

# Die Serologie des HTLV-III-Virus und AIDS-Diagnostik

## Jüngste Eindrücke aus den USA

V. Reinicke

Head, Dept. of Internal Medicine, County Hospital St. Elisabeth, Kopenhagen

### Zusammenfassung:

*In den letzten Jahren hat die Infektion mit dem HTLV-III (LAV, ARV) Retrovirus als pathogenetische und möglicherweise ätiologische Ursache für die Entwicklung einer klinischen AIDS-Symptomatik viel Aufmerksamkeit erhalten. Während eines gerade beendeten Besuchs in US-Forschungslaboratorien konnten Informationen über die gegenwärtigen Anstrengungen zur Entwicklung serologischer Testsysteme zum Nachweis von HTLV-III Retrovirusinfektionen gesammelt werden. Die meisten Testsysteme zum Nachweis von HTLV-III-Antikörpern basieren derzeit auf einem Antigen, das aus HTLV-III infizierten Lymphozytenzelllinien gewonnen wird. Es sind jedoch Systeme in der Entwicklung, bei denen das virale Antigen mittels DNS-Rekombinanten-Technik gewonnen wird.*

*Diese Systeme sind hinsichtlich Sensibilität, Spezifität und Reproduzierbarkeit sehr vielversprechend.*

*Die klinische Bedeutung des HTLV-III-Antikörpernachweises, besonders bei Personen außerhalb der Risikogruppen (z. B. bei Blutspendern), bleibt abzuwarten.*

### Schlüsselwörter:

*AIDS – Retrovirus HTLV-III (LAV, ARV) – Serologische Tests – Klinische Bedeutung – DNS-Rekombinationstechnik*

### Summary:

*The pathogenetic and possibly etiological role of infection with retrovirus HTLV-III (LAV, ARV) in the development of the clinical Syndrome of Acquired Immuno Deficiency (AIDS) has received much attention during the last couple of years.*

*During a recent visit to American Research Laboratories information was obtained concerning present efforts to develop serological test systems for retrovirus HTLV-III infection. Most serological systems to detect antibodies against HTLV-III are presently based upon antigen sources obtained from continuously HTLV-III infected lines of lymphoid cells. However, systems based upon viral antigens obtained by recombinant DNA-techniques are under development. These systems seem promising concerning their degree of sensitivity, specificity and reproducibility.*

*The clinical significance of the use of serological antibody tests for HTLV-III infection, particularly among non-risk groups (for instance blood donors), has yet to be determined.*

### Keywords:

*AIDS – Retrovirus HTLV-III (LAV, ARV) – serological tests – clinical significance – recombinant DNA-technique*

## Einleitung

In vielen Laboratorien der USA wird gegenwärtig daran gearbeitet, die Möglichkeiten des HTLV-III-Antikörpernachweises zur AIDS-Diagnostik und Epidemiologie zu eruieren. Der Autor hat kürzlich eine Reise in die USA unternommen, um hierüber Informationen aus erster Hand zu erhalten. Dabei wurden die Abbott Research Laboratories in Chicago und die Chiron Cooperation in San Francisco besucht. Beide Laboratorien und ihre Lei-

ter, Dr. Richard Decker, Chicago, und Dr. Lacy Overby, San Francisco, sind der Europäischen Arbeitsgruppe Hepatitis durch jahrelange Zusammenarbeit und Beiträge zur Hepatitisforschung gut bekannt.

## AIDS – infektiöse Ätiologie?

Die klinischen Symptome der erworbenen Immundefizienz, dem sogenannten AIDS, haben den Klinikern für Jahre mehrere Rätsel aufgegeben, das öffentliche Gesundheitswesen verwirrt und die Bevölkerung – insbesondere die sogenannten Risikogruppen, unter diesen besonders die Homosexuellen – in Angst versetzt (8).

\* Vortrag auf der Tagung der Arbeitsgemeinschaft der Ärzte staatlicher und kommunaler Bluttransfusionsdienste e.V., 14.-16. 3. 1985 in Landshut

Die Annahme, daß es sich bei AIDS um eine Infektionskrankheit handelt, wurde durch die Entdeckung des LAV-Retrovirus bei AIDS-Patienten durch die französische Arbeitsgruppe in Paris und durch die Entdeckung des HTLV-III Retrovirus durch die amerikanische Arbeitsgruppe im Jahre 1984 gestützt (1, 3). Es muß jedoch betont werden, daß diese Hypothese noch nicht bewiesen ist (8). Als Arbeitshypothese ist sie jedoch akzeptabel, zumal sie zum gegenwärtigen Zeitpunkt als einzig existierende These über AIDS einen Ansatzpunkt für relevante Untersuchungen bietet.

## Die Serologie unter Verwendung von in Zellkultur vermehrtem HTLV-III (LAV, ARV) Retrovirusantigenen

Seit die Kultur der Retroviren HTLV-III und LAV in kontinuierlicher Gewebekulturlinien menschlicher Lymphozyten möglich ist, besteht auch die theoretische Möglichkeit zum Nachweis von Antikörpern gegen diese Viren mit Labormethoden (2, 10). Hierbei wurde der unübliche Weg beschritten, daß die amerikanische Regierung, repräsentiert durch die Federal Drug Administration (FDA), Lizenzen an bestimmte Firmen vergeben hat, die diesen wiederum das Recht gibt, Antikörperteste zu entwickeln. Fünf Firmen wurden hierzu von der FDA ausgewählt (Tab. 1). Diese Firmen mußten für ihre Lizenz zahlen und erhielten exakte Vorschriften in Bezug auf die vorläufige wissenschaftliche Testung der von ihnen entwickelten Untersuchungsmethoden.

Die Feldstudien wurden von der FDA koordiniert, die auch vergleichende Untersuchungen mit den Tests der verschiedenen Firmen durchführte. Mehr als notwendig wurde die wissenschaftliche Entwicklung eines Labortests durch politischen Druck und wirtschaftliche Überlegung beeinflusst. Da die Bedeutung des Retrovirus-Antikörpertestes bei Blutspendern heute noch unbekannt ist, bestand unter den Wissenschaftlern der verständliche Wunsch, vor der Testfreigabe zur allgemeinen Nutzung, mehr Erfahrung zu sammeln. Politischer Druck auf den amerikanischen Kongreß und seine Unterstützung durch einflußreiche Homosexuelle, haben zur Freigabe oder Lizenzierung des Testes zum Gebrauch in Blutbanken geführt. Dies geschah am Samstag, dem 02. März 1985. Lizenzen erhielten die Abbott Laboratories, Chicago, etwas später auch Electro-Nucleonics, New Jersey und Litton Bionetics Inc.

Damit verfügen wir über Tests zur Anwendung bei Blutspendern, von denen nur bekannt ist, daß bei etwa 80% der AIDS-Patienten Antikörper gegen das Retrovirus HTLV-III gefunden werden, wohingegen 20% der AIDS-Patienten negative Testergebnisse zeigen (4). Eine hohe Antikörperhäufigkeit findet sich auch bei promiskuellen Homosexuellen ohne AIDS, bei Drogenabhängigen und bei Hämophilen (4). Das Retrovirus wurde zwar von AIDS-Patienten mit und ohne nachweisbarer Antikörper isoliert, die grundlegende Beziehung zwischen nachweisbarem Antikörper und gleichzeitigem Vorhandensein des Virus ist aber derzeit unbekannt (3, 9). Dies trifft besonders für anscheinend gesunde Personen außerhalb der Risikogruppen, d.h. Blutspender, zu. Man kann durchaus annehmen, daß der Nachweis von Antikörpern einen Zustand der Immunität gegenüber einer zurückliegenden Retrovirusinfektion repräsentiert. Bei Anwendung dieser Testmethoden müssen ebenso falsch positive

Tab. 1: Firmen, die von der FDA zur Entwicklung von HTLV-III-Antikörper-Testen ausgewählt wurden

Abbott Laboratories, Chicago
Electro-Nucleonics, New Jersey
Litton Bionetics, Inc.
Biotech Laboratories E.I. du Pont de Nemours
Baxter Travenol, Inc. Genentech, Inc.

und falsch negative Antikörper-Teste berücksichtigt werden.

Die eben genannten wissenschaftlichen Tatsachen über die zur Verfügung stehenden Tests stehen im deutlichen Gegensatz zu vielen mutigen Aussagen aus dem politisch-wirtschaftlichen Bereich. Hierzu einige Zitate hochrangiger Mitarbeiter von Abbott aus dem wirtschaftlichen Bereich, die sie am 22. 2. 85 gegenüber der Chicago-Tribune gemacht haben:

So sagte David Jones, der Abbott Vicepräsident für corporate affairs, „Menschen bekommen in diesem Moment AIDS, wir können das stoppen“. Weiterhin zitiere ich David Thoms, den Präsidenten der Abbott Diagnostic Division, mit einer Bemerkung über die FDA. „Sie kämpfen mit der Frage, ob sie den Test auf den Markt lassen sollen oder die Ankündigung zurückhalten, bis andere ebenfalls bereit sind. Sie gehen den Weg mit Blei an den Füßen.“ Unwissenschaftliche Äußerungen wie diese werden zweifellos Hoffnungen und viele unnötige Enttäuschung in einem gefährlichen und sehr sensitiven wissenschaftlichen Bereich hervorrufen.

## Die Serologie unter Verwendung von durch DNS-Rekombinationstechnik produzierten HTLV-III (LAV, ARV) Retrovirusantigenen

Einem völlig unterschiedlichen Ansatz zum Problem der Retrovirus-Testung folgen Lacy Overby und Mitarb. in Californien. Overby besitzt nicht jenes an Regierungsverträge gebundene HTLV-III-Virus, sondern hat stattdessen

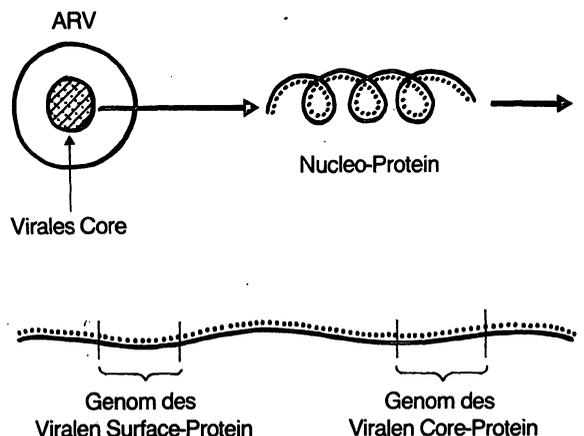


Abb. 1: Nucleinsäureanalyse eines ARV (AIDS associated Retrovirus) Retrovirus, das von einem Patienten in San Francisco isoliert wurde

eigene Virusisolationen von AIDS-Patienten in San Francisco durchgeführt (5). In dieser Stadt allein gibt es ca. 2000 AIDS-Patienten, von denen der Verfasser viele in einem erschreckenden klinischen Zustand gesehen hat. Bei dem Virusisolat aus San Francisco, genannt ARV (AIDS associated retrovirus), wurden die Nukleinsäuren des Virus gereinigt und die Aminosäuresequenzen analysiert (Abb.1). Weiterhin ist der genetische Code für ein surface- und ein core-Protein bekannt (Abb.2) (5).

Die wissenschaftliche Entwicklung ist so weit fortgeschritten, daß Overby und Mitarb. jetzt nicht nur in der Lage sind, die genetischen Virusdeterminanten zu isolieren, sondern größere Mengen dieser Determinanten des ARV-Virus zu synthetisieren (Abb.2) (6). Dieses ermöglicht die nächsten Schritte, z.B. den gentechnologischen Transfer der Determinanten in die Nukleinsäure einer kontinuierlich wachsenden Hefezelllinie.

Diese transferierte Zelllinie ermöglicht die Produktion von Oberflächen- oder core-Protein in großen Mengen und reiner Form (Abb.3). Die Antikörperteste von Overby werden auf der Verwendung dieses künstlich produzierten viralen Antigens beruhen. Voraussichtlich wird es sich um einen ELISA-Test handeln. Durch die Verwendung dieser Methodik hofft man, ein Testsystem mit hoher Sensitivität und Spezifität zu erhalten. Ein Test dieses Typs wird wahrscheinlich in kurzer Zeit verfügbar sein (6).

Overby und Mitarb. haben mehrere Isolationen von ARV-Retroviren von AIDS-Patienten durchgeführt und fanden, daß die Nukleinsäureconfiguration von Isolat zu Isolat etwas variiert. Das ARV scheint überdies etwas vom HTLV-III und LAV abzuweichen, die untereinander recht ähnlich strukturiert zu sein scheinen (7). Ob diese strukturellen Differenzen der Nukleinsäure eine grundlegende biologische Bedeutung haben, ist unbekannt. Nachweisbarkeit von Antikörpern scheinen diese Unterschiede keinen Einfluß zu haben, soweit man aus Kreuz-

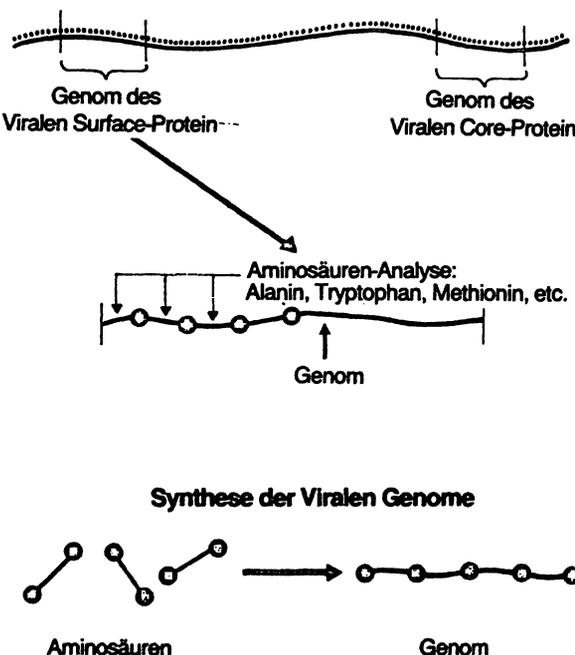


Abb.2: Isolation, Analyse und Synthese viraler Retrovirus-Genome

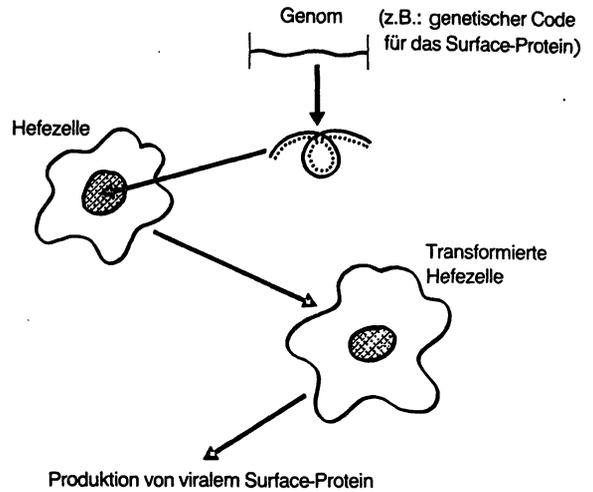


Abb.3: Die Technologie des genetischen Transfers unter Verwendung des ARV Retrovirus und kontinuierlich wachsender Hefezellen

experimenten mit ARV- und HTLV-III-Viren als Antigenquelle schließen kann.

Es wurde diskutiert, ob eine Virämie, die bei AIDS-Patienten oder möglicherweise auch bei anderen Individuen vorhanden sein könnte, mit den immunologischen Methoden nachweisbar wäre. Ein solches Vorgehen würde den Nachteil der mehr indirekten Methoden, wie den Nachweis von Antikörpern, eliminieren. Bei diesem diagnostischen Ansatz müßten aber sehr kleine Mengen von Retrovirus im Vergleich etwa zu den sehr großen Mengen von Oberflächenantigen bei Patienten mit HBs-Antigenämie nachgewiesen werden (Abb.4). Ob ein solches Vorgehen technisch möglich und in der Praxis nützlich wäre, ist z.Zt. unbekannt. Falls möglich, wird eine solche Prozedur zweifellos die Anwendung fortschrittlicher Techniken voraussetzen, wie die Produktion gereinigter individueller viraler Antigene, die durch die Gentechnik ermöglicht wird, gefolgt von der Herstellung separater Antikörper für die Verwendung solcher Tests.

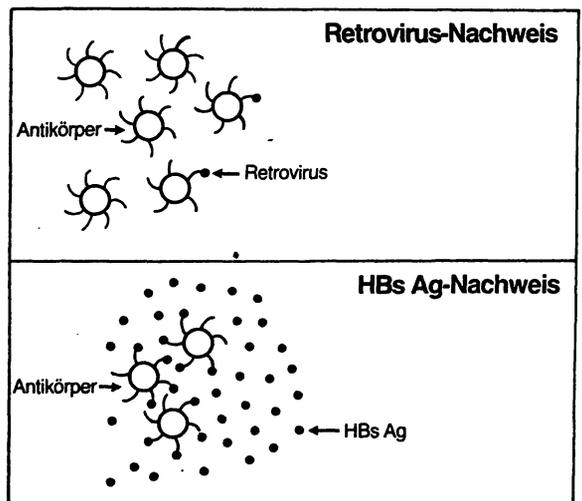


Abb.4: Ist der immunologische Nachweis einer Retrovirus-Virämie technisch machbar?

Die klinische  
und epidemiologische Bedeutung  
der Untersuchung auf HTLV-III  
(LAV,ARV) -Retrovirus-Antikörper

Abschließend muß betont werden, daß bis vor kurzem in den USA noch eine erhebliche Unsicherheit bestand, wie die möglichen Ergebnisse der Anwendung dieser Tests bei Blutspendern ausfallen würden (Tab.2), und wie man mit Personen mit positiven Ergebnissen aber ohne Anzeichen von Krankheit verfahren sollte. Weiterhin besteht im Bereich der Blutbanken eine erhebliche Furcht vor der Möglichkeit, daß Homosexuelle als Spender zu den Blutbanken strömen, um so eine Chance zu erhalten, ihr Blut kostenlos auf Retrovirus-Antikörper testen zu lassen.

Tab. 2: Mögliche Konsequenzen des Retrovirus-Nachweises für Blutspender

1. Es besteht die Möglichkeit, daß vermehrt Homosexuelle spenden, um das Testergebnis zu erhalten.
2. Es besteht die Möglichkeit, daß Dauerspender nicht mehr spenden, um den Test zu vermeiden.
3. Welches sind die klinischen und soziologischen Konsequenzen des positiven Testes?
4. Gibt es medizinische und epidemiologische Hinweise, die den Nutzen der Pflichttestung europäischer Blutspender stützen?
5. Sollte die wissenschaftliche Aussagekraft nicht besser vorher durch die Untersuchung von Risikogruppen abgeklärt werden?

Ebenso wird befürchtet, daß die Anwendung des Testes die Zahl der vorhandenen Spender erheblich mindern könnte, da die Spender die sozialen Auswirkungen eines möglicherweise positiven Antikörpertestes zu vermeiden suchten (Abb.5). Auf jeden Fall sollten man sich darüber klar werden, daß die Anwendung dieses Testes bei Blutspendern auf 99% des gesamten AIDS-Problems keinen Einfluß haben wird, nämlich auf das Auftreten und die Verbreitung der Krankheit bei Homosexuellen und Drogenabhängigen.

Anschrift des Verfassers:

V. Reinicke, M.D., Ph.D.  
Head, Dept. of Internal Medicine  
County Hospital St. Elisabeth  
DK-2300 Kopenhagen

□

**WARNING**



**HTLV-3 Antibody testing is  
HAZARDOUS to your civil rights  
and mental health**

**DON'T TAKE THIS TEST!**

**Mobilization Against AIDS**

Abb. 5: Poster aus San Francisco, März 1985

Schrifttum:

1. BARRÉ-SINOUSI, F., CHERMANN, J. C., REY, F., NUGEYRE, M. T., CHAMARET, S., GRUEST, J., DAUGUET, C., AXLER-BLIN, C., VÉZINET-BRUN, F., ROUZIOUX, C., ROZENBAUM, W., MONTAGNIER, L.: Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). *Science* 220, 868 (1983).
2. BRUN-VÉZINET, F., BARRÉ-SINOUSI, F., SAIMOT, A. G., CHRISTOL, D., MONTAGNIER, L., ROUZIOUX, C., KLATZMANN, D., ROZENBAUM, W., GLUCKMANN, J. C., CHERMANN, J. C.: Detection of IgG antibodies to lymphadenopathy associated virus in patients with AIDS or lymphadenopathy syndrome. *Lancet*: 1253 (1984).
3. GALLO, R. C., SALAHUDDIN, S. Z., POPOVIC, M., SHEARER, G. M., KAPLAN, M., HAYNES, B. F., PALKER, T. J., REDFIELD, R., OLESKE, J., SAFAI, B., WHITE, G., FOSTER, P., MARKHAM, P. D.: Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science* 224, 500 (1984).
4. LAURENCE, J., BRUN-VÉZINET, F., SCHUTZER, S. E. et al.: Lymphadenopathy associated viral antibody in AIDS. *New Engl. J. Med.* 311, 1269-1273 (1984).
5. LUCIV, P. A., POTTER, S. J., STEIMER, K., DINA, D., LEVY, J. A.: Molecular cloning of AIDS-associated retrovirus. *Nature* 312, 761-763 (1984).
6. OVERBY, L.: Personal communication.
7. RATNER, L., GALLO, R. C., WANG-STAAAL, F.: HTLV-III, LAV and ARV are variants of same AIDS virus. *Nature* 313, 636-637 (1985).
8. REINICKE, V.: AIDS aus klinischer Sicht. *Lab. med.* 8, 354-357 (1984).
9. SALAHUDDIN, S. Z., GROOPMAN, J. E., MARKHAM, P. D. et al.: HTLV-III in symptom-free seronegative persons. *Lancet* 1984, 2, 1418-1420 (1984).
10. WEISS, S. H., GOEDERT, J. J., SARNGADHARAN, M. G., BODNER, A. J., GALLO, R. C., BLATTNER, W. A.: Screening test for HTLV-III antibodies. *JAMA* 253, 2, 221-225 (1985).