

# Prognostischer Aussagewert HIV-serologischer Parameter\*

R. Enzensberger, K. Mergener, B. Selb, H. W. Doerr  
Zentrum der Hygiene, Abt. Med. Virologie

## Zusammenfassung:

Die Faktoren, welche das Fortschreiten einer HIV-Infektion anzeigen, sind noch ungenügend bekannt. Neben klinischen und immunologischen Parametern (z. B. CD4-Lymphozytenzahl) sind virusserologische Marker von Interesse, die eine prognostische Aussage über den individuellen Krankheitsverlauf erlauben könnten. In unserem Beitrag werden einige dieser HIV-serologischen Parameter und ihre Nachweismethoden dargestellt. Das p24-Antigen kann schon in der Frühphase der HIV-Infektion nachweisbar sein und verschwindet nach der Antikörperbildung. Sein Wiederauftreten oder seine Persistenz deutet auf eine Progression der HIV-Erkrankung zum AIDS hin. Die Antigenpositivität ist mit einem signifikanten Abfall der p24-Antikörper in fortgeschrittenen Stadien der HIV-Infektion assoziiert. Die Analyse der Immunglobulinklassen zeigt, daß IgM-Antikörper bei der akuten HIV-Infektion nachweisbar sein können, jedoch keinen Reaktivierungsmarker darstellen. HIV-IgG-Antikörper gehören im wesentlichen der Subklasse IgG1 an; bei 50% der LAS/AIDS-Patienten findet man auch HIV-spezifisches IgG3. Bei Patienten mit AIDS-Enzephalopathie kann eine autochthone, intrathekale Antikörperproduktion durch die vergleichende Serum- und Liquoruntersuchung nachgewiesen werden. Als weitere Parameter, die auf eine Progression der HIV-Infektion hinweisen, werden erhöhte Antikörpertiter gegen andere opportunistische Virusinfektionen vorgeschlagen (z. B. Cytomegalie- oder Epstein-Barr-Virus).

## Schlüsselwörter:

HIV-Infektion – serologische Prognosefaktoren – HIV-Antigen-Test – Western blot – kompetitiver ELISA – anti-p24-Antikörper – Immunglobulinklassen und -subklassen

## Summary:

Factors that indicate disease progression in HIV-infected persons are not yet fully understood. In addition to clinical and immunological parameters (e. g. CD4-lymphocyte count) serological markers that are suggestive of clinical deterioration in a given patient are being investigated. In the following paper some serological markers of pathogenicity associated with HIV infection and their detection methods are reviewed. The p24-antigen may already be detectable in early stages of HIV-infection and it usually disappears after seroconversion. Its reappearance or persistence may indicate the subsequent development of AIDS. Antigen positivity is associated with a significant decrease in p-24 antibodies in endstage patients. IgM antibodies to HIV may be observed in the acute HIV-infection, but not in the course of a reactivation. The major HIV-IgG subclass is IgG1. IgG3-anti-HIV is detectable in 50% of LAS/AIDS patients. In patients with AIDS dementia complex autochthonous intrathecal production of HIV-antibodies may be assessed by simultaneous analysis of both serum and CSF. Further parameters that may indicate progression of HIV infection are increased antibody titres against other opportunistic viral infections (e. g. Cytomegalovirus or Epstein-Barr virus).

## Keywords:

HIV-infection – serological markers of disease – Antigen test – competition ELISA – Western blot – p24-antibodies – Immunglobulin classes and -subclasses

## Einleitung: Labordiagnostik der HIV-Infektion im Überblick

Die Infektion mit dem Humanen Immundefekt-Virus (HIV) unterscheidet sich von den meisten anderen Infektionskrankheiten durch eine sehr variable und in der Regel lange Inkubationszeit sowie durch einen langsamen Krankheitsverlauf, indem monate- bis jahrelang keinerlei

später unspezifische und erst im Endstadium typische klinische Zeichen (AIDS) vorhanden sind. Deshalb beruht die Diagnose der HIV-Infektion im wesentlichen auf Laboruntersuchungen. In Tab. 1 sind die wichtigsten Prinzipien der HIV-Labordiagnostik mit einer Bewertung der Praktikabilität zusammengestellt. Wichtigste Methodik in der Routine-Diagnostik ist der serologische Nachweis virusspezifischer Antikörper, die 6–12 Wochen nach der Virusinfektion persistierend gebildet werden, während die initiale Virämie bzw. Antigenämie nur kurzfristig nachweisbar ist. Als Screening-Test werden semi-automatisierte ELISA-Tests verwendet, die leicht durchführbar

\* Nach einem Vortrag auf dem Kongreß für Laboratoriumsmedizin, Frankfurt 1987.

sind und in jedem Labor routinemäßig eingesetzt werden können. Da falsch-positive Reaktionen beobachtet werden, müssen positive Resultate durch mindestens einen weiteren spezifischeren Test („Bestätigungstest“) kontrolliert werden: Immunfluoreszenztest u./o. Western blot (7, 17). Die Virus-Nachweis-Methoden durch Anzucht aus peripheren Lymphozyten des Patienten oder mittels Gen-Sonde („in-situ-Hybridisierung“) können auch schon in der Frühphase der Erkrankung (vor Antikörperbildung) positiv ausfallen. Sie sind jedoch aufgrund des hohen Aufwandes nur in Speziallaboratorien möglich (4). Alternativ können inzwischen auch kommerziell erhältliche Antigen-Tests verwendet werden, die spezifische Virusproteine nachweisen (11).

Der HIV-Antikörper-Test ist in den letzten Jahren zur häufigsten infektionserologischen Untersuchung in unserer Abteilung geworden. Obwohl dadurch eine große Zahl seropositiver Personen gefunden wurde (ca. 50 Neuzugänge/Monat) kann gewöhnlich keine Aussage über den Zeitpunkt der Erkrankung gemacht werden: Serokonversionen oder signifikante HIV-Antikörper-Anstiege wurden nur selten beobachtet (6).

Für die epidemiologische Beurteilung der HIV-Infektion ist es wichtig, Progressions- und Prognose-Faktoren zu finden, welche die Krankheitsentwicklung anzeigen können. Verschiedene Kohortenstudien ergaben, daß die Progression zum AIDS-Vollbild in erster Linie eine Funktion der Zeit ist (13, 19, 23). So wurde in 5–7% der Patienten innerhalb von 12 Monaten eine Entwicklung von der symptomlosen Infektion zum manifesten AIDS beobachtet (13). Neben den bekannten klinischen und immunologischen Parametern (z. B. die CD4-Lymphozytenzahl) besteht ein großes Interesse an serologischen Markern, die eine prognostische Aussage über den zu erwartenden individuellen Verlauf der HIV-Infektion erlauben könnten (12, 22, 23). In unserem Beitrag sollen einige serologische Pathogenitätsparameter und deren Nachweismethoden dargestellt werden. Ihre Bedeutung für die Diagnose und Prognose der HIV-Erkrankung wird anhand eigener Erfahrungen und anhand der Literatur diskutiert.

## HIV-Antigen-Nachweis

Der von uns verwendete HIV-Antigen-Nachweis ist ein ELISA-Test (Abbott) mit an Polystyrolkugeln gebun-

Tab. 1: Methoden der HIV-Labordiagnostik

Methoden	Untersuchungsmaterial	Sensitivität	Arbeits-/Zeit-aufwand
Elektronenmikroskopie	Biopsie	+ (+)	++
Virusanzucht auf Zellkultur	Blut, Körperflüssigkeiten, Biopsie	+++	+++
Nukleinsäurehybridisierung	Blut, Körperflüssigkeiten, Biopsie	+++	+++
Antigentest	Blut	+	+
Antikörpertest	Blut	++	+

denen monoklonalen Antikörpern gegen das p24-core-Protein des HIV. Falls im Serum vorhanden, wird das Antigen nach erneuter Inkubation mit einem Anti-HIV-Kaninchen-IgG durch eine enzymatische Reaktion sichtbar gemacht (11). In einer Studie mit Gesunden, mit seropositiven HIV-Trägern und mit LAS- und AIDS-Patienten fanden wir einen Anstieg der Prävalenz von HIV-Antigen mit zunehmendem Schweregrad der HIV-Infektion (Tab. 2). Übereinstimmende Ergebnisse wurden von anderen Autoren berichtet (1, 2, 9, 14, 15). Untersuchungen bei Patienten vor und nach Serokonversion legen nahe, daß das HIV-Antigen in der Frühphase der Infektion (auch schon 2 Wochen p.i.) im Blut erscheint und 3–5 Monate persistiert. Danach folgt die AK-Bildung und das HIV-Antigen ist in der Regel nicht mehr nachweisbar (1, 2) (Abb. 2). Der Antigen-Test kann daher ein hilfreiches Mittel zur frühen Diagnosestellung (vor Antikörperbildung) sein.

Das Wiederauftreten oder die Persistenz von HIV-Antigen wurde als frühes Zeichen einer Progression der Erkrankung gewertet. Die Antigen-Positivität war signifikant assoziiert mit einem Abfall der Antikörper gegen das p24-core-Protein bei AIDS-Patienten (1, 10, 12, 14, 15). Diese Beobachtungen, die auch mit einer vermehrten Virusanzüchtbarkeit in fortgeschrittenen Stadien der Erkrankung übereinstimmen, zeigen, daß die Infektiosität der Patienten im Laufe der HIV-Infektion zunimmt (12). Das p24-Antigen könnte bei HIV-Patienten auch als Verlaufparameter insbesondere im Rahmen von antiviralen Therapiestudien eingesetzt werden (5, 12). Einschränkend muß man allerdings sagen, daß ein negativer Antigen-Nachweis eine stattgehabte Infektion nicht ausschließt. Die Sensitivität reicht für die niedrige Virämie bei der HIV-Infektion oft nicht aus. Des Weiteren ist zu bedenken, daß das HIV in den befallenen Zellen integriert ist und sich dem Nachweis entziehen kann. Umgekehrt kann ein Patient lange Zeit Antigen-positiv bleiben, ohne ein manifestes AIDS zu entwickeln. Die Aussagefähigkeit der Antigen-Tests ist also begrenzt (11).

## Analyse von Antikörpern gegen Virusstruktur-Proteine

Das Grundprinzip des screening-ELISAs und mögliche Störfaktoren ist von uns an anderer Stelle ausführlich

Tab. 2: Nachweis von HIV-Antigen und Antikörpern (ELISA) im Serum von Patienten mit verschiedenen Stadien der HIV-Infektion

Kollektiv	Antigen pos. (%)	Antikörper pos. (%)
gesunde Kontrollpersonen (n = 20)	0	0
Risikopatienten (n = 20)	2 (10%)	4 (20%)
Seropositive klinisch-gesunde (n = 19)	1 (5%)	19 (100%)
LAS (n = 28)	11 (39%)	28 (100%)
AIDS (n = 27)	16 (59%)	27 (100%)

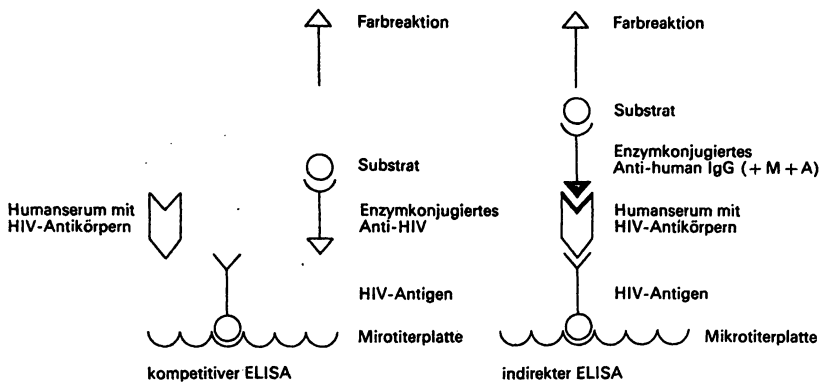


Abb. 1: Testprinzip des Immunoassays zum Nachweis von HIV-Antikörpern. Vergleich zwischen herkömmlicher und kompetitiver ELISA-Technik

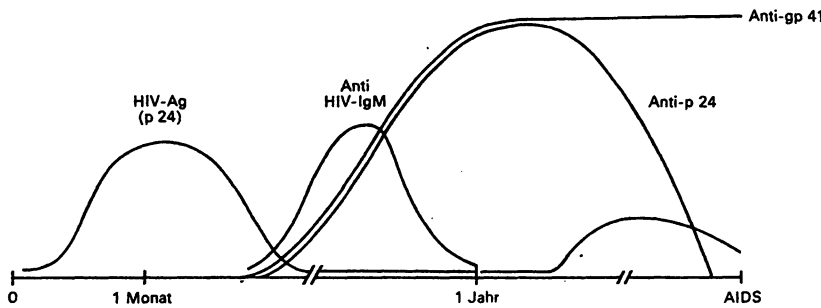


Abb. 2: Hypothetischer Verlauf spezifischer serologischer Marker nach der Infektion mit HIV (nach 1, 17)

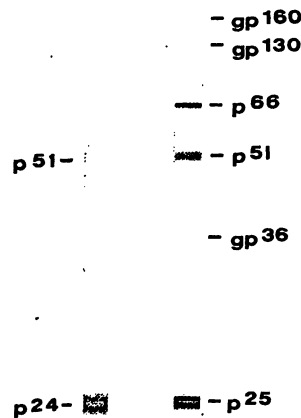
besprochen worden (7). Im folgenden sollen daher nur weitergehende Antikörperanalysen gegen definierte Partialantigene dargestellt werden:

### Western blot

Die Virusproteine werden zunächst nach ihrer Größe gelelektrophoretisch aufgetrennt und auf Nitrozellulosestreifen übertragen („blotting“). Dann werden die Antigenfraktionen des Teststreifens mit Patientenserum inkubiert. Falls das Serum HIV-Antikörper enthält, werden diese an die entsprechenden Stellen gebunden. Der Western blot kann also Immunglobuline gegen die verschiedenen Virusproteine unterscheiden: Kernproteine (= core oder gag): p17, p24, p55; Replikationsenzyme (= pol): p31, p51, p66 und Hüllproteine (= env): gp41, gp120, gp160. Positiv sind die Serumproben, die gp120/160 und noch mindestens 1 weitere Virusbande enthalten. In den meisten positiven Befunden sind Anti-p24 und Anti-gp41 nachweisbar (7, 20). Anti-p24 ist im Western blot auch regelmäßig bei HIV-2-Infektionen nachweisbar (20), während die gp-Antigene typenspezifische Unterschiede zeigen (Abb.3).

### ELISA mit getrennten Antigenen

Der screening-ELISA „der zweiten Generation“ arbeitet mit molekularbiologisch definierten, jedoch als Gemisch präparierten Partialantigenen des HIV, z. B. synthetischen Polypeptiden (Biochrom), oder rDNA-codierten HIV-Hüll („env“)- und Kern („core“)-Proteinen (Abbott-screening-ELISA). In einem kompetitiven Immunoassay, welcher diese Antigene im Doppelansatz getrennt voneinander benutzt („Envacor“, Abbott), werden spezifische Antikörper hauptsächlich gegen p24 bzw. gegen gp41 nachgewiesen (12). Das Prinzip der kompetitiven ELISA-Technik ist in Abb.1 dargestellt. Im Unterschied



### HIV-1 HIV-2

Abb. 3: HIV-1 und HIV-2-Western blot (DuPont) bei einer weiblichen, aus Westafrika stammenden Prostituierten in Frankfurt/M.: Nachweis einer HIV-2-Infektion, Kreuzreaktion im HIV-1-Western blot

zum üblichen indirekten werden beim kompetitiven ELISA enzymmarkierte Anti-HIV-Antikörper verwendet, die mit den Patientenantikörpern um das HIV-Antigen konkurrieren. Dieser Test zeichnet sich durch eine hohe Spezifität aus. Dies gilt auch für ELISAs, die konventionelles HIV-Antigengemisch einsetzen (Behring, Wellcome); allerdings können HIV-2-Antikörper damit nicht kreuzreagierend erkannt werden. Für die typenübergreifende HIV-Serologie kann mit Einschränkung der screening-ELISA von Abbott empfohlen werden, wie der Ringversuch der Deutschen Blutbanken vom 12. 10. 1987 ergeben hat<sup>1</sup>.

In mehreren großen Studien wurde im Verlauf der HIV-Infektion eine qualitative und quantitative Analyse von Antikörpern gegen virale Proteinfractionen im Western blot oder im kompetitiven core/env.-ELISA durchgeführt (2, 10, 12, 15, 22, 23). Dabei wurde beobachtet, daß sowohl die Prävalenz als auch der Titer von Anti-p24 bei den meisten Patienten mit Fortschreiten der Erkrankung abnimmt, während Anti-gp41 konstant bleibt. Ein Abfall von p24-Antikörper verbunden mit einem Anstieg von HIV-Antigen kann bereits Monate vor der klinischen Entwicklung zum AIDS-Vollbild auf eine schlechte Prognose hindeuten (12, 15, 23). Allerdings haben wir auch AIDS-Fälle mit persistierendem hohen p24-Antikörpertiter beobachtet. Einige Autoren wiesen auf gewisse methodische Unterschiede hin, welche bei der Beurteilung dieser Antikörpermuster berücksichtigt werden sollten. So ist eine genaue Quantifizierung von Western blots recht schwierig und zur standardisierten Messung wurden von einer Gruppe densitometrische Verfahren vorgeschlagen (22). Außerdem ist die Sensitivität der Tests unterschiedlich: Der core/env.-ELISA erwies sich als sensitiver für env. (gp41), während der Western blot für das core-Protein (p24) überlegen ist (1, 10).

## Bestimmung von Immunglobulinklassen und -subklassen

Für die serologische Unterscheidung zwischen früher abgelaufener (bzw. latenter) und aktiver Infektion hat sich, insbesondere auch bei viralen ZNS-Infektionen, die Untersuchung der Immunglobulinklassen bewährt.

HIV-IgM als Marker einer reaktivierten latenten Infektion wurde bisher nicht beschrieben. Bei den HIV-Infektionen könnte der Nachweis IgM-spezifischer Antikörper jedoch eine zusätzliche Möglichkeit zur Frühdiagnose (vor dem Auftreten von IgG-Antikörpern im herkömmlichen HIV-ELISA) bieten.

Einige serologische Untersuchungen zum Zeitpunkt der frischen HIV-Infektion legen nahe, daß die initiale Immunreaktion überwiegend in der Bildung von IgM besteht, bis nach einem variablen Zeitraum von wenigen Wochen ein Wechsel zur IgG-Produktion stattfindet. Demnach wäre eine frühe Antikörper-Reaktion in den üblichen IgG-ELISA-Tests nicht nachweisbar (18). Bei mehr als 1000 nicht selektierten Serumproben von Patienten mit Verdacht auf eine HIV-Infektion konnten wir allerdings in keinem Fall mit zwei HIV-Antikörpertests ohne Immunglobulin-Klassenrestriktion (Behring, Organon) früher als mit IgG-spezifischen Antikörpertests (Abbott, DuPont, ENI) fündig werden. Dies galt auch für den entsprechenden Einsatz der indirekten Immunfluoreszenz

Tab. 3: Inzidenz verschiedener Immunglobulinklassen und -subklassen gegen HIV bei LAS- und AIDS-Patienten (Serum und Liquor)

	IgG	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA	IgM
Serum (n = 24)	24	24	1	11	2	0	0
Liquor (n = 12)	12	11	0	2	0	0	2

(Virimmun, Viramed). Auch bei der Untersuchung von 26 Kindern mit prä/perinataler HIV-Infektion fanden wir kein HIV-spezifisches Serum-IgM. Weitere Untersuchungen bei einer größeren Zahl von Patienten in der Frühphase der Erkrankung sind erforderlich, um den diagnostischen Wert der IgM-Tests zu beurteilen.

In einer gesonderten Studie wurden bei 24 Patienten im LAS- oder AIDS-Stadium die Immunglobulinklassen (IgA, IgG und IgM) und -subklassen (IgG 1-4) der HIV-Antikörper mit Hilfe der ELISA- und Western blot-Technik untersucht. Alle Patienten zeigten HIV-spezifische IgG-Antikörper im Serum, keiner hatte HIV-IgM oder IgA (Tab. 3). Demgegenüber ließen sich IgM- und IgA-Antikörper bei einem anderen Patienten nachweisen, bei dem in Verlaufsuntersuchungen eine Serokonversion festgestellt wurde. Diese Antikörper-Reaktion konnte als Zeichen der akuten HIV-Infektion gedeutet werden (Abb. 4). Die Analyse der IgG-Subklassen ergab, daß alle Patienten IgG1 gebildet hatten, die Hälfte IgG3 und nur zwei Patienten IgG2 und 4. Im übrigen scheint bei den meisten Virus-Infektionen die bleibende Antikörperreaktion („Serumnarbe“) der IgG1-Subklasse anzugehören (16).

Bei 12 Patienten mit klinischen Zeichen einer AIDS-Enzephalopathie wurden zusätzlich Liquorproben untersucht. Während in allen Liquorproben IgG1-Antikörper nachweisbar waren, ließen sich in zwei Fällen im Blut nicht vorhandene IgM-Antikörper nachweisen, möglicherweise als Marker einer frisch abgelaufenen Neuroinfection. Die autochthone intrathekale Produktion dieser Antikörper kann durch die vergleichende Messung von Antikörpern gegen Herpes-simplex-Virus im Blut und Serum abgesichert werden, wodurch ggf. eine undichte Blut-Liquor-Schranke erkennbar wird (16).

## Andere virusserologische Parameter

Schließlich werden in der Literatur als weitere serologische Parameter, die mit einer Progression der HIV-Infektion assoziiert sind, neben niedrigen HIV-Antikörper-Titer im Screening-ELISA erhöhte Antikörper-Titer gegen Cytomegalie-Virus (CMV) vorgeschlagen (19).

In eigenen Untersuchungen fanden wir erhöhte CMV-IgA-Titer (1: > 1280) bei LAS- und AIDS-Patienten als Marker einer aktiven CMV-Infektion, während bei Gesunden und symptomlosen HIV-seropositiven Patienten keine IgA-Antikörper in hohen Titern nachweisbar waren (3). Es erscheint außerdem sinnvoll, auch Verlaufsuntersuchungen der Antikörper gegen andere opportunistische Virusinfektionen z.B. Hepatitis-B oder Epstein-Barr (EBV) durchzuführen, um ihre prognostische Wertigkeit zu überprüfen. Aus der EBV-Serologie ist bekannt, daß die Antikörper-Titer gegen das Viruskapsidantigen (VCA)

<sup>1</sup> Organisiert von der Abt. Med. Virologie, Zentrum der Hygiene, Univ.-Kliniken Frankfurt/M.

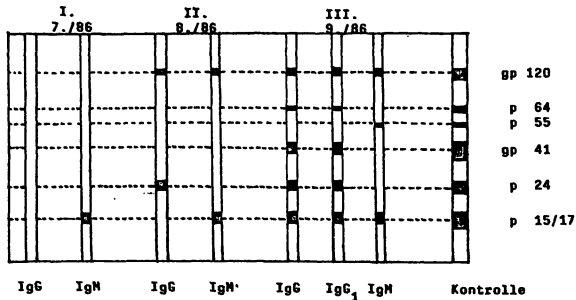


Abb. 4: Serokonversion im Verlauf einer akuten HIV-Infektion. Analyse der Immunglobulin-Fractionen im Western blot (16)

und EBNA gegenseitig ansteigen bzw. abfallen, wenn im Verlaufe einer Immunsuppression eine Virusreaktivierung abläuft. Vergleichende Untersuchungen an HIV-negativen Homosexuellen sowie an HIV-positiven Patienten in verschiedenen Stadien der HIV-Infektion zeigten eine signifikante Zunahme von Häufigkeit und Höhe der EBV-VCA- und EA-Titer im Verlauf der Erkrankung, nicht jedoch der EBV-EBNA (21).

Das (mehrmalige) Auftreten eines Herpes Zoster bei Personen, weniger als 35 Jahre alt, ist bereits klinisch verdächtig auf einen Immundefekt.

Wegen der oben erwähnten HIV-Antigenämie und der häufigen opportunistischen Infektionen sind bei AIDS-Patienten Immunkomplexbildungen und erhöhter Komplementverbrauch zu erwarten. Ein „antikomplementäres“ Serum in der Virus-KBR („Eigenhemmung“) ist auch auf HIV-Infektion verdächtig. Als einfacher Pathogenitätsmarker könnte somit die Titration des Serumkomplements dienen. Bei zahlreichen Messungen des CH<sub>50</sub>-Lysis-Titers fanden wir einen erhöhten Komplementverbrauch bei LAS/AIDS-Patienten (8). Es scheint dann angezeigt, die HIV-serologische Labordiagnostik durchzuführen, die heute nicht nur über sensitive und spezifische Methoden zum Infektionsnachweis, sondern auch zusätzlich über spezielle Marker für eine näherungsweise prognostische Beurteilung verfügt.

Anschrift für die Verfasser:

Prof. Dr. med. H. W. Doerr  
Zentrum der Hygiene  
Abt. Med. Virologie  
Paul-Ehrlich-Straße 40  
6000 Frankfurt 70

Schrifttum:

- ALLAIN, J. P., PAUL, D. A., LAURIAN, Y., SENN, D.: Serological markers in early stages of human immunodeficiency virus infection in haemophiliacs. *Lancet* 2, 1233 (1986).
- ALLAIN, J. P., LAURIAN, J., PAUL, D. E., VERRONST, F., LEUTHER, M., GAZEN-GEL, C., SENN, D., LARRIEN, M.-J., BOSSER, C.: Long-term evaluation of HIV-antigen and antibodies p24 and gp41 in patients with hemophilia. *N. Engl. J. Med.* 317, 1114 (1987).
- BRAUN, W., HEHR, B., RABENAU, H., DOERR, H. W.: Serologische Diagnostik der Cytomegalie bei immunsupprimierten Patienten. *AIFO* 11, 634 (1987).
- BUSCH, M. P., RAJAGOPALAN, M. S., GANTZ, D. M., FU, S., STEIMER, K. S., VYAS, G. N.: In situ hybridization and Immunocytochemistry for improved assessment of human immunodeficiency virus cultures. *Am. J. Clin. Pathol.* 88, 673-680 (1987).
- CHAISSON, R. E., ALLAIN, J. P., LEUTHER, M., VOLBERDING, P. A.: Significant changes in HIV antigen level in the serum of patients treated with azidothymidine. (Letter). *N. Engl. J. Med.* 315, 1610 (1986).
- DOERR, H. W., HEINEMANN, D., KLENK, T., SCHILDWÄCHTER, K.: HIV-Infektionen im Frankfurter Raum: Ergebnisse der viroserologischen Labordiagnostik. *Immun. Infekt.* 15, 220 (1987).
- DOERR, H. W., SELB, B., BRAUN, W., KAUK, U.: AIDS-Ätiologie und Bewertung serologischer Befunde. *Ärzt. Lab.* 32, 255 (1986).
- ENZENSBERGER, R., MERGENER, K., DOERR, H. W.: Decreased level of total complement in serum of patients with human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Lab. med.* 5, 27 (1988).
- GOUDSMIT, J., PAUL, D. A., LANGE, J. M. A., SPEELMAN, H., NOORDAA, J. v. d., HELM, H. v. d., WOLF, F. d., EPSTEIN, I. G., KRONE, W. J. A., WOLTERS, E. C., OELSKE, J. M., COUTINHO, R. A.: Expression of human immunodeficiency virus antigen (HIV-Ag) in serum and cerebrospinal fluid during acute and chronic infection. *Lancet* 2, 178 (1986).
- GOUDSMIT, J., LANGE, J. M. A., PAUL, D. A., DAWSON, G. J.: Antigenemia and antibody titers to core and envelope antigens in AIDS, AIDS-related complex and subclinical human immunodeficiency virus infection. *J. Infect. Dis.* 155, 558 (1987).
- HARTMANN, M., KÜHN, J., NÄHER, H., DOERR, H. W., BRAUN, R.: Bewertung des p24-Antigennachweises in der Laboratoriumsdiagnostik der HIV-Infektion. *AIFO* 8, 447 (1987).
- HEHLMANN, R., FISCHER, A., MATUSCHKE, A., MELLERT, W., FRÖSNER, G., GOEBEL, F.-D., ERFLE, V.: Development of HIV markers during the later stages of HIV infection. *AIFO* 8, 441 (1987).
- HELM, E. B., BRODT, R., WEGNER, R., STASZEWSKI, S., JOETTEN, L., BRILL, H., WERNER, A., DOERR, H. W., BERGMANN, L., BEHNKEN, L., ENZENSBERGER, W., SCHÖFER, H., MONDORF, W., STILLE, W.: Spontanverlauf der HIV-Infektion. Eine Bilanz fünf Jahre nach den ersten AIDS-Erkrankungen in Frankfurt/M. *AIFO* 10, 567 (1987).
- KENNY, C., PARKIN, J., UNDERHILL, G., SHAH, N., BURNELL, B., OSBORNE, E., JEFFRIES, D. J.: HIV-Antigen testing. *Lancet* 1, 565 (1987).
- LANGE, J. M. A., PAUL, D. A., HINSMAN, H. G., WOLF, F. d., BERG, H. v. d., COUTINHO, R. A., DANNER, S. A., NOORDAA, J. v. d., GOUDSMIT, J.: Persistent HIV-antigenaemia and decline of HIV core antibodies associated with transition to AIDS. *Br. Med. J.* 293, 1459 (1986).
- MERGENER, K., ENZENSBERGER, W., RÜBSAMEN-WAIGMANN, R. S., v. BRIESEN, H., DOERR, H. W.: Immunglobulin class- and subclass-specific antibody detection in serum and CSF specimens by ELISA and Western blot. *Infection* 15, 317 (1987).
- MORTIMER, P. P.: ABC of AIDS. The virus and the tests. *Br. Med. J.* 294, 1602 (1987).
- PARRY, J. V., MORTIMER, P. P.: Place of IgM antibody testing in HIV serology. *Lancet* 979 (1986).
- POLK, B. F., FOX, R., BROCKMEYER, R., KANCHANARAKSA, S., KASLOW, R., VISSCHER, B., RINALDO, C., PHAIR, J.: Predictors of the acquired immunodeficiency syndrome developing in a cohort of seropositive homosexual men. *N. Engl. J. Med.* 316, 61 (1987).
- REY, M. A., GIRARD, P. M., HARZIC, M., MADJAR, J. J., BRUN-VEZINET, A. G., SAIMOT, A. G.: HIV-1 and HIV-2 double infection in french homosexual male with AIDS-related complex. *Lancet* 1, 388 (1987).
- RINALDO, C. R., KINGSLEY, L. A., LYTER, D. W., RABIN, B. S., ATCHISON, R. W., BODNER, A. J., WEISS, S. H., SARCINGER, W. C.: Association of HTLVIII with Epstein-Barr virus infection and abnormalities of T-lymphocytes in homosexual men. *J. Infect. Dis.* 154, 556 (1986).
- SCHMIDT, G., AMIRAIAN, K., FREY, H., STEVENS, R. W., BERNS, D. S.: Densitometric analysis of western blot (Immunoblot) assays for human immunodeficiency virus antibodies and correlation with clinical status. *J. Clin. Microbiol.* 25, 1993 (1987).
- WEBER, J. N., WEISS, R. A., ROBERTS, C., WELLER, I., TEDDER, R. S., CHAPHAM, P. R., PARKER, D., DUNCAN, J., CARNE, C., PINCHING, A. J.: Human immunodeficiency virus infection in two cohorts of homosexual men: neutralising sera and association of anti-gag antibody with prognosis. *Lancet* 1, 119 (1987).