Vergleich von fünf kombinierten anti-HIV-1/2-ELISA mit zwei verschiedenen Serokonversionspanels

Comparison of five anti-HIV-1/2-ELISA using two different Seroconversion Panels

K. Koerner, Dagmar Kilian

Blutspendezentrale Ulm des DRK-Blutspendedienstes Baden-Württemberg

Zusammenfassung:

Die diagnostische Sensitivität der z. Z. in der Bundesrepublik Deutschland vom Paul-Ehrlich-Institut zum Verkauf zugelassenen Tests zur kombinierten Testung auf anti-HIV-1/2 in Serum oder Plasma wurde mit zwei anti-HIV-1-Serokonversionspanels von Plasmapheresespendern untersucht. Die Tests unterscheiden sich in der Erkennung der Serokonversion bis zu 21 Tagen in diesen untersuchten Serokonversionspanels.

Schlüsselwörter:

anti-HIV-1/2-ELISA – Sensitivität – Serokonversion

Summary:

The sensitivity of the five Paul-Ehrlich-Institut-licensed anti-HIV-1/2-ELISA for screening of serum or blood plasma in the Federal Republik of Germany was evaluated by using two seroconversion panels of anti HIV-1. The combined anti-HIV-1/2-ELISA tests show differences up to 21 days in the sensitivity to detect anti-HIV-1 antibodies.

Keywords:

anti-HIV-1/2-ELISA – sensitivity – seroconversion

Einleitung

Seit der Einführung kommerzieller anti-HIV-1-ELISA im Jahre 1985 zum Screening aller Blutspender wurden die verschiedenen Testverfahren bezugnehmend auf die diagnostische Sensitivität und Spezifität wesentlich verbessert (1, 2). Mit dem Auftreten von HIV-2-Infektionen auch in der Bundesrepublik Deutschland wurde im Februar 1989 von der Regierung in Oberbayern gefordert, daß zu den bisherigen Maßnahmen zur Vermeidung der Übertragung von HIV-2 durch Blut- und Blutbestandteilkonserven auch ein anti-HIV-2-Test mit einzubeziehen ist. Die Einführung des Tests auf HIV-2-Antikörper anlässlich jeder Blutspende wird nach bisher bekannt gewordenem Stufenplanverfahren vom Bundesgesundheitsamt bis zum 1. Januar 1990 zur Auflage gemacht. Die Forderung für einen kombinierten Test anti-HIV-1 und anti-HIV-2 war, daß die diagnostische Sensitivität und Spezifität nicht schlechter als bei den bisherigen anti-HIV-1-Tests sein sollte (3). Fünf verschiedene, kombinierte anti-HIV-1/2-ELISA wurden bisher vom Paul-Ehrlich-Institut zur kombinierten Testung von Serum oder Plasma zugelassen. Die Seren zweier verschiedener Serokonversionspanels haben wir auf anti-HIV-1 mit diesen Tests untersucht.

Material und Methoden

Alle Tests wurden nach den Angaben der Hersteller durchgeführt und die testspezifischen Qualitätskontrollen beachtet. Alle Seren wurden in zwei unabhängigen Testläufen doppelt untersucht. Als Serokonversionspanel wurde Panel A mit 9 Proben und Panel C mit 18 Proben

der Fa. Boston Biomedica, Inc., USA, verwendet. Die Proben wurden tiefgefroren aus den USA angeliefert; jedes Panel besteht aus einer Serie von Plasmaproben eines Probanden. Von diesem anti-HIV-1-positiven Probanden standen über einen längeren Zeitraum vor, während und nach der Serokonversion Plasmaproben zur Verfügung.

Folgende Tests wurden untersucht:

(a) Abbott Recombinant HIV-1/2-EIA

Ch.-Nr. 31 767

(HIV-1: CORE u. ENV-Antigene; HIV-2: ENV-Antigen) rekombinante Antigene

(b) Behring Enzygnost-Anti-HIV-1+2

Ch.-Nr. 20 243

(HIV-1: 2 × gp 41, 1 × gp 120; HIV-2: 1 × gp 36) Peptide

(c) Biochrom KG HIV-1/2-ELISA

Ch.-Nr. 012 589

(HIV-1: gp 41, gp 120; HIV-2: gp 36) Peptide

(d) Pasteur Diagnostika Rapid ELAVIA MIXT

Ch.-Nr. 9C 412 Y

(HIV-1, HIV-2: gereinigtes, inaktiviertes Virusantigen)

(e) Wellcome Wellcozyme HIV 1+2

Ch.-Nr. K 8000 10

(HIV-1: rekombinantes ENV und CORE-Protein; HIV-2: ENV-Peptid)

Die Bewertung wurde nach folgenden Kriterien durchgeführt:

negativ: keine virusspezifische Proteinbande

positiv: gp 41 alleine, p 24 und gp 120, oder gp 41 und eine andere virusspezifische Bande.

fraglich: p24 alleine, eine andere virusspezifische Bande oder die Kombination mehrerer Banden in allen anderen Bereichen.

Ergebnisse und Diskussion

In den Tabellen 1 und 2 sind die Testergebnisse aufgelistet. Im Testpanel A reagierten die Tests a, b und e zum gleichen Zeitpunkt positiv, während die Tests c und d noch keine Reaktion zeigten. Erst bei der darauffolgenden Probenahme, die 3 Wochen danach erfolgte, konnte auch mit Test c und d eine positive Reaktion nachgewiesen werden. Im Testpanel C zeigen die Tests a und b dieselbe diagnostische Sensitivität, während Test d und e zwei bzw. sieben Tage später einen positiven Befund auf.

Tab. 1: Anti-HIV-1-Antikörper bei Serokonversion. Serokonversionspanel A: Boston Biomedica, Inc., USA. Anti-HIV-1/2-ELISA, vom Paul-Ehrlich-Institut zugelassen.

Probe	Spendedatum	Anti-HIV-1/2-ELISA (s/co)*					Anti-HIV-1 Western blot Dupont
		a	b	c	d	e	
1A	040581	0,54(-)	0,18(-)	0,37(-)	0,29(-)	0,36(-)	+/-**
2A	080781	0,38(-)	0,07(-)	0,61(-)	0,48(-)	0,34(-)	+/-**
3A	290781	3,42(+)	4,36(+)	0,38(-)	0,68(-)	4,50(+)	+
4A	190881	11,6 (+)	8,95(+)	2,44(+)	5,52(+)	5,30(+)	+
5A	020981	13,9 (+)	8,95(+)	8,05(+)	5,95(+)	6,40(+)	+
6A	090981	11,1 (+)	8,95(+)	8,88(+)	5,95(+)	6,20(+)	n. d.
7A	160981	15,6 (+)	8,95(+)	8,88(+)	5,95(+)	7,40(+)	n. d.
8A	230981	15,6 (+)	8,95(+)	8,88(+)	5,95(+)	7,13(+)	n. d.
9A	141081	15,6 (+)	8,95(+)	8,88(+)	5,95(+)	7,53(+)	n. d.

* s/co = Quotient aus Extinktion der Probe zu cut off.

Beurteilung:

Quotient ≥ 1.0 = anti-HIV1 positiv (+)

$\geq 0.9 - \leq 1.0$ = anti-HIV1 fraglich (+/-), Grauzone

≤ 0.9 = anti-HIV1 negativ.

Die Werte sind Mittelwerte aus zwei getrennten Testansätzen.

** nur p 24, n. d. = nicht durchgeführt.

Tab. 2: Anti-HIV-1-Antikörper bei Serokonversion. Serokonversionspanel C: Boston Biomedica, Inc., USA. Anti-HIV-1/2-ELISA, vom Paul-Ehrlich-Institut zugelassen.

Probe	Spendedatum	Anti-HIV-1/2-ELISA (s/co)*					Anti-HIV-1 Western blot Dupont
		a	b	c	d	e	
1C	160785	0,48(-)	0,06(-)	0,13(-)	0,22(-)	0,30(-)	-
2C	230785	0,47(-)	0,11(-)	0,14(-)	0,16(-)	0,42(-)	-
3C	250785	0,86(-)	0,84(-)	0,13(-)	0,36(-)	0,58(-)	+/-**
4C	300785	2,32(+)	6,71(+)	0,34(-)	0,63(-)	0,61(-)	+
5C	010885	2,11(+)	8,79(+)	0,63(-)	1,00(+/-)	0,75(-)	+
6C	060885	4,18(+)	8,95(+)	0,93(+/-)	2,02(+)	1,63(+)	n. d.
7C	080885	4,70(+)	8,95(+)	0,97(+/-)	2,35(+)	2,41(+)	n. d.
8C	130885	6,44(+)	8,95(+)	0,95(+/-)	3,72(+)	3,16(+)	n. d.
9C	150885	7,56(+)	8,95(+)	1,36(+)	3,79(+)	4,16(+)	n. d.
10C	200885	9,50(+)	8,95(+)	2,53(+)	5,95(+)	5,84(+)	n. d.
11C	270885	13,40(+)	8,95(+)	4,20(+)	5,95(+)	6,43(+)	n. d.
12C	290885	10,10(+)	8,95(+)	3,50(+)	5,95(+)	6,38(+)	n. d.
13C	100985	13,80(+)	8,95(+)	4,95(+)	5,95(+)	6,68(+)	n. d.
14C	120985	8,45(+)	8,95(+)	4,68(+)	5,95(+)	6,58(+)	n. d.
15C	170985	14,60(+)	8,95(+)	5,67(+)	5,95(+)	6,58(+)	n. d.
16C	190985	12,80(+)	8,95(+)	5,48(+)	5,95(+)	6,93(+)	n. d.
17C	240985	13,90(+)	8,95(+)	4,75(+)	5,95(+)	7,48(+)	n. d.
18C	260985	15,60(+)	8,95(+)	3,90(+)	5,95(+)	7,53(+)	n. d.

* s/co = Quotient aus Extinktion der Probe zu cut off.

Beurteilung:

Quotient ≥ 1.0 = anti-HIV1 positiv (+)

$\geq 0.9 - \leq 1.0$ = anti-HIV1 fraglich (+/-), Grauzone

≤ 0.9 = anti-HIV1 negativ.

Die Werte sind Mittelwerte aus zwei getrennten Testansätzen.

** nur p 24, n. d. = nicht durchgeführt.

weisen. Die Ergebnisse bei Test c liegen bis zu 14 Tagen später noch im Grauzonenbereich (Tabelle 2), während alle anderen ELISA eindeutige positive Ergebnisse aufweisen. Der anti-HIV-1 Western blot zeigte bei beiden Panels jeweils eine oder zwei Serumpollen früher ein fragliches Ergebnis mit einer p 24-Bande des core-Proteins, bevor ein anti-HIV-1/2-ELISA positiv war. Der anti-HIV-1 Western blot zeigt somit höhere diagnostische Sensitivität als die kombinierten anti-HIV-1/2-ELISA. Die diagnostische Sensitivität von anti-HIV-2 kann aufgrund dieser Untersuchung nicht beurteilt werden.

In einer früheren (Mitte 1987) vergleichenden Studie wurde ebenfalls die diagnostische Sensitivität der Serokonversionspanels A und C mit verschiedenen anti-HIV-1-ELISA untersucht. Zwischen den acht anti-HIV-1-Tests, die von der Food and Drug Administration (FDA) zugelassen waren, wurden ebenfalls unterschiedliche Ergebnisse festgestellt (4).

In anderen Studien, die verschiedene kommerzielle Tests zum Nachweis von anti-HIV-1 verglichen, konnten auch Unterschiede in der diagnostischen Sensitivität und Spezifität festgestellt werden (1, 5), wobei für die Bestimmung der Sensitivität häufig Titrationsexperimente durchgeführt wurden (6, 7, 8).

Ein Ringversuch der Blutspendedienste und Laboratorien, bei dem die Sensitivität und Spezifität mit 13 kommerziellen ELISAs zum Nachweis von anti-HIV-1-Antikörpern bestimmt wurde, zeigte, daß die Tests sehr verläßlich sind mit einer durchschnittlichen diagnostischen Sensitivität und Spezifität von 99,5% (9). Jedoch wurden HIV-2-Antikörper-positive Seren mit den kommerziellen anti-HIV-1-ELISA mit unterschiedlicher Häufigkeit als positiv erkannt (9, 10). In kombinierten Tests zum Nachweis von anti-HIV-1 und 2 zeigte sich jedoch eine Empfindlichkeit von >99% für anti-HIV-2 (11, 12, 13). Die Tests zum Nachweis von anti-HIV-Antikörpern werden ständig verbessert. Es ist daher wichtig, die Qualität dieser Tests laufend zu vergleichen (9).

Schrifttum:

1. OLDHAM, L. J., MOULSDALE, H. J., MORTIMER, P. P., TEDDER, R. S., MORGAN-CAPNER, P.: How sensitive are the commercial assays for anti-HTLVIII/LAV? *J. Med. Virology* 21, 75-79 (1987).
2. HESS, G., ROSSOL, S., WEBER, K. C., MEYER ZUM BÜSCHENFELDE, K. H.: Diagnose der HIV-1-Infektion: Vergleich von fünf kommerziellen Enzymimmunoassays zum Nachweis von anti-HIV-1. *GIT Labor-Medizin* 6, 361 (1988).
3. HABERMEHL, K.-O.: Neue Aspekte der Virusdiagnostik. 2. AIDS-Kongreß, S. 221, Berlin 1989.
4. SCHUMACHER, R. T., GARRETT, P. E., TEGTMEIER, G. E., THOMAS, D.: Comparative detection of anti-HIV in early HIV seroconversion. *J. Clin. Immunol.* 11, 130 (1988).
5. GÜRTLER, L. G., EBERLE, J., LORBER, B., DEINHARDT, F.: Sensitivity and specificity of commercial ELISA kits for screening anti-LAV/HTLVIII. *J. Virol. Methods* 15, 11-23 (1987).
6. STUTE, R.: Comparison in sensitivity of 10 HIV antibody detection tests by serial dilutions of Western blot-confirmed samples. *J. Virol. Methods* 20, 269-273 (1988).
7. KÜHN, P.: HTLVIII/LAV-Antikörper-Tests: Ringversuch der Deutschen Blutspendedienste. *AIDS-Forschung (AIFO)* 10, 525-535 (1986).
8. ABB, J.: Determination of antibodies against LAV/HTLVIII: comparative evaluation of four different commercial test kits. *AIDS research* 2, 93-97 (1986).
9. ENZENSBERGER, R., HÖHN, S., KAUK, U., DOERR, H. W.: Sensitivity and specificity of HIV antibody tests: evaluation of a proficiency test performed by German laboratories. *AIDS-Forschung* 11, 622-628 (1988).
10. DENIS, F., LEONARD, G., SANGARE, A., GERSHY-DAMET, G., REY, J. L., SORO, B., SCHMIDT, D., MOUNIER, M., VERDIER, M., BAILLON, A., BARIN, F.: Comparison of 10 enzyme immunoassays for the detection of antibody to human immunodeficiency virus Type 2 in West African Sera. *J. of Clin. Microbiol.* 26, 1000-1004 (1988).
11. KRUPKA, U., BURST, S.: Combined screening anti-HIV-1 and anti-HIV-2 with a 3rd generation assay. 2. AIDS-Kongreß, S. 367, Berlin 1989.
12. AYRES, L., AVILEZ, F., DEINHARDT, F., GÜRTLER, L., DENIS, F., RANGER, S., GROB, P., JOLLER-JEMELKA, H., SEIDL, S., SONDAG, D., ANDRE, A., HAMPL, H., SCHOEN, R., TROONEN, H.: Multizentrische Evaluierung eines neuen EIA für die gleichzeitige Bestimmung von HIV-1- und/oder HIV-2-Antikörpern. 2. AIDS-Kongreß, S. 368, Berlin 1989.
13. SEIDL, S., FLACKE, H., SAARVEDRA, C.: Ein Screeningtest für die Erfassung von HIV-1- und HIV-2-Antikörpern in Blutspendern. 2. AIDS-Kongreß, S. 371, Berlin 1989.

Anschrift der Verfasser:

Dr. Klaus Koerner
DRK-Blutspendezentrale Ulm
Helmholtzstraße 10
7900 Ulm

Dagmar Kilian
DRK-Blutspendezentrale Ulm
Helmholtzstraße 10
7900 Ulm

Pasteur DIAGNOSTIKA
Kallestad

Screening

**HIV 1 / HIV 2
2 VIREN
1 TEST**

**RAPID' ELAVIA®
MIXT**

ELISA zum gleichzeitigen
Nachweis von HIV-1- und
HIV-2-Antikörpern

Sicherheit mit Referenz
in der HIV-Diagnostik

ELAVIA® Ac-Ab-Ak I

ELAVIA® Ac-Ab-Ak II

Einzigartiges Testprinzip

Höchste Spezifität
mittels probenbe-
zogener Negativ-
kontrolle im ELISA.

PASTEUR
DIAGNOSTIKA GMBH
HABSBURGERSTR. 4
D-7800 FREIBURG
TEL. NR. (07 61) 5 10 09-0
FAX-NR. (07 61) 5 10 09-99