

Zwei ELISA-Verfahren zum Nachweis von SIV- und HIV-2-Antigen wurden entwickelt. ZKÜ, die SIVmac- oder HIV-2-Antigen enthielten, wurden direkt auf MT-Platten überführt. Zum Nachweis von SIVagm war es nötig, die Platten zuvor mit einem gegen dieses Isolat gerichteten monoklonalen Ak zu beschichten. Gebundenes Antigen wurde mit einem mit SIV kreuzreagierenden Serum eines HIV-2ben-infizierten Javaneraffen, vorgefertigten biotinylierten, gegen humanes IgG-gerichteten Ak und Biotin-Streptavidin-Peroxidase-Komplexen nachgewiesen.

Der ELISA wurde in einem Verfahren zum Nachweis neutralisierender Ak in den Seren experimentell infizierter oder immunisierter Makaken angewendet. Der Einfluß einzelner Testbedingungen auf den Titer neutralisierender Ak wurde bestimmt. Die Sensitivität des nAk-Tests hing im wesentlichen von der eingesetzten Virusdosis und der Dauer der Vorinkubation von Serum- und Virusverdünnung ab. Durch Verlängerung der Versuchsdauer von neun auf 11 Tage konnte die Anzahl der fraglichen Testergebnisse reduziert werden.

Die Titer neutralisierender Ak SIVmac251/32H-infizierter Rhesus- und Javaneraffen zeigten erhebliche Unterschiede zwischen den einzelnen Tieren, jedoch nicht zwischen den beiden Spezies. In einigen Fällen blieben die Titer nach einem initialen Anstieg auf einem hohen Niveau. Andere Tiere bildeten überhaupt keine neutralisierenden Ak und in einer dritten Gruppe von Makaken konnten zunächst neutralisierende Ak nachgewiesen werden, aber die Titer sanken zum Zeitpunkt des Todes ab. Mit Ausnahme eines Tieres hatten alle SIVmac251/32H-infizierten Makaken, die verstarben oder wegen SIV-induzierter Erkrankungen euthanasiert worden waren, wenn überhaupt, nur sehr geringe Titer neutralisierender Ak ausgebildet. Auch die mit dem auf Affenlymphozyten vermehrten Virus SIVmac251/APBL infizierten Rhesusaffen erkrankten unter AIDS-ähnlichen Symptomen ohne Ausbildung neutralisierender Ak. Hohe Titer neutralisierender Ak korrelierten mit dem Schutz vor der Erkrankung. Eine weitergehende Korrelation zu klinischen und anderen immunologischen Parametern konnte nicht festgestellt werden.

In den Seren von Makaken, die mit 10^5 KID50 HIV-2ben Virus infiziert wurden, konnten ebenfalls neutralisierende Ak nachgewiesen werden. Nach Infektion mit geringeren HIV-2ben Virusdosen oder SIVagm wurden jedoch keine meßbaren Titer neutralisierender Ak gebildet. Im Gegensatz zu SIVmac führten beide für Makaken apathogenen Virusisolate in Javaner- und Rhesusaffen lediglich zu einer transienten Antigenämie. Die Ausbildung neutralisierender Ak scheint somit ein Mindestmaß an Virusreplikation und damit ein Mindestgehalt an präsentiertem Virusantigen zu erfordern.

Virusisolate mit einer sehr hohen Replikationsrate, wie SIVmac251/APBL verhindern jedoch offenbar durch die induzierte Immundefizienz die Ausbildung neutralisierender Ak.

Eine Schutzwirkung neutralisierender Ak in immunisierten Makaken vor einer Infektion konnte nicht eindeutig nachgewiesen werden. Aus den verschiedenen Vakzineexperimenten hatten nur zwei Tiere, die mit einer SIVagm-TE-Präparation immunisiert worden waren, zum Zeitpunkt der Belastungsinfektion meßbare neutralisierende Ak gebildet. Eines dieser Tiere war vor der SIVmac251/32H-Infektion geschützt, das andere Tier war zwar infiziert, erkrankte jedoch nicht. Es bestand somit zumindest ein weiterer Hinweis auf eine protektive Funktion neutralisierender Ak in immunisierten Makaken.

Makoschey, Birgit: Development of a method for the detection of SIV- and HIV-2 antigen and determination of neutralizing antibodies in infected and immunized macaques

6

Summary

Two ELISA-methods for the detection of SIV- and HIV-2-antigen were developed. Cell culture supernatants containing SIVmac- or HIV-2-antigen could be transferred directly onto microtiterplates. For detection of SIVagm it was necessary to coat the plates with a monoclonal antibody directed against this isolate. Bound antigen was determined with serum of an HIV-2ben-infected cynomolgus monkey cross-reacting with SIV, a preformed biotinylated antibody directed against human IgG and a biotin-streptavidin-peroxidase-complex.

The ELISA was used in an assay for the determination of neutralizing antibodies in the sera of experimentally infected or immunized macaques. Studies were performed to determine the influence of the test conditions on the neutralizing antibody titre. The sensitivity of the neutralizing antibody assay depended mainly on the virus dose used for the assay and the length of incubation of serum-virus mixture. By prolongation of the culture time from nine to 11 days the number of questionable results could be reduced.

Neutralizing antibody titres from SIVmac251/32H-infected rhesus macaques and cynomolgus monkeys showed a considerable variation between individual animals but not between the two species. In some cases titres stayed on a high level after an initial increase. Other animals exhibited no neutralizing antibodies at all and in a third group of macaques neutralizing antibodies could be determined but titres decreased at the time of death. All but one SIVmac251/32H-infected macaque that died or were euthanized because of SIV-induced diseases exhibited, if at all, low titres of neutralizing antibodies. Also rhesus macaques infected with the monkey-cell grown SIVmac251/MPBL virus failed to produce neutralizing antibodies and fell ill with AIDS-like symptoms. High neutralizing antibody titres correlated with protection against disease. A further correlation with clinical and other immunological parameters could not be observed.

Neutralizing antibodies could also be detected in the sera of macaques infected with 10^5 culture infectious doses 50 HIV-2ben. After infection with lower HIV-2ben virus doses or SIVagm no measurable neutralizing antibody titres were exhibited. In contrast to SIVmac both virus isolates, which are non pathogenic for macaques, lead to a transient antigenemia in cynomolgus monkeys and rhesus macaques. Thus the

production of neutralizing antibodies seems to require a minimum of virus replication and consequently a minimum of presented viral antigen. Obviously virus isolates with a very high rate of replication like SIVmac251/MPBL inhibit the production of neutralizing antibodies by induction of an immunodeficiency.

The function of neutralizing antibodies in protecting immunized macaques against infection could not be demonstrated clearly. Out of different vaccine trials only two animals immunized with a SIVagm-tween-ether-preparation exhibited measurable neutralizing antibody titres at the time of challenge. One of them was protected against SIVmac251/32H-infection, the other one became infected but stayed healthy. Thus, this work produced one additional hint for a protective role of neutralizing antibodies in immunized macaques.