

DMW Originalien

Prävalenz von Antikörpern gegen LAV/HTLV-III bei terminal niereninsuffizienten Patienten unter Hämodialysebehandlung und nach Nierentransplantation

W. Fassbinder, P. Kühnl, H. H. Neumayer, G. Offermann, S. Seidl und W. Schoeppe

Abteilung für Nephrologie des Zentrums der Inneren Medizin und Institut für Immunhämatologie, Universitätsklinikum Frankfurt/Main, sowie Abteilung für Allgemeine Innere Medizin und Nephrologie, Universitätsklinikum Steglitz, Berlin

Seren von insgesamt 1046 terminal niereninsuffizienten Patienten unter Hämodialysebehandlung bzw. nach Nierentransplantation wurden auf Anti-LAV/HTLV-III mit ELISA-Screening-Tests und bei positivem Ausfall mit dem Western-blot-Test sowie dem ELAVIA-Test untersucht. Vier Patienten (0,38%) hatten »echte« Antikörper gegen LAV/HTLV-III, die sich im Western-blot und ELAVIA-Test bestätigen ließen. Bei ihnen bestanden auch eindeutige Zeichen eines zellulären Immundefekts. Sie hatten Nierentransplantate von Spendern aus der Drogenszene erhalten. Organe von solchen Spendern sollten deshalb nicht mehr zur Transplantation verwendet werden. Ferner fanden sich bei 29 Patienten (2,8%) »falsch-positive« Antikörper gegen LAV/HTLV-III in den ELISA-Screening-Tests, die sich im Western-blot- und im ELAVIA-Test nicht bestätigen ließen. Der »falsch-positive« Nachweis beruhte offenbar häufig auf kreuzreagierenden HLA-Antikörpern in diesen Seren. Nach Multi-transfusionen müssen deshalb Seren von Dialyse- und Transplantationspatienten besonders sorgfältig untersucht werden, bevor die Diagnose einer Infektion mit LAV/HTLV-III gestellt wird.

Prevalence of antibodies against LAV/HTLV-III in patients with terminal renal failure during haemodialysis and after renal transplantation

Sera of 1046 patients undergoing haemodialysis for terminal renal failure or after renal transplantation were tested with the ELISA screening test for anti-LAV/HTLV-III and, if positive, the Western blot and ELAVIA tests. Four patients (0,38%) had »true« antibodies against LAV/HTLV-III, confirmed by the Western blot and ELAVIA tests. These patients had definite signs of cellular immune defects. They had received transplants from drug addict donors. Such kidneys should therefore no longer be used for transplantation. In addition, 29 patients (2,8%) had »false-positive« antibodies against LAV/HTLV-III in the ELISA test, unconfirmed in the Western blot and ELAVIA tests. The »false-positive« result was presumably due to cross-reaction with HLA antibodies. Sera of dialysis and transplantation patients who had received many blood transfusions should therefore be especially carefully tested before a diagnosis of infection with LAV/HTLV-III is made.

Das erworbene Immundefektsyndrom (AIDS) wird durch ein humanes Retrovirus (LAV/HTLV-III) verursacht (1, 5). Die Virusübertragung erfolgt bei homo- und heterosexuellem Intimkontakt (2, 12, 18, 21), transplazentar (8, 14) und durch Transfusion von infiziertem Blut (3, 4, 12, 23) bzw. Blutprodukten (6, 15); außerdem wird das Virus häufig bei Drogenabhängigen durch gemeinsames Benutzen von kontaminiertem Spritzenbesteck übertragen (2, 7, 12).

Terminal niereninsuffizienten Patienten werden unter Hämodialysebehandlung und bei Nierentransplantation

relativ häufig Bluttransfusionen verabfolgt; diese Patienten stellen deshalb eine potentielle Risikogruppe hinsichtlich der Übertragung einer Infektion mit LAV/HTLV-III dar. Wir untersuchten daher die Seren von insgesamt 1046 terminal niereninsuffizienten Patienten unter Hämodialysebehandlung bzw. nach Nierentransplantation auf das Vorhandensein von Anti-LAV/HTLV-III.

Patienten und Methoden

Patienten. Insgesamt wurden die Seren von 1046 Patienten untersucht. 666 Patienten stammten aus West-Berlin, 380 Patienten aus dem Rhein-Main-Gebiet (Frankfurt/Main und Umgebung). Die

Berliner Patienten schlüsseln sich wie folgt auf: 232 Patienten hatten ein funktionierendes Nierentransplantat und 434 Patienten standen unter Hämodialysebehandlung; von diesen Hämodialysepatienten war bei 389 niemals eine Transplantation vorgenommen worden, während 45 nach fehlgeschlagener Transplantation erneut hämodialysiert wurden. Von den 380 Patienten aus dem Rhein-Main-Gebiet hatten 176 ein funktionierendes Transplantat und 204 wurden chronisch intermittierend hämodialysiert; von den dialysierten Patienten war bei 184 nie eine Transplantation durchgeführt worden, und 20 wurden erneut dialysiert nach fehlgeschlagener Transplantation.

Nachweis von Anti-LAV/HTLV-III. Die Proben wurden entweder sofort untersucht oder bis zur Analyse bei -20°C aufbewahrt. Alle Seren wurden zunächst mit zwei handelsüblichen Enzym-Immuno-Assays (Abbott HTLV III EIA und Vironostika anti-HTLV-III Microelisa-System, Organon Technika) auf Anti-LAV/HTLV-III untersucht. Bei reaktiven Seren wurden Wiederholungsuntersuchungen durchgeführt. Wiederholbar positive oder grenzwertig reagierende Seren wurden zur Bestätigung der Befunde mit der Western-blot-Methode (20) und mit einem kommerziell erhältlichen, mit indirekter immunenzymatischer Technik arbeitenden Verfahren (ELAVIA®-Test Kit zum Nachweis von Anti-LAV im Humanserum, Diagnostics Pasteur; in Deutschland vertrieben von Merz und Dade) nachuntersucht. Für den ELAVIA-Test werden zwei Festphasen verwendet, wovon die eine mit den gereinigten und inaktivierten viralen Antigenen (LAV-positiv), die andere mit Material von nicht-infizierten Kontrollzellen (LAV-negativ) beschichtet ist. Das Vorhandensein von LAV-Antikörpern kann aus dem Vergleich der Absorptionswerte beider Festphasen gefolgert werden.

Alle Western-blot-Ergebnisse wurden im Max-von-Pettenkofer-Institut für Hygiene und Mikrobiologie der Universität München bestätigt; dort wurde zusätzlich ein Immunfluoreszenz-Assay als weiterer Bestätigungstest eingesetzt.

Ergebnisse

Von den 666 Berliner Patienten hatten bei den Screening-Untersuchungen 13 (1,95%) einen positiven ELISA-Test. Bei vier Patienten konnten spezifische LAV/HTLV-III-Antikörper im Western-blot-Test bestätigt werden; bei ihnen fiel auch der ELAVIA-Test positiv aus. Dagegen ergab sich bei den neun Patienten mit einem »falsch-

positiven« ELISA-Screening-Test (Abbott und/oder Organon) in keinem Falle eine positive Reaktion im ELAVIA-Test. Bei allen vier Patienten mit »echten« Antikörpern gegen LAV/HTLV-III war zuvor eine Transplantation vorgenommen worden, drei von ihnen hatten zum Zeitpunkt der Untersuchung ein funktionierendes Transplantat, ein Patient mußte nach fehlgeschlagener Transplantation wieder dialysiert werden. Bei keinem der 389 Berliner Patienten, die sich nie einer Transplantation unterzogen hatten, ließen sich Antikörper gegen LAV/HTLV-III nachweisen.

Bei 20 der 380 Patienten aus dem Raum Frankfurt am Main ergab die Screening-Untersuchung im ELISA-Vor-test den Verdacht auf eine LAV/HTLV-III-Infektion. Bei keinem von ihnen ließen sich Antikörper gegen LAV/HTLV-III im Western-blot-Test oder im ELAVIA-Test bestätigen. Weitere Einzelheiten der Ergebnisse sind in Tabelle 1 dargestellt.

In beiden Untersuchungsgruppen fällt auf, daß Patienten nach Nierentransplantation, und hier besonders nach fehlgeschlagener Nierentransplantation, sehr viel häufiger ein »falsch-positives« ELISA-Resultat (Abbott und/oder Organon) bei der Untersuchung auf LAV/HTLV-III-Antikörper aufwiesen: Sechs von 232 Berliner Patienten (2,6%) und zwölf von 176 Frankfurter Patienten (6,8%) mit funktionierendem Transplantat hatten ein »falsch-positives« ELISA-Ergebnis. Bei Zustand nach fehlgeschlagener Transplantation waren »falsch-positiv« Befunde sogar noch häufiger: Hier hatten drei der 45 Berliner Patienten (6,7%) und fünf der 20 Frankfurter Patienten (25%) ein »falsch-positives« Ergebnis. Dagegen ist bei Hämodialysepatienten, bei denen nie eine Transplantation vorgenommen wurde, die Häufigkeit »falsch-positiver« Befunde offensichtlich eher selten; keiner der 389 Berliner Patienten aus dieser Gruppe und nur drei der 184 Frankfurter Patienten aus dieser Gruppe hatten einen »falsch-positiven« ELISA-Befund, der sich

Tab. 1. Untersuchungen auf Anti-LAV/HTLV-III mittels ELISA-Screening-Tests (Abbott und Organon) und der Bestätigungstests Western-blot und ELAVIA

	Patienten n	ELISA-Screening-Test positiv		Western-blot positiv		ELAVIA-Test positiv	
		n	%	n	%	n	%
<i>West-Berlin</i>	666	13	1,95	4*	0,60	4*	0,60
funktionierendes Transplantat	232	9	3,88	3*	1,29	3*	1,29
Hämodialyse nach fehl- geschlagener Transplantation	45	4	8,89	1*	2,22	1*	2,22
Hämodialyse, nie transplantiert	389	0		0		0	
<i>Frankfurt/Main</i>	380	20	5,26	0		0	
funktionierendes Transplantat	176	12	6,8	0		0	
Hämodialyse nach fehl- geschlagener Transplantation	20	5	25,0	0		0	
Hämodialyse, nie transplantiert	184	3	1,63	0		0	

* Im Western-blot-Test wurden dieselben Seren als positiv bestätigt wie im ELAVIA-Test; diese vier Seren ergaben auch im Immunfluoreszenz-Test ein positives Resultat.

im Western-blot-, im ELAVIA- und im Immunfluoreszenz-Test nicht bestätigen ließ.

Die vier Berliner Patienten mit LAV/HTLV-III-Antikörpern, die sich auch im Western-blot-Test und im ELAVIA-Test bestätigen ließen, hatten zwischen Januar und Dezember 1984 Leihennieren von drei Spendern aus Berlin und Frankfurt erhalten; diese drei Spender waren Angehörige der Drogenszene, wobei ein Spender seit 1981 nicht mehr drogenabhängig war. Die fünfte Spenderniere dieser drei Spender wurde einer Patientin in Österreich transplantiert, die 11 Monate später ebenfalls an einer LAV/HTLV-III-Infektion erkrankte. Die sechste Niere wurde aus technischen Gründen nicht transplantiert. Bei diesen fünf Transplantatempfängern konnten vor der Transplantation Antikörper gegen LAV/HTLV-III nicht nachgewiesen werden. Bei zwei engmaschig verfolgten Patienten erfolgte die Serokonversion 50–60 Tage nach der Transplantation. Einzelheiten dieser Krankheitsverläufe sind an anderer Stelle dargelegt (13). Zum jetzigen Zeitpunkt (16–26 Monate nach der Transplantation) beträgt die Zahl der T-Helferzellen 90–500/µl, das OKT4/8-Verhältnis ist mit 0,3–0,9 deutlich erniedrigt. Bei einem Patienten entwickelte sich gleichwohl eine irreversible Transplantatabstoßung, er muß inzwischen wieder hämodialysiert werden.

Bei den Patienten mit »falsch-positiven« Anti-LAV/HTLV-III-Tests ergaben sich keine Hinweise auf eine Störung der zellulären Immunantwort.

Diskussion

Mit der Einführung kommerziell erhältlicher ELISA-Tests zum Nachweis von Antikörpern gegen LAV/HTLV-III ist es möglich geworden, auch sehr große Personengruppen zu untersuchen. Diese Tests sollen vor allem zum Screening von Blutspendern verwendet werden, um möglicherweise LAV/HTLV-III-kontaminierte Blutkonserven sperren zu können; sie sollen aber auch zum Antikörpernachweis bei Risikogruppen (Homosexuellen, Drogensüchtigen, Hämophilen, Multitransfunden, Prostituierten) dienen.

Da terminal niereninsuffiziente Patienten aufgrund ihrer renalen Anämie gelegentlich Transfusionen erhalten müssen, stellen sie eine Risikogruppe für ein transfusions-assoziiertes Immundefektsyndrom dar. Wir untersuchten Patienten aus Berlin und Frankfurt am Main, da in diesen beiden Städten die ersten AIDS-Fälle in Deutschland diagnostiziert worden waren. Zudem ist in West-Berlin die Häufigkeit von LAV/HTLV-III-Antikörperträgern unter Blutspendern etwa zehnfach größer (0,14% versus 0,014%) als im übrigen Gebiet der Bundesrepublik Deutschland (9).

Unter den insgesamt 1046 untersuchten Patienten fanden sich 33 mit einem positiven ELISA-Test (3,15%). Nur bei vier Patienten (0,38%) konnte jedoch das Vorhandensein von spezifischem Anti-LAV-HTLV-III im Western-blot, im Immunfluoreszenz- und im ELAVIA-

Test bestätigt werden, in allen übrigen Fällen lagen »falsch-positiv« ELISA-Tests vor. Alle vier »echt-positiven« Patienten hatten Transplantate erhalten, die jeweils von (ehemals) drogensüchtigen Spendern stammten. Die Organe waren zu einem Zeitpunkt übertragen worden, als die ELISA-Screening-Tests noch nicht allgemein verfügbar waren. Aber selbst wenn ein negativer Screening-Test vorliegt, sollten Organe von Spendern, die engen Kontakt mit der Drogenszene hatten, nicht mehr verwendet werden, denn die Infektionsausbreitung in dieser Risikogruppe erfolgt rasch: 1983 waren etwa 10% der untersuchten Drogenabhängigen Anti-LAV/HTLV-III-positiv, 1984 bereits 18% und 1985 schon 24% (24). Da auch mit den Organen eines hämophilen Spenders eine LAV/HTLV-III-Infektion auf zwei Organempfänger übertragen wurde (17), sollten Angehörige aller Risikogruppen als Organspender ausgeschlossen werden.

Die serologische Diagnostik von LAV/HTLV-III-Infektionen muß höchsten Ansprüchen in bezug auf Sensitivität und Spezifität gerecht werden. Bei Angehörigen der typischen Risikogruppen und bei gesunden Blutspendern sind Sensitivität (97,3%) und Spezifität (98,6%) bei den kommerziell erhältlichen ELISA-Tests ausreichend hoch (22). Die derzeitigen Angaben der Hersteller liegen mit Werten um 99,7% für Spezifität und 99,1–99,6% für Sensitivität sogar noch deutlich höher.

Dagegen zeigen unsere Ergebnisse einen auffällig hohen Prozentsatz »falsch-positiver« ELISA-Screening-Resultate bei terminal niereninsuffizienten Patienten, besonders nach fehlgeschlagener Transplantation. Die Ursache hierfür sind unter anderem Kreuzreaktionen mit HLA-Merkmalen (10, 11, 19), zumal inzwischen auch bei nicht-urämischen multitransfunden Patienten »falsch-positiv« LAV/HTLV-III-Antikörper-Befunde bei nachgewiesenen Leukozytenantikörpern beschrieben wurden (16).

Unsere Untersuchungen zeigen ferner, daß der ELAVIA-Test – eine indirekte immunenzymatische Technik – bei den von uns untersuchten Patienten offenbar eine hohe Spezifität aufweist: Alle vier »echt-positiven«, das heißt im Western-blot-Test bestätigten Seren mit Anti-LAV/HTLV-III wurden sicher als positiv erkannt, während die 29 Seren mit »falsch-positiven« Befunden der ELISA-Screening-Tests (Abbott, Organon) im ELAVIA-Test ein eindeutig negatives Ergebnis erbrachten. Auch bei HLA-Antikörper-haltigen Seren von gesunden Blutspenderinnen, die mit ELISA-Screening-Tests (Abbott, Organon) zuvor »falsch-positiv« Ergebnisse gezeigt hatten, ergab sich im ELAVIA-Test – bei insgesamt etwas geringerer Sensitivität – eine durch Western-blot bestätigte eindeutig negative Reaktion (Kühnl, P.: unveröffentlicht).

Aufgrund der Tragweite eines positiven Anti-LAV/HTLV-III-Antikörper-Befundes für den Betroffenen, speziell im Dialysebereich, liegt die Bedeutung der Spezifität des eingesetzten Tests auf der Hand. Für Patienten unter Hämodialysebehandlung bzw. nach Nierentransplanta-

tion ist deshalb die rasche Durchführung von Bestätigungstests (Western-blot-, ELAVIA- und/oder Immunfluoreszenz-Test) zu fordern, bevor weitreichende Schritte, wie etwa die völlige Isolierung des Patienten, eingeleitet werden.

Literatur

- (1) Barré-Sinoussi, F., J. C. Chermann, F. Rey, M. T. Nugeyre, S. Chamaret, J. Gruest, C. Dauter, C. Axler-Blin, F. Vézinet-Brun, C. Rouzioux, W. Rozenbaum, L. Montagnier: Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* 220 (1983), 868.
- (2) Curran, J. W.: The epidemiology and prevention of the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann. intern. Med.* 103 (1985), 657.
- (3) Esteban, J. I., C. C. Tai, J. W. D. Kay, J. Wai-Kuo Shih, A. J. Bodner, H. J. Alter: Importance of western blot analysis in predicting infectivity of anti-HTLV-III/LAV positive blood. *Lancet* 1985/II, 1083.
- (4) Feorino, P. M., H. W. Jaffe, E. Palmer, T. A. Peterman, D. P. Francis, V. S. Kalyanaraman, R. A. Weinstein, R. L. Stoneburner, W. J. Alexander, C. Raevsky, J. P. Getchell, D. Warfield, H. W. Haverkos, B. W. Kilbourne, J. K. A. Nicholson, J. W. Curran: Transfusion-associated acquired immunodeficiency syndrome. Evidence for persistent infection in blood donors. *New Engl. J. Med.* 312 (1985), 1293.
- (5) Gallo, R. C., S. Z. Salahuddin, M. Popovic, G. M. Shearer, M. Kaplan, B. F. Haynes, T. J. Palker, R. Redfield, J. Oleske, B. Safai, G. White, P. Foster, P. D. Markham: Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science* 224 (1984), 500.
- (6) Gürtler, L. G., D. Wernicke, J. Eberle, G. Zoulek, F. Deinhardt, W. Schramm: Increase in prevalence of anti-HTLV-III in haemophiliacs. *Lancet* 1984/II, 1275.
- (7) Hengster, P., H. G. Blecha, F. Deinhardt, V. Erfle, D. Fuchs, F. D. Goebel, L. G. Gürtler, A. Hausen, H. Hinterhuber, G. Reibnegger, H. Rössler, K. Schauenstein, D. Schönitzer, T. Schulz, K. Traill, E. R. Werner, H. Wachter, M. P. Dierich: HTLV-III-Durchseuchung bei Personen mit intravenösem Drogenmißbrauch. *Dtsch. med. Wschr.* 111 (1986), 453.
- (8) Jovaisas, E., M. A. Koch, A. Schäfer, M. Stauber, D. Löwenthal: LAV/HTLV-III in 20-week fetus. *Lancet* 1985/II, 1129.
- (9) Kubanek, B., K. Koerner: Häufigkeit von HTLV-III-Antikörpern bei Blutspendern des Deutschen Roten Kreuzes. *Dtsch. med. Wschr.* 111 (1986), 516.
- (10) Kühnl, P., S. Seidl, G. Holzberger: HLA DR4 antibodies cause positive HTLV-III antibody Elisa results. *Lancet* 1985/II, 1222.
- (11) Kühnl, P., G. Opelz, W. Fassbinder, G. Holzberger, L. Gürtler: HLA-DR7 antibodies after kidney transplantation: a cause for false-positive HTLV III antibody EIA results. *Transplant. Proc.* (1986, in press).
- (12) L'age-Stehr, J.: Epidemiologie von AIDS. *Öff. Gesundh.-Wes.* 47 (1985), 343.
- (13) L'age-Stehr, J., A. Schwarz, G. Offermann, H. Langmaack, I. Bennhold, M. Niedrig, M. A. Koch: HTLV-III infection in kidney transplant recipients. *Lancet* 1985/II, 1361.
- (14) Lapointe, N., J. Michaud, D. Pekovic, J. P. Chausseau, J. M. Dupuy: Transplacental transmission of HTLV-III virus. *New Engl. J. Med.* 312 (1985), 1325.
- (15) Melbye, M., R. J. Biggar, J. C. Chermann, L. Montagnier, S. Stenbjerg, P. Ebbesen: High prevalence of lymphadenopathy virus (LAV) in European haemophiliacs. *Lancet* 1984/II, 40.
- (16) Michail-Merianou, V., A. Tzivaras, L. Piperi-Lowes, C. Kattamis, V. Ladis, R. Papadakou-Lagogianni: False-positive HTLV-III antibody tests in multitransfused patients with thalassaemia. *Lancet* 1986/I, 678.
- (17) Prompt, C. A., M. M. Reis, F. M. Grillo, J. Kopstein, E. Kraemer, R. C. Manfro, M. H. Maia, J. B. Comiran: Transmission of AIDS virus at renal transplantation. *Lancet* 1985/II, 672.
- (18) Redfield, R. R., P. D. Markham, S. Z. Salahuddin, M. G. Sarngadharan, A. J. Bodner, T. M. Folks, W. R. Ballou, D. C. Wright, R. C. Gallo: Frequent transmission of HTLV-III among spouses of patients with AIDS-related complex and AIDS. *J. Amer. med. Ass.* 253 (1985), 1571.
- (19) Sayers, M. H., P. G. Beatty, J. A. Hansen: HLA antibodies as a cause of false-positive reactions in screening enzyme immunoassays for antibodies to human T-lymphotropic virus type III. *Transfusion* 26 (1986), 113.
- (20) Tsang, V. C. W., J. M. Peralta, A. R. Simons: Enzyme-linked immunoelectrotransfer blot techniques (EITB) for studying the specificities of antigens and antibodies separated by gel electrophoresis. *Meth. Enzym.* 92 (1983), 377.
- (21) Vogt, M., R. Lüthy, A. Bircher, F. Furger, W. Lang, R. Maurer, W. Siegenthaler: Heterosexuelle Übertragung des erworbenen Immundefizienzsyndroms (AIDS). *Dtsch. med. Wschr.* 110 (1985), 1483.
- (22) Weiss, S. H., J. J. Goedert, M. G. Sarngadharan, A. J. Bodner, R. C. Gallo, W. A. Blattner: Screening test for HTLV-III (AIDS agent) antibodies. Specificity, sensitivity, and applications. *J. Amer. med. Ass.* 253 (1985), 221.
- (23) Wykoff, R. F., E. R. Pearl, F. T. Saulsbury: Immunologic dysfunction in infants infected through transfusion with HTLV-III. *New Engl. J. Med.* 312 (1985), 294.
- (24) Zoulek, G., L. Gürtler, J. Eberle, B. Lorbeer, F. Deinhardt: Zunahme der Prävalenz von Antikörpern gegen LAV/HTLV-III bei Drogenabhängigen in der Bundesrepublik Deutschland. *Dtsch. med. Wschr.* 111 (1986), 567.

Prof. Dr. W. Fassbinder, Prof. Dr. W. Schoeppe
Abteilung für Nephrologie
Zentrum der Inneren Medizin der Universität
6000 Frankfurt/Main 70, Theodor-Stern-Kai 7

Privatdozent Dr. P. Kühnl, Prof. Dr. S. Seidl
Institut für Immunhämatologie
Universitätsklinikum
6000 Frankfurt/Main 70, Sandhofstr. 1

Privatdozent Dr. H. H. Neumayer, Prof. Dr. G. Offermann
Abteilung für Allgemeine Innere Medizin und Nephrologie
Klinikum Steglitz der Freien Universität
1000 Berlin 45, Hindenburgdamm 30