wichtigste Screening-Assay auf Antikörper im Blutserum bzw. -plasma. Zumeist wird gentechnologisch hergestelltes Antigen aus verschiedenen Virusstrukturkomponenten verwendet. Die Antikörperbildung wird 3–4 Wochen post infectionem fassbar und persistiert, lebenslang stimuliert durch die persistente Virusinfektion, auch wenn diese für Jahre in Nischenzellen abgedrängt ist. Die Ig-Klassen-differenzierte Antikörpertestung hat sich nicht durchgesetzt, da dem IgM- oder IgA-Nachweis, auch in der Perinatalmedizin, keine besondere Rolle zukommt. Die diagnostische Aussage nach der Säuglingszeit lautet: HIV-Infektionsträger/in; in der Säuglingszeit müssen die diaplazentar übertragenen Antikörper einer HIV-seropositiven Mutter bedacht werden.

Im Hinblick auf kreuzreagierende Antikörper anderer Herkunft als der HIV-Infektion soll jedes positive Ergebnis eines Antikörper-Screening-Tests durch eine alternative Methode überprüft werden. Die nachfolgend aufgeführten Methoden haben sich bewährt.

Immunoblot (Western Blot): Alle Strukturproteine des HIV werden elektrophoretisch aufgetrennt und auf einen Reaktionsträger, meist einen Nitrozellulose- oder Nylon-Streifen, aufgebracht (Abb. 43-15). Der weitere Testablauf entspricht dem ELISA mit definierten Einzelantigenen. Eine Mindestanzahl von Antigenen, die ein positives Antikörperbindungssignal zeigen (Banden), schließt eine unspezifische Kreuzreaktion aus.

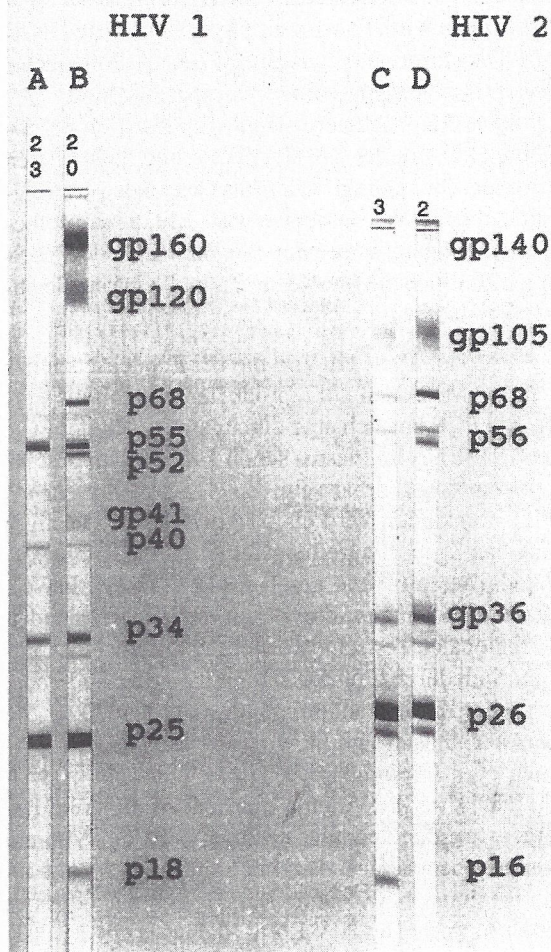


Abbildung 43-15 HIV-1- und HIV-2-Immunoblots. Der Blotstreifen A zeigt starke HIV-1-Reaktionen, jedoch ohne solche der Glykoproteinbanden gp41, gp120 und gp160 (kein spezifischer Antikörpernachweis). Der Streifen B zeigt einen typischen positiven HIV-1-Blot. Auf C sind die HIV-2-Reaktionen dargestellt, die mit demselben Serum erzielt wurden wie auf Streifen A, d. h. es liegen auf dem HIV-1-Blot A starke Kreuzreaktivitäten vor. Der Blot D zeigt einen positiven HIV-2-Western-Blot.

Die Bewertungskriterien sind aus der Tab. 43-20 zu entnehmen.

Spezielle Anwendungen der Einzelantigen-aufgeschlüsselten Antikörperbestimmung sind Untersuchungen von Liquorproben im Vergleich zum Serum (Plasma). Ist im Liquor eine zusätzlich reaktive Bande nachweisbar, spricht dies für eine intrathekale Antikörperproduktion im Gefolge einer zusätzlichen ZNS-Infektion mit HIV. Eine ähnliche Analyse kann versucht werden, wenn es darum geht, die Antikörper eines Neugeborenen gegenüber diaplazentar übertragenen Immunglobulin G zu differenzieren. Da die meisten Vertikalinfektionen erst gegen Ende der Schwangerschaft ablaufen, findet man meist keine IgM- oder IgA-Antikörper. Gewöhnlich muss eine Vertikalinfektion, für die ein Risiko bei HIV-seropositiver Schwangerschaft 15–20%, aber unter Therapie weniger als 1% beträgt, durch Virusanzucht oder Genomnachweis diagnostiziert werden, da nicht abgewartet kann, bis nach 1–2 Jahren die maternalen Antikörper definitiv aus dem kindlichen Blutkreislauf eliminiert sind.

Radioimmunpräzipitationsassay: Es liegt ein dem Immunblot ähnliches Testprinzip zu Grunde. Primär wer-

den native, radioaktiv markierte HIV-Strukturkomponenten aus einem infizierten Zellextrakt mit Serumantikörpern inkubiert. Nach Präzipitation der Immunkomplexe werden diese dissoziiert, elektrophoretisch aufgetrennt und autoradiographisch dargestellt.

Indirekte Immunfluoreszenz: Auf Grund charakteristischer Fluoreszenzmuster von an infizierte Zellen gebundenen Antikörpern kann durch den Untersucher eine sehr spezifische Ablesung erfolgen. Bei nicht zu großen Fallzahlen ist der IFT auch als Primärscreening einsetzbar.

Oberste Regel der HIV-Serologie ist, durch Gegenkontrolle(n) mit getrennt abgenommenen Blutproben Irrtümer im Arbeitsablauf von der Blutentnahme über die Testung bis zur Befundübermittlung auszuschließen. Daher sollte die Erstmitteilung über einen positiven Antikörpertest von zwei in Bestätigungsverfahren überprüften Untersuchungen abhängig gemacht werden. Die Methoden sind kommerziell erhältlich. Der Produzent benötigt dafür eine Verkaufszulassung durch europäische "Benannte Stellen".

Untersuchungen auf HIV-Antigen

Die HIV-infizierten Zellen setzen Viren und Virusstrukturkomponenten frei. Die Hauptkomponente der inneren Viruskapsel (Core) ist ein Protein mit einem MG von 24 kD (p24). Im Stadium der akuten HIV-Infektion und später im Vollbild von AIDS werden so viele virale (Teil)partikel freigesetzt, dass das p24-Antigen in einem ELISA nachweisbar wird. Durch Immunadsorption wird dadurch oft der Titer der z. B. im Immunoblot messbaren anti-p24-Antikörper herabgesetzt. Mit Hilfe einer Säure- oder Laugendissoziation kann man das p24-Antigen aus Immunkomplexen freisetzen und daher noch sensitiver im Serum oder Plasma nachweisen.

Tabelle 43-20 Beurteilung von HIV-1-Western-Blot-Ergebnissen

Organisation	Kriterien für ein positives Western-Blot-Ergebnis
American Red Cross (ACR), Deutsches Institut für Normung (DIN)	Eine oder mehr Banden aus folgenden drei Gruppen: p18, p24, p55 (gag); gp41, gp120, gp160 (env); p31, p51, p65 (env)
Association of State and Territorial Public Health Laboratory Directors (ASTPHLD), Department of Defense (DOD)	Zwei der folgenden Banden: p24 oder p31 und gp41 oder gp120/gp160
Consortium for Retrovirus Serology Standardization (CRSS)	Zwei oder mehr Banden: p24 oder p31 und gp41 oder gp120/gp160
Food and Drug Administration (FDA)	p24, p31 und gp41 oder gp120/gp160
National Institutes of Health (NIH)	p24 und gp41
World Health Organization (WHO)	Mindestens zwei Envelope-Banden (gp160, gp120, gp41)