

Klinik für Tropenmedizin – Klinikum Würzburg Mitte
Akademisches Lehrkrankenhaus der Universität Würzburg
Chefarzt: Professor Dr. med. August Stich

**Pooling nach der Matrix-Methode zur Kostenreduktion von
HIV-1 RNA Viruslasttestung in ressourcenarmen Ländern
am Beispiel von Südafrika**

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
vorgelegt von
Susanne Paulmann
aus Bad Kissingen

Würzburg, 2019

Referent:	Professor Dr. med. August Stich
Koreferent:	Professor Dr. med. Lars Dölken
Dekan:	Professor Dr. med. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 17.09.2019

Die Promovendin ist Ärztin.

Für meine Eltern –

Danke für eure vertrauensvolle und bedingungslose Unterstützung.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	1
1.1. Grundlagen der HIV-Infektion.....	2
1.1.1. Epidemiologie	2
1.1.2. Pathogenese.....	3
1.1.2.1. Genomaufbau und virale Proteine	4
1.1.2.2. Lebenszyklus des HI-Virus	7
1.1.2.3. Mögliche Übertragungswege	7
1.1.3. Klinik der HIV-Infektion	9
1.1.4. Diagnostik der HIV-Infektion	12
1.1.5. Therapie.....	13
1.1.5.1. Medikamentenklassen	14
1.1.5.2. Therapieindikation	16
1.1.5.3. Verlaufskontrolle	17
1.2. HIV in Südafrika	17
1.2.1. Südafrika und die Provinz Western Cape	17
1.2.2. HIV in Südafrika	18
1.2.3. HIV-Therapie in Südafrika.....	19
1.3. Pooling	21
1.4. Fragestellung der Arbeit.....	22
2. Material und Methoden.....	24
2.1. Studienaufbau und Studienteilnehmer	24
2.2. Durchführung der Studie	25
2.2.1. Prinzip des Poolings nach der Matrix-Methode.....	25
2.2.1.1. Prinzip des Poolings	25

2.2.1.2. Die Matrix-Methode	26
2.2.2. Viruslastmessung.....	29
2.2.3. Statistische Untersuchungen	30
2.2.3.1. Statistische Voruntersuchung	30
2.2.3.2. Retrospektive, deskriptive Analyse	31
2.2.4. HIV-1 Viruslasttestung mit Pooling nach der Matrix-Methode.....	35
3. Ergebnisse	37
3.1. Statische Untersuchung	37
3.1.1. Statistische Voruntersuchung	37
3.1.2. Retrospektive, deskriptive Analyse	39
3.1.2.1. Therapieversagerquote abhängig von Alter oder Geschlecht....	40
3.1.2.2. Therapieversagerquote abhängig von Medikationsdauer	42
3.1.2.3. Therapieversagerquote abhängig von der Medikationsart.....	42
3.1.2.4. Therapieversagerquote abhängig von klinischen Informationen	45
3.1.2.5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Anwendung der Selektionskriterien	47
3.2. Pooling nach der Matrixmethode.....	49
3.2.1. Überblick über die Studienpopulation	49
3.2.2. Durchführung des Poolings nach der Matrix-Methode.....	52
4. Diskussion	57
4.1. Reflektion der Methoden	57
4.1.1 Statistische Untersuchung	57
4.1.1.1. Statistische Voruntersuchungen	57
4.1.1.2. Retrospektive, deskriptive Analyse	58
4.1.2. Pooling nach der Matrix-Methode	59
4.2. Reflektion der Ergebnisse	61

4.2.1.1. Statistische Voruntersuchung	61
4.2.1.2. Retrospektive, deskriptive Untersuchung	62
4.2.2. Pooling nach der Matrix-Methode	63
4.3. Vergleich von Pooling nach der Matrix-Methode mit Pooling nach der Minipool-Methode.....	65
4.4. Ausblick auf weitere Einsatzmöglichkeiten von Pooling	68
4.5. Schlussfolgerung.....	70
5. Zusammenfassung	71
6. Literaturverzeichnis	72
7. Abbildungsverzeichnis.....	77
8. Tabellenverzeichnis.....	78
9. Anhang	79
Anhang 1: Klinische WHO-Stadien der HIV-Infektion bei Erwachsenen	79
Anhang 2: Liste der Kliniken und Krankenhäuser	81
Anhang 3: Beispiele für ausgefüllte Testanforderungsfomulare	89
Anhang 4: Ergebnisse der Matrix-Dekonvolution	95

Abkürzungsverzeichnis

µl	Mikroliter
3TC	Lamivudin (NRTI)
ABC	Abacavir (NRTI)
AIDS	erworbenes Immundefektsyndrom (englisch: <i><u>A</u>cquired <u>I</u>mmune <u>D</u>eficiency <u>S</u>ndrome</i>)
ART	Antiretrovirale Therapie (englisch: <i><u>a</u>ntiretroviral <u>t</u>reatment</i>)
AZT	Azidothymidin, Zidovudin (NRTI)
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CARV	Patient erhält antiretrovirale Medikamente (englisch: <i><u>c</u>urrently on the <u>a</u>ntiretroviral<u>s</u> marked alongside</i>)
CCR5	C-C-Motiv-Chemokin-Rezeptor 5
CD4	Oberflächenmolekül, v.a. auf Leukozyten, dendritischen Zellen und Makrophagen zu finden (englisch: <i><u>C</u>luster of <u>D</u>ifferentiation</i>)
CDC	US-amerikanische Zentren für Krankheitskontrolle und Prävention (englisch: <i><u>C</u>enters for <u>D</u>isease Control and <u>P</u>revention</i>)
cps/ml	Kopien pro Milliliter (englisch: <i>copies per milliliter</i>)
CXCR4	CXC-Motiv-Chemokinrezeptor 4
d4T	Stavudin (NRTI)
DBS	getrocknete Blutstropfen (englisch: <i><u>d</u>ried <u>b</u>lood <u>s</u>pot<u>s</u></i>)
ddi	Didanosin (NRTI)
DFG	Deutsche Forschungsgemeinschaft
DNA	Desoxyribonukleinsäure (englisch: <i><u>D</u>esoxyribo<u>n</u>ucleic <u>A</u>cid</i>)
DPS	getrocknete Plasmatropfen (englisch: <i><u>d</u>ried <u>p</u>lasma <u>s</u>pot<u>s</u></i>)
DTG	Dolutegravir (Integrase-Inhibitor)
EFV	Efavirenz (NNRTI)
ELISA	Antikörpersuchtest (englisch: <i><u>E</u>nzyme-<u>l</u>inked <u>I</u>mmunosorbent <u>A</u>ssay</i>)
env	Virales Hüll-Glykoprotein (englisch: <i><u>e</u>nvelope <u>g</u>lycoprotein</i>)
FTC	Emtricitabin
gag	Gruppenspezifisches Antigen (englisch: <i>group specific <u>a</u>ntigen</i>)

gp	Glykoprotein
HAART	hochaktive antiretrovirale Therapie (englisch: <i>Highly Active Antiretroviral Treatment</i>)
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
IRTG	Internationales Graduiertenkolleg (englisch: <i>International Research Training Group</i>)
i.v.	Intravenös
KLT	Kaletra® (Kombination aus Lopinavir (PI) und Ritonavir (PI))
LDC	Entwicklungs- bzw. Schwellenland (englisch: <i>less developed country</i>)
LDL	nicht detektierbarer Wert bei der Viruslasttestung (englisch: <i>lower than detectable level</i>)
LPV	Lopinavir (PI)
LTR	Lange Sequenzwiederholungen (englisch: <i>Long Terminal Repeats</i>)
MEPAC	englisch: <i>Measurement Enhanced Pooling Assay Calculator</i> (http://mepac.ucsd.edu/)
min.	Minute(n)
ml	Milliliter
MSM	Männliche Homosexuelle (englisch: <i>men who have sex with men</i>)
NASBA	RNA-Amplifikationsverfahren (englisch: <i>nucleic acid sequence-based amplification</i>)
NNRTI	nicht-nukleosidischer Reverse-Transkriptase Inhibitor (englisch: <i>non-nucleoside reverse-transcriptase inhibitor</i>)
NPV	Negativer prädiktiver Wert (englisch: <i>negative predictive value</i>)
NRTI	nukleosidischer Reverse-Transkriptase Inhibitor (englisch: <i>nucleoside reverse-transcriptase inhibitor</i>)
NVP	Nevirapin (NNRTI)
PCR	Polymerasekettenreaktion (englisch: <i>Polymerase Chain Reaction</i>)

PHC	Ein niedrighschwelliges Angebot, das sich um die Individuen in den Vierteln bzw. Gemeinden kümmert (englisch: <i>Primary Health Care</i>)
PI	Protease-Inhibitor
PMTCT	Verhindern einer Übertragung des HI-Virus von der Mutter auf das Kind während Schwangerschaft, Geburt und Stillperiode (englisch: <i>Prevention of Mother-to-Child Transmission</i>)
pol	Polymerase
PrEP	Präexpositionsprophylaxe
RKI	Robert-Koch-Institut
RNA	Ribonukleinsäure (englisch: <i>Ribonucleic Acid</i>)
RPV	Rilpivirin (NNRTI)
RT-PCR	Echtzeit-PCR (englisch: <i>Real-time-PCR</i>)
RTV	Ritonavir (PI)
RVD +	Patient leidet an einer Erkrankung mit einem Retrovirus (englisch: <i>retroviral disease positive</i>)
sec.	Sekunde(n)
SQV	Saquinavir (PI)
STI	Sexuell übertragbare Erkrankung (englisch: <i>sexually transmitted infection</i>)
TDF	Tenofovir (PI)
TDM	Medikamentenspiegelbestimmung (englisch: <i>therapeutic drug monitoring</i>)
UNAIDS	<i>Joint United Nations Programme on AIDS</i>
US\$	US Dollar, Währung der USA
USA	Vereinigte Staaten von Amerika (englisch: <i>United States of America</i>)
VL	Viruslast (englisch: <i>viral load</i>)

WHO	Weltgesundheitsorganisation (englisch: <u>World Health Organization</u>)
ZAR	Südafrikanischer Rand (vom Niederländischen <u>Zuid-Afrikaanse Rand</u>), zum Zeitpunkt der Studie 2009 war der Wechselkurs US\$:ZAR=1:7,5

„Today, an undetectable viral load is the closest we have to a cure.“

Michel Sidibé – 20. Welt-AIDS-Konferenz, Melbourne, 2014 [1]

1. Einleitung

Als 1981 Michael Gottlieb et al. mit der Beschreibung von bis dato ungewöhnlichen Pilzinfektionen bei jungen, homosexuellen Männern zum ersten Mal die Symptome einer weit fortgeschrittenen Infektion mit dem Humanen Immundefizienz-Virus (HIV) veröffentlichten [2], konnte wohl niemand ahnen, dass selbst heutzutage, über 35 Jahre nach Erstbeschreibung, keine Heilung von HIV möglich ist. 2016 starben 1 Millionen Menschen an den Folgen einer Infektion mit dem HI-Virus, was knapp 2800 Todesfällen pro Tag entspricht [3]. Besonders betroffen sind dabei Menschen in entwicklungsschwachen Ländern, in denen oft nicht einmal die medizinische Grundversorgung gewährleistet werden kann [4]. Doch auch in den westlichen Industriestaaten und unter optimalen Therapievorsetzungen gibt es praktisch keine Heilung. Deshalb ist es umso wichtiger, wie Michel Sidibé auf der 20. Welt-AIDS-Konferenz 2014 in Melbourne, Australien, feststellte, mit der Unterdrückung der Viruslast durch eine möglichst gute Therapie einer Heilung von HIV möglichst nahe zu kommen.

Im Kapitel „Einleitung“ sollen die Grundlagen der HIV-Infektion vorgestellt werden, wobei besonders auf die Situation in Südafrika eingegangen wird (siehe dazu 1.4. Fragestellung der Arbeit, S. 22). Die anschließenden Kapitel „Material und Methoden“ sowie „Ergebnisse“ beziehen sich ausschließlich auf die Forschungsarbeit in Südafrika. Im abschließenden Kapitel „Diskussion“ werden die Ergebnisse dieser Forschungsarbeit unter Berücksichtigung weiterer Entwicklungen auf diesem Gebiet in einen größeren Kontext gestellt.

1.1. Grundlagen der HIV-Infektion

1.1.1. Epidemiologie

Weltweit waren 2016 ca. 36,7 Millionen Menschen mit dem HI-Virus infiziert (2010: 33,2 Millionen Menschen). Der überwiegende Anteil der HIV-Infizierten war dabei mindestens 15 Jahre alt (34,5 Millionen Menschen), dennoch waren über 2 Millionen Kinder unter 15 Jahren ebenfalls infiziert. Bei den Erwachsenen (ab 15 Jahren) waren Frauen mit 17,8 Millionen HIV-Infizierten weltweit etwas mehr betroffen als Männer (16,7 Millionen HIV-infizierte Männer weltweit) [4]. 1,8 Millionen Menschen wurden 2016 neu mit dem HI-Virus infiziert¹, was eine Reduktion der Neuinfektionen um 11% im Vergleich zum Jahr 2010 bedeutet. Die Zahl der HIV-Neuinfektionen bei Kindern sank im Vergleich zu 2010 um 47% von 300.000 (2010) auf 170.000 (2016) [4].

Auch die Zahl derjenigen, die an einem erworbenen Immunschwächesyndrom (AIDS, eine durch das HI-Virus ausgelöste Immunschwächekrankheit) gestorben sind, ist mit 1 Millionen Todesfällen 2016 zurückgegangen. So starben 2010 noch ca. 1,5 Millionen Menschen an HIV-bezogenen Krankheiten, 2005 gab es noch 2,4 Millionen Todesfälle [4]. Die Zahl der Infizierten ist dabei jedoch regional sehr unterschiedlich. Vor allem die Staaten im östlichen und südlichen Afrika sind mit 19,4 Millionen HIV-Infizierten (2016) am stärksten betroffen und stellen dabei 46% der weltweit Neuinfizierten im Jahr 2016. 60% beziehungsweise (bzw.) 11,7 Millionen Menschen hatten 2016 im östlichen und südlichen Afrika Zugang zu antiretroviraler Therapie (ART) [4].

In Deutschland lebten Ende 2016 nach Schätzungen des Robert-Koch-Instituts (RKI) mindestens 88.400 HIV-infizierte Menschen. Dabei waren 75.700 bereits HIV-positiv diagnostiziert, 12.700 Menschen wussten noch nicht, dass sie sich mit HIV infiziert hatten. Insgesamt waren in Deutschland mit 71.700 Infizierten deutlich mehr Männer HIV-positiv, als Frauen (16.600) [5].

¹ Da der Verlauf der Erkrankung sich über mehrere Jahre bis Jahrzehnte entwickeln kann (siehe Kap. 1.1.2. Pathogenese, S. 3), ist eine Unterscheidung zwischen Neuinfektion und Erstdiagnose sehr schwierig. Die Zahl der Neuinfektionen kann dabei nicht direkt gemessen werden, da erste Symptome erst verzögert auftreten sowie bei den Testungen nicht immer angegeben wird, ob es sich um eine bekannte, oder eine erstmalig nachgewiesene HIV-Infektion handelt. Da jedoch der Bericht von UNAIDS von Neuinfektionen spricht, wurde dieser Begriff hier übernommen.

Prinzipiell gibt es in Deutschland unter denen, die sich im Inland infiziert haben bzw. sich als Deutsche im Ausland infiziert haben, weiterhin drei Hauptübertragungswege, von denen homosexueller Geschlechtsverkehr unter Männern (MSM) mit 56.100 HIV-positiven den größten Anteil ausmacht. An zweiter und dritter Stelle folgen mit circa (ca.) 11.200 Infektionen heterosexuelle Kontakte, sowie mit ca. 8.400 HIV-Infektionen intravenöser (i.v.) Drogenkonsum. Die Zahl der Infizierten durch Bluttransfusionen (ca. 450) und durch Mutter-Kind-Transmission während der Schwangerschaft, Geburt oder Stillzeit (unter 10 Neuinfektionen 2016) war dazu im Vergleich gering (siehe hierzu auch Kap. 1.1.2.3. Mögliche Übertragungswege, S. 7) [5].

2016 wurden in Deutschland 3.416 gesicherte Neudiagnosen an das RKI übermittelt, was im Vergleich zu 2015 eine Abnahme von ca. 8% (288 Neudiagnosen weniger) bedeutete [6]. Auch bei den Neudiagnosen sind weiterhin Männer deutlich mehr vertreten als Frauen, 2016 wurden 2.704 Männer und 710 Frauen neu HIV-positiv diagnostiziert (bei fünf Neudiagnosen wurde kein Geschlecht angegeben) [6].

Nach dem *Joint United Nations Programme on AIDS* (UNAIDS) sollten 90% der HIV-Infizierten diagnostiziert, davon 90% mit ART behandelt und davon wieder 90% so erfolgreich therapiert sein, dass die Viruslast (VL) nicht mehr nachweisbar ist (90-90-90 Strategie) [7]. In Deutschland wurden 2016 diese Ziele nur knapp verfehlt, so waren 86% der HIV-Positiven (75.700) diagnostiziert und davon erhielten wiederum 86% eine Behandlung mit ART (64.900). Diese verlief in 93% erfolgreich mit nachhaltiger Unterdrückung der VL [5] (siehe hierzu auch Kap. 1.1.5 Therapie, S. 13).

1.1.2. Pathogenese

Das HI-Virus gehört zum Genus *Lentivirus* in der Familie der *Retroviridae*. Es werden zwei HIV-Spezies unterschieden, HIV-1 und HIV-2. HIV-1 wird dabei noch in die drei Gruppen M, N und O unterteilt, wobei die Gruppe M weltweit am stärksten vertreten ist. HIV-1 Gruppe M wird wiederum in die Subtypen A bis F untergliedert. Der Subtyp B ist dabei weltweit am weitesten verbreitet, die meisten Infektionen weltweit sind jedoch mit Subtyp C (> 50%). Auch im südlichen

Afrika herrscht der Subtyp C vor. HIV-1 Gruppe O und N finden sich vor allem im westlichen Zentralafrika, HIV-2 findet sich in Westafrika und in geringer Zahl in Indien und Portugal (vgl. Hahn, 2009, S. 521 [8]).

1.1.2.1. Genomaufbau und virale Proteine

HIV-1 und HIV-2 sind von einer Lipidhülle umgeben, die zwei virale Glykoproteine enthält (siehe Abbildung 1). Dabei interagiert das Glykoprotein gp120 (auch SU für *Surface Unit* genannt) mit den zellulären Rezeptoren für HIV und das Glykoprotein gp41 (auch TM für Transmembran genannt) fusioniert die Virushülle mit der Zellmembran der Zielzelle. Beide Proteine entstehen dabei aus einem Vorläufermolekül gp160, das auf dem viralen env-Gen (siehe unten) kodiert ist.

Unterhalb der Lipidhülle ist das Matrixprotein p17 lokalisiert. Des Weiteren liegen Strukturproteine vor (in Abbildung 1 Matrixproteine genannt), die durch proteolytische Spaltung durch ein virales Enzym aus dem Vorläuferprotein p55 entstehen, das vom gag-Gen kodiert wird. Da eine Hemmung dieser viralen Protease somit die Bildung dieser Strukturproteine (p24, p17, p6, p7) verhindert, kann es nicht zur Ausbildung eines reifen Viruspartikels kommen und das Virus verliert seine Infektiosität (siehe dazu auch Kap. 1.1.5. Therapie, S. 13). Ebenfalls im Inneren der Virushülle liegt ein konisches Kapsid, das aus dem Protein p24 gebildet wird und die beiden Kopien der viralen (+)-Strang Ribonukleinsäure (RNA) sowie die Reverse Transkriptase (p64), die Integrase (p32) und die virale Protease (p10) enthält. Diese Enzyme werden alle im pol-Gen kodiert (vgl. Hahn, 2009, S. 521f. [8]).

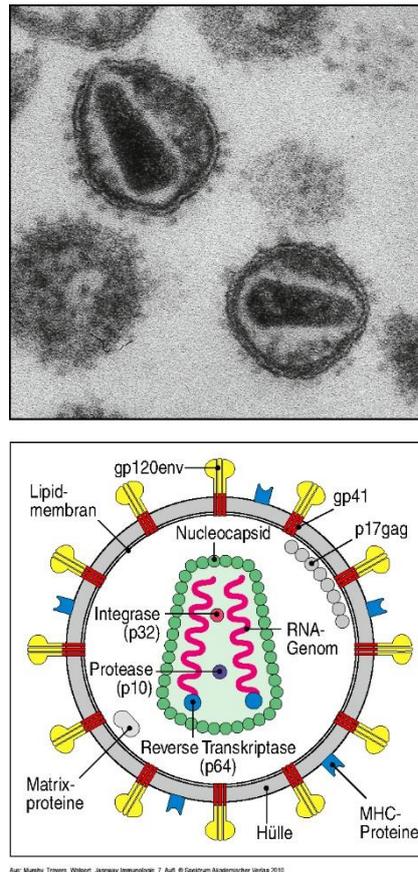
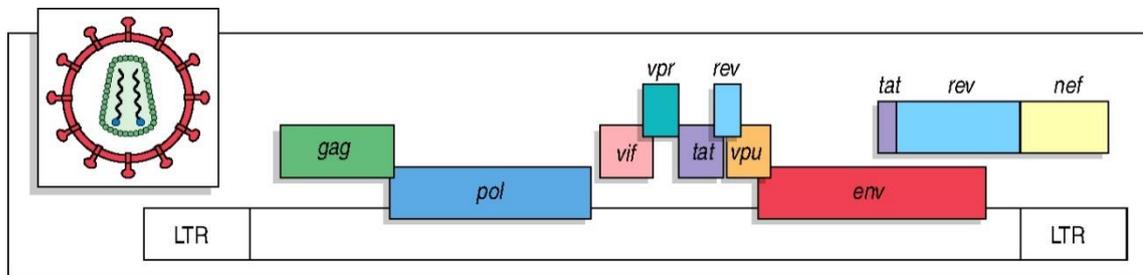


Abb. 1: Das Virion des menschlichen Immunschwächevirus (HIV) in der elektronenmikroskopischen (oben) und der schematischen Darstellung (unten) (aus: Janeway Immunologie, 2018, Abb. 13.29 [9])

Wie in Abbildung 2 zu erkennen ist, beginnt und endet die Genomsequenz des HI-Virus mit einer Abfolge von langen Sequenzwiederholungen (LTR), die für die Integration in das Genom der Wirtszelle und die Transkription wichtig sind. Über das Oberflächenmoleküle gp120 bindet das HI-Virus an Zellen, die das Oberflächenmolekül CD4 präsentieren. HIV bindet also im menschlichen Körper überwiegend an CD4-T-Zellen, dendritische Zellen und Makrophagen. Das Glykoprotein gp41 bindet gleichzeitig an verschiedene Korezeptoren (CCR5 auf dendritischen Zellen, CD4-T-Zellen und Makrophagen oder CXCR4 auf aktivierten T-Zellen) und verursacht anschließend die Fusion der Virushülle mit der Zielmembran. Sobald das Virus in die Wirtszelle eingedrungen ist, übersetzt die bereits im Virus enthaltene Reverse Transkriptase die virale RNA in eine komplementäre DNA, die mit Hilfe der ebenfalls in die Wirtszelle eingeschleusten Integrase in das Genom der Wirtszelle eingebaut wird (vgl. Murphy, 2009, S. 640ff. [10]).

Abbildung 2 zeigt die neun Gene, aus denen das HIV-Genom besteht. Gag (englisch *Group Specific Antigen*), pol (für Polymerase) und env (englisch *Envelope Glycoprotein*) sind dabei die drei Hauptgene (vgl. Murphy, 2009, S. 676 [10]). Das gag-Gen kodiert das Protein p55, aus dem die Strukturproteine p6, p17 und p24 nach Spaltung durch die virale Protease entstehen. Im pol-Gen werden die viralen Enzyme für die Virusvermehrung und Integration in die Wirtszelle kodiert, also die Reverse Transkriptase, die Protease und die Integrase. Im env-Gen wird das Glykoprotein gp160 kodiert, das von einer Protease der Wirtszelle in die Oberflächenproteine gp120 und gp41 gespalten wird (vgl. Hahn, 2009, S. 522f. [8]). Die weiteren sechs kodierten Gene dienen der Replikation und beeinflussen die Infektiosität des Virus (vgl. Murphy, 2009, S. 676 [10]).



Gen	Genprodukt/Funktion
<i>gag</i>	gruppenspezifisches Antigen Proteine für Viruskern und -matrix
<i>pol</i>	Polymerase Reverse Transkriptase, Protease und Integrase
<i>env</i>	Virushülle Transmembranglykoproteine, gp120 bindet CD4 und CCR5; gp41 ist erforderlich für Fusion und Einschleusen des Virus
<i>tat</i>	Transaktivator Transkriptionsverstärker
<i>rev</i>	Regulator der viralen Expression ermöglicht Export ungespleißter und teilgespleißter Transkripte aus dem Zellkern
<i>vif</i>	Infektiosität des Virus beeinflusst Infektiosität der Viruspartikel
<i>vpr</i>	virales R-Protein DNA-Transport in den Zellkern; erhöht Virionenproduktion; hält Zellzyklus an
<i>vpu</i>	virales U-Protein stimuliert intrazellulären Abbau von CD4 und verstärkt Virusfreisetzung durch die Membran
<i>nef</i>	negativer Kontrollfaktor verstärkt Replikation des Virus <i>in vivo</i> und <i>in vitro</i> ; verringert der Expression von CD4 und MHC-Klasse I und II

Aus: Murphy, Travers, Walport, Janeway Immunologie, 7. Aufl. © Spektrum Akademischer Verlag 2010

Abb. 2: Das Genom des HI-Virus und die jeweilige Funktion (aus: Janeway Immunologie, 2018, Abb. 13.31 [9])

1.1.2.2. *Lebenszyklus des HI-Virus*

Über Bindung von gp120 an das CD4-Molekül der Zielzelle und gp41 an entweder CCR5- oder CXCR4-Moleküle der Zielzelle (siehe oben) fusioniert das Virus mit der Zellmembran der Zielzelle. Das HIV-Kapsid gelangt hierdurch in das Zytoplasma der Zielzelle und gibt seinen Inhalt frei. Ein aus viralen Proteinen und den beiden Kopien der Virus-RNA bestehender Komplex wird anschließend in den Zellkern der Zielzelle transportiert. Während dieses Transports übersetzt die Reverse Transkriptase die RNA in eine doppelsträngige DNA-Kopie, es entsteht das sogenannte Provirus. Da bei diesem Provirus die freiliegenden Enden verbunden werden, wird es als circuläres DNA-Molekül in den Zellkern der Wirtszelle importiert. Mit Hilfe der viralen Integrase wird nun das HIV-Genom in das Genom der Zielzelle eingebaut und von da an von der DNA-Polymerase-II der Wirtszelle wie ein eigenes Gen transkribiert.

Die entstehende mRNA wird dabei aus dem Zellkern transportiert. Der Vorläufer der Kapsidproteine wird an freien Ribosomen im Zytoplasma gebildet, die Bildung von gp160 und dessen Weiterverarbeitung in gp120 und gp41 (siehe oben) finden im Endoplasmatischen Retikulum und Golgi-Apparat der Zelle statt. Auf diese Weise gelangen die viralen Glykoproteine analog zu den zellulären Membranproteinen in die zelluläre Plasmamembran, wo sie sich mit dem Vorläufer der Kapsidproteine und der viralen Protease zu noch unreifen Viruspartikeln zusammensetzen. Infektiös wird das Virus erst durch die anschließende Verarbeitung des Kapsidvorläuferproteins in seine Endprodukte durch die virale Protease (vgl. Hahn, 2009, S. 523ff. [8]). Zur Darstellung des Lebenszyklus des HI-Virus siehe auch Abbildung 3, Kapitel 1.1.5.1. Medikamentenklassen, S. 14.

1.1.2.3. *Mögliche Übertragungswege*

Für eine Übertragung des Virus von einem infizierten Individuum auf ein anderes Individuum ist eine ausreichende Menge von Viruspartikeln erforderlich. Diese findet sich in Sperma, Vaginalsekret, Blut, Plasma, Serum und Muttermilch. Mögliche Übertragungswege sind somit Geschlechtsverkehr, Nadelstichverlet-

zungen bzw. i.v.-Drogenkonsum mit verunreinigten Nadeln, verunreinigte Blutprodukte und die Übertragung von der Mutter auf das Kind, während der Schwangerschaft, unter der Geburt oder durch das Stillen.

Die Wahrscheinlichkeit einer Ansteckung bei den jeweiligen Übertragungswegen unterscheidet sich jedoch stark und ist immer korreliert mit der Konzentration an Viren im Blut der Quellperson (die sogenannte Viruslast des HIV-positiven Menschen, VL). Wenn also durch eine erfolgreiche Therapie die Zahl der Viruskopien im Blut niedrig gehalten wird, sinkt auch die Wahrscheinlichkeit einer Übertragung [11], [12] (siehe hierzu auch Kap. 1.1.5. Therapie, S. 13).

Bei sexuellen Kontakten ist die Übertragungswahrscheinlichkeit nach einem einzigen Kontakt eher gering. Sie steigt jedoch bei Verletzungen oder Wunden im Genitalbereich, z.B. durch andere sexuell übertragbare Erkrankungen (STI) oder Traumata. Generell gilt, dass ein Kontakt von intakter Haut mit kontaminierter Flüssigkeit zu keiner Infektion führt. Sobald allerdings kleine Verletzungen oder Entzündungen auf der Haut vorhanden sind, erhöht sich das Infektionsrisiko deutlich. Bei Nadelstichverletzungen bzw. bei i.v.-Drogenkonsum mit kontaminierten Nadeln hängt die Wahrscheinlichkeit einer Infektion ebenfalls von der Menge der übertragenen Viruspartikel ab. Diese wird durch die Eindringtiefe der Nadel, dem Nadeldurchmesser, der VL der Quellperson sowie der Frische und Menge des injizierten Blutes beeinflusst. Bei einer Transfusion von kontaminierten Blutprodukten liegt die Infektionswahrscheinlichkeit bei fast 100%, da sehr große Mengen an Blut und damit auch an Viren übertragen werden. Daher werden Blutprodukte heutzutage in Deutschland und vielen anderen Ländern auf Antikörper gegen HIV und auf HIV-RNA getestet (vgl. Hahn, 2009, S. 526 [8]).

Die Wahrscheinlichkeit einer Übertragung der Infektion von der Mutter auf das Kind ohne jegliche therapeutische Intervention liegt in Entwicklungs- und Schwellenländern (LDC) bei 20 – 30%, in Industriestaaten bei 10 – 15% [13]. Sie wird stark von der VL der Mutter bedingt. Auch die Art der Entbindung spielt eine Rolle. So ist eine Vaginalgeburt im Vergleich zu einem Kaiserschnitt (unter westlichen Bedingungen) risikoreicher. Die Wahrscheinlichkeit, das Virus beim Stillen auf den Säugling zu übertragen, beträgt ca. 15%. Dabei erhöht sich das Risiko, wenn der Säugling länger als neun bis zwölf Monate gestillt wird. Auch Erkrankungen

der mütterlichen Brust erhöhen das Übertragungsrisiko. Wenn eine Ernährung durch kommerzielle Babynahrung möglich ist, sollte diese bevorzugt werden. In vielen LDC ist allerdings die Qualität des Trinkwassers nicht ausreichend, um den Effekt der Risikoreduktion einer HIV-Infektion zu rechtfertigen, da durch das stark erhöhte Risiko für Durchfallerkrankungen die Säuglingssterblichkeit ebenfalls stark ansteigen würde (vgl. Hahn, 2009, S. 527 [8]).

Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) gab 2012 eine überarbeitete Richtlinie zum Schutz des Kindes vor einer HIV-Übertragung durch die Mutter (PMTCT) während Schwangerschaft, Geburt und Stillzeit heraus [14]. Diese schlug zwei Modelle für die Behandlung von HIV-positiven schwangeren oder stillenden Frauen vor. Entweder alle schwangeren oder stillenden Frauen erhalten, sobald sie positiv auf HIV getestet werden, eine lebenslange Dreifachkombination an ART (siehe Kap. 1.1.5. Therapie, S. 13), oder, wenn dies nicht gewährleistet werden kann, wird an Hand der CD4-Zellzahl als Marker des Fortschritts der Infektion entschieden. Dabei sollten alle schwangeren und stillenden Frauen mit einer CD4-Zellzahl unter 350 pro Mikroliter (Zellen/ μ l) lebenslang eine Dreifachtherapie erhalten. Schwangere oder stillende Frauen mit einer CD4-Zellzahl von über 350 Zellen/ μ l sollten ab der 14. Schwangerschaftswoche während der gesamten Schwangerschaft und Geburt und, sofern sie stillen, bis eine Woche nach Geburt eine Dreifachkombination an antiretroviralen Medikamenten erhalten [14]. In den aktuellen Therapieempfehlungen der WHO wird nun jedoch aufgrund der Entwicklungen in den meisten Ländern sowie der Studienlage empfohlen, bei allen HIV-positiven Schwangeren oder stillenden Müttern mit einer lebenslangen ART zu beginnen [15]. Neugeborene von HIV-positiven Müttern sollten unabhängig von der VL der Mutter und der Ernährung (Stillen bzw. kommerzielle Babynahrung) eine ART erhalten (siehe Kap. 1.1.5. Therapie, S. 13) [14], [15].

1.1.3. Klinik der HIV-Infektion

Der klinische Verlauf einer HIV-Infektion kann in drei unterschiedliche Abschnitte unterteilt werden. Dabei spielen die klinischen Symptome, die CD4-Zellzahl und sogenannte AIDS-definierende Erkrankungen eine Rolle. Im ersten Stadium, der akuten Infektion, treten in etwa 50 – 90% nach ca. zehn bis 30 Tagen

nach Infektion Symptome auf, die denen eines grippalen Infekts ähnlich sind. Es können Fieber, Abgeschlagenheit, Muskelschmerzen, Kopfschmerzen, Halsschmerzen, eine Schwellung der zervikalen Lymphknoten, aber auch Beeinträchtigungen der Haut wie Ulzera, Ausschlag oder eine Pilzinfektion im Mund auftreten. Meistens klingen die Symptome nach 14 Tagen wieder ab. Selten kann es im ersten Stadium zu einer HIV-Meningoenzephalitis kommen. In der akuten Phase der HIV-Infektion findet eine sehr starke Vermehrung des Virus mit entsprechend hoher VL im Blut statt (bis zu 10^{11} cps/ml). Das Verhältnis der CD4-Zellzahlen ist im Blut im Vergleich zu den CD8-positiven Zellzahlen oft erniedrigt, da die CD4-positiven Zellen bei der Virusvermehrung zerstört werden. Antikörper gegen HIV können bereits nachweisbar sein, können aber auch noch fehlen, so dass es zu falsch negativen Testergebnissen kommen kann. Daher spricht man auch von einem „diagnostischen Fenster“, da am Anfang die HIV-Infektion nur durch direkten Nachweis der Virus-RNA oder proviralen DNA in T-Lymphozyten und nicht durch Antikörpernachweis sicher ist (siehe hierzu auch Kap. 1.1.4. Diagnostik der HIV-Infektion, S. 12).

Im zweiten Stadium folgt eine unterschiedlich lange, a- bzw. oligosymptomatische Phase in der eine relativ niedrige HIV-Vermehrungsrate vorliegt. Die dritte Phase ist durch das Auftreten von Symptomen und damit den Ausbruch von AIDS gekennzeichnet. Dies kann bei unbehandelten Patienten ca. ein bis 15 Jahre nach Erstinfektion auftreten, im Durchschnitt nach ca. zehn bis zwölf Jahren, und beruht auf dem geschwächten Immunsystem des HIV-Infizierten. Als Symptome werden zum einen opportunistische Infektionen, zum anderen aber auch AIDS-assoziierte Tumore gezählt. Die wichtigsten AIDS-definierenden Erkrankungen sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Opportunistische Infektionen	Pneumocystis-jirovecii-Pneumonie, Zytomegalie-Viruserkrankung, Candidiasis (außer oraler Befall), extrapulmonale Kryptokokkose, Mycobacterium avium/ kansasii/ tuberculosis (jeweils disseminiert), Mycobacterium tuberculosis (pulmonal, M. tuberculosis), Herpes simplex (> 1 Monat oder nicht oral/ genital), Kryptosporidiose (> 1 Monat), extrapulmonale Histoplasmose, Toxoplasmose, Nocardiose, wieder-
-------------------------------------	--

	holte disseminierte Salmonellose, extraintestinale Strongyloidose, wiederholte bakterielle Pneumonien, extrapulmonale Kokkidomykose, Isosporose (> 1 Monat), HIV-Demenz, HIV-Kachexie
Tumore	Kaposi-Sarkom, Primäres zerebrales Lymphom, Non-Hodgkin-Lymphom, invasives Zervixkarzinom

Tab. 1: AIDS-definierende Erkrankungen bei HIV-Infektion (nach Hahn, 2009, S. 530, [8])

Die Häufigkeit der auftretenden opportunistischen Infektionen hängt von der jeweiligen geographischen Prävalenz des Erregers ab. So finden sich in westlichen Ländern häufig *Pneumocystis-jirovecii*-Infektionen (früher *Pneumocystis carinii*), in LDC dagegen v.a. Infektionen mit *M. tuberculosis* und gastrointestinale Infekte (vgl. Hahn, 2009, S. 529f. [8]).

Klassifiziert wird die HIV-Infektion nach einer Einteilung des US-amerikanischen *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) von 1993 in drei Abschnitte (siehe Tabelle 2). Das klinische Stadium A beschreibt eine asymptomatische HIV-Infektion, worunter auch eine persistierende, generalisierte Lymphknotenschwellung oder eine akute, primäre HIV-Infektion fallen. Das klinische Stadium B bezeichnet zwar eine symptomatische HIV-Infektion, aber ohne die AIDS-definierenden Erkrankungen. Die beschriebenen Symptome lassen jedoch auf einen Defekt der Immunabwehr schließen bzw. werden durch eine HIV-Infektion verschlimmert. Unter dem Stadium C werden alle AIDS-definierenden Erkrankungen zusammengefasst.

CD4 ⁺ -T-Zellen/µl	Klinik		
	A	B	C
(1) > 500	A1	B1	C1
(2) 200 – 499	A2	B2	C2
(3) < 200	A3	B3	C3
AIDS: A3, B3, C1 – C3			

Tab. 2: CDC-Klassifikation der HIV-Infektion für Erwachsene (nach Hahn, 2009, S. 529 [8])

Der Ablauf der klinischen Stadien wird dabei bedingt durch die Auswirkungen des HI-Virus auf die betroffenen Körperzellen. Das Virus vermehrt sich v.a. in CD4-positiven T-Zellen und zerstört diese dabei auf unterschiedliche Weise. Zum

einen werden die Zellen durch einen sogenannten zytopathischen Effekt während der HIV-Vermehrung zerstört. Manche Zellen werden von zytotoxischen T-Zellen eliminiert. Außerdem gehen manche Zellen durch Apoptose zu Grunde, die durch das virale Oberflächenmolekül gp120 ausgelöst werden kann. Obwohl täglich bis zu 10^9 CD4-positive T-Zellen zu Grunde gehen, kann das Immunsystem durch Neubildung dieser Zellen den Verlust jahrelang ausgleichen. Erst, wenn dieses Regenerationspotential nicht mehr ausreicht, kommt es zu einem Abfall der CD4-Zellzahl im peripheren Blut (vgl. Hahn, 2009, S. 527f. [8]).

Nach einer Infektion mit HIV wird eine starke Immunreaktion ausgelöst, die v.a. zu einer Bildung von CD8-positiven zytotoxischen T-Zellen führt, die gegen virale Proteine gerichtet sind. Diese werden ca. eine bis drei Wochen nach Erstinfektion gebildet und führen zu einer Eindämmung der anfangs sehr starken Virusvermehrung. Daher kommt es in der akuten Phase der HIV-Infektion auch oft zu einer Lymphknotenschwellung, da das Immunsystem stark aktiviert ist. Ebenfalls werden eine Reihe von Antikörpern gegen virale Proteine gebildet, v.a. gegen das Kapsidprotein p24, gegen die Hüllproteine gp120 und gp41, gegen das Matrixprotein p19 und gegen die Reverse Transkriptase (vgl. Hahn, 2009, S. 538f. [8]).

1.1.4. Diagnostik der HIV-Infektion

Die Diagnose einer HIV-Infektion wird durch den Nachweis von spezifischen Antikörpern im Blut des Patienten bestätigt. Die Antikörper sind normalerweise ab zwei bis ca. zehn Wochen nach Infektion erstmals nachweisbar. Falls drei Monate nach Exposition noch immer keine Antikörper nachweisbar sind, kann eine Ansteckung mit großer Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden. Der Nachweis der spezifischen Antikörper erfolgt normalerweise in zwei Schritten. Zuerst wird ein spezifischer Antikörpersuchtest mit Hilfe eines ELISA (*Enzyme-linked Immunosorbent Assay*) durchgeführt [16]. Der Nachweis von Antikörpern im ELISA erfolgt v.a. durch den Nachweis von p24-Antikörpern und von Antikörpern gegen gp120 und gp41 (vgl. Hahn, 2009, S. 532 [8]). Heutzutage kann auch das etwas früher als die Antikörper im Serum vorliegende p24-Antigen nachgewiesen werden (HIV-Tests der 4. Generation).

Kommt es beim ELISA zu einem positiven Ergebnis, muss anschließend noch ein Bestätigungstest durchgeführt werden, meist in Form eines Western Blot [16]. Hierbei werden virale Proteine elektrophoretisch aufgetrennt und auf eine Membran übertragen. Diese wird mit dem Patientenserum in Kontakt gebracht und die eventuelle Bindung von Antikörpern wird anschließend durch enzymatisch-markierte Antikörper, die an menschliche Antikörper binden, sichtbar gemacht. Bilden sich nun mindestens zwei HIV-typische Banden aus, so gilt der Western Blot als positiv und die Infektion als bestätigt. Dabei müssen die beiden Banden auf Proteine hindeuten, die von unterschiedlichen Abschnitten des viralen Genoms stammen. Alternativ oder zur Kontrolle des Therapieerfolgs kann auch ein Nachweis der viralen RNA bzw. der proviralen DNA mittels Polymerasekettenreaktion (PCR, *Polymerase Chain Reaction*) erfolgen. Bei der sogenannten Echtzeit-PCR (RT-PCR, *Realtime-PCR*) kann sogar ein quantitativer Nachweis der VL im Plasma oder Serum des Patienten durchgeführt werden. Dies ist v.a. zur Kontrolle von Patienten wichtig, die bereits eine Therapie erhalten. Außerdem werden in Deutschland Blutspenden routinemäßig auf das Vorliegen von HIV-Genom getestet (vgl. Hahn, 2009, S. 533 [8]).

1.1.5. Therapie

Selbst über 30 Jahre nach Erstbeschreibung einer Infektion mit dem HI-Virus ist eine endgültige Heilung immer noch nicht möglich. Daher ist es umso wichtiger, durch Medikamente die HIV-Vermehrungsrate unter Kontrolle zu halten (vgl. Hahn, 2009, S. 534 [8]). Konnten bei den ersten HIV-Infizierten nur die Symptome der opportunistischen Infektionen behandelt werden, so gelang es 1987, mit der Anwendung von AZT (Ziduvodin) sowohl die Sterblichkeit als auch die Zahl der opportunistischen Infektionen zu senken [17]. Allerdings entwickelten sich unter der Therapie sehr schnell resistente Varianten des Virus, die von der Therapie nicht mehr beeinträchtigt werden, so dass eine Weiterbehandlung mit diesem Medikament nicht mehr sinnvoll ist [18]. Mitte der 1990er-Jahre entstand daher das bis heute gültige Therapie-Prinzip HAART (*Highly Active Antiretroviral Treatment*), bei dem eine Dreifachkombination von ART gegeben wird [19]. Die Dreifachkombination verhindert dabei die Entstehung von Mutationen im Virus und

damit die Resistenzentwicklung. Die aktuell gültigen Richtlinien der WHO für die erste Wahl an HIV-Medikamenten (*first-line ART*) sehen für Erwachsene eine Kombination aus zwei Nukleosidischen Reverse-Transkriptase Inhibitoren (NRTIs, *nucleoside reverse-transcriptase inhibitors*) in Kombination mit einem nicht-nukleosidischen Reverse-Transkriptase Inhibitor (NNRTI, *non-nucleoside reverse-transcriptase inhibitor*) vor (siehe unten) [15].

1.1.5.1. Medikamentenklassen

Generell greifen alle ART an unterschiedlichen Stellen in den Vermehrungszyklus des HI-Virus ein. So gibt es Inhibitoren, die das Andocken an die Zielzelle unterbinden, Fusionsinhibitoren, Inhibitoren der Reversen Transkriptase, Integrase-Inhibitoren und Protease-Inhibitoren. In Abbildung 3 sieht man die Angriffspunkte der jeweiligen Medikamentenklassen im Replikationszyklus des Virus.

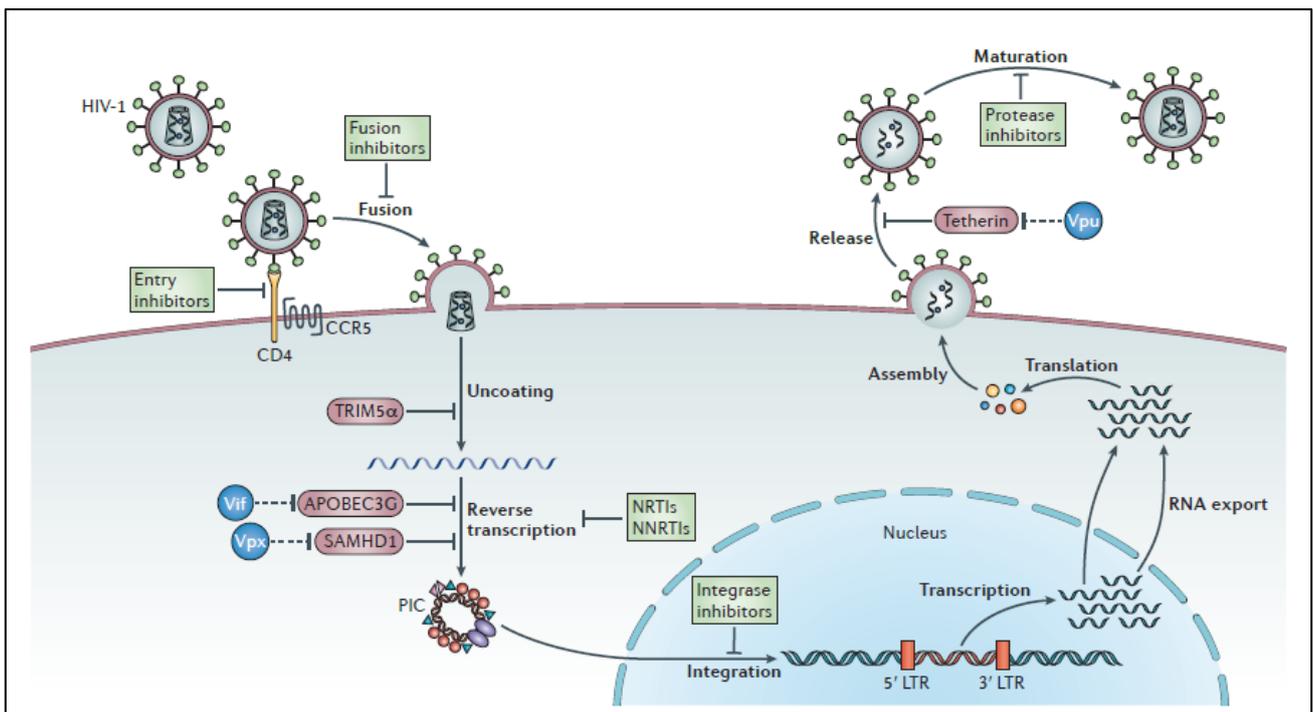


Abb. 3: Replikationszyklus des HI-Virus und Angriffspunkte der ART

(aus [18], *Figure 2*)

Zu den Medikamenten, die das Andocken an die Zielzelle verhindern (in Abb.3 *Entry Inhibitors* genannt), zählt u.a. Maraviroc. Es blockiert als CCR5-Antagonist die Bindung des HIV mit dem Korezeptor und verhindert somit den Eintritt in die

Zelle. Ein Vertreter der Fusionsinhibitoren ist Enfuvirtid. Es ist ein 34 Aminosäuren großes Peptid und verhindert durch Bindung an gp41 die Fusion von HIV mit der Zielzelle.

Die Gruppe der Reverse Transkriptase Inhibitoren kann noch einmal in NRTIs und NNRTIs unterschieden werden. Azidothymidin (AZT, Zidovudin) bewirkt als Vertreter der NRTI durch eine kompetitive Hemmung der Reversen Transkriptase einen Kettenabbruch beim Umschreiben der viralen RNA in DNA. Weitere Vertreter der NRTI sind Lamivudin (3TC), Stavudin (d4T), Emtricitabin (FTC) und Didanosin (ddi). Zu den NNRTI gehören u.a. Nevirapin (NVP), Efavirenz (EFV) und Rilpivirin (RPV). Sie hemmen allosterisch, also außerhalb des aktiven Zentrums, die Reverse Transkriptase und verschlechtern dadurch die Enzymkinetik (aus Hahn, 2009, S. 765 – 768 [8]). Die aktuell von der WHO vorgeschlagene *first-line* Therapie bei HIV-Infektion sieht eine Kombination aus TDF, 3TC oder FTC und EFV vor, also eine Kombination von zwei NRTI und einem NNRTI. Alternative Möglichkeiten bei Kontraindikation oder wenn diese Kombination nicht erhältlich ist, sind AZT und 3TC mit entweder EFV oder NVP oder TDF, 3TC oder FTC und NVP [15].

Eine weitere Gruppe der ARTs sind die Integrase-Inhibitoren, die die Integration der proviralen DNA in das Genom der Wirtszelle verhindern. Zurzeit sind die Wirkstoffe Raltegravir, Elvitegravir und Dolutegravir (DTG) gebräuchlich. Problematisch ist, dass bei einer Resistenzbildung gegen einen Integrase-Inhibitor oft auch alle anderen Integrase-Inhibitoren wirkungslos werden [20]. Als letzte Gruppe verhindern die Protease-Inhibitoren die Spaltung des Kapsidvorläuferproteins in seine Bestandteile und damit die Reifung des Viruspartikels. Einige Vertreter sind Saquinavir, Indinavir, Lopinavir (LPV), Tenofovir (TDF) und Ritonavir (aus Hahn, 2009, S. 766ff. [8]). Heutzutage kombiniert man Proteasen-Inhibitoren mit einer niedrigen Dosis von Ritonavir, um den Effekt des Proteasen-Inhibitors zu verstärken (sog. *Boost*) [21, 22].

Die in Abb. 3 rot hinterlegten TRIM5 α , APOBEC3G, SAMHD1 und Tetherin sind Bestandteile der menschlichen Abwehr gegen Retroviren, die aber in ihrer Funktion durch die blau hinterlegten Virusbestandteile gestört werden und daher nicht wirksam gegen eine HIV-Infektion agieren können [18].

1.1.5.2. Therapieindikation

Eine HIV-Therapie hat zum Zweck, die Viruslast möglichst gering zu halten und somit das Voranschreiten der Krankheit einzudämmen. Bisher empfahl die WHO, eine Therapie mit HAART zu beginnen, sobald eine CD4-Zellzahl von 500 Zellen/ μ l unterschritten wird. Insbesondere bei einer CD4-Zellzahl von weniger als 350 Zellen/ μ l oder, wenn fortgeschrittene oder schwere HIV-assoziierte Infektionen auftreten (WHO Grad 3 oder 4, siehe Anhang 1 zur WHO Stadienklassifikation der HIV-Infektion, S. 82), sollte eine Therapie begonnen werden [23]. Mit der Überarbeitung der WHO-Empfehlungen 2016 wurde nun jedoch jedem HIV-positiven Erwachsenen, unabhängig von der CD4-Zellzahl oder des klinischen Stadiums eine Therapie mit HAART empfohlen [15]. Vor allem bei HIV-Positiven mit fortgeschrittenem klinischen Stadium (WHO Grad 3 oder 4), bei einer CD4-Zellzahl unter 350 Zellen/ μ l und bei allen schwangeren oder stillenden Frauen sollte HAART begonnen werden [15]. Auch bei Paaren, bei denen ein Partner HIV-positiv und ein Partner HIV-negativ ist (sog. serodiskordante Paare), wird eine HIV-Therapie begonnen, um eine Übertragung auf den Partner zu vermeiden. Durch die Behandlung des HIV-positiven Partners bei serodiskordanten Paaren konnte in einer Studie gezeigt werden, dass die relative Übertragungswahrscheinlichkeit um 96% sinkt [12].

In Deutschland wird nach den Deutsch-Österreichischen Richtlinien zur Therapieindikation ebenfalls die Behandlungsindikation mit der Diagnose einer HIV-Infektion gesehen. Insbesondere sollte mit HAART begonnen werden, wenn HIV-assoziierte Symptome und Erkrankungen (CDC: C oder B, siehe oben) vorliegen oder der Patient an einer HIV-Nephropathie oder HIV-assoziierten neurologischen Störung leidet, unabhängig von der CD4-Zellzahl. Auch bei einer CD4-Zellzahl unter 500 Zellen/ μ l soll mit einer Therapie begonnen werden. Bei einer CD4-Zellzahl über 500 Zellen/ μ l sollte eine Therapie begonnen werden. Dies bedeutet, dass eine Therapie indiziert ist, ein Abwarten des Therapiebeginns jedoch noch vertretbar ist. Vor Beginn einer Therapie empfehlen die Leitlinien eine Resistenztestung, damit die Therapie bei vorhandenen Resistenzen daran angepasst werden kann [24].

1.1.5.3. Verlaufskontrolle

Um eine optimale Therapieeinstellung gewährleisten zu können, ist es wichtig, dass vor und während der Behandlung regelmäßige Untersuchungen (sog. Monitoring) erfolgen. Nur unter einer optimalen Therapieeinstellung kann die Wahrscheinlichkeit einer Mutation des Virus und damit einer Resistenzentwicklung gegen die Medikamente geringgehalten werden. Die offiziellen WHO-Richtlinien sehen hierbei eine halbjährliche bis jährliche Messung der CD4-Zellzahl vor, sofern noch nicht mit HAART begonnen werden kann. Unter Therapie sollen alle sechs Monate bis zum Erreichen einer Stabilität die CD4-Zellzahlen sowie sechs Monate nach Einleitung der Therapie und dann jährlich die VL bestimmt werden. Bei einem Verdacht auf Therapieversagen müssen sowohl die CD4-Zellzahl, als auch die VL bestimmt werden [15].

In Deutschland gelten nach den Deutsch-Österreichischen Leitlinien engere Zeitintervalle beim Monitoring der Therapie. So werden bei Diagnosestellung und von da an alle zwei bis drei Monate sowohl CD4-Zellzahl als auch die VL bestimmt. Dies gilt sowohl für noch unbehandelte Patienten als auch nach Therapiebeginn. Sinkt durch die Therapie die Zahl der HIV-Kopien unter 50 Zellen/ μ l im Plasma, so kann das Kontrollschema auf alle zwei bis vier Monate erweitert werden. Dieses Absinken der HIV-Kopien unter 50 Zellen/ μ l gilt als Therapieerfolg. Ein fehlendes Absinken bzw. ein Wiederanstieg auf über 50 Zellen/ μ l geben Hinweise auf ein Therapieversagen. Zur Abklärung eines Therapieversagens werden eine Resistenztestung des Virus sowie eine Bestimmung des Medikamentenspiegels im Blut (TDM, *therapeutic drug monitoring*) durchgeführt [24].

1.2. HIV in Südafrika

1.2.1. Südafrika und die Provinz Western Cape

Südafrika ist das südlichste afrikanische Land und hat eine Fläche von 1.219.602 km². Es wird an seiner Küste sowohl vom Atlantischen als auch vom Indischen Ozean begrenzt. Landgrenzen teilt sich Südafrika mit (von West nach Ost) Namibia, Botswana, Simbabwe, Mosambik und Swasiland, außerdem umschließt es das Königreich Lesotho [25]. 2017 lebten 56,52 Millionen Menschen (51% weiblichen, 49% männlich) in Südafrika und es gibt insgesamt elf offizielle

Sprachen [26]. Administrative Hauptstadt ist Pretoria, die Hauptstadt der Legislative ist Kapstadt und die judikative Hauptstadt ist Bloemfontein, Währung ist der Südafrikanische Rand (ZAR) [27]. Die Provinz Western Cape, im Südwesten von Südafrika gelegen, hat eine Bevölkerung von 4,3 Millionen Menschen und eine Fläche von 129.370 km², die Hauptstadt ist Kapstadt [28].

1.2.2. HIV in Südafrika

2017 waren ca. 7,1 Millionen Menschen in Südafrika mit HIV infiziert, wobei allein 2016 ca. 270.000 Neuinfektionen entdeckt wurden. 19,1% aller Erwachsenen zwischen 15 und 49 Jahren waren HIV-positiv [29]. Laut UNAIDS kam es 2016 zu 110.000 Todesfällen in Zusammenhang mit AIDS, ca. 12.000 Kinder wurden bei der Geburt von ihrer HIV-positiven Mutter infiziert [30]. 60% der HIV-positiven Südafrikaner waren 2017 gleichzeitig auch mit *M. tuberculosis* infiziert [31]. Südafrika hat laut UNAIDS die größte HIV-Epidemie der Welt mit 19% der weltweit lebenden HIV-positiven Menschen, 15% der weltweiten Neuinfektionen und 11% Todesfälle, die mit AIDS in Zusammenhang stehen [30].

Doch trotz dieser überwältigenden Zahlen gibt es auch große Fortschritte in Südafrika. Seit 2010 gibt es ein nationales Programm zur Beratung und HIV-Testung (*HIV Counselling and Testing*), wobei neben dem Test auf HIV auch eine Infektion mit *M. tuberculosis* und chronische Krankheiten wie Diabetes oder Bluthochdruck abgeklärt werden [32]. Über 20 Millionen Menschen konnten im bisherigen Verlauf des Programms schon beraten und getestet werden [33]. In regelmäßigen Abständen wird ein nationaler Strategieplan veröffentlicht (aktuell: *The National Strategic Plan (NSP) 2017 – 2022*), um das nationale Vorgehen in Bezug auf Prävention und Behandlung von HIV und AIDS, Tuberkulose und andere STIs festzulegen. Eines der Ziele ist hierbei, die 90-90-90 Strategie (siehe Kap. 1.1.1. Epidemiologie, S. 2) auch in Südafrika zu erreichen [34]. 2017 waren sich 86% der HIV-positiven Menschen in Südafrika ihrer Infektion bewusst, 65% davon erhielten eine ART, 81% davon hatten eine unterdrückte Viruslast [35]. Ein wichtiger Schritt zum Erreichen der Ziele ist hierbei die „*test and treat-policy*“, also die Regelung, dass nach einem positiven HIV-Testergebnis sofort eine Therapie begonnen werden kann [29].

In Anbetracht der steigenden Anzahl an Menschen, die ART in Südafrika beziehen, ist es nun aber umso wichtiger, eine kostengünstige Methode der Therapieüberwachung ermöglichen zu können. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit einer möglichen Methode zur Therapieüberwachung.

1.2.3. HIV-Therapie in Südafrika

Wie oben bereits erwähnt, empfehlen die nationalen Richtlinien von Südafrika den Beginn einer Therapie mit ART, sobald ein positives Testergebnis auf HIV vorliegt, unabhängig von der CD4-Zellzahl [36]. Vor allem Patienten mit starker Immunsuppression (CD4-Zellzahl unter 200 Zellen/ μ l) sollten schnellstmöglich innerhalb einer Woche nach Erhalten des Testergebnisses mit einer Therapie beginnen. Ausnahmen bestehen bei Koinfektionen mit Tuberkulose oder anderen opportunistischen Erregern, bei denen zum Teil erst die opportunistische Infektion anbehandelt werden sollte, bevor eine ART begonnen wird. Bei Patienten mit einer Tuberkulose-Koinfektion sollte der Beginn der ART von der CD4-Zellzahl abhängig gemacht werden. Bei Patienten mit einer CD4-Zellzahl von unter 50 Zellen/ μ l sollte zwei Wochen nach Beginn der Tuberkulose-Medikation eine ART begonnen werden. Bei Patienten mit einer CD4-Zellzahl von über 50 Zellen/ μ l kann eine Therapie mit ART bis maximal acht Wochen nach Beginn der Tuberkulose-Therapie begonnen werden, solange keine anderen schweren opportunistischen Infektionen vorliegen [36].

Prinzipiell wird keine Resistenztestung vor Beginn einer Therapie empfohlen, außer der Patient hatte innerhalb der letzten sechs Monate vor Beginn der Therapie eine Präexpositionsprophylaxe eingenommen (PrEP) oder hatte sexuellen Kontakt zu Personen mit bekannter resistenter HIV-Infektion oder abgebrochener ART [36]. Während der Therapie sollte regelmäßig die VL gemessen werden (zu Beginn der Therapie, drei Monate nach Beginn der Therapie, sechs Monate nach Beginn der Therapie und anschließend alle sechs Monate). Die CD4-Zellzahl sollte bis zu einer Unterdrückung der VL unterhalb der Nachweisgrenze (unter 50 cps/ml) alle sechs Monate gemessen werden [36].

Zwar ist auch in Südafrika das Ziel der ART, die VL unterhalb der Nachweisgrenze zu halten. Dennoch wird ein Therapieversagen erst bei Überschreiten einer VL von 1.000 cps/ml bei zwei aufeinanderfolgenden Tests innerhalb von zwei bis drei Monaten definiert. Einzelne VL-Messungen über 1.000 cps/ml gelten nicht als Therapieversagen [36]. Auch laut der aktuell gültigen WHO-Richtlinie liegt der Schwellenwert für ein Therapieversagen bei 1.000 cps/ml HIV-1-RNA bei zwei aufeinanderfolgenden Messungen innerhalb von einigen Monaten [15]. Eine einmalige Überschreitung der Schwelle von 1.000 cps/ml (ein sogenannter *blip*) kann wohl auch unter erfolgreicher Therapie auftreten, ohne mit einem erhöhten Risiko für Therapieversagen verbunden zu sein, und macht daher nicht automatisch einen Wechsel der Therapie erforderlich [37]. Die Festlegung der Grenze bei 1.000 cps/ml VL ist dabei ein Kompromiss zwischen individuellen und *public health* Interessen. Eine individuelle VL von unter 1.000 cps/ml ist mit einem geringen Risiko einer Krankheitsprogression und einem reduzierten Übertragungsrisiko verknüpft. Gleichzeitig können mit einer VL-Grenze von 1.000 cps/ml mehr Menschen unter ART gerade in Entwicklungs- oder Schwellenländern regelmäßig getestet werden, da so auch andere Untersuchungsmethoden, zum Beispiel durch die Nutzung von getrockneten Blutstropfen auf Filterpapier (*dried blood spots*, DBS), zum Einsatz kommen können [38].

Die aktuell empfohlene *first-line* Behandlung in Südafrika ist eine Dreifachkombination aus TDF, FTC oder 3TC und entweder EFV, DTG oder RPV. Falls die VL im Plasma ≥ 1.000 cps/ml beträgt, sollten zuerst Compliance, Nebenwirkungen und Interaktionen zwischen den Medikamenten überprüft und eventuelle psychologische Probleme erfragt werden. Nach zwei Monaten sollte die VL erneut getestet werden, bei einer Bestätigung der VL von ≥ 1.000 cps/ml kann man von einem Therapieversagen ausgehen. Alternative Therapiestrategien (*second-line* Therapie) ist zum Beispiel eine Kombination aus AZT, 3TC und LPV/r (Lopinavir plus Ritonavir-Boost). Sollte auch mit dieser *second-line* Behandlung kein Therapieerfolg erzielt werden bzw. für den Fall, dass es im Verlauf einer solchen Behandlung zu einem erneuten Therapieversagen kommt, werden die betroffe-

nen Patienten zentral von Experten betreut. Es erfolgen dann Resistenztestungen und basierend auf den Ergebnissen wird eine Therapie zusammengestellt [36].

Zum Zeitpunkt der Studie, 2009, war die empfohlene *first-line* Medikation in Entwicklungs- und Schwellenländern laut der WHO eine Medikation aus zwei NRTIs und einem NNRTI. Die empfohlenen Kombinationen waren hierbei 3TC zusammen mit entweder d4T oder AZT sowie EFV oder NVP (mögliche Kombinationen somit 3TC/d4T/EFV, 3TC/d4T/NVP, 3TC/AZT/EFV, 3TC/AZT/NVP) [39].

1.3. Pooling

Die in dieser Arbeit zur Anwendung kommende Methode des Poolings beruht darauf, dass Proben (Vollblut oder Plasma) von mehreren, verschiedenen Patienten vermischt und dann getestet werden. Die Mischung dieser Proben nennt sich Pool. Pooling wird bisher schon erfolgreich bei der Testung von Blutspenden auf HIV [40] oder bei der Diagnose einer akuten HIV-Infektion angewandt [41-43]. Dabei geht die Methode auf die Syphilis-Testung aus den 1940er Jahren zurück. Hier wurden mehrere Blutproben von Soldaten zusammen (als Pool) auf ein Syphilis-Antigen getestet. Fiel der Test negativ aus, wurde also im gesamten Pool kein Antigen gefunden, waren alle Patienten, deren Blut in diesem Pool vorhanden war, nicht an Syphilis infiziert. Bei positiv getesteten Pools mussten die Proben aller Patienten, deren Blut an diesem Pool beteiligt war, nachgetestet werden [44].

Einen ähnlichen Ablauf entwickelten Smith et al. 2009 in Bezug auf die Testung von HIV. Dabei wendeten sie zwei verschiedenen Pooling-Methoden an, einmal wurden fünf Individuen in einem Pool zusammengefasst (Minipool-Methode). Bei der anderen Vorgehensweise wurden zehn Patienten in einem Pool zusammengefasst, jeder Patient war aber in insgesamt zwei Pools vertreten (Matrix-Methode, siehe auch „Material und Methoden“, Kap 2.2.4. HIV-1 Viruslasttestung mit Pooling nach der Matrix-Methode, S. 35). Beide Pooling-Methoden konnten dabei die Effizienz von VL-Testungen steigern, indem sie bei kaum verringerter Exaktheit eine wesentliche Kosteneinsparung erreichten [45].

1.4. Fragestellung der Arbeit

Die vorliegende Arbeit entstand im Rahmen des von der Deutschen Forschungsgesellschaft (DFG) geförderten Graduiertenkollegs IRTG 1522 (*International Research Training Group*) zum Thema „*HIV/AIDS and associated infectious diseases in Southern Africa*“ in Zusammenarbeit des Missionsärztlichen Instituts in Würzburg und dem Tygerberg Hospital in Kapstadt, Südafrika. Die Studie wurde von Oktober 2009 bis Februar 2010 in Kapstadt, Südafrika, am Tygerberg Hospital der Universität Stellenbosch durchgeführt und von der Ethikkommission der Universität Stellenbosch (*Stellenbosch University Health Research Ethics Committee*) gebilligt. Die Durchführung der Studie wurde finanziell unterstützt (*National Health Laboratory Service, Tygerberg, South Africa, K-fund mechanism*). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit flossen in eine Veröffentlichung im *Journal of Infectious Diseases* im Januar 2011 ein [46] und wurden im Rahmen der 20. Internationalen AIDS Konferenz 2010 in Wien in Form eines Posters vorgestellt.

Ziel der Untersuchung war es, die Kosten für das Monitoring von HIV-positiven Patienten zu reduzieren und damit eine regelmäßige Kontrolle der VL unter Therapie gewährleisten zu können. Hierzu wurden Selektionskriterien herausgearbeitet, die die Wahrscheinlichkeit erhöhten, Patienten mit einer niedrigen VL voraussagen zu können. Dies war nötig, um Pooling-Strategien anwenden zu können, die eine Test- und somit Kosteneinsparung ermöglichen sollten. Ziel war es außerdem, Patienten mit einer hohen VL (≥ 1.000 cps/ml) zu erkennen, da dieser Wert nach der damaligen Definition ein Therapieversagen bedeutete und einen Wechsel auf alternative Medikamente erforderte (*second-line*) [47].

Die Fragestellung der Arbeit zielt also zum einen darauf ab, wie hoch die Quote der Therapieversager in der Studienpopulation war und ob die Anwendung der Pooling-Methode auf diese Population sinnvoll wäre. Bei einer hohen Therapieversagerquote mussten mögliche Selektionskriterien gefunden werden, die die Wahrscheinlichkeit einer geringen Therapieversagerquote erhöhen sollten. Bei der anschließenden Durchführung der Pooling-Methode wurden die Effizienz,

Sensitivität und Spezifität der Messungen berechnet und auch in Betracht gezogen, ob es zu einer Kosten- und/ oder Zeitersparnis im Gegensatz zur Einzel-VL-Bestimmung kommt.

2. Material und Methoden

2.1. Studienaufbau und Studienteilnehmer

Die vorliegende Arbeit entstand im Rahmen des von der Deutschen Forschungsgesellschaft (DFG) geförderten Graduiertenkollegs IRTG 1522 zum Thema „*HIV/AIDS and associated infectious diseases in Southern Africa*“, an dem die Universität Würzburg und die Universität Stellenbosch beteiligt waren. Sprecher der deutschen Seite war Prof. Dr. A. Rethwilm, Sprecher der südafrikanischen Seite Prof. Dr. W. Preiser. Die vorliegende Arbeit wurde in Zusammenarbeit des Missionsärztlichen Instituts in Würzburg und dem Tygerberg Hospital in Kapstadt, Südafrika, durchgeführt. Die Studie wurde von Oktober 2009 bis Februar 2010 in Kapstadt am *Division of Medical Virology* (Klinische Virologie) des *Tygerberg Hospital* der Universität Stellenbosch durchgeführt und von der Ethikkommission der Universität Stellenbosch (*Stellenbosch University Health Research Ethics Committee, Ethics Reference No: N09/11/305*) gebilligt. Die Durchführung der Studie wurde finanziell unterstützt (*National Health Laboratory Service, Tygerberg, South Africa, K-fund mechanism*). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit flossen in eine Veröffentlichung im *Journal of Infectious Diseases* im Januar 2011 ein [46] und wurden im Rahmen der 20. Internationalen AIDS Konferenz 2010 in Wien in Form eines Posters vorgestellt.

Die Studie war in drei Teile gegliedert. Der erste, statistische Teil beschäftigte sich mit der Erhebung von retrospektiven Daten, um zum einen die vorherrschende Häufigkeit einer VL von mind. 1.000 cps/ml in der Routinetestung zu ermitteln. Zum anderen sollten Kriterien gefunden werden, die eine Voraussage einer unterdrückten VL ermöglichten. Im zweiten Teil der Studie wurden Pooling-Experimente sowohl mit der Matrix-, als auch mit der Minipool-Methode durchgeführt. Im letzten Teil der Studie wurde die Minipool-Methode auf die Anwendbarkeit mit auf Filterpapier getrockneten Blutstropfen (DBS) bzw. auf Filterpapier getrockneten Plasmatropfen (*dried plasma spots, DPS*) überprüft. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit den statistischen Voruntersuchungen sowie mit der Durchführung der Matrixpooling-Methode. Die Durchführung der Minipool-Methode sowohl an Frischplasma als auch an getrockneten Blut- und Plasmatropfen

sind Thema der Dissertation von Anna-Teresa Lundershausen („Der Nutzen von Minipools, Dried Blood Spots und Dried Plasma Spots zur Kostenreduktion von HIV-1 RNA Viruslasttestung in ressourcenarmen Ländern am Beispiel von Südafrika“, 2014) [48].

Die in der Studie verwendeten Patientenproben stammen von Patienten der Provinz *Western Cape* in Südafrika. Ursprünglich wurden die Proben im Rahmen der Therapiekontrolle zur Bestimmung der VL und der CD4-Zellzahl entnommen. Ausschließlich Patienten, deren Blutproben in das Labor des *Division of Medical Virology* an der *Faculty of Health Sciences* der *University of Stellenbosch, Tygerberg Hospital*, zur routinemäßigen HIV-1 VL-Testung eingegangen sind, wurden in die Studie einbezogen. In Anhang 2 (S. 84) sind alle Kliniken und Krankenhäuser aufgelistet, deren Proben in diesem Labor getestet wurden.

2.2. Durchführung der Studie

2.2.1. Prinzip des Poolings nach der Matrix-Methode

2.2.1.1. Prinzip des Poolings

Wie oben beschrieben, werden Pooling-Methoden bereits in verschiedenen medizinischen Bereichen eingesetzt. Smith et al. nutzten 2009 Pooling-Methoden, um Kosten bei der VL-Testung beim Monitoring von HIV-positiven Patienten zu sparen. Hierzu untersuchten sie die Möglichkeit der Minipool- und der Matrix-Methode. Da in der vorliegenden Arbeit nur die Matrixmethode zum Einsatz kommt, soll diese näher erklärt werden. Smith et al. testeten 150 Patienten, die jeweils seit sechs Monaten ART erhielten. Diese Patienten wurden einzeln, in Minipools und mit der Matrix-Methode getestet. Insgesamt konnte mehr als die Hälfte der bei der Einzeltestung nötigen Test eingespart werden, während der negative prädiktive Wert bei der Erkennung von Therapieversagern bei einer Schwelle von 500 cps/ml bei 100% und bei einer Schwelle von 250 cps/ml bei 94% lag. Smith et al. folgern aus diesen Ergebnissen, dass Pooling eine kostensparende Methode zur VL-Testung ist [45].

Die Patienten der Studie wurden allerdings aus einem Kollektiv rekrutiert, das generell eine niedrige Zahl an Therapieversagern bzw. Patienten mit hoher VL aufweist. Im Gegensatz dazu weisen Patienten in einem Entwicklungs- oder

Schwellenland, hier am Beispiel Südafrika, möglicherweise oft hohe VL-Werte auf, da u.a. die Medikamentenversorgung wesentlich schwieriger und die Auswahl an Medikamenten geringer ist. Daher mussten in einem ersten Schritt der Studie Selektionskriterien gefunden werden, um die Wahrscheinlichkeit möglichst gering zu halten, dass Proben mit einer hohen VL in einen Pool miteingefügt werden. May et al. konnten zeigen, dass bei einer Wahrscheinlichkeit von Therapieversagern bzw. Patienten mit einer hohen VL von mind. 1.000 cps/ml von über 25% der Nutzen von Pooling deutlich zurück geht [49]. Ebenso wurden die Unterschiede bei der Poolgröße für Minipools und Matrix evaluiert. Laut May et al. waren bei den Minipools die Poolgrößen mit drei oder vier eingeschlossenen Patienten in einen Pool am effizientesten, bei der Matrix-Methode ist die 10x10-Matrix bei einer Prävalenz von Therapieversagern zwischen fünf und 20% am effizientesten. Die Unterschiede zwischen verschiedenen Definitionen von Therapieversagen (ab 500 cps/ml, ab 1.000 cps/ml, ab 1.500 cps/ml) waren dabei gering [49].

Für die vorliegende Arbeit wurde daher die Methode der 10x10-Matrix gewählt. Therapieversagen wurde ab einer Schwelle von 1.000 cps/ml definiert, da ab hier entsprechend der WHO-Richtlinien und der südafrikanischen Richtlinien die Indikation zur Umstellung der Therapie auf *second-line* gegeben ist. Die Prävalenz von Therapieversagern sollte in der Gesamtpopulation des Pools möglichst niedrig sein, um das Pooling möglichst effizient anwenden zu können.

2.2.1.2. Die Matrix-Methode

Bei der Minipool-Methode werden fünf individuelle Patientenproben in einem Pool getestet. Sollte das Ergebnis des Pools negativ sein, bedeutet dies, dass keiner der Patienten positiv ist. In unserer Studie bedeutet dies, dass, sollte keine VL im Pool nachweisbar sein, bei keinem Patienten eine VL nachweisbar ist und alle optimal eingestellt sind. In diesem Fall konnten vier Tests eingespart werden, da nur einer statt fünf Tests durchgeführt werden musste. Sollte der Pool positiv getestet sein, kann entweder automatisch jeder einzelne Patient nachgetestet werden (keine Testeinsparung, sondern insgesamt ein Test mehr), oder es werden die einzelnen Poolbeteiligten nacheinander nachgetestet und das Ergebnis

wird vom Gesamtpool abgezogen. Hierbei kann es sein, dass bereits nach einem der ersten Tests der „Schuldige“ für den positiven Pool gefunden ist und die restlichen Patienten nicht nachgetestet werden müssen. Für genauere Erklärungen verweise ich auf die Arbeit von Anna-Teresa Lundershausen [48].

Bei der Matrix-Methode wird jeder einzelne Patient in zwei Pools integriert. In Abbildung 4 ist eine 10x10 Matrix dargestellt.

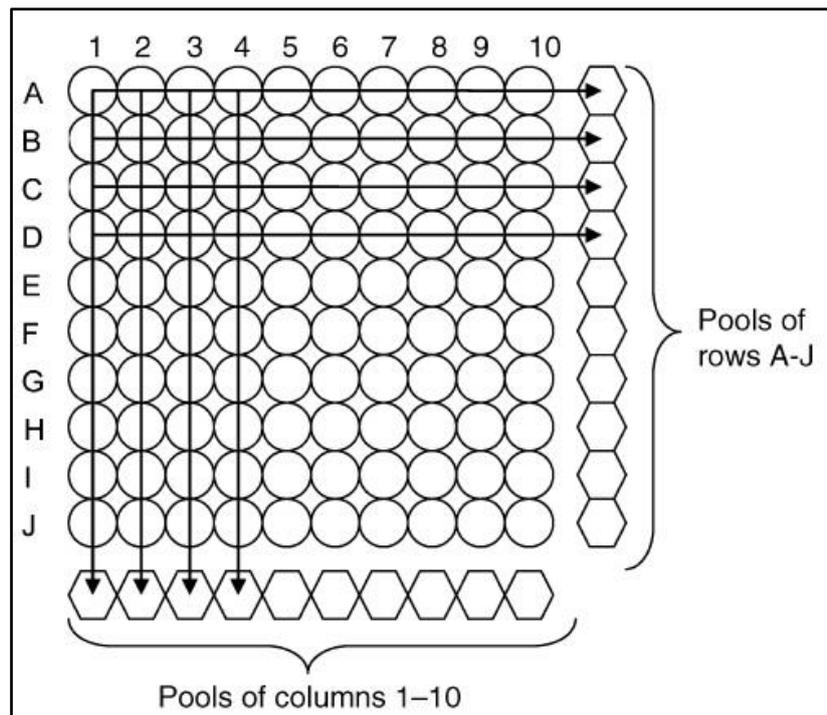


Abb. 4: Pooling nach der Matrix-Methode.

Jeder Patient (Kreis) ist in einem Spalten-Pool (1-10, column) und einem Reihen-Pool (A-J, row) vertreten. Ein Pool ist jeweils als Hexagon dargestellt.

(aus [45], Fig.1.)

Hierbei ist z.B. der erste Patient (erster Kreis oben links) sowohl im Pool der Spalte 1, als auch im Pool der Reihe A vertreten (Individuum A1). Insgesamt werden für eine 10x10 Matrix mit insgesamt 100 Patienten 20 Pools getestet (Pool 1 bis 10 (Spalten-Pools) und Pool A bis J (Reihen-Pools)). Alle Patienten, deren Plasma in einem negativen Pool zusammengefasst war, haben eine VL unter 1.000 cps/ml, sind also therapeutisch ausreichend eingestellt. Da bei der Testung ein ml des Pools in die Testmaschine eingegeben wird, werden bei einem Pool mit insgesamt zehn Individuen jeweils 100 Mikroliter (μ l) vermischt. Da von einer Schwelle von 1.000 cps/ml ausgegangen wird, zählt ein Pool ab

einer VL von 100 cps/ml als positiv, da nur ein Zehntel der mindestens 1.000 HIV-RNA cps/ml eines Patienten in den Pool gegeben werden. Bei einem negativen Pool (<100 cps/ml) haben alle beteiligten Patienten eine VL <1.000 cps/ml. Bei einem positiven Pool (≥ 100 cps/ml) hat die kumulative VL die Grenze überschritten. Dies kann zum einen bedeuten, dass kein Patient eine individuelle VL von über 1.000 cps/ml aufweist, die Summe der VL aller im Pool beteiligten Patienten aber den Grenzwert überschreitet. Zum anderen kann es bedeuten, dass mindestens ein Patient eine VL ≥ 1.000 cps/ml aufweist (theoretisch könnten alle zehn beteiligten Patienten eine VL ≥ 1.000 cps/ml aufweisen).

Um herauszufinden, ob und welcher der beteiligten Patienten eine VL ≥ 1.000 cps/ml aufweist, werden die Ergebnisse der Matrix-Pools daher nach einem bereits entwickelten Algorithmus der Universität von Kalifornien, San Diego, Vereinigte Staaten von Amerika (USA), ausgewertet [45]. Dazu werden die Ergebnisse in ein Programm (*Measurement Enhanced Pooling Assay Calculator*, MEPAC) eingefügt². Das Programm ermittelt anschließend, welche Individuen nachgetestet werden müssen. Je nach ermittelter VL des nachgetesteten Patienten wird der nächste nachzutestende Patient ermittelt, bis die Matrix gelöst, also alle Verursacher von positiven Pools aufgedeckt sind. Dies wird als Dekonvolution der Matrix bezeichnet. Der Algorithmus ermittelt dabei diejenige Einzelprobe, die am wahrscheinlichsten die höchste VL aufweist. Dies ergibt sich aus der Kreuzung des Reihen-Pools mit der höchsten VL mit dem Spalten-Pool mit der höchsten VL. So müsste, falls in Abbildung 4 Pool D die höchste VL der Reihen A bis J und Pool 4 die höchste VL der Spalten 1 bis 10 aufweist, das Individuum D4 nachgetestet werden. Die ermittelte VL wird anschließend erneut in das Programm eingegeben. Dieses zieht die VL nun von Pool D und von Pool 4 ab (unter Berücksichtigung, dass nur ein Zehntel in den Pool einging) und ermittelt unter Berücksichtigung der neuen VL der beiden Pools und der alten VL der anderen Pools das nächste Individuum, das nachgetestet werden muss.

² <http://mepac.ucsd.edu/>

2.2.2. Viruslastmessung

Alle HIV-RNA Plasmatestungen, sowohl individuelle als auch Pool-Testungen, wurden mit Hilfe von NucliSENS® easyQ®, Version 2 System (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Frankreich) durchgeführt. Das untere Erkennungslevel betrug dabei bei einem Testvolumen von einem ml 25 HIV RNA cps/ml [50]. Zur Extraktion der RNA wurde NucliSENS® easyMAG® (bioMérieux) verwendet. Hierbei wird in mehreren Schritten die Virus-RNA automatisch extrahiert. Im ersten Schritt wird ein Puffer zur Plasmaprobe gegeben, der alle zellulären Bestandteile sowie Enzyme zerstört (*Lysis Buffer*). Es werden magnetische Silikate zugefügt, an die die Nucleinsäuren binden. Anschließend werden in mehreren Waschvorgängen die Partikel, die nicht an die magnetischen Silikate gebunden sind, ausgewaschen. In einem dritten Schritt werden die resultierenden Silikat-RNA-Gemische mit einem neuen Puffer vermischt und erwärmt. Im letzten Schritt werden die magnetischen Silikate von den Nucleinsäuren getrennt und es liegt eine Lösung von reiner, konzentrierter Nucleinsäure vor, die anschließend mit Hilfe von NucliSENS® easyQ® amplifiziert und detektiert werden kann [51].

Zur Amplifikation kommt ein RNA-Sequenzierungsverfahren namens *nucleic acid sequence-based amplification* (NASBA) zum Einsatz [52]. Dies ist ein isothermisches Verfahren, das speziell auf die Detektion von RNA-Partikeln ausgerichtet ist. Zunächst wird zu der mit NucliSENS® easyMAG® gereinigten Virus-RNA ein Primer mit einem T7-RNA-Polymerase-Promoter hinzugegeben. Nach Zugabe einer Reversen Transkriptase startet das Ablesen der RNA, es bildet sich ein komplementärer DNA-Strang. Anschließend wird RNase H zugegeben, die die virale RNA aus dem RNA:DNA-Strang entfernt. Der nun einzelne DNA-Strang wird mit Hilfe eines zweiten Primers von der Reversen Transkriptase zu einer doppelsträngigen DNA ergänzt. Zur Amplifikation bindet nun die T7-RNA-Polymerase an den Promoter der Doppelstrang-DNA und produziert RNA-Kopien.

Diese neuen RNA-Kopien dienen erneut als Vorlage für die Reverse Transkriptase. In dieser Phase (zyklische Phase) bindet nun zuerst der zweite Primer an die RNA, mit Hilfe der Reversen Transkriptase entstehen erneut RNA:DNA-Stränge. Diese werden durch die RNase H zu einzelnen DNA-Strängen hydroli-

siert. An diese kann sich nun der erste Primer mit dem T7-RNA-Polymerase-Promoter binden und durch die Reverse Transkriptase wird nun erneut eine Doppelstrang-DNA mit aktiver Promoter-Region gebildet [53, 54].

Zur Quantifizierung der gebildeten RNA-Kopien wird ein Kalibrator zugegeben, außerdem binden fluoreszierende Oligonukleotide an die RNA-Kopien. Aus dem Verhältnis zwischen fluoreszierendem Kalibrator und fluoreszierender Ziel-RNA kann anschließend ein quantitatives Ergebnis errechnet werden. Da die Amplifikation und die Quantifizierung innerhalb des gleichen Probenröhrchens parallel verlaufen, spricht man hier auch von einer Echtzeit-Messung (*real time detection*) [54].

2.2.3. Statistische Untersuchungen

Um Pooling kosteneffektiv einsetzen zu können, sollte die Wahrscheinlichkeit eines Therapieversagens, also einer VL ≥ 1.000 cps/ml, möglichst gering sein. Unklar war zu Beginn der Studie jedoch, wie groß die Rate an Patienten mit einer VL von ≥ 1.000 cps/ml bei der Routinetestung in der Studienpopulation tatsächlich liegt. Daher wurde zuerst eine statistische Voruntersuchung durchgeführt, bei der retrospektiv über einen Zeitraum von zwei Jahren alle durchgeführten VL-Testungen nach Alter, Geschlecht und VL aufgeschlüsselt wurden. Anschließend wurde eine retrospektive, deskriptive Analyse durchgeführt, um Selektionskriterien zu ermitteln.

2.2.3.1. Statistische Voruntersuchung

Alle VL-Testungen von Proben, die in einem Zeitraum von zwei Jahren (1. März 2007 bis 28. Februar 2009) im Labor des *Division of Medical Virology* an der *Faculty of Health Sciences* der *University of Stellenbosch, Tygerberg Hospital*, zur routinemäßigen HIV-1 VL Testung erfolgten, flossen in die Untersuchung mit ein. Dies waren insgesamt die Ergebnisse von 57.608 Testungen. Die statistische Auswertung der Ergebnisse wurde mit Hilfe von Microsoft® Excel 2010 und 2013 sowie IBM® SPSS® Statistics, Version 22 durchgeführt.

2.2.3.2. Retrospektive, deskriptive Analyse

Vier repräsentative Wochen aus dem Zeitraum vom 4. August 2008 bis 2. August 2009 (insgesamt 52 volle Wochen) wurden zufällig ausgewählt. Die Ferienzeit, in der keine Routinetestungen durchgeführt werden, wurde ausgeschlossen (Mitte Dezember 2008 bis Mitte Januar 2009). Ausgewählt wurden die Wochen vom 1. bis 5. September 2008 (Woche fünf von 52, im Folgenden Woche 1 bezeichnet), 2. bis 6. Februar 2009 (Woche 27 von 52, im Folgenden Woche 2 bezeichnet), 2. bis 5. März 2009 (Woche 31 von 52, im Folgenden Woche 3 bezeichnet) und 4. bis 8. Mai 2009 (Woche 40 von 52, im Folgenden Woche 4 bezeichnet). Bei der Auswertung wurden Patienteninformationen genutzt, die von Mitarbeitern des Gesundheitspersonals (meist Krankenpflegepersonal) in den einzelnen Kliniken in der Provinz *Western Cape* auf Anforderungsbögen für die Labortestung (*routine laboratory request forms*, siehe Abbildung 5, S. 32) notiert wurden. Eine Liste aller beteiligten Kliniken und Krankenhäuser findet sich in Anhang 2 (S. 84).

Alle VL-Testungen, die in diesen ausgewählten Wochen im Labor der *Division of Medical Virology* an der *Faculty of Health Sciences* der *University of Stellenbosch*, *Tygerberg Hospital* durchgeführt wurden, wurden in die Studie mit einbezogen. Insgesamt konnten 3.693 VL-Testungen ermittelt werden, die in diesen Wochen durchgeführt wurden. Hierbei konnte es sein, dass ein Patient in mehreren der ausgewählten Wochen wiederholt getestet wurde. Überschneidungen wurden dabei jedoch nicht berücksichtigt, da nur die Anzahl und das quantitative Testergebnis der VL-Testungen entscheidend war. Alle abgedruckten Abbildungen der Testanforderungsbögen oder Ausschnitte davon wurden mit dem Bildbearbeitungsprogramm GIMP 2.8.4 bearbeitet.



NATIONAL HEALTH LABORATORY SERVICE



012321

HOSP./CLINIC		HEALTH CARE WORKER NAME	
WARD		SIGNATURE	
ATTACH PATIENT LABEL HERE PLEASE		TEL. NO.	
HOSPITAL/CLINIC NUMBER		FAX NO.	
SURNAME		PRACTICE NO.	
FIRST NAMES		ADDRESS	
ADDRESS		COPIES TO	
DATE OF BIRTH	GENDER	ETHNIC GROUP	ADDRESS
SPECIMEN TYPE	APPLIES TO PRIVATE PATIENTS ONLY		
DATE TAKEN	TIME TAKEN	HOSP. CLASS	ACCOUNT TO / PRINCIPAL MEMBER
HEALTH DISTRICT			MED AID NAME
RESP. CODE			MED AID NO.
PROJECT ACCOUNT STAMP			DEP CODE
			MEMBER ADDRESS
			MEMBER TEL (H)
			(W):
			ICD10 CODE(S)
CLINICAL INFORMATION			
COMPREHENSIVE CARE, TREATMENT AND MANAGEMENT PROGRAMME SPECIFIC TESTS			
<input type="checkbox"/> CD4 (PLG)	<input type="checkbox"/> Viral Load	<input type="checkbox"/> Hepatitis B sAg	<input type="checkbox"/> Lactate (on ice)
<input type="checkbox"/> HIV PCR	<input type="checkbox"/> FBC & DIFF	<input type="checkbox"/> ALT	<input type="checkbox"/> Cryptosporidium
<input type="checkbox"/> HIV EIA (ELISA)	<input type="checkbox"/> U & E	<input type="checkbox"/> AST	<input type="checkbox"/> Isospora belli
<input type="checkbox"/> HIV RAPID	<input type="checkbox"/> Cholesterol	<input type="checkbox"/> Triglyceride	<input type="checkbox"/> Cryptococcus
			<input type="checkbox"/> TB Direct (AFB)
			<input type="checkbox"/> TB Culture
			<input type="checkbox"/> TB Sens
			<input type="checkbox"/> Pneumocystis jiroveci
			OTHER TESTS:
THE FOLLOWING DETAILS MUST BE COMPLETED		PLEASE NOTE	
ID Number: <input type="text"/>		Please note that this form must be used in compliance with your provincial treatment guidelines and financial protocols.	
Current HIV Programme Status (Please tick only one): PMTCT <input type="checkbox"/> Patient on PMTCT programme NEW <input type="checkbox"/> Has just enrolled in HIV care, first ever HIV-related blood tests TFI <input type="checkbox"/> Previous CD4 elsewhere, first follow-up here, not yet on ART FU <input type="checkbox"/> Previous CD4 here, testing as part of follow-up care, not yet on ART CARV <input type="checkbox"/> Currently on the antiretrovirals marked alongside Has started ART, but was not on ARVs at the time of these tests due to: TOX <input type="checkbox"/> Toxicity NC <input type="checkbox"/> Non-Compliance VF <input type="checkbox"/> Virological Failure OTHER <input type="checkbox"/> Other		Current treatment <input type="checkbox"/> d4t <input type="checkbox"/> 3TC <input type="checkbox"/> EFV <input type="checkbox"/> AZT <input type="checkbox"/> ddI <input type="checkbox"/> NVP <input type="checkbox"/> ABC <input type="checkbox"/> KLT <input type="checkbox"/> TDF <input type="checkbox"/> SQV Other ARV: <input type="text"/> <input type="checkbox"/> RTV <input type="checkbox"/> Cotrimoxazole <input type="checkbox"/> Fluconazole <input type="checkbox"/> INH <input type="checkbox"/> Rif Other drugs: <input type="text"/>	
Additional HIV Programme Status: Patient is about to start ART and these are baseline tests: NAI <input type="checkbox"/> Naïve EXPP <input type="checkbox"/> PMTCT EXPA <input type="checkbox"/> Treatment experienced		APPLY BAR CODE LENGTHWISE DO NOT WRAP AROUND 	
Has this patient been transferred in from another program, e.g. TBCP <input type="checkbox"/> YES <input type="checkbox"/> NO		 AAQV3260A  AAQV3260A  AAQV3260A  AAQV3260A  AAQV3260A  AAQV3260A	
Months since first enrolling on ART at this facility irrespective of stops and restarts <input type="text"/>		<input type="text"/> 6 <input type="text"/> 12 <input type="text"/> 18 <input type="text"/> 24 Other: <input type="text"/>	

Abb. 5: Anforderungsbogen für die Labortestung (*routine laboratory request form*), unausgefüllt

Die VL-Testungen wurden zusammen mit den Angaben auf den Patienteninformationsbögen ausgewertet, um mögliche Selektionskriterien zu finden, die eine Voraussage einer VL von ≥ 1.000 cps/ml möglich machen konnten. Generell sollten die Selektionskriterien möglichst einfach erfahrbar (also z.B. ohne invasive Diagnostik) und auf möglichst viele Menschen anwendbar sein. Hierzu wurden alle Angaben, die auf dem Anforderungsbogen auszulesen waren, erfasst und die Anzahl der betroffenen Patienten sowie ihre jeweilige VL miteinander verglichen.

Mögliche Informationen auf dem Anforderungsblatt befanden sich zum einen im oberen Drittel des Blattes, aus dem der Ort der Klinik bzw. des Krankenhauses sowie das Alter und das Geschlecht des Patienten abzulesen waren (siehe Abbildung 6).

HOSP./CLINIC			
WARD			
ATTACH PATIENT LABEL HERE PLEASE			
HOSPITAL/ CLINIC NUMBER			
SURNAME			
FIRST NAMES			
ADDRESS			
DATE OF BIRTH	GENDER	ETHNIC GROUP	
SPECIMEN TYPE			
DATE TAKEN	TIME TAKEN	HOSP. CLASS	
HEALTH DISTRICT			
RESP. CODE			
PROJECT ACCOUNT STAMP			

Abb. 6: Spezifische, patientenbezogene Daten

Weitere Informationen, die aufgenommen wurden, befanden sich im unteren linken Drittel des Blattes im Bereich über den aktuellen HIV-Status des Patienten

(Abbildung 7). Hier wurde oft auch der Zeitraum vermerkt, in dem der Patient bereits ART erhielt.

Current HIV Programme Status (Please tick only one):	
PMTCT	<input type="checkbox"/> Patient on PMTCT programme
NEW	<input type="checkbox"/> Has just enrolled in HIV care, first ever HIV-related blood tests
TFI	<input type="checkbox"/> Previous CD4 elsewhere, first follow-up here, not yet on ART
FU	<input type="checkbox"/> Previous CD4 here, testing as part of follow-up care, not yet on ART
CARV	<input type="checkbox"/> Currently on the antiretrovirals marked alongside
Has started ART, but was not on ARVs at the time of these tests due to:	
TOX	<input type="checkbox"/> Toxicity
NC	<input type="checkbox"/> Non-Compliance
VF	<input type="checkbox"/> Virological Failure
OTHER	<input type="checkbox"/> Other
Additional HIV Programme Status:	
Patient is about to start ART and these are baseline tests:	
NAI	<input type="checkbox"/> Naïve
EXPP	<input type="checkbox"/> PMTCT
EXPA	<input type="checkbox"/> Treatment experienced
Has this patient been transferred in from another program, e.g. TBCP	
YES NO	
Months since first enrolling on ART at this facility irrespective of stops and restarts	
6 12 18 24 Other:	

Abb. 7: Aktueller HIV-Programmstatus des Patienten

Im mittleren Bereich des Anforderungsblattes war Platz für einen Freitext über klinische Symptome bzw. Beschwerden. Darunter wurde die eigentliche Testanforderung vermerkt (Abbildung 8).

CLINICAL INFORMATION					
COMPREHENSIVE CARE, TREATMENT AND MANAGEMENT PROGRAMME SPECIFIC TESTS					
<input type="checkbox"/> CD4 (PLG)	<input type="checkbox"/> Viral Load	<input type="checkbox"/> Hepatitis B sAg	<input type="checkbox"/> Lactate (on ice)	<input type="checkbox"/> TB Direct (AFB)	OTHER TESTS:
<input type="checkbox"/> HIV PCR	<input type="checkbox"/> FBC & DIFF	<input type="checkbox"/> ALT	<input type="checkbox"/> Cryptosporidium	<input type="checkbox"/> TB Culture	
<input type="checkbox"/> HIV EIA (ELISA)	<input type="checkbox"/> U & E	<input type="checkbox"/> AST	<input type="checkbox"/> Isospora belli	<input type="checkbox"/> TB Sens	
<input type="checkbox"/> HIV RAPID	<input type="checkbox"/> Cholesterol	<input type="checkbox"/> Triglyceride	<input type="checkbox"/> Cryptococcus	<input type="checkbox"/> Pneumocystis jiroveci	

Abb. 8: Klinische Informationen und Testanforderung

Im unteren Bereich des Anforderungsblattes fand sich zudem ein Abschnitt über die aktuelle Medikation des Patienten (Abbildung 9).

The image shows a form titled "Current treatment" with a grid of checkboxes for different medications. The medications listed are: d4t, 3TC, EFV, AZT, ddi, NVP, ABC, KLT, TDF, SQV, Other ARV, and RTV. Below this grid, there are checkboxes for Cotrimoxazole, Fluconazole, INH, and Rif. At the bottom, there is a field for "Other drugs:" followed by a blank line.

Abb. 9: Aktuelle Medikation³

Alle Informationen wurden mit der getesteten VL in Zusammenhang gebracht und ausgewertet. Im Anschluss daran wurden Kriterien definiert, die am besten eine Voraussage über eine wahrscheinliche VL-Erhöhung ≥ 1.000 cps/ml treffen konnten. Die Auswertung erfolgte mit Microsoft® Excel 2010 und 2013, sowie mit IBM® SPSS® Statistics, Version 22. Die gefundenen Kriterien wurden anschließend auf prospektiv ausgewählte Plasmaproben angewandt, die für die folgenden Pooling-Versuche verwendet wurden. Dabei wurden nur Proben ausgewählt, die ein ausreichendes Plasmavolumen aufwiesen.

2.2.4. HIV-1 Viruslasttestung mit Pooling nach der Matrix-Methode

300 Blutplasmaproben wurden nach den gefunden Selektionskriterien ausgewählt und nach der Matrix-Methode in drei 10x10 Matrices gepoolt. Weitere Auswahlkriterien waren ein erforderliches Plasmavolumen von mind. 500 μ l, damit eventuelle Nachtestungen noch möglich waren, und, dass die ausgewählten Proben in keiner anderen Studie zur Verwendung kamen. Die Pooltestung wurde im Vergleich zur vorher bereits routinemäßig erfolgten Einzeltestung auf Effizienz und Genauigkeit untersucht. Die Zeit, die die Erstellung der Matrices erforderte,

³ Abkürzungen der einzelnen Medikamente siehe Abkürzungsverzeichnis

wurde aufgezeichnet. Bei den einzelnen Pools wurde zuerst im NucliSENS® easyMAG® (bioMérieux) die Virus-RNA extrahiert, die dann im NucliSENS® easyQ®, Version 2 System (bioMérieux) amplifiziert wurde (siehe oben, S. 29 f.). Auch alle vorherigen Einzeltestungen erfolgten an beiden Geräten.

Die zu erkennende VL-Grenze wurde auf 1.000 cps/ml festgelegt, da ab dieser VL ein Wechsel des Therapieschemas von *first-* auf *second-line* erfolgte. Bei der Anwendung von 10x10 Matrizen wurde daher der Grenzwert eines Matrixpools auf 100 cps/ml festgelegt. Da von jedem der zehn an diesem Pool beteiligten Patienten nur 100 µl Plasma in den Pool einfließen, würde auch nur ein Zehntel der VL pro ml in den Pool übertragen werden. Ab diesem Wert wurde der Pool als positiv betrachtet. Pools mit einer detektierbaren VL, die aber <100 cps/ml lag, wurden ebenso wie Pools mit einer nicht detektierbaren VL (LDL, *lower than detectable level*) als negativ gewertet und nicht nachgetestet. Bei negativen Pools wurde anschließend davon ausgegangen, dass alle im Pool beteiligten Patienten eine VL <1.000 cps/ml aufwiesen. Abschließend wurden der negative prädiktive Wert, die Zahl der durchgeführten Tests im Vergleich zur Einzeltestung sowie die Effizienz und die Kostenersparnis der Matrix-Methode errechnet.

Bei der Durchführung wurden die bei -80°C gelagerten Plasmaproben bei Zimmertemperatur erwärmt und aufgetaut. Zehn Proben von jeweils 110 µl Plasma wurden in einem Eppendorf-Gefäß gepoolt und für drei Sekunden auf einem Vortex-Mischer durchmischt. Anschließend wurde ein ml jedes Pools (bei einer 10x10 Matrix insgesamt 20 Pools) mit NucliSENS® easyQ® getestet. Insgesamt wurden drei Matrizen durchgeführt und somit 60 Pools getestet. Die anschließenden Poolergebnisse wurden mit Hilfe des Programms MEPAC ausgewertet. Die Eingabe der Einzelergebnisse bei der Dekonvolution erfolgte über die bereits vorher getesteten Einzeluntersuchungen. Es wurden keine Einzeltestungen erneut durchgeführt. Die abschließende Errechnung der Kostenersparnis ging von einem durchschnittlichen Preis von 40 US-Dollar (US\$, entsprach 2009 ZAR 300) pro Einzeltestung der VL eines Patienten aus. Die Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe von Microsoft® Excel 2010 und 2013, sowie IBM® SPSS® Version 22.

3. Ergebnisse

3.1. Statische Untersuchung

3.1.1. Statistische Voruntersuchung

Insgesamt wurden im Zeitraum von zwei Jahren (1. März 2007 bis 28. Februar 2009) 57.608 HIV-1 VL-Testungen am Labor des *Division of Medical Virology* an der *Faculty of Health Sciences* der *University of Stellenbosch, Tygerberg Hospital*, Südafrika, durchgeführt. Es wurden nur die Testungen in die Untersuchung aufgenommen, bei denen Informationen sowohl über Alter, Geschlecht als auch VL vorlagen. Dies traf auf 54.501 Testergebnisse zu. Insgesamt waren von den 54.501 getesteten Patienten 66,3% weiblich (36.127) und 33,7% männlich (18.374). Der Alters-Mittelwert lag bei 32,51 Jahren mit einer Standardabweichung von 13,31 Jahren. Der Alters-Median lag bei 34,0 Jahren. Dabei wurde eine Spanne von einem Alter von einem Tag bis zu einem Alter von 107⁴ Jahren erreicht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Parameter	Ergebnis
Erhobene Daten insgesamt	57.608
Eingeschlossene Patienten	54.501 (100%)
weiblich	36.127 (66,3%)
männlich	18.374 (33,7%)
Alter (Bereich)	1 Tag bis 107 Jahre
Alter (Mittelwert)	32,51 Jahre
Standardabweichung	13,31 Jahre
Alter (Median)	34,0 Jahre

Tab. 3: Überblick über die Studienpopulation

Die Tatsache, dass fast doppelt so viele Frauen wie Männer in die Studie eingeschlossen wurden, lag am ehesten daran, dass alle schwangeren Frauen, die eine Schwangerenvorsorge aufsuchten, auf HIV getestet wurden. Dadurch war

⁴ Zwar erscheint die Altersangabe von 107 Jahren als sehr unwahrscheinlich, da es sich aber um retrospektiv erhobene Daten handelte und die Plausibilität der Altersangaben nicht überprüft werden konnte, wurde mit den angegebenen Daten gearbeitet.

die Erfassungsquote bei Frauen deutlich höher als bei Männern, die sich selbst aktiv zur HIV-Testung entscheiden mussten.

Die Ergebnisse der VL-Testungen wurden nach fünf Gruppen aufgeschlüsselt. Die erste Gruppe bestand aus allen Testungen, deren Ergebnis unterhalb der Nachweisgrenze von 25 cps/ml Plasma lag. 70,2% aller Patienten (38.262) fielen in diese Gruppe. In Gruppe zwei wurden VL-Testergebnisse <500 cps/ml zusammengefasst. Mit 4.277 Patienten waren 7,8% aller Teilnehmenden in dieser Gruppe vertreten. In der dritten Gruppe wurden die VL-Testergebnisse von ≥ 500 bis <1.000 cps/ml erfasst. 2% der Patienten (1.083) erreichten dieses Testergebnis. Die vierte Gruppe beinhaltete VL-Ergebnisse von ≥ 1.000 bis <5.000 cps/ml. In dieser Gruppe wurden 5,3% der Patienten (2.909) eingeordnet. Die letzte Gruppe bildeten alle Ergebnisse mit einer VL von ≥ 5.000 cps/ml. Dies waren insgesamt 7.970 Patienten, 14,6% der Gesamtpatientenzahl. Die Ergebnisse sind in Abbildung 10 dargestellt. Eine VL von ≥ 1.000 cps/ml (Gruppe 4 und 5) wiesen also insgesamt 10.879 Patienten und damit 19,9% aller getesteten Patienten auf.

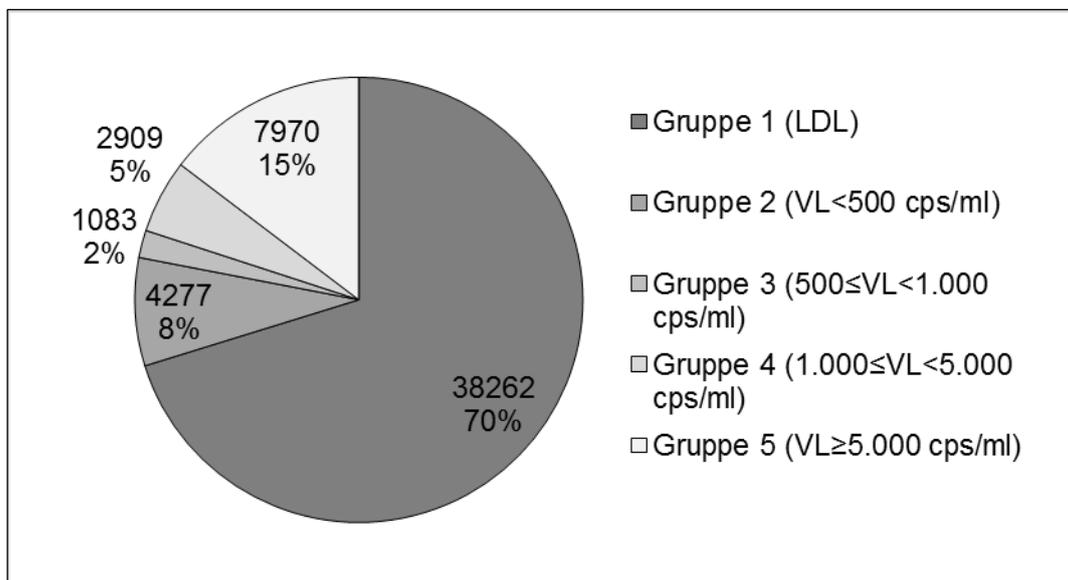


Abb. 10: Verteilung der VL innerhalb der Studienpopulation (Gesamtzahl $N_{\text{ges}} = 54.501$, Prozentangaben gerundet)

In Tabelle 4 sind die Ergebnisse der VL-Testung in Bezug auf das Alter aufgeschlüsselt. Hierzu wurden Patienten <16 Jahre und Patienten ab 16 Jahren zu zwei Gruppen zusammengefasst. Deutlich zu sehen ist, dass bei den Patienten

<16 Jahre mit 32,9% (2.204 von insgesamt 6.692 Patienten <16 Jahre) prozentual wesentlich mehr in Gruppe 4 oder 5 einzuordnen sind, als bei den Patienten ab 16 Jahren. Die Rate derjenigen, die keine nachweisbare VL besitzen (LDL), beträgt dagegen nur 59,0% im Vergleich zu 71,8% bei den Patienten ab 16 Jahren.

	Gruppe 1 (LDL)	Gruppe 2 (VL<500 cps/ml)	Gruppe 3 (500≤VL <1.000 cps/ml)	Gruppe 4 (1.000≤VL <5.000 cps/ml)	Gruppe 5 (VL≥5.000 cps/ml)	Gesamt
Alter <16 Jahre	3.948	382	158	421	1.783	6.692
Prozent	59,0%	5,7%	2,4%	6,3%	26,6%	
Alter ≥16 Jahre	34.314	3.895	925	2.488	6.187	47.809
Prozent	71,8%	8,1%	1,9%	5,2%	12,9%	
Gesamt	38.262	4.277	1.083	2.909	7.970	54.501
Prozent	70,2%	7,8%	2,0%	5,3%	14,6%	

Tab. 4: Viruslastverteilung in Bezug auf das Alter (N_{ges} = 54.501)

Die Ergebnisse der statistischen Voruntersuchungen ergaben also eine Rate an Therapieversagern (VL ≥1.000 cps/ml, Gruppe 4 und 5) von insgesamt 19,9%. In der Gruppe der unter 16-Jährigen erreichte dieser Wert sogar 32,9%. Pooling-Methoden würden mit dieser Rate an Therapieversagern nicht kosteneffektiv sein [49]. Daher wurden in einem nächsten Schritt Kriterien gesucht, die eine möglichst geringe Therapieversagerquote bewirken sollten.

3.1.2. Retrospektive, deskriptive Analyse

Vier repräsentative Arbeitswochen aus dem Zeitraum vom 4. August 2008 bis 2. August 2009 (insgesamt 52 volle Wochen) wurden zufällig bestimmt. Ausgewählt wurden die Wochen vom 1. bis 5. September 2008 (Woche 1), 2. bis 6. Februar 2009 (Woche 2), 2. bis 5. März 2009 (Woche 3) und 4. bis 8. Mai 2009 (Woche 4). Bei der Auswertung wurden Patienteninformationen genutzt, die von Mitarbeitern des Gesundheitspersonals (meist Krankenpflegepersonal) in den einzelnen Kliniken in der Provinz *Western Cape* auf Anforderungsbögen für die Labortestung notiert wurden. Bei 3.693 Patienten wurde in diesen Wochen die

VL bestimmt. In die Studie eingeschlossen wurden nur Patienten, von denen Alter und VL bekannt waren. Dies traf auf insgesamt 2.522 Patienten⁵ zu. 1.881 Patienten von diesen 2.522 Patienten hatten eine VL unterhalb der Nachweisgrenze (74,6%). Der Mittelwert der VL betrug 13.318,45 cps/ml mit einer Standardabweichung von 133.406,066 cps/ml (Minimum 0 cps/ml, Maximum >3.000.000 cps/ml). 277 von 2.522 hatten eine nachweisbare VL, die aber <1.000 cps/ml betrug (11,0%). 364 von 2.522 Patienten hatten eine VL von ≥ 1.000 cps/ml (14,4%). Tabelle 5 gibt einen Überblick über die einzelnen Wochen und die Rate an Patienten mit einer VL von ≥ 1.000 cps/ml:

Woche	Aufgenommene Anforderungsbögen	Eingeschlossene Patienten (Alter und VL bekannt)	Rate an eingeschlossenen Pat. mit VL ≥ 1.000 cps/ml
1	630	529	13,4%
2	1.023	855	13,0%
3	1.095	360	23,1%
4	945	778	12,7%
Gesamt	3.693	2.522	14,4%

Tab. 5: Überblick über die Studienpopulation

3.1.2.1. Therapieversagerquote abhängig von Alter oder Geschlecht

Insgesamt waren von den 2.522 eingeschlossenen Patienten 1.693 weiblich und 815 männlich. Bei 14 Patienten war das Geschlecht nicht angegeben. Die Frauen waren im Mittel 32,7 Jahre alt, mit einer Standardabweichung von 11,3 Jahren (Minimum 0 Jahre, Maximum 85 Jahre), bei den Männern lag der Mittelwert bei 33,5 Jahren, mit einer Standardabweichung von 15,0 Jahren (Minimum 0 Jahre, Maximum 68 Jahre). Dabei konnte ein deutlicher Unterschied in der Verteilung des Geschlechts auf die Altersklassen festgestellt werden. War bei den unter 16- Jährigen mit 135 männlichen zu 127 weiblichen Patienten (vier unbe-

⁵ Auf Grund kleiner Unterschiede beim Einschluss der Patienten unterscheidet sich diese Zahl von der Veröffentlichung 2011 (van Zyl et al. [39]). Die Ergebnisse und die daraus gezogenen Aussagen unterscheiden sich aber nicht.

kannt) das Geschlechtsverhältnis beinahe ausgeglichen, so waren bei den Patienten ab 16 Jahren mehr als doppelt so viele Frauen (1.566) wie Männer (680) vertreten (zehn unbekannt). Dieser Unterschied zwischen Alter und Geschlecht war mit $p < 0,001$ hoch signifikant. Die Therapieversagerquote abhängig vom Geschlecht war jedoch nicht signifikant unterschiedlich ($p = 0,565$). So wiesen 239 der 1.693 Frauen eine VL von ≥ 1.000 cps/ml auf (14,1%), bei den Männern betraf dies 124 von 815 Patienten (15,2%). Bei den Patienten unbekanntes Geschlechts wies einer von 14 eine VL von ≥ 1.000 cps/ml auf (7,1%). Ein Selektionskriterium abhängig vom Geschlecht war somit nicht sinnvoll.

Der Unterschied der Gruppe der unter 16-Jährigen im Vergleich zur Gruppe der ≥ 16 -Jährigen in Bezug auf die Therapieversagerquote wurde als nächstes untersucht. Hierbei konnte ein hoch signifikanter Unterschied ($p < 0,001$) zwischen Alter und einer VL von ≥ 1.000 cps/ml festgestellt werden. So lag die Rate der Patienten mit einer VL von ≥ 1.000 cps/ml bei den unter 16-Jährigen bei 24,4% (65 von 266) im Vergleich zu einer Rate von 13,3% bei den Patienten ab 16 Jahren (299 von 2.256). Ein Unterschied zwischen den Geschlechtern in den jeweiligen Altersklassen konnte dabei nicht festgestellt werden. Bei den Patientinnen lagen die jeweiligen Quoten bei 23,6% (< 16 Jahre, 30 von 127) und 13,3% (≥ 16 Jahre, 209 von 1.566), bei den Männern bei 25,9% (< 16 Jahre, 35 von 135) und 13,1% (≥ 16 Jahre, 89 von 680). Somit konnte das Selektionskriterium „Alter ≥ 16 Jahre“ definiert werden.

Tabelle 6 fasst die Ergebnisse noch einmal zusammen.

	Geschlecht						ges.
	weiblich		männlich		unbekannt		
Anzahl	1.693		815		14		2.522
Therapieversagerquote	14,1%		15,2%		7,1%		14,4%
	Alter		Alter		Alter		ges.
	< 16 J.	≥ 16 J.	< 16 J.	≥ 16 J.	< 16 J.	≥ 16 J.	
Anzahl	127	1.566	135	680	4	10	2.522
Therapieversagerquote	23,6%	13,3%	25,9%	13,1%	0%	10%	14,4%

Tab. 6: Therapieversagerquote (VL ≥ 1.000 cps/ml) abhängig von Geschlecht und Alter der Patienten

3.1.2.2. Therapieversagerquote abhängig von Medikationsdauer

Ein weiterer Aspekt, nach dem die Vorauswahl zur Anwendung der Pooling-Methoden stattfinden könnte, ist die Dauer und Art der Therapie. So wurde bei 53,8% der Anforderungsbögen die Zeit, die der Patient bereits ART bekam, dokumentiert (1.357). Dies erfolgte auf dem Anforderungsbogen in einem vorgedruckten Bereich, der in Abbildung 7 (S. 34) zu sehen ist. Mit längerer Therapiedauer steigt die Wahrscheinlichkeit, dass der Patient gut eingestellt ist und die HIV-Replikationsrate gering ist. Daher wurde eine Marke von mindestens sechs Monaten ART-Bezug definiert und verglichen, ob sich die Therapieversagerquote bei Patienten, die weniger als sechs Monate ART erhielten, unterschied zu Patienten, die bereits mindestens sechs Monate therapiert wurden.

Nur 57 Patienten wurden weniger als sechs Monate therapiert. Dabei lag die Rate an Patienten mit einer VL von ≥ 1.000 cps/ml bei 8,8% (fünf von 57). 1.300 Patienten erhielten seit mindestens sechs Monaten ART, die Rate der Therapieversager lag hier bei 14,2% (85 von 1.300). Bei insgesamt 1.165 Patienten wurden keine Angaben gemacht, ob oder wie lange die Patienten bereits therapiert wurden. In dieser Gruppe lag die Therapieversagerquote bei 14,9% (174 von 1.165). Der Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen in Bezug auf die Therapieversagerquote war dabei nicht signifikant ($p=0,415$). Da nur wenige Patienten (2,2% aller Patienten) eine dokumentierte Medikationszeit von weniger als sechs Monaten aufwiesen und die Unterschiede in den einzelnen Gruppen nicht signifikant waren, konnte dieses Kriterium nicht als Selektionskriterium ausgewählt werden.

3.1.2.3. Therapieversagerquote abhängig von der Medikationsart

Bei der Erfassung der Medikationsart wurden zwei Bereiche des Anforderungsbogens beachtet. Zum einen wurde festgehalten, wie viele Patienten als CARV (*currently on the antiretrovirals marked alongside* – Patient erhält die nebenstehend angegebenen Medikamente) markiert wurden. Dies findet sich auf dem Anforderungsbogen bei „weitergehende Informationen“ (Abbildung 7, S. 34). Außerdem wurden alle Patienten beachtet, deren aktuelle Medikation angegeben

war (Abbildung 9, S. 35). Erwartungsgemäß gab es zahlreiche Überschneidungen, da oft sowohl CARV angekreuzt, als auch die tatsächliche Medikation angegeben war. Dies war bei 2.083 Patienten der Fall. In 57 Fällen war CARV markiert, allerdings keine exakte Medikation angegeben. In 381 Fällen war weder CARV markiert, noch Medikation angegeben. Insgesamt wurden 2.141 Patienten als CARV markiert und bei 2.084 Patienten war eine Medikation aufgeführt.

Die Rate der Patienten mit einer VL von ≥ 1.000 cps/ml, die als CARV markiert waren, betrug dabei 14,2% (304 von 2.141). Die Rate an Therapieversagern, die nicht als CARV markiert waren, betrug 15,7% (60 von 381). Der Unterschied war allerdings nicht signifikant ($p=0,428$). Bei den Patienten, bei denen eine ART angegeben war, lag die Rate an Therapieversagern bei 14,0% (292 von 2.084) im Vergleich zu 16,4% (72 von 438), bei denen keine exakte Medikation benannt war. Der Unterschied war auch hier nicht signifikant ($p=0,197$). Das Auswahlkriterium „Patient erhält eine ART“ konnte also nicht zu einer Reduktion der Therapieversagerquote beitragen. Deshalb wurde anschließend untersucht, ob bei bestimmten Medikamentenkombinationen ein Unterschied bei der Therapieversagerquote zu erkennen war.

Insgesamt erhielten 2.084 Patienten eine ART, bei der die einzelnen Medikamente bekannt waren. Am meisten wurde dabei Lamivudin (3TC) mit 1.985 Fällen verabreicht. Stavudin (d4T) wurde in 1.478 Fällen gegeben, in 1.135 Fällen wurde Efavirenz (EFV) und in 735 Fällen Nevirapin (NVP) verschrieben. Von den Patienten, die eine Kombinationstherapie mit dem Bestandteil 3TC erhielten, wiesen 275 Patienten eine VL von ≥ 1.000 cps/ml auf (13,9%, nicht signifikant, $p=0,116$). 13,7% der Patienten, bei denen d4T ein Therapiebestandteil war, hatten eine VL von ≥ 1.000 cps/ml (203 von 1478, nicht signifikant, $p=0,235$). Patienten, die eine Therapie mit EFV erhielten, waren in 13,1% Therapieversager (149 von 1135, nicht signifikant, $p=0,092$). Bei einem Therapiekonzept, das auf NVP basierte, waren 14,3% der Patienten Therapieversager mit einer VL von ≥ 1.000 cps/ml (105 von 630, nicht signifikant, $p=0,893$). Tabelle 7 gibt einen Überblick über die verabreichten Medikamente.

Medikament	Anzahl an Patienten, die das Medikament erhielten (2.084 Patienten erhielten mindestens ein Medikament)	Rate an Patienten mit einer VL \geq 1.000 cps/ml
3TC	1.985	13,9%
d4T	1.478	13,7%
EFV	1.135	13,1%
NVP	735	14,3%
AZT	569	14,9%
ddi	91	17,6%
TDF	18	27,8%
sonstige	26	

Tab. 7: Überblick über die verabreichten antiviralen Medikamente

1.472 Patienten erhielten eine Kombination aus mindestens 3TC und d4T. 910 Patienten erhielten die Kombination d4T, 3TC und EFV, 486 erhielten die Kombination d4T, 3TC und NVP. 488 Patienten erhielten eine Kombination mit mind. 3TC und AZT. Eine Kombinationstherapie, bei der entweder EFV oder NVP Bestandteil waren, also ein NNRTI an der Therapie beteiligt war, war 2009 die Definition einer *first-line* Medikation [39]. Es erhielten 1.867 Patienten eine Kombinationstherapie mit entweder EFV oder NVP. Drei Patienten erhielten eine Therapie, bei denen beide Medikamente Bestandteil waren, wobei zwei Patienten die Kombination d4T, EFV und NVP erhielten und ein Patient die Kombination AZT, 3TC, EFV und NVP erhielt. Diese drei Patienten wurden nicht in die Gruppe der Patienten einbezogen, die *first-line* Medikamente erhielten.

Von den 1.472 Patienten, die eine Kombinationstherapie mit mindestens den Bestandteilen 3TC und d4T erhielten, lag die Therapieversagerquote bei 13,6% (200 von 1.472, nicht signifikant, $p=0,549$). 14,3% der Patienten, die eine Kombination von mindestens 3TC und AZT erhielten, wiesen eine VL von \geq 1.000 cps/ml auf (70 von 488, nicht signifikant, $p=0,722$). Einzig bei den Patienten, die eine *first-line* Therapie erhielten, kam es zu einer signifikanten Reduktion der Therapieversagerquote auf 13,6% (253 von 1.867, $p=0,033$). Daher wurde als weiteres Selektionskriterium „erhält ein auf NNRTI basierendes Therapieschema“ festgesetzt. In Tabelle 8 sind die Ergebnisse noch einmal aufgeführt.

Medikament	Anzahl an Patienten, die die Kombination erhielten	Rate an Patienten mit einer VL ≥ 1.000 cps/ml	Signifikanzniveau
Kombination aus 3TC + d4T (+ entweder EFV oder NVP)	1.472	13,6%	p=0,549
Kombination aus 3TC + AZT (+ entweder EFV oder NVP)	488	14,3%	p=0,722
Medikation basierend auf einem NNRTI (EFV oder NVP)	1.867	13,6%*	p=0,033*

Tab. 8: Überblick über verschiedene Medikamentenkombinationen (* signifikante Reduktion der Rate an Therapieversagen)

3.1.2.4. Therapieversagerquote abhängig von klinischen Informationen

Klinische Informationen konnten auf dem Anforderungsbogen sowohl als Freitext im Feld *clinical information* (siehe Abbildung 8, S. 34), als auch im Feld *HIV Programme Status* (siehe Abbildung 7, S. 34) vermerkt sein. Beispiele für ausgefüllte Anforderungsbögen und deren Einordnung sind im Anhang angegeben (siehe Anhang 3, S. 92). Häufig genannte Begriffe im Feld *clinical information* waren Monitoring, Hinweise auf eine Tuberkulose- bzw. pulmonale Tuberkuloseerkrankung, *baseline* (VL-Testung bei Neudiagnose), *start* oder *restart* (Beginn bzw. erneuter Beginn einer Therapie), RVD + (Patient leidet an einer Erkrankung mit einem Retrovirus, *retroviral disease positive*), *failure* (es bestehen Hinweise auf ein Therapieversagen) und *pregnant* (Patientin ist schwanger). Insgesamt lagen zu 571 Patienten klinische Informationen vor. Die Verteilung auf die oben genannten Kategorien und die Rate an Patienten, die eine VL von ≥ 1.000 cps/ml in diesen Kategorien aufweisen, sind in Tabelle 8 aufgeführt.

Hierbei ist zu beachten, dass die Summe der einzelnen Kategorien die Zahl der Patienten, bei denen eine Information angegeben war, übersteigt, da bei manchen Patienten mehrere Informationen angegeben wurden. Zwei Kategorien

wiesen einen signifikanten Zusammenhang auf. So ist die Abhängigkeit der Therapieversagerquote mit Patienten der Kategorie *baseline/start/restart* und der Kategorie „andere klinische Information“ signifikant ($p=0,011$ bzw. $p=0,038$, in Tabelle 9 mit * gekennzeichnet). Zur Kategorie „andere klinische Informationen“ zählten dabei u.a. die Angaben Lipodystrophie, Nephropathie oder Leberfunktionsstörung (*liver disfunction*). Diese lassen auf akute Nebenwirkungen der ART schließen und stehen deshalb im Zusammenhang mit einem Therapieversagen. Allerdings war die Anzahl der Angaben in beiden Kategorien so gering, dass sich ein Selektionskriterium „klinische Information“ als nicht sinnvoll erwies.

Kategorie	Anzahl	Rate an Patienten mit einer VL \geq 1.000 cps/ml	Signifikanzniveau
Monitoring	386	13,7%	$p=0,670$
Hinweise auf eine Tuberkuloseerkrankung	27	7,4%	$p=0,296$
<i>baseline/start/restart</i>	29	31,0%	$p=0,011^*$
RVD +	24	16,7%	$p=0,754$
<i>failure</i>	42	23,8%	$p=0,081$
<i>pregnant</i>	7	0,0%	$p=0,277$
andere klinische Informationen	64	23,4%	$p=0,038^*$
Zahl der Patienten, bei denen eine klinische Information angegeben war	571	16,1%	$p=0,194$

Tab. 9: Überblick über den Zusammenhang von klinischen Informationen und der Therapieversagerquote (* signifikant)

Im Feld *HIV Programme Status* wurden als Hauptkategorien genannt, dass der Patient Cotrimoxazol oder Vitamine erhält, schon einmal eine Therapie mit ART erhalten hat (*treatment experienced*), am PMTCT-Programm teilnimmt, nicht die gebotenen Therapierichtlinien befolgt (*non compliant*), Rifampicin (Rif) oder Isoniazid (INH) erhält bzw. noch nicht therapiert wird (*naive*). Insgesamt wurden bei 419 Patienten Angaben im Feld *HIV Programme Status* gemacht.

Tabelle 10 fasst die Ergebnisse in Bezug auf die Anzahl an Patienten in den Kategorien und die Therapieversagerquote zusammen. Alle 19 Patienten, die Rifampicin erhielten, erhielten auch Isoniazid (Korrelation $r=+1$). Keine Kategorie stand in einem signifikanten Zusammenhang mit der Therapieversagerquote. Dies lag v.a. daran, dass in den Kategorien, in denen eine deutlich unterschiedliche Rate an Patienten mit einer VL von ≥ 1.000 cps/ml im Vergleich zur Gesamtpopulation auftrat, nur eine geringe Anzahl an Fällen vertreten war. Insgesamt wiesen diese Kategorien keinen signifikanten Zusammenhang auf. Somit konnte auch in dieser Kategorie kein weiteres Selektionskriterium definiert werden.

Kategorie	Anzahl	Rate an Patienten mit einer VL ≥ 1.000 cps/ml	Signifikanzniveau
Patient erhält Cotrimoxazol	219	11,4%	$p=0,184$
Patient erhält Vitamine	36	19,4%	$p=0,389$
<i>treatment experienced</i>	78	9,0%	$p=0,163$
<i>PMTCT</i>	61	13,1%	$p=0,767$
<i>non compliant</i>	22	9,1%	$p=0,474$
Patient erhält Rif	19	5,3%	$p=0,254$
Pat erhält INH	19	5,3%	$p=0,254$
<i>naive</i>	25	12,0%	$p=0,728$
Andere Informationen	15	20,0%	$p=0,538$
Patienten, bei denen eine Information angegeben war	419	12,2%	$p=0,149$

Tab. 10: Überblick über den Zusammenhang von weiteren Informationen mit der Therapieversagerquote

3.1.2.5. Zusammenfassung der Ergebnisse und Anwendung der Selektionskriterien

Es konnten zwei Selektionskriterien gefunden werden, die einen signifikanten Einfluss auf die Rate der Patienten mit einer VL von ≥ 1.000 cps/ml ausübten. Sowohl das Kriterium „Patient erhält eine Therapie, die auf einem NNRTI basiert“ ($p=0,033$, signifikant), als auch „Patient ist mindestens 16 Jahre alt“ ($p<0,001$, hoch signifikant) waren in Bezug auf die Therapieversagerquote signifikant. Au-

ßerdem trafen beide Selektionskriterien auf größere Gruppen der Gesamtpopulation zu. So erhielten 1.867 Patienten von 2.522 Patienten eine ART, die auf einem NNRTI basierte, und 2.256 Patienten waren mindestens 16 Jahre alt.

Wendete man beide Selektionskriterien auf die bisherige Studienpopulation an, so ergab sich eine Stichgruppe von 1.720 Patienten, die sowohl mindestens 16 Jahre alt waren, als auch eine *first-line* Medikation erhielten. Der Mittelwert der VL in diesem Kollektiv betrug im Vergleich zum Ursprungskollektiv nur noch 7.292,77 cps/ml mit einer Standardabweichung von 81.121,140 cps/ml (Minimum 0 cps/ml, Maximum > 3.000.000 cps/ml). 1.302 von den 1.720 Patienten hatten keine nachweisbare VL (75,7%), 200 Patienten hatten eine nachweisbare VL <1.000 cps/ml (11,6%) und 218 Patienten hatten eine VL von ≥ 1.000 cps/ml (12,7%). Die Therapieversagerquote konnte also von 14,4% auf 12,7% gesenkt werden, ohne, dass zu viele Patienten von einer Möglichkeit des Poolings ausgeschlossen werden mussten. Tabelle 11 fasst noch einmal die Ergebnisse vor und nach der Anwendung der Selektionskriterien zusammen.

	Studienpopulation	Studienpopulation nach Anwendung der Selektionskriterien
Anzahl an Patienten	2.522	1.720
Mittelwert (VL)	13.318,45 cps/ml	7.292,77 cps/ml
Standardabweichung (VL)	133.406,066 cps/ml	81.121,140 cps/ml
Minimum (VL)	0 cps/ml	0 cps/ml
Maximum (VL)	>3.000.000 cps/ml	>3.000.000 cps/ml
Rate (Anzahl) an Patienten ohne nachweisbare VL = LDL	74,6% (1.881)	75,7% (1.302)
Rate (Anzahl) an Patienten mit einer nachweisbaren VL <1.000 cps/ml	11,0% (277)	11,6% (200)
Rate (Anzahl) an Patienten mit einer VL ≥ 1.000 cps/ml	14,4% (364)	12,7 % (218)

Tab. 11: Auswirkungen der Selektionskriterien (Alter ≥ 16 Jahre, *first-line* ART) auf die Studienpopulation

3.2. Pooling nach der Matrixmethode

3.2.1. Überblick über die Studienpopulation

Für das Pooling mit Blutplasma nach der Matrixmethode wurden 300 Einzelproben nach den gefundenen Selektionskriterien „Alter mindestens 16 Jahre“ und „Therapieschema basierend auf einem NNRTI“ ausgewählt. Weitere Auswahlkriterien waren ein erforderliches Plasmavolumen von mind. 500 µl, damit eventuelle Nachtestungen noch möglich waren, und, dass die ausgewählten Proben in keiner anderen Studie zur Verwendung kamen. Die Pooltestung wurde im Vergleich zur vorher bereits routinemäßig erfolgten Einzeltestung auf Effizienz und Genauigkeit untersucht. Die Zeit, die die Erstellung der Matrices erforderte, wurde aufgezeichnet. Bei den einzelnen Pools wurde zuerst mit Hilfe von NucliSENS® easyMAG® (bioMérieux) die Virus-RNA extrahiert, die dann im NucliSENS® easyQ®, Version 2 System (bioMérieux) amplifiziert wurde. Alle vorherigen Einzeltestungen erfolgten ebenfalls an diesen beiden Geräten.

Die ausgewählten 300 Individualproben wiesen eine durchschnittliche VL von 4.889,23 cps/ml (Mittelwert) mit einer Standardabweichung von 37.986,219 cps/ml auf (Median 0,00 cps/ml, Minimum 0 cps/ml, Maximum 470.000 cps/ml). Den minimalen Wert von 0 cps/ml (VL unterhalb der Nachweisgrenze, LDL) erreichten 198 Individuen (66,0%). 69 von 300 Patienten hatten zwar eine nachweisbare VL, diese lag aber unter 1.000 cps/ml (23,0%). 33 Patienten erreichten eine VL von ≥ 1.000 cps/ml (11,0%). Durchschnittlich waren die Patienten bereits mindestens 10,26 Monate in Behandlung mit ART (Mittelwert, Median 0,00 Monate, Standardabweichung 15,316 Monate). 153 Patienten befanden sich vor der Testung noch nicht in antiretroviraler Behandlung bzw. die Dauer der Behandlung mit ART wurde nicht angegeben (und damit als 0 gewertet). Ein Patient erhielt bereits seit fünf Monaten Medikamente, 146 Patienten erhielten seit mind. sechs Monaten ART (Minimum 0 Monate, Maximum 66 Monate).

Insgesamt waren 205 Patienten weiblich (68,3%) und 95 Patienten männlich (31,7%). Die Therapieversagerrate bei einer VL von ≥ 1.000 cps/ml lag bei den Frauen bei 12,7% (26 von 205) und bei den Männern bei 7,4% (sieben von 95). Der Unterschied in der Therapieversagerquote war jedoch nicht signifikant ($p=0,171$). Im Durchschnitt waren die Patienten 37,57 Jahre alt (Mittelwert), mit

einem Median bei 37,00 Jahren und einer Standardabweichung von 9,333 Jahren. Die jüngsten Patienten waren 16 Jahre alt, die ältesten 69. Tabelle 12 gibt einen Überblick über die Studienpopulation.

Studiengruppe	300 Patienten (Patienten mit VL \geq 1.000 cps/ml bei 11,0%); 205 weiblich (12,7%), 95 männlich (7,4%)
Alter (Jahre)	
Mittelwert/Median	37,57/37,00
Standardabweichung	9,333
Minimum/Maximum	16/69
VL (cps/ml)	
Mittelwert/Median	4.889,23/0,00
Standardabweichung	37.986,219
Minimum/Maximum	0/470.000
Behandlungszeit (Monate)	
Mittelwert/Median	10,26/0,00
Standardabweichung	15,316
Minimum/Maximum	0/66

Tab. 12: Überblick über die Studienpopulation

Da die Auswahl der Patienten anhand der Selektionskriterien stattfand, erhielten alle Patienten eine Dreifachmedikation mit entweder EFV oder NVP. Insgesamt erhielten 151 Patienten eine Medikation basierend auf EFV und 149 Patienten eine Medikation basierend auf NVP. Die häufigste Kombination war mit 116 Patienten die Kombination aus EFV, d4T und 3TC. 96 Patienten erhielten die Kombination NVP, d4T und 3TC. Insgesamt nahmen 298 Patienten eine Medikation mit dem Bestandteil 3TC und 212 Patienten eine Medikation mit dem Bestandteil d4T ein. 86 Patienten erhielten das Medikament AZT.

Betrachtet man die oben beschriebenen Werte in Bezug auf die einzelnen Matrices, so ergibt sich für jede Matrix eine unterschiedliche Aufteilung. In der ersten Matrix waren 62 Patienten weiblich und 38 Patienten männlich. Im Durchschnitt waren die Patienten 38,95 Jahre, bei einem Median von 38,00 Jahren und einer Standardabweichung von 10,431 Jahren (Minimum 20 Jahre, Maximum 69 Jahre). Es lag eine Rate an Patienten mit einer VL von \geq 1.000 cps/ml von 7,0%

vor (bei einer Rate an Patienten mit LDL von 80,0% und einer Rate an Patienten mit einer VL <1.000 cps/ml von 13,0%). Der Mittelwert der VL lag bei 722,87 cps/ml bei einem Median von 0 cps/ml und einer Standardabweichung von 4.360,117 cps/ml (Minimum 0 cps/ml, Maximum 40.000 cps/ml). Im Durchschnitt waren die Patienten der ersten Matrix 11,85 Monate in Behandlung mit ART bei einem Median von 0,00 Monaten und einer Standardabweichung von 17,843 Monaten (Minimum 0 Monate, Maximum 66 Monate). 56 Patienten erhielten bisher keine Medikation.

In der zweiten Matrix waren 72 Patienten weiblich und 28 Patienten männlich. Im Durchschnitt waren die Patienten 36,85 Jahre, bei einem Median von 36,00 Jahren und einer Standardabweichung von 8,586 Jahren (Minimum 20 Jahre, Maximum 60 Jahre). Es lag eine Rate an Patienten mit einer VL von ≥ 1.000 cps/ml von 16,0% vor (bei einer Rate an Patienten mit LDL von 50,0% und einer Rate an Patienten mit einer VL <1.000 cps/ml von 34,0%). Der Mittelwert der VL lag bei 10.682,05 cps/ml bei einem Median von 12,50 cps/ml und einer Standardabweichung von 60.447,669 cps/ml (Minimum 0 cps/ml, Maximum 470.000 cps/ml). Im Durchschnitt waren die Patienten der zweiten Matrix 7,20 Monate in Behandlung mit ART bei einem Median von 0,00 Monaten und einer Standardabweichung von 9,966 Monaten (Minimum 0 Monate, Maximum 48 Monate). 51 Patienten erhielten bisher keine Medikation.

In der dritten Matrix waren 71 Patienten weiblich und 29 Patienten männlich. Im Durchschnitt waren die Patienten 36,89 Jahre, bei einem Median von 36,00 Jahren und einer Standardabweichung von 8,805 Jahren (Minimum 16 Jahre, Maximum 63 Jahre). Es lag eine Rate an Patienten mit einer VL von ≥ 1.000 cps/ml von 10,0% vor (bei einer Rate an Patienten mit LDL von 68,0% und einer Rate an Patienten mit einer VL <1.000 cps/ml von 22,0%). Der Mittelwert der VL lag bei 3.262,77 cps/ml bei einem Median von 0,00 cps/ml und einer Standardabweichung von 25.119,238 cps/ml (Minimum 0 cps/ml, Maximum 250.000 cps/ml). Im Durchschnitt waren die Patienten der dritten Matrix 11,72 Monate in Behandlung mit ART bei einem Median von 6,00 Monaten und einer Standardabweichung von 11,72 Monaten (Minimum 0 Monate, Maximum 66 Monate). 56 Patienten erhielten bisher keine Medikation.

chung von 16,633 Monaten (Minimum 0 Monate, Maximum 66 Monate). 46 Patienten erhielten bisher keine Medikation. Die Ergebnisse der einzelnen Matrices sind in Tabelle 13 vergleichend dargestellt.

	Matrix 1	Matrix 2	Matrix 3
Geschlecht (männlich/weiblich)	38/62	28/72	29/71
Rate an Patienten mit VL \geq1.000 cps/ml	7,0%	16,0%	10,0%
Alter (Jahre)			
Mittelwert/Median	38,95/38,00	36,85/36,00	36,89/36,00
Standardabweichung	10,431	8,586	8,805
Minimum/Maximum	20/69	20/60	16/63
VL (cps/ml)			
Mittelwert/Median	722,87/0,00	10.682,05/12,05	3.262,77/0,00
Standardabweichung	4.360,117	60.447,669	25.119,238
Minimum/Maximum	0/40.000	0/470.000	0/250.000
Behandlungszeit (Monate)			
Mittelwert/Median	11,85/0,00	7,20/0,00	11,72/6,00
Standardabweichung	17,843	9,966	16,633
Minimum/Maximum	0/66	0/48	0/66

Tab. 13: Vergleich der Studienteilnehmer der einzelnen Matrices

3.2.2. Durchführung des Poolings nach der Matrix-Methode

Die 300 Patienten wurden anschließend in drei 10x10 Matrices gepoolt. Die zu erkennende VL-Grenze eines Einzelnen lag bei 1.000 cps/ml. Bei der Anwendung von 10x10 Matrices wurde daher der Grenzwert eines Matrixpools auf 100 cps/ml festgelegt. Pools mit einer detektierbaren VL, die aber <100 cps/ml lag, wurden, ebenso wie Pools mit einer nicht detektierbaren VL (LDL), als negativ gewertet und nicht nachgetestet. Bei negativen Pools wurde anschließend davon ausgegangen, dass alle im Pool beteiligten Patienten eine VL <1.000 cps/ml aufwiesen. Pro Matrix wurden 100 Patienten in 20 Pools getestet. Insgesamt wurden drei Matrices durchgeführt und somit 60 Pools getestet. Die anschließenden Poolergebnisse wurden mit Hilfe des Programms MEPAC ausgewertet. Die Eingabe

der Einzelergebnisse bei der Dekonvolution erfolgte über die bereits vorher routinemäßig durchgeführten Einzeluntersuchungen.

Die Zeit zur Erstellung der einzelnen Matrices wurde gemessen. Insgesamt wurde eine durchschnittliche Zeit pro Pool von 101,35 Sekunden (sec.) gemessen. Die durchschnittliche Gesamtzeit zur Erstellung einer Matrix betrug 2.027 sec. bzw. 33 Minuten (min.) und 47 sec. Hierbei zeigte sich eine deutliche Steigerung bei der Pipettierfrequenz von der ersten zur dritten Matrix, so dass mit steigender Erfahrung die Zeit zur Konstitution einer Matrix weiter sinken würde. Tabelle 14 zeigt die benötigte durchschnittliche Zeit zur Erstellung eines Pools bzw. die Gesamtzeit zur Erstellung einer Matrix aufgeschlüsselt nach den einzelnen Matrices und im Gesamtvergleich. Im Vergleich dauerte die Erstellung von Minipools mit fünf beteiligten Patienten pro Pool bei 100 Einzelproben (20 Pools) durchschnittlich 35 min. und 30 sec.

	Durchschnittliche Zeit pro Pool	Gesamtzeit
Matrix 1	115,25 sec.	2.305 sec./ 38 min. 25 sec.
Matrix 2	99,65 sec.	1.993 sec./ 33 min. 13 sec.
Matrix 3	89,15 sec.	1.783 sec./ 29 min. 43 sec.
Durchschnittliche Zeit zur Erstellung einer Matrix	101,35 sec.	2.027 sec./ 33 min. 47 sec.

Tab. 14: Durchschnittlich benötigte Zeit zur Erstellung der Matrices

Bei der Auswertung der ersten Matrix hatten alle 20 getesteten Pools ein valides Ergebnis. Insgesamt waren elf Pools positiv getestet und neun Pools negativ getestet. Da die Einzelergebnisse der beteiligten Patientenproben bekannt waren, konnte festgestellt werden, dass von den elf positiven Pools vier Pools falsch positiv waren. Von den neun negativen Pools waren zwei Pools falsch negativ. Richtig negativ und richtig positiv bedeuteten jeweils, dass das angezeigte Ergebnis den Tatsachen entspricht. In unserem Fall bedeutete richtig negativ, dass keine oder weniger als 100 HI-Virus-RNA-Kopien nachweisbar war und auch bei

allen beteiligten Patienten des Pools keine HI-Virus-RNA im Blut zirkulierte bzw. die VL bei den einzelnen Patienten <1.000 cps/ml lag. Richtig positiv bedeutete in unserem Fall, dass mehr als 100 zirkulierende HI-Virus-RNA-Kopien im Pool erkannt wurden und auch mindestens ein Patient zirkulierende HI-Virus-RNA oberhalb von 1.000 cps/ml im Blut aufwies.

Falsch positiv bedeutete, dass der Test eigentlich negativ hätte ausfallen müssen, aber zu Unrecht ein positives Ergebnis anzeigte. In unserem Fall bedeutete ein falsch positiver Pool, dass zwar alle Patienten keine oder eine VL <1.000 cps/ml im Blut aufwiesen, der Pool-Test aber dennoch positiv ausfiel (≥ 100 cps/ml). Ein falsch positiver Pool hatte zur Konsequenz, dass viele Patienten nachgetestet werden mussten, die eigentlich keine VL über der Grenze aufwiesen (hohe unnötige Testkosten). Falsch negativ bedeutete, dass der Pool-Test negativ ausfiel, obwohl er eigentlich positiv hätte sein müssen. In unserem Fall bedeutete falsch negativ, dass trotz vorliegender HI-Virus-RNA von ≥ 1.000 cps/ml bei mindestens einem der am Pool beteiligten Patienten der Pool als negativ (<100 cps/ml) bewertet wurde. Dies hatte zur Folge, dass Patienten mit einer VL ≥ 1.000 cps/ml nicht nachgetestet und deshalb auch nicht erkannt wurden. Ein falsch negativer Pool hat somit Konsequenzen für die betroffenen Individuen, da ein eventuelles Therapieversagen nicht erkannt wird.

Bei der Auswertung der zweiten Matrix hatten alle 20 getesteten Pools ein valides Ergebnis. Insgesamt wurden alle Pools positiv getestet. Von den zwanzig positiven Pools waren zwei Pools falsch positiv.

Bei der Auswertung der dritten Matrix gab es ebenfalls keine invalide Pooltestung. Insgesamt waren sieben Pools negativ, bei drei falsch negativen Pools. 13 Pools waren positiv, von denen ein Pool falsch positiv ausfiel.

Die Ergebnisse der Matrices wurden anschließend mit dem Programm ME-PAC ausgewertet (Metrixdekonvolution). Im Anhang ist die Ausgabe nach ME-PAC für die drei Matrices zu sehen (siehe Anhang 4, S. 98). Für die Auswertung wurden die Ergebnisse des Simulators mit den bekannten vorherigen Ergebnissen verglichen.

Für Matrix 1 ergaben sich ein negativer prädiktiver Wert nach der Matrixdekonvolution von 99% und eine relative Effizienz von 54%. Dies bedeutete, dass

insgesamt nur 54 statt 100 Tests durchgeführt wurden, um alle 100 Individuen zu testen. Dabei wurde kein Individuum falsch positiv und ein Individuum falsch negativ gewertet. Insgesamt wies die erste Matrix eine Spezifität von 83% und eine Sensitivität von 100% auf. Matrix 2 hatte einen negativen prädiktiven Wert von 81% und eine relative Effizienz von 7%. Insgesamt wurde kein Individuum falsch positiv und drei Individuen falsch negativ gewertet. Matrix 2 wies eine Spezifität von 81% und eine Sensitivität von 100% auf. Bei der dritten Matrix ergaben sich ein negativer prädiktiver Wert von 98% und eine relative Effizienz von 61%. Es gab keine falsch positiven Einzelergebnisse und zwei Individuen wurden falsch negativ getestet. Somit lag der negative prädiktive Wert aller Matrices bei über 95% und nur 59% der Tests mussten durchgeführt werden (relative Effizienz bei 41%). Dies bedeutete eine Kostenersparnis von 1.640 US\$ pro 100 Patientenproben, bei einem normalen Kostenaufwand von 4.000 US\$ pro 100 VL-Testungen. In Abbildung 11 sind die Spezifität, die Sensitivität, der positive und der negative prädiktive Wert der Pools und der Einzelergebnisse dargestellt. Tabelle 15 fasst die Ergebnisse auch im Vergleich zu den durchgeführten Minipools⁶ zusammen.

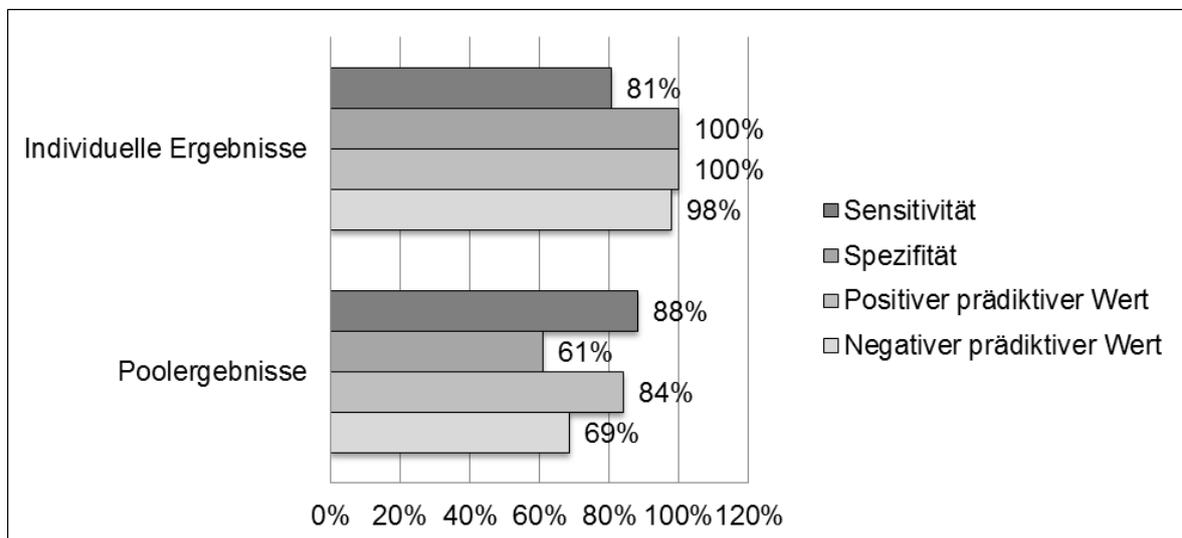


Abb. 11: Ergebnisse der Matrix-Methode im Vergleich zu den Einzelergebnissen

⁶ Für die genauen Ergebnisse bei der Minipooltestung siehe die Arbeit von Anna-Teresa Lundershausen [48].

	Matrix 1	Matrix 2	Matrix 3	Matrices ges.	Minipools ges.
Positive Pools	11	20	13	44	39
Falsch positive Pools	4	2	1	7	13
Richtig positive Pools	7	18	12	37	26
Negative Pools	9	0	7	16	38
Falsch negative Pools	2	0	3	5	2
Richtig negative Pools	7	0	4	11	36
Sensitivität (Pool)	78%	100%	80%	88%	93%
Spezifität (Pool)	64%	0%	80%	61%	73%
Positiver prädiktiver Wert (Pool)	64%	90%	92%	84%	67%
Negativer prädiktiver Wert (Pool)	78%	/	57%	69%	95%
Positive Individuen	5	13	7	25	38
Falsch positive Individuen	0	0	0	0	0
Richtig positive Individuen	5	13	7	25	38
Negative Individuen	95	87	93	275	368
Falsch negative Individuen	1	3	2	6	10
Richtig negative Individuen	94	84	91	269	358
Sensitivität (Individuen)	83%	81%	78%	81%	79%
Spezifität (Individuen)	100%	100%	100%	100%	100%
Positiver prädiktiver Wert (Indi- viduen)	100%	100%	100%	100%	100%
Negativer prädiktiver Wert (Indi- viduen)	99%	97%	98%	98%	97%
relative Effizienz	54%	7%	61%	41%	29,35%* 34,29%**
Kostensparnis pro 100 Pati- entenproben (US\$)	2.160	280	2.440	1.640	1.174* 1.372**

**Tab. 15: Ergebnisse des Poolings nach der Matrix-Methode im Vergleich zur Mi-
nipool-Methode**

* nach automatischer Nachtestung aller an einem positiven Pool beteiligten Proben

** nach Dekonvolution mit Hilfe des Programms MEPAC

4. Diskussion

Regelmäßige Kontrollen der VL sind notwendig, um den Erfolg einer Behandlung mit ART überprüfen und gewährleisten zu können [55]. Wird das Versagen einer HIV-Therapie nicht rechtzeitig erkannt, ist das sowohl für Patienten selbst als auch für die Bevölkerung bzw. das Behandlungsprogramm von Nachteil: Die HIV-Infektion schreitet voran und es droht die Selektion von mutierten Virusvarianten, die wiederum den Erfolg einer *second-line* Medikation verringern können [56, 57]. Zudem steigt mit ansteigender Viruslast auch die Infektiosität des Patienten und somit das Risiko einer Infektionsübertragung auf andere, während eine optimale Therapie das Risiko der Infektionsweitergabe stark reduziert (*treatment as prevention*) [58, 59]. Zwar sehen die Richtlinien in Südafrika vor, dass bei einer VL von ≥ 1.000 cps/ml und einer Bestätigung zwei Monate später ein Therapiewechsel erfolgen soll (siehe 1.2.3. HIV-Therapie in Südafrika, S. 19). Dennoch können in vielen Gebieten von Südafrika ebenso wie in anderen Entwicklungs- und Schwellenländern die Kosten zur flächendeckenden VL-Testung nicht aufgebracht werden [60] und die Forderung nach kostengünstigen Alternativen zu den kommerziellen VL-Testkits wird lauter [61, 62]. Pooling-Methoden sind eine Möglichkeit, bei den bisher zur Verfügung stehenden kommerziell angebotenen VL-Testungen Kosten einzusparen und somit die VL-Testung in Ländern zu ermöglichen, die bisher die Kosten nicht tragen konnten.

4.1. Reflektion der Methoden

4.1.1 Statistische Untersuchung

Sowohl bei den statistischen Voruntersuchungen, als auch bei der retrospektiven, deskriptiven Statistik wurde auf Daten zurückgegriffen, die uns die *Division of Medical Virology* des *Tygerberg Hospital*, Kapstadt, Südafrika, freundlicherweise zur Verfügung stellte.

4.1.1.1. Statistische Voruntersuchungen

Alle Angaben, die für die statistischen Voruntersuchungen zur Verfügung standen, wurden aus einer tabellarischen Auflistung der im Labor getesteten Proben

übernommen, die routinemäßig für alle getesteten Patientenproben erstellt wurde. Dabei konnte nicht festgestellt werden, ob und inwieweit die Daten auf eventuelle Fehler oder Widersprüche untersucht waren bzw. wie valide der Übertrag der Ergebnisse und die Verknüpfung der Patientenproben mit den jeweiligen Ergebnissen erfolgte. Insgesamt wurden von den 57.608 vorliegenden Patientendaten 3.107 Patientendaten nicht in die Studie miteingeschlossen, da von ihnen nicht Alter, Geschlecht oder VL vorlagen. Diese Vorauswahl des Patientenkollektivs vor allem nach Alter und Geschlecht kann in einer Verzerrung der Ergebnisse resultieren, da die Angaben Alter und Geschlecht keinen Einfluss auf die vorliegende durchschnittliche Verteilung der VL-Ergebnisse haben. Daher kann es sein, dass die ermittelten Ergebnisse nicht mit der tatsächlichen Rate an Patienten mit einer VL ≥ 1.000 cps/ml übereinstimmen. Allerdings wurden insgesamt verhältnismäßig wenige Patienten ausgeschlossen.

4.1.1.2. Retrospektive, deskriptive Analyse

Bei der retrospektiven, deskriptiven Untersuchung wurde bei den Ergebnissen der VL-Testung ebenfalls auf Daten zurückgegriffen, die in einer Datei zur Verfügung standen. Dabei konnte ebenfalls nicht überprüft werden, ob die Daten auf eventuelle Fehler oder Widersprüche untersucht waren bzw. wie valide der Übertrag der Ergebnisse und die Verknüpfung der Patientenproben mit den jeweiligen VL-Ergebnissen erfolgte. Alle weiteren erhobenen und ausgewerteten Informationen wurden anhand der archivierten Testanforderungsbögen manuell ergänzt und dabei überprüft.

Eingeschlossen wurden in die Studie vier zufällig ausgewählte Wochen aus einem bestimmten Zeitraum. Hierbei fiel die Wahl immer auf Wochen am Anfang eines Monats. Dies kann ebenfalls verzerrende Effekte hervorrufen, da mögliche Gewohnheiten der Patienten (z.B. immer am Anfang eines Monats zur Testung zu gehen), darin resultieren könnten, dass die gleichen Patienten mehrmals getestet wurden. Dies kann ebenfalls dadurch entstanden sein, dass der Abstand der ersten ausgewählten Woche zu den letzten beiden Wochen fünf bzw. sieben

Monate beträgt. Bei einer Routine-VL-Testung alle sechs Monate könnten Überschneidungen in diesen beiden Wochen aufgetreten sein, so dass hier ebenfalls die gleichen Patienten mehrmals getestet worden sein könnten.

Die Informationen auf den Testanforderungsbögen wurden ausgewertet, ohne dass vorher die jeweiligen Klinikmitarbeiter, die die Bögen ausfüllten, informiert oder instruiert wurden. V.a. im Bereich der klinischen Informationen, die als Freitext formuliert wurden, gab es daher wesentliche Unterschiede in Bezug auf Ausführlichkeit und Informationsgehalt der Angaben. Diese wurden von uns in Kategorien eingeteilt, wobei unklar formulierte Angaben nicht gewertet wurden. Nach einer Schulung des Klinikpersonals könnten sicherlich wesentlich bessere und standardisierte Aussagen zu den einzelnen Patienten getroffen werden, die eine Selektion auch nach den klinischen Informationen erleichtern könnten. Dennoch würde diese Schulung vermutlich einen deutlichen Kosten-, Personal- und Zeitaufwand bedeuten, der durch den nur vermuteten Nutzen der klinischen Informationen bei bestätigtem Nutzen der gefunden Selektionskriterien nicht gerechtfertigt wäre.

4.1.2. Pooling nach der Matrix-Methode

Die durchgeführte Studie basierte auf einer 2009 von Smith et al. publizierten Untersuchung über die Kostenreduktion durch Pooling bei HIV-1 VL-Testung [45]. In der hier beschriebenen Studie wurde untersucht, ob sich die Ergebnisse von Smith et al., die sich auf San Diego in den USA bezogen, auch auf ein Land mit eingeschränkten Ressourcen übertragen lasse. Der Hintergrund bei dieser Fragestellung lag darin, dass in den USA bei der Durchführung der Studie eine wesentlich geringere Rate an Studienteilnehmern mit einer VL ≥ 1.000 cps/ml auftrat, als es in Südafrika als Beispiel eines Entwicklungs- oder Schwellenlands bei routinemäßig durchgeführter VL-Testung der Fall war. Um durch das Pooling nichtsdestotrotz eine Einsparung zu erreichen, mussten Kriterien gefunden werden, um die Rate der Patienten mit einer VL ≥ 1.000 cps/ml möglichst gering zu halten.

Das Vorgehen des anschließenden Poolings in einer 10x10 Matrix orientierte sich an der Studie von Smith et al. Im Gegensatz zu der Untersuchung von 2009

wurden jedoch die getesteten Volumina erhöht: anstelle von 50 µl Plasma pro Patient und einer Gesamt-Poolmenge von 500 µl Plasma wurden 110 µl Plasma pro Patient zu einer Gesamtmenge von 1.100 µl Plasma gepoolt. Hiervon wurden 1.000 µl Plasma zur Testung verwendet. Dies beruhte darauf, dass zur Testung NucliSENS® easyQ (bioMérieux) verwendet wurde und diese Maschine zur gleichen Zeit für die Routinearbeit des Labors zur Verfügung stehen musste. Daher durften die Standard-Einstellungen nicht verändert werden, wonach je ein ml Plasma pro Pool in die Maschine gegeben werden musste. Die überschüssigen 10 µl Plasma pro Patient und die daraus resultierenden überschüssigen 100 µl Plasma pro Pool, die nicht zur Verwendung kamen, wurden als Vorsichtsmaßnahme bei evtl. Verlusten kleiner Plasmamengen während des Pipettierens zusätzlich addiert. Da das Mischungsverhältnis der einzelnen Patienten pro Pool gleich blieb, hatte dies keine Konsequenzen auf das Ergebnis der Pooltestung.

Die Studien von Smith et al. wurden 2009 am COBAS® Amplicor Monitor Test (Roche Molecular Diagnostics, Kalifornien, USA) durchgeführt. Obwohl die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit an NucliSENS® easyQ (bioMérieux) durchgeführt wurden, sind die Ergebnisse beider Arbeiten dennoch vergleichbar, denn in Studien zeigte sich eine vergleichbare Genauigkeit beider Testverfahren in Bezug auf die VL-Testung [63, 64].

Eine weitere Einschränkung der Studie war, dass retrospektiv auf bereits einzeln getestete Plasmaproben zurückgegriffen wurde. Zwischen der Einzeltestung und der Pooltestung lag somit ein Zyklus aus Einfrieren und Auftauen sowie eine unterschiedliche lange Zeit (je nach ausgewählter Woche), in der die Plasmaproben bei -80°C eingefroren waren. Studien zeigten, dass erst nach fünf Zyklen des Einfrierens und Auftauens von Patientenproben eine Auswirkung auf die VL erkennbar ist [65]. Der einmalig durchlaufene Zyklus aus Einfrieren sowie Auftauen sollte sich also nicht auf die VL der Proben ausgewirkt haben.

Bei der Dekonvolution der 10x10 Matrices wurde sich auf die vorher routinemäßig getesteten Einzelergebnisse verlassen. Die Einzelproben wurden nicht erneut nachgetestet und die Einzelergebnisse wurden daher auch nicht bestätigt. Ebenfalls wurde bei der gemessenen Zeit nur die Zeit berücksichtigt, die zur Er-

stellung einer Matrix, nicht aber für den gesamten Prozess der Erstellung, Testung und Dekonvolution einer Matrix benötigt wurde. Da vor allem die Erstellung der Matrix und Nachtestung im Laufe der Dekonvolution einen wesentlichen zeitlichen Aufwand erforderte, muss dies im Vergleich zur Minipool-Methode auf jeden Fall berücksichtigt werden.

4.2. Reflektion der Ergebnisse

4.2.1. Statistische Untersuchung

4.2.1.1. *Statistische Voruntersuchung*

In der durchgeführten statistischen Voruntersuchung ergab sich eine Rate an Patienten mit einer VL ≥ 1.000 cps/ml von 19,9%. Diese ermittelte Quote zeigt deutlich, dass Pooling ohne bestimmte Auswahlkriterien in diesem Kollektiv nicht effektiv anwendbar ist [49]. Mit 66,3% war der Anteil der Frauen am Gesamtkollektiv fast doppelt so groß wie der der Männer. Dies hatte zwar auf das Ergebnis der vorliegenden Rate an Therapieversagern (VL ≥ 1.000 cps/ml) keinen Einfluss und es konnte auch kein signifikanter Unterschied bei der Rate von Therapieversagern bei Frauen im Vergleich zu der bei Männern in der retrospektiven, deskriptiven Analyse festgestellt werden. Dennoch legen Studien nahe, dass bei Frauen generell eine niedrigere HIV-RNA VL vorliegt als bei Männern [66-68]. Allerdings gibt es im Fortschreiten der HIV-Erkrankung keine Unterschiede zwischen beiden Geschlechtern [66, 69, 70], was den Schluss nahe legt, dass Frauen mit einer niedrigeren VL bereits fortgeschrittenere Krankheitsmerkmale entwickeln im Vergleich zu Männern mit der gleichen VL.

Die zitierten Studien bezogen sich dabei auf Patienten, die noch keine ART erhielten. In der vorliegenden Studie konnte kein Geschlechtsunterschied in Bezug auf die VL festgestellt werden. Dies kann zum einen daran liegen, dass viele der beteiligten Frauen bereits therapiert wurden. Auf der anderen Seite sind auch nicht die klinischen Symptome der Patienten mit der VL in Zusammenhang gebracht worden, so dass sich dieser Effekt nicht auf die Ergebnisse der Studie auswirkt. Generell sollte diskutiert werden, ob für Frauen nicht ein anderer Grenzwert bei der Einleitung einer Therapie basierend auf der VL gelten sollte, als bei Männern [68].

4.2.1.2. Retrospektive, deskriptive Untersuchung

Die beiden gefundenen Selektionskriterien „Patient ist mindestens 16 Jahre alt“ und „Therapie basiert auf einem NNRTI“ bewirkten einen deutlichen Unterschied in der Rate der Patienten mit einer VL ≥ 1.000 cps/ml. Vor Anwendung der Selektionskriterien lag diese Rate bei 14,4%, nach Anwendung der Kriterien nur noch bei 12,7%. Die beiden Selektionskriterien waren auch die einzigen getesteten Kriterien, bei denen ein statistisch signifikanter Unterschied in Bezug auf die VL erkannt wurde, und die eine ausreichend große Zahl an Patienten betraf. So waren zwar im Bereich der klinischen Information ebenfalls signifikante Unterschiede erkannt worden, diese betrafen aber nur 29 bzw. 64 Individuen von insgesamt 2.522 Patienten (1,1% bzw. 2,5%).

Bei der Auswertung der unterschiedlichen Wochen ergab sich für die dritte Woche (2. bis 5. März 2009) eine im Vergleich zum Durchschnitt wesentlich höhere Rate an Patienten mit einer VL ≥ 1.000 cps/ml. So lag die durchschnittliche Rate an Patienten mit einer VL ≥ 1.000 cps/ml in den Wochen 1, 2 und 4 bei 13,0%, in der dritten Woche dagegen bei 23,1%. Insgesamt wurden in dieser Woche nur 360 von 1.095 aufgenommenen Anforderungsbögen in die Studie eingeschlossen. Bei den anderen Wochen lag die Zahl derjenigen Anforderungsbögen, die nicht in die Studie miteingeschlossen werden konnten, bei 101 von 630 (Woche 1, 16,0%), 168 von 1.023 (Woche 2, 16,4%) und 167 von 925 aufgenommenen Anforderungsbögen (Woche 4, 17,7%). Im Gegensatz dazu konnten in der dritten Woche 67,1% der aufgenommenen Bögen nicht in die Studie eingeschlossen werden. Bei den meisten Patienten gab es kein Testergebnis bei der VL-Testung, so dass die Patienten nicht in die Studie mit aufgenommen werden konnten. Der Grund, warum so viele Ergebnisse fehlten, konnte nicht herausgefunden werden.

Die Tatsache, dass die meisten Auswertungen sich auf die gesamte Studienpopulation bezogen und keine Unterscheidung zwischen den einzelnen Wochen erfolgte, müsste die beschriebenen Unterschiede vernachlässigbar machen. Es kann jedoch sein, dass der Ausschluss so vieler aufgenommener Anforderungsbögen eine statistische Auswirkung auf die Ergebnisse hat. Dennoch wurden die

fehlenden VL-Testergebnisse nicht in Nachtstungen bestimmt, da dies im zeitlich begrenzten Rahmen der Studie nicht möglich war.

4.2.2. Pooling nach der Matrix-Methode

Beim Pooling nach der Matrix-Methode wurden 300 Individuen in drei 10x10 Matrices gepoolt. Hierbei konnte eine durchschnittliche Kostenersparnis von 1.640 US\$ pro 100 Patientenproben erreicht werden. Dabei wurde von Kosten in Höhe von 40 US\$ pro Einzeltest (inklusive zugefügten Reagenzien und benötigten Materialien) ausgegangen. Im Gegensatz zu 4.000 US\$ bei der Einzeltestung von 100 Patientenproben fielen durch die Pooling-Methode durchschnittlich also nur noch 2.360 US\$ an. Dabei waren zwar die Sensitivität (88%), die Spezifität (61%) und der negative prädiktive Wert (84%) der Pools nicht hoch, durch die anschließende Auswertung der Matrices konnte aber, bezogen auf die Individuen, eine durchschnittliche Sensitivität von 81%, eine Spezifität von 100% und ein negativer prädiktiver Wert von 98% erreicht werden. In der Studie von Smith et al., auf die sich die vorliegende Untersuchung bezieht, konnte eine Effizienz von über 50% bei der Matrix-Methode herausgearbeitet werden [45]. Der Unterschied der Effizienz in der damaligen und der vorliegenden Untersuchung könnte durch die unterschiedliche durchschnittliche VL im Vergleich zu der damaligen durchschnittlichen VL bedingt sein ($\log_{10}VL$ von 2.88 im Vergleich zu 2.33 cps/ml).

In der vorliegenden Untersuchung waren zudem die Unterschiede bei den einzelnen durchgeführten Matrices deutlich. V.a. die zweite Matrix wies nur eine Effizienz von 7% und eine Kostenersparnis von 280 US\$ auf. Dies ist zwar immer noch eine deutliche Kostenersparnis, im Vergleich zum Aufwand der Methode ist aber fraglich, ob Pooling eine rentable Methode in diesem Fall war. Die geringe Kostenersparnis ließ sich dabei darauf zurückführen, dass alle Pools der Matrix positiv getestet wurden, also alle Pools Nachtstungen erforderten. Dies hing zum einen an der im Vergleich höheren Rate an Patienten mit einer VL ≥ 1.000 cps/ml (16% im Vergleich zu 7% und 10% bei Matrix 1 und 3), zum anderen resultierte die Zahl der positiven Pools aber auch durch die Verteilung der Einzelproben auf die Pools (siehe Anhang 4, S. 98). So waren nur zwei Pools falsch

positiv, in 18 Pools befanden sich tatsächlich zu detektierende Patienten mit einer VL ≥ 1.000 cps/ml. Diese zufällige, ungünstige Verteilung an Patienten mit einer hohen VL kann nicht ausgeschlossen werden und muss bei der Entscheidung für ein Pooling nach der Matrix-Methode berücksichtigt werden.

Deutlich zu sehen war, dass die benötigte Zeit zur Erstellung einer Matrix mit steigender Erfahrung des Durchführenden abnahm. Insgesamt kann man davon ausgehen, dass mit weiter steigender Erfahrung die durchschnittlich benötigte Zeit zur Erstellung einer Matrix noch reduziert werden kann. Im Durchschnitt dauerte die Erstellung einer Matrix mit 100 Einzelproben 33 min. und 47 sec. Die Erstellung von 20 Minipools mit 100 Einzelproben betrug dagegen durchschnittlich 35 min. und 30 sec., insgesamt also sogar länger als die Erstellung der Matrix. Somit hat die Matrix-Methode bei der Erstellung insgesamt keinen Nachteil im Vergleich zur Minipool-Methode. Allerdings wird bei der Dekonvolution ein wesentlich größerer Zeitaufwand als bei der Nachtestung von Minipools benötigt.

Mit Hilfe von MEPAC wird immer nur die als nächstes zu testende Patientenprobe ermittelt. Diese muss anschließend vorbereitet und getestet werden. Erst nach Durchführung des Tests kann die ermittelte VL in das Programm eingegeben werden und der nächste Patient zur Nachtestung kann ermittelt werden. Diese Patientenprobe muss anschließend wieder vorbereitet und getestet werden usw. Insgesamt ist also ein Vielfaches an Testläufen zu erwarten als bei der Minipool-Methode, wenn alle Einzelproben eines positiven Pools sofort nachgetestet werden. In der vorliegenden Untersuchung wurde die Zeit, die zur gesamten Dekonvolution einer Matrix benötigt wurde, nicht gemessen, da auf die Ergebnisse der bereits bestehenden Einzeltestungen zurückgegriffen wurde. Smith et al. berichten allerdings von einem deutlichen Zeitaufwand bei der Matrixdekonvolution von bis zu 17 Tagen. Dennoch ist dabei auch zu beachten, dass bei durchschnittlich 66% der positiven Patientenproben (in der Untersuchung von Smith et al., VL ≥ 50 cps/ml) bereits am ersten Tag ein Ergebnis vorlag [45].

Zu bedenken ist allerdings, dass es oft, wie auch in unserem Fall, nicht sinnvoll ist, einzelne Proben gesondert nachzutesten, da ein kommerzieller Testdurchgang insgesamt immer 20 Einzelproben gleichzeitig testet. Bei der Einzelnach-

testung nach der Matrix-Methode muss also immer auf weitere zu testende Proben gewartet werden, bis die Testmaschine voll beladen ist. Dies resultiert in einer zusätzlichen Zeitverzögerung. Zudem ist bei einem Pooling nach der 10x10 Matrix-Methode immer ein Vielfaches von 100 Einzelproben nötig, um die Matrices erstellen zu können. Das Warten auf Einzelproben, bis erneut 100 Proben zur Testung bereitstehen, kann eine nicht zu verantwortende Zeitverzögerung in der Detektion von Therapieversagern bedeuten.

Auch ist die Erstellung der 10x10 Matrix komplex und erfordert genaue und präzise Arbeit. Ausgebildetes Personal und ein gut ausgestattetes Labor sind Voraussetzung für die erfolgreiche Durchführung einer 10x10 Matrix. Diese Bedingungen können aber nicht alle Labore in Entwicklungs- und Schwellenländern erfüllen, so dass im jeweiligen Einzelfall zu prüfen ist, ob sich ein Pooling nach der Matrix-Methode rentieren und technisch realisieren ließe. In größeren, zentralen Laboren könnte zum Beispiel der Einsatz eines Pipettierroboters erwogen werden. Zum einen könnte damit die Matrixerstellung vollautomatisch und damit zeiteffizient erfolgen, zum anderen könnte nach entsprechender Programmierung auch die Dekonvolution der Matrix automatisch durch den Roboter durchgeführt werden. Dies würde ebenfalls eine Zeitersparnis bedeuten und die Fehleranfälligkeit reduzieren [71, 72].

4.3. Vergleich von Pooling nach der Matrix-Methode mit Pooling nach der Minipool-Methode

Anna-Teresa Lundershausen beschrieb in ihrer Dissertation die zweite Möglichkeit des Poolings, die in der Untersuchung von Smith et al. 2009 [45] zur Anwendung kam und die wir ebenfalls im Rahmen unseres Forschungsaufenthalts durchführten, die Minipool-Methode [48]. Hierzu wurden immer fünf Patientenproben zu einem Pool zusammengefasst und getestet. Von jedem Patienten wurden 205 µl Plasma gepoolt und von diesem Pool 1.000 µl getestet. Der Grenzwert des Pools lag bei fünf beteiligten Patienten bei einer VL von 200 cps/ml, damit Patienten, die eine VL ≥ 1.000 cps/ml aufwiesen, sicher erkannt werden konnten. Insgesamt wurden 400 Patienten in Minipools getestet. Dies ergab 80 Minipools,

die mittels NucliSENS® easyQ (bioMérieux) ausgewertet wurden. Bei der Dekonvolution positiver Pools wurden zwei Möglichkeiten betrachtet und anschließend miteinander verglichen. Zum einen wurde die Auswertung ebenfalls mit Hilfe des Programms MEPAC durchgeführt, zum anderen wurden alle fünf beteiligten Patienten eines positiven Pools sofort nachgetestet.

Bei drei der 80 Pools konnte auf Grund ungültiger Testergebnisse keine VL ermittelt werden. Diese Pools und die 15 beteiligten Patienten wurden aus der Studie ausgeschlossen, sodass insgesamt 385 Patienten in 77 Minipools getestet wurden. Durchschnittlich wurden 54 sec. für die Erstellung eines Pools und 35 min. und 30 sec. für die Erstellung von 20 Minipools (100 beteiligte Patienten) benötigt. Der Zeitunterschied bei der durchschnittlichen Erstellung eines Matrixpools (101,35 sec.) ist darauf zurückzuführen, dass in einem Matrixpool zehn Patientenproben gepoolt werden, an einem Minipool jedoch nur fünf Patienten beteiligt sind. Die Tatsache, dass bei der Erstellung von 20 Pools für 100 Patienten die Zeit bei beiden Methoden in etwa identisch war, liegt vermutlich daran, dass die Matrix vor Beginn des Pipettiervorgangs komplett vorbereitet wurde und die Wege zwischen den einzelnen Pools geringer waren, als bei der Erstellung von Minipools. Diese werden nicht in einem 10x10 Quadrat, sondern in 20 Reihen mit je fünf Probengefäßen geordnet, so dass eventuell mehr Handgriffe erforderlich waren, um die Einzelproben zu Pools zusammenzufügen.

Insgesamt wurden 39 der 77 Pools positiv und 38 Pools negativ getestet. 13 Pools wurden falsch positiv und zwei Pools falsch negativ getestet. Der positive prädiktive Wert in der Pooltestung betrug somit 67% und der negative prädiktive Wert 95%, bei einer Spezifität von 73% und einer Sensitivität von 93%. Da jeder positive Pool nachgetestet wurde, erreichte der auf die Individuen bezogene positive prädiktive Wert 100% und der negative prädiktive Wert 97%, bei einer Spezifität von 100% und einer Sensitivität von 79%. Die Ergebnisse im Vergleich zur Matrixmethode sind in Tabelle 15 (S. 56) dargestellt.

Bei der Auswertung der positiven Pools wurden zum einen alle Einzelproben der an den positiven Pools beteiligten Patienten nachgetestet. Dies betraf 39 Pools mit je fünf Patientenproben, also insgesamt 195 Nachtestungen. Da bei der Pooltestung 77 Tests für 77 Minipools anfielen, wurden insgesamt 272 Tests

durchgeführt, was eine Einsparung von 113 Tests im Vergleich zu den 385 nötigen Tests bei der Einzeltestung bedeutete (relative Effizienz bei 29,35%). Dies entspricht einer Kostenreduktion von 1.174 US\$ pro 100 Patientenproben. Unter Einbezug des Programms MEPAC in die Dekonvolution der positiven Pools waren 176 Nachtestungen erforderlich. Insgesamt konnten also unter Einbezug des Algorithmus 132 Tests eingespart werden, was eine relative Effizienz von 34,29% und eine Kosteneinsparung pro 100 Patientenproben von 1.372 US\$ bedeutete.

Die Verwendung von MEPAC in der Dekonvolution der positiven Pools resultierte also in einer stärkeren Kosteneinsparung, als bei der automatischen Nachtestung aller an den positiven Pools beteiligten Patientenproben. Dennoch ist, wie bei der Matrix-Dekonvolution, der größere Zeitaufwand zu beachten, den eine Dekonvolution mit Hilfe von MEPAC bedeutet. Bei der automatischen Nachkontrolle aller beteiligten Proben wird die Zeit für zwei VL-Messvorgänge benötigt, nämlich die Zeit für die Testung des Pools und die Zeit für die Nachtestung. Bei der Dekonvolution mit Hilfe von MEPAC können bis zu sechs nacheinander stattfindende Testungen nötig sein. Zuerst wird der Pool getestet (Testung 1), anschließend werden nacheinander die einzelnen Patientenproben getestet. Sollten Probe 1 bis Probe 3 (Testung 2 bis 4) nicht die hohe VL des Pools erklären können, muss Probe 4 (Testung 5) ebenfalls nachgetestet werden. Sollte diese Probe ebenfalls nicht die hohe VL des Pools erklären können, muss zwar davon ausgegangen werden, dass Probe 5 die ursächliche Probe für eine VL-Erhöhung des Pools war. Dennoch muss Probe 5 einzeln nachgetestet werden, um die Möglichkeit eines falsch positiven Pools auszuschließen (Testung 6).

Zwar ist es nicht bei jedem nachzutestenden Pool der Fall, dass sechs Testdurchgänge benötigt werden, trotzdem muss die Möglichkeit in die Überlegung mit einbezogen werden, welche Auswertungsvariante zu bevorzugen ist.

Vergleicht man die Minipool-Methode mit der Matrix-Methode, so gibt es mehrere Aspekte, die zu beachten sind. Allein von den Testresultaten her, also der Spezifität, der Sensitivität, dem negativen prädiktiven Wert und der Kosteneinsparung, ist die Matrix-Methode der Minipool-Methode überlegen. Die durchschnittliche relative Effizienz der Matrix-Methode im Vergleich zur Minipool-Methode betrug 41% zu 34,29% (Auswertung nach MEPAC). Dieser Unterschied

zwischen Matrix- und Minipool-Methode konnte allerdings in der Untersuchung von Smith et al. nicht festgestellt werden. Beide Methoden hatten eine Effizienz von über 50% [45]. Die Vorteile der Minipool-Methode sind eine wesentlich einfachere Handhabung, ein schnelleres Erfahren der Einzelergebnisse (v.a. bei der automatischen Nachtestung aller Proben eines positiven Pools) und die Tatsache, dass zur Durchführung nur ein Vielfaches von fünf Patienten nötig ist. Die Vorteile der Matrix-Methode sind eine größere Kosteneinsparung bei gleichzeitig größerer Exaktheit der Ergebnisse. Ob Pooling an sich und welche Pooling-Methode im Speziellen zur Anwendung kommen kann, muss immer von den Gegebenheiten vor Ort und den Anforderungen an die Testung (Zeit, Exaktheit des Ergebnisses oder nur Tendenz) abhängig gemacht werden.

4.4. Ausblick auf weitere Einsatzmöglichkeiten von Pooling

Weitere Einsatzmöglichkeiten von Pooling wurden ebenfalls in der Dissertation von Anna-Teresa Lundershausen erwähnt. So wurde im Rahmen unserer Studie auch das Poolen von getrockneten Blutstropfen (DBS) und getrockneten Plasmatropfen (DPS) nach der Minipool-Methode untersucht [46]. Die Ergebnisse der DBS konnten nicht verwendet werden, da die gepoolten DBS im Vergleich zu den Ergebnissen der flüssigen Plasmaproben bei den gleichen Patienten ein zu hohes Ergebnis anzeigten. Doch bei den DPS konnte eine Effizienz von 60% bei einem Poolschwellenwert von 200 cps/ml erreicht werden. Die Kosten für einen Test konnten durch diese Methode von 40 US\$ auf 21 US\$ reduziert werden. In einer Studie von 2013 konnte im Gegensatz zu unseren Ergebnissen gezeigt werden, dass Pooling von DBS im Vergleich zu Plasmapooling die gleiche Effizienz und den gleichen negativen prädiktiven Wert erreichen kann [73]. Außerdem wurde in dieser Studie der Unterschied zwischen der Verwendung von venösem Blut und Blut aus der Fingerbeere für die DBS untersucht. Die Studie kam zu dem Ergebnis, dass kein Unterschied für die Testergebnisse bestand [73].

Die Vorteile von DBS und DPS im Vergleich zu Blutplasma liegen v.a. in den Möglichkeiten der Lagerung und der Aufbewahrung. So können DBS und DPS im Vergleich zu Plasma in peripheren Kliniken gesammelt und bei Zimmertem-

peratur gelagert werden. Anschließend können diese in zentrale Laboratorien geschickt werden, um dort die Testungen durchzuführen. Dies ist v.a. für Entwicklungsländer, in denen keine flächendeckende Laborverteilung gegeben ist, von großem Vorteil. Erst durch diese Vereinfachung kann eine Überwachung des Therapieerfolgs (Therapiemonitoring) durch VL-Bestimmung möglich gemacht werden [74]. Mit der Vergleichbarkeit von venösem Blut und Blut aus der Fingerbeere ist zudem eine Vereinfachung der Probengewinnung möglich, die nun mit einfachsten Methoden erfolgen kann.

Pooling-Methoden wurden ebenfalls 2014 bei einer Studie aus Kanada angewandt, bei der Pooling die Detektion frischer HIV-Infektionen in einer risikoreichen Bevölkerungsgruppe im Vergleich zu 3. und 4. Generations-Enzymtestungen verbessern konnten [75]. Bei einer Studie in Süd-Korea von 2013 konnte die Minipool-Methode erfolgreich beim Therapiemonitoring eingesetzt werden [76]. Ebenfalls 2013 wurde in Kenia nachgewiesen, dass Pooling auch beim Therapiemonitoring von Kindern erfolgreich angewendet werden kann [77]. In einer Nachfolgestudie zu unseren Untersuchungen konnte 2014 in Südafrika erfolgreich eine Kombination aus Pooling-Methoden zum Therapiemonitoring mit anschließender Aufdeckung von eventuellen Genmutationen bei positiven Proben angewendet werden [78]. Diese Aufdeckung von sowohl Therapieversagen, als auch eventuellen Mutationen im HI-Virus durch eine kosteneffektive Methode hilft, unnötige Umstellungen auf eine *second-line* Therapie sowie Behandlung mit ineffektiven ART (da Resistenzen vorliegen) zu vermeiden.

In einer 2017 in Kenia durchgeführten Studie wurden weitere Selektionskriterien entwickelt, um die Dekonvolution der Minipools effizienter zu gestalten. So wurden kostengünstige, routinemäßig erhobene Laborparameter (CD4-Zellzahl oder CD4-Verhältnis) und klinische Informationen (Medikamentenanamnese, Beginn der Medikation, Adhärenz) genutzt, um einen Risikowert (*risk score*) zu ermitteln und anhand dessen die einzelnen Patientenproben innerhalb eines Pools zu priorisieren. Bei einem positiven Pool wurde der Patient mit dem höchsten Risikowert als erstes nachgetestet und das Ergebnis vom Gesamtpoolergebnis abgezogen. Falls weitere Tests nötig waren, um den Pool weiter zu dekonvolvieren, wurde der Patient mit dem zweithöchsten Risikowert getestet usw. Durch

diese Methode, in der zum einen leicht zu erhebende Daten und zum anderen der Dekonvolutions-Algorithmus zum Tragen kamen (*marker-assisted mini-pooling with algorithm*), konnten signifikant die Anzahl der benötigten Tests gesenkt werden. Allein der Einbezug der CD4-Zellzahl konnte schon die Einsparung an Tests erhöhen, wenn noch weitere Parameter einbezogen wurden, konnte die Einsparung noch verbessert werden [79].

4.5. Schlussfolgerung

Eine Überwachung der sollte nicht nur durch klinische Parameter, sondern auch durch Laborparameter erfolgen, um ein Therapieversagen frühzeitig entdecken zu können [80]. Die Überwachung der HIV-Therapie durch VL-Testung ist dabei der Überwachung durch CD4-Zellzahlmessungen überlegen und wird empfohlen, soweit es durchführbar ist [15, 23, 81]. Die Anwendung von Selektionskriterien, um Patienten mit einer VL ≥ 1.000 cps/ml erkennen zu können, kann Pooling auch in Ländern möglich machen, in denen eine hohe Prävalenz an Patienten mit einer hohen VL vorherrscht. In Ländern, in denen die Kosten einer Routine-VL-Testung als Therapiemonitoring nicht getragen werden können, kann Pooling eine kostensparende Möglichkeit sein, um möglichst viele Menschen während der Zeit ihrer HIV-Therapie begleiten und den Erfolg der Therapie überwachen zu können. Denn das Ziel, möglichst viele Patienten optimal therapieren zu können und eine möglichst hohe Rate an Patienten mit einer nicht nachweisbaren VL zu erreichen, bleibt bestehen, so lange es keine Heilung gibt.

„Today, an undetectable viral load is the closest we have to a cure.“ [1]

5. Zusammenfassung

Hintergrund: Um eine optimale Einstellung einer HIV-Therapie gewährleisten zu können, sind die regelmäßige Kontrolle der Viruslast und der CD4-Zellzahl notwendig. Die hohen Kosten, die das Monitoring der Viruslast bei einer steigenden Anzahl von Patienten, die eine HIV-Therapie erhalten, hervorruft, sind jedoch für viele Länder nicht zu bewältigen. Pooling-Strategien konnten bei einem festgesetzten und klinisch sinnvollen Viruslast-Grenzwert die Kosten des Monitorings effizient reduzieren. Dies galt jedoch bei einer niedrigen Rate an Patienten, die über dem Viruslast-Grenzwert lagen. In ärmeren Ländern ist die HIV-Infektionsrate oft besonders hoch und die Rate an Patienten mit hohen Viruslasten erscheint höher.

Methoden: Es wurden Informationen von Testanforderungsbögen ausgewertet, um Selektionskriterien zu finden, die die Wahrscheinlichkeit erhöhten, eventuelle Therapieversager zu erkennen. Anschließend wurde Blutplasma von 300 Patientenproben, die die gefundenen Selektionskriterien erfüllten, in drei 10x10 Matrices gepoolt. Zur Auswertung der Pools wurde ein bereits vorher entwickelter Algorithmus verwendet.

Ergebnisse: Als Selektionskriterien wurden gefunden, dass nur Patienten, die mindestens 16 Jahre alt waren und eine auf einem nicht-nukleosidischen Reverse-Transkriptase-Inhibitor beruhende Therapie erhielten (*first-line* Therapie), für das Pooling geeignet waren. Die Rate an Patienten mit einer Viruslast von mindestens 1.000 HIV-1 RNA Kopien pro Milliliter unter den 300 Patientenproben betrug 11,0%. Durch die Anwendung der Matrix-Pooling-Methode konnten insgesamt 41% der Tests eingespart werden, was in einer durchschnittlichen Kostenreduktion von 1.640 US\$ pro 100 Patientenproben resultierte. Dabei lag der negative prädiktive Wert bei 98% und der positive prädiktive Wert bei 100% bei einer Sensitivität von 81% und einer Spezifität von 100%.

Diskussion: Pooling-Methoden sind eine Möglichkeit, bei den bisher zur Verfügung stehenden kommerziell angebotenen Viruslasttestungen Kosten einzusparen und somit die Viruslasttestung in Ländern zu ermöglichen, die bisher die Kosten dafür nicht tragen konnten.

6. Literaturverzeichnis

1. Sidibé, M. *The Last Climb: Ending AIDS, Leaving no one behind*. 2014 [Zuletzt zugegriffen am 19.06.2018]; Available from: http://www.unaids.org/en/resources/presscentre/unaidsspeeches/2014/20140720_SP_EXD_AIDS2014opening.
2. Gottlieb, M.S., et al., *PNEUMOCYSTIS-CARINII PNEUMONIA AND MUCOSAL CANDIDIASIS IN PREVIOUSLY HEALTHY HOMOSEXUAL MEN - EVIDENCE OF A NEW ACQUIRED CELLULAR IMMUNODEFICIENCY*. New England Journal of Medicine, 1981. **305**(24): p. 1425-1431.
3. UNAIDS. *Fact sheet - Latest statistics on the status of the AIDS epidemic*. 2017 [Zuletzt zugegriffen am 19.06.2018]; Available from: <http://www.unaids.org/en/resources/fact-sheet>.
4. UNAIDS. *FACT SHEET – WORLD AIDS DAY 2017*. 2017 [Zuletzt zugegriffen am 19.06.2018]; Available from: http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/UNAIDS_FactSheet_en.pdf.
5. Robert-Koch-Institut (RKI). *Schätzung der Zahl der HIV-Neuinfektionen und der Gesamtzahl von Menschen mit HIV in Deutschland, Stand Ende 2016*. 2017 [Zuletzt zugegriffen am 18.06.2019]; Available from: https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2017/Ausgaben/47_17.html.
6. Robert-Koch-Institut (RKI). *HIV-Jahresbericht 2016*. 2017 [Zuletzt zugegriffen am 18.06.2018]; Available from: https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2017/Ausgaben/39_17.html.
7. UNAIDS. *90-90-90: An ambitious treatment target to help end the AIDS epidemic*. 2014 [Zuletzt zugegriffen am 19.06.2018]; Available from: <http://www.unaids.org/en/resources/documents/2017/90-90-90>.
8. Hahn, H., et al., *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*, in *Springer-Lehrbuch*. 2009, Springer: Heidelberg.
9. Murphy, K.M., C. Weaver, and C. Janeway, *Janeway Immunologie*. 2018, Berlin, Germany: Springer Spektrum. XL, 1205 Seiten.
10. Murphy, K.M., et al., *Janeway immunologie*. 7. Aufl. ed. 2009, Heidelberg: Spektrum Akad. Verl. XXVI, 1093 S.
11. Rodger, A.J., et al., *Sexual Activity Without Condoms and Risk of HIV Transmission in Serodifferent Couples When the HIV-Positive Partner Is Using Suppressive Antiretroviral Therapy*. *Jama-Journal of the American Medical Association*, 2016. **316**(2): p. 171-181.
12. Cohen, M.S., et al., *Prevention of HIV-1 Infection with Early Antiretroviral Therapy*. *New England Journal of Medicine*, 2011. **365**(6): p. 493-505.
13. De Cock, K.M., et al., *Prevention of mother-to-child HIV transmission in resource-poor countries - Translating research into policy and practice*. *Jama-Journal of the American Medical Association*, 2000. **283**(9): p. 1175-1182.
14. World Health Organisation (WHO). *Use of Antiretroviral Drugs for Treating pregnant Women and Preventing HIV Infection in Infants*. 2012 [Zuletzt zugegriffen am 19.06.2018]; Available from: http://whqlibdoc.who.int/hq/2012/WHO_HIV_2012.6_eng.pdf?ua=1.
15. World Health Organisation (WHO). *Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection: recommendations for a public health approach. Second edition*. 2016 [Zuletzt zugegriffen am

- 14.09.2018]; Available from:
http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/208825/9789241549684_eng.pdf;jsessionid=974CA271CE7E0DB602371ABB60A5B121?sequence=1.
16. Robert-Koch-Institut (RKI). *HIV/AIDS: RKI-Ratgeber für Ärzte*. 2013 [Zuletzt zugegriffen am 17.09.2014]; Available from:
http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_HIV_AIDS.html#doc2374480bodyText8.
 17. Fischl, M.A., et al., *THE EFFICACY OF AZIDOTHYIMIDINE (AZT) IN THE TREATMENT OF PATIENTS WITH AIDS AND AIDS-RELATED COMPLEX - A DOUBLE-BLIND, PLACEBO-CONTROLLED TRIAL*. *New England Journal of Medicine*, 1987. **317**(4): p. 185-191.
 18. Barre-Sinoussi, F., A.L. Ross, and J.F. Delfraissy, *Past, present and future: 30 years of HIV research*. *Nature Reviews Microbiology*, 2013. **11**(12): p. 877-883.
 19. Hammer, S.M., et al., *A controlled trial of two nucleoside analogues plus indinavir in persons with human immunodeficiency virus infection and CD4 cell counts of 200 per cubic millimeter or less*. *New England Journal of Medicine*, 1997. **337**(11): p. 725-733.
 20. Malet, I., et al., *New raltegravir resistance pathways induce broad cross-resistance to all currently used integrase inhibitors*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2014. **69**(8): p. 2118-2122.
 21. De Nicolo, A., et al., *Intracellular Antiviral Activity of Low-Dose Ritonavir in Boosted Protease Inhibitor Regimens*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2014. **58**(7): p. 4042-4047.
 22. Hsu, A., G.R. Granneman, and R.J. Bertz, *Ritonavir - Clinical pharmacokinetics and interactions with other anti-HIV agents*. *Clinical Pharmacokinetics*, 1998. **35**(4): p. 275-291.
 23. World Health Organisation (WHO). *Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection: recommendations for a public health approach*. 2013 [Zuletzt zugegriffen am 14.09.2018]; Available from:
http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/85321/1/9789241505727_eng.pdf?ua=1.
 24. Deutsche AIDS-Gesellschaft (DAIG). *Deutsch-Österreichische Leitlinien zur antiretroviralen Therapie der HIV-Infektion, Version 7*. 2017 [Zuletzt zugegriffen am 14.09.2018]; Available from: <https://daignet.de/site-content/hiv-therapie/leitlinien-1/Deutsch%20Osterreichische%20Leitlinien%20zur%20antiretroviralen%20Therapie%20der%20HIV%20Infektion.pdf>.
 25. South Africa Government Online. *About SA - Geography and climate*. 2018 [Zuletzt zugegriffen am 14.09.2018]; Available from: <https://www.gov.za/about-sa/geography-and-climate>.
 26. South Africa Government Online. *About SA - South Africa's people*. 2018 [Zuletzt zugegriffen am 14.09.2018]; Available from: <https://www.gov.za/about-sa/south-africas-people>.
 27. South Africa Government Online. *About SA - South Africa at a glance*. 2018 [Zuletzt zugegriffen am 14.09.2018]; Available from: <https://www.gov.za/about-sa/south-africa-glance>.
 28. Western Cape Government. *Overview of the Western Cape*. 2002 [Zuletzt zugegriffen am 14.09.2018]; Available from:
http://www.westerncape.gov.za/sites/www.westerncape.gov.za/files/documents/2004/1/overview_western_cape.pdf.

29. South African National AIDS Council Trust. *SANAC TRUST ANNUAL REPORT 2016 – 2017*. 2017 [Zuletzt zugegriffen am 14.09.2018]; Available from: <http://sanac.org.za/2017/06/06/sanac-trust-annual-report-2016-2017/>.
30. UNAIDS. *South Africa - HIV and AIDS*. 2017 [Zuletzt zugegriffen am 14.09.2018]; Available from: <http://www.unaids.org/en/regionscountries/countries/southafrica/>.
31. South African National AIDS Council. *SANAC Annual Performance Plan 2017/18*. 2017 [Zuletzt zugegriffen am 14.09.2018]; Available from: <http://sanac.org.za/wp-content/uploads/2017/10/SANAC-APP-2017.pdf>.
32. UNAIDS. *GLOBAL AIDS RESPONSE PROGRESS REPORT 2012 - REPUBLIC OF SOUTH AFRICA*. 2012 [Zuletzt zugegriffen am 19.09.2014]; Available from: http://www.unaids.org/en/dataanalysis/knowyourresponse/countryprogressreports/2012countries/ce_ZA_Narrative_Report.pdf.
33. The South African National AIDS Council. *UNGASS South Africa Report*. 2013 [Zuletzt zugegriffen am 19.09.2014]; Available from: <http://sanac.org.za/publications/reports>.
34. South African National AIDS Council. *South Africa's National Strategic Plan for HIV, TB and STIs 2017-2022*. 2017 [Zuletzt zugegriffen am 14.09.2018]; Available from: http://sanac.org.za/wp-content/uploads/2017/05/NSP_FullDocument_FINAL.pdf.
35. AVERT - Global information and education on HIV and AIDS. *HIV and AIDS in South Africa*. 2018 [Zuletzt zugegriffen am 14.09.2018]; Available from: <https://www.avert.org/professionals/hiv-around-world/sub-saharan-africa/south-africa>.
36. Meintjes, G., et al., *Adult antiretroviral therapy guidelines 2017*. South Afr J HIV Med, 2017. **18**(1): p. 776.
37. Havlir, D.V., et al., *Prevalence and predictive value of intermittent viremia with combination hiv therapy*. JAMA, 2001. **286**(2): p. 171-9.
38. Ellman, T.M., et al., *Selecting a viral load threshold for routine monitoring in resource-limited settings: optimizing individual health and population impact*. J Int AIDS Soc, 2017. **20 Suppl 7**.
39. World Health Organisation (WHO). *Scaling up antiretroviral therapy in resource-limited settings: treatment guidelines for a public health approach, 3 by 5. 2003 Revision*. 2003 [Zuletzt zugegriffen am 18.09.2018]; Available from: http://www.who.int/hiv/pub/prev_care/en/arvrevision2003en.pdf.
40. Stramer, S.L., et al., *Detection of HIV-1 and HCV infections among antibody-negative blood donors by nucleic acid-amplification testing*. New England Journal of Medicine, 2004. **351**(8): p. 760-768.
41. Klausner, J.D., R.M. Grant, and C.K. Kent, *Detection of acute HIV infections*. New England Journal of Medicine, 2005. **353**(6): p. 631-632.
42. Pilcher, C.D., et al., *Acute HIV revisited: new opportunities for treatment and prevention*. Journal of Clinical Investigation, 2004. **113**(7): p. 937-945.
43. Pilcher, C.D., et al., *Detection of acute infections during HIV testing in North Carolina*. New England Journal of Medicine, 2005. **352**(18): p. 1873-1883.
44. Dorfman, R., *The detection of defective members of large populations*. Ann Math Stat, 1943(14): p. 436-440.
45. Smith, D.M., et al., *The use of pooled viral load testing to identify antiretroviral treatment failure*. Aids, 2009. **23**(16): p. 2151-2158.
46. van Zyl, G.U., et al., *Pooling strategies to reduce the cost of HIV-1 RNA load monitoring in a resource-limited setting*. Clin Infect Dis, 2011. **52**(2): p. 264-70.
47. National Department of Health - South Africa. *Clinical guidelines for the management of HIV and AIDS in adults and adolescents*. 2010 [Zuletzt

- zugegriffen am 07.09.2010]; Available from:
<http://www.sanac.org.za/documents/2010%20Adult%20ART%20Guidelines.pdf>.
48. Lundershausen, A.-T., *Der Nutzen von Minipools, Dried Blood Spots und Dried Plasma Spots zur Kostenreduktion von HIV-1 RNA Virusbelastung in ressourcenarmen Ländern am Beispiel Südafrika*. 2014, Würzburg.
 49. May, S., et al., *Pooled Nucleic Acid Testing to Identify Antiretroviral Treatment Failure During HIV Infection*. *Jacids-Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 2010. **53**(2): p. 194-201.
 50. Biomérieux. *NUCLISENS® EASYQ® HIV-1 Performance*. 2014 [Zuletzt aufgerufen am 22.09.2014]; Available from: <http://www.biomerieux-diagnostics.com/sites/clinic/files/nuclisens-easyq-hiv-1-v-2.0.pdf>.
 51. Biomérieux. *NUCLISENS® EASYMAG® - eine innovative, automatisierte Plattform zur Extraktion von Gesamtnukleinsäure*. 2018 [Zuletzt aufgerufen am 17.09.2018]; Available from: <http://www.biomerieux.de/klinische-diagnostik/nuclisensr-easymagr>.
 52. Biomérieux. *NUCLISENS® EASYQ®- Real-time NASBA Amplification Platform for fast, easy-to-read results*. 2018 [Zuletzt zugegriffen am 17.09.2018]; Available from: <https://www.biomerieux-diagnostics.com/nuclisens-easyqr>.
 53. Compton, J., *Nucleic acid sequence-based amplification*. *Nature*, 1991. **350**: p. 91.
 54. Deiman, B., P. van Aarle, and P. Sillekens, *Characteristics and applications of nucleic acid sequence-based amplification (NASBA)*. *Molecular Biotechnology*, 2002. **20**(2): p. 163-179.
 55. Rowley, C.F., *Developments in CD4 and Viral Load Monitoring in Resource-Limited Settings*. *Clinical Infectious Diseases*, 2014. **58**(3): p. 407-412.
 56. Hosseinipour, M.C., et al., *The public health approach to identify antiretroviral therapy failure: high-level nucleoside reverse transcriptase inhibitor resistance among Malawians failing first-line antiretroviral therapy*. *Aids*, 2009. **23**(9): p. 1127-1134.
 57. Marconi, V.C., et al., *Prevalence of HIV-1 drug resistance after failure of a first highly active antiretroviral therapy regimen in KwaZulu Natal, South Africa*. *Clinical Infectious Diseases*, 2008. **46**(10): p. 1589-1597.
 58. Montaner, J.S., *Treatment as prevention: toward an AIDS-free generation*. *Top Antivir Med*, 2013. **21**(3): p. 110-4.
 59. Hull, M.W. and J.S. Montaner, *HIV treatment as prevention: the key to an AIDS-free generation*. *J Food Drug Anal*, 2013. **21**(4): p. S95-S101.
 60. Bendavid, E., et al., *Cost-effectiveness of HIV monitoring strategies in resource-limited settings - A Southern African analysis*. *Archives of Internal Medicine*, 2008. **168**(17): p. 1910-1918.
 61. Drosten, C., et al., *Ultrasensitive monitoring of HIV-1 viral load by a low-cost real-time reverse transcription-PCR assay with internal control for the 5' long terminal repeat domain*. *Clinical Chemistry*, 2006. **52**(7): p. 1258-1266.
 62. Usdin, M., M. Guillermin, and A. Calmy, *Patient Needs and Point-of-Care Requirements for HIV Load Testing in Resource-Limited Settings*. *Journal of Infectious Diseases*, 2010. **201**: p. S73-S77.
 63. Gottesman, B.S., et al., *Comparative performance of the amplicor HIV-1 monitor assay versus NucliSens EasyQ in HIV subtype C-infected patients*. *Journal of Medical Virology*, 2006. **78**(7): p. 883-887.
 64. Rouet, F., et al., *Comparison of the Generic HIV Viral Load (R) assay with the Amplicor (TM) HIV-1 Monitor v1.5 and Nuclisens HIV-1 EasyQ (R) v1.2 techniques for plasma HIV-1 RNA quantitation of non-B subtypes: The Kesho Bora preparatory study*. *Journal of Virological Methods*, 2010. **163**(2): p. 253-257.

65. Gessoni, G., et al., *Biological qualification of blood units - Considerations about the effects of sample's handling and storage on stability of nucleic acids*. Transfusion and Apheresis Science, 2004. **30**(3): p. 197-203.
66. Ballesteros-Zebadua, P., et al., *Differences in HIV-1 Viral Loads Between Male and Female Antiretroviral-untreated Mexican Patients*. Archives of Medical Research, 2013. **44**(4): p. 296-301.
67. Farzadegan, H., et al., *Sex differences in HIV-1 viral load and progression to AIDS*. Lancet, 1998. **352**(9139): p. 1510-1514.
68. Napravnik, S., et al., *Gender difference in HIV RNA levels: A meta-analysis of published studies*. J AIDS-Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes, 2002. **31**(1): p. 11-19.
69. Babiker, A., et al., *Time from HIV-1 seroconversion to AIDS and death before widespread use of highly-active antiretroviral therapy: a collaborative re-analysis*. Lancet, 2000. **355**(9210): p. 1131-1137.
70. Sterling, T.R., et al., *Initial plasma HIV-1 RNA levels and progression to AIDS in women and men*. New England Journal of Medicine, 2001. **344**(10): p. 720-725.
71. Andersen, D., B. Rasmussen, and K. Linnet, *Validation of a fully automated robotic setup for preparation of whole blood samples for LC-MS toxicology analysis*. J Anal Toxicol, 2012. **36**(4): p. 280-7.
72. Bessemans, L., et al., *Automated Gravimetric Calibration to Optimize the Accuracy and Precision of TECAN Freedom EVO Liquid Handler*. J Lab Autom, 2016. **21**(5): p. 693-705.
73. Pannus, P., et al., *Pooled HIV-1 Viral Load Testing Using Dried Blood Spots to Reduce the Cost of Monitoring Antiretroviral Treatment in a Resource-Limited Setting*. J AIDS-Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes, 2013. **64**(2): p. 134-137.
74. Roberts, T., et al., *Challenges and opportunities for the implementation of virological testing in resource-limited settings*. Journal of the International Aids Society, 2012. **15**.
75. Kraiden, M., et al., *Pooled nucleic acid testing increases the diagnostic yield of acute HIV infections in a high-risk population compared to 3rd and 4th generation HIV enzyme immunoassays*. Journal of Clinical Virology, 2014. **61**(1): p. 132-137.
76. Kim, S.B., et al., *Pooled nucleic acid testing to identify antiretroviral treatment failure during HIV infection in Seoul, South Korea*. Scandinavian Journal of Infectious Diseases, 2014. **46**(2): p. 136-140.
77. Chohan, B.H., et al., *Pooled HIV-1 RNA Viral Load Testing for Detection of Antiretroviral Treatment Failure in Kenyan Children*. J AIDS-Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes, 2013. **63**(3): p. E87-E93.
78. Newman, H., et al., *A qualitative PCR minipool strategy to screen for virologic failure and antiretroviral drug resistance in South African patients on first-line antiretroviral therapy*. J Clin Virol, 2014. **60**(4): p. 387-91.
79. Liu, T., et al., *Improved HIV-1 Viral Load Monitoring Capacity Using Pooled Testing With Marker-Assisted Deconvolution*. J Acquir Immune Defic Syndr, 2017. **75**(5): p. 580-587.
80. Laurent, C., et al., *Monitoring of HIV viral loads, CD4 cell counts, and clinical assessments versus clinical monitoring alone for antiretroviral therapy in rural district hospitals in Cameroon (Stratall ANRS 12110/ESTHER): a randomised non-inferiority trial*. The Lancet Infectious Diseases, 2011. **11**(11): p. 825-833.
81. Smith, D.M. and R.T. Schooley, *Running with scissors: Using antiretroviral therapy without monitoring viral load*. Clinical Infectious Diseases, 2008. **46**(10): p. 1598-1600.

7. Abbildungsverzeichnis⁷

Abb. 1: Das Virion des menschlichen Immunschwächevirus (HIV)	5
Abb. 2: Das Genom des HI-Virus und die jeweilige Funktion	6
Abb. 3: Replikationszyklus des HI-Virus und Angriffspunkte der ART	14
Abb. 4: Pooling nach der Matrix-Methode.	27
Abb. 5: Anforderungsbogen für die Labortestung, unausgefüllt	32
Abb. 6: Spezifische, patientenbezogene Daten	33
Abb. 7: Aktueller HIV-Programmstatus des Patienten	34
Abb. 8: Klinische Informationen und Testanforderung	34
Abb. 9: Aktuelle Medikation	35
Abb. 10: Verteilung der VL innerhalb der Studienpopulation	38
Abb. 11: Ergebnisse der Matrix-Methode im Vergleich	55

⁷ Abdruck von Abb. 1 und 2 mit freundlicher Genehmigung von Springer Science and Bus Media B V, Abdruck von Abb. 3 mit freundlicher Genehmigung von Springer Nature und Abdruck von Abb. 4 mit freundlicher Genehmigung von Wolters Kluwer Health, Inc.

8. Tabellenverzeichnis

Tab. 1: AIDS-definierende Erkrankungen bei HIV-Infektion	11
Tab. 2: CDC-Klassifikation der HIV-Infektion für Erwachsene.....	11
Tab. 3: Überblick über die Studienpopulation.....	37
Tab. 4: Viruslastverteilung in Bezug auf das Alter	39
Tab. 5: Überblick über die Studienpopulation.....	40
Tab. 6: Therapieversagerquote abhängig von Geschlecht und Alter	41
Tab. 7: Überblick über die verabreichten antiviralen Medikamente	44
Tab. 8: Überblick über verschiedene Medikamentenkombinationen	45
Tab. 9: Überblick über den Zusammenhang von klinischen Informationen und der Therapieversagerquote	46
Tab. 10: Überblick über den Zusammenhang von weiteren Informationen mit der Therapieversagerquote	47
Tab. 11: Auswirkungen der Selektionskriterien auf die Studienpopulation	48
Tab. 12: Überblick über die Studienpopulation.....	50
Tab.13: Vergleich der Studienteilnehmer der einzelnen Matrices	52
Tab.14: Durchschnittlich benötigte Zeit zur Erstellung der Matrices.....	53
Tab. 15: Ergebnisse des Poolings nach der Matrix-Methode im Vergleich zur Minipool-Methode.....	56

9. Anhang

Anhang 1: Klinische WHO-Stadien der HIV-Infektion bei Erwachsenen [23]

Stadium 1	<ul style="list-style-type: none"> - Asymptomatisch - persistierende generalisierte Lymphadenopathie
Stadium 2	<ul style="list-style-type: none"> - Geringer, unerklärlicher Gewichtsverlust (< 10% des vorherigen Körpergewichts) - wiederholte Infekte des Respirationstrakts (Sinusitis, Tonsillitis, Otitis media, Pharyngitis) - Herpes zoster - Mundwinkelrhagaden - wiederholte orale Ulzera - <i>Papular pruritic eruption</i> (papuläre Urtikaria) - Pilzinfektionen der Nägel - seborrhoische Dermatitis
Stadium 3	<ul style="list-style-type: none"> - schwerer, unerklärlicher Gewichtsverlust (> 10% des vorherigen Körpergewichts) - unerklärliche chronische Diarrhö (> 1 Monat) - unerklärliches Fieber (unterbrochen oder durchgehend länger als ein Monat) - persistierende orale Candidiasis - orale Haarleukoplakie - Lungentuberkulose - schwere bakterielle Infektionen (Pneumonia, Empyema, Pyomyositis, Knochen- oder Gelenkentzündungen, Meningitis, Bakteriämie) - akute nekrotisierende ulzerative Stomatitis, Gingivitis/Periodontitis - unerklärliche Anämie (<8 g/dl), Neutropenie (<0.5 x 10⁹/l) und/oder chronische Thrombocytopenie (<50 x 10⁹/l)
Stadium 4	<ul style="list-style-type: none"> - HIV <i>wasting syndrome</i> - Pneumocystis-jirovecii Pneumonie - wiederholte, schwere bakterielle Pneumonien - chronische Herpes simplex Infektion (orolabial, genital oder anorectal länger als einen Monat oder visceral) - ösophageale Candidiasis (oder der Trachea, der Bronchien oder der Lunge) - extrapulmonale Tuberkulose - Kaposi sarcoma - Cytomegalievirus Infektion (Retinitis oder Infektion anderer Organe) - ZNS-Toxoplasmose - HIV Enzephalopathie - extrapulmonale Kryptokokkose (einschließlich Meningitis) - disseminierte Mykobakterieninfektion (nicht M. tuberculosis) - progressive multifokale Leukoencephalopathie - chronische Cryptosporidiose

	<ul style="list-style-type: none">- chronische Isosporiasis- disseminierte Pilzinfektionen (extrapulmonale Histoplasmose, Coccidioidomycose)- Lymphome (cerebral oder B-Zell Non-Hodgkin)- symptomatische HIV-assoziierte Nephropathie oder Kardiomyopathie- wiederholte Septikämie (einschließlich nontyphoidale Salmonellen)- invasives Zervixkarzinom- atypische, disseminierte Leishmaniose
--	---

Anhang 2: Liste der Kliniken⁸ und Krankenhäuser

Aan Het Pad PHC Clinic	Bluedowns Clinic
Abbotsdale PHC Clinic	Bongulethu PHC Clinic
Adriaanse Clinic	Bonnievale Mobile Clinic
Albertinia Municipal Clinic	Bonnievale Municipal Clinic
Albertinia PHC Clinic	Bonnievale PHC
Albow Gardens Clinic	Bossieveld PHC Clinic
Alma Clinic	Bothasiq Clinic
Alphen Clinic	Botrivier PHC Clinic
Annie Brown Clinic	Brackenfell Clinic
Ashton PHC Clinic	Brandwacht Clinic
Ashton Psychiatric Services	Bredasdorp Hospital
Aurora Municipal Clinic	Bredasdorp Municipal Clinic
Aurora PHC Clinic	Bredasdorp PHC Clinic
Barrydale Municipal Clinic	Bredasdorp Psychiatric Service
Barrydale PHC Clinic	Breede Valley Municipal Clinic
Beaufort West CHC	Breede Valley Rsc
Beaufort West Hospital	Bridgton Comm Health Centre
Beaufort West Mobile 1 Clinic	Brighton Clinic
Beaufort West Mobile 2 Clinic	Browns Farm Day Hospital
Beaufort West Municipal Clinic	Buffeljags Rivier PHC Clinic
Beaufortwest PHC Clinic	Caldeon Mobile2 Clinic
Belhar Day Hospital	Caledon Hospital
Bella Vista Clinic	Caledon Mobile 1 Clinic
Bellville Day Hospital	Caledon Mobile 3 Clinic
Bellville South CHC	Caledon Municipal Clinic
Bergrivier/Soetendal Clinics	Caledon Psychiatric Services
Bergsig PHC Clinic	Caledon Rsc
Bird Street TB Clinic	Caledonmobile 1 Clinic
Bishop Lavis Clinic	Calitzdorp Clinic
Bishop Lavis Day Hospital	Calitzdorp Mobile Clinic
Bitterfontein PHC Clinic	Calitzdorp Municipal Clinic
Blanco Clinic	Cape Clothing – Elsie River
Bloekombos Clinic	Capetown Station Family Plan

⁸ *PHC Clinic* steht für *Primary Health Care Clinic*; es handelt sich dabei um ein niedrighschwelliges Angebot, das sich um die Individuen in den Vierteln bzw. Gemeinden kümmert (siehe auch: <http://www.who.int/primary-health/en/>)

Ceres Hospital	Dr Abdurahman Day Hospital
Ceres Mobile Clinic	Dr Aj De Witt
Ceres PHC Clinic	Dr Ivan Toms Clinic
Ceres Psychiatric Services	Dr Jc Venter
Chapel Street Clinic	Dr Jdj Le Grange
Chatsworth PHC Clinic	Dr Lj Lerm
CHC Worcester	Dr P Du Preez
Citrusdal Hospital	Dr Pj Kotze
Citrusdal Municipal Clinic	Dr Wp Nel
Citrusdal PHC Clinic	Du Noon Clinic
Clanwilliam Municipal Clinic	Durbanville Clinic
Clanwilliam PHC Clinic	Durbanville Day Hospital
Clanwilliam Psych Services	Dysseldorp CHC Clinic
Claremont Clinic	Eastridge Clinic
Cogmanskloof PHC Clinic	Ebenhaezer PHC Clinic
Constitution Street Clinic	Eden District Municipal Clinic
Conville Clinic	Eersterivier Hospital
Cross Roads Day Hospital	Elandsbaai Clinic
Crossroads 1 Clinic	Elim PHC Clinic
Crossroads 2 Clinic	Elsies River Clinic
Dal/E De Waal Clinics	Elsies River Day Hospital
D'Almeida Clinic	Eyethu Clinic
Dalvale PHC Clinic	Factreton Clinic
Dana Bay Mobile Clinic	False Bay Hospital
Darling Municipal Clinic	Fish Hoek Clinic
Darling PHC Clinic	Franschhoek North Clinic
De Doorns Municipal Clinic	Franschhoek South Clinic
De Doorns PHC Clinic	Friemersheim PHC Clinic
De Rust PHC Clinic	Gansbaai PHC Clinic
De Wet PHC Clinic	Genadendal Municipal Clinic
Delft Day Hospital	Genadendal PHC Clinic
Delft South Clinic	Genetic Services South Cape
Devon Valley PHC Clinic-Area 3	George Civic Centre Clinic
Diazville PHC Clinic	George Hospital
Died River	George Road Clinic
Dirkie Uys Clinic	Gf Jooste Hospital
Don & Pat Bilton PHC Clinic	Good Hope Day Hospital
Doringbaai PHC Clinic	Goodwood Day Hospital

Gordons Bay Clinic	Hermanus Hospital
Gouda Municipal Clinic	Hermanus PHC
Gouda PHC Clinic	Hermanus Psychiatric Services
Graafwater Municipal Clinic	Herold PHC Clinic
Graafwater PHC Clinic	Hexberg/Blouvillei PHC Clinic
Grabouw Day Hospital	Hillcrest Clinic
Grabouw Mobile 1 Clinic	Hiv Clinic Worcester
Grabouw Mobile 2 Clinic	Hopefield Municipal Clinic
Grabouw Mobile 3 Clinic	Hopefield RSC Clinic
Grabouw Municipal Clinic	Hornlee PHC Clinic
Grabouw PHC Clinic	Hottentots Holland Hospital
Grassy Park Civic Clinic	Hout Bay Day Hospital
Grassy Park Day Hospital	Hout Bay Main Road Clinic
Green Point Complex Day Hosp	Huis Tomlinson Old Age Home
Greyton Municipal Clinic	Idasvallei PHC Clinic
Greyton PHC Clinic	Ikhwezi Day Hospital
Grootbrakrivier Mun Clinic	Ikwezi Chc
Grootdrakenstein PHC Clinic	Infectious Diseases Hospital
Groote Schuur Hospital	Inzame Zabantu Day Hospital
Guguletu Clinic	Jj Du Preez PHC Clinic
Guguletu Day Hospital	Kalbaskraal PHC Clinic
Guguletu Mou	Karl Bremer Hospital
Haarlem PHC Clinic	Kasselsvlei CHC
Hanna Coetzee PHC Clinic	Kasselsvlei Day Hospital
Hanover Park Clinic	Kayamandi Clinic
Hanover Park Day Hospital	Kensington Day Hospital
Hanover Park Mou	Keurhoek PHC Clinic
Happy Valley PHC Clinic	Khayelitsha Day Hospital
Harmonie Clinic	Khayelitsha Mou
Hartenbos Clinic	Klaarstroom PHC Clinic
Hartenbos Municipal Clinic	Klapmuts PHC Clinic
Hawston PHC Clinic	Klawer Municipal Clinic
Heidelberg Municipal Clinic	Klawer PHC Clinic
Heidelberg PHC Clinic	Klein Drakenstein PHC Clinic
Heideveld Antenatal Clinic	Klein Karoo Co-operative Ltd
Heideveld Clinic	Klein Nederburg PHC Clinic
Heideveld Day Hospital	Kleinbrak Motel PHC Clinic
Herbertsdale PHC Clinic	Kleinmond Municipal Clinic

Kleinmond PHC Clinic	Liesbeeck Mou
Kleinvlei Day Hospital	Lotus River Clinic
Klip Road Clinic	Lotus River Day Hospital
Kliprand Clinic	Louville PHC Clinic
Knysna Eden Municipal Mobile	Lutzville Mobile Clinic
Knysna Hospital	Lutzville Municipal Clinic
Knysna Town Clinic	Lutzville PHC Clinic
Koekenaap PHC Clinic	Luvuyo Clinic
Koelenhof PHC Clinic (Area 4)	Macassar Clinic
Koringberg Municipal Clinic	Macassar Day Hospital
Koue Bokkeveld PHC Clinic	Maitland Clinic
Kraaifontein Day Hospital	Maitland Day Hospital
Kranshoek PHC Clinic	Malmesbury Hospital
Kuils River Clinic	Malmesbury Municipal Clinic
Kuyasa Clinic	Malmesbury PHC Clinic
Kwamandlenkosi PHC Clinic	Mamre Community Health Centre
Kwanokathula Clinic	Mamre Day Hospital
Kyaletu Clinic	Manenberg Clinic
Kylemore PHC Clinic	Maria Pieterse Clinic
Ladismith Municipal Clinic	Masi Humelele Clinic
Ladismith PHC Clinic	Masinedane Clinic
Lady Michaelis Day Hospital	Matjiesfontein PHC Clinic
Laingsburg Hospital	Matthew Goniwe Clinic
Laingsburg Mobile Clinic	Mbekweni PHC Clinic
Laingsburg Municipal Clinic	McCain Clinic
Laingsburg PHC Clinic	McGregor Municipal Clinic
Laingville PHC Clinic	McGregor PHC Clinic
Lalie Cleophas Clinic	Melkbos Clinic
Lambert's Bay Municipal Clinic	Melkhoutfontein PHC Clinic
Langa Clinic	Merweville PHC Clinic
Langa Day Hospital	Mfuleni Day Hospital
Langebaan Municipal Clinic	Michael Mpongwana Day Hospital
Lansdowne Clinic	Minnie PHC Clinic
Lavender Hill Clinic	Mitchell's Plain Day Hospital
Lawaaikamp Clinic	Mitchell's Plain Mou
Leeu Gamka PHC Clinic	Mitchell's Plain Youth Health C
Leeukloof PHC Clinic	Mobile (Durbanville)
Lentegeur Clinic	Mobile (Macassar)

Mobile (Melkbos)	Ocean View Day Hospital
Molsvlei Clinic	Onrus River Clinic
Montagu Mobile Clinic	Onrusrivier Municipal Clinic
Montagu PHC Clinic	Oudtshoorn Civic Centre Clinic
Montagu Psychiatric Services	Oudtshoorn Hospital
Montagu Rsc Clinic	Oudtshoorn Mobile Clinics
Montana PHC Clinic	Overhex PHC Clinic
Mooreesburg PHC Clinic	Paarl East Tc Newman Hospital
Moorreesburg Municipal Clinic	Paarl Hospital
Moorreesburg PHC Clinic	Paarl Municipal Clinic
Mossel Bay Hospital	Pacaltsdorp Clinic
Mossel Bay Municipal Clinic	Pacaltsdorp Day Hospital
Mount Pleasant PHC Clinic	Pacaltsdorp Municipal Clinic
Mowbray Maternity Hospital	Parkdene Clinic
Muizenberg Clinic	Parkwood Clinic
Murraysburg PHC Clinic	Parow Clinic
Mzamamhle Clinic	Parow Day Hospital
Napier Municipal Clinic	Pater Noster PHC Clinic
Napier PHC Clinic	Patriotplein PHC Clinic
N'duli PHC Clinic	Phillipi Clinic
Nelspoort PHC Clinic	Phola Park PHC Clinic
Netreg Clinic	Phumlani Clinic
New Horisons Clinic	Piketberg Municipal Clinic
Newton PHC Clinic	Piketberg PHC Clinic
Newtown PHC Clinic	Plettenberg Bay CHC
Nieuvelddorp Clinic	Plettenberg Bay Mobile Clinic
Nieuwedrift PHC Clinic	Porterville Municipal Clinic
Nieuwedrift TB Clinic	Porterville PHC Clinic
Nkqubela PHC Clinic	Prince Albert Hospital
Nolungile Clinic	Prince Albert Municipal Clinic
Nolungile Day Hospital	Prince Albert PHC Clinic
Nolungile Youth Centre	Prince Alfred Hamlet Clinic
Noordhoek PHC Clinic	Prince Alfred Hamlet Mobile
Northpine Clinic	Prince Alfred Hamlet Mun Clin
Nuwerus Clinic	Prince Alfred Hamlet PHC Clin
Nyanqa Clinic	Protea Park Clinic
Nyanga Day Hospital	Railton Clinic
Ocean View Clinic	Ravensmead Clinic

Ravensmead Day Hospital	Saldanha Municipal Clinic
Rawsonville Municipal Clinic	Sandy Point PHC Clinic
Rawsonville PHC Clinic	Sarepta Clinic
Red Cross Children's Hospital	Saron Municipal Clinic
Reed Street Day Hospital	Saron PHC Clinic
Reproductive Health – Dorp Str	Satellite Chestnut (St Vincent)
Reproductive Health - Guguletu	Satellite Driftsands (Dr Ivan Toms)
Reproductive Health - Mitchell	Satellite Fagan St Clinic (Gordons Bay Clinic)
Reproductive Health –Bellville	Satellite Fisantekraal (Durbanville)
Reproductive Health Clinic	Satellite Groenvallei (Kasselsvlei)
Reproductive Health Mannenberg	Satellite Hazendal (Silvertown)
Retreat Clinic	Satellite Honevside (Lansdowne)
Retreat Day Hospital	Satellite Leonsdale (Elsies River)
Retreat Mou	Satellite Mandalay (Crossroads 1)
Riebeeck Kasteel Mun Clinic	Satellite Matroosfontein (Adriaanse)
Riebeeck Kasteel PHC Clinic	Satellite Newfields (Hanover Park)
Riebeeck West Municipal Clinic	Satellite Pelikan Park (Lotus River)
Riebeek Kasteel PHC Clinic	Satellite Pella (Saxon Sea)
Rietpoort Clinic	Satellite Pinelands (Maitland)
Riverlands PHC Clinic	Satellite Red Hill (Muizenberg)
Riversdal Mobile Clinic	Satellite Schotschekloof (Chapel Str)
Riversdale Hospital	Satellite Simonstown (Fish Hoek)
Riversdale Municipal Clinic	Satellite Table View Clinic (Du Noon)
Riversdale PHC Clinic	Saxon Sea Clinic
Riviersonderend PHC Clinic	Scottsdene Clinic
Robbie Nurock Day Hospital	Scottsdene Day Hospital
Robertson Hospital	Seawinds Clinic
Robertson Mobile Clinic	Sedgefield Municipal Clinic
Robertson Mobile Clinic 1	Sedgefield PHC Clinic
Robertson Mobile Clinic 2	Sidesaviwa Clinic
Robertson Municipal Clinic	Silvertown Clinic
Robertson PHC Clinic	Simondium/S-A Paarl Clinics
Robertson Psychiatric Services	Sir Lowrys Pass Clinic
Rocklands Clinic	Site B Clinic
Rosemoor Clinic	Site B Youth Centre
Russels Rest Clinic	Skurweberg PHC Clinic
Rusthof Day Hospital	Slanghoek PHC Clinic
Ruyterwag Day Hospital	Slangrivier PHC Clinic

Somerset Hospital	Uitsig Clinic
Somerset West Clinic	Uluntu Youth Centre
Sonstraal Hospital	Uniondale PHC Clinic
Spencer Road Clinic	Valhalla Park Clinic
St Helena Bay Clinic	Van Rhynsdorp PHC Clinic
St Vincent Clinic	Van Wyksdorp PHC Clinic
Stanford Municipal Clinic	Vanguard Day Hospital
Stanford PHC Clinic	Vanguard Mou (St Monica's)
Stellenbosch Hospital	Vanrhynsdorp Municipal Clinic
Stellenbosch Municipal Clinic	Victoria Hospital
Stilbaai Municipal Clinic	Victoria Street PHC Clinic
Stilbaai PHC Clinic	Villiersdorp Medical Centre
Stofkraal Clinic	Villiersdorp Mobile 1 Clinic
Stompneusbaai PHC Clinic	Villiersdorp Mobile 2 Clinic
Strand Community Health Centre	Villiersdorp Mobile 3 Clinic
Strandfontein Clinic	Villiersdorp RSC Clinic
Strandpad PHC Clinic (Area 2)	Vredenburg Hospital
Suurbraak PHC Clinic	Vredenburg Municipal Clinic
Swellendam Hospital	Vredendal Municipal Clinic
Swellendam Mobile Clinic	Vredendal PHC Clinic
Swellendam Mobile Clinic 1	Vredendal Psychiatric Services
Swellendam Mobile Clinic 2	Vuyani Clinic
Swellendam Municipal Clinic	Waenhuiskrans PHC Clinic
Swellendam PHC Clinic	Wallacedene Clinic
Table Top Clinic	Warm Bokkeveld PHC Clinic
Tafelsig Clinic	Wellington Municipal
The Craggs PHC Clinic	Weltevreden Valley Clinic
Thembaletu Clinic	Wesbank Clinic
Toekomsrus PHC Clinic	Wesbank PHC Clinic
Touwsrante PHC Clinic	Wesfleur Hospital
Touwsriver Municipal Clinic	Westlake Clinic
Touwsrivier PHC Clinic	Westridge Clinic
Town Two Clinic	Willa PHC Clinic
Tulbach Mobile Clinic	Windmeul/Paardeberg Clinics
Tulbach Municipal Clinic	Wit Lokasie Clinic
Tulbach PHC Clinic	Wolseley Municipal Clinic
Tulbach Psychiatric Services	Wolseley PHC Clinic
Tygerberg Hospital	Woodstock Day Hospital

Worcester Hospital	Wynberg Day Hospital
Worcester Mobile Clinic	Zakhele Clinic
Worcester Municipal Clinic	Zoar PHC Clinic
Worcester PHC Clinic	Zolani PHC Clinic
Worcester Psychiatric Services	Zwellhle Clinic
Wynberg Clinic	

Anhang 3: Beispiele für ausgefüllte Testanforderungsfomulare

NATIONAL HEALTH LABORATORY SERVICE

HOSP./CLINIC <i>Chaguburu</i>		HEALTH CARE WORKER NAME <i>S. Meherberg</i>	
WARD <i>AW</i>		SIGNATURE	
ATTACH PATIENT LABEL HERE PLEASE			
HOSPITAL/CLINIC NUMBER		TEL. NO.	
SURNAME		E NO.	
FIRST NAME		KFP 29326 998	
ADDRESS		Sex: <i>F</i> KRADH	
DATE OF BIRTH	GENDER	ETHNIC GROUP	COPIES TO
SPECIMEN TYPE		ADDRESS	
APPLIES TO PRIVATE PATIENTS ONLY			
DATE TAKEN <i>6/10/15</i>		ACCOUNT TO / PRINCIPAL MEMBER	
HEALTH DISTRICT		MED AID NAME	
RESP. CODE		MED AID NO.	
PROJECT ACCOUNT STAMP		MEMBER ADDRESS	
		MEMBER TEL (H)	
		(W):	
		ICD10 CODE(S)	
CLINICAL INFORMATION			
COMPREHENSIVE CARE, TREATMENT AND MANAGEMENT PROGRAMME SPECIFIC TESTS			
<input type="checkbox"/> CD4 (PLG)	<input checked="" type="checkbox"/> Viral Load	<input type="checkbox"/> Hepatitis B sAg	<input type="checkbox"/> Lactate (on ice)
<input type="checkbox"/> HIV PCR	<input type="checkbox"/> FBC & DIFF	<input type="checkbox"/> ALT	<input type="checkbox"/> Cryptosporidium
<input type="checkbox"/> HIV EIA (ELISA)	<input type="checkbox"/> U & E	<input type="checkbox"/> AST	<input type="checkbox"/> Isospora belli
<input type="checkbox"/> HIV RAPID	<input type="checkbox"/> Cholesterol	<input type="checkbox"/> Triglyceride	<input type="checkbox"/> Cryptococcus
<input type="checkbox"/> TB Direct (AFB)	<input type="checkbox"/> TB Culture	<input type="checkbox"/> TB Sens	<input type="checkbox"/> Pneumocystis jiroveci
			OTHER TESTS: <i>'09 OCT 7 AM 11:07:17</i>
THE FOLLOWING DETAILS MUST BE COMPLETED			PLEASE NOTE
ID Number: <input type="text"/>			Please note that this form must be used in compliance with your provincial treatment guidelines and financial protocols.
<p>Current HIV Programme Status (Please tick only one):</p> <p>PMTCT <input type="checkbox"/> Patient on PMTCT programme</p> <p>NEW <input type="checkbox"/> Has just enrolled in HIV care, first ever HIV-related blood tests</p> <p>TFI <input type="checkbox"/> Previous CD4 elsewhere, first follow-up here, not yet on ART</p> <p>FU <input type="checkbox"/> Previous CD4 here, testing as part of follow-up care, not yet on ART</p> <p>CARV <input checked="" type="checkbox"/> Currently on the antiretrovirals marked alongside</p> <p>Has started ART, but was not on ARVs at the time of these tests due to:</p> <p>TOX <input type="checkbox"/> Toxicity NC <input type="checkbox"/> Non-Compliance</p> <p>VF <input type="checkbox"/> Virological Failure OTHER <input type="checkbox"/> Other</p>			
<p>Current treatment</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> d4i <input type="checkbox"/> 3TC <input type="checkbox"/> EFV</p> <p><input type="checkbox"/> AZT <input type="checkbox"/> ddI <input checked="" type="checkbox"/> MVP</p> <p><input type="checkbox"/> ABC <input type="checkbox"/> KLT</p> <p><input type="checkbox"/> TDF <input type="checkbox"/> SQV</p> <p>Other ARV: <input type="checkbox"/> RTV</p> <p><input type="checkbox"/> Cotrimoxazole <input type="checkbox"/> Fluconazole</p> <p><input type="checkbox"/> INH <input type="checkbox"/> Rif</p> <p>Other drugs: _____</p>			 ABMT9983A APPLY BAR CODE LENGTHWISE DO NOT WRAP AROUND  ABMT9983A  ABMT9983A  ABMT9983A  ABMT9983A  ABMT9983A  ABMT9983A
<p>Additional HIV Programme Status:</p> <p>Patient is about to start ART and these are baseline tests:</p> <p>NAI <input type="checkbox"/> Naive EXPP <input type="checkbox"/> PMTCT EXPA <input type="checkbox"/> Treatment experienced</p>			
<p>Has this patient been transferred in from another program, e.g. TBCP</p> <p>YES <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/></p>			
<p>Months since first enrolling on ART at this facility irrespective of stops and restarts</p> <p>6 <input type="checkbox"/> 12 <input type="checkbox"/> 18 <input type="checkbox"/> 24 <input type="checkbox"/> Other: <input type="text"/></p>			

Anforderungsblatt 1: Beispiel für einen Patienten, der eine *first-line* Medikation erhält.

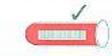
NATIONAL HEALTH LABORATORY SERVICE

<p>HOSP./CLINIC: J8 TBH</p> <p>WARD: _____</p> <p style="text-align: center; color: red;">ATTACH PATIENT LABEL HERE PLEASE</p> <p>HOSPITAL/CLINIC NUM: _____</p> <p>SURNAME: _____</p> <p>FIRST NAME: _____</p> <p>DOB: _____ M Xhosa (4) TBH</p> <p>ADDRESS: _____</p> <p>DATE OF BIRTH: 25.06.06 GENDER: (M) ETHNIC GROUP: _____</p> <p>SPECIMEN TYPE: Blood</p> <p>DATE TAKEN: 06.10.08 TIME TAKEN: 10.45 HOSP. CLASS: _____</p> <p>HEALTH DISTRICT: _____</p> <p>RESP. CODE: _____</p> <p>PROJECT ACCOUNT STAMP: _____</p>	<p>HEALTH CARE WORKER NAME: _____</p> <p>SIGNATURE: <i>[Signature]</i></p> <p>STV0304251 [FORM]</p> <p>TEL. NO.: _____</p> <p>E NO.: _____</p> <p>S: _____</p> <p>COPIES TO: _____</p> <p>ADDRESS: _____</p> <p style="text-align: center; color: red;">APPLIES TO PRIVATE PATIENTS ONLY</p> <p>ACCOUNT TO / PRINCIPAL MEMBER: _____</p> <p>MED AID NAME: _____</p> <p>MED AID NO.: _____ DEP CODE: _____</p> <p>MEMBER ADDRESS: _____</p> <p>MEMBER TEL (H): _____ (W): _____</p> <p>ICD10 CODE(S): _____</p>																										
<p>CLINICAL INFORMATION</p> <p style="font-size: 1.2em; font-family: cursive;">virology, normal?</p> <p style="text-align: right;"><i>[Signature]</i></p>																											
<p>COMPREHENSIVE CARE, TREATMENT AND MANAGEMENT PROGRAMME SPECIFIC TESTS</p>																											
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="border: none;"><input type="checkbox"/> CD4 (PLG)</td> <td style="border: none;"><input checked="" type="checkbox"/> Viral Load</td> <td style="border: none;"><input type="checkbox"/> Hepatitis B sAg</td> <td style="border: none;"><input type="checkbox"/> Lactate (on ice)</td> <td style="border: none;"><input type="checkbox"/> TB Direct (AFB)</td> <td rowspan="5" style="border: 1px solid black; padding: 5px; vertical-align: top;"> OTHER TESTS: '09 OCT 7 PM 12:54:52 </td> </tr> <tr> <td style="border: none;"><input type="checkbox"/> HIV PCR</td> <td style="border: none;"><input type="checkbox"/> FBC & DIFF</td> <td style="border: none;"><input type="checkbox"/> ALT</td> <td style="border: none;"><input type="checkbox"/> Cryptosporidium</td> <td style="border: none;"><input type="checkbox"/> TB Culture</td> </tr> <tr> <td style="border: none;"><input type="checkbox"/> HIV EIA (ELISA)</td> <td style="border: none;"><input type="checkbox"/> U & E</td> <td style="border: none;"><input type="checkbox"/> AST</td> <td style="border: none;"><input type="checkbox"/> Isospora belli</td> <td style="border: none;"><input type="checkbox"/> TB Sens</td> </tr> <tr> <td style="border: none;"><input type="checkbox"/> HIV RAPID</td> <td style="border: none;"><input type="checkbox"/> Cholesterol</td> <td style="border: none;"><input type="checkbox"/> Triglyceride</td> <td style="border: none;"><input type="checkbox"/> Cryptococcus</td> <td style="border: none;"><input type="checkbox"/> Pneumocystis jiroveci</td> </tr> <tr> <td colspan="5" style="border: none;"></td> </tr> </table>		<input type="checkbox"/> CD4 (PLG)	<input checked="" type="checkbox"/> Viral Load	<input type="checkbox"/> Hepatitis B sAg	<input type="checkbox"/> Lactate (on ice)	<input type="checkbox"/> TB Direct (AFB)	OTHER TESTS: '09 OCT 7 PM 12:54:52	<input type="checkbox"/> HIV PCR	<input type="checkbox"/> FBC & DIFF	<input type="checkbox"/> ALT	<input type="checkbox"/> Cryptosporidium	<input type="checkbox"/> TB Culture	<input type="checkbox"/> HIV EIA (ELISA)	<input type="checkbox"/> U & E	<input type="checkbox"/> AST	<input type="checkbox"/> Isospora belli	<input type="checkbox"/> TB Sens	<input type="checkbox"/> HIV RAPID	<input type="checkbox"/> Cholesterol	<input type="checkbox"/> Triglyceride	<input type="checkbox"/> Cryptococcus	<input type="checkbox"/> Pneumocystis jiroveci					
<input type="checkbox"/> CD4 (PLG)	<input checked="" type="checkbox"/> Viral Load	<input type="checkbox"/> Hepatitis B sAg	<input type="checkbox"/> Lactate (on ice)	<input type="checkbox"/> TB Direct (AFB)	OTHER TESTS: '09 OCT 7 PM 12:54:52																						
<input type="checkbox"/> HIV PCR	<input type="checkbox"/> FBC & DIFF	<input type="checkbox"/> ALT	<input type="checkbox"/> Cryptosporidium	<input type="checkbox"/> TB Culture																							
<input type="checkbox"/> HIV EIA (ELISA)	<input type="checkbox"/> U & E	<input type="checkbox"/> AST	<input type="checkbox"/> Isospora belli	<input type="checkbox"/> TB Sens																							
<input type="checkbox"/> HIV RAPID	<input type="checkbox"/> Cholesterol	<input type="checkbox"/> Triglyceride	<input type="checkbox"/> Cryptococcus	<input type="checkbox"/> Pneumocystis jiroveci																							
<p style="text-align: center; color: green;">THE FOLLOWING DETAILS MUST BE COMPLETED</p> <p>ID Number: _____</p> <p>Current HIV Programme Status (Please tick only one):</p> <p>PMTCT <input type="checkbox"/> Patient on PMTCT programme</p> <p>NEW <input type="checkbox"/> Has just enrolled in HIV care, first ever HIV-related blood tests</p> <p>TFI <input type="checkbox"/> Previous CD4 elsewhere, first follow-up here, not yet on ART</p> <p>FU <input type="checkbox"/> Previous CD4 here, testing as part of follow-up care, not yet on ART</p> <p>CARV <input checked="" type="checkbox"/> Currently on the antiretrovirals marked alongside</p> <p>Has started ART, but was not on ARVs at the time of these tests due to:</p> <p>TOX <input type="checkbox"/> Toxicity NC <input type="checkbox"/> Non-Compliance</p> <p>VF <input type="checkbox"/> Virological Failure OTHER <input type="checkbox"/> Other</p> <p>Additional HIV Programme Status:</p> <p>Patient is about to start ART and these are baseline tests:</p> <p>NAI <input type="checkbox"/> Naïve EXPP <input type="checkbox"/> PMTCT EXPA <input type="checkbox"/> Treatment experienced</p> <p>Has this patient been transferred in from another program, e.g. TBCP <input type="checkbox"/> YES <input checked="" type="checkbox"/> NO</p> <p>Months since first enrolling on ART at this facility irrespective of stops and restarts: 6 12 18 24 Other: 36</p>	<p style="text-align: center;">PLEASE NOTE</p> <p>Please note that this form must be used in compliance with your provincial treatment guidelines and financial protocols.</p> <p style="text-align: center;">AAQU1936A</p> <p style="text-align: center; color: red; font-size: 0.8em;">APPLY BAR CODE LENGTHWISE DO NOT WRAP AROUND</p> <p style="text-align: center;">AAQU1936A AAQU1936A</p> <p style="text-align: center;">AAQU1936A AAQU1936A</p> <p style="text-align: center;">AAQU1936A</p>																										

Anforderungsblatt 2: Beispiel für einen Patienten, der eine *second-line* Medikation erhält. Auf dem Blatt sind ebenfalls klinische Informationen angegeben.

NATIONAL HEALTH LABORATORY SERVICE			
HOSP./CLINIC	HEALTH CARE WORKER NAME		
WARD	SIGNATURE		
ATTACH PATIENT LABEL HERE PLEASE			
HOSPITAL/CLINIC NUMBER	TEL. NO.		
SURNAME	FAX NO.		
FIRST NAMES	PRACTICE NO.		
ADDRESS	ADDRESS		
DATE OF BIRTH	GENDER <input checked="" type="checkbox"/>	ETHNIC GROUP	
SPECIMEN TYPE	APPLIES TO PRIVATE PATIENTS ONLY		
DATE TAKEN 17.02.10	TIME TAKEN 11:00	HOSP. CLASS	
HEALTH DISTRICT	MED AID NAME		ACCOUNT TO / PRINCIPAL MEMBER
RESP. CODE	MED AID NO.		DEP CODE
PROJECT ACCOUNT STAMP	MEMBER ADDRESS		MEMBER TEL (H)
	MEMBER TEL (W)		ICD10 CODE(S)
CLINICAL INFORMATION			
MONITORING			
COMPREHENSIVE CARE, TREATMENT AND MANAGEMENT PROGRAMME SPECIFIC TESTS			
<input type="checkbox"/> CD4 (PLG) <input checked="" type="checkbox"/> Viral Load <input type="checkbox"/> Hepatitis B sAg <input type="checkbox"/> Lactate (on ice) <input type="checkbox"/> TB Direct (AFB)			
<input type="checkbox"/> HIV PCR <input type="checkbox"/> FBC & DIFF <input type="checkbox"/> ALT <input type="checkbox"/> Cryptosporidium <input type="checkbox"/> TB Culture			
<input type="checkbox"/> HIV EIA (ELISA) <input type="checkbox"/> U & E <input type="checkbox"/> AST <input type="checkbox"/> Isospora belli <input type="checkbox"/> TB Sens			
<input type="checkbox"/> HIV RAPID <input type="checkbox"/> Cholesterol <input type="checkbox"/> Triglyceride <input type="checkbox"/> Cryptococcus <input type="checkbox"/> Pneumocystis jiroveci			
OTHER TESTS:			
THE FOLLOWING DETAILS MUST BE COMPLETED			PLEASE NOTE
ID Number: <input type="text"/>			Please note that this form must be used in compliance with your provincial treatment guidelines and financial protocols.
Current HIV Programme Status (Please tick only one): PMTCT <input type="checkbox"/> Patient on PMTCT programme NEW <input type="checkbox"/> Has just enrolled in HIV care, first ever HIV-related blood tests TFI <input type="checkbox"/> Previous CD4 elsewhere, first follow-up here, not yet on ART FU <input type="checkbox"/> Previous CD4 here, testing as part of follow-up care, not yet on ART CARV <input checked="" type="checkbox"/> Currently on the antiretrovirals marked alongside Has started ART, but was not on ARVs at the time of these tests due to: TOX <input type="checkbox"/> Toxicity NC <input type="checkbox"/> Non-Compliance VF <input type="checkbox"/> Virological Failure OTHER <input type="checkbox"/> Other			
Current treatment <input checked="" type="checkbox"/> d4t <input checked="" type="checkbox"/> 3TC <input checked="" type="checkbox"/> EFV <input type="checkbox"/> AZT <input type="checkbox"/> ddi <input type="checkbox"/> NVP <input type="checkbox"/> ABC <input type="checkbox"/> KLT <input type="checkbox"/> TDF <input type="checkbox"/> SQV Other ARV: <input type="text"/> <input type="checkbox"/> RTV <input type="checkbox"/> Cotrimoxazole <input type="checkbox"/> Fluconazole <input type="checkbox"/> INH <input type="checkbox"/> Rif Other drugs: <input type="text"/>			 AAOV3261A  AAOV3261A  AAOV3261A  AAOV3261A
Additional HIV Programme Status: Patient is about to start ART and these are baseline tests: NAI <input type="checkbox"/> Naive EXPP <input type="checkbox"/> PMTCT EXPA <input type="checkbox"/> Treatment experienced			
Has this patient been transferred in from another program, e.g. TB CP YES <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/>			 AAOV3261A  AAOV3261A  AAOV3261A  AAOV3261A
Months since first enrolling on ART at this facility irrespective of stops and restarts 6 <input type="checkbox"/> 18 <input checked="" type="checkbox"/> 24 <input type="checkbox"/> Other: <input type="text"/>			

Anforderungsblatt 3: Beispiel für die klinische Information *Monitoring*

NATIONAL HEALTH LABORATORY SERVICE		
HOSP./CLINIC	HEALTH CARE WORKER NAME	
WARD	SIGNATURE	
ATTACH PATIENT LABEL HERE PLEASE		
HOSPITAL/CLINIC NUMBER	TEL. NO.	
SURNAME	FAX NO.	
FIRST NAMES	PRACTICE NO.	
ADDRESS	ADDRESS	
DATE OF BIRTH	COPIES TO	
GENDER	ADDRESS	
ETHNIC GROUP	APPLIES TO PRIVATE PATIENTS ONLY	
SPECIMEN TYPE	ACCOUNT TO / PRINCIPAL MEMBER	
DATE TAKEN	MED AID NAME	
TIME TAKEN	MED AID NO.	
HOSP. CLASS	DEP CODE	
HEALTH DISTRICT	MEMBER ADDRESS	
RESP. CODE	MEMBER TEL (H)	
PROJECT ACCOUNT STAMP	(W)	
	ICD10 CODE(S)	
CLINICAL INFORMATION		
FAILURE ?		
COMPREHENSIVE CARE, TREATMENT AND MANAGEMENT PROGRAMME SPECIFIC TESTS		
<input type="checkbox"/> CD4 (PLG) <input type="checkbox"/> Viral Load <input type="checkbox"/> Hepatitis B sAg <input type="checkbox"/> Lactate (on ice) <input type="checkbox"/> TB Direct (AFB)	OTHER TESTS:	
<input type="checkbox"/> HIV PCR <input type="checkbox"/> FBC & DIFF <input type="checkbox"/> ALT <input type="checkbox"/> Cryptosporidium <input type="checkbox"/> TB Culture		
<input type="checkbox"/> HIV EIA (ELISA) <input type="checkbox"/> U & E <input type="checkbox"/> AST <input type="checkbox"/> Isospora belli <input type="checkbox"/> TB Sens		
<input type="checkbox"/> HIV RAPID <input type="checkbox"/> Cholesterol <input type="checkbox"/> Triglyceride <input type="checkbox"/> Cryptococcus <input type="checkbox"/> Pneumocystis jiroveci		
THE FOLLOWING DETAILS MUST BE COMPLETED		
ID Number: <input type="text"/>		
Current HIV Programme Status (Please tick only one):		
PMTCT <input type="checkbox"/> Patient on PMTCT programme	Current treatment	
NEW <input type="checkbox"/> Has just enrolled in HIV care, first ever HIV-related blood tests		
TFI <input type="checkbox"/> Previous CD4 elsewhere, first follow-up here, not yet on ART		
FU <input type="checkbox"/> Previous CD4 here, testing as part of follow-up care, not yet on ART		
CARV <input checked="" type="checkbox"/> Currently on the antiretrovirals marked alongside	Other ARV: <input type="text"/>	
Has started ART, but was not on ARVs at the time of these tests due to:		
TOX <input type="checkbox"/> Toxicity NC <input type="checkbox"/> Non-Compliance	<input type="checkbox"/> Colrimoxazole <input type="checkbox"/> Fluconazole	
VF <input type="checkbox"/> Virological Failure OTHER <input type="checkbox"/> Other	<input type="checkbox"/> INH <input type="checkbox"/> Rif	
Additional HIV Programme Status:		
Patient is about to start ART and these are baseline tests:		
NAI <input type="checkbox"/> Naive EXPP <input type="checkbox"/> PMTCT EXPA <input checked="" type="checkbox"/> Treatment experienced	Other drugs: <input type="text"/>	
Has this patient been transferred in from another program, e.g. TBCP		
<input checked="" type="checkbox"/> YES <input type="checkbox"/> NO		
Months since first enrolling on ART at this facility irrespective of stops and restarts		
<input type="checkbox"/> 6 <input type="checkbox"/> 12 <input type="checkbox"/> 18 <input type="checkbox"/> 24 Other: <input checked="" type="checkbox"/>		
PLEASE NOTE		
Please note that this form must be used in compliance with your provincial treatment guidelines and financial protocols.		
 AAGV3260A		
APPLY BAR CODE LENGTHWISE DO NOT WRAP AROUND  		
 AAGV3260A		
 AAGV3260A		
 AAGV3260A		
 AAGV3260A		

Anforderungsblatt 4: Beispiel für die klinische Information *failure*

NATIONAL HEALTH LABORATORY SERVICE

HOSP. CLINIC BREWELSKLOOF HOSPITAL	HEALTH CARE WORKER NAME S. SCHULZ	
WARD CD EAST	SIGNATURE STV0304185 [FORM]	
ATTACH PATIENT LABEL HERE PLEASE		
HOSPITAL / CLINIC NUMBER	TEL. NO. 02	
SURNAME	FAX NO. 02	
FIRST NAMES	PRACTICE NO.	
ADDRESS	ADDRESS SW01369991 [FORM]	
DATE OF BIRTH	COPIES TO	
GENDER <input checked="" type="checkbox"/> ETHNIC GROUP	ADDRESS	
SPECIMEN TYPE BLOOD	APPLIES TO PRIVATE PATIENTS ONLY	
DATE TAKEN 061009 TIME TAKEN 0900 HOSP. CLASS	ACCOUNT TO / PRINCIPAL MEMBER	
HEALTH DISTRICT	MED AID NAME	DEP CODE
RESP. CODE	MEMBER ADDRESS	MEMBER TEL (H) (W):
PROJECT ACCOUNT STAMP	ICD10 CODE(S)	DCT 5 11 00
CLINICAL INFORMATION		
ZARV'S		
COMPREHENSIVE CARE, TREATMENT AND MANAGEMENT PROGRAMME SPECIFIC TESTS		
<input type="checkbox"/> CD4 (PLG) <input checked="" type="checkbox"/> Viral Load <input type="checkbox"/> Hepatitis B sAg <input type="checkbox"/> Lactate (on ice) <input type="checkbox"/> TB Direct (AFB)		
<input type="checkbox"/> HIV PCR <input type="checkbox"/> FBC & DIFF <input type="checkbox"/> ALT <input type="checkbox"/> Cryptosporidium <input type="checkbox"/> TB Culture		
<input type="checkbox"/> HIV EIA (ELISA) <input type="checkbox"/> U & E <input type="checkbox"/> AST <input type="checkbox"/> Isospora belli <input type="checkbox"/> TB Sens		
<input type="checkbox"/> HIV RAPID <input type="checkbox"/> Cholesterol <input type="checkbox"/> Triglyceride <input type="checkbox"/> Cryptococcus <input type="checkbox"/> Pneumocystis jiroveci		
THE FOLLOWING DETAILS MUST BE COMPLETED		PLEASE NOTE
ID Number: <input type="text"/>		Please note that this form must be used in compliance with your provincial treatment guidelines and financial protocols.
Current HIV Programme Status (Please tick only one): PMTCT <input type="checkbox"/> Patient on PMTCT programme NEW <input type="checkbox"/> Has just enrolled in HIV care, first ever HIV-related blood tests TFI <input type="checkbox"/> Previous CD4 elsewhere, first follow-up here, not yet on ART FU <input type="checkbox"/> Previous CD4 here, testing as part of follow-up care, not yet on ART CARV <input checked="" type="checkbox"/> Currently on the antiretrovirals marked alongside		
Has started ART, but was not on ARVs at the time of these tests due to: TOX <input type="checkbox"/> Toxicity NC <input type="checkbox"/> Non-Compliance VF <input type="checkbox"/> Virological Failure OTHER <input type="checkbox"/> Other		
Additional HIV Programme Status: Patient is about to start ART and these are baseline tests: NAI <input type="checkbox"/> Naive EXPP <input type="checkbox"/> PMTCT EXPA <input type="checkbox"/> Treatment experienced		
Has this patient been transferred in from another program, e.g. TBCP YES NO		
Months since first enrolling on ART at this facility irrespective of stops and restarts 6 12 18 24 Other:		
Current treatment <input checked="" type="checkbox"/> d4t <input checked="" type="checkbox"/> 3TC <input checked="" type="checkbox"/> EFV <input type="checkbox"/> AZT <input type="checkbox"/> ddi <input type="checkbox"/> NVP <input type="checkbox"/> ABC <input type="checkbox"/> KLT <input type="checkbox"/> TDF <input type="checkbox"/> SQV Other ARV: <input type="checkbox"/> RTV <input checked="" type="checkbox"/> Cotrimoxazole <input type="checkbox"/> Fluconazole <input checked="" type="checkbox"/> INH <input checked="" type="checkbox"/> Rif Other drugs:		
AAZC7317A		
APPLY BAR CODE LENGTHWISE DO NOT WRAP AROUND		
AAZC7317A AAZC7317A		
AAZC7317A AAZC7317A		

Anforderungsblatt 5: Beispiel für zusätzliche Informationen, die unter die Kategorie *HIV Programme Status* fallen (hier Cotrimoxazol, Rifampicin und Isoniazid)

NATIONAL HEALTH LABORATORY SERVICE				
HOSP./CLINIC TBH Paed ID		HEALTH CARE WORKER NAME Dr. [Signature]		
WARD		SIGNATURE		
ATTACH PATIENT LABEL HERE PLEASE		TEL. NO.		
HOSPITAL/CLIP		FAX NO.		
SUI		PRACTICE NO.		
FIR		ADDRESS		
ADDRESS		COPIES TO		
DATE OF BIRTH		GENDER	ETHNIC GROUP	
SPECIMEN TYPE Blood		APPLIES TO PRIVATE PATIENTS ONLY		
DATE TAKEN 7/10/09		TIME TAKEN 10h10	HOSP. CLASS	
HEALTH DISTRICT		MED AID NAME	MED AID NO.	
RESP. CODE		MEMBER ADDRESS	DEP CODE	
PROJECT ACCOUNT STAMP ZARV 2		MEMBER TEL (H)	MEMBER TEL (W)	
ICD10 CODE(S)				
CLINICAL INFORMATION				
Previous VL = LDL but pt not on HAART & p24 antigen positive / sample was however insufficient				
COMPREHENSIVE CARE, TREATMENT AND MANAGEMENT PROGRAMME SPECIFIC TESTS				
<input type="checkbox"/> CD4 (PLG)	<input checked="" type="checkbox"/> Viral Load	<input type="checkbox"/> Hepatitis B sAg	<input type="checkbox"/> Lactate (on ice)	<input type="checkbox"/> TB Direct (AFB)
<input type="checkbox"/> HIV PCR	<input type="checkbox"/> FBC & DIFF	<input type="checkbox"/> ALT	<input type="checkbox"/> Cryptosporidium	<input type="checkbox"/> TB Culture
<input type="checkbox"/> HIV EIA (ELISA)	<input type="checkbox"/> U & E	<input type="checkbox"/> AST	<input type="checkbox"/> Isospora belli	<input type="checkbox"/> TB Sens
<input type="checkbox"/> HIV RAPID	<input type="checkbox"/> Cholesterol	<input type="checkbox"/> Triglyceride	<input type="checkbox"/> Cryptococcus	<input type="checkbox"/> Pneumocystis jiroveci
				OTHER TESTS: '09 OCT 8 AM 11:01:45
THE FOLLOWING DETAILS MUST BE COMPLETED			PLEASE NOTE	
ID Number: [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] []			Please note that this form must be used in compliance with your provincial treatment guidelines and financial protocols.	
Current HIV Programme Status (Please tick only one): PMTCT <input type="checkbox"/> Patient on PMTCT programme NEW <input type="checkbox"/> Has just enrolled in HIV care, first ever HIV-related blood tests TFI <input type="checkbox"/> Previous CD4 elsewhere, first follow-up here, not yet on ART FU <input checked="" type="checkbox"/> Previous CD4 here, testing as part of follow-up care, not yet on ART CARV <input type="checkbox"/> Currently on the antiretrovirals marked alongside Has started ART, but was not on ARVs at the time of these tests due to: TOX <input checked="" type="checkbox"/> Toxicity NC <input type="checkbox"/> Non-Compliance VF <input type="checkbox"/> Virological Failure OTHER <input type="checkbox"/> Other			Current treatment <input type="checkbox"/> d4t <input type="checkbox"/> 3TC <input type="checkbox"/> EFV <input type="checkbox"/> AZT <input type="checkbox"/> ddi <input type="checkbox"/> NVP <input type="checkbox"/> ABC <input type="checkbox"/> KLT <input type="checkbox"/> TDF <input type="checkbox"/> SQV Other ARV: <input type="checkbox"/> RTV <input checked="" type="checkbox"/> Cotrimoxazole <input type="checkbox"/> Fluconazole <input type="checkbox"/> INH <input type="checkbox"/> Rif Other drugs: _____	
Additional HIV Programme Status: Patient is about to start ART and these are baseline tests: NAI <input type="checkbox"/> Naive EXPP <input type="checkbox"/> PMTCT EXPA <input type="checkbox"/> Treatment experienced Has this patient been transferred in from another program, e.g. TBCP YES <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>			AAQU0096A AAQU0096A AAQU0096A AAQU0096A	
Months since first enrolling on ART at this facility irrespective of stops and restarts			6 12 18 24 Other: _____	

Anforderungsblatt 6: Beispiel für einen ausgefüllten Anforderungsbogen ohne Medikationsangabe

Anhang 4: Ergebnisse der Matrix-Dekonvolution

Zur Auswertung wurde das Programm *Measurement Enhanced Pooling Assay Calculator* (MEPAC, <http://mepac.ucsd.edu/>) verwendet.

Experiment Information:

Experiment Number: er10012522
Experiment Password: lr0025W22s
Virologic Failure: 1000
Algorithm: Matrix
Size: 10 X 10
Start Date: 2010-01-25 00:22:25
Stop Date: 2010-01-25 00:29:48
Patients tested: 26

Completed!

Number of experiments done: 46

Number of experiments saved: 54

Relative Efficiency: 54%

Patient information:

Patients tested using Matrix Algorithm.

Patients	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	4700	0	0	0	0	2200	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	40000	0	3500	0	30
5	0	0	0	0	0	2100	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	380	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Matrix 1: Auswertung der ersten Matrix mit Hilfe von MEPAC

Experiment Information:

Experiment Number: rP10012257
Experiment Password: gr0524e57e
Virologic Failure: 1000
Algorithm: Matrix
Size: 10 X 10
Start Date: 2010-01-22 05:57:24
Stop Date: 2010-01-22 06:15:08
Patients tested: 73

Completed!

Number of experiments done: 93

Number of experiments saved: 7

Relative Efficiency: 7%

Patient information:

Patients tested using Matrix Algorithm.

Patients	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	130	1200	2000	0	20000	0	0	50	470000	140
2	0	0	1200	0	0	0	0	490	86	47
3	210	0	0	0	0	0	0	190000	0	0
4	340000	0	190	0	0	0	0	0	0	0
5	0	670	0	0	0	0	8000	0	0	0
6	38	0	0	0	0	0	0	0	280	0
7	130	110	27	0	0	3700	0	3900	0	0
8	0	430	0	150	0	0	1800	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0	0	9600	6500
10	0	0	0	200	0	0	0	0	0	0

Matrix 2: Auswertung der zweiten Matrix mit Hilfe von MEPAC

Experiment Information:

Experiment Number: ne10012219
Experiment Password: ae0508i19i
Virologic Failure: 1000
Algorithm: Matrix
Size: 10 X 10
Start Date: 2010-01-22 05:19:08
Stop Date: 2010-01-22 05:26:35
Patients tested: 19

Completed!

Number of experiments done: 39

Number of experiments saved: 61

Relative Efficiency: 61%

Patient information:

Patients tested using Matrix Algorithm.

<i>Patients</i>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	20000	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	28000	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	2600	260	0	0	0
8	250000	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0	0	21000	0
10	0	7700	0	0	0	2300	0	0	47	0

Matrix 3: Auswertung der dritten Matrix mit Hilfe von MEPAC

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name, Vorname: Paulmann, Susanne Christiane

Studium:

04/2006 – 05/2013: Studium der Humanmedizin, Bayerische Julius-Maximilians-Universität Würzburg, Staatsexamen

07/2013: Approbation als Ärztin, Regierung von Unterfranken, Würzburg

wissenschaftliche Tätigkeit:

10/2009 – 03/2010: Forschungsfreisemester an der *University of Stellenbosch*, Kapstadt, Südafrika (DFG-Stipendium)

07/2010: Posterpräsentation „*Pooling strategies reduce the cost of monitoring ART*“, S Potschka et al., XVIII. Internationale AIDS Konferenz, Wien

Artikel: van Zyl GU, Preiser W, Potschka S, Lundershausen AT, Haubrich R, Smith D.: *Pooling strategies to reduce the cost of HIV-1 RNA load monitoring in a resource-limited setting*. Clin Infect Dis. 2011 Jan 15;52(2):264-70

Bamberg, 23. September 2019

Susanne Paulmann