

HIV-Subtypverteilung und Prävalenz
von Medikamentenresistenz bei HIV-Neudiagnosen mit
Herkunftsland Subsahara Afrika in 2015 und 2017

Masterarbeit

Zur Erlangung des akademischen Grades

Master of Science (M.Sc.)

von

Carina Feldle

(363867)

Betreuerin: Dr. Andrea Hauser

Betreuer: Stefan Fiedler

Erstgutachter: Prof. Dr. Norbert Bannert

Zweitgutachter: Prof. Dr. Roland Lauster

Berlin, April 2019

ROBERT KOCH INSTITUT



Inhaltsverzeichnis

1. Zusammenfassung	5
1.1 Summary.....	7
2. Abkürzungsverzeichnis.....	9
2.1 Abkürzungsverzeichnis antiretroviraler HIV-Medikamente	12
3. Einleitung.....	13
3.1 Systematik	13
3.2 Ursprung.....	14
3.3 Transmission	15
3.4 Struktur.....	17
3.5 Infektionszyklus.....	20
3.6 Krankheitsverlauf und Pathogenität	23
3.7 Medikation.....	26
3.7.1 Antiretrovirale Therapie	26
3.7.2 PrEP.....	31
3.7.3 PEP.....	32
3.8 Resistenzentwicklung	32
3.9 HIV in Subsahara Afrika	36
3.10 Antiretrovirale Therapien in Subsahara Afrika	40
3.11 HIV in Deutschland	41
3.12 Molekulare Surveillance	43
3.13 Ziel der Arbeit	44
4. Material und Methoden	45
4.1 Materialien	45
4.1.1 Geräte	45
4.1.2 Chemikalien.....	45
4.1.3 Puffer	45
4.1.4 Kits	46
4.1.5 Kontrollen	46
4.1.6 Equipment.....	46
4.1.7 Gerätesoftware	47
4.1.8 Primer	47
4.2 Methoden	48
4.2.1 Extraktion.....	48

4.2.2 Amplifizierung mittels Polymerasekettenreaktion.....	48
4.2.3 Elektrophoreseegel	52
4.2.4 Aufreinigung.....	52
4.2.5 Quantifizierung mittels Pico Green	53
4.2.6 Sequenzierungsmaterialauswahl nach der Gelelektrophorese und PicoGreen.....	54
4.2.7 Next Generation Sequencing	55
4.2.8 Subtyping und Resistenzprofile.....	57
4.2.9 Phylogenetische Analyse	58
5. Ergebnisse.....	60
5.1 Charakteristika der analysierten Populationen	60
5.2 Subtypverteilung.....	68
5.3 Resistenzen gegenüber einer antiretroviralen Therapie.....	72
5.4 Phylogenetische Auswertung	77
6. Diskussion.....	83
6.1 Prognosen der Entwicklung von Populationen aus SSA in Deutschland	83
6.2 Gesundheitszustand der analysierten Populationen	84
6.3 Subtypen.....	85
6.4 Resistenzen	87
6.5 Phylogenetische Zusammenhänge und Ausbruchsgeschehen	90
7. Schlussfolgerung	93
8. Literaturverzeichnis.....	95
9. Eidesstattliche Erklärung	101
10. Danksagung	102
11. Anhang	103

1. Zusammenfassung

Die molekulare Surveillance neu diagnostizierter HIV-Infektionen ist ein hilfreiches Mittel für das Erkennen zirkulierender HIV-Varianten, einschließlich solcher, die Arzneimittelresistenzen besitzen, um die Wirksamkeit der Therapie aufrechtzuerhalten. Die Flüchtlingswelle nach Europa mit der teilweise obligatorischen HIV-Testungen von Asylbewerbern in Deutschland führten zu einer wachsenden Zahl von neudiagnostizierten Personen aus Subsahara Afrika (SSA) mit dem höchsten Peak im Jahr 2015. Die zunehmende Prävalenz von HIV-Medikamentenresistenz in SSA war Anlass, einen potentiellen Import neuer oder bekannter Mutationen zu überwachen. Zusätzlich wurden alle Viren auf ihren Subtyp untersucht.

Virusvarianten (HIV-Subtyp und Resistenzen) wurden hinsichtlich der Herkunft und des Infektionsorts der Personen analysiert. Ein anschließender Vergleich der Ergebnisse aus dem Jahr 2015 mit den Daten aus 2017 soll mögliche Veränderungen aufzeigen und Prognosen für die zukünftige Entwicklung generieren.

Das Robert Koch-Institut (RKI) erhält für die molekulare HIV-Surveillance filtergetrocknete Serumproben (DSS) von etwa 60% der neu in Deutschland gemeldeten HIV-Infektionen. Virale RNA wird aus DSS extrahiert und die mit HIV-1-Resistenz-assoziierten Regionen PR, RT und INT werden durch die PCR amplifiziert, mittels NGS sequenziert und auf Subtyp-Affiliation und Resistenzmutationen analysiert.

Im Jahr 2015 wurden dem RKI 379 DSS von neudiagnostizierten Personen mit Herkunftsland SSA zugesandt. Von 208 Individuen (55%) - mehrheitlich aus West- und Ostafrika – konnten die Viren erfolgreich genotypisiert werden. Zum Vergleich wurden im Jahr 2017 153 von 360 (43%) Neudiagnosen mit Herkunftsland SSA analysiert.

Ein Vergleich der Subtypverteilung zeigt einen signifikanten Unterschied bei Subtyp C- und CRF02_AG-Infektionen. In der analysierten Population aus 2015 war Subtyp C mit 32% die häufigste Virusvariante, gefolgt von CRF02_AG mit 26% und G mit 10%. Im Gegensatz dazu bildete der Subtyp CRF02_AG im Jahr 2017 mit 39% den häufigsten Subtyp, gefolgt von G und C mit jeweils 17%. Diese Veränderungen sind auf die Differenzen der Herkunftsregionen zwischen den analysierten Probensets zurückzuführen, da die Studienpopulation im Jahr 2015 mehr Personen aus ostafrikanischen Regionen beinhaltete, in welchen eine höhere Prävalenz für Subtyp C-Infektionen herrscht.

Die steigende Anzahl an Subtyp A- und C-Infektionen in Deutschland kann nicht auf die steigende Anzahl an Asylbewerbern mit Herkunftsland SSA zurückgeführt werden, da diese

Subtyp-Virusvarianten mit Personen aus Zentral-/Osteuropa und den Transmissionsgruppen der MSM und PWID assoziiert werden, welche in der Population mit Herkunftsland SSA zu geringen Anteilen vertreten sind.

Arzneimittelresistenz wurde in 8,2% des Studienkollektivs aus dem Jahr 2015 festgestellt, bestehend aus 3,4% gegen NNRTIs, 1,9% gegen NRTIs, 1,0% gegen PIs und 1,9% mit dualer Resistenz (gegen NNRTIs/NRTIs). Eine Resistenz im HIV- Genom wurde 2017 in 11,1% identifiziert, bestehend aus 6,5% gegen NNRTIs, 1,9% gegen NRTIs, 0,7% gegen PIs und 2,0% gegen duale Resistenzen. Es konnte kein signifikanter Anstieg an Resistenzen innerhalb der analysierten Populationen festgestellt werden. Die detektierten Resistenzen haben keinen Einfluss auf die Resistenzprävalenz in Deutschland, welche im letzten Jahrzehnt stabil geblieben ist und höhere Prävalenz im Vergleich zum analysierten Probenstet aufweist.

Aufgrund der zunehmenden Anzahl an NNRTI-resistenten HIV-Varianten, in SSA und in Deutschland, wird von der Verwendung von NNRTIs, wie in den WHO-Behandlungsrichtlinien beschrieben, abgeraten. Eine geeignete Möglichkeit wäre das Ersetzen der NNRTIs durch PIs. Da die Personen der analysierten Studienkollektive mehrheitlich Langzeitinfektionen aufwiesen und sich in ihren Herkunftsländern infiziert haben, sollten dort medizinische und soziale Maßnahmen politisch gefördert werden. Dies schließt zum einen Aufklärungskampagnen und Diskriminierungsvermeidung, aber auch die Verbesserung der medizinischen Versorgung in SSA ein. Für die in Deutschland lebenden Asylsuchenden aus SSA sollte eine geförderte Behandlungsbegleitung etabliert werden.

1.1 Summary

Molecular surveillance of newly diagnosed HIV infections is a useful tool for tracking circulating HIV-variants, including those possessing drug resistances to sustain therapy efficacy. The wave of refugees to Europe, with partly compulsory HIV testing of asylum seekers in Germany, led to a growing number of newly diagnosed sub-Saharan Africa (SSA) people with the highest peak in 2015. The increasing prevalence of HIV-drug resistance in SSA was reason to monitor a potential import of new or known mutations. In addition, all viruses were examined for their subtype.

Virus variants (HIV subtype and resistances) were analyzed regarding the origin and the place of infection of the persons. A subsequent comparison of the results from the year 2015 with the data from 2017 should show possible changes and generate forecasts for future developments.

The Robert Koch Institute (RKI) receives dried serum spots (DSS) of about 60% of newly reported HIV infections in Germany. Viral RNA is extracted from DSS and the HIV-1 resistance associated regions PR, RT and INT are amplified by PCR, sequenced by NGS and analyzed for subtype affiliation and resistance mutations.

In 2015, 379 DSS were sent to the RKI by newly diagnosed persons whose country of origin was SSA. Of 208 individuals (55%) - mostly from West and East Africa - the viruses were successfully genotyped. For comparison, in 2017, 153 out of 360 (43%) new diagnoses were analyzed with the country of origin SSA.

A comparison of subtype distribution shows a significant difference in subtype C and CRF02_AG infections. In the analyzed population from 2015, subtype C was the most common virus variant at 32%, followed by CRF02_AG at 26% and G at 10%. In contrast, subtype CRF02_AG was the most common subtype in 2017 at 39%, followed by G and C at 17% each. These changes are due to differences in regions of origin between sample sets analyzed, as the study population in 2015 included more people from East African regions with a higher prevalence of subtype C infections.

The increasing number of subtype A and C infections in Germany cannot be attributed to the increasing number of asylum seekers with country of origin SSA, as these subtype virus variants are associated with persons from Central / Eastern Europe and the transmission groups of MSM and PWID in the population, which are represented in the population with country of origin SSA to small proportions.

Drug resistance was found in 8.2%, consisting of 3.4% against NNRTIs, 1.9% against NRTIs, 1.0% against PIs, and 1.9% with dual resistance (against NNRTI/NRTI). Resistance in the HIV genome was identified in 11.1% in 2017, consisting of 6.5% against NNRTIs, 1.9% against NRTIs, 0.7% against PIs and 2.0% against dual resistance. There was no significant increase in resistance within the analyzed populations.

The detected resistances have no influence on the prevalence of resistance in Germany, which has remained stable over the last decade and has a higher prevalence compared to the analyzed sample set.

Due to the increasing number of NNRTI-resistant HIV variants in SSA and Germany, the use of NNRTIs as described in the WHO treatment guidelines is discouraged. A suitable option would be to replace the NNRTIs with PIs. Since the majority of the analyzed study groups had long-term infections and became infected in their countries of origin, medical and social measures should be politically promoted there. This includes, on the one hand, awareness-raising campaigns and discrimination prevention, but also the improvement of medical care in SSA. For the asylum seekers from SSA living in Germany, a subsidized treatment support should be established.

2. Abkürzungsverzeichnis

AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome (erworbenes Immundefektsyndrom)
ART	antiretroviral treatment (antiretrovirale Therapie)
Bidest.	Aqua Bidestillata (zweifach destilliertes Wasser)
bp	baisepair (Basenpaare)
CA	capsid (Kapsid)
cART	combined ART (kombinierte, antiretrovirale Therapie)
CD	cluster of differentiation (Differenzierungscluster)
CDC	Centers for Disease Control and Prevention (Klassifizierung der klinischen Stadien)
cDNA	complementary deoxyribonucleic acid (komplementäre Desoxyribonukleinsäure)
cpx	complex (komplex)
CRF	circulating recombinant forms (zirkulierende, rekombinante Formen)
dNTP	deoxyribonucleotide triphosphate (Desoxyribonukleotidtriphosphat)
DPS	dried plasma spots (getrocknete Plasmatropfen)
dsDNA	double stranded DNA (doppelsträngige DNA)
DSS	dried serum spots (getrocknete Serumtropfen)
EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid (Ethylendiamintetraessigsäure)
env	envelope (Gen für virale Hüllproteine)
gag	group specific antigen (Gen für virale Kapsidproteine)
gp	glycoprotein (Glykoprotein)
HAART	highly active antiretroviral therapy (hochaktive antiretrovirale Therapie)
HET	persons with heterosexual mode of transmission (heterosexuelle Personen)
HIV	human immunodeficiency virus (humanes Immundefizienzvirus)
HTLV	human Tlyphotropic virus (Humanes Tlymphotropes Virus)
INI	integrase inhibitor (Integraseinhibitor)
INSTI	integrae strand transfer inhibitor (Integrase-Strangtransferinhibitor)
INT	integrase
LTR	long terminal repeats (lange, endsträngige Wiederholungen)
μl	Mikroliter

MA	matrix (Matrix)
ml	Milliliter
min	Minute
MSM	men who have sex with men (Männer, die Sex mit Männern haben)
n	Anzahl
NC	nucleo capsid (Nukleokapsid)
nef	negative factor (Gen für akzessorisches Protein)
NGS	next generation sequencing (neuartige Sequenzierungsmethode)
NK	Negativkontrolle
NNRTI	nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor (nichtnukleosidischer Reverse Transkriptase-Inhibitor)
NRTI	nucleoside reverse transcriptase inhibitor (nukleosidischer Reverse Transkriptase-Inhibitor)
ORF	open reading frame (offener Leserahmen)
PCR	polymerase chain reaction (polymerase Kettenreaktion)
PK	Positivkontrolle
pol	polymerase (Gen für Virusenzyme)
PPI	preperinatal infection (Präperinatale Infektion)
PR	protease
PWID	people who inject drugs (Personen, die Drogen injizieren)
rev	regulator of viral gene expression (Gen für akzessorisches Protein)
RFU	relative fluorescence units (relative Fluoreszenzeinheit)
RNA	ribonucleotide acid (Ribonukleinsäure)
RNaseH	ribonuclease H (Ribonuklease H)
RNasin	ribonuclease inhibitor (Ribonukleasehemmer)
rpm	revolutions/rotations per minute (Umdrehungen pro Minute)
RT	reverse transcriptase (reverse Transkriptase)
SDRM	Surveillance Drug Resistance Mutation (medikamentenresistente Mutationen aus der Surveillance)
SIV	simian immunodeficiency virus (simianes Immundefizienzvirus)
SSA	subsaharan africa (Subsahara Afrika)

SU	surface unit (Oberflächeneinheit)
TAE	trisacetate-EDTA (Tris-Acetat-EDTA)
tat	transcriptional activator (Gen für akzessorisches Protein)
TM	trans membrane (Transmembran)
TDR	transmitted drug resistance (übertragene Wirkstoffresistenz)
TRIS	tris(hydroxymethyl)aminomethane (Tris(hydroxymethyl)aminomethan)
tRNA	transfer RNA (Transfer RNA)
UNAIDS	Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (Gemeinsames Programm für HIV/AIDS)
URF	unique recombinant form (singuläre rekombinante Form)
UTR	untranslated region (untranslatierter Bereich)
vif	viral infectivity factor (Gen für akzessorisches Protein)
VL	Viruslast
Vol.	Volumen
vpr	viral protein R (Gen für akzessorisches Protein)
vpu	viral protein U (Gen für akzessorisches Protein)
WHO	World Health Organisation (Weltgesundheitsorganisation)

2.1 Abkürzungsverzeichnis antiretroviraler HIV-Medikamente

3TC	Lamivudin
ABC	Abacavir
ATV	Atazanavir
AZT	Zidovudin
BIC	Bictegrafir
D4T	Stavudin
DDI	Didanosin
DOR	Doravirin
DRV	Darunavir
DTG	Dolutegravir
EFV	Efavirenz
ETR	Etravirin
EVG	Elvitegravir
FPV	Fosamprenavir
FTC	Emtricitabin
IDV	Indinavir
LPV	Lopinavir
NFV	Nelfinavir
NVP	Nevirapin
RAL	Raltegravir
RPV	Rilpivirin
SQV	Saquinavir
TDF	Tenovir
TPV	Tipranavir

3. Einleitung

1983 wurde entdeckt, dass HIV – damals noch HTLV-3 (human T-lymphotropic virus-3) genannt – der Auslöser für die Immunschwächekrankheit AIDS (acquired immune deficiency syndrome) ist und horizontal von Mensch zu Mensch übertragen werden kann (Barré-Sinoussi et al., 1983). Erstmals über AIDS wurde 1981 berichtet (Gottlieb et al., 1981).

Seit dem Auftreten der Krankheit haben sich mehr als 70 Millionen Menschen mit dem Virus infiziert, circa 39 Millionen aller Infizierten sind an den Folgen der Krankheit gestorben (UNAIDS, 2014). Derzeit leben schätzungsweise 36,9 Millionen Menschen mit HIV (UNAIDS, 2018). Im Jahr 2017 infizierten sich laut UNAIDS circa 1,8 Millionen mit dem Virus. Heute gibt es kein Land mehr, welches nicht von Infektionen mit HIV betroffen ist (Hoffmann & Rockstroh, HIV 2016/17, 2016, S. 11).

3.1 Systematik

HIV gehört zu der Gruppe der Retroviren (Craigie et al., 2012), welche wiederum in einfache und komplexe Retroviren unterteilt wird. Retroviren zeichnen sich durch die Präsenz einzelsträngiger RNA aus, welche in doppelsträngige DNA umgeschrieben wird. Damit dies gelingt, müssen Viren aus dieser Klasse das Enzym Reverse Transkriptase (RT) enthalten. HIV als Retrovirus kann daher mit Hilfe der am RNA-Genom gebundenen RT sein Genom kopieren und in das Wirtsgenom integrieren.

Die Gruppe der komplexen Retroviren, zu welcher HIV gehört, wird auch Lentiviren genannt und unterscheidet sich durch den Mechanismus des alternativen Spleißens, wodurch eine größere Variabilität und Regulation der Genom-Sequenz möglich ist (Haase, 1999). Zudem weisen Lentiviren eine Vielzahl an regulatorischen Proteinen auf und bewirken chronische, sich langsam und progressiv entwickelnde Krankheitsverläufe.

Die verschiedenen Typen von HIV, HIV-1 und HIV-2, unterscheiden sich in genetischen und strukturellen Eigenschaften, dennoch zeigen beide Arten einen ähnlichen Krankheitsverlauf (Gao et al., 1994). HIV-2 wurde 1986, drei Jahre nach HIV-1, entdeckt (Clavel et al., 1986). Sie können in weitere Untergruppen und Subtypen eingeteilt werden: HIV-1 wird in die Untergruppen M (major), N (new), O (outlier) und P (pending the identification of further human cases) eingeteilt. Davon wird Gruppe M wiederum in neun Subtypen unterteilt: A, B, C, D, F, G, H, J, K und verschiedenen CRFs (HIV sequence database (2017), 'HIV Circulating Recombinant Forms (CRFs)'). Insgesamt ist die Untergruppe M mit circa 90 % aller HIV-Infektionen eine pandemisch auftretende Infektion unter den HIV-Erkrankungen. Von den Subtypen ist Typ C mit 46,6% die am häufigsten auftretende Variante, gefolgt von Subtyp B

mit 12,1% und Subtyp A mit 10,3% (Hemelaar et al., 2018). CRFs entstehen durch eine Ko-Infektion mit zwei verschiedenen Subtypen, wobei momentan 96 verschiedene CRFs bekannt sind. HIV-2 wird in die Untergruppen A - H unterteilt. Bisher ist eine CRF von HIV-2 bekannt (Hemelaar et al., 2012). Es ist im Vergleich zu HIV-1 geringer verbreitet und meist weniger virulent und übertragbar (Rawson et al., 2015), dennoch ebenfalls ein Auslöser für AIDS (Sharp et al., 2011). HIV-2 ist für weniger als 1% aller HIV-Infektionen verantwortlich und lässt sich regional auf Westafrika und Europa, besonders Portugal (Valadas et al., 2009), Frankreich und Spanien (Soriano et al., 1996) begrenzen, weshalb sich im Folgenden alle Informationen lediglich auf HIV-1 beziehen.

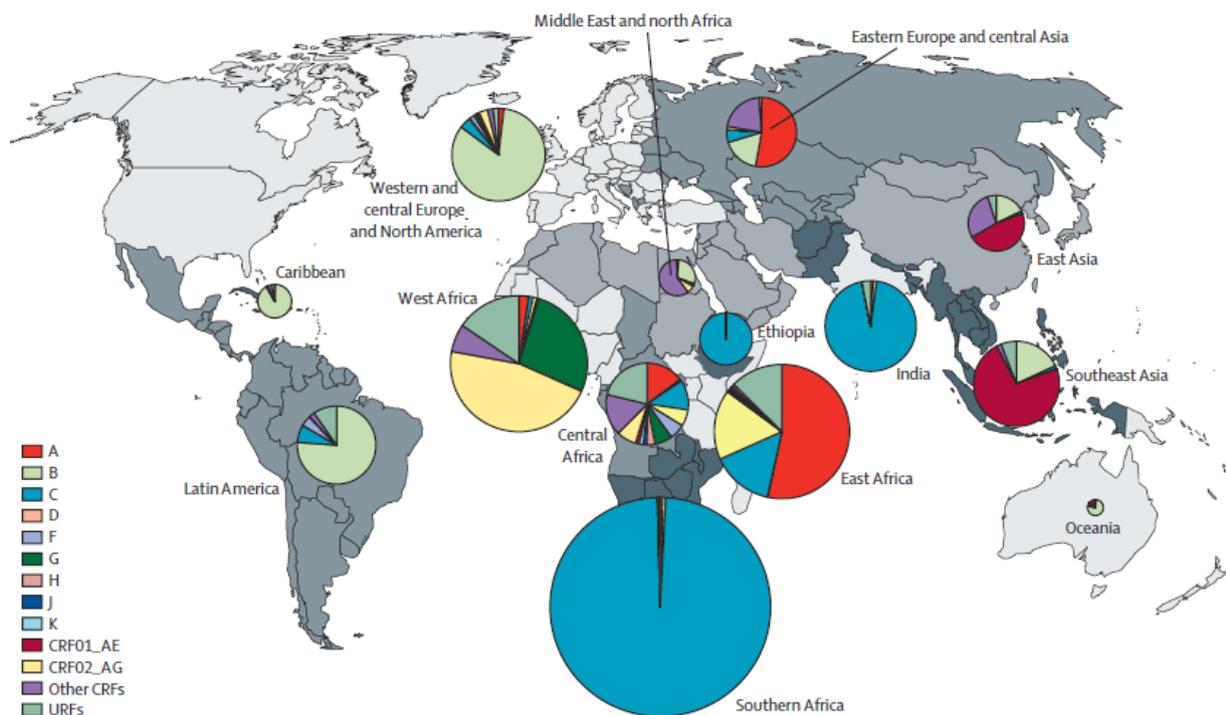


Abbildung 1: Prävalenz der HIV-1 Subtypen, CRFs und URFs aus einer Datenanalyse der Jahre 2010-2015. In Westeuropa, Zentraleuropa und Nordamerika ist Subtyp B mit 83,3% der am häufigsten auftretende Subtyp. Zentralafrika weist die höchste Diversität an Subtypen auf; am verbreitetsten sind Subtyp A (14,7%) und C (11,9%). Subtyp C bildet in Südafrika (98,8%) und Äthiopien (99,4%) den vorherrschenden Subtyp. In Westafrika ist mit 46,2% CRF_AG die dominiert auftretende Virusvariante, gefolgt von Subtyp G mit 26,8%. In Ostafrika ist Subtyp A mit 53,4% der am häufigsten auftretende Subtyp, gefolgt von Subtyp D (16,8%) und C (14,8%). Die unterschiedlichen Graustufen zeigen die Zugehörigkeit zu den in der Abbildung gezeigten regionalen Einteilung. Quelle: Hemelaar et al., 2018

3.2 Ursprung

HIV-1 stammt von simianen Lentiviren (SIV, simian immunodeficiency virus) ab, deren Wirt ursprünglich Affen in Afrika waren (Sharp et al., 1995). Dabei entstanden durch unabhängige Übertragungen die verschiedenen Gruppen (Sharp et al., 2011). Sie wurden, vermutlich zwischen 1920 und 1939 ((Hoffmann & Rockstroh, HIV 2016/17, 2016, S. 11), durch artenübergreifende Übertragung des SIV von Gorillas (Gruppe O und P) und Schimpansen (Gruppe M und N) in Westzentralafrika auf

den Menschen übertragen (Peeters et al., 2013). Von Afrika wurde HIV-1 über Haiti nach Amerika gebracht, von wo aus es zu einer globalen Epidemie kam (Hoffmann & Rockstroh, HIV 2016/17, 2016, S. 12). Die Übertragung des HIV-2 Typs ereignete sich durch acht unabhängige Transmissionen des SIV in Westafrika (Cohen, 2000), welche durch die Affenart des Rußmangabens zunächst auf Menschenaffen und darauffolgend auf den Menschen übertragen wurde (Peeters et al., 2013).

3.3 Transmission

Sexualkontakt: Der am häufigsten zu einer Ansteckung führende Infektionsweg ist der ungeschützte Sexualkontakt (siehe Tabelle 1). Die Viren befinden sich in Körperflüssigkeiten und Sekreten und können über die vaginalen oder rektalen Schleimhäute aufgenommen werden, in welchen sich viele dendritische Zellen befinden. Besonders in Samenflüssigkeit befindet sich eine hohe Konzentration an Viren. Das Übertragungsrisiko hängt von mehreren Faktoren ab: Das Infektionsstadium der infektiösen Person spielt dabei eine entscheidende Rolle; besonders in der akuten Phase (siehe Kapitel 3.5) und in der Phase einer AIDS-Erkrankung, welche sich durch eine hohe Viruslast im Körper auszeichnen, besteht die erhöhte Wahrscheinlichkeit einer Transmission. Aber auch weitere Umstände wie Schleimhautverletzungen, Erkrankung an anderen sexuell übertragbaren Krankheiten wie Syphilis und Genitalherpes, Entzündungen, Sexualverhalten und Eintrittspforte haben großen Einfluss (WHO Implementation tool, 2017). So ist bei Analverkehr im Vergleich zu vaginalem Verkehr eine höhere Übertragungswahrscheinlichkeit gegeben. Auch das Sexualverhalten, z.B. häufig wechselnde Sexualpartner, promiskuitives und polygames Verhalten, können besonders unter Risikogruppen oder in Endemiegebieten eine Infektion begünstigen. Aus diesem Grund gelten Menschen, die sich ungeschützt prostituieren, als besonders gefährdet. Nach aktuellem Wissensstand können Infizierte, welche sich durchgehend in Therapie befinden und keine detektierbare Viruslast mehr aufweisen, ungeschützten Sexualverkehr ohne Risiko einer Transmission ausüben (Cohen, 2000).

Intravenöser Drogengebrauch: Menschen, die sich intravenös Drogen injizieren und dabei unsterile Kanülen und Spritzen nutzen, welche gemeinsam mit anderen Drogenkonsumenten genutzt werden, unterliegen ebenfalls einem hohen Infektionsrisiko. Da bei Kanülen meist eine nicht unerhebliche Menge an Blut im Inneren verbleibt, stellen sie ein Risiko bei hoher Viruslast dar (Hoffmann & Rockstroh, HIV 2016/17, 2016, S. 6).

Vertikale Infektionen: Ein weiterer Übertragungsweg ist die Mutter-Kind-Übertragung, welche sich mit erhöhter Wahrscheinlichkeit im letzten Trimester, während der Geburt oder beim anschließenden Stillen mit Muttermilch ereignet (De Cock et al., 2000). Ohne Therapie liegt die Wahrscheinlichkeit

einer Transmission bei bis zu 40%, mit Medikation kann sie auf unter 1% reduziert werden (Hoffmann & Rockstroh, HIV 2016/17, 2016, S. 6).

Weitere Infektionsquellen stellen Blutprodukte dar, die allerdings in den meisten Regionen der Welt auf HIV-1 und HIV-2 getestet werden. Dieser Infektionsweg stellt daher nur in seltenen Fällen ein Risiko dar. Durch alltägliche Kontakte wie Mundschleimhautkontakt, Hautkontakt oder Ähnliches besteht kein Risiko. Auch wurde bislang kein Übertragungsweg durch Insekten entdeckt (Hoffmann & Rockstroh, HIV 2016/17, 2016, S. 7).

Tabelle 1: Transmissionswahrscheinlichkeiten pro Infektionsweg. Bei einer infizierten Bluttransfusion ist die Übertragungswahrscheinlichkeit am höchsten. Dennoch ist dieser Transmissionsweg aufgrund von Bluttransfusionstestungen auf HIV sehr unwahrscheinlich. Von den übrigen Infektionswegen ist die Transmissionswahrscheinlichkeit bei Analverkehr als rezeptive Person am höchsten, gefolgt von Drogengebrauch. Oralsex hingegen zeigt kaum Übertragungswahrscheinlichkeiten. Quelle: UK Guideline for the use of HIV Post-Exposure Prophylaxis Following Sexual Exposure (PEPSE) 2015

Infektionsweg	Medianes Risiko einer Transmission (+ 95% CI ¹)
Analsex (rezeptiv)	1.11% (0.042%–3.0%)
Analsex (insertiv)	0.06% (0.06%–0.065%)
Vaginalsex (rezeptiv)	0.1% (0.004%–0.32%)
Vaginalsex (insertiv)	0.082% (0.011%–0.38%)
Oralsex (rezeptiv)	0.02% (0%–0.04%)
Oralsex (insertiv)	0%
Bluttransfusion	90%–100%
Nadelstichverletzungen	0.3% (0.2%–0.5%)
Unsteriler Drogengebrauch	0.67%
Schleimhautexposition	0.63% (0.018%–3.47%)

¹ confidence intervall (Konfidenzintervall)

In den meisten Industrieländern stellt der homosexuelle Geschlechtsverkehr den häufigsten Transmissionsweg dar (Abbildung 2). Aus diesem Grund wurden in Amerika und Europa nach Entdeckung der Krankheit viele Vorurteile und falsche Behauptungen bezüglich der Risikogruppen verbreitet (Chesney et al., 2002). Dennoch bilden MSM (Männer, die Sex mit Männern haben) aufgrund der erhöhten Transmissionswahrscheinlichkeit die größte Gruppe an HIV-Infizierten.

In Subsahara Afrika ist der Hauptinfektionsweg der heterosexuelle Geschlechtsverkehr und in Ländern der ehemaligen Sowjetunion sowie Asien stellt der intravenöse Drogengebrauch die häufigste Transmission dar, wie in Abbildung 2 zu erkennen ist. In vielen osteuropäischen und asiatischen Ländern lässt sich im Gegensatz zur globalen Entwicklung von HIV-Infektionen eine steigende Anzahl an Neuinfektionen feststellen (Hoffmann & Rockstroh, HIV 2016/17, 2016, S. 12). Während in

westeuropäischen Ländern viele Präventionsmaßnahmen bezüglich eines sterilen Drogengebrauches eingeführt wurden wie beispielsweise Spritzenautomaten und Aufklärungskampagnen, gilt der Konsum von Drogen in vielen osteuropäischen Ländern als illegal, weshalb die Verfügbarkeit von sterilen Materialien nicht unterstützt wird. In vielen westeuropäischen Ländern konnte durch die präventiven Maßnahmen die Transmissionsrate reduziert werden (Hoffmann & Rockstroh, HIV 2016/17, 2016, S. 6).

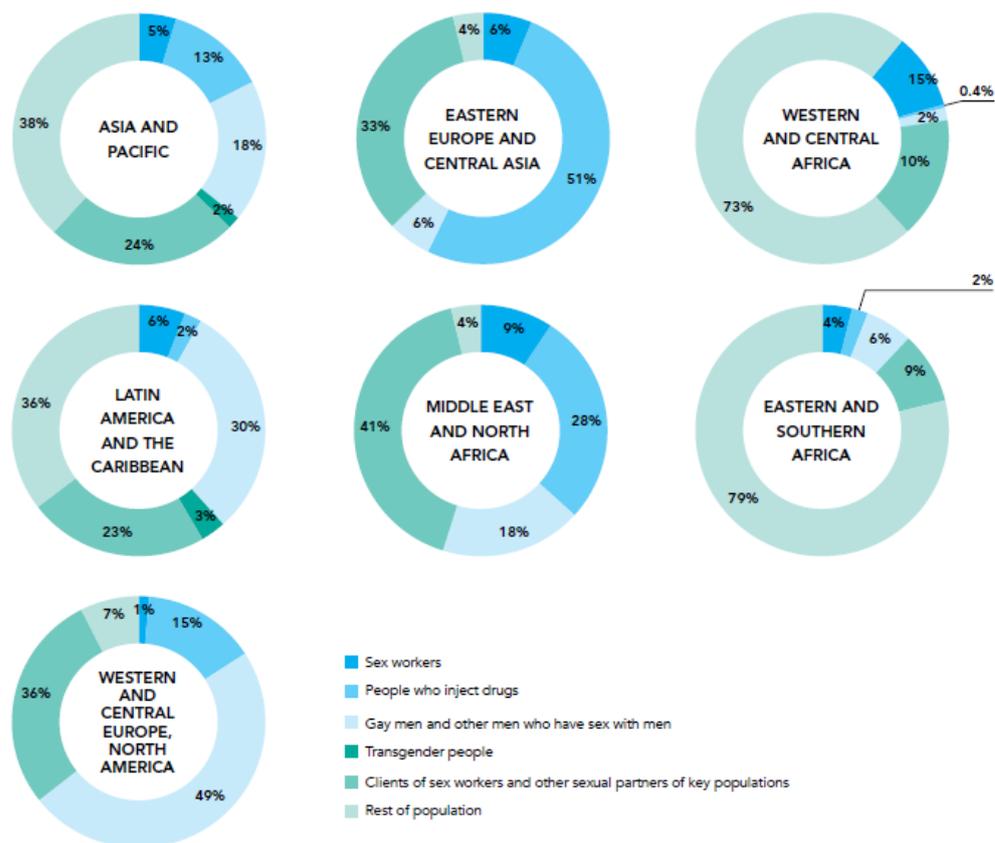


Abbildung 2: Regionale Verteilung der Infektionswege. In Osteuropa und Zentralasien entstehen die meisten Infektionen durch Drogengebrauch. In Westeuropa und Nordamerika bildet der homosexuelle Geschlechtsverkehr und in den meisten Regionen Afrikas der Geschlechtsverkehr zwischen heterosexuellen Menschen den Hauptinfektionsweg. Quelle: http://www.aidsdatahub.org/sites/default/files/presentation_document/Global_AIDS_Update_2016_slides.pdf (24.09.2018)

3.4 Struktur

Das circa 100 nm große Virus (Hoffmann & Rockstroh, HIV 2016/17, 2016, S. 23) ist von einer Lipiddoppelschicht umgeben, welche mit sogenannten Spikeproteinen, oder auch Hüllglykoproteinen, besetzt ist. Diese bestehen zum einen aus Transmembranproteinen (TM) gp41, zum anderen aus auf den TM aufliegenden Oberflächenproteinen (SU) gp120 (Gelderblom et al., 1989). Die Namen haben die Proteine durch ihre Molekülmasse, welche beispielsweise 120 kDa im gp120 beträgt. Sie sind für das Anheften des Viruspartikels an die CD4⁺ Wirtszelle (cluster of differentiation 4) nötig. Unter der

Membran befindet sich eine stützende Matrix, welche wiederum das phosphorlipidbesetzte Capsid umgibt, welches Chlorophilin A, eine Untereinheit der Chaperone aus der Wirtszelle enthält und dem Virus seine zylinderartige Form gibt. Im Inneren des Virus sind zwei einzelsträngige RNA-Genome vorhanden, die von Nucleocapsidproteinen (NC) bedeckt sind. Das HI-Virus enthält immer zwei Kopien seines Genoms (Dubois et al., 2018). Zudem befinden sich an der RNA viele Kopien der Reversen Transkriptase, Primer in Form von aus der zuvor infizierten Wirtszelle stammenden tRNA und Protease (PR). Zusätzlich befinden sich im Virusinneren die restlichen akzessorischen Proteine sowie die Integrase (INT) (Slonczewski, Mikrobiologie, 2012, S. 473). Alle Bestandteile sind in Abbildung 3 schematisch dargestellt.

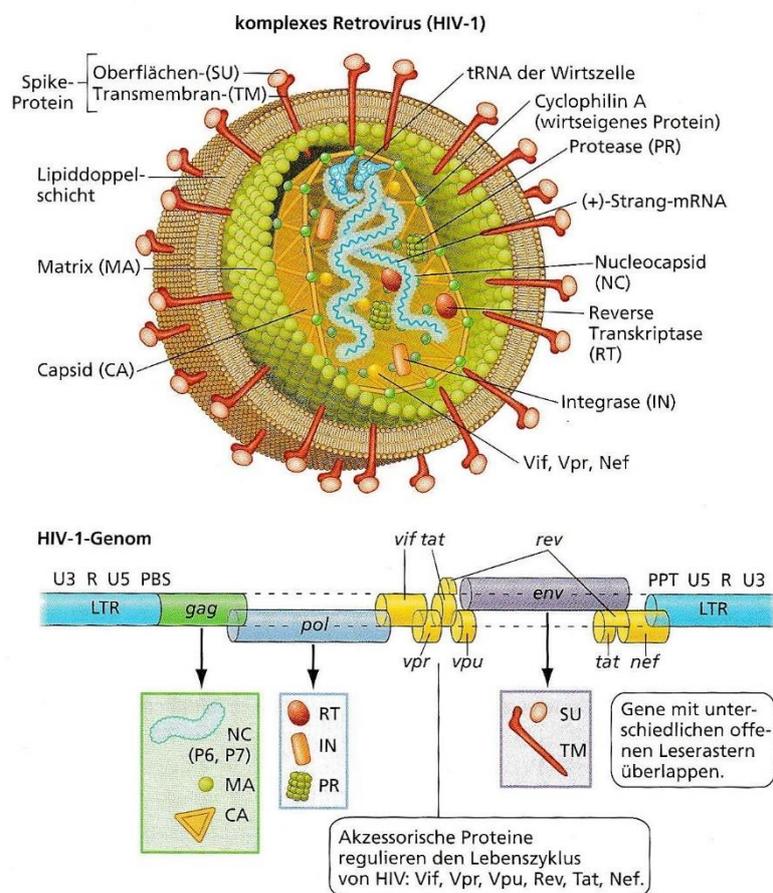


Abbildung 3: Schematische Darstellung des HIV-1 und die für die einzelnen Zellbestandteile codierenden Genabschnitte. Die überlappenden Leseraster der verschiedenen Gene sind zu erkennen. Quelle: (Slonczewski, Mikrobiologie, 2012, S. 473)

Die terminalen Enden des Genoms bilden LTR-Sequenzen (long terminal repeats), die den endogenen Einbau der Virus-DNA in das Wirtsgenom ermöglichen und Start sowie Ende der Transkription steuern. Das HIV-Genom besteht aus drei offenen Leserastern, *gag*, *pol* und *env* genannt (Hoffmann & Rockstroh, HIV 2016/17, 2016, S. 24). *Pol* (*polymerase*) codiert für die drei Enzyme RT, PR und INT. *Gag* (*group-antigen*) codiert für die Matrix- (p17), Nucleocapsid- (p6, p7) und Capsidproteine (p24); *env*

(*envelope*) ermöglicht die Codierung der Spikeproteine. Die Sequenzen der *gag* und *pol* überlappen, werden aber durch unterschiedliche Leseraster der Triplets unabhängig voneinander translatiert. Die Aufgabe der Protease ist es das somit gebildete Polypeptid zu spalten und funktionsfähige, reife Viren zu bilden. Zudem überlappt *pol* mit *vif*. Auch die *env*-Sequenz ist überlappend, zum einen mit dem Gen des akzessorischen Proteins *vpu*, sowie mit *tat*. Diese für Lentiviren charakteristischen Proteine regulieren den Infektionsverlauf und haben folgende Funktionen (Abbas, Basic Immunology, 2006/07, S. 218):

- Vif (viral infectivity factor): Schützt die RT vor dem Protein APOBEC3G, welches als Bestandteil der Immunantwort in neu entstandenen Viren Hypermutationen durch das Umschreiben von Guanin zu Adenosin hervorruft (siehe Abbildung 4)
- Vpr (viral protein R): Transkriptionsfaktor; aktiviert HIV-Transkription in G₂-Zellzyklusphase, stoppt T-Lymphozytenvermehrung, verstärkt Makrophageninfektion, importiert Virus-DNA in den Zellkern und ermöglicht so Infektion von teilungsinaktiven Zellen
- Tat (transcriptional activator): Transkriptionsfaktor; aktiviert Transkriptionsablauf der viralen DNA, reguliert Zellzyklusarrest (G₀)
- Vpu (viral protein U): Beschleunigt Modellierung und Ausknospung der Virionen und löst diese vom wirtseigenen Adhäsionsprotein Tetherin, degradiert CD4-Rezeptoren
- Rev (regulator of viral gene expression): Stabilisiert und exportiert mRNA aus dem Zellkern und sorgt somit für den Übergang der latenten zur virusproduzierenden Phase
- Nef (negative factor): Reduktion der MHC-I- und CD4-Expression, verstärkt Virusinfektiosität, blockiert Apoptose

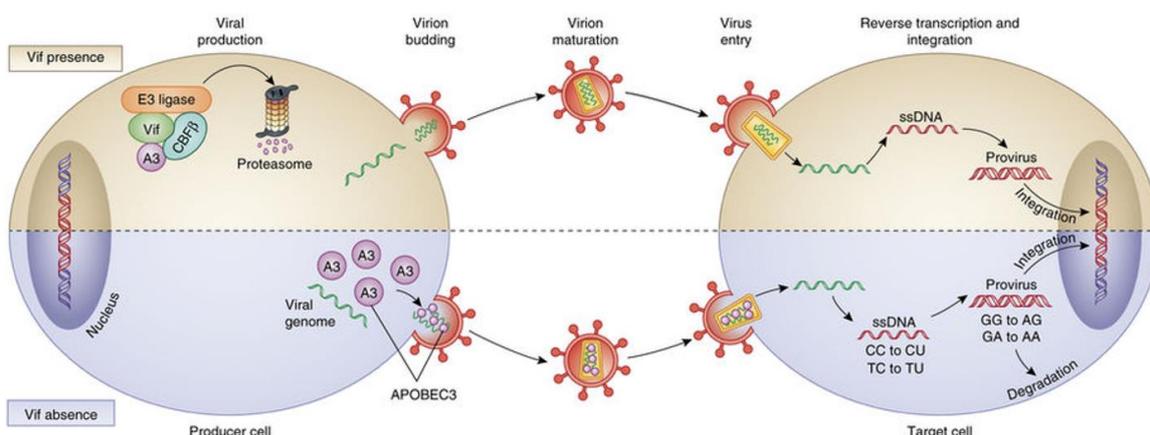


Abbildung 4 (Simon et al., 2015): Beispiel einer Wirkungsweise von akzessorischen Proteinen anhand von Vif. Infektionsverlauf mit (oben) und ohne (unten) Vif-Protein. Mit Anwesenheit des Vifs wird APOBEC3G zerstört und kann keine Hypermutationen im neu synthetisierten DNA-Strang bewirken, welche eine Degradation der Virus-DNA und somit eine Verhinderung der Entstehung von neuen, funktionsfähigen Viren auslösen kann.

3.5 Infektionszyklus

Für die Signalperzeption ist das Glykoprotein gp120 an der Oberfläche des HI-Virus, der Glykokalyx, verantwortlich (Biochemie Zellbiologie, 2008, S. 474). Durch Vorhandensein dieses Proteins ist es dem Virus möglich an die Oberfläche der Wirtszelle, genauer an die CD4-Rezeptoren und die Ko-Rezeptoren CCR5 und/oder CXCR4 zu binden (Piguet et al., 1999). Diese Chemokinrezeptoren sind auf den Oberflächen von CD4⁺-Zellen zu finden, was erklärt, weshalb diese Zellen das Ziel einer HIV-Infektion sind. CD4⁺-Lymphozyten sind ein wichtiger Bestandteil der T-Zellen des menschlichen Immunsystems und erkennen fremde Proteinfragmente auf einer Vielzahl von Zelloberflächen, woraufhin weitere Zellen des Immunsystems aktiviert werden und eine spezifische Immunantwort ausgelöst werden kann. Da Makrophagen und dendritische Zellen, Zellen des angeborenen Immunsystems, ebenfalls durch einige ihrer Chemokinrezeptoren von HIV infiziert werden können, kann sich das Virus zusätzlich ausbreiten und das Immunsystem gleichzeitig schwächen (Abbas, Basic Immunology, 2006/07, S. 217). Der Mechanismus der Perzeption ist in Abbildung 5 dargestellt.

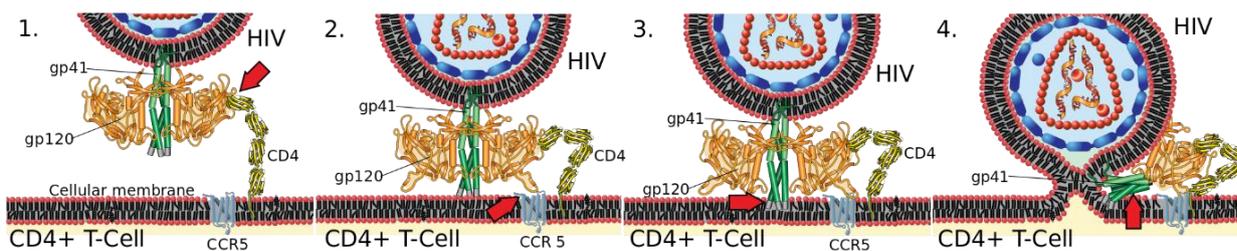


Abbildung 5: Perzeption von HIV. 1.: Das Glykoprotein gp120 bindet an den CD4-Rezeptor. 2.: Gp120 gelangt an die Wirtsoberfläche und bindet an den Ko-Rezeptor CCR5. 3.: Glykoprotein gp41 kann nun in die Zellmembran des Wirtes eindringen. 4.: Die Virusmembran und die Plasmamembran der Wirtszelle öffnen sich und können so miteinander fusionieren. Durch die Fusion der Virusmembran mit der Wirtszellmembran gelangt das Capsid des Virus in das Cytoplasma (Pau et al., 2014). Quelle: HIV Membrane fusion panel.svg: Erkennung und Anheftung des HI-Virus an die Wirtszelle (25.09.2018)

Durch das sogenannte *Uncoating*, dem Auflösen des Capsids im Cytoplasma der CD4⁺-Zelle, ist es dem Virus möglich, sein Genom in die Wirtszelle zu transportieren und es dort für die Replikation und Genexpression bereitzustellen (Ambrose et al., 2014; Mamede et al., 2017).

Die RT (Reverse Transkriptase) weist eine heterodimere Struktur auf und hat zwei Funktionen: Zum einen hat sie eine DNA-Polymerase-Funktion und bildet so den reversen, komplementären DNA-Strang zur Virus-RNA, aber auch den komplementären DNA-Strang zu der zuvor entstanden DNA; des Weiteren verfügt sie über eine Ribonuklease (RNase) H-Aktivität, welche die hydrolytische Spaltung der RNA an RNA/DNA-Hybriden katalysiert (Lan Tian et al., 2018). Dadurch kann das vollständige Virus-Genom als neu entstandene DNA-Matrizen in den Zellkern der Wirtszelle transportiert und integriert werden (Slonczewski, Mikrobiologie, 2012, S. 476). Um den Prozess der DNA-Synthese starten zu können, nutzt die RT die am Virusgenom gebundenen, wirtseigenen tRNAs als Primer. Sie

besteht aus zwei Untereinheiten, p51 und p66, die dieselbe Sequenz, aber unterschiedliche tertiäre Strukturen aufweisen (Siehe Kapitel 3.7, Abbildung 8) (Lan Tian et al., 2018). Die RT weist eine hohe Fehlerrate bei der Replikation auf, sodass durchschnittlich pro Genomreplikation ein bis zwei Fehler entstehen (Temin, 1993).

Nachdem die RNA in doppelsträngige DNA transkribiert wurde, wird diese in den Zellkern transportiert und durch das Enzym Integrase in das Genom des Wirtes integriert (Pau et al., 2014). In diesem Stadium nennt man das Virus nun Provirus. Nun kann entweder die eingebaute Virus-Sequenz exprimiert werden, oder das Genom verbleibt in einer latenten Phase, in welcher es vom Immunsystem nicht detektiert werden kann (Abbas, Basic Immunology, 2006/07, S. 219). Durch diesen Einbau wird das virale Genom nun repliziert, die provirale DNA kann im Zellkern durch die wirtseigene RNA-Polymerase II transkribiert werden, wobei virale mRNA und virale genomische RNA entsteht (Abbildung 6). Die mRNA gelangt ins Cytoplasma des Wirtes und kann dort translatiert werden, so dass neue Virione synthetisiert werden können, welche dann zum endoplasmatischen Retikulum (ER) transportiert werden. Ohne die CD4⁺-Zellen zwangsläufig zu lysieren werden an der Wirtsmembran die neu entstandenen RNA-Dimere zusammen mit den Gag-Pol-Peptiden ausgestülpt. Dieser Vorgang wird *Budding* genannt. Die neue Virushülle besteht aus der Membran und viralen Oberflächenproteinen. Auch während des Ausstülpens sind die Viruspartikel nicht infektiös, sie können zu diesem Zeitpunkt keine weiteren CD4⁺-Zellen infizieren.

Erst außerhalb der Zelle wird das provirale Polyprotein Gag-Pol, um reife und funktionsfähige Viren entstehen zu lassen, von der Protease in seine endgültige Struktur proteolysiert, wodurch neue Virione entstehen, die nun weitere Zellen infizieren können (Abbildung 6).

Neben der Ausknospung bietet die Fusion einer infizierten CD4⁺-Zelle mit einer benachbarten Zelle eine weitere Möglichkeit, um andere Zellen zu infizieren.

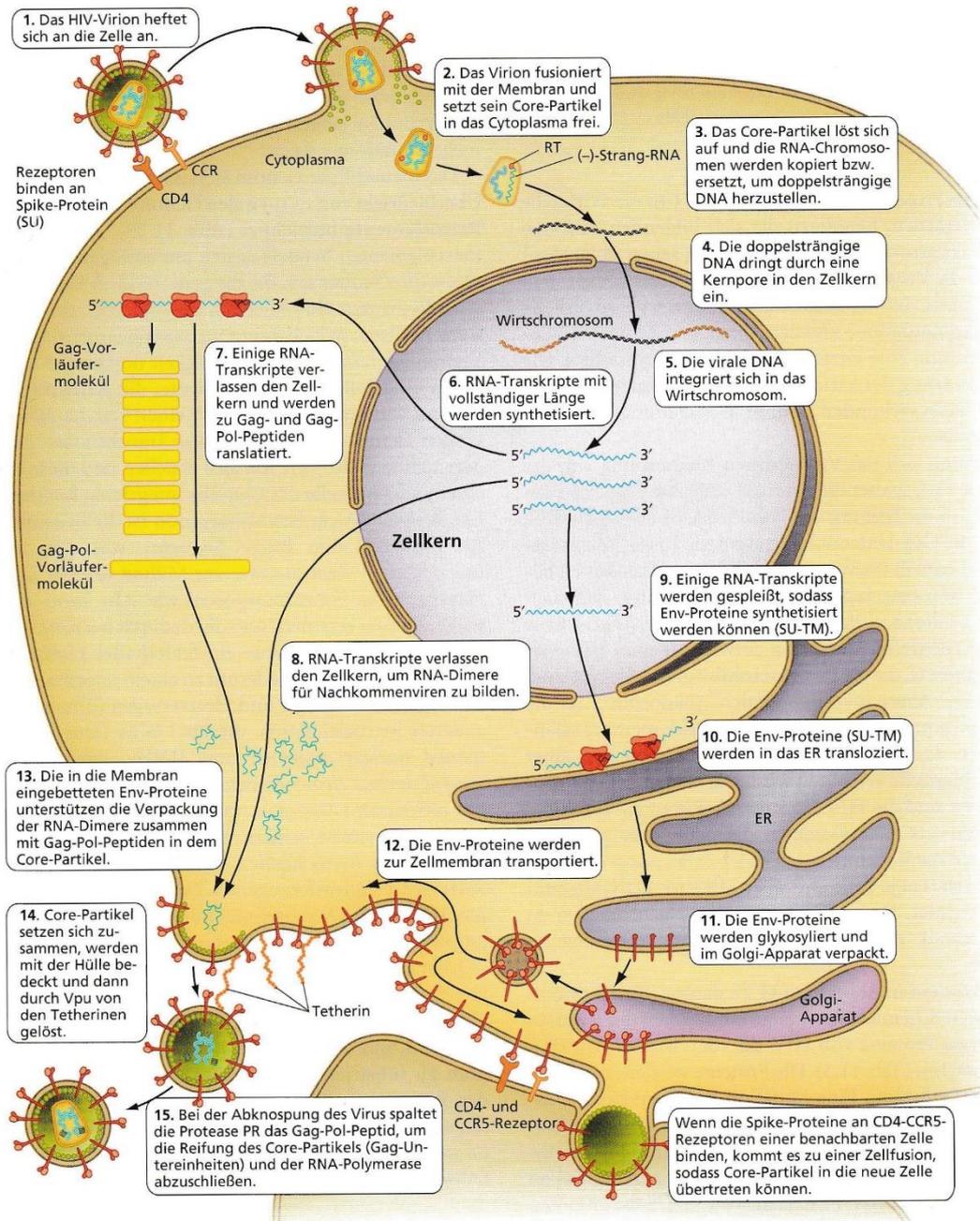


Abbildung 6: Ausführlicher Infektionszyklus von HIV im Überblick. Quelle: Slonczewski, Mikrobiologie, 2012, S. 479

3.6 Krankheitsverlauf und Pathogenität

Über einen Zeitraum von zehn Jahren wurde beobachtet, dass eine direkte Korrelation zwischen der Anzahl der CD4-Zellen, der Viruslast und dem Ausbruch von AIDS besteht. So konnten eine Prognose und ein ungefährer Verlauf der Krankheit entwickelt werden, wie in Abbildung 7 erkennbar:

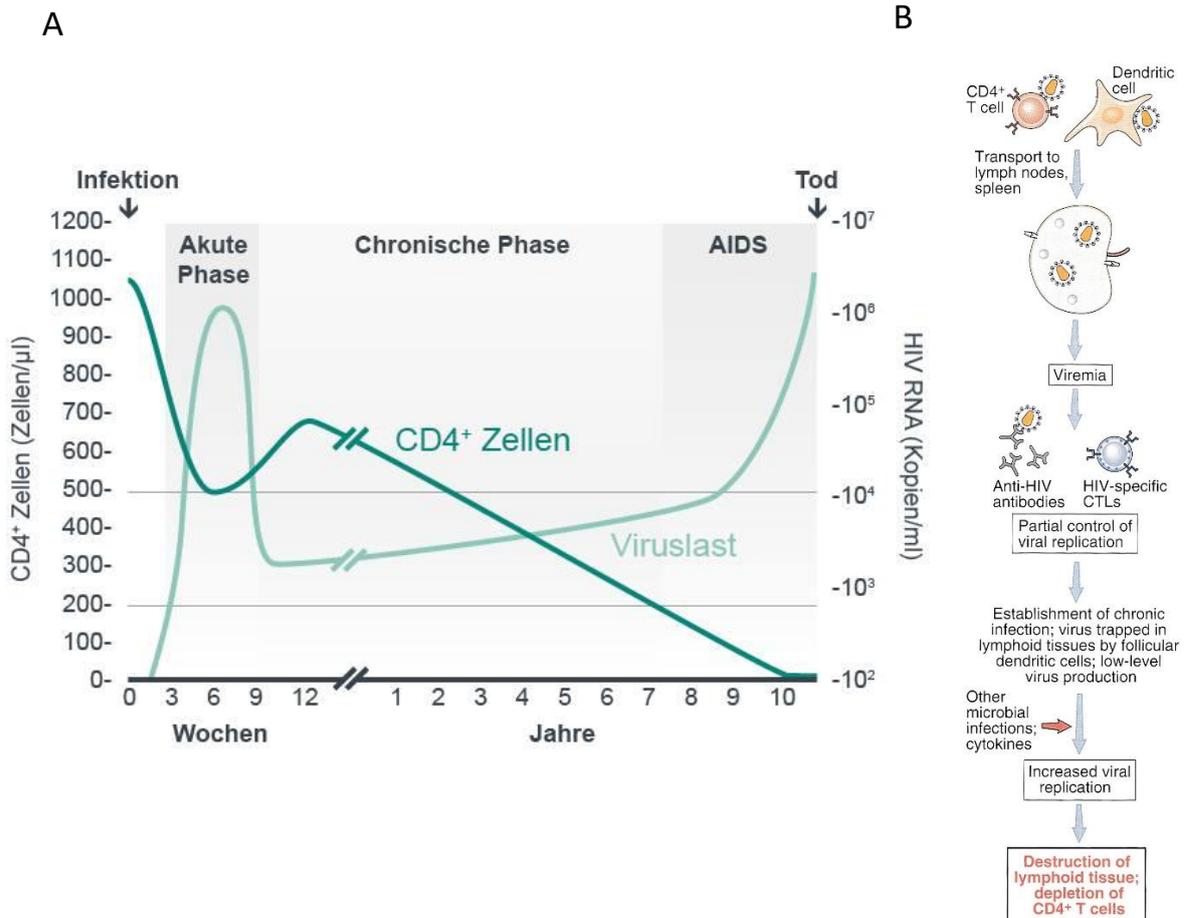


Abbildung 7: Verlauf einer HIV-1-Infektion ohne medikamentöse Behandlung. A: Der Verlauf lässt sich in drei Phasen einteilen, welche von der Anzahl der CD4⁺-Zellen anhängig ist und mit der Anzahl von HIV-RNA-Kopien korreliert. B: Verlauf der Infektion bezüglich der Immunabwehr und die Lokalisation der Viren. Quelle: A: <http://www.msd-gesundheit.de/hiv/symptome/dreistadien-hiv-infektion/> (03.08.2018); B: Abbas, Basic Immunology, 2006/07, S. 218

Im ersten Stadium der Infektion, der akuten Phase, vermehrt sich das Virus rasant, weshalb in den ersten Wochen einer Neuinfektion das Risiko weitere Personen zu infizieren, besonders hoch ist. Symptomatisch zeichnet sich dieses Stadium durch Fieber, Lymphknotenschwellungen und andere, grippeähnlichen Beschwerden aus, allerdings treten diese nur bei rund 30% den Infizierten auf. Durch die Virusvermehrung werden viele CD4⁺-Lymphozyten zerstört. Durch das zu Beginn der Infektion noch

nicht geschädigte Immunsystem erfolgt eine Immunantwort, welche zunächst die Viruslast senken kann und eine Erholung der CD4⁺-Zellanzahl initiiert. Die Viren gelangen in die lymphoiden Organe wie die Lymphknoten (Abbas, Basic Immunology, 2006/07, S. 219). Allerdings wird durch das schnelle Abklingen der Krankheitssymptome selten eine schwerwiegende Infektion vermutet, weshalb sie oft unentdeckt bleibt (Hoffmann & Rockstroh, HIV 2016/17, 2016, S. 7).

Durch Infektion der Zellen des Immunsystems kann das Virus nicht mehr vollständig eliminiert werden und die Infektion wird persistent. Der Übergang in die chronische Phase zeichnet sich durch einen latenten Zustand der HI-Viren in T-Gedächtnis-Zellen aus, in welchem das Immunsystem ohne Behandlung über einen Zeitraum von durchschnittlich 8 bis 10 Jahren immer weiter geschädigt wird und die Anzahl an viralen RNA-Kopien innerhalb der Zelle stetig wächst (Abbas, Basic Immunology, 2006/07, S. 219). Der virale Setpoint wird in der chronischen Phase weitestgehend aufrechterhalten. Die Länge der chronischen Phase ist abhängig von der initialen Viruslast, welche sich direkt nach der Infektion einstellt. Die chronische Phase zeigt oftmals keinerlei Symptome, weshalb die Infektion, wenn sie nicht bereits vorher festgestellt wurde, in dieser Phase oftmals nicht oder nur durch einen Zufall entdeckt wird (Hoffmann & Rockstroh, HIV 2016/17, 2016, S. 7).

Durch die voranschreitende Zerstörung der CD4⁺-T-Lymphozyten werden immer weniger antigenpräsentierende Zellen erkannt und gebunden, sodass weniger B-Zellen zur Antikörperproduktion für die Bekämpfung körperfremder Antigene und CD8⁺-Zellen zur Apoptose infizierter Zellen aktiviert werden. Aus diesem Grund steigt die Wahrscheinlichkeit an einer opportunistischen Infektion zu erkranken. Ein weiterer Grund, dass die Infektionskrankheit für den Menschen oft tödlich endet, ist die Tatsache, dass HIV sich oftmals vom latenten in den sich verstärkt proliferierenden Zustand entwickelt, wenn das Immunsystem durch andere Fremderreger beansprucht wird. Grund dafür ist die vermehrte Aktivierung und Genexpression von CD4⁺-Lymphozyten, Makrophagen und dendritischen Zellen durch ansteigende Zytokinkonzentrationen, wenn eine Immunantwort benötigt wird. Dies hat die gleichzeitig ansteigende Transkription von Virus-RNA und die daraus resultierende Entstehung von Proviren zur Folge (Abbas, Basic Immunology, 2006/07, S. 219).

Der Übergang in die Phase, in der weniger als 200 CD4⁺-Zellen/mm³ vorhanden sind, wird als fortgeschrittene HIV-Erkrankung (advanced HIV) oder AIDS bezeichnet (WHO/HIV/2017.18). In diesem Stadium kommt es durch Ko-Infektionen zu tödlichen Erkrankungen, am häufigsten durch bakterielle Infektionen wie Tuberkulose (durch Mykobakterien) oder Kryptokokkose (Pilzinfektion durch *Cryptococcus neoformans*) (WHO/HIV/2017.18), aber auch durch Entstehung von B-Zell-Lymphomen (Epstein-Barr-Viren) oder Kaposi's Sarkomen (durch Herpesviren) (Abbas, Basic Immunology, 2006/07, S. 221/222). Ohne Behandlung versterben die Betroffenen in der AIDS-Phase.

Nicht nur über die CD4⁺-Zellzahl kann eine Lebenserwartung prognostiziert werden, sondern auch über die Viruslast können Einschätzungen getroffen werden, welche in Tabelle 2 aufgelistet sind.

Tabelle 2: Korrelation zwischen Anzahl der HIV-RNA-Kopien/ml und der damit verbundenen Lebenserwartung von Infizierten, welche keine Medikation in Anspruch nehmen. Quelle: <https://www.hivleitfaden.de/cms/index.asp?inst=hivleitfaden&snr=8870&t=Therapiebeginn> (24.08.2018)

HIV-RNA Kopien/ml	Mediane Zeit bis zum Ausbruch von AIDS oder dem Tod in Jahren
< 500	> 10
500 - 3.000	> 10
3.000 - 10.000	8,3
10.000 - 30.000	5,5
> 30.000	2,8

Normalerweise ist das Immunsystem durch CD8⁺-Lymphozyten in der Lage Virusinfektionen zu bekämpfen. Sie sorgen für Apoptose bei beschädigten und infizierten Zellen, und tragen somit in der akuten Phase zur Reduktion der HI-Viren bei. Allerdings reguliert das Nef-Protein die Expression von MHC-I-Rezeptoren herab, sodass infizierte Zellen von CD8⁺-Zellen nicht mehr erkannt werden können. Auch von B-Lymphozyten produzierte Antikörper können HI-Viren langfristig nicht außer Gefecht setzen, da durch häufige Mutationen, welche auch die gp120 betreffen, die Antikörper an Spezifität verlieren. Auch verstärkt die Aktivität des Immunsystems die Virusproduktion, indem von Antikörper besetzte HI-Viren an den Fc-Rezeptoren (fragment crystallisable receptor) von dendritischen Zellen oder Makrophagen in lymphoiden Organen binden und dort ein Reservoir an infizierten Zellen darstellen (Abbas, Basic Immunology, 2006/07, S. 222).

Aus diesem Grund fordert die World Health Organisation (WHO), dass bei fortgeschrittenen Erkrankungsstadien nicht nur ein schnell eingeleiteter Zugang zur ART (anti retroviral therapy) ein Ziel zur Eindämmung der HIV-Pandemie darstellen sollte, sondern auch die Prophylaxe und Behandlung von mit hoher Wahrscheinlichkeit auftretenden, opportunistischen Infektionen. Dafür sei es besonders wichtig, sowohl in Krankenhäusern, aber auch in ambulanten Einrichtungen die Verfügbarkeit von Medikamenten und geschultem Personal zu gewährleisten, besonders in Regionen mit schwachen bis mittleren Durchschnittseinkommen, da dort häufiger Infizierte im AIDS-Stadium lokalisiert sind (WHO/HIV/2017.18).

3.7 Medikation

3.7.1 Antiretrovirale Therapie

Die Identifikation des Replikationszyklus von HIV ermöglichte die Entwicklung wirksamer Medikamente. Die RT (Abbildung 8) ist eine wichtige Zielstruktur im Einsatz von HIV-Medikamenten. Nahezu jede Therapie enthält als ‚Backbone‘ Wirkstoffe, welche die RT inhibieren sollen. Man unterscheidet dabei zwischen nicht-nukleosidischen RT-Inhibitoren (NNRTI) und nukleosidischen RT-Inhibitoren (NRTI) (Pau et al, 2014).

NRTI: NRTIs sind Metabolite, die in der Zelle schrittweise phosphoryliert werden (zwei Phosphorylierungen bei Nukleotidanaloga, drei bei Nukleosidanaloga) und Analoga zu natürlichen dNTPs (Desoxynukleotid-Triphosphat) darstellen, allerdings an ihrem 3'-Ende keine Hydroxygruppe aufweisen, sodass die RT keine weitere Base anheften kann und durch einen Kettenabbruch die Polymerisation der Virus-DNA beendet wird. Diese Metabolite werden nicht von der CYP450 (Cytochrom P450) metabolisiert, sodass weniger Wirkstoff-Interaktionen mit anderen Medikamenten bestehen. Ältere Medikamente sind oft für mitochondriale DNA toxisch, weshalb sie heutzutage nur noch wenig Anwendung finden (Pau et al., 2014).

NNRTI: NNRTIs inhibieren die RT auf eine andere Weise: Sie bewirken eine Konformationsänderung durch die Anlagerung von kleinen Molekülen am hydrophoben, aktiven Zentrum der RT (HIV 2016/17, Hoffmann & Rockstroh, 2016, S. 284), wodurch allosterisch bedingt eine verringerte Aktivität entsteht. Sie sind auch ohne intrazelluläre Phosphorylierung wirksam. Sie können durch die CYP450 metabolisiert werden (Pau et al., 2014).

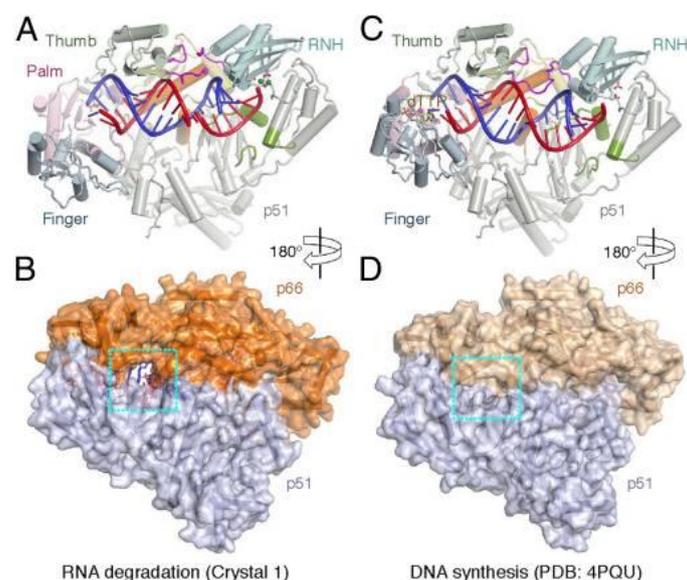


Abbildung 8: Reverse Transkriptase. A und B: Degradierung der RNA durch die RT, hier in ihren Untereinheiten p51 und p66 gezeigt. C und D: Synthese des DNA-Stranges. A und C: Die Einheit ‚Thumb‘ entspricht der p66. Die magentafarbenen Strukturen zeigen die unterschiedlichen Konformationen zwischen Degradation (A und B) und Synthese (C und D). Quelle: Lan Tian et al., 2018

PI: Proteaseinhibitoren binden die Protease und blockieren so die proteolytische Aktivität. Die Polypeptide gag-pol werden nicht in die einzelnen, reifen Proteine gespalten (Arun et al., 2016), sodass die einzelnen Enzyme nicht aktiv sind oder die Capsidkomponenten nicht entstehen können. Somit entwickeln sich weniger oder keine reifen, infektiösen Viren. Andere Zellen könne also nicht mehr infiziert werden. Ihnen wird eine wichtige Bedeutung zugeschrieben, da sie vergleichsweise seltener zu Resistenzen führen.

INSTI: (integrase strand transfer inhibitor): Integrase-Inhibitoren könnten an verschiedenen Integrationsschritten wirken: Sie könne die Bindung der Integrase an die virale DNA, die Prozessierung der viralen DNA und den damit verbundenen Transfer in den Zellkern, die Interaktion der viralen DNA mit der Host-DNA und dessen Ligation verhindern. Bisher entwickelte INSTIs wirken auf den dritten Integrationsschritt, sodass die virale DNA nicht an die Host-DNA binden kann (Hazuda et al., 2000).

CCR5-Antagonisten: CCR5-Antagonisten blockieren die Interaktion zwischen dem Glykoprotein gp120 und dem CCR5-Rezeptor. Allerdings hat es keinen Einfluss auf den Mechanismus des Anheftens des HI-Virus mit dem alternativen Korezeptor CXCR4 und verringert die Infektiösität von HIV, blockiert sie aber nicht. Das Medikament wird daher nur bei CCR5-tropen Viren eingesetzt (Hoffmann & Rockstroh, HIV 2016/17, 2016, S. 98)). Damit bildet es den einzigen Wirkstoff, der nicht mit dem Virus, sondern mit der Hostzelle interagiert.

Fusionsinhibitoren: Fusionsinhibitoren binden an das virale Glykoprotein gp41, welches genutzt wird, um mit der Wirtsmembran zu fusionieren und somit das Innere des Virus in das Cytoplasma des Hosts zu transportieren. Dieser Mechanismus geht keinerlei Interaktionen mit anderen Wirkungsmechanismen von Medikamenten ein. Lediglich von hypersensitiven Reaktionen wird berichtet (http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/021481s027lbl.pdf (17.09.2018)).

Durch die ART kann die Wahrscheinlichkeit einer HIV-Transmission erheblich verringert werden (Maartens et al., 2014). Um die Bildung von Resistenzen möglichst vollständig zu unterbinden, müsste der gesamte Replikationszyklus von HIV gehemmt werden (Brockmeyer et al., 2001). Aus diesem Grund erhöhten die Verwendung und Kombination von verschiedenen Medikamenten die Effektivität.

Die Wirksamkeit des ersten Medikamentes Zidovudin (AZT) wurde 1987 getestet (Fischl et al., 1987). Es handelte sich um eine Monotherapie, die die Symptome kurzfristig verbessern und das Auftreten von AIDS verzögern konnte (Hoffmann & Rockstroh, HIV 2016/17, 2016, S. 2). Es konnte ein Rückgang der Mortalität und Ko-Infektionen opportunistischer Erkrankungen festgestellt werden (Fischl et al., 1987). Die Behandlung mit einer Monotherapie zeigte eine Reduktion der Viruslast im Blut der

Studienteilnehmer, konnte aber dennoch langfristig nicht die Erholung der geschädigten CD4⁺-Zellen begünstigen (Pau et al., 2014). Eine Übersicht zur Entwicklung der ART ist im Anhang zu finden.

Ein entscheidender Durchbruch in der antiviralen Therapie gelang Mitte der 1990er mit der Einführung der NNRTIs und PIs als Kombination. Mit der gleichzeitigen Einnahme von einem der drei neu entwickelten Protease-Inhibitoren mit zwei NRTIs, auch HAART (highly active antiretroviral therapy) genannt, konnte die Anzahl der Kopien der viralen RNA nach 12 Wochen erheblich reduziert werden. Danach wurde kontinuierlich an der Verbesserung von Medikamenten, besonders in Bezug auf deren Einnahmebedingungen und mögliche Nebenwirkungen, geforscht. Ende 2016 konnten circa 19,5 Millionen Menschen von einer ART profitieren (WHO/HIV/2017.21).

Heutzutage besteht die ART in der Regel aus einer cART (combination antiretroviral treatment), eine Kombination aus 2 NRTIs mit einem PI oder NNRTI (Brockmeyer et al. 2001), aber auch mit INSTI, CCR5-Antagonist oder einem dritten NRTI (Pau et al., 2014). Ältere Medikamente finden kaum noch Anwendung aufgrund ihrer hohen Tablettendosis und Nebenwirkungen. Eine Übersicht aller Wirkstoffe ist in Tabelle 3 gegeben.

Tabelle 3: Wirkstoffe, die von der FDA (Food and Drug Administration) zugelassen worden. Sie sind in ihre jeweiligen Wirkmechanismen eingeteilt und chronologisch nach ihrer Zulassung geordnet. Es gibt jeweils einen Perzeptions- und Fusionswirkstoff; PIs sind am zahlreichsten vorhanden. Quelle: Pau et al., 2014, aktualisiert

CCR5-Antagonist	Fusions-Inhibitor	NRTI	NNRTI	INSTI	PI
Maraviroc	Enfuvirtid	Zidovudin	Nevirapin	Raltegravir	Saquinavir
		Didanosin	Delavirdin	Elvitegravir	Indinavir
		Zalcitabin	Efavirenz	Dolutegravir	Ritonavir
		Stavudin	Etravirin		Nelfinavir
		Lamivudin	Rilpivirin		Amprenavir
		Abacavir	Doravirin		Lopinavir
		Tenofovir			Fosamprenavir
		Emtricitabin			Atazanavir
					Tipranavir
					Darunavir

Die allgemeinen Kriterien an eine cART sind eine hohe Wirksamkeit der jeweiligen Substanzen, geringe Toxizität gegenüber zelleigenen Strukturen und eine möglichst geringe Tablettenanzahl und -einnahme (Pau et al., 2014).

Die Herausforderungen und Ziele, um erfolgreich gegen die Infektion und die damit verbundenen Folgen vorzugehen, sind:

- Suppression der Plasmaviruslast
- Erholung der CD4⁺- Zellzahl
- Verlängerte Lebenserwartung
- Weniger Morbidität
- Verbesserte Lebensqualität
- Verringerte Transmissionsrate
- Wenige Resistenzentstehung
- Weniger Interaktionen zwischen verschiedenen Wirkstoffen

Der frühestmögliche Beginn der ART weist hauptsächlich Vorteile auf, kann aber auch Nachteile mit sich bringen. Nachteile einer Therapie können Unwirksamkeit und starke Nebenwirkungen, die die Lebensqualität verschlechtern, sein. Für einen Therapiebeginn zu einem weiter fortgeschrittenen Krankheitszeitpunkt kann mit der Tatsache argumentiert werden, dass auch in späten Stadien eine Immunrekonstruktion und Symptomrückbildung möglich ist. Allerdings gibt es begründete Argumente für einen Therapiebeginn zum frühestmöglichen Zeitpunkt: Je früher und schneller die ART erfolgreich eingeleitet wird, desto weniger provirale DNA wird integriert und es entstehen weniger Latenzorte. Somit werden mögliche irreversible Immundefekte und damit verbundene Begleiterscheinungen und eventuell entstehende Pathogenität infolge von resistenten Virusmutationen verhindert (Brockmeyer et al. 2001). Laut der WHO ist es ratsam, innerhalb von sieben Tagen nach einem positiven HIV-Testergebnis mit der ART zu beginnen. Wenn es bereits zu einem früheren Zeitpunkt keine Bedenken bezüglich der Therapie gibt, sollte sie unmittelbar eingeleitet werden. Besonders HIV-Infizierte mit fortgeschrittener Erkrankung und Ko-Infektionen sind von dieser Empfehlung betroffen, sie schließt allerdings ebenfalls Schwangere und Partner von Infizierten mit erhöhtem Infektionsrisiko ein (WHO/HIV/2017.18).

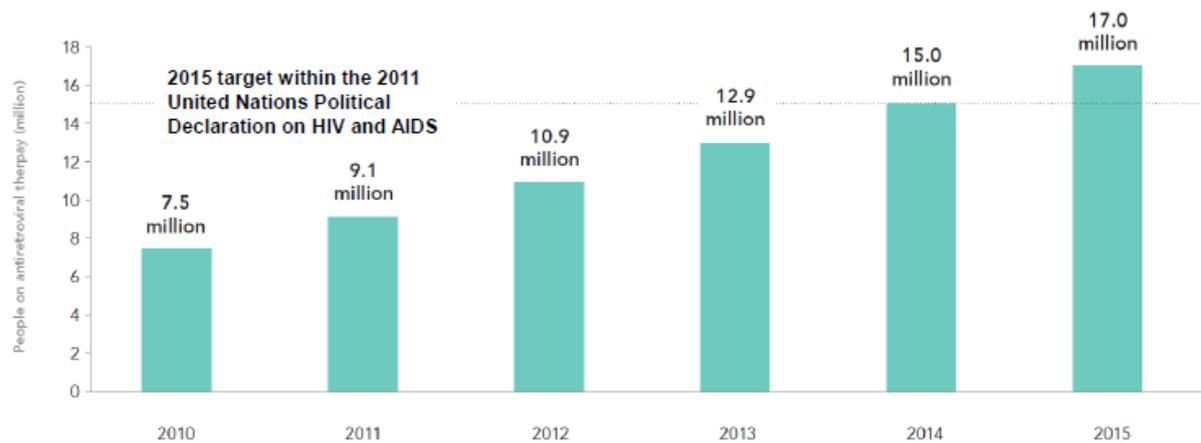


Abbildung 9: Entwicklung der Anzahl von HIV-Infizierten, die sich mittels ART behandeln lassen. Die Entwicklung der ART ist in den Jahren von 2010 bis 2015 stetig von 7,5 Millionen auf 17 Millionen gestiegen und hat sich somit mehr als verdoppelt. Bereits 2014 wurde das von der UNAIDS im Jahre 2011 prognostizierte Ziel für 2015 erreicht. Quelle: UNAIDS - Global AIDS Update 2016

In Industrieländern wird bereits vor der ART eine Resistenztestung durchgeführt. In anderen Regionen, zum Beispiel Subsahara Afrika, wird erst nach zweimalig fehlgeschlagener ART eine Resistenztestung vorgenommen.

Für eine erfolgreiche Therapie ist es zwingend notwendig, dass sie langfristig fortgesetzt wird. Ziel hierbei ist die Viruslast soweit zu verringern, dass sie unterhalb der Nachweisgrenze von derzeit circa 50 Kopien/ml liegt. Es muss ebenfalls berücksichtigt werden, dass eine Medikation erfolgreich sein kann, wenn die Progression gestoppt wurde, aber die Schäden des Immunsystems soweit fortgeschritten sind, dass opportunistische Erkrankungen auftreten (Brockmeyer et al. 2001).

Um die Verlaufskontrolle einer ART zu beurteilen, werden in regelmäßigen Zeitabständen die Anzahl der CD4⁺-Lymphozyten und der HIV-RNA überprüft (Brockmeyer et al., 2001).

Eine Heilung mittels ART ist nicht möglich (Arun et al., 2016), da die Medikamente lediglich die weitere Replikation des HI-Virus verhindern, bereits infizierte Zellen aber nicht von der Virus-RNA befreit werden. Eine Methode zur Heilung von HIV-Infizierten könnte das gezielte Herausschneiden der viralen RNA in den LTR (long terminal repeats) sein, ohne die Wirtszellen zu beschädigen (Hauber et al., 2013). Mittels einer universalen Rekombinase kann ein weites Spektrum an verschiedenen HIV-I Subtypen abgedeckt werden, um eine global effiziente Methode zu etablieren (Karpinski et al., 2014). Allerdings konnte bisher kein Mechanismus entwickelt werden, um solche antiretrovirale Substanzen gezielt in infizierte Zellen einzuschleusen.

Die von der UNAIDS für das Jahr 2020 angekündigten Ziele sind die sogenannten ‚90-90-90‘-Ziele: Bei 90 % aller Infizierten soll die Krankheit diagnostiziert werden; 90% von ihnen sollen wiederum mit einer

ART behandelt werden, und wieder 90% der Behandelten sollen mittels Therapie eine so geringe Viruslast aufweisen, dass das Virus nicht mehr übertragbar sein soll; bis 2030 soll sich dies auf 95% steigern (WHO/HIV/2017.21), wodurch eine Beendigung der AIDS Epidemie erreicht werden kann (UNAIDS, Global AIDS Update 2016).

Im Jahr 2017 waren global rund 75% diagnostiziert, davon waren 79% in Behandlung und 81% der Behandelten zeigten eine geringe Viruslast. Bis zu diesem Zeitpunkt haben sechs Länder die 90-90-90-Ziele erreicht: Botswana, Kambodscha, Dänemark, Namibia, Niederlande und Swasiland (UNAIDS).

3.7.2 PrEP

Die PrEP (pre-exposure prophylaxe) ist eine Prophylaxe, in der NRTI- Wirkstoffe eingenommen werden, um Infektionen mit HIV vorzubeugen. Sie sind wirksam bei Menschen, welche nicht mit HIV infiziert sind. Entwickelt wurde sie hauptsächlich für Risikogruppen, zum Beispiel für Partner von HIV-Infizierten, welche eine nachweisbare Viruslast aufweisen, oder für sexuell aktive Menschen, die in Regionen mit hoher HIV-Inzidenz leben und Geschlechtsverkehr ohne Kondom praktizieren oder Symptome einer sexuell übertragbaren Krankheit aufweisen. Für Partner von HIV-Infizierten, die eine ART seit weniger als 6 Monaten in Anspruch nehmen, könnte eine PrEP empfehlenswert sein, bis ihr Partner keine detektierbare Viruslast mehr aufweist. Für Prostituierte, die ungeschützten Geschlechtsverkehr haben, und intravenös injizierende Drogenabhängige, die ihr Equipment teilen, besteht ebenfalls ein erhöhtes Transmissionsrisiko, weshalb für viele eine PrEP ratsam ist. Auch nach Gebrauch einer PEP (post-exposure prophylaxe, siehe 3.7.3) kann die Prophylaxe mittels PrEP weitergeführt werden. Menschen ohne Zugehörigkeit einer Risikogruppe können sich, wenn sie die Voraussetzungen erfüllen, ebenfalls eine PrEP beginnen. Voraussetzung für einen Behandlungsbeginn ist ein HIV-negatives Testergebnis, keine Symptomatik einer HIV-Infektion und das Ausschließen einer Infektion in unmittelbarer Zeit vor Medikation. Des Weiteren muss ein Kreatininwert von mehr als 60ml/min (um Nierenerkrankungen auszuschließen) vorgewiesen und Allergien gegen Bestandteile der PrEP müssen ausgeschlossen werden. Oftmals werden im Vorhinein Untersuchungen auf sexuell übertragbare Infektionskrankheiten, Hepatitis B und C durchgeführt. Wer die Prophylaxe in Anspruch nehmen möchte, sollte die Medikamente täglich einnehmen und im Abstand von 3 Monaten HIV-Tests durchführen lassen (WHO implementation tool, 2017). Bei einer Schwangerschaft kann die PrEP fortgeführt werden; bei Schwangeren und stillenden Müttern mit erhöhtem Infektionsrisiko wird die PrEP aufgrund der hohen Transmissionswahrscheinlichkeit auf das Kind sogar empfohlen (Nachega et al., 2017). Soll die Prophylaxe nur temporär eingenommen werden, so kann sie 28 Tage nach der letztmöglichen HIV-Infektion abgesetzt werden. Wenn sich während der Behandlung ein HIV-Test als

positiv erweist, ist aufgrund der niedrigeren Dosierung der Wirkstoffe in der PrEP im Vergleich durch ART schnellstmöglich ein direkter Übergang zur ART nötig (WHO implementation tool, 2017).

Die PrEP ist eine Kombination aus TDF und FTC (Tenovir und Emitricitabin, Medikamentenname Truvadar) (Grant et al., 2016; <https://www.aidshilfe.de/faq-prep#acc-103707> (21.10.2018)).

Mit der PrEP kann das Risiko sich mit HIV zu infizieren um mehr als 90% gesenkt werden, da bisher in durchgeführten Studien lediglich 3% der Patienten Resistenzen gegenüber TDF oder FTC gezeigt haben (WHO implementation tool, 2017). Das Auftreten von Resistenzen erhöht sich allerdings, wenn die PrEP bei kürzlich erworbenen HIV-Infektionen angewendet wird (Fonner et al., 2016). Aus diesem Grund sind die regelmäßigen HIV-Tests bei Verwendung der PrEP wichtig.

Nebenwirkungen treten bei circa 10% der Anwender in der Anfangsphase auf, allerdings verschwinden sie in der Regel nach kurzer Zeit. Sie führen nur selten zu einem notwendigen Medikationsabbruch und zeigen sich meist in Form von Appetitlosigkeit, Diarrhö, Schwindel und Erbrechen (Thigpen et al., 2012).

3.7.3 PEP

Bei einer Transmission einer HIV-Infektion verbreitet diese sich nicht sofort systemisch im Körper, sondern infiziert die lokalen Lymphozyten und infolgedessen die regionalen Lymphknoten. Nach circa 24-48 Stunden, abhängig beispielsweise von der Anzahl der Viren, beginnt die Infektion sich auszubreiten. Aus diesem Grund kann in der Zeit unmittelbar nach der Transmission die Ausbreitung der Infektion verhindert werden. Für diese Situation wurde die PEP entwickelt, die das Infektionsrisiko um circa 80% reduzieren kann (Hoffmann & Rockstroh, HIV 2016/17, 2016, S. 628/629).

Die PEP sollte in einem Zeitraum von spätestens 36-72 Stunden nach möglicher Infektion begonnen und für 28 Tage eingenommen werden (Sultan et al., 2014).

Die PEP wirkt wie die ART und besteht aus drei kombinierten Wirkstoffen, meist zwei NRTIs (Truvada) und einem INSTI oder PI (Hoffmann & Rockstroh, HIV 2016/17, 2016, S. 630/632).

3.8 Resistenzentwicklung

Um bleibende Effektivität in der Behandlung zu gewährleisten und die Entstehung von Resistenzen, genannt HIVDR (HIV drug resistance), zu verhindern, ist eine international flächendeckende Behandlung von Infizierten und die Eliminierung von AIDS das vorrangig priorisierte Ziel

(WHO/HIV/2017.21). Aber nicht nur Entstehung, sondern ebenfalls die Transmission von Resistenzen (TDR- transmitted drug resistance) soll effektiv verhindert werden, indem bereits infizierte Menschen behandelt und gefährdete Personengruppen vor Infektionen geschützt werden. Daher unterscheidet man zwischen transmittierten Resistenzen (TDR) und erworbenen Resistenzen, die unter Selektionsdruck entstanden sind. In den vergangenen Jahren ist ein Anstieg an übertragenden Resistenzen beobachtet worden (Poongavanam et al., 2018). Bisher sind mehr als 2000 Mutationen bekannt, die zu Resistenzen gegenüber antiretroviraler Medikamente führen (Hoffmann & Rockstroh, HIV 2016/17, 2016, S. 288).

Resistenzen entstehen meist durch die hohe Fehlerrate der RT. Wenn im Basentriplett durch eine Punktmutation eine andere Aminosäure gebildet wird, gibt es verschiedene Folgen: Zum einen könnte das Virus durch eine Dysfunktion nicht überlebensfähig sein oder eine geringere Fitness aufweisen, zum anderen könnte es durch eine veränderte Proteinstruktur zum Wirkungsverlust einer antiretroviralen Substanz kommen. Mutationen der RT können dazu führen, dass wegen struktureller Änderungen bevorzugt dNTPs anstatt NRTIs genutzt werden oder NRTIs aus dem neu synthetisierten DNA-Strang wieder entfernt werden. Bei NNRTI-Mutationen binden die Moleküle mit verringerter Affinität an die hydrophoben Regionen der RT, weshalb die allosterische Hemmwirkung nachlässt. INSTI-Mutationen können dazu führen, dass die antiretroviralen Substanzen nicht mehr an das Enzym binden können. Auch gp41 kann durch Mutationen eine Resistenz bewirken, indem es durch Fusionsinhibitoren nicht mehr an der für die Fusion benötigten Konformationsänderung gehindert wird. Resistenzbildungen gegen Perzeptionsmedikamente können entstehen, wenn durch Mutationen CCR5-trope Viren den Ko-Rezeptor trotz Antagonisten zur Anheftung nutzen oder wenn durch die Mutation ebenfalls an CXCR4-Ko-Rezeptoren gebunden werden kann. Für Resistenzen in PIs ist die genetische Barriere höher. Hier sind meist mehrere Mutationen im aktiven Zentrum des Enzyms nötig, wobei es aber häufig zum Funktionsverlust kommen kann (Hoffmann & Rockstroh, HIV 2016/17, 2016, S. 284-286/296).

Ein weiteres Ereignis, bei welchem Resistenzen entstehen können, ist die Mutationsentstehung, wenn *vif* unzureichend aktiv ist und die durch APOBEC3G verursachten Hypermutationen nicht nur nicht funktionale Viruspartikel hervorbringen, sondern auch für das Virus vorteilhafte Resistenzmutationen. Durch eine unzureichende Medikation werden diese Mutationen dann selektiert (Hoffmann & Rockstroh, HIV 2016/17, 2016, S. 278). Bei einer Transmission kommt es so zur Weitergabe der resistenten Viren und häufiger auftretenden Misserfolgen einer ART (Hauser et al., 2016). Die Mutationen stehen oft in Zusammenhang mit Transmissionswegen, Land der Infektion und des Ursprungs.

Bei einem Wiederanstieg der Viruslast in Patienten während einer cART ist dies oftmals auf eine Resistenzentwicklung, seltener auf eine Korrelation zwischen Wirkstoffen und Absorptionsstörungen, zurückzuführen. Um die Therapie erfolgreich anzupassen, ist es wichtig die mögliche Resistenz zu analysieren (Brockmeyer et al., 2001). Dabei unterscheidet man zwei Resistenztestungen: Durch funktionelle, phänotypische Resistenztestung verschiedener antiretroviraler Substanzen kann eine zielgerichtete Medikation ermittelt werden. Dabei wird die Proliferation des Virus in der Zellkultur in Anwesenheit antiretroviraler Substanzen getestet. Diese Methode liefert direkte Ergebnisse. Die genotypische Resistenztestung mittels Sequenzierung ermöglicht Informationen bezüglich der veränderten Basensequenz.

In Abbildung 10 sind die Präventionsmaßnahmen der Resistenzbildung, welche von der WHO 2017 vorgestellt wurden, zu sehen. Hier wird gezeigt, dass gründliche Gesundheitsdokumentation und geeignete Therapien die wichtigsten Faktoren einer effizienten HIVDR Prävention darstellen.

1. **Prevention and response**
Implement high impact interventions to prevent and respond to HIVDR.
2. **Monitoring & Surveillance**
Obtain quality data on HIVDR & HIV service delivery from periodic surveys, while expanding routine viral load & HIVDR testing.
3. **Research & Innovation**
Encourage relevant & innovative research which will have the greatest public health impact in minimizing HIVDR.
4. **Laboratory Capacity**
Support and expand use of viral load testing & build capacity to monitor HIVDR.
5. **Governance & Enabling Mechanisms**
Ensure country ownership, coordinated action, awareness/advocacy & sustainable funding are in place to support action on HIVDR.

Source: *Global Action Plan on HIV drug resistance 2017-2021*. Geneva: World Health Organization; 2017

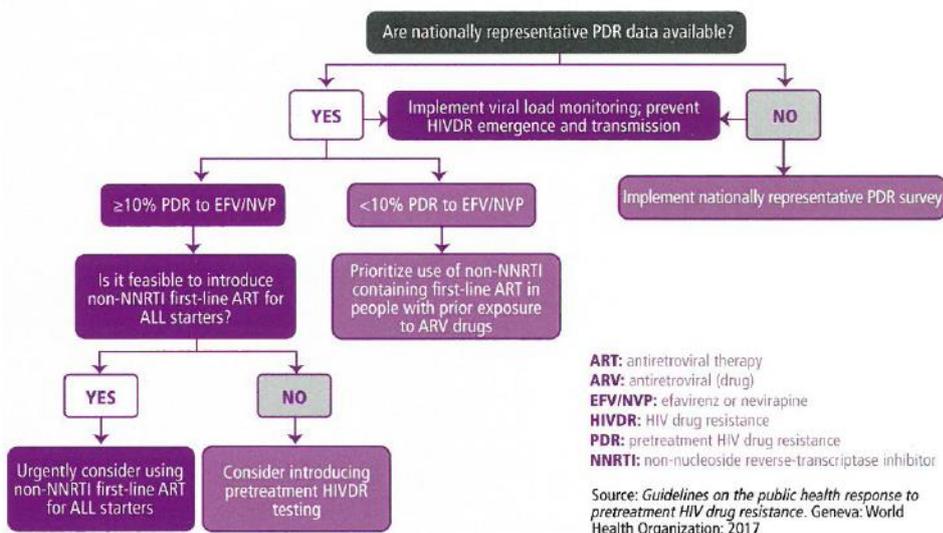


Abbildung 10: Präventionsmaßnahmen der Resistenzentstehung. Bei einer regional verstärkt auftretenden Wahrscheinlichkeit (mehr als 10%), dass viele Resistenzen gegen NNRTIs verbreitet sind, wird die Erstbehandlung mit anderen Inhibitoren empfohlen. In gefährdeten Regionen wird meist der Integraseinhibitor DTG verwendet, da dieser ein geringes Resistenzpotenzial aufweist und in vielen Ländern mit geringem bis mittlerem Durchschnittseinkommen zur Verfügung gestellt werden kann. Quelle: WHO/HIV/2017.21

Mit steigender Tendenz treten Resistenzen in Süd- und Ostafrika auf, welche gegenüber NNRTIs 23-29% betragen (Gupta et al., 2018; WHO/HIV/2017.21). Resistenzen in NRTIs und PIs sind bisher gering geblieben. Sie werden vermehrt bei behandelten Patienten festgestellt, welche zuvor eine ART unterbrochen oder eine Medikation zur Prävention einer Mutter-Kind-Transmission in Anspruch genommen haben (WHO/HIV/2017.21).

Besonders Resistenzen bezüglich der Medikamente EFV (Efavirenz) und/ oder NVP (Nevirapin) haben oftmals zur Folge, dass die Viruslast nicht unter 1000 Kopien/ml gesenkt werden kann (WHO/HIV/2017.21). In Sambia zeigten 47,3 %, in Kamerun sogar 89,5% der Patienten, die EFV oder

NVP nahmen, NNRTI Resistenzen. In diesen Fällen sollte dringend eine Therapieumstellung erfolgen, in welcher ein NNRTIs durch NRTIs oder PIs ersetzt wird.

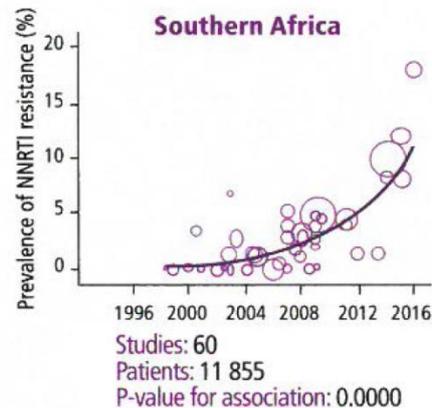


Abbildung 11: NNRTI-Resistenzen. Ein ansteigender Prozentsatz an Resistenzen in NNRTIs ist in den letzten Jahren in den südlichen Regionen Afrikas zu erkennen. So stieg die Zahl von circa 5% im Jahr 2012 bis 2016 auf über 10% an. Quelle: WHO/HIV/2017.21

3.9 HIV in Subsahara Afrika

Mit rund 26 Millionen Infizierten südlich der Sahara sind mehr als 70% aller Infektionen (bei 12% der Weltbevölkerung) in Subsahara Afrika lokalisiert (Ayesha et al., 2016) und bilden somit die am stärksten von der Pandemie betroffene Region. In Subsahara Afrika ist AIDS die häufigste Todesursache. Als Folge ist die Lebenserwartung in vielen Ländern um bis zu 20 Jahre zurückgegangen. 2016 sind, trotz sinkender Mortalität, 730.000 Menschen verstorben (http://oops.uni-oldenburg.de/840/1/Ursachen_von_HIV_AIDS_Epidemien_im_subsaharsichen_Afrika_aus_systemischer_Sicht._Bewaeltigungsstrategien_von_UNAIDS._Tanja_Wilmink.pdf). Südafrika ist mit mehr als 7 Millionen Erkrankungen am stärksten betroffen, aber auch viele andere Länder wie Swasiland, Botswana, Lesotho, Malawi, Namibia und Simbabwe. Unter den Infizierten bilden Mädchen und junge Frauen im Alter von 15-24 die am häufigsten betroffene Gruppe (Ayesha et al., 2016).

Noch immer hat circa die Hälfte aller Infizierten keinen Zugang zu einer medizinischen Versorgung in Form der cART, was die überdurchschnittlich hohe Sterblichkeitsrate in dieser Region erklärt. Aufgrund der schlechten Versorgung und fehlenden Präventionsmaßnahmen sowie Aufklärungskampagnen lässt sich erklären, dass es in dieser Region verstärkt zu einer hohen Anzahl von Übertragungen innerhalb der Bevölkerung kommt.

Gründe für die häufige Verbreitung in der Region ist die hohe Anzahl von Menschen, die in Armut leben, und deshalb beispielsweise keine Kondome oder HIV-Tests kaufen können; zudem ist der Zugang zu medizinischer Versorgung oftmals unzureichend. Auch die Anzahl von Versorgungseinrichtungen wie Krankenhäusern und das dafür nötige Personal ist in ungenügender Menge vorhanden. Ein Grund ist u.A., dass viele Jahre lang der Thematik ‚HIV und AIDS‘ wenig Aufmerksamkeit gewidmet wurde. Wegen Vorurteilen und Stigmatisierung wurde die Krankheit von Seiten der Regierung verschwiegen und konnte deshalb jahrelang nicht behandelt werden. So konnte sich die Krankheit verstärkt ausbreiten. Erst seit wenigen Jahren gibt es Aufklärungsangebote und die Möglichkeit, sich über Präventionsmaßnahmen zu informieren. Allerdings gibt es noch immer gesellschaftliche Stigmatisierungen, weshalb viele Infizierte schweigen und die Behandlung erschwert wird.

Aber nicht nur der mangelnde Zugang zur medizinischen Versorgung, sondern auch der Zugang zum Bildungswesen ist in den meisten ländlichen Regionen erschwert, weshalb Aufklärungsmöglichkeiten in vielen Teilen der Bevölkerung Subsahara Afrikas fehlen (Restar et al., 2017).

Begünstigt wird die Ausbreitung in den Städten zusätzlich durch einen ausgeprägten Prostitutionsmarkt. Auch die Ausübung der Sexualität in Form der Polygamie und Promiskuität ist in Afrika, im Vergleich zu vielen anderen Ländern, weit verbreitet. Die häufigste Art der Übertragung ist Geschlechtsverkehr zwischen heterosexuellen Menschen, gefolgt von der vertikalen Mutter-Kind-Übertragung (Ayesha et al., 2016).

Dass die Mehrheit der Infizierten aus Frauen besteht, lässt sich aus der untergeordneten Rolle der Frau in der Gesellschaft, und somit auch die fehlende sexuelle Selbstbestimmung in der Partnerschaft und hoher Vulnerabilität, erklären. Polygamie ist deshalb fast ausschließlich dem Verhalten von Männern zuzuordnen. Somit steigt das Risiko, dass ein infizierter Mann viele Frauen anstecken kann. Auch sexuelle Übergriffe sind in vielen Regionen Afrikas, verstärkt in den ärmeren Regionen, häufig zu beobachten (Tietze, 2016).

Durch vermehrte Migration aufgrund von kriegerischen Auseinandersetzungen in vielen Regionen Afrikas oder aufgrund von Armut und der Suche nach Arbeit kommt es zu begünstigten Bedingungen bezüglich der Ausbreitung des HI-Virus (Tietze, 2016).

Ein weiterer Grund für die hohe Anzahl an Infizierten ist die Tatsache, dass durch den eingeschränkten Zugang zu HIV-Tests und die lange, symptomfreie Inkubationszeit der Krankheit bei vielen Betroffenen eine Infektion nicht erkannt wird und somit unwissentlich weitere Menschen infiziert werden können (Tietze, 2016). Außerdem gibt es in Subsahara Afrika eine Vielzahl an weiteren Infektionskrankheiten,

die eine direktere Symptomatik wirken, weshalb einer HIV-Infektion oftmals nur mangelnde Aufmerksamkeit zukommt.

Die hohe Infektionsrate hat ebenfalls wirtschaftliche Folgen für die Länder in Subsahara Afrika: Durch steigende Mortalität, welche oftmals die Hinterlassung von Waisenkindern, aber auch den Verlust von Arbeitskräften und Steuereinnahmen mit sich bringt, verringert sich das Wirtschaftswachstum und die Entwicklung der einzelnen Länder stagniert. Auch wachsen mit steigender Anzahl von Infizierten die Ausgaben für die öffentliche Gesundheit. Durch Aufklärung über Sexualverhalten, Kondombenutzung, HIV-Test und die Wichtigkeit, seinen HIV-Status zu kennen, und das Vorhandensein von Postexpositionsprophylaxen könnten somit schätzungsweise 90% aller über sexuelle Transmission verbreitete Infektionen verhindert werden (Ayesha et al., 2016). Zusammenfassend bilden der ungeschützte Sexualverkehr, mangelnde Aufklärung und die Angst vor Stigmatisierung die Hauptursachen für die Pandemie in Subsahara Afrika.

Anzumerken ist, dass trotz der enormen Anzahl von Infizierten und der hohen Belastung durch die Folgen der Pandemie, in den letzten Jahren die Zahl an Neuinfektionen gesunken ist (Ayesha et al., 2016). Auch mit steigender Verfügbarkeit der Behandlung mit einer ART (siehe Abbildung 12 und 13) sind die Zahlen der an AIDS verstorbenen Menschen gesunken. So konnte in Subsahara Afrika ebenfalls ein Anstieg der ART-Nutzung verzeichnet werden: Im Jahr 2010 hatten rund 24 % der Betroffenen Zugang zur ART, im Jahr 2015 stieg diese Zahl auf 55 %; das entspricht circa 10,3 Millionen Menschen (UNAIDS, Global report update 2016). In den darauffolgenden Jahren hat sich dieser Anstieg fortgesetzt.

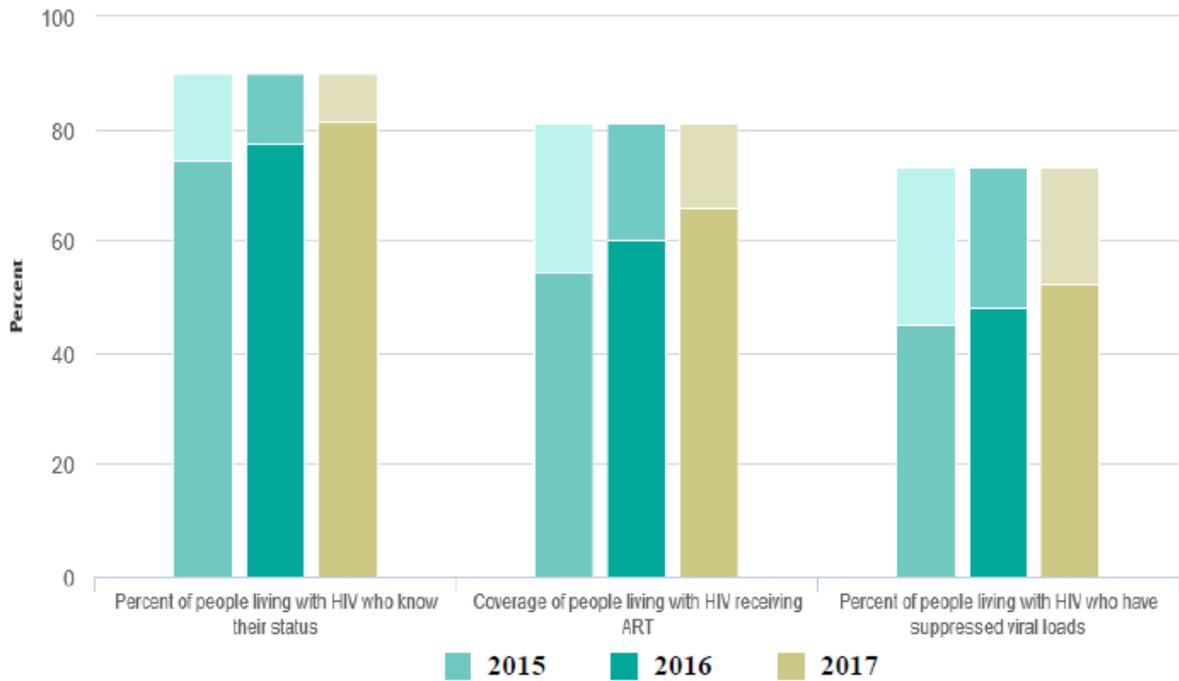


Abbildung 12: HIV-Infizierte in Ost- und Südafrika. Von 2015 bis 2017 ist die Anzahl an wissentlich HIV-Infizierten in den Regionen Ost- und Südafrikas von 75% auf 82% gestiegen, sowie ein Anstieg von 55% auf 65% an Infizierten, die eine ART in Anspruch nehmen. Die Anzahl an Therapierten, bei denen keine Viruslast mehr detektiert werden kann, ist von 45% auf 52% gestiegen. Quelle: <http://aidsinfo.unaids.org/> (22.09.2018)

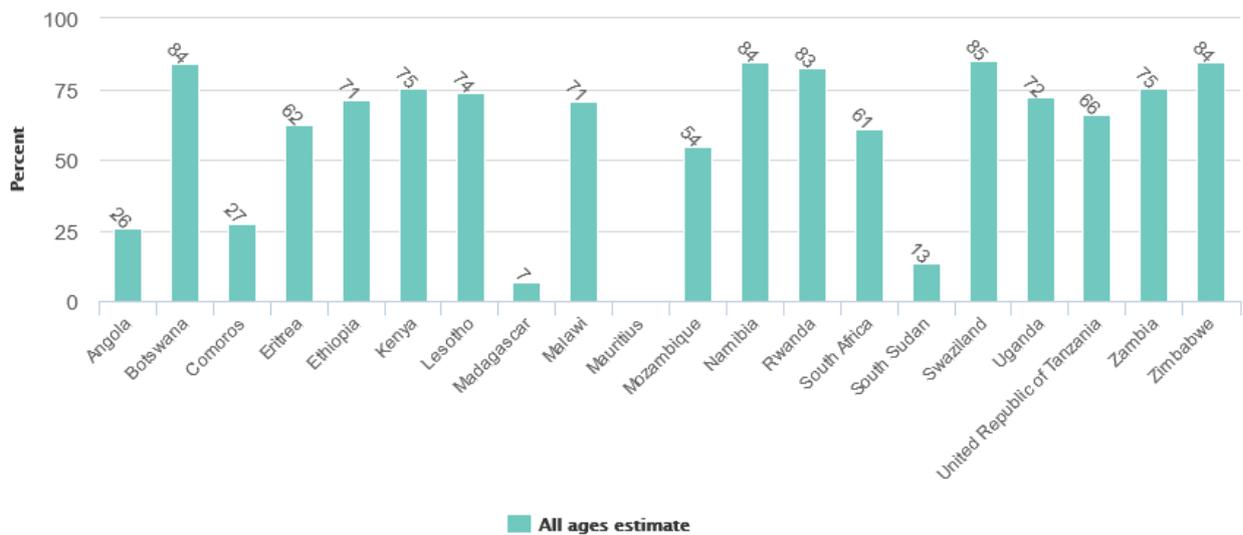


Abbildung 13: Zugang zur ART in Ost- und Südafrika. In vielen Regionen ist ein flächendeckender Zugang nicht gewährleistet. Quelle: <http://aidsinfo.unaids.org/> (22.09.2018)

3.10 Antiretrovirale Therapien in Subsahara Afrika

Im Folgenden werden die Gesundheitsmaßnahmen einiger Länder in Afrika erläutert. Dies soll den Umgang mit HIV im Jahr 2015 aufzeigen. Die Länder, die hier näher betrachtet werden, gehören zu den stärksten betroffenen Ländern südlich der Sahara bezüglich HIV-Infizierten.

Südafrika: In Südafrika wird allen HIV-Infizierten, unabhängig ihres Krankheitsstadiums, zu einer ART geraten. Besonders bei Schwangeren, stillenden Müttern, Erkrankten mit einer CD4⁺-Zellzahl unter 350 Zellen/ μ l und Langzeiterkrankten wird ein schneller Therapiestart empfohlen. FDC (fixed dose combination, bestehend aus Efavirenz, Emtricitabin und Tenofovir) ist bei nahezu allen Patienten das verschriebene Medikament. Lediglich bei Patienten, die jünger als 15 sind oder weniger als 40kg wiegen, wird ein alternatives Medikament (ABC+3TC+EFV) bevorzugt. Bei Unverträglichkeiten oder gescheiterter Medikation wird statt Efavirenz eine andere Substanz verwendet. Wenn eine ART zum zweiten Mal scheitert, wird auf Basis von Genotyp-Resistenztestungen eine Medikation bestimmt. Nach Beginn der ART wird die Viruslast nach 6 und 12 Monaten bestimmt, danach jährlich (National Consolidated Guidelines, National Department of Health South Africa, 2015).

Namibia: In Namibia wird ebenfalls empfohlen, dass alle HIV-Infizierten die ART schnellstmöglich beginnen. Die Medikation ist dieselbe wie in Südafrika, auch hier wird, wenn möglich, FDC verwendet. Auch hier wird nach zweimaliger, ineffizienter Medikation eine Resistenztestung vorgenommen. Die Viruslastuntersuchungen finden ebenfalls nach einmalig 6 und 12 Monaten im jährlichen Rhythmus statt. Auch wird der Gebrauch von PrEP und PEP gefördert (National Guidelines for Antiretroviral Therapy, Fifth Edition 2016, Republic of Namibia, Ministry of Health and Social Services).

Botswana: Als eines der ersten afrikanischen Länder hat Botswana Programme für eine vollständige, medikamentöse Versorgung HIV-Infizierter veröffentlicht. So hatten 2004 bereits 40% der Infizierten Zugang zur ART (Tietze et al. 2016). Seit 2016 gelten in Botswana die gleichen Richtlinien bezüglich der ART wie in Südafrika und Namibia, vorher bildete die Kombination aus Truvada und Dolutegravir die ART, alternativ das Medikament Triumeq, bestehend aus Abacavir, Lamivudin und Dolutegravir. Wenn diese Behandlungen nicht erfolgreich waren, wurde bereits eine Resistenztestung durchgeführt. Die Verwendung der PrEP und der PEP wird allen Gefährdeten empfohlen, die PrEP als Prophylaxe ohne akute Gefährdung wird allerdings abgelehnt. Allen Schwangeren wird geraten im Abstand von drei Monaten einen HIV-Test durchzuführen (Handbook of the Botswana, 2016 Integrated Hiv Clinical Care Guidelines, Ministry of Health, Republic of Botswana).

Anhand dieser drei Vergleiche lässt sich zeigen, dass die ART in den Ländern Subsahara Afrikas ähnlich ist und gefördert wird, allerdings wird in den hier aufgezählten Beispielen die von der WHO empfohlene Verwendung von Efavirenz in Südafrika und Namibia, nicht aber in Botswana

durchgeführt. Zudem wurde lediglich bei Unverträglichkeiten die Medikation verändert, verstärkt regional auftretende Resistenzen wurden nicht berücksichtigt.

3.11 HIV in Deutschland

Auf Grundlage der Daten des HIV-Jahresberichtes 2015/2016 vom Robert Koch-Institut kann eine Einschätzung bezüglich der Entwicklung an Neudiagnosen in Deutschland gemacht werden. Grundlage dieser Daten ist die HIV-Meldepflicht, die im § 7 Abs. 3 des Infektionsschutzgesetzes (IfSG) festgelegt ist und besagt, dass der labordiagnostische Nachweis einer Infektion an das Robert Koch-Institut gemeldet werden muss. Dabei ist zu beachten, dass die Anzahl an Neudiagnosen nicht mit der Anzahl an Neuinfektionen übereinstimmen muss. Genauer handelt es sich um Neumeldungen, da die Betroffenen in SSA eventuell bereits diagnostiziert worden sind. Daher sind im Folgenden mit dem Begriff ‚Neudiagnosen‘ die Neumeldungen von Personen aus SSA gemeint, die in Deutschland zum ersten Mal diagnostiziert wurden.

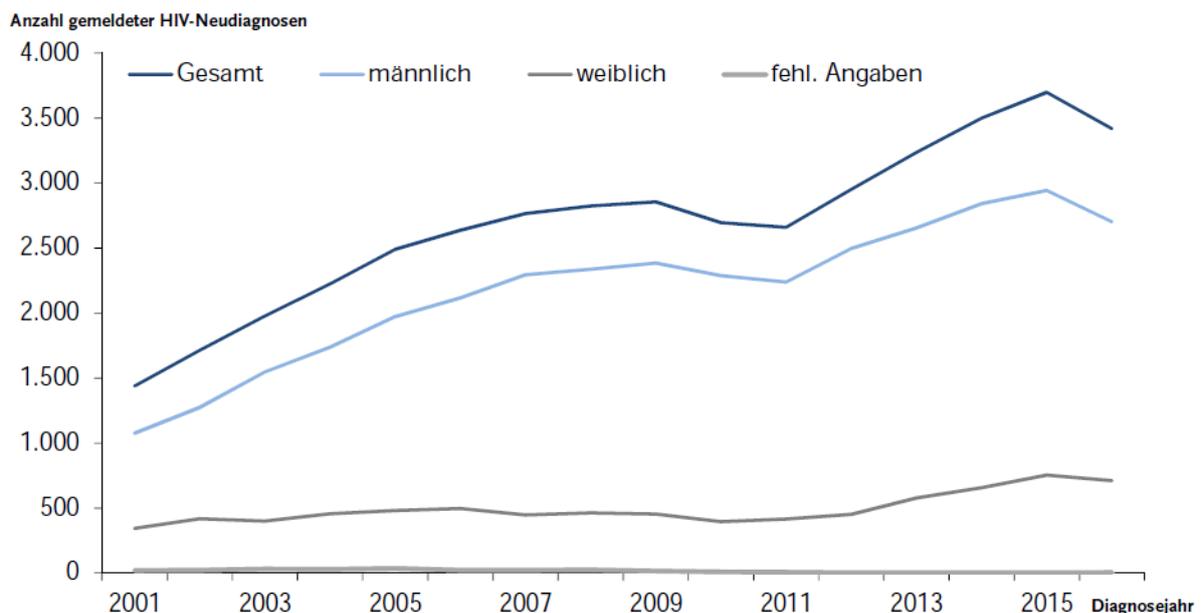


Abbildung 14: Gemeldete HIV-Neudiagnosen von 2001 bis 2016. Die Anzahl an Neudiagnosen von männlichen Infizierten ist höher als die von weiblichen und im dargestellten Zeitraum von 17 Jahren stärker angestiegen. Quelle: Epidemiologisches Bulletin 39/2017, Robert Koch-Institut.

Abbildung 14 zeigt, dass es im Jahr 2015 einen Anstieg an gemeldeten Neudiagnosen gab, sowohl bei männlichen, als auch bei weiblichen Infizierten. In diesem Jahr betrug die Anzahl an Neudiagnosen 3699, 2014 lag sie bei 3500. 2016 sank diese Zahl um 8% auf 3419 (Epidemiologisches Bulletin 39/2017, Robert Koch-Institut). Ebenfalls lässt sich erkennen, dass seit 2012 bis 2015 ein stetiger Anstieg an

Neudiagnosen festgestellt worden konnte, der im Jahr 2015 seinen Höhepunkt hatte. Von 2006 bis 2015 betrug der Anteil an Neudiagnosen von Männern 82,5%, der von Frauen 17,1%. Der Altersmedian lag 2015 bei 37 Jahren bei männlichen und bei 33 Jahren bei weiblichen Infizierten. Regional wurden die meisten Neudiagnosen in Nordrhein-Westfalen (n=794), Bayern (n=643) und Baden-Württemberg (n=400), die wenigsten in Saarland (n=38), Mecklenburg-Vorpommern (n=40) und Thüringen (n=41) gemeldet. In der Risikogruppe der heterosexuellen Transmission wurden in Bayern mit 245 die meisten Neudiagnosen erfasst, wovon 29 Personen Deutschland und 178 Personen Subsahara Afrika als Herkunftsland angaben. In Sachsen-Anhalt stieg in derselben Risikogruppe die Anzahl von Neudiagnosen mit Herkunftsland Subsahara Afrika von 20 (2014) auf 24 (2015). Beide Bundesländer führten zeitweise routinemäßige HIV-Testungen bei Personen im Asylverfahren durch (Epidemiologisches Bulletin 38/2016, Robert Koch-Institut).

Im Vergleich der Neudiagnosen vom Zeitraum 2008-2012 mit 2013-2015 wurde in den Bundesländern Bayern, Sachsen und Sachsen-Anhalt die die größte Zunahme an HIV-Meldungen mit im Ausland erworbenen Infektionen beobachtet.

Die Hauptrisikogruppe innerhalb aller Neudiagnosen sind MSM mit 1851 Fällen (50,4%), gefolgt vom heterosexuellen Transmissionsweg mit 954 Neudiagnosen (26%), intravenös verabreichten Drogen (n=134; 3,6%), vertikaler Transmission (n=26; 1%). Von den 26 diagnostizierten Mutter-Kind-Transmissionen stammten vier der Mütter aus Deutschland; 15 der Mütter gaben als Herkunftsland Subsahara Afrika an.

Bei 19% der Neudiagnosen konnte der Transmissionsweg nicht ermittelt werden (Epidemiologisches Bulletin 39/2017, Robert Koch-Institut).

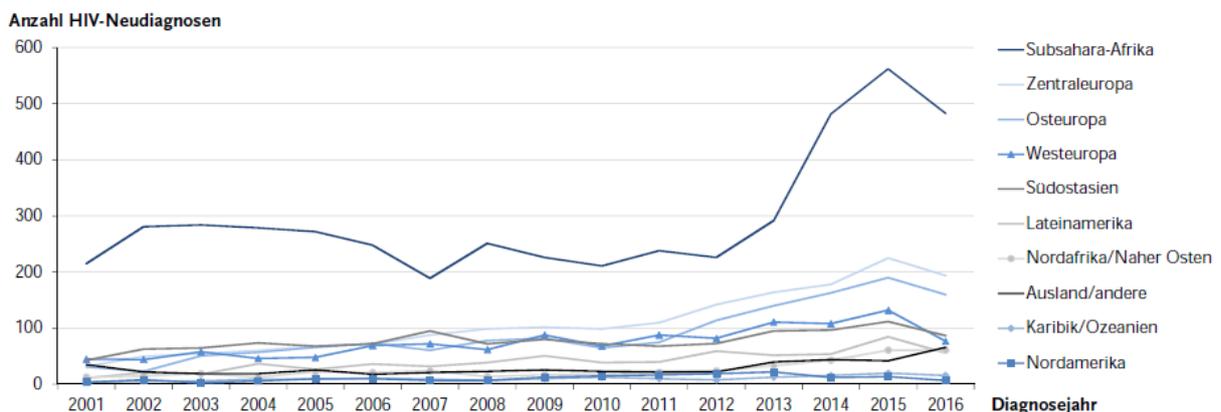


Abbildung 15: HIV-Neudiagnosen mit Herkunftsbestimmung. Von 2001 bis 2016 kamen die Infizierten mit Neudiagnosen zum größten Anteil aus Subsahara Afrika. Seit 2012 ist ein starker Anstieg bis zum Jahr 2015 zu erkennen. Quelle: Epidemiologisches Bulletin 39/2017, Robert Koch-Institut.

Herkunft: Bei 94% der Neudiagnosen lagen Informationen zum Herkunftsland vor. 58% (n=2004) aller Neudiagnosen gaben als Herkunftsland Deutschland an, 16% (n=562) Subsahara Afrika. Das sind 81 Neudiagnosen mehr als im Jahr 2014.

Von allen Neudiagnosen, denen ein heterosexuell übertragbarer Transmissionsweg zugeordnet werden kann (n=954), stammen 55% (n=522) aus Subsahara Afrika.

In Abbildung 15 ist ersichtlich, dass von 2001 bis 2016 die Mehrzahl an Neudiagnosen bezüglich der Herkunftsbestimmung aus Subsahara Afrika stammt, welche von 2012 bis 2015 einen stetigen Anstieg aufwies, danach wieder abfiel.

Infektionsort: Bei 87% aller HIV-Neudiagnosen lagen Informationen zum Infektionsort vor. 70% gaben als Infektionsort Deutschland an, 30% stammen aus dem Ausland (n=964). 13% (n=419) gaben als Herkunftsland Subsahara Afrika an (Epidemiologisches Bulletin 38/2016, Robert Koch-Institut).

3.12 Molekulare Surveillance

Der Begriff ‚Molekulare Surveillance‘ beschreibt einen Arbeitsprozess, durch welchen molekulare Informationen für das Monitoring gewonnen werden. Im NGS-Verfahren (Next Generation Sequencing) können virale Genomabschnitte analysiert werden. So lassen sich Art und Häufigkeit von übertragenen Resistenzen (Hauser et al., 2018), Subtypverteilung und Phylogenie untersuchen. Analysen der Phylogenie können Aufschluss über geografische Entwicklungen und Transmissionen liefern, da mittels Meldebogen der Patienten soziale und demografische Angaben vorliegen. Mit diesen Informationen können wiederum zielführende, individuell abgestimmte Präventionsmaßnahmen entwickelt werden.

Im Rahmen des Projektes MolSurv_HIV des Robert Koch-Institutes wird seit 2013 neben Rezenz-Testungen (rezente Infektionen = \leq 5 Monate vor Diagnose erworben) über Antikörperspiegel auch getrocknetes Plasma von ca. 60% der Neudiagnosen (DSS – dried serum spots) für eine genotypische Resistenzbestimmung genutzt. Aus diesen wird die RNA extrahiert, in cDNA umgeschrieben und amplifiziert. Da man Informationen über Resistenzentwicklungen analysieren möchte, werden die relevanten Regionen, also *pol* (PR, RT, INT) und mittlerweile auch *env* (gp120:V3 loop) untersucht. Danach werden die Proben mittels der Illumina MiSeq-NGS Technologie sequenziert und ausgewertet (https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/H/HIVAIDS/Studien/MolSurv_HIV.html, 12.09. 2018).

Da im Rahmen dieser Arbeit dieselben Methoden genutzt werden, sind in Kapitel 4 detailliertere Beschreibungen zu finden.

3.13 Ziel der Arbeit

Da es 2015 aufgrund des hohen Flüchtlingszustroms zu einer erhöhten Anzahl an HIV-Neumeldungen an das RKI von Personen mit Herkunftsland Subsahara Afrika kam (Epidemiologisches Bulletin 39/2017, Robert Koch-Institut), sollen anhand der entsprechenden HIV-Sequenzdaten die Virusvarianten hinsichtlich des HIV-1 Subtyps, der Anwesenheit von Resistenzmutationen und der daraus resultierenden Wirkstoff- und Medikamentenresistenz untersucht werden. Die Virusvarianten sollen zudem bezüglich der Herkunft der Patienten innerhalb von SSA, des Infektionsortes und des Transmissionswegs analysiert werden. Der Gesundheitszustand soll mithilfe der Viruslast, der CD4⁺-Zellzahl und der Einteilung in die sogenannten CDC-Stadien eingeschätzt werden. Aufgrund dieser Ergebnisse kann ermittelt werden wie hoch die Anteile an Neu- und Langzeitinfektionen in den analysierten Populationen sind. Anhand dieser Resultate soll wiederum vermutet werden, ob die neudiagnostizierten Personen aus SSA bereits Zugang zu einer antiretroviralen Therapie haben oder hatten. Es soll abschließend eingeschätzt werden, ob die resistenten Virusvarianten im Herkunftsland unter den dort verabreichten Therapien oder in Deutschland infizierten Personen afrikanischer Herkunft selektiert wurden.

Das Vorhandensein von signifikanten Unterschieden bezüglich dieser Charakteristika soll zunächst zwischen den analysierten Studienkollektiven aus den Jahren 2015 und 2017 untersucht werden. Durch den Vergleich mit den entsprechenden Daten aus dem Jahr 2017 (Neudiagnosen mit Herkunftsland Subsahara Afrika) kann abgeschätzt werden, ob und wie sich die derzeitige Situation verändert hat und weiterentwickeln könnte. Wenn signifikante Unterschiede detektiert werden, sollen mögliche Ursachen und Auswirkungen diskutiert werden.

Die Prävalenzen sollen abschließend mit der Situation in Deutschland verglichen und Prognosen für Veränderungen in der Subtyp-Diversität oder Änderungen an Resistenzprävalenzen dargelegt werden. Auch hier sollen mögliche Ursachen und Wirkungen der Ergebnisse diskutiert werden.

Abschließend sollen geeignete Präventionsmaßnahmen ermittelt und diskutiert werden.

4. Material und Methoden

4.1 Materialien

4.1.1 Geräte

Gerätename	Modell	Hersteller
Extraktor	NucliSens easyMAG	bioMérieux
Geldokumentation	E.A.S.Y RH-3	Herolab GmbH
Gelelektrophorese-Kammer	HorizonR58 Gibco BRL	Eggstein
Heizblock	Bio TD8-100	A. Hartenstein
Inkubationsschüttler	MT5	IKA
Lamina	Bleymehl Reinraumtechnik	Inden-Pier
Lunimometer	TECAN InfiniteR 200 PRO	Tecan
PCR-Zyklus	Mastercycler proS	Eppendorf AG
Pipettierroboter	Biomek 400	Beckman Coulter
Prazisionswaage	L610D	Satorius,
Thermostyklus	T3000	Biometra GmbH
Themperiergerät	MEMoryCard XL	Memmert
Vortex-Schüttler	Vortex-Genie 2	Scientific Industries, Inc.
Zentrifuge	Mini Star	neoLab

4.1.2 Chemikalien

Chemikaliename	Hersteller
Agarose, Ultra Pure™	Invitrogen
AmpureXP Beads	Beckman Coulter
Ethanol	Carl Roth GmbH + Co. KG
Ethidiumbromid	Amresco
GeneRuler™ 1kb DNA Ladder	Fermentas
NucliSENS easyMAG Magnetic Silica (Beads)	bioMérieux

4.1.3 Puffer

Puffername	Hersteller
6x Ladepuffer	Thermo Scientific GmbH
50x TAE Puffer	Thermo Scientific GmbH
1x TE Puffer	Promega
NucliSENS easyMAG Extraktionspuffer 1	bioMérieux
NucliSENS easyMAG Extraktionspuffer 2	bioMérieux
NucliSENS easyMAG Extraktionspuffer 3	bioMérieux
NucliSENS easyMAG Lysispuffer	bioMérieux

4.1.4 Kits

Kitname	Hersteller
OneStep RT-PCR Kit	QIAGEN
Quant-iT™ PicoGreen™ dsDNA Assay Kit	ThermoFisher Scientific
RNasin	Promega, Madison, USA

4.1.5 Kontrollen

Kontrolle	
Negativkontrolle	Plasma (DSS): DRK Blutspendedienst
Positivkontrolle	Plasma (DSS): HTLVIII B, verdünnt auf 10^4 Kopien/ml; verdünnt auf 10^6 Kopien/ml

4.1.6 Equipment

Materialname	Modell	Hersteller
96-Well-Platte	Nunc U96 PP 0,5ml	Thermo Scientific GmbH
96-Well-Platte	Hard-Shell	BioRad
96-Well-Platte	Corning™ 3340	Corning™ Costar™
96-Well Platte	DNA LoBind	Eppendorf AG
Combitip	Combitips advanced® 25 mL	Eppendorf AG
Extraktions-Einwegbehälter	NucliSENSeasyMAGDisposables	bioMérieux
Falkon-Tube	15ml, 50ml	Sarstedt AG&CO
Folie	MicrosealR 'B' PCR Plate	BioRad
Handschuhe	NeoTouch	Ansell
Handschuhe	SHIELDskin, orange nitril	SHIELD Scientific
Pipetten	10, 20, 100, 200, 1000 µl	Eppendorf AG
Glaskolben	200ml	Duran
Messzylinder	100ml	Brand™
Pipetten	10, 20, 100, 200, 1000 µl	Eppendorf AG
Pipetten, ArtTips	10, 20, 100, 200, 1000 µl	Thermo Scientific GmbH
Pipetten, ClipTip	10µl	Thermo Scientific GmbH
Pipette, automatisch	e1200	Sartorius
Pipette, Mehrkanal, ClipTip	10µl	Beckman Coulter
Pipetten, serologisch	10ml, 25ml	TPP
Pipettenspitzen	10, 20, 100, 200, 1000 µl	Eppendorf AG
Pipettenspitzen	10, 20, 100, 200, 1000 µl	Thermo Scientific GmbH
Pipettenspitzen, automatisch	1200µl	Sartorius
Pipettenspitzen, Biomek	50µl, 250µl	Thermo Scientific GmbH
Pipettierhilfe	pipetus	Hirschmann
Reaktionsgefäße	0,2ml	Biozym
Reaktionsgefäße	1,5ml, 2ml	Sarstedt AG&CO

4.1.7 Gerätesoftware

Software name	Hersteller
Agencourt AMPure	Bekman Coulter
E.A.S.Y Win 32	Herolab GmbH
Geneious 10.0.5	Biomatters
IQ-Tree 1.6.6	IQ-Tree Development Team
Magellan	Tecan

4.1.8 Primer

Die Primer wurden bei ‚metabion international‘ in Auftrag gegeben.

Primernamen	Sequenz 5' -> 3'
PR_fw	CCCTCARATCACTCTTGGCARGA
PR_rev	CCTAATTGAACYTCCCARAARTCYTGAGT
RT_fw	AAACAATGGCAATTRACAGARGA
RT_rev	CTAAYTTYTGATATRCATTG
INT_fw	ATCCTGTCTACYTGCCACACAA
INT_rev	ATTGGAAATGAACAAGT

4.2 Methoden

4.2.1 Extraktion

Aus dem auf Filterpapier Whatman #903 getropfte Probenmaterial wird mit dem bioMérieux Extraktionssystem NucliSens easyMAG virale RNA gewonnen. Pro Extraktion werden 22 Proben, eine PK und eine NK bearbeitet. Dazu werden pro Probe/PK/NK zwei DSS jeweils in ein 2ml Reaktionsgefäß gesteckt und mit 1,5ml Lysispuffer versetzt. Die Proben verbleiben für eine Stunde auf einem Schüttler bei circa 300rpm. Danach werden circa 1,2ml der lysierten Probe abgenommen und in Extraktions-Einwegbehälter überführt. Die Proben werden mit 50µl Silica Beads durch eine Automatikpipette vermischt und im Extraktor positioniert. Danach wird das Gerät wie in der Anweisung beschrieben eingestellt und gestartet (Protokoll: Generic 2.0.1; Menge: 0,2ml; Eluat: 60µl; Probenart: Serum). Aus den 60µl eluierter Probe werden je 10µl in 0,2ml Reaktionsgefäße aliquotiert und bei -80°C gelagert.

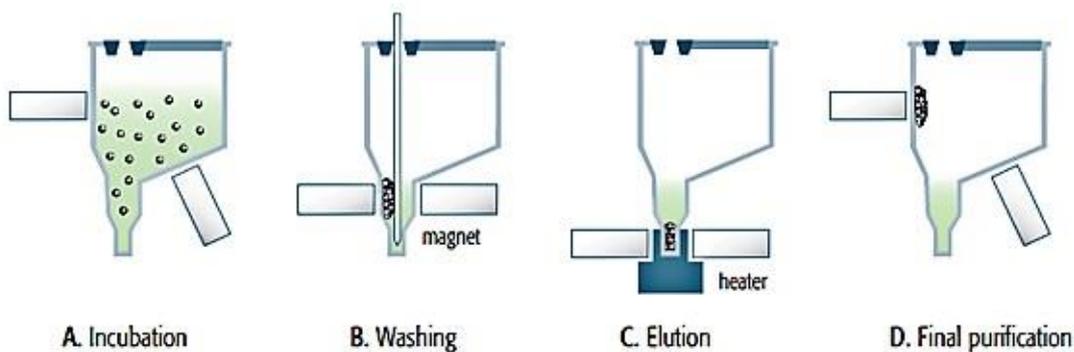


Abbildung 16: RNA-Extraktion. A: Die lysierten Zellen werden mit Silica Beads inkubiert, sodass die RNA an diese bindet. B: Die übrigen Zellbestandteile werden durch Waschen mit Ethanol von der RNA getrennt. C: Die RNA wird durch Eluationspuffer von den Beads getrennt. D: Die Beads werden mittels Magneten von der eluierten RNA getrennt. Quelle: <https://www.bioMérieux-diagnostics.com/nuclisensr-easymagr> (22.09.2018)

4.2.2 Amplifizierung mittels Polymerasekettenreaktion

Mit den extrahierten Proben werden jeweils drei PCRs durchgeführt, um die PR-, RT- und INT- Regionen der *pol* zu amplifizieren. Die Primer der PR-PCR bilden im HIV-Genom an den Positionen 2252-2276 und 2799-2827, die Primer der RT an den Positionen 2613-2636 und 3303-3330 und die Primer der INT-PCR an den Positionen 4173-4192 und 5199-5219 (Referenzstamm HxB2). Es handelt sich um eine One-Step RT PCR (QIAGEN), indem sowohl die cDNA-Synthese, als auch die Amplifikation, erfolgt. Zusätzlich wird RNasin (Promega) hinzugegeben, um die restliche RNA zu hydrolysieren. Es werden pro PCR 10µl RNA verwendet, die zuvor für 10 Minuten bei 65°C denaturiert wird. Auch die PK und NK aus der Extraktion werden amplifiziert.

4.2.2.1 Protease PCR

Tabelle 4: Reagenzien der PR-PCR

PR-PCR				Master Mix
Reagenz	Konz. Stocklsg.	Konz. Final	$\mu\text{l}/\text{Ansatz}$	25
H ₂ O	-	-	5,7	142,5
5xRT-Puffer	5x	1x	5	125
MgCl ₂	50 mM	0,5mM	0,25	6,25
dNTP	10mM	400 μM	1	25
Primer	25 μM	0,6 μM	0,6	15
Primer	25 μM	1,2 μM	1,2	30
RNasin (Promega)	40 U/ μl	40U	0,25	6,25
Enzyme Mix	200 U/ μl	200 U	1	25
Total	-	-	15	375

Tabelle 5: Programm der PR-PCR

Schritt	Temperatur	Zeit	Wiederholungen
cDNA-Synthese	50°C	30 Minuten	1
Erstes Denaturieren	95°C	15 Minuten	1
Denaturieren	94°C	30 Sekunden	} 55
Annealing	57°C	45 Sekunden	
Polymerisation	72°C	1 Minute	
Polymerisation	72°C	10 Minuten	1

4.2.2.2 Reverse Transkriptase PCR

Tabelle 6: Reagenzien der RT-PCR

RT-PCR				Master Mix
Reagenz	Konz. Stocklsg.	Konz. Final	$\mu\text{l}/\text{Ansatz}$	25
H ₂ O	-	-	4,5	112,5
5xRT-Puffer	5x	1x	5	125
MgCl ₂	50 mM	0,5mM	0,25	6,25
dNTP	10mM	400 μM	1	25
Primer	25 μM	1,5 μM	1,5	37,5
Primer	25 μM	1,5 μM	1,5	37,5
RNasin (Promega)	40 U/ μl	40U	0,25	6,25
Enzyme Mix	200 U/ μl	200 U	1	25
Total	-	-	15	375

Tabelle 7: Tabelle 3: Programm der RT-PCR

Schritt	Temperatur	Zeit	Wiederholungen
cDNA-Synthese	50°C	30 Minuten	1
Erstes Denaturieren	95°C	15 Minuten	1
Denaturieren	94°C	30 Sekunden	} 55
Annealing	59°C	45 Sekunden	
Polymerisation	72°C	1,5 Minuten	
Polymerisation	72°C	10 Minuten	1

4.2.2.3 Integrase PCR

Tabelle 8: Reagenzien der INT-PCR

INT PCR				Master Mix
Reagenz	Konz. Stocklsg.	Konz. Final	$\mu\text{l}/\text{Ansatz}$	
H ₂ O	-	-	6,75	168,75
5xRT-Puffer	5x	1x	5	125
dNTP	10mM	400 μM	1	25
Primer	25 μM	0,5 μM	0,5	12,5
Primer	25 μM	0,5 μM	0,5	12,5
RNasin (Promega)	40 U/ μl	40U	0,25	6,25
Enzyme Mix	200 U/ μl	200 U	1	25
Total	-	-	15	375

Tabelle 9: Tabelle 3: Programm der INT-PCR

Schritt	Temperatur	Zeit	Wiederholungen
cDNA-Synthese	50°C	30 Minuten	1
Erstes Denaturieren	95°C	15 Minuten	1
Denaturieren	95°C	30 Sekunden	} 2
Touchdown	65°C – 60°C	45 Sekunden	
Denaturieren	95°C	30 Sekunden	} 43
Annealing	55°C	45 Sekunden	
Polymerisation	72°C	3 Minute	
Polymerisation	72°C	10 Minuten	1

4.2.3 Elektrophoresegel

Mittels der Gelelektrophorese kann eine erste Einschätzung erfolgen welche Proben ein PR-, RT- und INT-positives Ergebnis aufweisen. Durch das Auftrennen der gefärbten DNA können unter UV-Licht die jeweiligen Banden detektiert werden. Die PR sollte dabei eine Bande bei 575 bp, die RT bei 718 bp und die INT bei 915 bp aufzeigen.

Die Zusammensetzung des Gels ist der Tabelle 10 zu entnehmen. TAE-Puffer und Agarose wurden zusammen in der Mikrowelle aufgeköcht, das Ethidiumbromid wurde anschließend hinzugegeben. Die Elektrophoresekammer wird mit 1xTAE-Puffer befüllt.

Tabelle 10: Komponenten für ein 1,5%iges Agarosegel

Komponente	Vol.
Agarose	1,5 g
1x TAE-Puffer	100 ml
Ethidiumbromid	30 µl

Die Geltaschen werden mit 7µl Probe beladen, die sich folgendermaßen zusammensetzt: 2µ aus der PR-PCR, 2µl aus der RT-PCR, 2µl aus der INT-PCR und 1µl 6xPuffer. Zudem werden 3µl eines 1kb Markers in reservierte Geltaschen (Gene Ruler™ 1 kb DNA-Ladder, 100ng/µL) aufgetragen.

Das Gel läuft bei 120 Volt für circa 45 Minuten. Anschließend wird das Gel im E.A.S.Y RH-3 mit UV-Licht bestrahlt und mit der Software EASY Win32-System ausgewertet und dokumentiert.

4.2.4 Aufreinigung

Die Aufreinigung der Proben erfolgt mithilfe des AMPure XP - PCR Purification Systems (Abbildung 17). Dafür wird das gesamte Volumen der Proben auf eine ‚Nunc U96 PP‘ 96-Well-Rundbodenplatte übertragen. Die Aufreinigung des Probenmaterials erfolgt nach Herstellerangaben. Die Proben werden im Folgenden in einem Verhältnis von PCR Produkt zu AMPure Beads von 1:1 gemischt. Mit 80%igem Ethanol werden die Proben zweimal hintereinander gewaschen. Anschließend werden die Proben mittels 1xTE-Puffer eluiert und auf eine 96-Well-Platte übertragen.

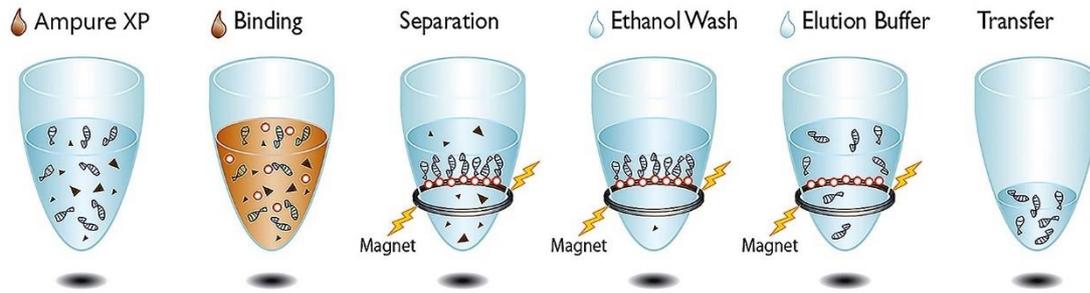


Abbildung 17: Aufreinigung der zuvor amplifizierten Proben. Die DNA bindet an Ampure XP Beads und kann mittels Magneten und Ethanol von restlichen Probenbestandteilen separiert werden. Quelle: Agencourt AMPure XP Information For Use Guide PCR Purification, © 2016 Beckman Coulter, Inc, 2016

4.2.5 Quantifizierung mittels Pico Green

Die PicoGreen Messung ist eine Methode, um die Proben auf ihre DNA-Quantität zu untersuchen. Mittels eines fluoreszierenden Farbstoffs, der sich an die DNA anlagert, kann über einen Standard die Menge an DNA in den Proben ermittelt werden. Für die Berechnung wird eine Standardreihe pro gemessene Platte mitaufgetragen.

Für die Messung wird aus 20x TE und H₂O ein 1x TE Puffer hergestellt. Mit diesem werden die Proben und der PicoGreen Farbstoff verdünnt, sowie die Standardreihe erstellt. Für die Herstellung der PicoGreen Arbeitslösung wird der Farbstoff 1 zu 200 mit 1x TE verdünnt.

Für die Erstellung der Standardreihe werden Verdünnungen mit der im Kit vorhandenen λDNA (100ng/μl) verwendet. Es werden folgende Verdünnungen hergestellt: 2ng/μl, 1,5ng/μl, 1ng/μl, 0,5ng/μl, 0,2ng/μl, 0,02ng/μl und 0,002ng/μl. Die letzte Probe der Standardreihe besteht lediglich aus 1x TE Puffer.

Pro Well werden 2μl Probe mit 98μl 1xTE auf Corning™ 96-Well-Platten aufgetragen. Von der Standardreihe werden jeweils 100μl pipettiert. Zu allen Proben kommen 100μl der PicoGreen Arbeitslösung. Somit sind alle DNA-Proben 1 zu 50 verdünnt worden. Nach 2 bis 5 Minuten Inkubationszeit werden die Proben im Gerät Tecan Reader mit der Magellan-Software bei einer Excitation von 480nm/ Emission von 520nm gemessen.

Mittels Erstellung der Standardreihe kann nun die Menge an DNA in den Proben berechnet werden.

4.2.6 Sequenzierungsmaterialauswahl nach der Gelelektrophorese und PicoGreen

Um für NGS geeignete Proben auszuwählen, wurden sowohl die Bilder der Gelelektrophorese, als auch die ermittelte Menge an DNA aus der PicoGreen-Messung ausgewertet. Nur wenn mindestens zwei der drei untersuchten Regionen nachgewiesen werden konnten, wurden die Proben sequenziert.

4.2.6.1 Elektrophoresegele

In Abbildung 18 ist die Auswertung eines Untersuchungsprotokolls zu sehen. Das Gelbild bildet das erste Entscheidungskriterium, ob eine Probe sequenziert wird. Die PK sollte alle Banden aufweisen, die NK hingegen keine. Als zweites Entscheidungskriterium wird anschließend das Ergebnis der PicoGreen-Messung genutzt.

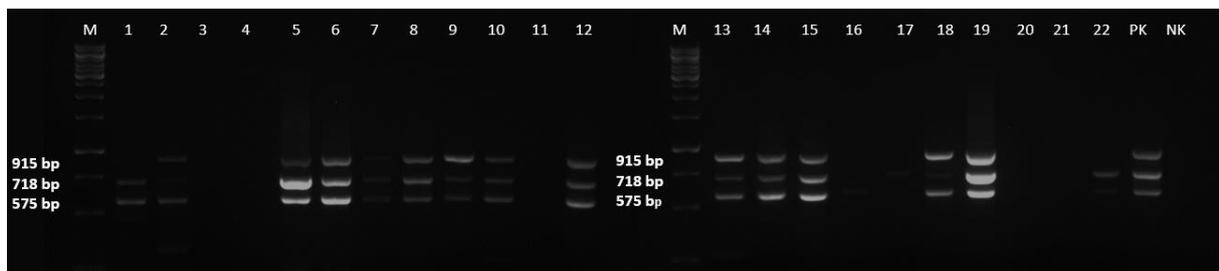


Abbildung 18: Gelbild mit Proben nach der PCR-Amplifizierung. Die Proben werden auf das Vorhandensein der PR- (575bp), RT- (718bp) und INT-Fragmente (915bp) untersucht. Eine Probe sollte für die sequenzielle Analyse mindestens zwei der drei Fragmente, im Idealfall die der PR und RT, aufweisen können. Anhand dieser Geldokumentation würde man auf eine Sequenzierung der Proben 3, 4, 11, 20 und 21 verzichten. Bei schwachen Proben wie Probe 16 und 17 würden vor einer endgültigen Entscheidung die PicoGreen-Messungen analysiert werden.

4.2.6.2. PicoGreen-Messung

Die PicoGreen-Messung gibt Aufschluss, wie viel DNA in den Proben vorhanden ist. Somit gibt diese Methode nicht nur eine qualitative, sondern zusätzlich eine quantitative Aussage, womit direkt das Volumen für die Sequenzierung ermittelt werden kann. Für die Proben aus Abbildung 17 ist in Tabelle 11 mit dazugehöriger Standardgerade (Tabelle 12) die PicoGreen-Auswertung dargestellt.

Tabelle 11: Berechnung der DNA-Konzentration [ng/μl] mittel PicoGreen. Schema der 96-Well-Platte, auf welcher von unten nach oben die Proben aufgetragen wurden (Probe 1 befindet sich somit in H1 (PR), H4 (RT) und H7 (INT)). Spalte 12 (nicht mitaufgetragen) enthielt den DNA-Standard aus dem verwendeten Kit Quant-iT™ PicoGreen™ dsDNA Assay Kit (Promega). Proben mit einer Konzentration unterhalb von 5ng/μl sind für die Sequenzierung mittels NGS unzureichend geeignet.

<>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A	14,7	3,5	0,4	33,3	3,2	2,5	16,9	0,6	0,4	0,3	0,3
B	8,0	49,0	15,3	5,7	18,2	9,6	2,1	21,3	24,5	0,3	0,3
C	55,5	43,8	8,1	64,6	8,9	100,3	23,6	34,3	0,4	0,3	0,3
D	40,2	20,1	2,0	32,9	20,2	2,0	8,6	2,0	0,4	0,3	0,3
E	4,2	21,3	1,3	5,3	32,5	4,4	0,9	3,4	0,4	0,3	0,3
F	2,4	3,7	59,4	1,9	13,4	16,1	0,4	0,5	33,3	0,3	0,3
G	9,6	8,8	11,3	27,1	20,5	58,3	7,6	1,6	19,5	0,3	0,3
H	5,4	5,7	3,5	18,5	23,4	0,6	7,0	0,9	0,5	0,3	0,3
	PR			RT			INT				

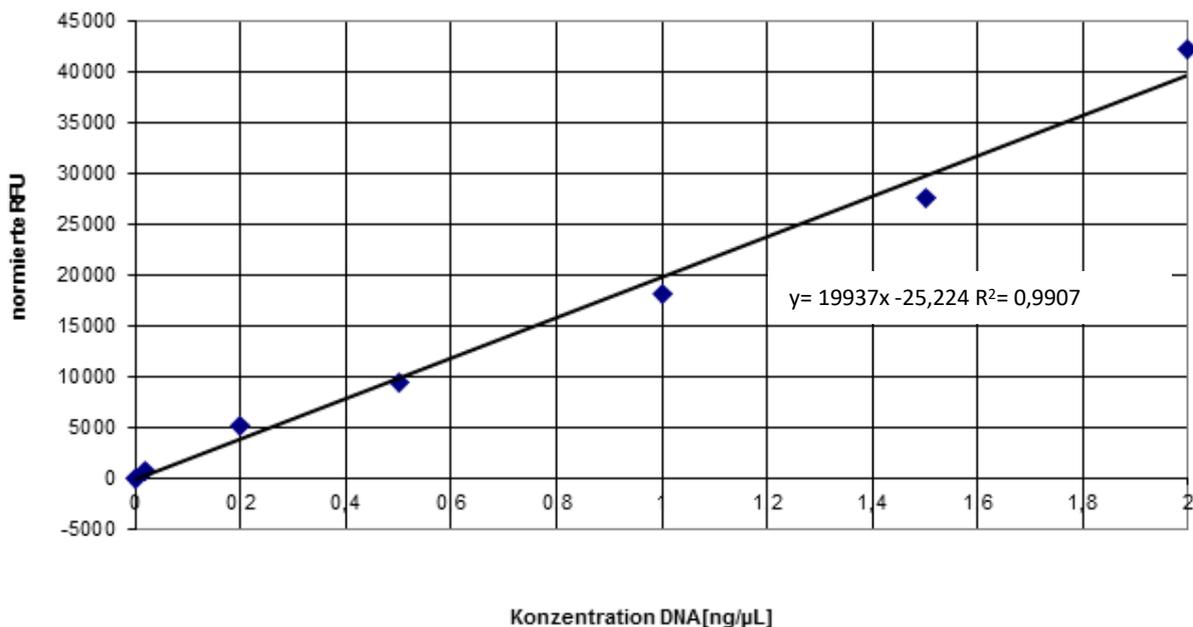


Abbildung 19: Standardgerade der PicoGreen-Messung. Messungen einer Standard-DNA mit den Konzentrationen 2ng/μl, 1,5ng/μl, 1ng/μl, 0,5ng/μl, 0,2ng/μl, 0,02ng/μl, 0,002ng/μl und 0ng/μl aus Kit Quant-iT™ PicoGreen™ dsDNA Assay Kit (Promega).

4.2.7 Next Generation Sequencing

Mittels Sequenzierung kann die Nukleotidsequenz im viralen Genom bestimmt werden. Diese Methode erlaubt es bei einer Resistenz zu bestimmen an welcher Stelle des Genoms die Mutation stattgefunden hat, woraus man mithilfe der Triplet-Bestimmung und der Codon-Sonne die exprimierte Aminosäure identifiziert. Dabei ist die *pol*-Region, welche für PR, RT und INT kodiert, therapeutisch relevant. Auch *env* wird immer häufiger analysiert, da bei Veränderungen von gp120

oder gp41 die Wirkung von Perzeptions- und Fusionsinhibitoren beeinträchtigt werden könnte (Hoffmann & Rockstroh, HIV 2016/17, 2016, S. 282).

NGS zeichnet sich durch viele, parallellaufende Sequenzierungen von vielen DNA-Fragmenten aus, wodurch in kurzer Zeit das gesamte Genom sequenziert werden kann. Allerdings können, wie im Rahmen dieser Arbeit geschehen, ebenfalls bestimmte Zielsequenzen anstatt des gesamten Genoms untersucht werden.

Nach der eigentlichen Sequenzierung wird mittels bioinformatischer Analysen eine Auswertung vorgenommen. NGS wird bevorzugt in der diagnostischen Forschung zum Identifizieren und Analysieren von Genomik und Metagenomik, Transkriptomik und Epigenomik verschiedener Krankheitsbilder verwendet.

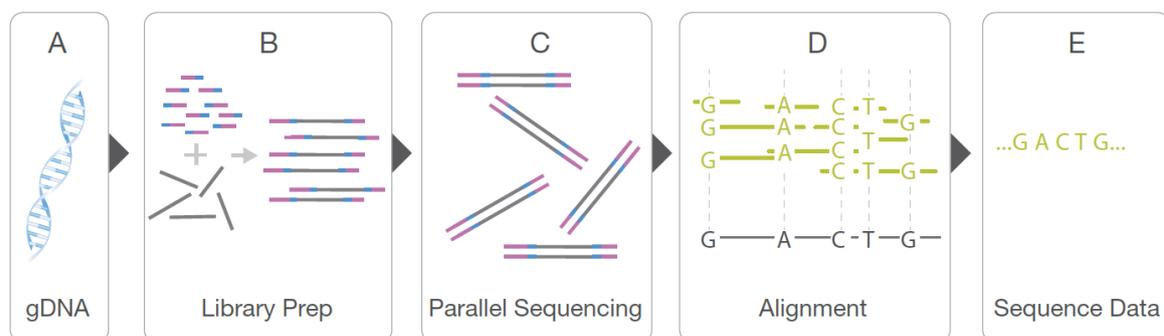


Abbildung 20: Ablauf von NGS mittels Illumina[®]. A: Aufbereitete DNA steht zur Verfügung. B: Die DNA wird fragmentiert und Adapter aus Oligonukleotiden werden hinzugefügt. C: Parallele Sequenzierung. D: Alignements werden erstellt. E: Aus den Alignements wird eine Consensussequenz ermittelt. Quelle: An Introduction to Illumina Next-Generation Sequencing Technology for Microbiologists, Illumina Inc., 2013, Pub No. 770-2012-023

Fragmentierte DANN Moleküle werden mit einem Adapter sowie einer Indexsequenz ligiert. Anschließend erfolgt eine Hybridisierung auf einer Glasoberfläche (Flowcell) gebracht, an welcher komplementäre Adapterfragmente gebunden sind. Enzyme und Nukleotide zur Amplifikation werden automatisiert hinzugegeben, sodass Doppelstrangsynthese stattfindet. Anschließend erfolgt die Hybridisierung des DNA-Adapterfragmentes am 3'Ende und bildet die Form einer Brücke. Diese Brücken werden denaturiert, sodass wieder Einzelstränge zur Verfügung stehen. Erneut folgen eine Amplifikation des DNA-Adapterfragmentes und eine Brückenbildung. Die sogenannte *bridge amplification* erzeugt dabei nach 35 Zyklen Cluster von identischen DNA-Adapterfragmenten. Nun werden gelabelte Terminatoren, Primer und DNA-Polymerasen hinzugefügt, wodurch die erste Base der jeweiligen Cluster mittels Fluoreszenz-markiertem Nukleotid und der dadurch emittierten Fluoreszenz bestimmt werden kann. Dies geschieht, indem am Nukleotid die fluoreszierende

Terminatorgruppe abgespalten wird, wodurch das Signal entsteht. Dieser Vorgang wird wiederholt, bis die Sequenz detektiert wurde und die dadurch entstandenen Alignments ausgewertet werden können.

Um die Proben für den NGS-Prozess bereitzustellen, wird ein Protokoll erstellt, welches dem Pipettierroboter ermöglicht, aus der vorhandenen Vielzahl an Proben, welche sequenziert werden sollen, auf eine 96-Well-Platte zu pipettieren. Die Volumina der einzelnen Proben werden individuell festgelegt, sodass eine Endkonzentration von 5ng auf der neuen Platte vorhanden ist. In einem zweiten Pipettierschritt werden die Proben nun äquimolar gepoolt, sodass eine Endkonzentration von 1ng erreicht wird.

Die sequenzierte *pol*-Region umfasst für PR/RT 1026bp und für INT 915bp.

4.2.8 Subtyping und Resistenzprofile

Zu den erhaltenen Sequenzen werden nun die Subtypen und das Resistenzprofil ermittelt. Für das HIV-1 Subtyping werden drei Datenbanken verwendet: REGA HIV Subtyping Tool V3.0, Stanford University HIV Drug Resistance Database und COMET HIV-1 Subtyping. Diese drei Datenbanken werden anschließend miteinander verglichen; bei Unstimmigkeiten wird die größte Übereinstimmung für einen Subtypen ermittelt. Die Stanford University HIV Drug Resistance Database wird ebenfalls genutzt, um für die jeweiligen Sequenzen Mutationen und deren Auswirkung bezüglich der in der ART angewandten Medikamente zu analysieren.

Für die Ermittlung von CRFs sei anzumerken, dass es hier zu Ungenauigkeiten kommen kann, denn der sequenzierte Bereich der *pol*-Region ist nicht immer ausreichend, um eine genaue Aussage bezüglich des Subtypens machen zu können. Beispiele sind in den Abbildungen 21 und 22 zu sehen.

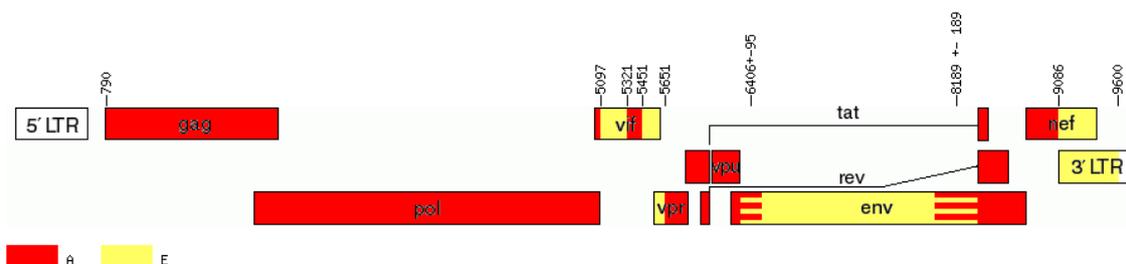


Abbildung 21: Genom und Breakpoints des CRF01_AE-Subtypen. Bei einer Sequenzierung der *pol*-Region wird nicht erkannt, dass es sich um eine CRF, nicht aber um den Subtypen A, handelt. Dafür müssten weitere Sequenzabschnitte sequenziert werden, um Charakteristika des Subtypen E zu entdecken. Im Rahmen dieser Projektarbeit konnte diese Klasse an CRFs somit nicht ermittelt werden. Quelle: <https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/CRFs/CRFs.html> (03.02.2019); nach Vorlage von Gao et al., 1996.

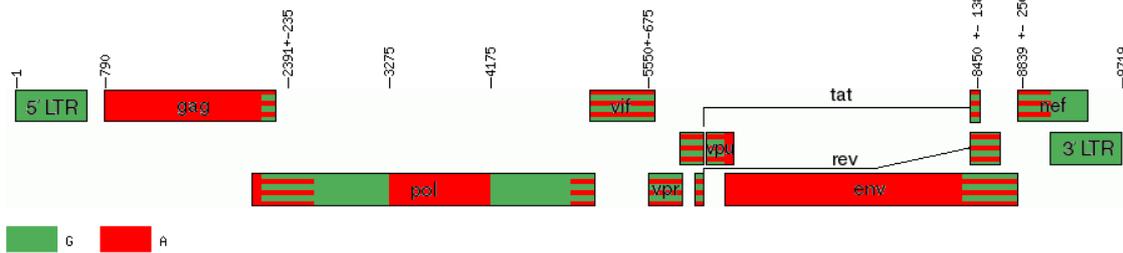


Abbildung 22: Genom und Breakpoints des CRF02_AG-Subtypen. Um diesen Subtypen erkennen zu können, sollte die gesamte *pol*-Region sequenziert werden. Wenn nur die INT-Region sequenziert werden kann, wird beim Subtyping der Subtyp G erkannt werden, da die charakteristischen Sequenzmerkmale für Subtyp A nicht in diesem Bereich erkannt werden können. Er Subtyp CRF02_AG zeigt ebenfalls einige Bereiche, die uneindeutig Subtyp A oder G zugeordnet werden können. Quelle: <https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/CRFs/CRFs.html> (03.02.2019); nach Vorlage von Carr et al., 1998.

4.2.9 Phylogenetische Analyse

Um einen phylogenetischen Stammbaum zu erstellen, wurden die Sequenzen der analysierten Proben aus 2015 und 2017 miteinander verglichen. Als Referenzsequenzen dienten zum einen Sequenzen aus Ländern Afrikas, welche zu den häufigsten Herkunftsländern zählen: Ghana, Sierra Leone, Nigeria, Eritrea und Kamerun. Aus diesen wurden oftmals die am häufigsten detektierten Subtypen (A, C, G und CRF02_AG) verwendet. Eine weitere Referenzsequenz bildet eine Subtyp B-Sequenz aus Europa. Außerdem wurden hausinterne Standardreferenzsequenzen der Subtypen A-D dazu genommen. Zur Berechnung des Stammbaums wurde die HIV-1-Gruppe O als outgroup genutzt, die somit als Wurzel des Stammbaums fungiert.

Alle PR/RT-Sequenzen – welche vollständig sequenziert waren - wurden im Programm Geneious mit dem Algorithmus MAFFT aligniert. Referenzsequenzen wurden auf eine identische Länge gebracht. Aus dem Alignment wurden anschließend Lücken entfernt.

Daraufhin wurde mittels dem Programm IQ-TREE nach Maximum-Likelihood-Methode ein Consensusstammbaum berechnet sowie eine Bootstrapanalyse durchgeführt. Für die Signifikanzberechnung wurde ein sogenannter Bootstrapwert aus 10.000 Replikaten berechnet; d.h., dass der Stammbaum 10.000-mal berechnet wurde und auf Grundlage dieser Berechnung ein Consensusstammbaum erstellt wurde. Der Stammbaum diente als Grundlage der Analyse der Verwandtschaftsverhältnisse. Als Analysemodell wurde die GTR- (General time reversible model with unequal rates and unequal base freq) Methode verwendet (Tavare, 1986).

Der so entstandene phylogenetische Stammbaum zeigt die Verwandtschaftsverhältnisse und Subtypengruppierungen aller Sequenzen zueinander, bzw. zur Wurzelreferenzsequenz der Gruppe O an. Umso länger die Äste der Sequenzen sind, desto mehr Mutationen, also Nukleotidveränderungen, und somit Unterschiede weisen sie auf.

Im Tool iTOL wurde der Stammbaum bearbeitet, sodass den einzelnen Sequenzen das Diagnosejahr, die Herkunftsregion, die serologisch ermittelte Infektionsdauer und das Resistenzauftreten koloristisch zugeordnet werden konnte. Die sogenannten nodes, also die Knotenpunkte zwischen den einzelnen Sequenzen, wurden mit den berechneten Bootstrapwert von größer 70% markiert.

5. Ergebnisse

Für 2015 wurden 208 von 379 (55%) DSS von neudiagnostizierten Personen mit Herkunftsland SSA genotypisiert, für 2017 waren es 153 von 360 (43%) DSS. Durch ungenügend Filtermaterial oder negative Ergebnisse in der PCR konnte daher lediglich die erfolgreich genotypisierten Anteile der gesamten DSS für die folgende Auswertung verwendet werden.

Signifikanztestungen wurden mit Hilfe des *Fisher Exact Tests* durchgeführt. Unterschiede mit $p < 0,05$ wurden dabei als signifikant eingestuft.

5.1 Charakteristika der analysierten Populationen

Tabelle 12 und 13 zeigen den Vergleich des gesamten Datensatzes ($n=379$) und mit den analysierten Proben ($n=208$) aus 2015. Um die Repräsentierbarkeit der für die nachfolgende Analyse genutzten Daten zu gewährleisten sollten die beiden miteinander verglichenen Probensätze keine signifikanten Unterschiede aufweisen.

Die Verhältnisse der Anteile an Proben von Männern und Frauen ist nahezu identisch ($p=0,599$). Bezüglich der Transmissionsroute bestehen beide Probensätze zum Großteil aus Proben von HET ($p=0,950$). Bezüglich der Herkunftsländer sind ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zu erkennen. Aus Westafrika stammt circa die Hälfte aller neudiagnostizierten Proben, gefolgt von Ost-, Zentral- und Südafrika. Bezüglich der Infektionsländer gibt der Großteil der Patienten an, dass sie sich in ihrem Herkunftsland infiziert haben (68% gegenüber 64%).

Im ausgewählten Probensatz bildeten die 25- 34-Jährigen die größte Gruppe (42% gegenüber 39%). Das durchschnittliche Alter der analysierten Population liegt bei 31 (26-37).

Tabelle 12: Charakteristika der Personen mit Herkunftsland SSA mit HIV-Infektion erstmalig 2015 in Deutschland diagnostiziert. Vergleich der Anteile von Geschlecht, Transmissionsweg und Infektionsland der Neudiagnosen in der gesamten Population (Fälle mit Probeneingang) mit der analysierten Population (anhand des HIV-Genotyps), NAFR/NO: Nordafrika/ Naher Osten.

	2015, gesamt (n=379)		2015, analysiert (n=208)	
	n	%	n	%
Geschlecht				
Weiblich	226	60	119	57
Männlich	152	40	88	42
Nicht bekannt	1	<1	1	0
Transmission				
MSM	9	2	6	3
HET	352	93	191	92
PWID	1	<1	0	0
PPI	8	2	5	2
Nicht bekannt	9	2	6	3
Herkunftsland				
Westafrika	201	53	103	50
Zentralafrika	39	10	20	10
Ostafrika	121	32	77	37
Südafrika	13	3	7	3
Infektionsland				
Herkunftsland	258	68	134	64
NAFR/NO	4	1	4	2
Westeuropa	9	2	5	2
Deutschland	38	10	23	11
Nicht bekannt	67	18	40	19

Tabelle 13: Altersdurchschnitt der analysierten Population. Vergleich der Altersklassen der Neudiagnosen mit Herkunftsland SSA, die 2015 in Deutschland registriert wurden, und den aus diesem Probensatz sequenzierten Proben.

Alter	2015, gesamt (n=379)		2015, analysiert (n=208)	
	n	%	n	%
<25	70	18	48	23
25-34	161	42	81	39
35-44	98	26	53	25
45-54	33	9	17	8
>54	15	4	7	3
Nicht bekannt	2	1	2	1

In Tabelle 14 und 15 sind die Hauptcharakteristika der untersuchten Studienpopulation 2017 mit Herkunftsregion SSA aufgezählt. Es wird auch für diese Probensets die Gesamtzahl der DSS (n=360) mit den erfolgreich sequenzierten Proben (n=153) verglichen, um abzuschätzen, wie repräsentativ die Ergebnisse sind.

Der Anteil an Männern und Frauen ist signifikant unterschiedlich ($P=0,023$). Während in der gesamten Stichprobenpopulation der Anteil an Männern dem an Frauen unterlag (41% gegenüber 56%), bildete der Anteil der Männer in der analysierten Population den größeren Anteil (51% gegenüber 45%). Der Übertragungsweg war größtenteils heterosexuell (94%). Westafrika ist mit 63% die am häufigsten angegebene Herkunftsregion. Es konnten keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Herkunfts- und Infektionsregionen zwischen dem Gesamtprobenset und der analysierten Population aus 2017 festgestellt werden.

Der Median der Altersangaben der analysierten Population liegt bei 32 (25-39). Auch hier sind keine signifikanten Unterschiede zwischen der analysierten Proben und dem der gesamten Studienkollektiv aus 2017 feststellbar.

Tabelle 14: Charakteristika der Personen mit Herkunftsland SSA mit HIV-Infektion erstmalig 2017 in Deutschland diagnostiziert. Vergleich der Anteile von Geschlecht, Transmissionsweg und Infektionsland der Neudiagnosen in der gesamten Population (Fälle mit Probeneingang) mit der analysierten Population (anhand des HIV-Genotyps), NAFR/NO: Nordafrika/ Naher Osten.

	2017, gesamt (n=360)		2017, analysiert (n=153)	
	n	%	n	%
Geschlecht				
Weiblich	203	56	69	45
Männlich	145	41	78	51
Nicht bekannt	11	3	6	4
Transmission				
MSM	13	4	7	5
HET	343	95	144	94
PWID	0	0	0	0
PPI	4	1	2	1
Herkunftsland				
Westafrika	212	59	97	63
Zentralafrika	51	14	23	15
Ostafrika	75	21	23	15
Südafrika	20	6	9	6
Infektionsland				
Herkunftsland	242	67	103	68
NAFR/NO	5	1	2	1
Westeuropa	12	3	6	4
Deutschland	20	6	12	8
Nicht bekannt	81	22	30	19

Tabelle 15: Altersdurchschnitt der analysierten Population. Vergleich der Altersklassen der Neudiagnosen mit Herkunftsland SSA, die 2017 in Deutschland registriert wurden, und den aus diesem Probensatz sequenzierten Proben.

Alter	2017, gesamt (n=360)		2017, analysiert (n=153)	
	n	%	n	%
<25	65	18	34	22
25-34	137	38	58	38
35-44	118	33	44	29
45-54	27	8	10	7
>54	13	4	7	5

Die untersuchte Studienpopulationen zeigten im Vergleich zur Gesamtzahl an SSA-DSS im Allgemeinen keine signifikanten Unterschiede innerhalb der analysierten Kategorien, mit Ausnahme der Geschlechterverteilung zwischen der Gesamtpopulation und der analysierten Population im Jahr 2017, weshalb die folgenden Ergebnisse als repräsentativ eingeschätzt werden dürfen.

Bei einem Vergleich der Charakteristika aus Tabelle 12 und 13 mit den Tabellen 14 und 15 zeigt sich, dass die Population sich von 2015 bis 2017 bezüglich der Geschlechterverteilung, des Transmissionswegs, der Infektionsregion und des Alters nicht signifikant geändert hat. Die größten Differenzen ergeben sich in den Angaben der Herkunftsländer, speziell bezüglich Ostafrika: Während 2015 aus Ostafrika 32% der Personen kamen, waren es 2017 21% ($p=0,001$). Somit bildet dies einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden analysierten Populationen. Auch für Westafrika konnte ein signifikanter Unterschied ermittelt werden ($p=0,010$), da im Jahr 2017 eine höhere Anzahl an neudiagnostizierten Personen aus westafrikanischen Regionen stammten (50,0% gegenüber 63,4%). Für Zentral- und Südafrika wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt.

In Tabelle 16 sind die Herkunftsregionen aus SSA aufgelistet. Die meisten neudiagnostizierten Personen gaben Westafrika (vgl. 2015 und 2017: 50,0% gegenüber 63,4%) als Herkunftsregion an, verstärkt aus den Ländern Nigeria ($p=0,797$) und Ghana ($p=0,321$). Im Jahr 2017 kamen zudem viele Personen aus Sierra Leone ($p=0,003$), wodurch sich der signifikante Unterschied zwischen den beiden analysierten Probensets bezüglich Westafrikas als Herkunftsland erklären lässt. Regionen aus Ostafrika wurden im Probensatz aus 2015 häufiger (37,0% gegenüber 15,0%) als Herkunftsregion angegeben, wobei für die Neudiagnosen aus 2015 gilt, dass viele Personen aus Äthiopien ($p=0,069$) und Eritrea ($p=0,0001$) stammen. Somit handelt es sich bezüglich Eritrea als Herkunftsort um einen signifikanten Unterschied zwischen beiden Populationen, wodurch der signifikante Unterschied für Ostafrika als Herkunftsregion zu erklären ist. In beiden Jahren kommen die wenigsten Menschen aus Südafrika (3,4% gegenüber 5,9%).

Tabelle 16: Herkunftsregionen der analysierten Population. Vergleich von Herkunftsregion der Neudiagnosen mit Herkunftsland SSA, die 2015 und 2017 in Deutschland registriert wurden.

Herkunftsregion	2015, seq. (n=208)		2017, insg. (n=153)	
	n	%	n	%
Westafrika	103	50,0	97	63,4
Benin	0	0,0	2	1,3
Burkina Faso	1	0,5	0	0,0
Elfenbeinküste	6	2,9	7	4,6
Gambia	1	0,5	5	3,3
Ghana	21	10,1	21	13,7
Guinea-Bissau	2	1,0	1	0,7
Guinea	1	0,5	4	2,6
Liberia	0	0,0	1	0,7
Mali	3	1,4	1	0,7
Nigeria	47	22,6	32	20,9
Senegal	7	3,4	2	1,3
Sierra Leone	9	4,3	20	13,1
Togo	5	2,4	1	0,7
Zentralafrika	20	9,6	23	15,0
Kamerun	15	7,2	13	8,5
Gabun	0	0,0	1	0,7
Guinea Äquatorial	0	0,0	2	1,3
Kongo	5	2,4	7	4,6
Ostafrika	77	37,0	23	15,0
Äthiopien	13	6,3	3	2,0
Eritrea	37	17,8	7	4,6
Kenia	10	4,8	7	4,6
Somalia	9	4,3	2	1,3
Tansania	1	0,5	0	0,0
Uganda	7	3,4	4	2,6
Südafrika	7	3,4	9	5,9
Angola	2	1,0	0	0,0
Malawi	0	0,0	1	0,7
Mozambique	2	1,0	4	2,6
Namibia	0	0,0	1	0,7
Südafrika	2	1,0	2	1,3
Zimbabwe	1	0,5	1	0,7
Nicht bekannt	1	0,5	0	0,0

In beiden Jahren war das Herkunftsland häufig zugleich das Infektionsland (64% gegenüber 68%). In Tabelle 17 wird gezeigt, dass für Ostafrika als Infektionsland zwischen den beiden analysierten Populationen ein signifikanter Unterschied besteht ($p=0,004$). Dies ist, wie ebenfalls bezüglich

Ostafrika als Herkunftsregion, auf die signifikanten Unterschiede von Eritrea als Herkunftsregion zurückzuführen ($p=0,009$).

Tabelle 17: Infektionsregionen der analysierten Population. Vergleich von Infektionsregion der Neudiagnosen mit Herkunftsland SSA, die 2015 und 2017 in Deutschland registriert wurden.

Infektionsort	2015, seq. (n=208)		2017, seq. (n=153)	
	n	%	n	%
Nordafrika	4	1,9	0	0,0
Libyen	4	1,9	0	0,0
Westafrika	74	35,6	70	45,8
Burkina Faso	1	0,5	0	0,0
Elfenbeinküste	4	1,9	4	2,6
Gambia	1	0,5	4	2,6
Ghana	12	5,8	13	8,5
Guinea-Bissau	2	1,0	0	0,0
Guinea	1	0,5	2	1,3
Liberia	0	0,0	1	0,7
Mali	3	1,4	2	1,3
Nigeria	35	16,8	21	13,7
Senegal	3	1,4	2	1,3
Sierra Leone	7	3,4	20	13,1
Sudan	2	1,0	1	0,7
Togo	3	1,4	0	0,0
Zentralafrika	12	5,8	14	9,2
Gabun	0	0,0	1	0,7
Guinea Äquatorial	0	0,0	1	0,7
Kamerun	9	4,3	7	4,6
Kongo	3	1,4	5	3,3
Ostafrika	48	23,1	17	11,1
Äthiopien	7	3,4	3	2,0
Eritrea	22	10,6	5	3,3
Kenia	8	3,8	4	2,6
Somalia	5	2,4	1	0,7
Tansania	1	0,5	0	0,0
Uganda	5	2,4	4	2,6
Südafrika	2	1,0	5	3,3
Mozambique	0	0,0	2	1,3
Südafrika	1	0,5	2	1,3
Zimbabwe	1	0,5	1	0,7
Deutschland	23	11,1	12	7,8
Griechenland	1	0,5	0	0,0
Italien	3	1,4	4	2,6
Norwegen	0	0,0	2	1,3
Portugal	0	0,0	1	0,7
Nicht bekannt	40	19,2	28	18,3

Abbildung 23 zeigt die Bundesländer, in welchen die Neudiagnosen registriert worden sind. Dabei bildet Bayern im Jahr 2015 mit 45,4% und im Jahr 2017 mit 37,9% den häufigsten Registrierungsort, gefolgt von Nordrhein-Westfalen (17,9%) im Jahr 2015 und Baden-Württemberg (10,5%) im Jahr 2017. 2015 gab es keine Meldungen im Saarland. In Sachsen und Schleswig-Holstein wurden 2017 keine Neudiagnosen mit Herkunftsland SSA registriert.

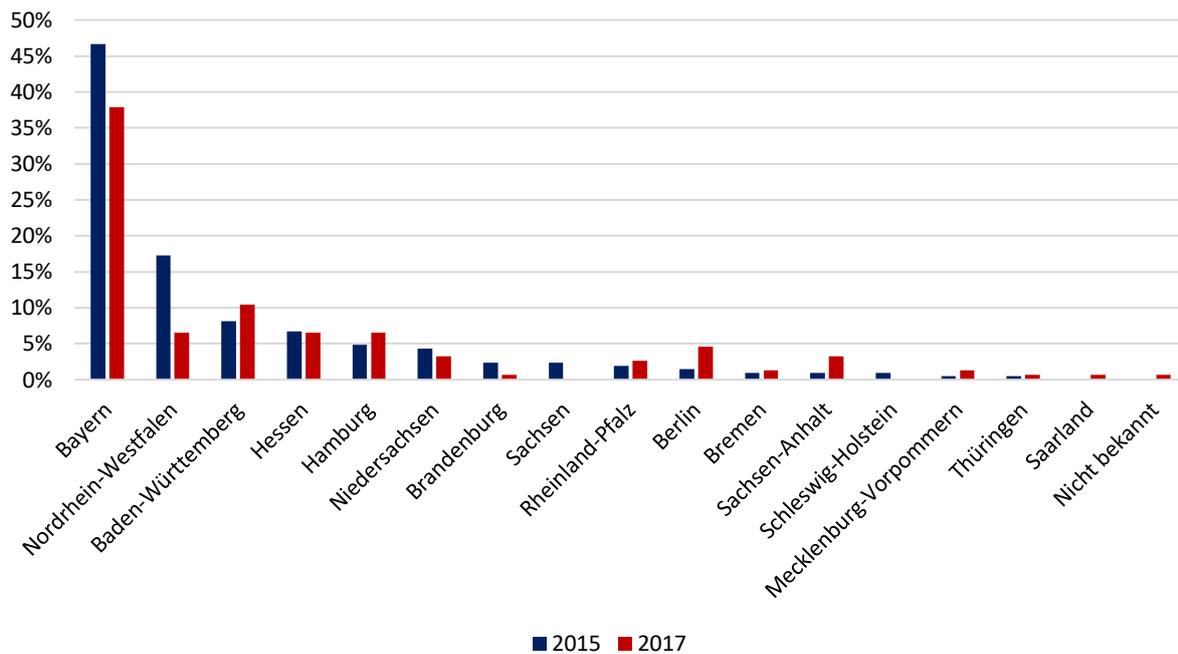


Abbildung 23: Registrierungsorte der analysierten Population. Vergleich von Bundesländern, in denen die sequenzierten Neudiagnosen mit Herkunftsland SSA 2015 und 2017 diagnostiziert wurden. Sortierung nach absteigender Häufigkeit im Jahr 2015.

Für 42% der sequenzierten Proben aus dem Jahr 2015 und 50% aus 2017 (siehe Abbildung 24) lagen Informationen über die Viruslast im Blut vor (vergleiche Tabelle 2), wobei der Großteil von 27% aus 2015 und 34% eine VL von mehr als 30.000 Kopien der viralen RNA/ml aufwies. 7% aus 2015 und 9% aus 2017 gaben eine VL von 10.000-30.000 Kopien/ml an; 8% aus 2015 und 6% aus 2017 zeigten geringere Werte. Zwischen den beiden Probensets konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Durchschnittlich wies das Probenset aus 2015 eine VL von circa 39.000 Kopien/ml (7.883-127.045) auf, die Werte der Proben aus 2017 liegen bei 48.444 Kopien/ml (21.791-186.151).

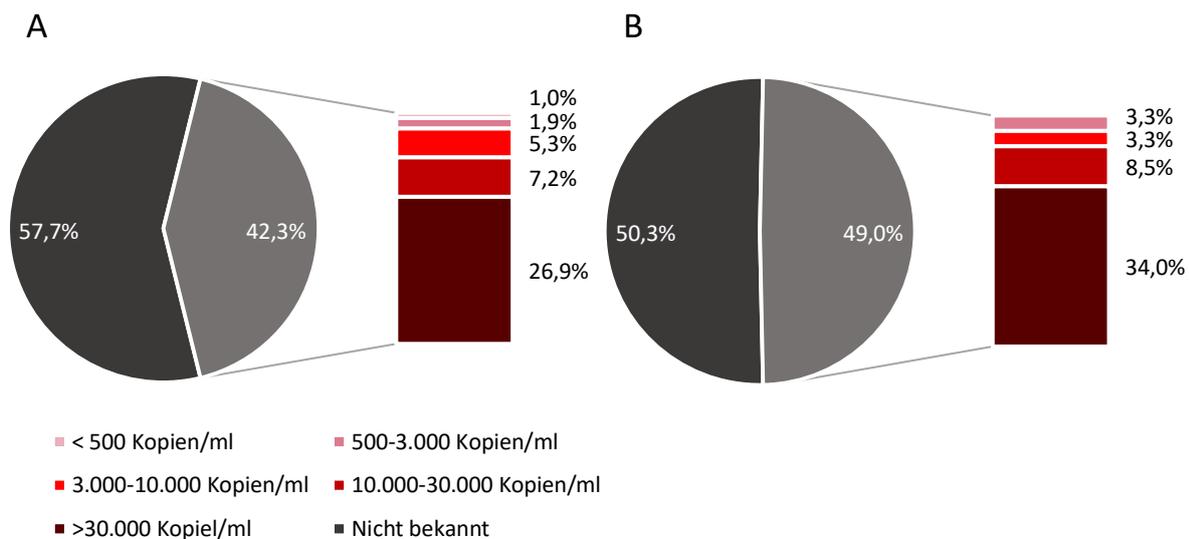


Abbildung 24: Viruslasten der analysierten Population. Vergleich von Viruslasten der Neudiagnosen mit Herkunftsland SSA, die A: 2015 und B: 2017 in Deutschland registriert wurden.

Für 22% der analysierten Proben aus 2015 und 20% der Proben aus 2017 konnten die CD4⁺- Zellzahlen ausgewertet werden (siehe Abbildung 25). Von diesen wies circa die Hälfte (10% in 2015; 9% in 2017) einen Wert von weniger als 200 CD4⁺- Zellen/ μ l. Diese Werte weisen auf ein sehr spätes HIV-Stadium hin. Ein spätes Stadium von 200-355 CD4⁺- Zellen/ μ l wiesen 6% (2015) bzw. 5% (2017) auf. (8% der Proben aus 2015 und 6% aus 2017 wiesen 350-499 CD4⁺- Zellen/ μ l (mittleres Stadium) oder mehr CD4⁺-Zellen/ μ l (frühes Stadium) auf. Die mediane CD4⁺-Zellzahl lag 2015 bei 277 Zellen/ μ l (138-421) und 2017 bei 265 Zellen/ μ l (64-353). Ein signifikanter Unterschied konnte nicht ermittelt werden.

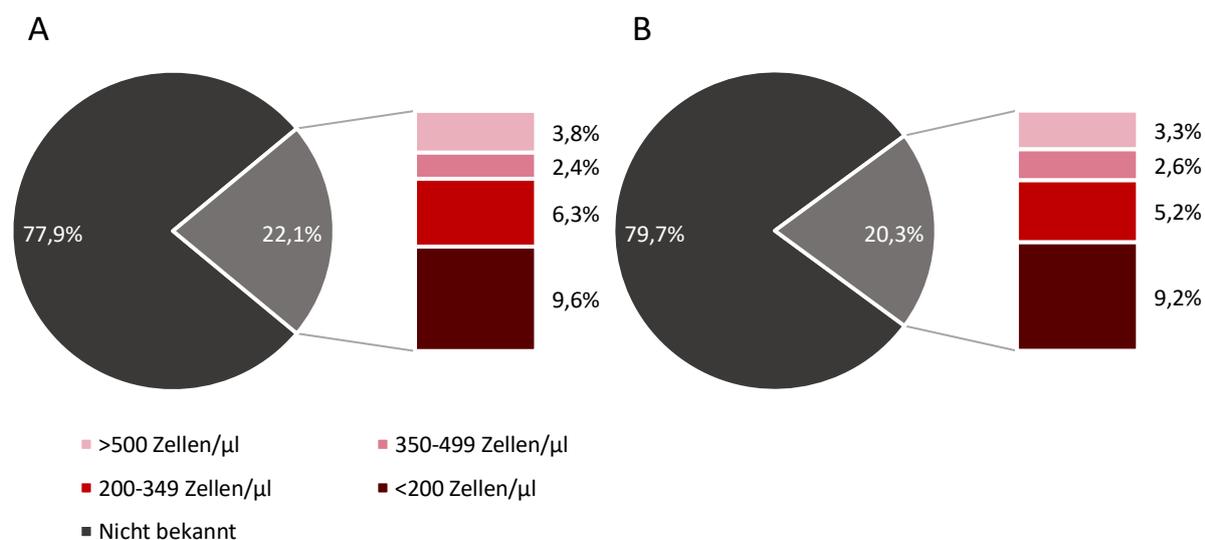


Abbildung 25: CD4⁺- Zellzahl der analysierten Population. Vergleich von CD4⁺- Zellzahl der Neudiagnosen mit Herkunftsland SSA, die A: 2015 und B: 2017 in Deutschland registriert wurden, und den aus diesem Probensatz sequenzierten Proben.

Für 63% der analysierten Proben aus 2015 und 78% aus 2017 konnte mittels der Meldebogenangaben eine Einteilung bezüglich der CDC-Klassifizierung vorgenommen werden, welche in Abbildung 26 dargestellt ist. Circa die Hälfte (44% im Jahr 2015 und 53% im Jahr 2017) dieser Neudiagnosen ist dem Stadium A, dem asymptomatischen oder akut symptomatischen HIV-Stadium, zuzuordnen. 11% aus 2015 und 13% aus 2017 sind dem Stadium B mit Krankheitssymptomen, die der HIV-Infektion zugeordnet werden können, angehörig. Stadium C, das AIDS-definierte Erkrankungen aufweist, gehören 9% aus 2015 und 12% aus 2017 an. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden analysierten Populationen festgestellt werden.

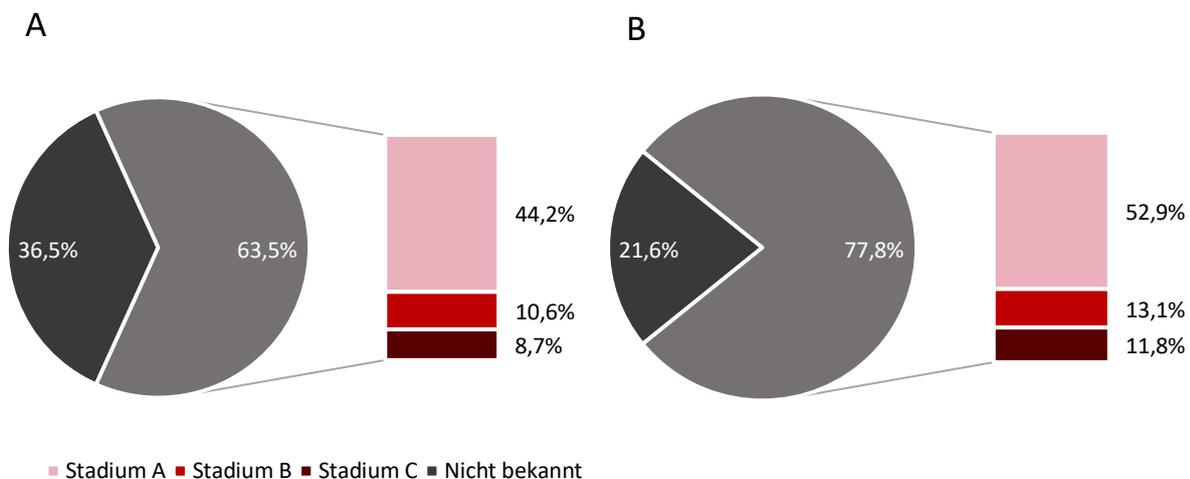


Abbildung 26: CDC-Klassifizierung der analysierten Population. Vergleich der Einteilung in CDC-Stadien der Neudiagnosen mit Herkunftsland SSA, die A: 2015 und B: 2017 in Deutschland registriert wurden, und den aus diesem Probensatz sequenzierten Proben.

Betrachtet man VL, CD4⁺- Zellzahlen und die CDC-Klassifizierungen, so weisen mehr als die Hälfte der Neudiagnosen aus 2015, von denen Informationen im Meldebogen vorlagen, ein fortgeschrittenes Krankheitsbild auf. Dasselbe gilt für die analysierten Proben aus 2017.

5.2 Subtypverteilung

Bei einem Vergleich der Subtypverteilung der Jahre 2015 und 2017 lässt sich ein signifikanter Unterschied des Subtypen C ($p=0,0004$) erkennen. Somit ergibt sich in Bezug auf die analysierten Probensets eine reduzierte Detektion von Subtyp C im Jahr 2017. Im untersuchten Probenset aus 2015 bildete Subtyp C mit 32% die am häufigsten auftretende Virusvariante, gefolgt von CRF02_AG mit 26% und G mit 10% (Abbildung 27). 2017 hingegen bildete Subtyp CRF02_AG mit 39% den präsentesten Subtyp, gefolgt von G und C mit jeweils 17%. Für CRF02_AG wurde ebenfalls ein signifikanter

Unterschied ($p=0,022$) zwischen den analysierten Proben festgestellt. Signifikante Unterschiede konnten für Subtyp G trotz vermehrter Detektion im Jahr 2017 nicht festgestellt werden ($p=0,085$). Subtyp B wurde in beiden Populationen in einer geringen Anzahl der Neudiagnostizierten entdeckt.

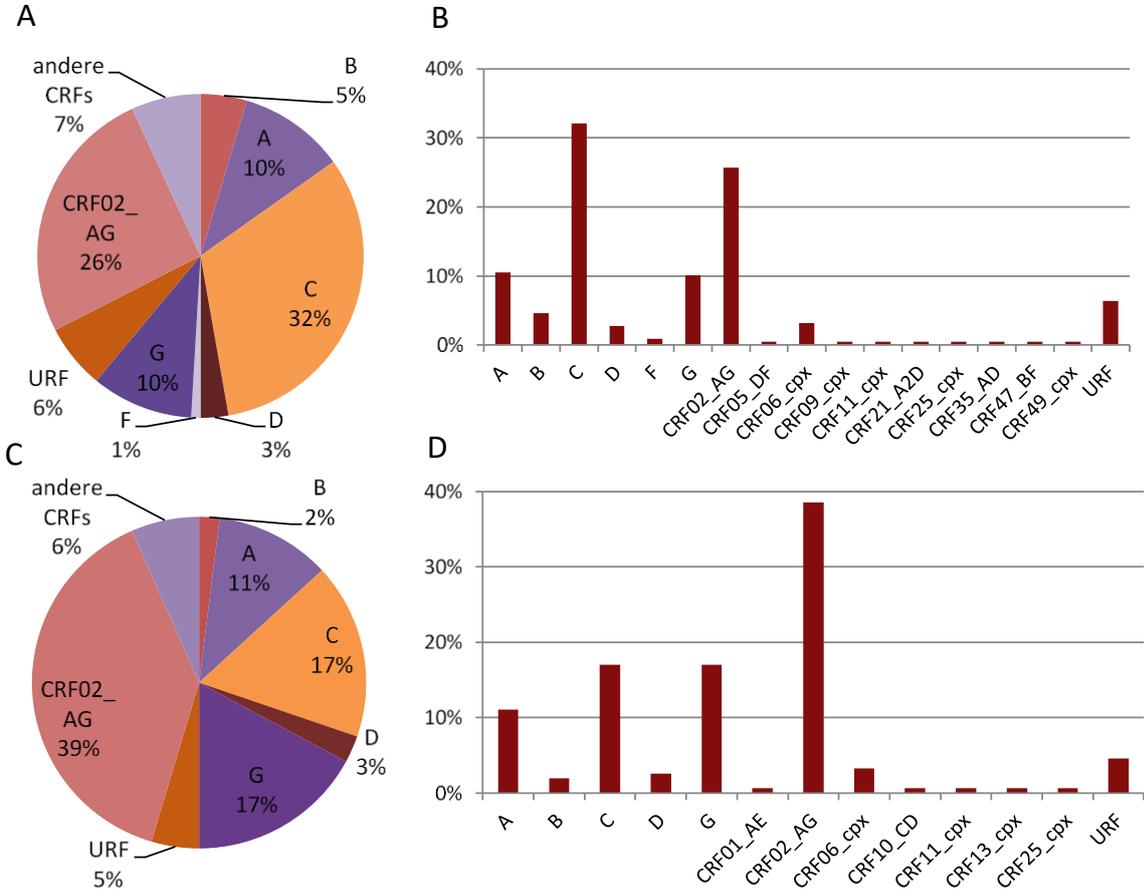


Abbildung 27: Subtypverteilung in der analysierten Population. Anteile der HIV-1 Subtypen in Prozent der analysierten Neudiagnosen mit Herkunftsland SSA, die A und B: 2015; C und D: 2017 in Deutschland registriert wurden (CRF circulating recombinant forms, URF unique recombinant forms).

Aus den Tabellen 18 und 19 wird ersichtlich, dass der HIV-Subtyp A innerhalb der analysierten Population aus dem Jahr 2015 am häufigsten in Individuen aus West- und Ostafrika entdeckt wurde, im Jahr 2017 allerdings meist in Personen, die aus Zentralafrika stammten. In Individuen aus West- und Ostafrika konnten auch im Jahr 2017 viele Subtyp A-Virusvarianten detektiert werden. Als Infektionsort wurde am häufigsten das jeweilige Herkunftsland genannt, im Jahr 2017 allerdings ebenfalls verstärkt Deutschland (29,4%). Subtyp C wurde vermehrt in Individuen aus West-, hauptsächlich aber Ostafrika entdeckt; auch der Infektionsort entsprach in den meisten Fällen diesen beiden Regionen. Subtyp G wurde ausschließlich in Probenmaterial von Personen mit Herkunft West- und Zentralafrika gefunden, wobei Westafrika die Hauptherkunftsregion darstellt. Dies deckt sich mit den Angaben bezüglich der Infektionsregion. Subtyp CRF02_AG-Viren konnte ebenfalls hauptsächlich in Individuen aus Westafrika ermittelt werden, die sich größtenteils dort infiziert haben. Signifikante

Unterschiede bezüglich Herkunfts- und Infektionsregion konnten zwischen den analysierten Probenkollektiven nicht festgestellt werden. In den Abbildungen 28 und 29 ist die Verteilung der Subtypen auf die Herkunfts- und Infektionsregionen grafisch dargestellt.

Tabelle 18: Subtypverteilung bezüglich Herkunfts- und Infektionsland in der analysierten Population aus 2015. Anteile der verschiedenen Subtypen A, C, G und CFR02_AG der sequenzierten Neudiagnosen mit Herkunftsland SSA, die 2015 in Deutschland registriert wurden. Subtypenauswahl nach n größer/gleich 10.

Subtypen	A (n=23)		C (n=70)		G (n=22)		CFR02_AG (n=56)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Herkunftsland								
Westafrika	9	39,1	16	22,9	20	90,9	48	85,7
Zentralafrika	3	13,0	2	2,9	2	9,1	1	1,8
Ostafrika	11	47,8	41	58,6	0	0,0	5	8,9
Südafrika	0	0,0	3	4,3	0	0,0	0	0,0
unbekannt	0	0,0	7	10,0	0	0,0	0	0,0
Infektionsland								
Westafrika	7	30,4	12	17,1	14	63,6	34	60,7
Zentralafrika	1	4,3	1	1,4	2	9,1	1	1,8
Ostafrika	9	39,1	25	35,7	0	0,0	4	7,1
Südafrika	0	0,0	2	2,9	0	0,0	0	0,0
Westeuropa	1	4,3	3	4,3	0	0,0	1	1,8
Deutschland	2	8,7	4	5,7	3	13,6	6	10,7
Unbekannt	2	8,7	16	22,9	3	13,6	9	16,1

Tabelle 19: Subtypverteilung bezüglich Herkunfts- und Infektionsland in der analysierten Population aus 2017. Anteile der verschiedenen Subtypen A, C, G und CFR02_AG der sequenzierten Neudiagnosen mit Herkunftsland SSA, die 2017 in Deutschland registriert wurden. Subtypenauswahl nach n größer/gleich 10.

Subtypen	A (n=17)		C (n=26)		G (n=26)		CFR02_AG (n=59)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Herkunftsland								
Westafrika	4	23,5	5	19,2	21	80,8	47	79,7
Zentralafrika	7	41,2	3	11,5	4	15,4	9	15,3
Ostafrika	5	29,4	13	50,0	0	0,0	0	0,0
Südafrika	1	5,9	5	19,2	0	0,0	0	0,0
unbekannt	0	0,0	0	0,0	1	3,8	3	5,1
Infektionsland								
Westafrika	2	11,8	5	19,2	15	57,7	29	49,2
Zentralafrika	5	29,4	2	7,7	3	11,5	4	6,8
Ostafrika	1	5,9	13	50,0	0	0,0	0	0,0
Südafrika	1	5,9	4	15,4	0	0,0	0	0,0
Westeuropa	0	0,0	0	0,0	2	7,7	4	6,8
Deutschland	5	29,4	0	0,0	2	7,7	4	6,8
Unbekannt	3	17,6	2	7,7	4	15,4	15	25,4

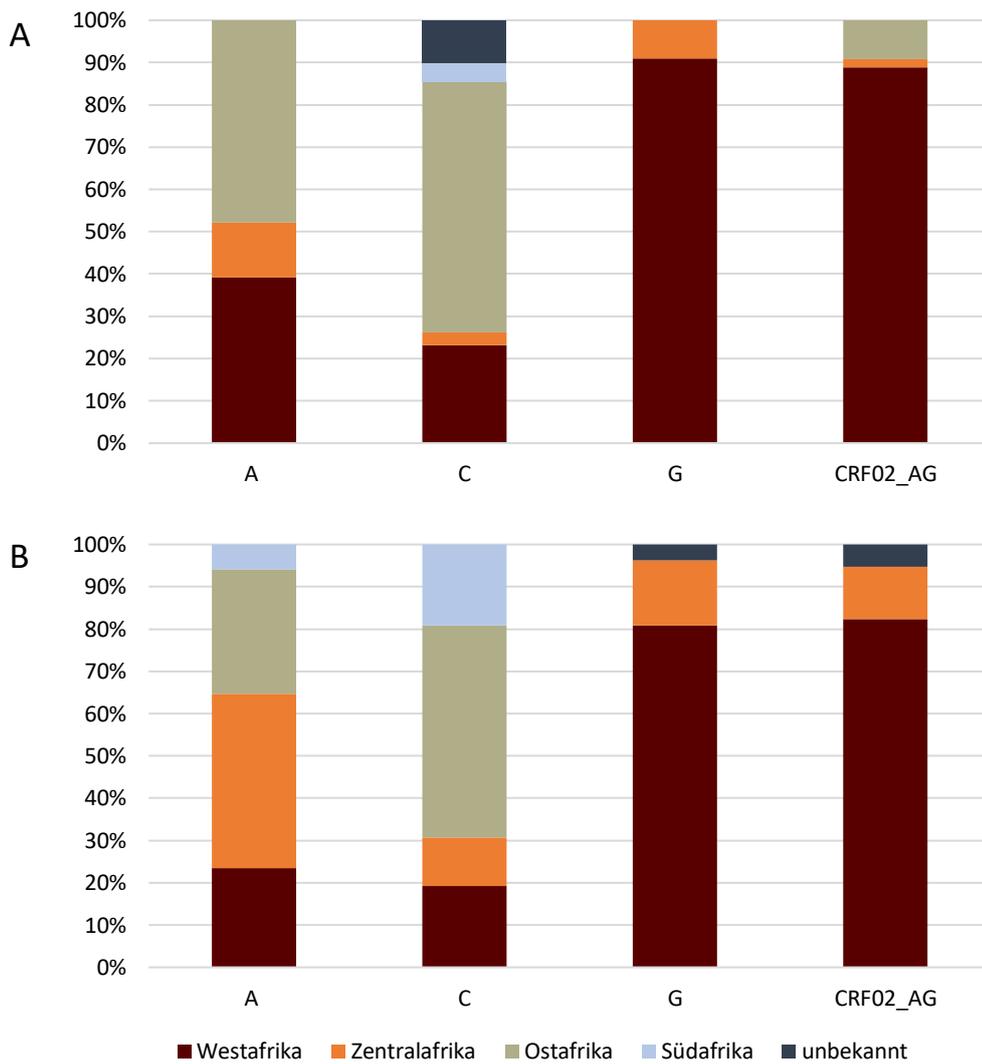


Abbildung 28: Herkunftsverteilung bezüglich ihrer Subtypen in der analysierten Population. Anteile der verschiedenen Herkunftsorte in den Subtypen A, C, G und CRF02_AG der sequenzierten Neudiagnosen mit Herkunftsland SSA, die A: 2015 und B: 2017 in Deutschland registriert wurden.

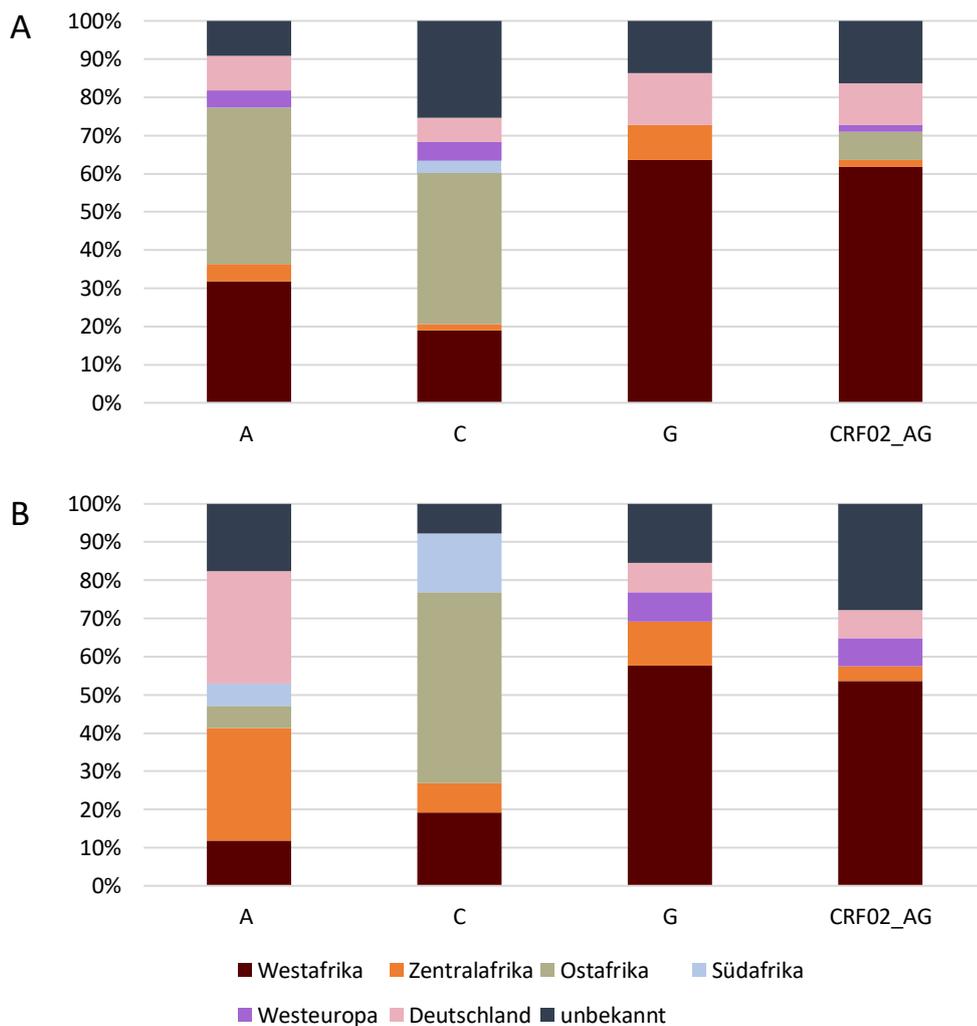


Abbildung 29: Infektionsortverteilung bezüglich ihrer Subtypen in der analysierten Population. Anteile der verschiedenen Infektionsorte in den Subtypen A, C, G und CRF02_AG der sequenzierten Neudiagnosen mit Herkunftsland SSA, die A: 2015 und B: 2017 in Deutschland registriert wurden. Angaben zu Westeuropa ohne Miteinbeziehung der Daten von Deutschland.

5.3 Resistenzen gegenüber einer antiretroviralen Therapie

Sequenzanalysen von HIV-Regionen, die für das Ziel einer antiretroviralen Behandlung (Protease, Reverse Transkriptase und Integrase-Inhibitoren) kodieren, können verwendet werden, um eine verringerte Empfindlichkeit gegenüber Arzneimitteln und Wirkstoffklassen zu detektieren. Die Prävalenz der Arzneimittelresistenz von Resistenzmutationen aus der SDRM-Liste der WHO betrug 8,2% innerhalb der analysierten Proben aus 2015 und 11,1% in Proben aus 2017 ($p=0,366$), wie in Abbildung 30 zu erkennen ist. Die meisten Resistenzen sind gegen NNRTIs (3,4% aus 2015 und 6,5% aus 2017, $p=0,285$) gerichtet, gefolgt von NRTIs (jeweils 1,9%) und dualen Resistenzen sowohl gegen NNRTIs, als auch NRTIs (1,9% aus 2015 und 2,0% aus 2017). PI-Resistenzen waren bei 1,0% der Proben

im Jahr 2015 0,7% in Proben aus 2017 der Patienten vorhanden. INSTI-Resistenzen konnte nicht nachgewiesen werden.

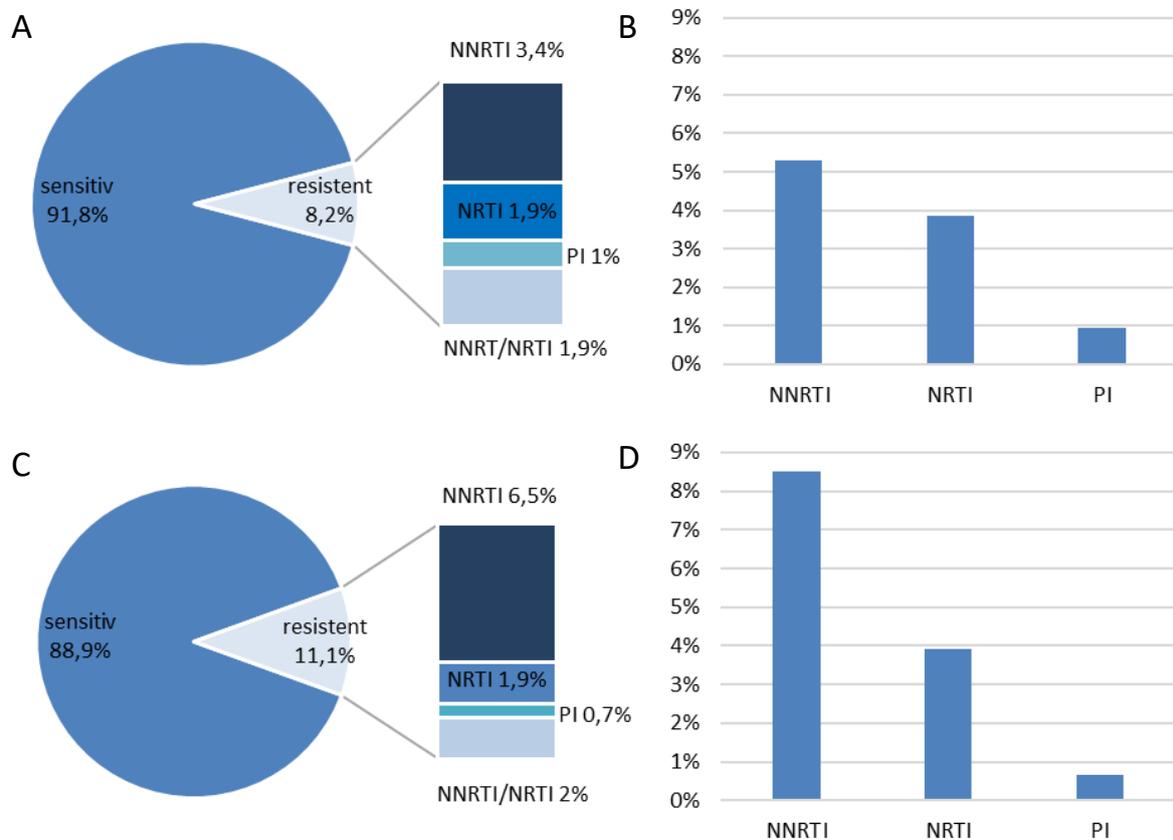


Abbildung 30: Anteil an SDRML in der analysierten Population. Anteile der SDRML in Prozent der analysierten Neudiagnosen mit Herkunftsland SSA, die A und B: in 2015; C und D: in 2017 in Deutschland registriert wurden; eingeteilt in sensitive (88,9%) und resistente (11,1%) Patienten sowie in die verschiedenen Wirkstoffklassen. Im rechten Teil der Abbildung ist die Verteilung der SDRML in der Vergleichspopulation zu erkennen.

Die Wirksamkeit einzelner HIV Wirkstoffe schwankt zwischen den einzelnen Wirkstoffklassen (siehe Abbildung 31). Unter den NRTIs weisen zwischen 1,9% und 3,4% der Proben aus 2015 Resistenzen gegen alle Wirkstoffe auf; im Jahr 2017 galt dies für 2,0% bis 2,6%. Proben aus 2015 wiesen bezüglich der Medikamente der NNRTIs im Vergleich zu den Proben aus 2017 geringere Resistenzhäufigkeiten auf. Gegen den Wirkstoff Efavirenz wurde 2015 in 5,8% eine Resistenz detektiert, im Jahr 2017 in 9,8% ($p=0,161$); Die Resistenzen bezüglich Etravirin stiegen von 1,4% auf 5,2% ($p=0,060$) und für Nevirapin von 6,3% auf 9,8% ($p=0,236$). Eine verminderte Wirksamkeit bezüglich Rilpivirin zeigt sich zwischen den Vergleichsjahren. Diese stieg von 5,3% auf 11,8% und war damit der Wirkstoff mit dem höchsten Anteil an Resistenzen ($p=0,148$). In circa der Hälfte der PIs wurde ein Anstieg der Resistenz von 0,5% auf 0,7% entdeckt. Bezüglich der INSTIs wurde in 50% der Medikamente ein Resistenzanstieg von 0,5%

auf 3,4% der analysierten Proben detektiert. Signifikante Unterschiede konnten nicht detektiert werden.

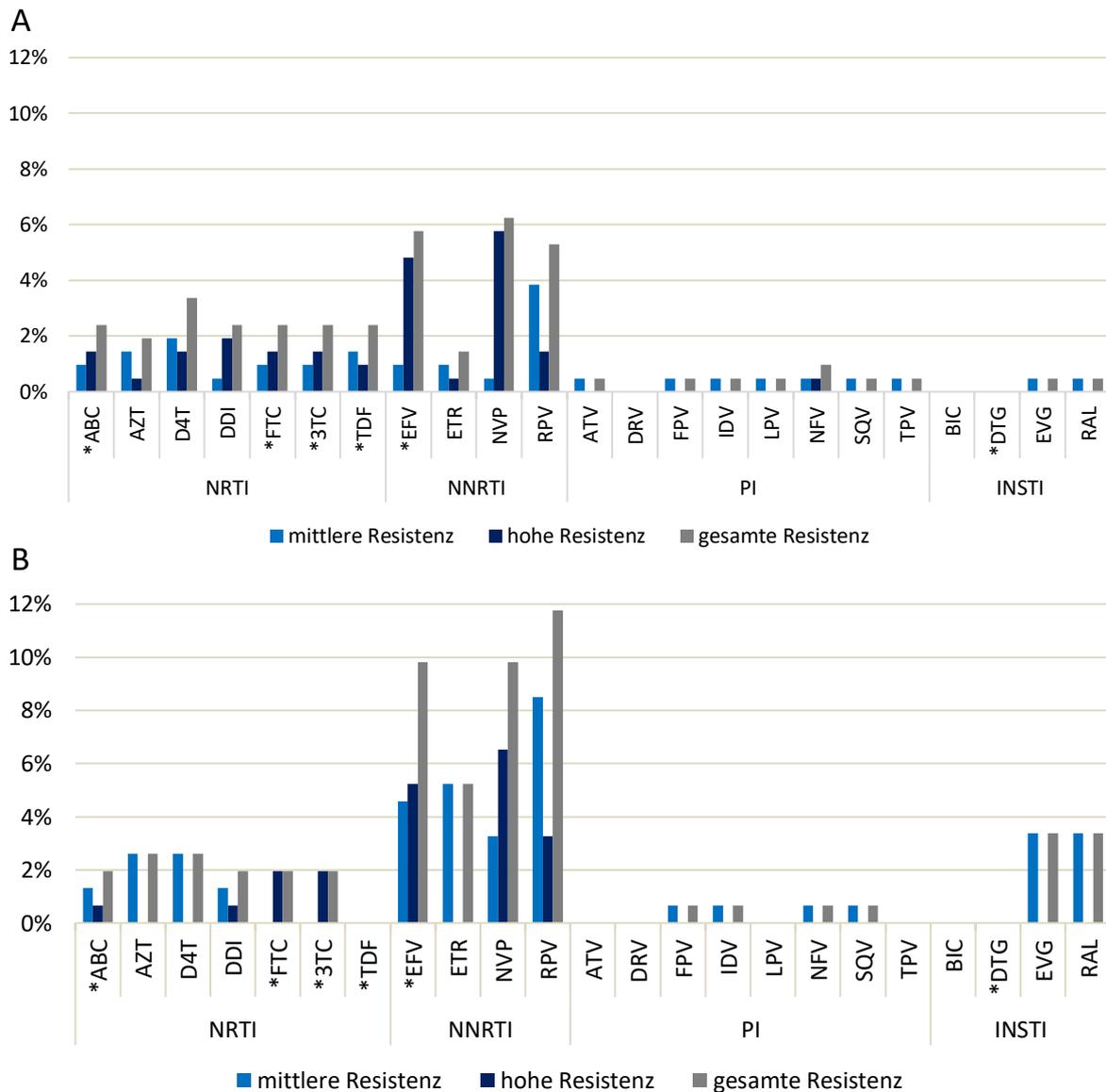


Abbildung 31: Medikamentenresistenz der analysierten Population. Einteilung in mittlere und hohe Resistenzen bezüglich der Wirkstoffe in Prozent der sequenzierten Neudiagnosen mit Herkunftsland SSA, die A: 2015 und B: 2017 in Deutschland registriert wurden. *Medikamente aus den Guidelines von Südafrika (2015), Namibia (2016) und Botswana (2016). (Mutationen INSTI: H51HY, T97A, G163GR, E157Q).

Gefolgt aus den Informationen in Abbildung 31 und zur Erfassung der Ausbreitung oder Bildung verschiedener TDRs wurden alle auftretenden Mutationen auf ihre Häufigkeit untersucht (Abbildung 32). In NNRTIs und NRTIs wurden am häufigsten Mutationen entdeckt, wobei innerhalb der NNRTIs von 2015 zu 2017 ein Anstieg an verschiedenen Mutationen entdeckt wurde, bei den NRTIs hingegen eine Abnahme. In beiden Probensets traten die NNRTI-assoziierten Mutationen K103N und E138A vermehrt auf. Diese haben häufig Einfluss auf die Wirksamkeit von Medikamenten, wie beispielsweise

die Mutationen K101E und K103N auf Rilpivirin und Nevirapin sowie die Mutation E138A auf Efavirenz. In den INSTIs wurde die Mutation E157Q im Jahr 2017 mit größerer Häufigkeit entdeckt als noch im Jahr 2015. Zusammenfassend ist zu sagen, dass es im Jahr 2015 eine größere Anzahl an Mutationen gab, die allerdings im Vergleich zu 2017 weniger häufig auftraten. Signifikante Unterschiede bezüglich der Mutationen konnten zwischen den analysierten Probensets nicht detektiert werden.

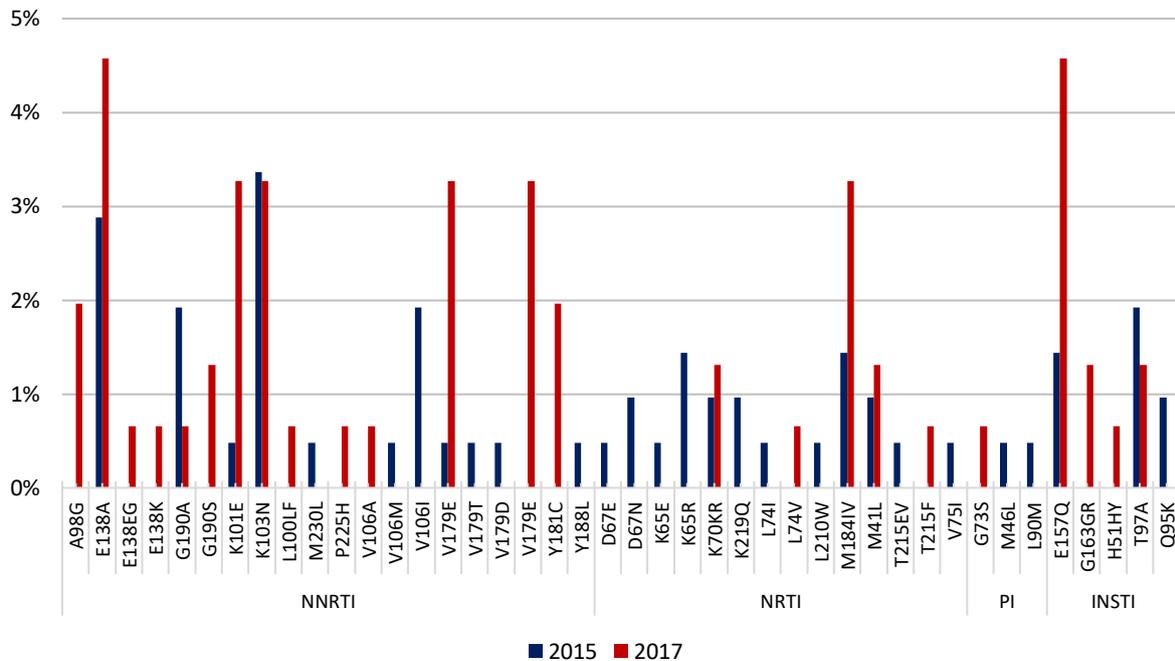


Abbildung 32: Mutationen der Stanford HIV drug resistance database und die E138A in den analysierten Populationen. Auftreten der Mutationen in der HIV-1 pol-Region in Prozent von 208 (PR/RT) bzw. 149 (INT) sequenzierten Neudiagnosen mit Herkunftsland SSA im Jahr 2015 und 153 (PR/RT) bzw. 118 (INT) im Jahr 2017.

Die Tabellen 20 und 21 zeigen, dass in den analysierten Proben aus 2015 Resistenzen größtenteils in Subtyp C auftreten. Für Subtyp C ($p=0,728$) konnten keine signifikanten Veränderungen detektiert werden. Im Jahr 2017 wurden Resistenzen zu 30,5% in Subtyp CRF02_AG entdeckt. Alle Wirkstoffklassen, für welche Resistenzen detektiert wurden, sind im Jahr 2017 in diesem Subtyp vertreten. Zudem kann ein signifikanter Unterschied ($p=0,003$) bezüglich der Resistenzen festgestellt werden. Subtyp A zeigt im Jahr 2017 überhaupt keine Resistenzen in den analysierten Proben.

Tabelle 20: Subtypverteilung bezüglich der SDRML (Surveillance Drug Resistance Mutation List) in der analysierten Population aus 2015. Anteile der verschiedenen TDR (transmitted drug resistance) der Wirkstoffklassen der sequenzierten Neudiagnosen mit Herkunftsland SSA, die 2015 in Deutschland registriert wurden. Subtypenauswahl nach n größer/gleich 10%.

	Subtypen							
	A (n=23)		C (n=70)		G (n=22)		CRF02_AG (n=56)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
SDRML	2	8,7	10	14,3	2	9,1	1	1,8
NNRTI	1	4,3	5	7,1	1	4,5	0	0,0
NRTI	1	4,3	4	5,7	1	4,5	0	0,0
PI	0	0,0	1	1,4	0	0,0	1	1,8

Tabelle 21: Subtypverteilung bezüglich der SDRML in der analysierten Population aus 2017. Anteile der verschiedenen TDR der Wirkstoffklassen der sequenzierten Neudiagnosen mit Herkunftsland SSA, die 2017 in Deutschland registriert wurden. Subtypenauswahl nach n größer/gleich 10%.

	Subtypen							
	A (n=17)		C (n=26)		G (n=26)		CRF02_AG (n=59)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
SDRML	0	0,0	2	7,7	2	7,7	18	30,5
NNRTI	0	0,0	2	7,7	1	3,8	8	13,6
NRTI	0	0,0	0	0,0	2	7,7	2	3,4
PI	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	1,7

In Abbildung 33 ist die prozentuale Aufteilung der Resistenzen in den Herkunftsregionen abgebildet. Zu erkennen ist, dass Resistenzen gegen PIs ausschließlich in Westafrika detektiert werden konnten (2015 in Ghana und Nigeria, 2017 in Ghana). NNRTI-assoziierte Resistenzen sind im Jahr 2017 zu größeren Anteilen detektiert worden wie im Jahr 2015. Dies ist für West-, Ost und Südafrika zu erkennen und führt gleichzeitig zu einem höheren Resistenzauftreten in West- und Ostafrika. In Südafrika wurden 2015 ausschließlich Resistenzen gegen NRTIs entdeckt, im Jahr 2017 wurden ausschließlich NNRTI-assoziierten Resistenzen detektiert.

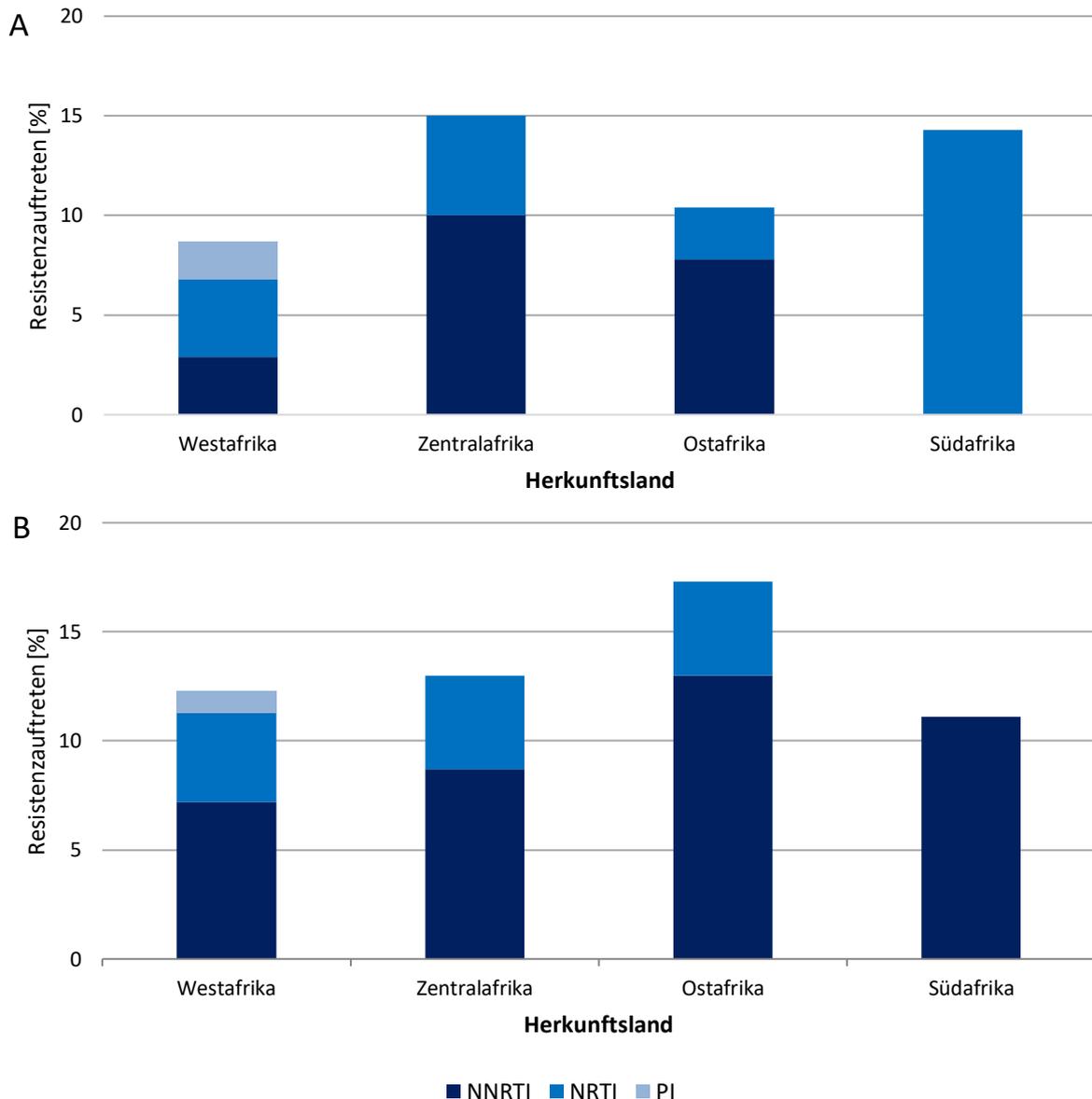


Abbildung 33: Resistenzauftreten bezüglich der Herkunftsregionen in der analysierten Population A: 2015 und B: 2017. Anteile der verschiedenen Resistenzen in den Wirkstoffklassen der sequenzierten Neudiagnosen mit Herkunftsland SSA, die in Deutschland registriert wurden.

5.4 Phylogenetische Auswertung

Der phylogenetische Baum auf Grundlage des Probensets aus 2015 zeigt, dass ein Großteil der Neudiagnostizierten aus Westafrika stammen, gefolgt von Ostafrika (Abbildung 34). Es ist zu erkennen, dass Subtyp G- und CRF02_AG-Infektionen größtenteils aus Westafrika stammen, Subtyp C-Varianten hingegen aus Ostafrika. Diese Ergebnisse bestätigen die Informationen aus den Meldedaten. Proben aus Südafrika sind nahe der Subtyp-C-Referenzen zugeordnet; Proben aus Zentralafrika sind über den gesamten Baum zu erkennen.

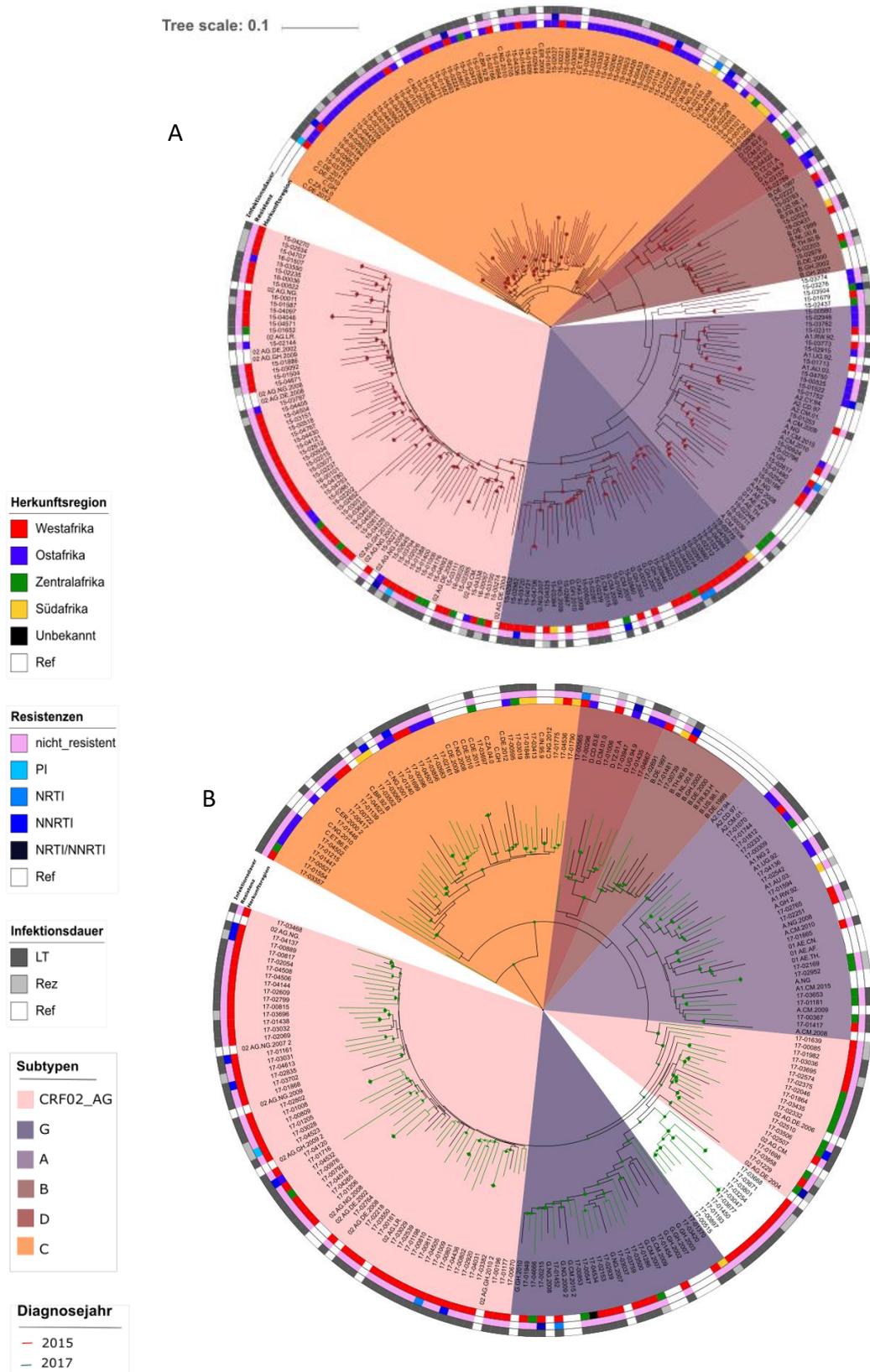


Abbildung 34: Phylogenetischer Baum der analysierten Proben aus den Jahren A: 2015 und B: 2017. Als Referenzsequenz dienten Sequenzen HIV sequence database mit bekannten Herkunftsländern. Als Outgroup dient eine Referenzsequenz der Gruppe O. Der Stammbaum zeigt die Ähnlichkeit zu dieser Referenzsequenz und die Ähnlichkeiten untereinander an. Die Outgroup wurde aus den Stammbäumen nachträglich entfernt. Knotenpunkte mit grünem oder rotem Kreis sind signifikant mit einem *Bootstrap*wert von $\geq 70\%$.

Innerhalb des errechneten *Maximum-Likelihood* Stammbaumes clustern die einzelnen Virussequenzen innerhalb ihrer Subtypen signifikant in Kladen. Im Jahr 2015 waren besonders Subtyp C Sequenzen dominant. Subtyp B und D bilden nur kleine Cluster mit wenigen zugehörigen Isolaten. Zwischen den Clustern der A- und B-Subtypen befindet sich ein Bereich an fünf Proben (15-3774, -3276, -1679, -3504 und -2437), die aus verschiedenen CRFs bestehen und daher keiner der für den Stammbaum verwendeten Referenzsequenzen zugeordnet werden konnten.

Bezüglich der Resistenzen zeigt sich, dass die meisten analysierten Proben keine Resistenzen aufwiesen. Die am häufigsten entdeckten Resistenzen sind NNRTI-spezifisch. Insgesamt sind die Resistenzen gleichmäßig über den Baum hinweg verteilt und zeigen keine Anzeichen für Cluster.

Auch im Bezug zur Infektionsdauer wird deutlich, dass die analysierten Proben hauptsächlich Langzeitinfektionen darstellen. Dies korreliert mit den Ergebnissen der CD4⁺-Zellzahl, da in dem meisten Proben eine geringe Anzahl an diesen Zellen gemessen wurde.

Die Länge der einzelnen Äste zeigt an, wie eng einzelne Proben miteinander phylogenetisch verwandt sind. Die genetische Identität lag im Median bei 89,5%. Bei 2 Pärchen des Subtyps CRF02_AG und 2 Pärchen des Subtyps C zeigte sich eine genetische Identität von >99%, so dass hier die Daten aus den Meldebögen miteinander verglichen werden könnten, um mögliche Gemeinsamkeiten zu untersuchen oder die Proben auf Doppelmeldungen zu prüfen.

Der *Maximum-likelihood* Stammbaum für die Proben aus 2017 zeigte, ähnlich wie für 2015, eine grobe Verteilung der Proben nach Herkunftsregion. Im Vergleich zum Stammbaum aus 2015 zeigen sich in der Subtyp C Klade eine weniger stark beschränkte Zuordnungen zu Ostafrika, sondern ein zunehmender Anteil an Proben aus Südafrika mit Subtyp C und aus Zentralafrika mit Subtyp A, CRF02_AG und G.

Im Cluster des Subtyp A ist eine Probe (17-01665) zu erkennen, die laut den Referenzsequenzen dem CRF01_AE zugeordnet werden kann. Dies bestätigt das Ergebnis des Subtypings.

Der nicht kolorierte Bereich zwischen den Clustern der Subtypen G und CRF02_AG entspricht Proben mit dem Subtypen CRF06_cpx. Die Resistenzen zeigen eine gleichmäßige Verteilung über den gesamten Stammbaum, wie zuvor in der Phylogenese von 2015. Eine weitere Gemeinsamkeit ist die Infektionsdauer: Auch im Jahr 2017 bildete das Probenset eine Stichprobe mit größtenteils Langzeitinfektionen. Auch hier passt das Ergebnis der Phylogenese zu den Ergebnissen der CD4⁺-Zellmessung.

Eine Bildung von engen Clustern oder Infektionsketten ist nicht erkennbar. Nur wenige Proben (3 Pärchen) mit einer genetischen Identität > 99% sind zu erkennen.

Innerhalb des Stammbaumes von 2017 wurde das CRF02_AG Cluster in zwei Bereiche getrennt. Zwischen diesen Bereichen lagen Sequenzen mit der Subtyp G Klassifizierung. Diese ungewöhnliche Clusterbildung von CRF02_AG wurde mit einigen Proben aus den verschiedenen Gruppierungen noch einmal genauer untersucht. Im Online-Subtyping-Tool REGA wurden erneut die PR/RT, auf dessen Grundlage der phylogenetische Stammbaum beruht, analysiert.

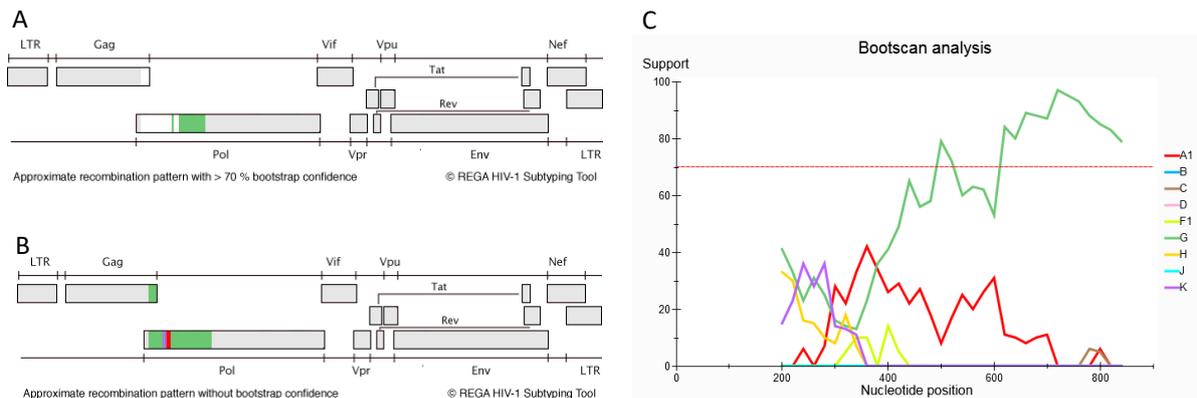


Abbildung 35: Sequenzanalyse der PR/RT-Region einer HIV-1-Probe mittels dem Subtyping-Tool REGA. In A ist die Sequenzanalyse für Ähnlichkeiten von mindestens 70% zu erkennen, in B wurden die am ähnlichsten Subtypen für das Subtyping verwendet, deren Ähnlichkeit auch weniger als 70% betragen kann. Für weiß gekennzeichnete Bereiche konnte kein Subtyp ermittelt werden. In C ist gezeigt, welche Subtypen in welchen Regionen eine Ähnlichkeit aufweisen.

In Abbildung 35 ist das Ergebnis einer Probe dargestellt, die aus dem Cluster zwischen Subtyp G und A stammt. Die Sequenz wurde als Subtyp-G-ähnlich mit einer Übereinstimmung von 96% eingestuft. Durch einen Bootstrap von mindestens 70% ist in A erkennbar, dass nur G-ähnliche Sequenzübereinstimmungen detektiert werden können, die restlichen, weißen Bereiche waren keinem anderen Subtypen zuzuordnen. Verringert man das Übereinstimmungskriterien (B), so ändern sich diese Sequenzabschnitte hauptsächlich in Subtyp G-, aber auch in A- und zu sehr geringen Anteil in K-ähnliche Abschnitte. Dies ist genauer in C zu erkennen. Damit bildet die hier analysierte Probe eine Mischform, die weder Subtyp G, aber auch nicht einer klassischen CRF02_AG-Virusvariante zugeordnet werden kann.

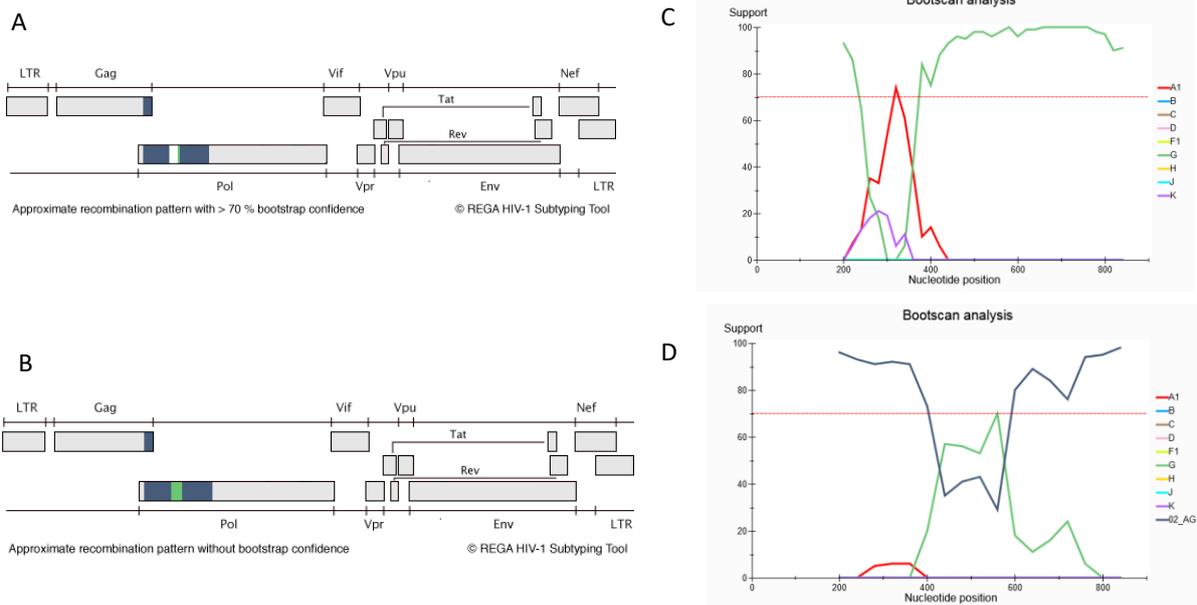


Abbildung 36: Sequenzanalyse der PR/RT-Region einer HIV-1-Probe mittels dem Subtyping-Tool REGA. In A ist die Sequenzanalyse für Ähnlichkeiten von mindestens 70% zu erkennen, in B wurden die am ähnlichsten Subtypen für das Subtyping verwendet, deren Ähnlichkeit auch weniger als 70% betragen kann. Für weiß gekennzeichnete Bereiche konnte kein Subtyp ermittelt werden. In C ist gezeigt, welche Subtypen, ohne Miteinbeziehung der CRFs, in welchen Regionen eine Ähnlichkeit aufweisen. In D wird dies mit Einschluss rekombinanter Formen durchgeführt.

Vergleicht man nun eine Probe aus dem zweiten größeren Cluster der CRF02_AG (Abbildung 36), so fällt auf, dass hier im Gegensatz zu Abbildung 35 eine Zuordnung zu diesem Subtyp gemacht werden konnte. Allerdings konnte auch in diesem Fall ein Abschnitt innerhalb der Sequenz nicht signifikant CRF02_AG zugeordnet werden.

Der Stammbaum für das gesamte Datenset zeigt ebenfalls eine Trennung innerhalb der einzelnen Subtypen (Abbildung 37). Gut zu erkennen ist die Abtrennung von zwei Kladen innerhalb des Subtyps CRF02_AG wie bereits beschrieben. Die Proben aus 2015 und 2017 zeigen eine deutliche Vermischung miteinander. Es bilden sich keine größeren signifikanten Cluster innerhalb des Baumes, die nur aus Proben eines Jahres bestehen. Somit ergeben sich keine diagnosejahr-spezifischen Cluster. Durch den Stammbaum wird noch einmal verdeutlicht, dass Subtyp CRF02_AG mehr Proben aus 2017 einschließt, wohingegen Subtyp C mehr Proben aus 2015 beinhaltet. Auch in diesem Baum zeigten sich keine Cluster mit Resistenzassoziation.

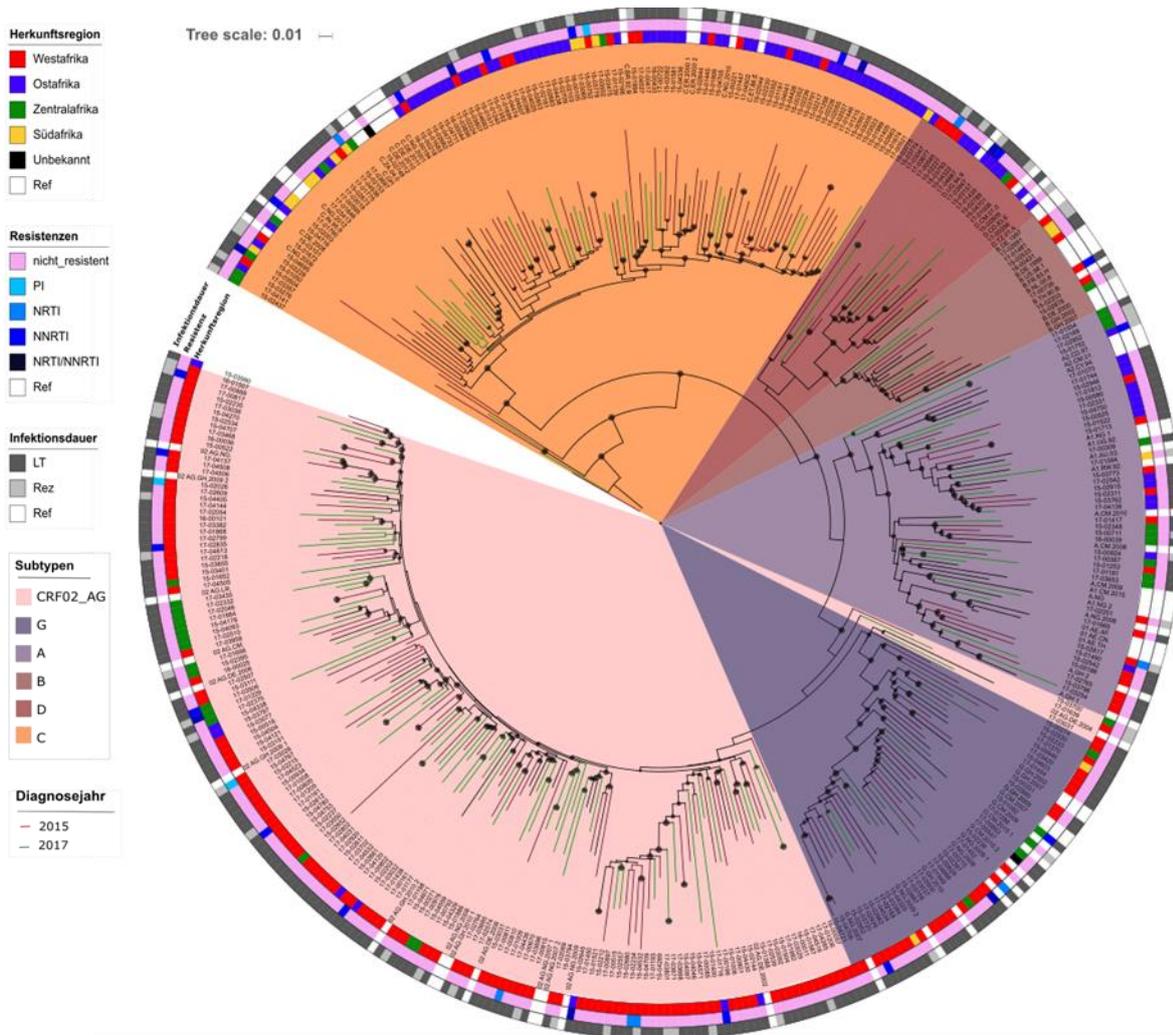


Abbildung 37: Phylogenetischer Stammbaum aller analysierten Proben. Als Referenzsequenz diente eine Sequenz der HIV-1-Gruppe O. Die Stammbäume zeigen die Ähnlichkeit zu dieser Referenzsequenz und die Ähnlichkeiten untereinander an. Die Referenzsequenz wurde aus den Stammbäumen nachträglich entfernt.

6. Diskussion

6.1 Prognosen der Entwicklung von Populationen aus SSA in Deutschland

Insgesamt wurden in Deutschland im Jahr 2015 476.646 und 2017 222.683 Asylanträge gestellt (Bundesamt für Migration und Flüchtlinge, Aktuelle Zahlen zu Asyl, Dezember 2018). Die Tendenz ist seit 2016 wieder fallend, nachdem es seit 2006 bis 2016 kontinuierlich zu einer steigenden Anzahl an Asylanträgen gekommen ist. Im letzten Jahr sank diese Zahl weiter auf 161.931. Entgegen der Gesamtzahlen an Flüchtlingen steigt die Anzahl an Asylbewerbern, die aus SSA stammen, kontinuierlich an. Die Gesamtzahlen an Asylanträgen von Personen aus SSA im gesamten europäischen Raum zwischen 2014 und 2017 umfasst mehr als 1 Mio. Anträge (<https://www.welt.de/politik/ausland/article174796884/Millionen-Fluechtlinge-aus-Afrika-Zweite-Phase-der-Migration-hat-laengst-begonnen.html>; 27.03.2019). Insgesamt bilden Asylanträge von Individuen aus Ländern SSAs im Vergleich zu anderen Nationalitäten einen geringen Anteil in Deutschland mit durchschnittlich weniger als 1.000 Asylanträgen pro Jahr. Ausnahmen bilden hier Nigeria (2017: 7.811, 3,9%), Eritrea (2015: 10.876, 2,5%; 2017: 10.226, 5,2%) und Somalia (2017: 6.836, 3,4%) (Bundesamt für Migration und Flüchtlinge, Das Bundesamt in Zahlen 2015; Bundesamt für Migration und Flüchtlinge, Das Bundesamt in Zahlen 2017). Für 2018 wurden folgende Angaben veröffentlicht: Nigeria (10.168; 6,3%), Eritrea (5.571; 3,4%) und Somalia (5.073; 3,1%) (Bundesamt für Migration und Flüchtlinge, Aktuelle Zahlen zu Asyl, Dezember 2018). Somit scheint die Zuwanderungsrate aus Nigeria zu steigen, aus Eritrea hingegen zu sinken. Besonders Individuen mit Herkunftsland Nigeria und Eritrea waren in den analysierten Populationen aus 2015 (Nigeria: 20,9%, Eritrea: 4,6%) und 2017 (Nigeria: 13,7%, Eritrea: 3,3%) vertreten. Durch hohe HIV-Prävalenzen in diesen Regionen (Nigeria 2,8%, Eritrea 0,6%) ist diese Korrelation zu erklären. Dennoch soll erwähnt werden, dass bei einem Vergleich der gesamten Anzahl an Asylanträgen und der Anzahl der analysierten Proben lediglich eine sehr kleine Stichprobenanzahl analysiert wurde.

Die steigende Anzahl an Migranten aus SSA lässt sich durch die innerstaatlichen Konflikte in vielen afrikanischen Ländern erklären (Tietze, 2016). Auf keinem anderen Kontinent ist das Bevölkerungswachstum stärker ausgeprägt als in Afrika. Allerdings herrschen in vielen Regionen Armut und ein schlechter Arbeitsmarkt. Niedrige Löhne und eine vielerorts schlechte Sicherheitslage durch politische Konflikte und steigende Präsenz an Terrororganisationen (Boko Haram, Al-Shabaab) beeinträchtigen die Lebensqualität zusätzlich. Durch immer weiter ausgebauten Infrastrukturen und die steigende Anzahl an Verwandten oder Bekannten, die bereits im Ausland leben, erhöht sich für viele Einheimische die Bestrebung und die Möglichkeit ihre Heimat zu verlassen

(<http://www.bpb.de/gesellschaft/migration/kurzdossiers/265328/flucht-und-vertreibung>;
27.03.2019).

Der detektierte Peak an HIV-Neudiagnosen im Jahr 2015 (Epidemiologisches Bulletin 38/2016, Robert Koch-Institut), auf dessen Grundlage dieses Projekt zustande gekommen ist und durch die zeitweise durchgeführte Routinetestung aller Asylbewerber in Bayern und Sachsen und somit durch eine erhöhte Detektionsrate verstärkt worden ist, ist in den darauffolgenden Jahren wieder gesunken. Durch die HIV-Testungen in Bayern, wo besonders viele Asylanten registriert werden (13,5% im Jahr 2018), konnten somit unüblich viele Neudiagnosen detektiert werden. Diese im Jahr 2016 sinkende Tendenz an Neudiagnosen trotz gleichzeitig steigenden Zahlen an Asylanträgen von Personen aus SSA ist damit zu erklären, dass die Routinetestung nicht mehr durchgeführt wurde. Dies sollte aber nicht damit gleichgesetzt werden, dass sich mehr HIV-Infizierte unter den Asylbewerbern aus dem Jahr 2015 befanden. Da im gesamten Raum um SSA keine sinkende Anzahl an HIV-Infizierten ermittelt werden konnte ist es unwahrscheinlich, dass sich unter den zukünftigen Asylbewerbern signifikant weniger HIV-Infizierte befinden, auch wenn die Anzahl der Neudiagnosen aus SSA gesunken ist.

6.2 Gesundheitszustand der analysierten Populationen

Betrachtet man den Gesundheitsstatus der analysierten Populationen aus 2015 und 2017 bezüglich ihrer Klassifizierung nach den CDC-Stadien, so fällt auf, dass die meisten Individuen dem Stadium A, also dem frühesten Stadium und dem Stadium ohne symptomatische Begleiterscheinungen der HIV-Erkrankung, zugeordnet werden. Auch wenn der Großteil der analysierten Neudiagnosen den Langzeitinfektionen zugeordnet werden können scheint bei den meisten Individuen die Krankheit noch keine AIDS-assoziierten Symptome aufzuweisen. Allerdings soll an dieser Stelle noch einmal verdeutlicht werden, dass HIV eine oftmals langsam fortschreitende Infektionskrankheit ist, die erst nach durchschnittlich 8 bis 10 Jahren Symptome aufweist (Abbas, Basic Immunology, 2006/07, S. 219). Eine fehlende Symptomatik kann zudem durch eine erfolgreiche ART initiiert worden sein. Allerdings konnten sowohl im Jahr 2015, als auch im Jahr 2017, hohe Werte an Viruslasten und damit einhergehende, geringe Mengen an CD4⁺-Zellen detektiert werden. Diese Werte lassen den Gesundheitszustand präziser einschätzen als die Einteilung nach CDC-Stadien und sprechen für eine Langzeitinfektion bei den meisten analysierten Neudiagnosen aus SSA. Dies ist ein Indiz für fehlende oder unterbrochene ART und mögliche Wirkstoffresistenzen, die eine ART in ihrer Effizienz beeinträchtigen. Grund dafür könnte die mangelnde, medizinische Versorgung in SSA oder die schwierige Durchführung einer kontinuierlichen Medikation auf dem Weg von SSA nach Deutschland gewesen sein. Durch diese Gesundheitsparameter lässt sich abschließend vermuten, dass die meisten

der analysierten Individuen, die in Deutschland als Neudiagnosen registriert wurden, nicht zu der Gruppe der Neuinfizierten gehören. Dies wird durch die Angaben des Herkunftslandes als Infektionsort bekräftigt, da viele der Asylbewerber oftmals Monate, manchmal Jahre brauchen, um von ihrer Heimat nach Europa bzw. Deutschland zu gelangen (<https://www.zeit.de/politik/ausland/2018-06/migration-afrika-fluechtlinge-europa-mittelmeer-agadez-wueste/seite-2?fbclid=IwAR3FjzsOcbJlitXvHXnbaBgv567JxV9UV4xyZL9L8A3mVCbdhscITobfT8E>). Daher ist anzunehmen, dass die HIV-Infektion seit einem längeren Zeitraum besteht.

6.3 Subtypen

Hemelaar et al. (2018) zeigen, dass der Subtyp C im Zeitraum von 2010 bis 2015 hauptsächlich in Ost- und Südafrika, zu geringeren Anteilen auch in Zentralafrika, vorkommt. Sowohl 2015, als auch 2017 wurde in den analysierten Proben Subtyp C meist mit Herkunftsland Ostafrika detektiert, was mit der im Vergleich zu den Proben aus Südafrika erhöhten Anzahl an Proben aus Ostafrika zusammenhängt. Im Jahr 2017 stieg die Anzahl von Neudiagnosen mit Subtyp C-Varianten, die aus Zentral- und Südafrika kamen, sodass Subtyp C durch beispielsweise Migration von Südafrika vermehrt in den anderen afrikanischen Ländern zu finden ist. Die Anzahl in Westafrika ist zurückgegangen.

Subtyp G ist größtenteils in Westafrika zu finden (Hemelaar et al., 2018), was ebenfalls in beiden Probensätzen beobachtet werden konnte. Ein kleiner Anteil an Subtyp G Isolaten konnte bei Patienten aus Zentralafrika beobachtet werden. Dasselbe gilt für Subtyp CRF02_AG, der hauptsächlich in Westafrika zu finden ist.

Subtyp A ist gewöhnlicher Weise in Ostafrika vorhanden, zu geringeren Anteilen in Zentralafrika. Wie die anderen Subtypen zeigt auch Subtyp A einen Anstieg in Zentralafrika. Auch konnten in Proben von 2017 aus Südafrika Subtyp A entdeckt werden. Der Subtyp CRF01_AE kann nur selten aufgrund ungenügender Informationen aus dem sequenzierten *pol*-Abschnitt ermittelt werden. Daher ist ein häufigeres Vorkommen möglich, wenn auch unwahrscheinlich (Hemelaar et al., 2018).

Zusammenfassend ist zu sagen, dass regional betrachtet eine Dynamik durch den Vergleich der Probensets aus 2015 und 2017 ersichtlich geworden ist. Wie von Hemelaar et al. (2018) beschrieben, ist in Zentralafrika die größte Vielfalt an Subtypen zu finden. Auf Grundlage der Ergebnisse kann vermutet werden, dass es zwischen Zentral-, Ost- und Südafrika zu Veränderung der Subtypverteilung kommt, welche beeinflusst wird durch z.B. Urbanisierung, Migration, Weiterentwicklung der Transportmöglichkeiten oder Transmissionsnetzwerken.

Ebenfalls auffällig ist, dass es in den analysierten Proben von 2017 in Vergleich zum Probenstet aus 2015 mehr CRF02_AG und weniger Neudiagnosen mit Subtyp C detektiert wurden. Dies kann mit der veränderten Zusammensetzung des Probenstets erklärt werden: 2017 sank innerhalb der analysierten Proben der Anteil an Proben aus Ostafrika, Proben aus Westafrika stiegen hingegen in ihrer Häufigkeit.

Vergleicht man die Daten der Herkunfts- und der Infektionsregionen miteinander, so lässt sich erkennen, dass die Verteilung der Subtypen große Ähnlichkeiten aufweist. Dies stimmt mit dem hohen Anteil an Neudiagnostizierten überein, die das Herkunftsland zugleich als Infektionsland angegeben haben. Durch diese hohe Übereinstimmung kann davon ausgegangen werden, dass die Angaben aus den Meldebögen, welche häufig lediglich aufgrund von Vermutungen angegeben werden und nicht direkt und nachweisbar gemacht werden können, in der Mehrheit der analysierten Population als wahr eingeschätzt werden können.

2015 wurden alle Subtypen in Proben mit Deutschland als Infektionsort detektiert, 2017 verringerte sich der Anteil an Subtyp CRF02_AG und G; Subtyp C wurde nicht mehr detektiert. Allerdings wurden mehr Proben mit Subtyp A entdeckt. Diese Beobachtung deckt sich mit der Analyse aller HIV-Infektionen in Deutschland (Hauser et al., 2018): Zwischen 2013 und 2016 wurde ein Anstieg der Subtyp-A-Viren von 5,0% auf 8,3% beobachtet. Daher steigt die Wahrscheinlichkeit bei einer Infektion in Deutschland mit einer Subtyp-A-Variante an. Da im Verhältnis die Anteile an Infektionen in Deutschland sehr gering ist, kam es in der gesamten analysierten Population nur zu einem sehr geringen Anstieg an Subtyp A. Subtyp A ist zudem hauptsächlich mit Transmissionen von MSM assoziiert, die in der Population der Neudiagnosen aus SSA eine untergeordnete Rolle spielen.

Ein gegenteiliges Ereignis ist für Subtyp C gegeben: Dieser Subtyp wurde im Jahr 2017 in keiner der Proben mit Deutschland als Infektionsland detektiert, obwohl auch für diesen Subtyp die Häufigkeit von 2013 bis 2016 hierzulande von 3,2% auf 7,7% stieg und Subtyp C zusätzlich mit HET (und PWID) assoziiert ist. Erklärt werden kann dies durch die sehr geringe Anzahl an Individuen aus dem Probenstet aus 2017, die sich mutmaßlich in Deutschland infiziert haben. So ist eine Infektion hierzulande noch immer am wahrscheinlichsten mit einem HI-Virus des Subtyps B. Zusammenfassend ist erkennbar, dass für die analysierten Proben aus 2015 und 2017 die Subtypverteilung in Deutschland einen sehr geringen bis keinen Einfluss auf die Ergebnisse hat.

Der in Deutschland beobachtete Anstieg an Subtyp A- und C-Virusvarianten ist anderweitig zu erklären: Subtyp A-Infektionen sind meist in Personen mit Herkunftsland Zentral- und Osteuropa detektiert worden, zum größten Anteil in der Gruppe der MSM (Hanke et al., 2019). Für Subtyp C- Varianten wurde ein Anstieg im Zusammenhang mit einer steigenden Prävalenz innerhalb der Gruppe der PWID ermittelt (Hauser et al., 2018). Die Gruppe der PWID bildet, wie die Gruppe der MSM, einen sehr

geringen Anteil an HIV-Infizierten innerhalb der Population mit Herkunftsregion SSA. Der Anstieg an Subtyp A- und C-Varianten in Deutschland ist somit nicht auf die steigende Migrationsbewegung von Personen mit Herkunftsland SSA zu erklären.

6.4 Resistenzen

Zwischen den beiden Probensets ist ein Anstieg an Resistenzen von circa 3% ermittelt worden. Dieser Anstieg macht sich in Resistenzen gegen die Wirkstoffklasse der NNRTIs bemerkbar, die circa im gleichen Maße anstieg. Duale (NNRTI/NRTI) und NRTI-assoziierte Resistenzen blieben unverändert, die Anzahl an Resistenzen gegen PIs verringerte sich marginal. Ein Anstieg an NNRTI-Resistenzen ist seit mehreren Jahren in SSA (Rhee et al., 2015), aber auch in Deutschland (Machnowska et al., 2019) beobachtet worden.

Die entdeckten Resistenzen haben großen Einfluss auf die Wirksamkeit an NNRTI-Medikamenten. Die durchschnittliche Gesamtresistenz erhöhte sich von circa 5% im Jahr 2015 auf 8% im Jahr 2017. In circa 10-30% der global angewendeten ART mit NNRTI/NRTI-Kombinationen scheitert die Behandlung (Rhee et al., 2015). Aufgrund dieser Ergebnisse sollte standardmäßig eine Resistenztestung durchgeführt werden, um bei betroffenen Patienten die cART anzupassen. Der Einsatz des NNRTI-Wirkstoffs Doravirin, welches weniger resistanz anfällig ist, wird in einigen afrikanischen Ländern bereits durchgeführt (de Waal et al., 2018; Phillips et al., 2018). Eine Umstellung der ART auf Doravirin könnte daher zu einer Senkung an Resistenzen führen.

Das Ersetzen von NNRTIs durch PIs könnte ebenfalls zu einer Verminderung der Resistenzen beitragen. Geeignete Medikamente könnten beispielsweise PIs aus der zweiten Generation sein, Lopinavir (LPV), Atazanavir (ATV) und Darunavir (DRV) (Arun et al., 2016). Die Wirkstoffe zeigen seltener Resistenzen und eine allgemein gute Verträglichkeit sowie lange Halbwertszeiten. Auch in den analysierten Populationen zeigten diese Medikamente selten Unwirksamkeiten, bei Darunavir konnte in beiden Populationen keine Resistenz detektiert werden. Bisher wurde eine eingeschränkte Wirksamkeit von Darunavir bei V32I-Mutationen entdeckt (Aoki et al., 2018), welche in den analysierten Populationen allerdings nicht festgestellt werden konnte. Auch andere Resistenz-assoziierte Mutationen wie V11I, L33F, I47V, I50V, I54M/L, T74P, L76V, I84V und L89V (Richman et al., 2014) wurden in den untersuchten Neudiagnostizierten nicht gesehen. TMC310911 bildet einen PI, der strukturell ähnlich zu Darunavir ist, allerdings eine höhere Aktivität in Rekombinanten HI-Viren aufwies und bei PI-resistenten Stämmen Wirkung zeigte (Dierynck et al., 2011). An diesem und weiteren Wirkstoffen wird aktuell geforscht (Narasimha et al., 2016).

Auch Resistenzen gegen die Wirkstoffklasse der INSTIs stiegen stark an. Allerdings wiesen die Medikamente Bictegravir und Dolutegravir keine Resistenzen auf. Dolutegravir ist für eine höhere Resistenzbarriere im Vergleich zu den Wirkstoffen Raltegravir und Elvitegravir bekannt. Bisherige Mutationen, die die Wirksamkeit vermindern können, sind Y143, H155, Q148 (Dow et al., 2014), die allerdings in keiner der beiden analysierten Populationen entdeckt wurden. Ähnlich hohe Resistenzbarrieren wurden für Bictegravir festgestellt (Spagnuolo et al., 2018; Smith et al., 2018). Bictegravir zeigte zudem in Kombination mit NRTIs unter dem Handelsnamen Biktarvy® eine erfolgreiche Behandlungsmöglichkeit (Markham, 2018). Auch wird an neuen Wirkstoffen wie Cabotegravir (Brooks et al., 2019) als PrEP sowie Vicriviroc (MK-4176) und MK-2018 als Intravaginalringwirkstoff geforscht (Hoesley et al., 2018; Liu et al., 2018). Damit würden auch INSTIs einen geeigneten Ersatz für eine breiten Bevölkerungsgruppe darstellen.

Die bisher weniger angewendete Wirkstoffklasse der Fusionsinhibitoren, zu welcher der Wirkstoff Enfuvirtid gehört, zeigt eine geringe Löslichkeit und Halbwertszeit (Cheng et al., 2016), sowie Resistenzassoziationen (Ikeda et al., 2019). Aktuell bietet diese Wirkstoffklasse noch keine zuverlässige Alternative zu den NNRTIs, NRTIs, PIs und INSTIs, allerdings wird an wirksamen Fusionsinhibitoren geforscht. Aktuell werden verschiedene Proteine in Zusammenarbeit mit Enfuvirtid getestet, die ein Eindringen des HI-Virus konsistenter als bisher verhindern. Beispiele für potentielle Proteine sind Sac7d-Cpep (Ikeda et al., 2019) oder LP-83 und LP-86 (Zhu et al., 2019).

CCR5-Antagonisten wie Maraviroc sollen ebenfalls das Eindringen des Virus in deren Zielzelle verhindern. Eine Einschränkung dieses Medikaments ist aber die bedingte Wirksamkeit, die nur gegeben ist, wenn es sich um eine Infektion mit CCR5-tropen HI-Viren handelt (Church et al., 2009). Zudem sind für dieses Medikament eine Vielzahl an Nebenwirkungen bekannt (http://gskvideo.edgesuite.net/Viiv/viivhealthcare/pdf_files/master/main/CESENTRI-oral-solution-EN.pdf, (24.03.2019)). Auch ist das Medikament für stillende Mütter nicht geeignet, welche allerdings speziell in SSA eine stark vertretene Gruppe an HIV-Infizierten darstellt.

Verringerte Wirksamkeit der NNRTI-Wirkstoffe Etravirin (Giannini et al., 2019) und Rilpivirin (Sluis-Cremer et al., 2014; Machnowska et al., 2019) lassen sich oft auf die Mutation E138A zurückführen, aber auch durch K101E (Xu et al., 2013), die alle NNRTIs betrifft. Im Jahr 2017 wurde u.A. eine vermehrte Häufigkeit der Mutationen E138A und K101E detektiert, was den Anstieg an NNRTI-Resistenzen erklärt.

Betrachtet man die auftretenden Resistenzen regionsspezifisch, so zeigte sich, dass 2017 in Ostafrika höhere Resistenzraten beobachtet wurden. Diese decken sich mit einem Anstieg der NNRTI-Resistenzen, welcher ebenfalls für Westafrika detektiert wurde. Die Häufigkeit an Resistenzen

ist in Südafrika nicht gestiegen, wurde aber von zuvor bestehenden NRTI- vollständig durch NNRTI-Resistenzen ersetzt.

Während in Studien, die von Rhee et al. (2015) beschrieben werden, eine TDR-Prävalenz von circa 2,85% in SSA deklariert wird, wurde im Rahmen dieser Arbeit eine wesentlich höhere Anzahl an Resistenzen entdeckt. Da das Herkunftsland zumeist als Infektionsland genannt wurde und dies als zutreffend angenommen werden kann, kann ausgeschlossen werden, dass die entdeckten Resistenzen auf den im Vergleich zu SSA erhöhten Resistenzbestand in Westeuropa (z.B. 11% in Deutschland für den Zeitraum 2013-2016 (Hauser et al., 2018)) zurückgeführt werden kann.

Der Grund für eine unüblich hohe Resistenzentwicklung der analysierten Populationen im Vergleich zu Resistenzentwicklungen in ihrem Herkunftsland könnte damit zusammenhängen, dass die meisten Menschen, die von ihrer Heimat nach Deutschland geflüchtet sind, bereits eine Therapie erhalten haben. In Regionen, in welchen eine Monotherapie verstärkt angeboten wurde, herrscht eine höhere Rate an bereits resistenten Virusvarianten. Auch durch einen zu niedrigen Wirkstoffspiegel können vermehrt Mutanten entstehen, da die Replikation unzureichend verhindert wird. In einer Population, in welcher bereits resistente Viren vermehrt zirkulieren, zeigen sich aus diesem Grund höhere Resistenzraten. Dies ist erkennbar, wenn man weltweit die Resistenzverteilung betrachtet: In Südostasien liegt die mediane TDR bei 2,9%, in Lateinamerika bei 7,6%, im gesamteuropäischen Raum bei durchschnittlich 9,4% und in Nordamerika bei 11,5% (Rhee et al., 2015). In Entwicklungsländern ist der Zugang zur ART und somit das Resistenzaufreten geringer als in hoch entwickelten Ländern wie z.B. Deutschland.

Ein Erklärungsansatz für die Vermutung, dass Individuen aus SSA bereits unter Medikamentenbehandlung standen, ist der Zusammenhang zwischen dem Zugang zur ART und der Fluchtmöglichkeit. Personen aus urbanisierten Gegenden Afrikas haben in der Regel Zugang zum öffentlichen Gesundheitssystem und gleichzeitig die finanziellen Mittel um das Land zu verlassen. Dies trifft jedoch nicht auf Personen aus ländlichen Regionen zu. Aus diesem Grund kann vermutet werden, dass Menschen aus urbanisierten Gegenden bessere Voraussetzungen haben, um eine Fluchtmöglichkeit umzusetzen.

Im vergangenen Jahrzehnt konnte für Deutschland eine konsistente Prävalenz an TDRs festgestellt werden (Machnowska et al., 2019). Für diesen Zeitraum wurde in Deutschland ein steigendes NNRTI-assoziiertes Resistenzvorkommen (7,8%) aufgrund der Mutationen K103N, V179DE und E138A/G/E detektiert. Dieselben Mutationen traten häufig in den analysierten Probensets auf, zeigten aber von 2015 zum Jahr 2017 keine signifikanten Anstiege. Auch die Resistenzprävalenz für NRTIs (5,0%) und PIs (2,8%) ist in Deutschland höher als in den analysierten Populationen aus SSA. Die

steigende Anzahl an Asylbewerbern führte in den vergangenen Jahren daher nicht zu Häufungen von Resistenzmutationen in Deutschland. Daher kann ein signifikanter Einfluss bezüglich der Resistenzprävalenz durch die Migration von Personen aus SSA ausgeschlossen werden.

6.5 Phylogenetische Zusammenhänge und Ausbruchsgeschehen

Der phylogenetische Baum zeigt keine signifikanten Cluster oder Infektionsketten unter den analysierten Sequenzen. Somit konnte kein Ausbruch an HIV-Infektionen innerhalb der analysierten Population entdeckt werden. Eine Analyse mit beiden Diagnosejahren zeigte eine starke Durchmischung der Sequenzen. Es zeigt sich also keine Klade innerhalb der Diagnosejahre. Ebenfalls keine Clusterung zeigte sich bei der Betrachtung von Viren mit verminderter Wirksamkeit. Auch wenn die Anzahl von Resistenzen im Jahr 2017 höher ist als in 2015, kann keine spezifische Region oder ein bestimmter Subtyp entdeckt werden, der verhältnismäßig höhere Resistenzraten zeigt, sodass es keinen Hinweis auf eine Verwandtschaft beobachtet werden konnte. Die Phylogenese bestätigt, was Hemelaar et al. (2018) beschrieben hat: Subtypen CRF02_AG und G treten hauptsächlich in Westafrika auf, Subtyp A in Ost- und Zentralafrika und Subtyp C in Ost- und Südafrika.

Die phylogenetische Auswertung ist geeignet, um Ergebnisse zu veranschaulichen und die Zusammenhänge von verschiedenen Parametern, wie hier u.A. Herkunft und Subtypen, grafisch darzustellen. Bei einem Vergleich der einzelnen Stammbäume mit dem Stammbaum aller Proben fällt allerdings auf, dass die Zusammenhänge nicht immer genau reproduziert wurden. Dies liegt an vielen nicht signifikanten Knotenpunkten, weshalb bei einer erneuten Berechnung des Stammbaumes eine andere Aufteilung und Zuordnung der Proben zustande kommt. Das zeigt, dass eine Berechnung, insbesondere bezüglich der vielen verschiedenen und oftmals nicht eindeutig zuzuordnenden CRFs, nur auf mathematischen Schätzungen beruht, die keine reliablen Zusammenhänge widerspiegeln können. Für detaillierte Zusammenhänge zwischen einzelnen Gruppen an Proben sollte daher immer zusätzlich ein Subtyping-Tool angewendet werden.

Einige Proben zeigten im Stammbaum einen hohen Verwandtschaftsgrad an. Diese wurden daraufhin auf eventuelle Gemeinsamkeiten bezüglich der Angaben im Meldebogen untersucht. Nur sehr wenige dieser Proben stimmten in Geschlecht, Alter, Herkunftsregion und Risikogruppe überein (z.B. 17-03671 und 17-03801). Damit sind nur wenig mögliche Doppelmeldungen detektiert worden. Alle nah verwandten Proben waren immer bezüglich des Geschlechts identisch. Da die Risikogruppe zudem den HETs zuzuordnen ist, kann ausgeschlossen werden, dass die Ähnlichkeit der Proben auf eine Transmission von einem Individuum auf das andere durch direkten sexuellen Kontakt beruht. Möglich

wäre, dass die Infizierten von derselben Person bzw. innerhalb derselben Personengruppe oder in einem ähnlichen Umfeld angesteckt worden sind. Diese Vermutung wird durch die Tatsache gestützt, dass alle Proben mit hoher Identität aus derselben Region stammen; eine Ausnahme bilden hier nur die Proben 15-00525 und 15-04750, wobei einer der Infizierten aus Kenia, der andere aus dem benachbarten Äthiopien stammt. Durch die geografische Nähe der beiden Regionen kann auch hier vermutet werden, dass die Individuen in denselben Communities verkehrt haben. Wie die Herkunft stimmt auch in den meisten Paarungen der angegebene Infektionsort überein.

Eine weitere Vermutung zur Erklärung der immer gleichgeschlechtlichen Angaben könnte sein, dass die von den Infizierten gemachten Angaben bezüglich ihrer Sexualität nicht immer wahr sein müssen. In einigen Ländern bzw. Landesteilen besteht immer noch die Todesstrafe auf homosexuelle Handlungen (Mauretanien, Nigeria, Sudan, Somalia) (Sauer et al., 2011). Aufgrund der weit verbreiteten Stigmatisierung der Homosexualität in SSA (Fay et al., 2011, Vu et al., 2016) ist es möglich, dass einige der neudiagnostizierten Infizierten fälschlicherweise angegeben haben, dass sie heterosexuell sind. Dies deckt sich mit einer Studie aus Südafrika, in der, obwohl offiziell kaum MSM bekannt waren, durch anonyme Fragebögen 542 MSM-Studienteilnehmer gefunden wurden (Burrell et al., 2010). Diskriminierung diesbezüglich könnte ebenfalls dazu beigetragen haben, dass Betroffene von Afrika nach Europa/Deutschland geflohen sind, denn in Westeuropa herrscht eine allgemein höhere Akzeptanz von gleichgeschlechtlicher Sexualität. Daher könnte ein Teil der Individuen aus dem Probenstet entgegen der im Meldebogen verzeichneten Angaben auch durch Geschlechtsverkehr mit einem gleichgeschlechtlichen Sexualpartner infiziert worden sein. Auch wenn die Gruppe der MSM in SSA einen vergleichsweise geringen Prozentsatz an Infizierten ausmacht, so sollte auf politischer Ebene gegen die unzureichende Aufklärung und für eine Surveillance in den Communities der MSM interveniert werden (Rispel et al., 2009).

Es herrscht eine hohe Rekombinationsrate von verschiedenen Subtypen, was anhand der geteilten Clusterbildung von CRF02_AG des phylogenetischen Baums demonstriert worden ist. Dies wird ebenfalls deutlich, wenn man die Entwicklung der CRFs in den letzten Jahren beobachtet: Ein stetiger Anstieg an neuen CRFs ist in den letzten Jahrzehnten vernommen worden (Leitner et al., 2005). Durch eine zunehmende Globalisierung und Migrationsbewegung der Menschheit kann davon ausgegangen werden, dass es zu einer zunehmenden Vermischung an zuvor regions- oder länderspezifischen Virusvarianten und der Entstehung neuer, rekombinanter Formen von HIV kommen wird. In geringem Maße wurde dies in der Subtypenanalyse für die hier miteinander verglichenen Probenstets bereits vermutet.

Geht man von einer sich fortsetzenden, diversen Entwicklung der HIV-Epidemie aus, so ist es nicht nur von großer Bedeutung, dass man bezüglich der ART wirkungsvolle und neue Medikamente entwickelt,

sondern dass ebenfalls gewährleistet werden kann, dass diese nicht nur regional verfügbar sind, sondern ein globaler Zugang geschaffen wird. Besonders wichtig ist dies für die Herkunftsregion der in Rahmen dieser Arbeit analysierten Population. SSA macht mit mehr als zwei Dritteln den Großteil an Infizierten aus (Ayesha et al., 2016; Kharsany et al., 2016). Daher ist es wichtig, dass in diesen Regionen eine kontinuierliche und uneingeschränkt zugängliche Therapie gewährleistet wird. Ebenso wichtig sind die Prävention und eine schnelle Diagnose von Neuinfektionen. Es müssen Möglichkeiten geschaffen werden, um Transmissionen zu verhindern und die Neuinfektionsrate zu senken. Ein adäquater Zugang zur medizinischen Versorgung und die Qualität der Behandlung sind dabei entscheidend. Da im Rahmen dieses Projektes eine für SSA hohe Resistenzprävalenz, insbesondere gegen NNRTIs, festgestellt werden konnte, ist es nötig, eine Resistenztestung standardisiert durchzuführen; und nicht erst, wenn eine erste oder zweite ART gescheitert ist. Die Verhinderung der Entstehung und Transmission eben dieser Resistenzen ist ein wichtiger Teil in der globalen Bekämpfung von HIV, festgelegt in den 90-90-90 Zielen der WHO. Daher sollte auf politischer und medizinischer Ebene eine flächendeckende Surveillance und infolgedessen eine schnelle, angepasste Umsetzung der Therapierichtlinien etabliert werden.

Da in Deutschland ein guter Zugang zur medizinischen Versorgung geboten wird und eine Resistenztestung zur standardisierten HIV-Behandlung gehört, sollte die Behandlung von Asylbewerbern aus SSA primär keine Herausforderung darstellen. Dennoch ist es wichtig, diese Populationsgruppe nicht zu vernachlässigen, denn die steigende Anzahl an Migranten und Resistenzen fordert eine gründliche Beobachtung der Krankheitsentwicklung (Alberer et al., 2018). Auch können in dieser Populationsgruppe im Vergleich zu Einheimischen andere, soziale Anforderungen bestehen: Viele Asylbewerber kennen das deutsche Gesundheitssystem nicht und müssen sich zunächst mit ihrer neuartigen Umgebung zurechtfinden. Auch sprachliche Barrieren sind oft vorhanden. Daher ist es wichtig, dass erkrankten Asylbewerbern die Behandlungsmöglichkeiten und deren Dringlichkeit verständlich gemacht werden und ein einfacher, unbürokratischer Zugang ermöglicht wird, welcher begleitend durchgeführt wird.

7. Schlussfolgerung

Im Rahmen dieses Projektes konnten Indizien für eine sich weiterentwickelnde Dynamik und Diversität bezüglich der HIV-1-Subtypen detektiert werden. Durch eine fortschreitende Globalisierung, wachsende Migrationsbewegungen und fortgeschrittener Infrastruktur vervielfältigen sich die regional vorherrschenden HI-Virusvarianten. Diese Diversität an Virusvarianten zeichnet sich besonders durch detektierte Mischformen und häufig auftretenden Rekombinationen innerhalb einer Subtypenklassifizierung ab. Global sollte aus diesem Grund, besonders im Hinblick auf Diagnoseuntersuchungen, die Entwicklung und Verteilung der verschiedenen Virusvarianten beobachtet werden.

Subtyp A und C-Infektionen sind in den vergangenen Jahren innerhalb von Deutschland angestiegen. Diese ist allerdings nicht auf die steigende Anzahl an Asylbewerbern mit Herkunftsland SSA zurückzuführen, da der Anstieg an Subtyp A-Varianten mit der Gruppe der MSM und mit Personen aus Zentral- und Osteuropa assoziiert werden kann. Der Anstieg an Subtyp C-Infektionen wurde in Deutschland innerhalb der Gruppe der PWID entdeckt.

Eine hohe Anzahl an Resistenzen in den analysierten Populationen zeigt die Dringlichkeit in der Entwicklung von neuen, wirkungsvollen Alternativmedikamenten und der schnellen Detektion von Unwirksamkeiten in der Medikation. Eine kontinuierliche und effiziente Behandlung von Infizierten und eine wachsende Prävention zur Verhinderung neuer Resistenzen oder deren Übertragung sollte gefördert werden. Beide Wirkstoffklassen der RT (NNRTI/NRTI) sind Bestandteil bei der Erstlinientherapie der HIV-Infektion in SSA. Aufgrund der zunehmenden Anzahl von NNRTI-resistenten HIV-Varianten wird von der Verwendung von NNRTIs, wie in den WHO-Behandlungsrichtlinien beschrieben, abgeraten. Für die individuelle Behandlung sollte die Resistenz schnell erkannt und ein alternatives Arzneimittel für eine erfolgreiche Behandlung folgen. Eine geeignete Möglichkeit wäre das Ersetzen der NNRTIs durch PIs.

Nicht nur medizinisch relevante, sondern auch soziale Maßnahmen sollten weiterhin politisch gefördert werden. Dies schließt zum einen Aufklärungskampagnen, Diskriminierungsvermeidung und die Verbesserung der medizinischen Versorgung in SSA ein, aber auch die geförderte Behandlungsbegleitung der Asylsuchenden in Deutschland.

Zwar wurden im Rahmen dieses Projektes ausschließlich Individuen untersucht, die sich in Deutschland aufhalten, allerdings konnte gezeigt werden, dass unter den Neudiagnosen der Infektionsort in den meisten Fällen mit der Herkunftsregion übereinstimmt. In diesem Zusammenhang wurde gezeigt, dass die neudiagnostizierten Personen aus SSA hauptsächlich Langzeitinfektionen aufweisen, die mit hohen

Viruslasten und somit erhöhten Transmissionsrisiken einhergehen. Daher ist für eine effiziente Behandlung und Prävention von HIV-Infektionen und der damit einhergehenden Verhinderung von Transmission und Resistenzausbreitung eine Verbesserung der medizinischen Möglichkeiten direkt in SSA unbedingt notwendig. Aufgrund der enorm ansteigenden Bevölkerungsdichte in SSA, in der bereits mehr als 70% aller HIV-Infizierten leben, aber auch durch die steigende Migrationstendenz dieser Population nach Europa und Amerika, ist es von großer Bedeutung, die Epidemie an ihrem primären Entstehungsort zu behandeln.

Im Vergleich mit der Situation in Deutschland konnte festgestellt werden, dass die hohe Detektion an neudiagnostizierten Personen aus SSA im Jahr 2015 keinen Einfluss auf die Resistenzprävalenz in Deutschland hatte, welche im vergangenen Jahrzehnt konstant geblieben ist und zudem höhere Prävalenz sowohl für die Gesamtzahl an TDRs, als auch für jede einzelne Wirkstoffklasse, aufweist.

8. Literaturverzeichnis

- Alberer, Martin, Svea Malinowski, Linda Sanftenberg, and Jörg Schelling. 2018. "Notifiable Infectious Diseases in Refugees and Asylum Seekers: Experience from a Major Reception Center in Munich, Germany." *Infection*.
- Ambrose, Zandrea, and Christopher Aiken. 2014. "HIV-1 Uncoating: Connection to Nuclear Entry and Regulation by Host Proteins." *Virology*.
- Aoki, Manabu et al. 2018. "Mechanism of Darunavir (DRV)'s High Genetic Barrier to HIV-1 Resistance: A Key V32I Substitution in Protease Rarely Occurs, but Once It Occurs, It Predisposes HIV-1 To Develop DRV Resistance." *mBio*.
- Baeten, Jared M. et al. 2012. "Antiretroviral Prophylaxis for HIV Prevention in Heterosexual Men and Women." *New England Journal of Medicine*.
- Barre-Sinoussi, F. et al. 1983. "Isolation of a T-Lymphotropic Retrovirus from a Patient at Risk for Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS)." *Science*.
- Bennett, Diane E. et al. 2009. "Drug Resistance Mutations for Surveillance of Transmitted HIV-1 Drug-Resistance: 2009 Update." *PLoS ONE*.
- Berg, Rigmor C, Michael W Ross, and Ronny Tikkanen. 2011. "The Effectiveness of MI4MSM: How Useful Is Motivational Interviewing as an HIV Risk Prevention Program for Men Who Have Sex with Men? A Systematic Review." *AIDS education and prevention : official publication of the International Society for AIDS Education*.
- Brooks, KM et al. 2019. „Integrase Inhibitors: After 10 Years of Experience, Is the Best Yet to Come?“ *Pharmacotherapy*
- Burrell, Earl et al. 2010. "Sexual Risk Behaviours and HIV-1 Prevalence among Urban Men Who Have Sex with Men in Cape Town, South Africa." *Sexual Health*.
- Carr, Jean K. et al. 1998. "Full Genome Sequences of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Subtypes G and A/G Intersubtype Recombinants." *Virology*.
- Cheng, Shuihong et al. 2016. "Enfuvirtideg'PEG Conjugate: A Potent HIV Fusion Inhibitor with Improved Pharmacokinetic Properties." *European Journal of Medicinal Chemistry*.
- Chesney, M A, Antoni, M H. 2002. „Innovative approaches to health psychology: Prevention and treatment lessons from AIDS.“ Washington, DC: American Psychological Association.
- Church, Joseph A. 2009. "Maraviroc for Previously Treated Patients With R5 HIV-1 Infection." *Pediatrics*.
- Clavel, François et al. 1986. "Isolation of a New Human Retrovirus from West African Patients with AIDS." *Science*.

De Cock, Kevin M. et al. 2000. "Prevention of Mother-to-Child HIV Transmission in Resource-Poor Countries: Translating Research into Policy and Practice." *Journal of the American Medical Association*.

Cohen, J. 2000. "Searching for the Epidemic's Origins." *Science*.

Craigie, Robert, and Frederic D. Bushman. 2012. "HIV DNA Integration." *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*.

Dierynck, Inge et al. 2011. "TMC310911, a Novel Human Immunodeficiency Virus Type 1 Protease Inhibitor, Shows in Vitro an Improved Resistance Profile and Higher Genetic Barrier to Resistance Compared with Current Protease Inhibitors." *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*.

Dow, Dorothy E., and John A. Bartlett. 2014. "Dolutegravir, the Second-Generation of Integrase Strand Transfer Inhibitors (INSTIs) for the Treatment of HIV." *Infectious Diseases and Therapy*.

Dubois, Noé, Roland Marquet, Jean Christophe Paillart, and Serena Bernacchi. 2018. "Retroviral RNA Dimerization: From Structure to Functions." *Frontiers in Microbiology*.

Eshun-Wilson, I et al. 2018. "Antidepressants for Depression in Adults with HIV Infection." *Cochrane Database of Systematic Reviews*.

Fay, Heather et al. 2011. "Stigma, Health Care Access, and HIV Knowledge among Men Who Have Sex with Men in Malawi, Namibia, and Botswana." *AIDS and Behavior*.

Fischl, Margaret A. et al. 1987. "The Efficacy of Azidothymidine (AZT) in the Treatment of Patients with AIDS and AIDS-Related Complex." *New England Journal of Medicine*.

Fonner, Virginia A et al. 2016. "Effectiveness and Safety of Oral HIV Preexposure Prophylaxis for All Populations." *AIDS (London, England)*.

Ford, Nathan et al. 2018. "Managing Advanced HIV Disease in a Public Health Approach." *Clinical Infectious Diseases*.

Gao F et al. 1994. "Genetic Diversity of Human Immunodeficiency Virus Type 2: Evidence for Distinct Sequence Subtypes with Differences in Virus Biology." *J Virol*.

Gao, F et al. 1996. "The Heterosexual Human Immunodeficiency Virus Type 1 Epidemic in Thailand Is Caused by an Intersubtype (A/E) Recombinant of African Origin." *J Virol*.

Gelderblom, H. R., M. Özel, and G. Pauli. 1989. "Morphogenesis and Morphology of HIV Structure-Function Relations." *Archives of Virology*.

Ghosh, Arun K., Heather L. Osswald, and Gary Prato. 2016. "Recent Progress in the Development of HIV-1 Protease Inhibitors for the Treatment of HIV/AIDS." *Journal of Medicinal Chemistry*.

Giannini, Alessia et al. 2018. "The HIV-1 Reverse Transcriptase E138A Natural Polymorphism Decreases the Genetic Barrier to Resistance to Etravirine in Vitro." *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*.

- Gottlieb, Michael S. et al. 1981. "Pneumocystis Carinii Pneumonia and Mucosal Candidiasis in Previously Healthy Homosexual Men." *New England Journal of Medicine*.
- Grant, R M et al. 2010. "Preexposure Chemoprophylaxis for HIV Prevention in Men Who Have Sex with Men." *N Engl J Med*.
- Grant, R M et al. 2016. "Benefits of Pre-Exposure Prophylaxis Relative to Drug Resistance Risk." *Journal of the International AIDS Society*.
- Gulick, R M. 2018. "Investigational Antiretroviral Drugs: What Is Coming down the Pipeline." *Topics in Antiviral Medicine*.
- Gupta, Ravindra K. et al. 2017. "HIV-1 Drug Resistance before Initiation or Re-Initiation of First-Line Antiretroviral Therapy in Low-Income and Middle-Income Countries: A Systematic Review and Meta-Regression Analysis." *The Lancet Infectious Diseases*.
- Haase, A. T. 1999. "POPULATION BIOLOGY OF HIV-1 INFECTION: Viral and CD4 + T Cell Demographics and Dynamics in Lymphatic Tissues." *Annual Review of Immunology*.
- Hanke, Kirsten et al. 2019. „Reconstruction of the genetic history and the current spread of HIV-1 subtype A in Germany.“ *Journal of Virology*.
- Hauber, Ilona et al. 2013. "Highly Significant Antiviral Activity of HIV-1 LTR-Specific Tre-Recombinase in Humanized Mice." *PLoS Pathogens*.
- Hauser, Andrea et al. 2017. "National Molecular Surveillance of Recently Acquired HIV Infections in Germany, 2013 to 2014." *Eurosurveillance*.
- Hauser, Andrea et al. 2017. "National Molecular Surveillance of Recently Acquired HIV Infections in Germany, 2013 to 2014." *Eurosurveillance*.
- Hauser, Andrea et al. 2018. "Robust and Sensitive Subtype-Generic HIV-1 Pol Genotyping for Use with Dried Serum Spots in Epidemiological Studies." *Journal of Virological Methods*.
- Hazuda, Daria J. et al. 2000. "Inhibitors of Strand Transfer That Prevent Integration and Inhibit HIV-1 Replication in Cells." *Science*.
- Hemelaar, Joris. 2013. "Implications of HIV Diversity for the HIV-1 Pandemic." *Journal of Infection*.
- Hemelaar, Joris. 2018. "Global and regional molecular epidemiology of HIV-1, 1990-2015: a systematic review, global survey, and trend analysis." *The Lancet Infectious Diseases*.
- Hoesly, CJ et al. 2018. „Phase 1 Safety and Pharmacokinetics Study of MK-2048/Vicriviroc (MK-4176)/MK-2048A Intravaginal Rings.“ *Clinical Infectious Disease*.
- Ikeda, T et al. 2019. „Evolved Proteins Inhibit Entry of Enfuvirtide-Resistant HIV-1.“ *ACS Infectious Disease*.
- Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). 2016. *UNAIDS Global AIDS UP DATE 2016*.
- Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). 2014. *UNAIDS 90-90-90 An Ambitious Treatment Target to Help End the AIDS Epidemic*.

Karpinski, Janet et al. 2014. "Universal Tre (UTre) Recombinase Specifically Targets the Majority of HIV-1 Isolates." *Journal of the International AIDS Society*.

Kharsany, Ayesha B.M., and Quarraisha A. Karim. 2016. "HIV Infection and AIDS in Sub-Saharan Africa: Current Status, Challenges and Opportunities." *The Open AIDS Journal*.

Kouyos, Roger D. et al. 2015. "Increases in Condomless Sex in the Swiss HIV Cohort Study." *Open Forum Infectious Diseases*.

Lederman, M M et al. 1998. "Immunologic Responses Associated with 12 Weeks of Combination Antiretroviral Therapy Consisting of Zidovudine, Lamivudine, and Ritonavir: Results of AIDS Clinical Trials Group Protocol 315." *The Journal of infectious diseases*.

Leitner, Thomas et al. 2005. "HIV-1 Subtype and Circulating Recombinant Form (CRF) Reference Sequences, 2005." *HIV Seq Comp*.

Letvin, Norman L., and Bruce D. Walker. 2003. "Immunopathogenesis and Immunotherapy in AIDS Virus Infections." *Nature Medicine*.

Liu, AY et al. 2018. „Phase 1 Pharmacokinetic Trial of 2 Intravaginal Rings Containing Different Dose Strengths of Vicriviroc (MK-4176) and MK-2048.“ *Clinical Infectious Disease*.

Maartens, Gary et al. 2018. "National Molecular Surveillance of Recently Acquired HIV Infections in Germany, 2013 to 2014." *Science*.

Maartens, Gary, Connie Celum, and Sharon R. Lewin. 2014. "HIV Infection: Epidemiology, Pathogenesis, Treatment, and Prevention." In *The Lancet*,.

Machnowska, Patrycja et al. 2019. „Prevalence and persistence of transmitted drug resistance mutations in the German HIV-1 Seroconverter Study Cohort.“ *Plos One*.

Mamede, João I., Gianguido C. Cianci, Meegan R. Anderson, and Thomas J. Hope. 2017. "Early Cytoplasmic Uncoating Is Associated with Infectivity of HIV-1." *Proceedings of the National Academy of Sciences*.

Markham, Anthony. 2018. "Bictegravir: First Global Approval." *Drugs*.

Mellors, John W. et al. 1996. "Prognosis in HIV-1 Infection Predicted by the Quantity of Virus in Plasma." *Science*.

Midde, Narasimha M. et al. 2016. "Investigational Protease Inhibitors as Antiretroviral Therapies." *Expert Opinion on Investigational Drugs*.

Nachega, J.B. et al. 2017. "Safety of Tenofovir Disoproxil Fumarate-Based Antiretroviral Therapy Regimens in Pregnancy for HIV-Infected Women and Their Infants: A Systematic Review and Meta-Analysis." *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*.

Palella, F J et al. 1998. "Declining Morbidity and Mortality among Patients with Advanced Human Immunodeficiency Virus Infection. HIV Outpatient Study Investigators." *The New England journal of medicine*.

Pau, Alice K., and Jomy M. George. 2014. "Antiretroviral Therapy: Current Drugs." *Infectious Disease Clinics of North America*.

Peeters, Martine, Matthieu Jung, and Ahidjo Ayouba. 2013. "The Origin and Molecular Epidemiology of HIV." *Expert Review of Anti-Infective Therapy*.

Phillips, Andrew N. et al. 2018. "Cost-Effectiveness of Public-Health Policy Options in the Presence of Pretreatment NNRTI Drug Resistance in Sub-Saharan Africa: A Modelling Study." *The Lancet HIV*.

Piguet, Vincent, Olivier Schwartz, Sylvie Le Gall, and Didier Trono. 1999. "The Downregulation of CD4 and MHC-I by Primate Lentiviruses: A Paradigm for the Modulation of Cell Surface Receptors." *Immunological Reviews*.

Poongavanam, Vasanthanathan et al. 2018. "Structure-Guided Approach Identifies a Novel Class of HIV-1 Ribonuclease H Inhibitors: Binding Mode Insights through Magnesium Complexation and Site-Directed Mutagenesis Studies." *MedChemComm*.

Rawson, Jonathan M.O., Sean R. Landman, Cavan S. Reilly, and Louis M. Mansky. 2015. "HIV-1 and HIV-2 Exhibit Similar Mutation Frequencies and Spectra in the Absence of G-to-A Hypermutation." *Retrovirology*.

Restar, Arjee J. et al. 2017. "Perspectives on HIV Pre-and Postexposure Prophylaxes (Prep and Pep) among Female and Male Sex Workers in Mombasa, Kenya: Implications for Integrating Biomedical Prevention into Sexual Health Services." *AIDS Education and Prevention*.

Rhee, Soo Yon et al. 2015. "Geographic and Temporal Trends in the Molecular Epidemiology and Genetic Mechanisms of Transmitted HIV-1 Drug Resistance: An Individual-Patient- and Sequence-Level Meta-Analysis." *PLoS Medicine*.

Richman, Douglas D et al. 2014. "2014 Update of the Drug Resistance Mutations in HIV-1." *Topics in antiviral medicine*.

Rispel, Laetitia C., and Carol A. Metcalf. 2009. "Breaking the Silence: South African HIV Policies and the Needs of Men Who Have Sex with Men." *Reproductive Health Matters*.

Sauer A, Heckemeyer K. 2011. "Sexuelle Orientierung und Geschlechtsidentität in der internationalen Menschenrechts- und Entwicklungszusammenarbeit." (German). *Peripherie*.

Sharp, P. M., D. L. Robertson, and B. H. Hahn. 1995. "Cross-Species Transmission and Recombination of 'AIDS' Viruses." *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*.

Sharp, Paul M., and Beatrice H. Hahn. 2011. "Origins of HIV and the AIDS Pandemic." *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*.

Simon, Viviana, Nicolin Bloch, and Nathaniel R. Landau. 2015. "Intrinsic Host Restrictions to HIV-1 and Mechanisms of Viral Escape." *Nature Immunology*.

Sluis-Cremer, Nicolas et al. 2014. "E138A in HIV-1 Reverse Transcriptase Is More Common in Subtype C than B: Implications for Rilpivirine Use in Resource-Limited Settings." *Antiviral Research*.

Smith, Steven J., Xue Zhi Zhao, Terrence R. Burke, and Stephen H. Hughes. 2018. "Efficacies of Cabotegravir and Bicitegravir against Drug-Resistant HIV-1 Integrase Mutants." *Retrovirology*.

Soriano, V. et al. 1996. "Epidemiology of HIV-2 Infection in Spain." *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*.

Spagnuolo, Vincenzo, Antonella Castagna, and Adriano Lazzarin. 2018. "Bicitegravir." *Current Opinion in HIV and AIDS*.

Sultan, Binta, Paul Benn, and Laura Waters. 2014. "Current Perspectives in HIV Post-Exposure Prophylaxis." *HIV/AIDS - Research and Palliative Care*.

Temin, Howard M. 1993. "Retrovirus Variation and Reverse Transcription: Abnormal Strand Transfers Result in Retrovirus Genetic Variation." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*.

Thigpen, Michael C. et al. 2012. "Antiretroviral Preexposure Prophylaxis for Heterosexual HIV Transmission in Botswana." *New England Journal of Medicine*.

Tian, Lan et al. 2018. "Structure of HIV-1 Reverse Transcriptase Cleaving RNA in an RNA/DNA Hybrid." *Proceedings of the National Academy of Sciences*.

UNAIDS. 2017. *Journal of Occupational Rehabilitation Global AIDS Monitoring 2018*.

UNAIDS. 2018. "90-90-90: Treatment for All | UNAIDS." *MILES TO GO - UNAIDS DATA 2018*.

Valadas, Emília, Luís França, Sara Sousa, and Francisco Antunes. 2009. "20 Years of HIV-2 Infection in Portugal: Trends and Changes in Epidemiology." *Clinical Infectious Diseases*.

Vogt, VM. 1997. *Retroviruses Retroviral Virions and Genomes*.

Vu, Lung, Waimar Tun, Meredith Sheehy, and Dawie Nel. 2012. "Levels and Correlates of Internalized Homophobia among Men Who Have Sex with Men in Pretoria, South Africa." *AIDS and Behavior*.

de Waal, Reneé et al. 2018. "HIV Drug Resistance in Sub-Saharan Africa: Public Health Questions and the Potential Role of Real-World Data and Mathematical Modelling." *Journal of virus eradication*.

WHO. 2017a. *HIV Treatment and Care Fact Sheet Treat All: Policy Adoption and Implementation Status in Countries HIV Treatment and Care*.

WHO. 2017b. "WHO Implementation Tool for Pre-Exposure Prophylaxis (PrEP) of HIV Infection." *Hiv/Aids*.

WHO. 2017. „Treat all: policy adoption and implementation status in countries.“

WHO. 2017. „transition to new antiretrovirals in hiv programmes.“

WHO and UNAIDS. 2015. „WHO and UNAIDS Global Aids Response Progress Reporting 2015“.

Xu, Hong Tao et al. 2013. "Role of the K101E Substitution in HIV-1 Reverse Transcriptase in Resistance to Rilpivirine and Other Nonnucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors." *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*.

9. Eidesstattliche Erklärung

„Ich versichere hiermit an Eides Statt, dass ich die von mir eingereichte Arbeit selbständig verfasst und ausschließlich die angegebenen Hilfsmittel und Quellen verwendet habe“.

Berlin,

Carina Feldle

10. Danksagung

Ich möchte mich herzlich bei meinen Betreuern, Dr. Andrea Hauser und Stefan Fiedler, für die tatkräftige Unterstützung und die Zeit, die sich beide jederzeit für meine Anliegen genommen haben, bedanken! Besonders danke ich Dr. Andrea Hauser für die Weiterführung meiner Betreuung nach Verlassen der Arbeitsgruppe. Auch Stefan Fiedler gebührt mein Dank, denn er hat die Betreuung übernommen und mich zeitintensiv während des Projektes betreut. Beide waren jederzeit für Fragen verfügbar und haben mir eine lehrreiche Erfahrung ermöglicht.

Zudem möchte ich mich bei Prof. Dr. Norbert Bannert bedanken, der die Durchführung des Projektes möglich gemacht hat.

Zusätzlich möchte ich mich bei Dr. Karolin Meixenberger bedanken, die mich als studentische Hilfskraft in die Arbeitsgruppe aufgenommen hat. Ein großes Dankeschön geht zudem an die Arbeitsgruppe des FG 18, die mich herzlich integriert hat und mich jederzeit bei Fragen unterstützte.

11. Anhang

Einen Überblick über die Entwicklung der antiretroviralen Therapie von 1987-2014 ist in Tabelle 22 gegeben:

Tabelle 22: Überblick der globalen Entwicklung der ART von 1987 bis 2014 und den zugelassenen Medikamenten. Quelle: (Pau et al., 2014)

Jahr	Entwicklung
1987- 1993:	Monotherapie mit NRTI: Verbesserte Überlebensrate, langsamere Krankheitsentwicklung, aber keine Verbesserung der CD4-Abnahme Medikamente: Zidovudine oder Didanosine
1993-1996:	Duale NRTI: Bessere Virussuppression, langsamere Krankheitsentwicklung
1996:	PI + 2 NRTIs Verbesserung der CD4-Zellanzahl und damit verbundenen Überlebensrate Medikament: Nevirapin
1998:	NNRTI + 2NRTI: NNRTI Efavirenz (NNRTI), neues HAART 3 NRTI: Weniger PI-toxisch, aber auch weniger wirksam als PI oder NNRTIs Medikament: Efavirenz
Um 2000:	Einsatz eines Verstärkers anstatt einer aktiven PI, um Bioverfügbarkeit anderer PIs zu erhöhen, weniger Tabletteneinnahme Medikament: Ritonavir
2003:	Fusionshemmer führt zur Reduzierung der Virus-RNA, aber Injektion erforderlich Medikament: Enfuvirtide
2003-2008:	Erhöhung der multiplen Resistenz führte zur Entwicklung neuer Medikamente Medikamente: Tenofovir, Tipranavir, Darunavir, and Etravirine
2006:	Kombination mehrere Medikamente in einer Pille Medikament: Atripla
2007:	Entwicklung von CCR5-Antagonisten und Integrase-Inhibitoren (integrase strand transfer inhibitor (INSTI)): Reduzierung der Virus-RNA Medikament: Maraviroc (CCR5-Antagonist) Raltegravir (INSTI)

2011:	Vielzahl an Studien für Preventionsmaßnahmen für nicht infizierte Patienten (Partner von Infizierten)
2012:	Einführung der PreP: Angewandte antiretrovirale Therapie für HIV-negative Menschen mit erhöhtem Infektionsrisiko
2014:	Medikamente: Tenofovir und Emtricitabine 28 Wirkstoffe mit 6 verschiedenen Wirkmechanismen

Pos	WT	Mut	HIVDB Score	SDRM	% in Naive Patients by Subtype										% in INI Treated Patients by Subtype										% Alone In Treated Pts	
					A	B	C	D	F	G	01	02	Other	Overall	A	B	C	D	F	G	01	02	Other	Overall		
51	H	Y	13		0.30	0	0	0	0	0	0.07	0	0	0.02	0	0.40	0	0	0	0	0	0	0	0	0.39	0.0
66	T	A	60	✓	0	0.02	0.17	0	0	0	0	0	0	0.04	0	0.60	0	0	0	0	0	0	0	0	0.58	50.0
66	T	I	60		0	0.04	0	0	0	0	0.07	0	0	0.03	66.67	1.00	0	0	0	0	0	0	0	0	1.16	38.5
66	T	K	60	✓	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.19	50.0
92	E	G	30		0	0.06	0.06	0	0	0	0	0	0	0.04	0	0.30	0	0	0	0	0	0	0	0	0.29	33.3
92	E	Q	60	✓	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6.28	0	25.00	0	0	0	0	0	0	0	6.26	42.2
92	E	V	60		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.10	0.0
95	Q	K	10		0	0.02	0.34	0	0	0	0.07	0.18	0	0.09	0	1.69	0	0	0	0	0	0	0	0	1.64	0.0
97	T	A	10		5.92	0.62	1.25	3.33	3.28	4.29	0.80	3.67	0.83	1.45	0	12.68	25.00	0	8.33	0	33.33	25.00	0	12.62	8.7	
118	G	R	30		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
121	F	Y	60	✓	0	0.02	0	0	0	0	0	0	0	0.01	0	0.40	0	0	0	0	0	0	0	0	0.39	66.7
138	E	A	15		0	0	0.06	0	0	0	0	0	0	0.01	0	2.90	0	0	0	0	0	0	0	0	2.80	6.5
138	E	K	15		0.30	0.25	0.11	0	0	0	0.07	0	0	0.17	0	5.69	0	12.50	0	0	0	0	0	0	5.60	1.8
138	E	T	15		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.48	0.0
140	G	A	30	✓	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.99	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.93	0.0
140	G	C	30	✓	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.70	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.67	0.0
140	G	S	30	✓	0	0.04	0	0	0	0	0	0	0	0.02	0	25.72	0	0	16.67	0	0	0	0	0	25.05	0.8
143	Y	A	60		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.10	0.0
143	Y	C	60	✓	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3.84	25.00	0	8.33	0	0	0	0	0	0	3.90	50.0
143	Y	G	60		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.39	0
143	Y	H	60	✓	0	0	0.34	0	0	0	0	0	0	0.06	0	1.31	25.00	0	0	0	0	0	0	0	1.37	6.9
143	Y	K	60		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.20	0
143	Y	R	60	✓	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6.57	0	0	8.33	100.00	33.33	25.00	0	0	6.73	73.5	
143	Y	S	60		0	0.02	0	0	0	0	0	0	0	0.01	0	0.71	0	0	0	0	0	0	0	0	0.68	71.4
143	P	S	60		0	0	0.06	0.67	0	0	0	0	0	0.02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
146	Q	P	60		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
147	S	G	60	✓	0	0.02	0.06	0	0	0	0.13	0	0	0.04	0	1.60	0	0	0	0	0	0	0	0	1.54	18.8
148	Q	H	60	✓	0	0	0	0	0	0.71	0	0	0	0.01	0	22.68	0	0	16.67	0	0	0	0	0	22.10	0.9
148	Q	K	60	✓	0	0	0	0	0	0	0	0.18	0	0.01	0	0.90	0	0	0	0	0	0	0	0	0.87	0.0
148	Q	N	15		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.19	0.0
148	Q	R	60	✓	0	0.04	0	0	0	0	0	0	0	0.02	0	8.39	0	12.50	0	0	0	0	0	0	8.20	21.3
151	V	A	30		0	0	0	0	0	0	0.07	0	0	0.01	0	0.10	0	0	0	0	0	0	0	0	0.10	0.0
151	V	L	60		0	0.02	0	0	0	0	0	0.18	0	0.02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
153	S	F	15		0	0.04	0	0	0	0	0	0	0	0.02	0	0.20	0	0	0	0	0	0	0	0	0.19	0.0
153	S	Y	15		0	0	0	0	0.44	0	0	0	0	0.01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
155	N	H	60	✓	0	0.04	0	0	0	0	0	0	0	0.02	33.33	30.81	75.00	37.50	25.00	100.00	0	50.00	0	31.02	74.8	
155	N	S	30	✓	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
155	N	T	30		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
157	E	Q	10		2.07	2.58	0.62	3.33	0.44	1.43	1.26	8.33	1.24	2.29	0	7.68	0	0	0	0	0	0	0	0	7.43	10.4
163	G	K	10		0.30	0.08	0.06	0	6.14	0.71	0.07	0.18	0	0.23	0	2.40	0	0	9.09	0	0	0	0	0	2.42	3.8
163	G	R	10		0.59	0.23	0.34	0.67	7.46	0	0.07	0	0.41	0.40	0	6.79	30.00	12.50	9.09	0	33.33	0	0	7.05	2.7	
230	S	R	15		0	0.04	0.06	0	0	0	0	0	0	0.03	0	3.50	25.00	0	8.33	0	0	25.00	0	3.67	0.0	
263	R	K	30		0.30	0.14	0.06	0	0	0	0	0.18	0	0.10	0	0.50	0	0	0	0	0	33.33	0	0	0.58	60.0

Abbildung 38: SDRM-Liste der INSTIs aus der Stanford HIV Drug Resistance Database

Pos	WT	Mut	HIVDB Score	SDRM	% In Nrtv Patients by Subtype											% In PI Treated Patients by Subtype											% Alone In Treated Pts
					A 3469	B 33313	C 116115	D 2212	F 1332	G 1883	01 8324	02 4723	Other 1713	Overall 73786	A 363	B 14824	C 2083	D 322	F 2333	G 340	01 182	02 233	Other 334	Overall 21592			
10	L	F	15		0.13	0.27	0.07	0.28	0	0.08	0.14	0.18	0.12	0.20	7.38	11.08	7.47	8.22	0.47	0	15.09	4.82	2.75	2.93	1.7		
20	K	T	15		0.11	0.10	0.04	0.18	0.08	0	0.09	0.09	0.12	0.09	8.35	4.95	8.25	12.12	11.39	5.01	7.29	0.40	8.08	8.01	6.3		
23	L	I	15	✓	0.07	0.05	0.01	0.05	0	0	0.02	0	0.08	0.02	0.79	1.55	2.58	1.54	0.74	1.78	0	0.40	0.81	1.47	6.8		
24	L	F	10		0.07	0.05	0.05	0.09	0.08	0	0.01	0	0	0.04	0	0.78	0.10	0.77	0.20	0	0	0	1.92	0.82	0.0		
24	L	I	15	✓	0.02	0.01	0.01	0.05	0.13	0.05	0.01	0.02	0	0.01	2.37	8.27	2.25	8.31	8.82	5.24	1.98	0.40	10.05	3.77	1.0		
24	L	M	10		0	0.01	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0.17	0	0	0	0	0	0	0.50	0.15	0.0		
30	D	N	80	✓	0.02	0.05	0.05	0	0	0	0.01	0.02	0	0.02	0.35	8.58	2.97	7.28	5.55	0.88	0	0	5.54	5.89	20.0		
32	V	I	50	✓	0	0.01	0.01	0	0	0	0.01	0.02	0	0.01	1.85	8.33	0.50	5.84	2.03	0.88	1.94	0.30	1.92	4.90	2.1		
33	L	F	10		1.00	0.18	0.15	0.35	0	0.52	1.50	0.82	0.39	0.41	10.05	14.38	5.13	18.31	3.59	2.06	3.83	2.59	12.48	12.92	1.8		
45	K	T	10		0.04	0.12	0.03	0.05	0.50	0	0.02	0.15	0.12	0.10	2.94	8.20	2.82	8.32	5.01	2.08	1.04	2.33	11.43	5.85	1.8		
48	M	I	50	✓	0.22	0.50	0.23	0.14	0.25	0.05	0.45	0.25	0.12	0.28	18.95	23.48	10.18	17.38	11.75	18.91	18.13	18.50	22.58	21.89	5.0		
48	M	L	20	✓	0.27	0.57	0.18	0.18	0.13	0.57	0.71	0.11	0.25	0.34	5.39	10.04	1.97	10.77	6.49	5.85	2.80	3.31	11.70	3.94	5.3		
48	M	V	20		0.29	0.54	0.11	0	0	0	0.10	0.08	0	0.08	0	0.50	0.29	0	1.18	0.50	0.52	0.59	0.50	0.41	10.0		
47	I	A	80	✓	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.04	0.43	0.87	0.53	0.85	0.59	1.98	0.59	0.50	0.55	2.3		
47	I	V	55	✓	0.02	0.02	0.05	0	0	0.18	0.01	0.04	0	0.02	2.94	3.81	0.94	5.84	2.74	2.55	5.12	5.82	5.92	4.88	0.8		
48	0	A	80		0	0.00	0	0	0	0	0	0.02	0.08	0.00	0.28	0.48	0.19	0.57	0.51	0.39	0	0	0.91	0.44	0.0		
48	0	L	80		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.09	0	0	0	0	0	0	0	0	0.08	0.0		
48	0	M	80	✓	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.32	0.58	0	0.53	0.33	0.59	0	0.59	0.50	0.48	0.9		
48	0	Q	80		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.28	0.12	0	0.53	0.34	0.29	0.52	0	0	0.15	0.0		
48	0	S	80		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.10	0.05	0.19	0.12	0	0.32	0	0	0.10	0.0	0.0		
48	0	T	80		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.05	0	0	0.04	0	0.32	0.59	0	0.05	0.0	0.0		
48	0	V	80	✓	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.82	5.78	0.82	1.13	2.18	2.53	7.55	1.13	5.84	5.18	2.1		
50	I	L	80	✓	0	0.01	0.01	0	0	0	0.01	0	0	0.01	1.98	2.55	2.74	5.45	5.01	0	0.59	2.42	2.59	21.7			
50	I	V	80	✓	0	0.02	0.02	0.05	0	0	0.01	0.02	0	0.01	0.28	2.15	0.77	1.72	2.27	2.85	1.94	0	1.21	1.83	4.4		
55	F	L	15	✓	0.04	0.05	0.04	0.09	0.08	0.08	0.01	0	0	0.05	8.25	8.48	1.08	8.77	7.88	7.87	5.75	2.73	11.78	8.34	1.3		
54	I	A	20	✓	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.78	1.58	0.24	1.13	1.41	0.99	2.08	0	1.82	1.23	0.0		
54	I	L	80	✓	0.02	0.02	0.01	0	0	0	0.01	0.02	0	0.01	2.08	5.81	0.98	5.45	1.10	0.29	0	1.13	2.75	2.90	4.3		
54	I	M	80	✓	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.28	0.34	0.29	0.98	0.33	0	0.52	0.59	0.50	2.10	2.1		
54	I	S	20	✓	0	0	0	0	0.08	0	0	0	0	0	0.92	0.81	0	0.19	0.27	0	0	0	0.81	0.82	0.7		
54	I	T	20	✓	0.34	0.01	0.02	0	0	0	0	0.08	0.01	0.01	0.78	0.28	0.14	0	0.20	0.29	0	0	0.90	0.87	2.8		
54	I	V	20	✓	0.04	0.00	0	0	0	0	0	0	0	0.00	14.08	28.34	11.82	28.53	23.77	53.82	17.19	18.03	48.55	24.12	1.1		
58	Q	E	15		0.02	0.41	0.59	0.91	0.25	0.18	0.05	0.04	0.12	0.11	5.59	3.15	2.59	8.52	4.11	2.53	5.75	4.51	9.57	8.97	5.7		
73	0	A	15	✓	0	0	0	0	0	0	0	0.02	0	0.00	0	0.83	0.25	0.19	0.28	0	0	0.59	0	0.9	0.9		
73	0	C	15	✓	0	0.00	0	0	0.15	0	0	0	0	0.00	0.28	1.58	0.10	0.53	0.33	0	0	0	1.21	1.08	0.9		
73	0	D	10		0	0.01	0.01	0.09	0	0	0.01	0	0.08	0.01	0.28	0.15	0.05	0	0.04	0	0.52	0.59	0.50	0.15	5.1		
73	0	S	15	✓	0.02	0.02	0.04	0	0.15	0	0.05	0.11	0.12	0.04	1.82	10.05	1.40	8.53	2.88	0.29	0.52	1.57	7.23	7.78	2.1		
73	0	T	15	✓	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5.05	0.14	1.94	0.27	0	0	0	0.50	2.30	1.5			
73	0	V	10		0	0	0	0	0.08	0	0.01	0	0	0.00	0	0.15	0.05	0	0.08	0	0	0	0	0.10	0.0	0.0	
74	T	F	25		0	0.04	0.02	0.09	0.08	0	0.02	0.04	0	0.05	2.94	1.91	2.89	2.59	1.88	0.83	2.80	0.59	5.02	1.98	4.1		
78	L	V	80	✓	0	0.01	0	0.05	0	0	0	0	0	0.01	5.58	5.29	2.83	5.58	5.83	2.58	4.89	7.94	9.08	5.90	1.9		
82	V	A	30	✓	0	0.05	0.05	0.05	0.08	0	0.02	0	0.12	0.04	12.21	34.27	18.59	28.84	23.22	4.13	10.47	8.34	41.59	22.71	18.1		
82	V	C	50	✓	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.78	0.45	0	0.20	0	0	0	0.59	0.50	0.80	1.9	
82	V	F	50	✓	0	0.01	0	0	0	0	0.01	0	0	0.00	2.94	1.85	0.58	2.12	1.59	1.48	3.24	1.13	1.31	1.89	15.3		
82	V	L	45	✓	0	0.05	0.02	0.05	0.08	0	0.02	0	0	0.02	0	0.32	0.35	0.19	0.51	0	0	0	0.80	0.52	24.0		
82	V	M	30	✓	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.28	0.53	0.82	0.77	0.45	5.28	0.52	0.73	0.91	0.48	11.0		
82	V	S	50	✓	0	0.00	0	0	0	0	0.01	0	0	0.00	0	1.27	0.24	0.77	1.14	5.88	1.29	0.59	5.85	1.18	7.1		
82	V	T	45	✓	0	0.00	0	0.05	0	0	0	0	0	0.00	0.28	0.81	0.24	3.38	1.83	9.50	1.37	0.73	2.42	2.43	9.4		
85	N	D	25	✓	0.34	0.01	0.05	0	0	0	0.04	0.04	0	0.02	4.88	0.75	0.35	1.92	1.29	0	8.31	1.13	1.31	0.23	8.4		
84	I	A	80	✓	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.15	0	0	0	0	0	0	0.59	0	0.11	4.1	
84	I	C	80	✓	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.15	0.05	0	0.08	0	0	0.59	0	0.11	24.1		
84	I	V	80	✓	0	0.04	0.01	0	0	0	0.05	0.02	0	0.05	4.94	14.89	2.78	7.09	2.82	5.29	9.25	14.31	8.83	11.43	5.7		
88	N	D	80	✓	0.07	0.04	0.05	0.09	0	0.03	0.02	0.04	0	0.04	0.78	3.90	2.11	7.09	4.74	0.88	0	0.59	5.85	5.11	1.5		
88	N	B	50		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.78	0.14	0.10	0.53	0.20	0	0.52	0	0	0.18	2.9		
88	N	S	80	✓	0.02	0.05	0.02	0	0.15	0.18	0.01	0.04	0	0.05	2.80	1.85	1.20	1.13	2.03	1.47	4.71	2.73	1.81	1.89	38.8		
88	N	T	50		0.04	0.02	0.01	0	0	0	0	0.02	0.08	0.01	0	0.15	0.05	0	0.20	0	0	0	0	0	0.12	18.7	
89	L	V	10		0.02	0.01	0.08	0.14	0.08	0.11	0.04	0.04	0.12	0.08	4.94	5.98	1.53	4.22	1.32	11.87	11.11	12.09	5.94	5.71	5.1		
90	L	M	80	✓	0.07	0.48	0.19	0.32	0.13	0.42	0.08	0.19	0.23	0.31	3.35	22.28	10.04	23.87	17.83	50.97	15.09	11.42	32.53	27.34	18.8		

Abbildung 39: SDRM-Liste der NRTIs aus der Stanford HIV Drug Resistance Database

Pos	WT	Mut	HIVDB Score	SDRM	% in Naive Patients by Subtype													% in NNRTI±NRTI Treated Patients by Subtype													%Alone In Treated Pts
					A 4367	B 32249	C 10210	D 1893	F 993	G 1690	01 6379	02 3224	Other 2043	Overall 69065	A 836	B 11679	C 4350	D 474	F 279	G 963	01 1639	02 873	Other 1479	Overall 22295							
98	A	G	30		0.05	0.14	0.35	0	0.11	0.41	0.11	0.10	0.05	0.19	4.30	8.50	5.55	2.25	7.29	7.72	10.06	0.92	5.14	8.54	12.2						
100	L	I	80	✓	0.02	0.00	0.01	0.06	0	0	0	0	0	0.01	1.29	8.05	2.57	1.89	5.55	5.55	1.15	1.15	4.80	4.51	1.5						
100	L	V	30		0	0.06	0.05	0	0	0	0.01	0	0	0.04	0	0.12	0.09	0	0	0	0.05	0.11	0.07	0.09	11.1						
101	K	E	45	✓	0.11	0.35	0.19	0.55	0	0.59	0.08	0.09	0.15	0.19	8.55	8.70	8.55	7.32	7.19	7.05	14.95	8.57	5.10	7.95	5.9						
101	K	H	15		0	0.02	0	0	0	0	0	0	0	0.01	0.70	1.90	1.01	0.42	0.72	0.92	1.29	0.48	1.02	1.19	2.5						
101	K	P	80	✓	0	0.00	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.59	1.50	0.98	0.85	1.44	0.72	1.75	0.48	1.77	1.50	4.7						
105	K	H	80		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.25	0.18	0.02	0	0	0	0.05	0	0.07	0.10	0.0						
105	K	N	80	✓	0.82	1.85	0.75	1.09	1.61	0.78	0.50	0.75	1.15	28.03	37.11	42.48	27.91	55.89	41.48	27.06	54.43	31.30	59.53	57.0	57.0						
105	K	S	80	✓	0.02	0.05	0.05	0	0.10	0	0.01	0	0.05	0.04	0.94	1.51	2.57	0.21	0.72	0.51	0.21	1.28	1.70	1.97	4.6						
105	K	T	80		0.05	0.02	0.02	0	0	0	0	0.06	0	0.02	0	0.15	0.07	0.42	0	0.20	0.16	0	0.20	0.14	24.2						
106	V	A	80	✓	0.02	0.02	0	0	0	0	0.01	0.05	0	0.01	1.92	1.85	1.05	2.11	1.79	2.25	0.91	5.09	1.78	1.97	14.2						
106	V	M	80	✓	0	0.02	0.05	0	0	0	0.01	0	0	0.02	0.25	0.72	22.55	0.42	1.79	0.51	1.40	0.50	0.85	4.95	14.5						
106	V	I	15		0.88	0.52	0.21	0.45	0.52	0.25	0.28	0.21	0.41	0.44	5.02	9.17	5.04	5.55	15.87	5.20	12.21	9.97	7.44	5.72	4.4						
106	E	A	15		5.47	1.95	5.71	2.55	5.45	2.17	0.46	2.70	1.19	2.92	5.40	2.55	0.98	2.55	2.57	5.25	1.15	2.57	1.96	5.54	29.8						
106	E	G	15		0.28	0.28	0.25	0.55	1.51	0.18	0.23	0.15	0.21	0.23	0.70	0.85	0.20	0.34	1.06	0.51	1.02	0.48	0.21	0.72	16.4						
106	E	K	45		0.05	0.14	0.15	0.52	0	0.12	0.09	0.18	0.10	0.15	0.55	0.40	0.71	0	0.58	0.41	0.18	0.25	0.27	0.41	18.2						
106	E	Q	15		0.05	0.02	0.05	0.06	0	0.06	0	0	0.05	0.05	0.52	0.54	1.14	0.21	1.05	1.54	5.02	1.58	1.22	1.18	2.7						
106	E	R	15		0	0.01	0.01	0	0	0	0	0.05	0	0.01	0	0.01	0.09	0	0	0	0.05	0	0	0.05	0.0						
179	V	D	10		0.21	2.21	1.59	0.59	2.46	0.08	2.70	0.05	0.57	1.75	0.47	2.17	5.48	1.27	2.51	0	2.74	0	1.58	2.55	16.8						
179	V	E	10		0.05	0.32	0.20	0.45	0.22	4.25	1.05	0.75	1.05	0.75	0.47	0.35	0.59	0.21	0.58	3.95	1.34	5.99	1.09	1.50	14.8						
179	V	F	15	✓	0	0	0	0	0.11	0	0	0	0.05	0.00	0.12	0.41	0.02	0	0.56	0	0.11	0.12	0.27	0.25	0.0						
179	V	L	15		0.05	0	0	0	0	0	0.01	0.05	0	0.00	0.24	0.14	0.05	0	0.58	0.10	0.27	0.12	0.45	0.15	2.9						
181	Y	C	80	✓	0.11	0.11	0.21	0.15	0	0.11	0.20	0.09	0.10	0.14	15.49	19.40	14.30	20.50	25.88	22.20	57.25	21.72	15.97	20.21	28.8						
181	Y	F	80		0	0.02	0.05	0	0	0	0.01	0	0	0.02	0	0.09	0.02	0.21	0	0	0.05	0.11	0	0.06	7.7						
181	Y	G	80		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.12	0.05	0.02	0	0.56	0	0.11	0.11	0.07	0.05	0.0						
181	Y	I	80	✓	0.02	0	0.02	0	0	0	0	0	0	0.00	0.94	0.95	0.57	0.21	0.56	0.51	1.99	0.57	0.75	0.55	49.5						
181	Y	S	80		0	0.02	0.02	0	0.10	0	0	0	0.05	0.01	0	0.05	0.02	0	0	0	0	0	0	0	0.05	0.0					
181	Y	V	80	✓	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.71	0.41	0.59	0.55	0	0.20	1.99	0.92	1.02	0.61	55.1						
185	Y	C	80	✓	0	0.02	0.01	0	0	0	0	0.05	0.05	0.01	0.94	0.27	5.18	1.27	0.56	0.51	0.32	0.57	0.41	0.92	12.5						
185	Y	F	80		0.02	0.02	0	0	0	0	0.02	0	0	0.01	0	0.15	0.15	0	0	0.50	0.22	0.11	0.07	0.17	1.9						
185	Y	H	80	✓	0	0.04	0.01	0.12	0	0	0.01	0.05	0	0.05	0.34	0.51	0.25	0.21	0.72	0.50	1.18	0.89	0.27	0.51	8.8						
185	Y	L	80	✓	0.02	0.05	0.05	0	0	0.17	0.02	0	0	0.04	1.85	4.52	4.77	1.89	2.51	4.17	3.22	4.15	2.55	4.29	52.5						
190	G	A	80	✓	0.09	0.20	0.15	0.58	0	0.08	0.02	0.09	0	0.15	15.20	15.02	14.55	11.21	7.35	10.47	24.48	11.55	18.35	15.47	12.5						
190	G	C	80		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.15	0.09	0	0	0	0	0	0	0	0.09	26.1						
190	G	E	80	✓	0	0.02	0.05	0.08	0	0	0.09	0.05	0	0.05	0	0.52	0.27	0	0.58	0.10	0.18	0	0.82	0.55	67.9						
190	G	Q	80		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.58	0.30	0	0	0.10	0.22	0.11	0.41	0.35	70.7							
190	G	S	80	✓	0	0.02	0.01	0	0	0	0.01	0	0	0.01	7.19	5.02	1.05	1.05	1.45	1.92	2.43	2.90	4.54	2.87	28.2						
190	G	T	80		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.04	0.05	0	0	0	0	0	0	0	0	0.05	0.0					
190	G	V	80		0	0	0.01	0.06	0	0	0	0	0	0.00	0	0.05	0.09	0	0	0	0	0.11	0	0.05	0.0						
221	H	Y	15		0.15	0.06	0.04	0.20	0.11	0.08	0.08	0.10	0.10	0.07	5.79	8.17	7.00	4.21	3.88	9.87	15.84	9.12	7.06	7.28	1.9						
225	P	H	45	✓	0.02	0.01	0.01	0	0	0	0.02	0.10	0	0.02	2.15	5.18	7.75	5.58	5.99	8.55	5.92	5.92	2.99	4.55	1.3						
227	F	C	45		0	0.01	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0.05	0.07	0	0	0	0	0.12	0	0.04	12.5						
227	F	L	30		0.05	0.05	0.02	0.08	0.22	0	0.02	0.05	0.05	0.04	0.61	2.25	5.92	1.79	5.25	2.88	1.42	2.58	1.95	2.84	4.4						
230	M	I	30		0.07	0.05	0.02	0.08	0.11	0.12	0.04	0	0	0.05	0	0.12	0	0	0.57	0.41	0.11	0.12	0	0.10	78.2						
230	M	L	80	✓	0.02	0.02	0	0	0.11	0	0	0	0.05	0.02	1.22	0.27	5.48	2.02	1.10	1.54	1.27	2.98	0.61	1.78	5.2						
235	K	N	10		0	0.09	0.05	0.08	0.15	0	0	0.07	0	0.08	0.25	0.35	0.58	0	1.14	0.52	0.22	0.24	0.27	0.44	3.2						
235	K	T	30		0.10	0.05	0.04	0	0.15	0	0	0.07	0.05	0.05	2.88	2.07	1.97	1.57	5.04	2.99	2.05	2.98	2.12	2.15	5.0						
513	Y	F	30		0	0.08	0.17	0	0.25	0.59	0.07	0.43	0.29	0.15	0.77	1.35	1.55	0.54	1.77	0.75	2.22	1.02	1.21	1.51	4.0						
542	N	I	15		0.18	0.18	0.18	0	0	0	0.03	0.15	0	0.15	1.39	12.27	15.11	5.23	5.58	3.70	8.32	12.77	13.80	14.07	17.1						

Abbildung 40: SDRM-Liste der NNRTIs aus der Stanford HIV Drug Resistance Database

Pos	WT	Mut	HIVDB Score	SDRM	% In Native Patients by Subtype													% In NRTI±NNRTI Treated Patients by Subtype													% Alone in Treated Pts
					A 4367	B 32244	C 10210	D 1093	F 965	G 1090	H1 8375	H2 3224	Other 2043	Overall 63082	A 942	B 14886	C 4398	D 447	F 379	G 1114	H1 2161	H2 951	Other 1544	Overall 27610							
41	M	L	15	✓	0.12	0.32	0.11	0.72	0.20	0.51	0.08	0.32	0.43	0.38	7.78	40.04	9.17	16.35	28.25	20.40	13.97	12.28	33.18	32.05	2.2						
42	A	V	5		9.27	0.18	0.09	0	0	0.06	0.72	0.12	0.10	0.34	17.00	4.41	4.94	0.45	1.58	1.33	4.87	2.31	2.91	4.57	7.3						
43	K	E	10		0.02	0.02	0.02	0	0.10	0.06	0.05	0.05	0.10	0.02	0	0.18	0.15	0	0	0	0	0	0.15	0.15	21.2						
44	K	N	50		0.05	0.05	0.01	0	0	0.08	0.01	0	0	0.02	0.11	0.07	0.07	0	0	0	0.74	0.21	0.15	0.15	18.2						
45	K	R	80	✓	0.07	0.02	0.07	0	0	0	0	0	0.10	0.05	6.16	3.82	3.09	3.58	1.85	6.32	3.23	3.57	1.49	4.34	23.7						
46	D	E	10	✓	0.02	0.01	0.02	0	0	0.06	0.01	0	0.05	0.01	0.11	0.87	0.15	0.87	0.28	0.29	0.79	0.85	0.32	0.32	1.4						
47	D	B	10	✓	0.05	0.05	0.10	0.08	0	0	0.02	0.05	0.05	0.04	1.58	2.70	1.48	2.21	1.85	2.88	2.55	2.10	1.23	2.51	4.4						
48	D	H	10		0	0.01	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.21	0.50	0.04	0	0	0	0.19	0	0.19	0.21	5.7						
49	D	N	15	✓	0.05	0.04	0.04	0.08	0	0	0.02	0.22	0.05	0.05	12.54	32.88	16.90	17.25	23.55	18.44	22.24	12.31	23.28	27.04	1.4						
50	D	S	10		0	0.00	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.35	0.25	0.15	0.22	0.79	0.18	0.14	0	0.08	0.32	5.8						
51	D	T	10		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.21	0.04	0	0	0	0.09	0.42	0.43	0.17	2.1						
52	D	S	50		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.14	0	0	0	0	0	0	0.15	0.09	0.0						
53	S	S	50		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.25	0	0	0.00	0.0						
54	T	D	50	✓	0	0.03	0.03	0	0	0	0	0	0	0.05	0.98	3.48	2.29	4.49	6.07	1.44	2.74	2.21	3.14	3.26	2.8						
55	T	B	10		0.02	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0	0.28	0.02	0	0.28	0.09	0.14	0	0.33	0.20	5.8						
56	T	S	50		0	0.00	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.21	0.09	0.32	0	0.28	0.38	0.23	0.35	0.15	0.21	1.8						
57	T	I	48	✓	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.11	1.54	0.51	0.43	1.06	0.09	0.23	0.21	1.04	0.21	2.9						
58	K	E	15	✓	0	0.02	0.01	0.12	0	0	0.02	0.09	0	0.02	0.35	0.48	1.07	0.22	0.28	2.27	0.57	0.35	0.15	0.28	5.1						
59	K	B	15		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.50	0.09	0	0	0.58	0.19	0.32	0.39	0.35	5.7						
60	K	N	15		0.02	0.03	0.04	0	0	0	0.01	0.05	0	0.05	0.35	0.25	0.11	0.43	0.28	0.18	0.80	0.21	0.33	0.28	5.9						
61	K	Q	15		0.05	0.02	0.05	0	0	0	0.02	0.05	0	0.02	0.11	0.25	0.50	0	0	0.45	0.14	0.11	0.07	0.25	5.2						
62	K	R	50	✓	0.02	0.09	0.02	0.12	0.20	0	0.02	0	0.05	0.08	12.45	30.84	11.92	15.85	19.79	13.03	19.17	15.38	19.28	19.08	11.9						
63	K	S	15		0	0	0.01	0	0	0	0	0	0	0.00	0.11	0.12	0	0.43	0.79	0	0.25	0	0.15	0.10	3.9						
64	K	T	15		0.05	0.05	0.02	0	0.10	0	0.07	0	0	0.05	0.11	0.54	0.22	0.43	0.28	0.54	0.51	0.35	0.20	0.35	3.7						
65	K	S	50		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.05	0.04	0	0	0	0.09	0	0	0.05	0.0						
66	L	I	80	✓	0.02	0.02	0.01	0	0	0	0.07	0	0	0.02	2.12	3.21	1.88	2.46	3.01	1.33	3.34	1.29	4.54	3.97	1.5						
67	L	V	80	✓	0.02	0.00	0.02	0	0	0.06	0	0	0	0.01	5.29	11.54	4.88	4.70	6.33	7.27	5.32	1.79	11.27	8.21	5.9						
68	Y	A	50	✓	0.02	0.01	0.05	0	0	0	0.01	0	0.05	0.02	0.21	0.88	0.28	0.22	0.28	0.58	0.48	0.42	0.15	0.10	4.2						
69	V	I	5		0.05	0.02	0.01	0.85	0	0.06	0.25	0.05	0	0.04	2.45	2.89	2.80	1.12	1.85	1.82	3.10	2.32	2.80	2.76	4.0						
70	V	M	50	✓	0	0.05	0	0	0	0.06	0.14	0	0	0.05	1.08	3.22	1.90	1.79	2.33	1.80	2.97	1.05	2.41	3.24	1.1						
71	V	S	50	✓	0	0	0	0	0	0	0	0	0.05	0.00	0.11	0.27	0.20	0	0.79	0	0.23	0	0.33	0.25	4.3						
72	V	T	80	✓	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.21	1.38	0.72	0.87	0.28	0.58	1.48	1.05	1.85	1.27	4.8						
73	F	L	10	✓	0.07	0.13	0.01	0	0.10	0	0.05	0.05	0.10	0.11	0.74	2.12	0.89	0.89	0.35	0.90	3.32	1.47	1.25	1.21	1.7						
74	Y	F	80	✓	0.02	0	0	0.06	0	0.06	0	0.06	0	0.01	2.02	2.35	2.88	1.12	0.79	1.97	2.38	1.79	2.91	2.34	1.1						
75	F	Y	10	✓	0	0	0.01	0	0	0	0.01	0.05	0	0.00	0.98	2.34	1.29	0.89	1.08	0.90	4.44	1.88	1.73	2.09	0.0						
76	Q	L	50		0	0.00	0	0.06	0	0	0	0	0.05	0.00	0	0.09	0.11	0	0	0	0.19	0.11	0.08	0.09	4.7						
77	Q	M	80	✓	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.07	2.80	1.98	0.89	0.35	1.35	6.43	2.32	2.88	2.73	3.8						
78	M	I	80	✓	0.02	0.04	0.05	0.08	0.20	0	0.02	0	0.05	0.04	1.80	1.84	2.17	1.33	2.24	1.35	5.02	2.44	0.78	1.94	28.5						
79	M	V	80	✓	0.21	0.23	0.09	0.24	0.10	0.28	0.12	0.09	0.23	0.21	54.83	47.35	64.13	30.58	42.38	39.14	85.28	59.11	49.33	32.38	38.5						
80	L	W	15	✓	0.02	0.07	0.06	0	0.10	0	0.11	0.05	0	0.06	4.17	27.46	5.28	11.08	11.14	5.35	11.28	3.30	9.99	13.08	1.7						
81	T	A	20		0.05	0.13	0.08	0.08	0	0.11	0.02	0.09	0.15	0.10	0	0.22	0.07	0	0	0.13	0	0.11	0.28	0.18	44.5						
82	T	C	20	✓	0.02	0.18	0.02	0	0	0	0	0	0	0.08	0	1.08	0.15	1.21	1.55	0.84	0	0.22	0.79	0.75	12.4						
83	T	D	20	✓	0.05	0.42	0.01	0.12	0.10	0	0	0.05	0.05	0.22	0.11	0.95	0.04	0.34	0.27	0.57	0.25	0	0.79	0.80	44.1						
84	T	E	20	✓	0	0.20	0	0	0.24	0.11	0	0	0	0	0.10	0.11	0.21	0	0.48	0.21	0.09	0	0	0.07	0.15	57.3					
85	T	F	40	✓	0.02	0.01	0	0	0	0	0.01	0	0	0.01	6.91	10.73	5.24	6.78	13.85	7.08	13.29	3.11	10.28	9.25	8.7						
86	T	I	20	✓	0.12	0.05	0.05	0.08	0	0	0	0	0	0.05	2.45	1.98	1.15	0.48	0.21	0.85	1.84	0.97	1.58	1.29	5.5						
87	T	L	20		0.02	0.10	0	0	0	0	0	0	0	0.05	0.11	0.18	0.02	0.24	0	0.09	0	0	0.20	0.12	40.3						
88	T	N	20		0.02	0.05	0	0	0	0	0	0	0	0	0.02	0.22	0.22	0.24	0.24	0	0.09	0.33	0.11	0	0.21	2.8					
89	T	S	50	✓	0.07	0.30	0.05	0.18	0.31	0.08	0.14	0.09	0.15	0.30	0.33	1.19	0.51	1.43	0.27	0.48	0.38	1.08	0.38	0.90	12.1						
90	T	V	20	✓	0	0.01	0	0	0	0.08	0	0	0	0	0.01	0.45	0.85	0.27	0	0.24	0.13	0.19	0.22	0.88	0.80	4.2					
91	T	Y	40	✓	0.02	0.02	0.05	0	0	0	0	0	0	0.02	7.38	39.84	9.14	13.70	25.45	17.43	14.33	13.29	28.05	28.85	21.0						
92	K	E	10	✓	0	0.03	0.01	0	0	0.08	0.01	0	0.03	0.02	5.89	8.12	4.50	5.13	6.91	7.82	8.12	4.97	3.79	3.30	1.3						
93	K	N	10	✓	0.02	0.02	0.02	0.08	0	0.11	0.07	0.09	0.05	0.05	0.44	4.47	0.94	1.20	1.80	1.81	1.73	1.18	1.94	5.01	5.5						
94	K	Q	10	✓	0.18	0.09	0	0.12	0	0.06	0.12	0.18	0.05	0.08	3.70	13.30	3.44	7.71	11.97	7.71	12.11	3.82	10.49	10.25	2.2						
95	K	R	10	✓	0.18	0.03	0.05	0	0	0.08	0.04	0.08	0	0.07	0.77	5.84	1.10	0.43	2.13	1.13	2.32	0.74	1.78	2.94	2.5						
96	K	W	10		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.22	0.33	0	1.80	0	0.14	0	0.07	0.23	0.0							

Abbildung 41: SDRM-Liste der PIs aus der Stanford HIV Drug Resistance Database

THE WORLD HEALTH ORGANIZATION 2009 LIST OF MUTATIONS

For Surveillance of Transmitted Drug Resistant HIV Strains

NRTI		NNRTI		PI	
M41	L	L100	I	L23	I
K65	R	K101	E, P	L24	I
D67	N, G, E	K103	N, S	D30	N
T69	D, In s	V106	M, A	V32	I
K70	R, E	V179	F	M46	I, L
L74	V, I	Y181	C, I, V	I47	V, A
V75	M, T, A, S	Y188	L, H, C	G48	V, M
F77	L	G190	A, S, E	I50	V, L
Y115	F	F225	H	F53	L, Y
F116	Y	M230	L	I54	V, L, M, A, T, S
Q151	M			G73	S, T, C, A
M184	V, I			L76	V
L210	W			V82	A, T, F, S, C, M, L
T215	Y, F, I, S, C, D, V, E			N83	D
K219	Q, E, N, R			I84	V, A, C
				I85	V
				N88	D, S
				L90	M

Abbildung 42: Mutationslisten der NNRTIs, NRTIs und PIs aus der Stanford HIV Drug Resistance Database

Tabelle 23: Herkunftsregionen bezüglich der SDRML in der analysierten Population aus 2015. Anteile der verschiedenen SDRML der Wirkstoffklassen der sequenzierten Neudiagnosen mit Herkunftsland SSA, die 2015 in Deutschland registriert wurden.

Herkunftsland	Westafrika		Zentralafrika		Ostafrika		Südafrika	
	n	%	n	%	n	%	n	%
SDRML	9	8,7	3	15,0	8	10,4	1	14,3
NNRTI	3	2,9	2	10,0	6	7,8	0	0,0
NRTI	4	3,9	1	5,0	2	2,6	1	14,3
PI	2	1,9	0	0,0	0	0,0	0	0,0

Tabelle 24: Herkunftsregionen bezüglich der SDRML in der analysierten Population aus 2017. Anteile der verschiedenen SDRML der Wirkstoffklassen der sequenzierten Neudiagnosen mit Herkunftsland SSA, die 2017 in Deutschland registriert wurden.

Herkunftsland	Westafrika		Zentralafrika		Ostafrika		Südafrika	
	n	%	n	%	n	%	n	%
SDRML	18	18,6	5	21,7	3	13,0	1	11,1
NNRTI	7	7,2	2	8,7	3	13,0	1	11,1
NRTI	4	4,1	1	4,3	1	4,3	0	0,0
PI	1	1,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0