

**Viruslast und viral load setpoint bei HIV-1-positiven  
Erwachsenen aus Mbeya Region, Tansania - Analyse viraler,  
humangenetischer und sozio-ökonomischer Einflussfaktoren**

**Michael Pritsch**

**2010**

Aus der  
Abteilung für Infektions- und Tropenmedizin  
(Leiter: Prof. Dr. med. Th. Löscher)

der Medizinischen Poliklinik – Innenstadt  
(Direktor: Prof. Dr. med. M. Reincke),

Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München

**Viruslast und viral load setpoint bei HIV-1-positiven  
Erwachsenen aus Mbeya Region, Tansania - Analyse viraler,  
humangenetischer und sozio-ökonomischer Einflussfaktoren**

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin an der  
Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu  
München

vorgelegt von Michael Pritsch  
aus Regensburg

2010

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München**

Berichterstatter: PD Dr. med. M. Hölscher

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. J. Haas

Prof. Dr. med. J. Bogner

Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter: E. Saathoff, PhD

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 24.06.2010

In Dankbarkeit meinen Eltern gewidmet

Teile der vorliegenden Arbeit wurden bereits zur Veröffentlichung akzeptiert:

Saathoff E\*, **Pritsch M\***, Geldmacher C, Koehler RN, Maboko L, Maganga L, Geis S, McCutchan FE, Kijak GH, Kim J, Arroyo MA, Gerhardt M, Tovanabutra S, Robb M, Williamson C, Michael N, Hoelscher M.

„*Viral and host factors associated with the HIV-1 viral load setpoint in adults from Mbeya Region, Tanzania*“

(JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes. 54(3):324-331, July 1, 2010)

\*Saathoff E and Pritsch M contributed equally to this work

Teile der vorliegenden Arbeit wurden in Kurzvorträgen auf Kongressen vorgestellt:

Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Tropenmedizin und Internationale Gesundheit (November 2009, München):

**Pritsch M**, Saathoff E, Geldmacher C, Koehler RN, Maboko L, Maganga L, Geis S, McCutchan FE, Kijak GH, Kim J, Arroyo MA, Gerhardt M, Tovanabutra S, Robb M, Williamson C, Michael N, Hoelscher M.

„*Viral and host factors associated with high HIV-1 viral load setpoint in adult seroconverters from Mbeya Region, Tanzania*“

(Session Chairs J. Eberle, A. Kroidl)

European Congress on Tropical Medicine and International Health (September 2009, Verona / Italien):

**Pritsch M**, Saathoff E, Geldmacher C, Koehler RN, Maboko L, Maganga L, Geis S, McCutchan FE, Kijak GH, Kim J, Arroyo MA, Gerhardt M, Tovanabutra S, Robb M, Williamson C, Michael N, Hoelscher M.

„*Viral and host factors associated with high HIV-1 viral load setpoint in adult seroconverters from Mbeya Region, Tanzania*“

(Session Chair P. Piot)

## Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
1.1.	Das Human Immunodeficiency Virus (HIV)	3
1.1.1.	Klassifizierung von HIV	4
1.1.2.	Circulating (CRFs) und Unique Recombinant Forms (URFs)	5
1.1.3.	Doppel-, Mehrfach- und Superinfektionen von HIV	6
1.2.	Epidemiologie von HIV	6
1.2.1.	Weltweite Verteilung der Subtypen und CRFs	8
1.2.2.	HIV-1-Subtypen in Tansania	9
1.3.	Verlauf der primären HIV-Infektion	9
1.3.1.	Viral load setpoint (VLS)	10
1.3.2.	Mit dem VLS assoziierte Faktoren	11
2.	Problemstellung und Zielsetzung	13
3.	Patienten, Materialien und Methoden	14
3.1.	Studienbedingungen	14
3.1.1.	Studienort Mbeya Region in Tansania	14
3.1.2.	Studienpopulation	16
3.1.2.1.	<u>H</u> I <u>V</u> <u>S</u> uper <u>i</u> n <u>f</u> ection <u>S</u> tudy (HISIS-Studie)	16
3.1.2.2.	<u>C</u> ohort <u>D</u> evelopment Study (CODE-Studie)	17
3.1.2.3.	Einschlusskriterien und Charakterisierung	17

3.2.	Datensammlung	18
3.2.1.	Interviews, klinische Untersuchungen und Probenahmen	18
3.2.2.	Labormethoden	18
3.3.	Statistische Analysemethoden	20
4.	Ergebnisse	22
4.1.	Generelle Charakteristika der Studienpopulation	22
4.2.	HIV-1-Virämie und CD4-Zellzahlen am viral load setpoint (VLS)	24
4.3.	HLA-Klasse-I-Allele	27
4.4.	HIV-1-Subtypen und multiple Infektionen	28
4.5.	Risikofaktoren für einen erhöhten VLS	30
5.	Diskussion	35
5.1.	Einordnung der VLS Ergebnisse	35
5.2.	Multiple HIV-1-Infektionen	36
5.3.	HLA-Klasse-I-Allele	37
5.4.	Schlussfolgerungen	38

6.	Zusammenfassung	39
7.	Literaturverzeichnis	41
8.	Abkürzungen	50
9.	Danksagung	51
10.	Lebenslauf	52



## 1. Einleitung

Afrika ist, besonders in den Ländern südlich der Sahara, schwer von der HIV Epidemie betroffen. Die Infektion verringert in einigen Regionen die durchschnittliche Lebenserwartung ihrer Bewohner um mehr als 20 Jahre [82].

Das hat auch weit reichende Auswirkungen auf die ökonomische Situation des gesamten Kontinents. Das wirtschaftliche Wachstum verlangsamt sich stark und die ohnehin weit verbreitete Armut wird in diesen Gegenden noch größer.

Während in Europa und Nordamerika der Verlauf der HIV Infektion schon relativ gut erforscht wurde, existieren bisher nur wenige große Studien, die sich mit dem Verlauf der Infektion in Afrika südlich der Sahara beschäftigen. Um die verheerenden Ausmaße dieser Krankheit dort jedoch eindämmen zu können, muss man gerade dort, im Zentrum der Epidemie, die Dynamik der Infektion erforschen.

Bei unbehandelten infizierten Personen verläuft eine HIV-Erkrankung klinisch extrem heterogen. Diese Unterschiede treten sowohl zwischen Populationen, als auch zwischen einzelnen Individuen auf. Um das HI-Virus von allen Seiten angreifen und bekämpfen zu können, ist es wichtig, die Ursachen dieser Heterogenität verstehen zu lernen. Auch für die individuelle Prognose und den richtigen Zeitpunkt des Beginns einer antiretroviralen Therapie ist dieses Wissen von großer Bedeutung.

Ziel dieser Dissertation ist die Ermittlung der Viruslast HIV-positiver Erwachsener aus der Region Mbeya in Tansania und die Untersuchung möglicher Einflussfaktoren. Im Folgenden möchte ich kurz den Stand der heutigen

Wissenschaft zu verschiedenen Aspekten der HIV-Forschung darstellen, die für das Verständnis meiner Arbeit von Relevanz sind.

## 1.1. Das Human Immunodeficiency Virus (HIV)

Im Laufe des Jahres 1980 beobachtete man in verschiedenen nordamerikanischen Großstädten eine Häufung von Pneumocystis-jirovecii-Pneumonien (PCP) und Kaposi-Sarkomen bei relativ jungen Patienten [39]. Blutuntersuchungen ergaben eine verminderte Konzentration der T-Helferzellen, was auf eine Beeinträchtigung der zellulären Immunität hinweist. Da die meisten dieser ersten Patienten männlich und homosexuell waren, gab man gegen Ende 1981 diesem Krankheitsbild den Namen GRID (Gay Related Immune Deficiency) [3]. 1982 trat die Erkrankung dann allerdings auch bei Drogenkonsumenten und heterosexuellen Frauen auf, weshalb im August dieses Jahres der bis heute beständige Name Acquired Immunodeficiency Syndrome, oder kurz AIDS, eingeführt wurde. Im Jahre 1987 sprach man den beiden Wissenschaftlern L. Montagnier und R. Gallo die Entdeckung des Human Immunodeficiency Virus (HIV), dem Erreger von AIDS, zu [58].

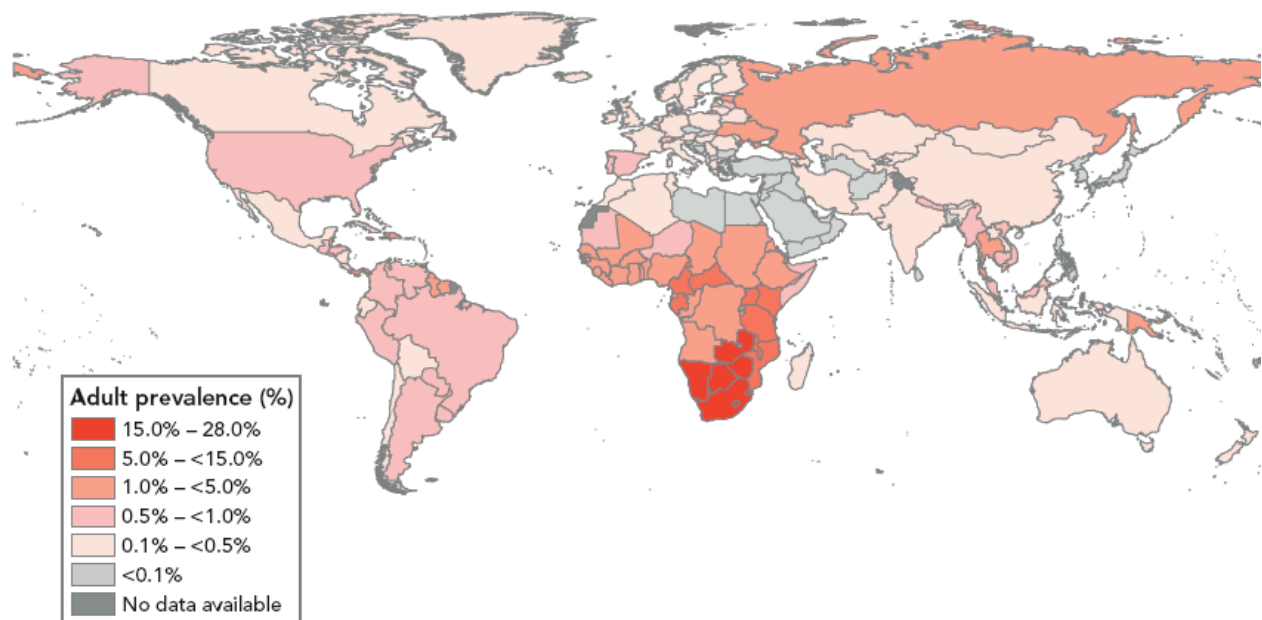


Abbildung 1: Weltweite HIV-Prävalenz 2007. Abbildung aus [82].

Seit seiner Entdeckung breitete sich HIV/AIDS pandemisch aus und veränderte unsere Welt. Einige Regionen der Erde sind besonders hart betroffen (siehe Abb. 1). Alleine in Afrika südlich der Sahara lebten im Jahr 2008 über 12 Millionen Waisenkinder, deren Eltern an AIDS verstorben waren [82].

### 1.1.1. Klassifizierung von HIV

Das HI-Virus wird in Typen, Gruppen, Subtypen und Subsubtypen klassifiziert (siehe Tab. 1). HIV-1 und HIV-2 führen beim Menschen zu einer ähnlichen Symptomatik.

*Tabelle 1:* Die Einteilung des Human Immunodeficiency Virus. Modifiziert nach [28].

Typen	Gruppen	Subtypen (mit Subsubtypen)
HIV-1	M	9 Subtypen: A (A1, A2), B, C, D, F (F1, F2), G, H, J, K
	N	keine Subtypen
	O	früher als Subtyp O bezeichnet
HIV-2	A	früher als Subtypen bezeichnet im September 2001 offiziell in Gruppen umbenannt
	B	
	C	
	D	
	E	
	F	
	G	

Die einzelnen HIV-Typen sind morphologisch nicht differenzierbar, weisen jedoch verschiedene virologische und molekulare Eigenschaften auf. Dadurch besitzen sie unterschiedliche Virulenz. HIV-1 besitzt beispielsweise im Vergleich zu HIV-2 eine höhere Infektiosität und Pathogenität [23, 60]. Zudem hat HIV-1 eine deutlich höhere Mutationsrate, was in einer großen genetischen Variabilität resultiert.

### **1.1.2. Circulating (CRFs) und Unique Recombinant Forms (URFs)**

Mit circulating recombinant forms (CRFs) beschreibt man Rekombinanten zwischen Subtypen der M-Gruppe von HIV-1. Die Entwicklung der CRFs wird zum einen durch Rekombination des Genoms von mindestens zwei unterschiedlichen "reinen" Subtypen oder aber durch die Rekombination von einem oder mehreren unterschiedlichen Subtypen mit einem anderen rekombinanten Isolat ausgelöst. Eine Rekombinante aus mehr als zwei Subtypen bzw. CRFs wird als CRF\_cpx (complex) bezeichnet.

Rekombinante Isolate werden als CRFs klassifiziert, wenn sie eine wichtige epidemiologische Rolle bezüglich der HIV-1-Pandemie spielen, sowie bei mindestens drei verschiedenen Individuen gesichert sind, welche in keiner epidemiologischen Verbindung zueinander stehen dürfen [53].

Zirkuliert zur gleichen Zeit mehr als ein Subtyp in einer Epidemie, werden fortlaufend neue rekombinante Viren gebildet. Der bei weitem größte Teil davon weist ein einzigartiges Mosaik auf (unique recombinant forms, URFs) und der Nachweis von CRFs ist kaum möglich. Daraus kann man schließen, dass der größte Teil dieser URFs regelmäßig neu entsteht und keine dieser Formen einen Selektionsvorteil besitzt, andernfalls würde sich eine schneller verbreiten als alle

anderen [17, 27, 30, 31, 33]. Eine URF, die in eine noch HIV-naive Population eingebracht wird, könnte sich dort ungehindert vermehren. Dann entstünde eine CRF. Dieses Phänomen bezeichnet man als den so genannten Gründereffekt.

### **1.1.3. Doppel-, Mehrfach- und Superinfektionen von HIV**

Die simultane oder sehr zeitnahe Übertragung zweier Virusvarianten (die noch vor der Immunantwort stattfindet), kann eine Doppelinfektion auslösen. Falls sich ein bereits HIV-infiziertes Individuum mit einer weiteren HIV-Variante ansteckt, bezeichnet man dies als eine HIV-Superinfektion. In diesem Fall ist zudem eine Doppelinfektion die Konsequenz.

Doppelinfektionen sind möglich zwischen HIV-1 und HIV-2 [4, 5, 59, 61, 74], zwischen den Gruppen M und O [29, 78], zwischen verschiedenen Subtypen der Gruppe M [7, 9, 40-42, 51, 64, 72, 80, 86] und den gleichen Subtypen der Gruppe M [13, 15, 38, 71, 87]. Es ist auffällig, dass trotz berichteter Doppelinfektionen mit HIV-1 und HIV-2 bisher keine Rekombinationen zwischen den beiden Virustypen beschrieben wurde [34], zwischen den Gruppen M und O dagegen schon [17, 35].

## **1.2. Epidemiologie von HIV**

Man geht davon aus, dass das Simian Immunodeficiency Virus (SIV) während der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts in West- und/oder Zentralafrika vom Affen auf den Menschen übertragen und zu HIV wurde. Die Kolonialisierung sowie die Unabhängigkeitskriege der 50er- und 60er-Jahre mit sich oft anschließenden Bürgerkriegen förderten dann die Ausbreitung der HIV-Epidemie. Es wird vermutet, dass HIV bereits bis 1975 fast alle Länder Afrikas südlich der Sahara

erreicht hatte. Für die weltweite Verbreitung sind von Afrika ausgehend mehrere Wege beschrieben. Im Jahre 2007 wurde laut „The Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS)“ die weltweite Prävalenz an HIV-Infektionen auf 30 bis 36 Millionen geschätzt. Subsahara-Afrika stellt mit 67% der Infizierten und 75% der jährlichen AIDS-Toten den am schwersten betroffenen Erdteil dar (siehe Abb. 2).

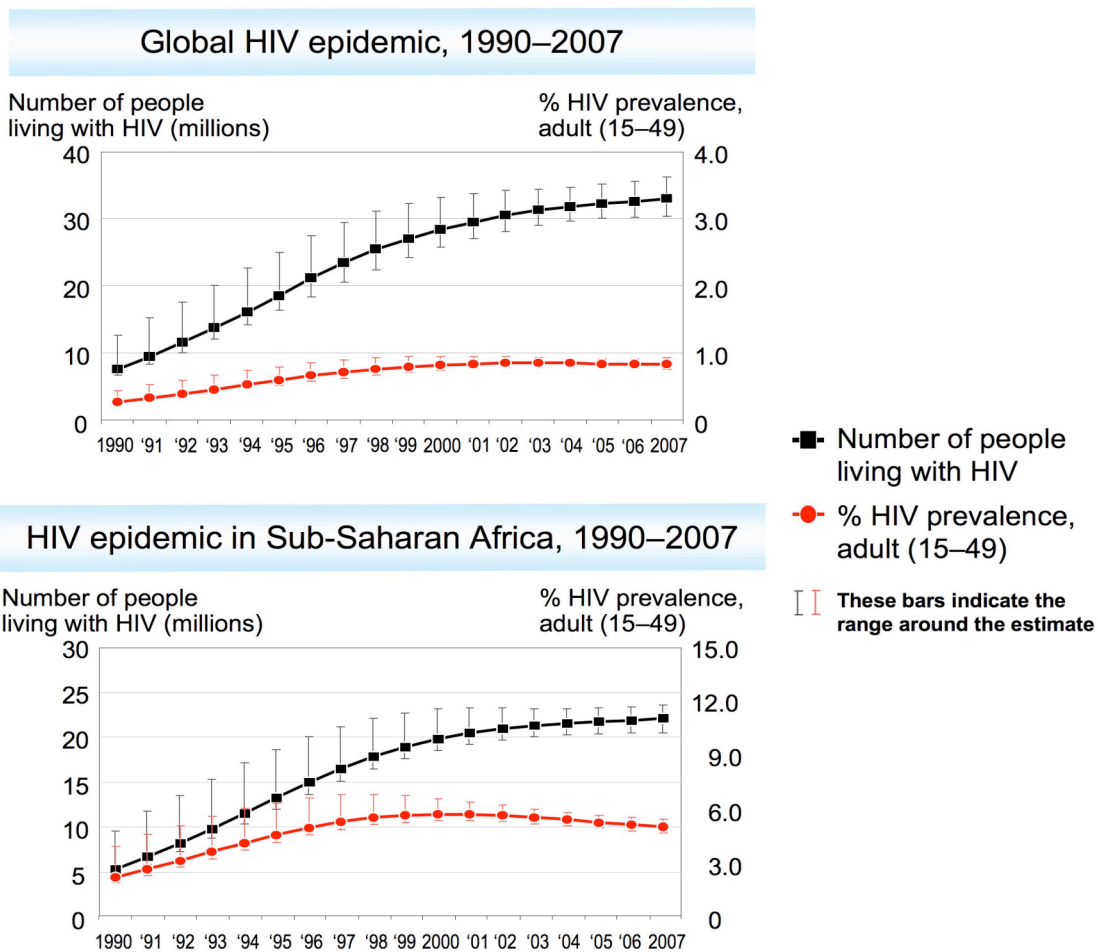


Abbildung 2: HIV-Prävalenz und Anzahl der Infizierten. Die tatsächliche Zahl der Infizierten wächst weiterhin wegen Neuinfektionen und der geringeren Mortalität aufgrund von antiretroviraler Therapie. Abbildung aus [82].

Über 99% aller weltweit diagnostizierten HIV-Infektionen werden durch HIV-1 hervorgerufen. HIV-2-Infektionen kommen vor allem in Westafrika vor und nicht importierte HIV-2-Infektionen sind außerhalb Afrikas sehr selten.

### 1.2.1. Weltweite Verteilung der Subtypen und CRFs

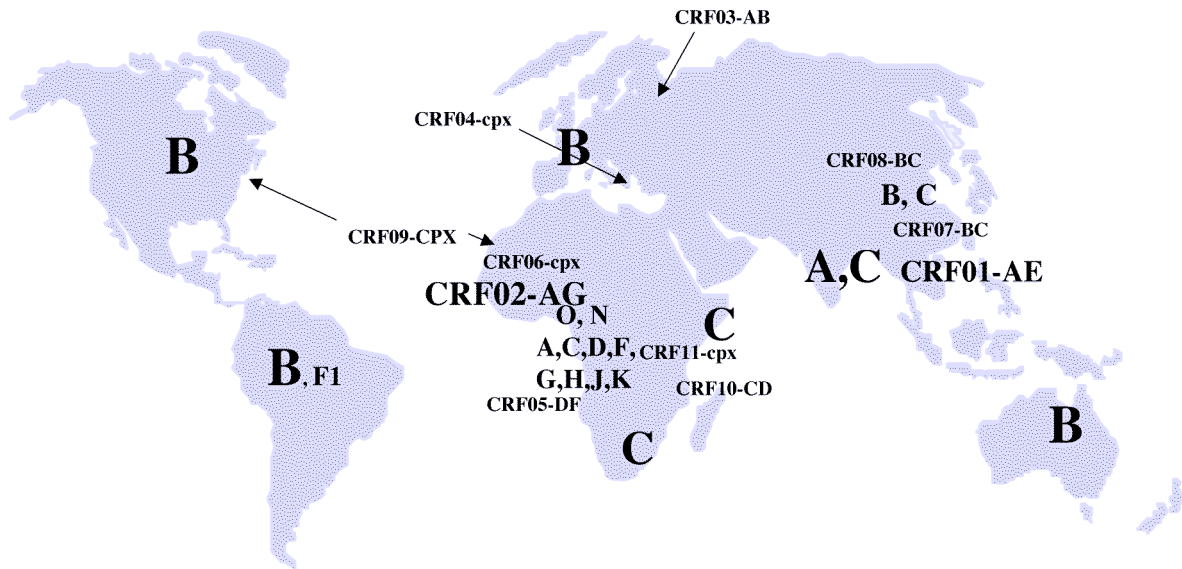


Abbildung 3: Globale Verteilung der Subtypen. Abbildung aus [62].

Der am häufigsten auftretende HIV-1-Subtyp weltweit ist mit mehr als 50% Subtyp C. Er tritt vor allem im südlichen Afrika, Äthiopien/Somalia sowie Indien auf. Als zweithäufigster Typ folgt darauf Subtyp A (>20%) mit der weitesten Verbreitung in den Ländern Zentral- und Westafrikas sowie Osteuropas (siehe Abb. 3). Subtyp B ist der Dritthäufigste und verursacht die Mehrzahl der HIV-Infektionen der westlichen Welt. Robertson et al. vermuteten 1995, dass insgesamt fast 10 - 20% der HIV-Infektionen durch Rekombinante verursacht werden [70]. In einigen Ländern liegt der Anteil bei über 30% [27, 33, 57]. Die genaue weltweite Verteilung ist jedoch nur annähernd bekannt.



Nachgewiesen ist ein häufigeres Vorkommen von Rekombinanten zwischen Subtypen in Ländern mit zwei oder mehreren dominanten Subtypen (z. B. Tansania mit Subtyp A, C und D) im Vergleich zu Ländern in denen nur ein Subtyp vorherrscht (z. B. Nordamerika und Westeuropa mit Subtyp B).

### **1.2.2. HIV-1-Subtypen in Tansania**

Die HIV-Epidemie in Tansania begann wahrscheinlich Ende der 70er Jahre [10, 11, 36, 52, 55, 65, 69, 75]. Seit spätestens 1989 sind dort die drei Subtypen A, C und D dominant, wie Hölscher et al. nachgewiesen haben [32]. Die Verteilungen der Subtypen in den verschiedenen Regionen Tansanias weichen stark voneinander ab: Im Norden Tansanias bilden die Subtypen A und D den größten Anteil [88], in der Kilimanjaro Region wurde auch Subtyp B bestätigt [47] und in der Stadt Moshi wurde der in Kenia entdeckte Subtyp A2 bei Barfrauen gefunden [48]. Hingegen überwiegt im Nordwesten Subtyp D, im Nordosten Subtyp A und im Süden Subtyp C.

### **1.3. Verlauf der primären HIV-Infektion**

Während der akuten primären HIV-Infektion findet eine hohe und schnelle Virusvermehrung statt, die dabei in 40 – 90 % symptomatisch verläuft. Häufigste Symptome stellen dabei Fieber, Lymphadenopathie, Pharyngitis und Exanthem, sowie unspezifische Allgemeinsymptome dar. Danach stellt sich das Immunsystem auf die Infektion ein und es folgt die unterschiedlich lange Latenzphase. Während dieser meist asymptomatischen Phase verringert sich langsam die Zahl der CD4+-Zellen und die Viruslast steigt an. Dies resultiert in einer schwerwiegenden Immunschwäche, so dass lebensbedrohliche opportunistische Infektionen auftreten.

Diese definieren das Endstadium AIDS. Ohne Behandlung zeigen HIV-1-Infizierte große Unterschiede im klinischen Verlauf. Unter anderem kann die akute HIV-Infektion asymptomatisch oder symptomatisch verlaufen, auch die Länge der Latenzphase variiert beträchtlich.

### 1.3.1. Viral load setpoint (VLS)

Am Anfang der akuten HIV-Infektion erreicht die Viruslast im Blut Spitzenwerte, die sich nach einer Weile auf einen mehr oder weniger konstanten Viruslevel (chronische Phase), den viral load setpoint (VLS) einpendeln (siehe Abb. 4) [34]. Man erklärt dieses stabilere Plateau der Viruslast durch die Balance zwischen der Virulenz des Virus und der Fähigkeit des Immunsystems, die Infektion zu kontrollieren [66].

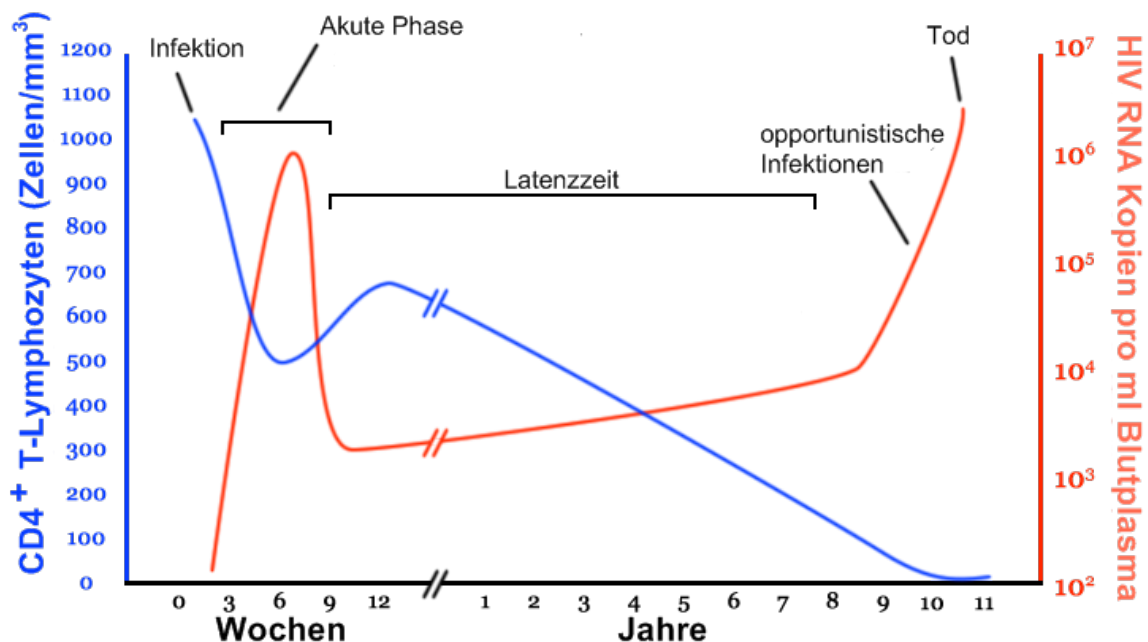


Abbildung 4: Beispiel des üblichen Verlaufes der Viruslast und CD4+-Zellen bei der HIV-Infektion. Abbildung aus [85].

In der chronischen Phase der Erkrankung steigt die Viruslast dann nach und nach langsam an und die CD4+-Zellzahlen fallen ab, bis die Kontrolle komplett verloren geht und es zum Vollbild von AIDS kommt.

Da es keine standardisierte Methode zur Berechnung des VLS gibt, werden in verschiedenen Studien unterschiedliche Ansätze verwendet [54]. Trotz dieser methodischen Unterschiede ist die Assoziation zwischen einem erhöhten VLS und einer schnelleren Krankheitsprogression zu AIDS allgemein anerkannt [22, 26, 77]. So kann der VLS als prognostischer Marker verwendet werden, um Infizierte mit hohem Risiko für eine schnelle Krankheitsprogression zu finden.

Solche prognostischen Marker könnten zu einem besseren Verständnis der HIV-1-Infektion, einer verbesserten klinischen Überwachung und vielleicht zu einem besseren Timing des Therapiebeginns mit antiretroviralen Medikamenten führen. Individuen und Populationen unterscheiden sich beträchtlich im VLS, wobei sowohl Virus- als auch Wirtsfaktoren für diese Unterschiede in Frage kommen.

### **1.3.2. Mit dem VLS assoziierte Faktoren**

Die HIV-1-Pandemie ist durch eine hohe virale Diversität mit multiplen genetischen Subtypen, sowie circulating (CRFs) und unique inter-subtype recombinant forms (URFs) in verschiedenen geografischen Gegenden der Welt charakterisiert [31, 46]. Mehrere Studien zeigen Hinweise darauf, dass der HIV-1-Subtyp sowie multiple HIV-1-Infektionen wichtige virale Faktoren sind, die den VLS und die Krankheitsprogression beeinflussen könnten [25, 44, 46].

Wirtsfaktoren, die den VLS möglicherweise beeinflussen, sind Geschlecht, Alter, ethnische Abstammung, weitere Erkrankungen und humangenetische Variationen

[16, 18, 63]. Der Einfluss von HLA-Klasse-I-Allelen (humanes Leukozytenantigen) auf die Viruslast während der chronischen Phase der HIV-Infektion ist in zwei Studien in Südafrika untersucht worden, wobei unterschiedliche Allele entweder als protektiv oder als schädlich im Bezug auf ihren Effekt auf den VLS klassifiziert wurden [19, 45]. Die Expression von protektiven HLA-Klasse-I-Allelen wird zur Zeit durch eine HIV-spezifische CD8-T-Zell-Immunantwort mit potentem antiviralem Effekt erklärt [2, 20].

## 2. Problemstellung und Zielsetzung

In Nordamerika und Europa existieren mehrere Studien über den viral load setpoint (VLS) und die mit ihm einhergehende Viruslast. Da der klinische Verlauf der akuten HIV-1-Infektion zusammen mit den Viruslasten und dem VLS großen interindividuellen und interpopulativen Schwankungen unterliegt, sind diese amerikanischen und europäischen Daten nur bedingt auf Populationen aus Subsahara-Afrika anwendbar.

Leider ist die Datenlage bezüglich des VLS für Populationen aus den afrikanischen Ländern südlich der Sahara sehr limitiert [50]. Hauptziel dieser Dissertation ist es deshalb, valide Daten zur Viruslast und dem VLS HIV-1-infizierter Erwachsener aus der Region Mbeya in Tansania zu erarbeiten. Dabei wurde folgenden Fragestellungen nachgegangen:

- a) Bestimmung des viral load setpoints HIV-1-infizierter Erwachsener aus Mbeya in Tansania und Vergleich mit anderen Populationen aus Subsahara-Afrika.
- b) Welche viralen Faktoren beeinflussen den VLS?
- c) Welche humangenetischen und sozioökonomischen Faktoren beeinflussen den VLS?

### 3. Patienten, Materialien und Methoden

#### 3.1. Studienbedingungen

##### 3.1.1. Studienort Mbeya Region in Tanzania

Mit 945.000 km<sup>2</sup> ist Tansania (siehe Abb. 5) das größte ostafrikanische Land (zum Vergleich: Deutschland hat 357.000 km<sup>2</sup>).



Abbildung 5: Tansania, die Region Mbeya ist rot umrandet. Abbildung aus [37].

Eine Volkszählung der tansanischen Regierung im Jahr 2002 ergab die Einwohnerzahl von 33,6 Millionen. Die offizielle Hauptstadt ist Dodoma, das

eigentliche wirtschaftliche und kulturelle Zentrum jedoch ist Dar es Salaam, eine an der Küste gelegene 3-Millionen-Metropole.

Von Dar es Salaam aus führt je eine wichtige Fernstrasse nördlich nach Tanga sowie Arusha und südwestlich nach Mbeya. In Mbeya gabelt sich die südwestliche Fernstrasse in Richtung Sambia (Copper Belt, Lusaka) und in Richtung Malawi (Lilongwe). Zwischen Dar es Salaam und Lusaka verläuft eine Eisenbahnlinie, die auch in Mbeya hält und, wie die Fernstrassen, einen wichtigen Handelsweg darstellt.



*Abbildung 6:* Die Region Mbeya mit ihren acht Distrikten Mbeya Urban (Einwohner 265.000), Mbeya Rural (254.000), Rungwe (306.000), Kyela (174.000), Ileje (110.000), Mbozi (513.000), Chunya (206.000) und Mbarali (234.000). Abbildung aus [83].

Die Region Mbeya liegt im südwestlichen Hochland von Tansania in einer Höhe von ca. 400 bis 1800 m nahe der Grenzen zu Malawi und Sambia, wobei unsere

Probanden alle aus Orten kommen, die über 1000m Höhe liegen. Die Region ist in 8 Distrikte unterteilt (siehe Abb. 6).

Mbeya Town ist die fünftgrößte Stadt Tansanias und besitzt eines der drei Lehrkrankenhäuser landesweit, das Mbeya Referral Hospital.

### **3.1.2. Studienpopulation**

Die Daten für diese Untersuchung wurden von HIV-1-neuinfizierten Erwachsenen aus der Region Mbeya in Tansania gesammelt. Diese sogenannten seroconverter wurden im Rahmen von zwei unterschiedlichen Studien identifiziert, die nachfolgend näher beschrieben werden. Beide Studien wurden von den zuständigen Ethikkommissionen aller beteiligten Partner genehmigt, und alle Studienteilnehmer gaben ihre schriftliche Einverständniserklärung (written informed consent).

#### **3.1.2.1. HIV Superinfection Study (HISIS-Studie)**

Ein Teil der seroconverter dieser Dissertation kommen aus einer gut charakterisierten und offenen Hochrisikokohorte. Die prospektive Kohortenstudie HISIS bestand aus Barfrauen der Region Mbeya, Tansania [35]. Ab September 2000 wurden insgesamt 753 weibliche Freiwillige zwischen 18 und 35 Jahren aus 17 Gebieten mit hohem HIV-1-Übertragungsrisiko entlang der Fernstraße nach Malawi rekrutiert. Von den Teilnehmerinnen wurden bei Einschluss in die Studie sowie alle drei Monate Blutproben genommen. Die HIV-Prävalenz bei Aufnahme in die Kohorte betrug 67% [6, 67]. Der Studienzeitraum für die Teilnehmerinnen betrug bis zu vier Jahre. Während der Studie erhielten sie kostenlose Gesundheitsversorgung, die die Behandlung von akuten Infektionskrankheiten,



Screening und, falls notwendig, auch die Behandlung von Sexually transmitted diseases mit einschloss. Seit 2003 beinhaltete dieser Service auch Cotrimoxazol-Prophylaxe gegen opportunistische Infektionen für Frauen mit CD4+-Zellzahl unter 200/ $\mu$ l. Seit 2005 war antiretrovirale Medikation dann für alle Teilnehmerinnen mit AIDS-definierenden Symptomen oder CD4+-Zellzahlen unter 200/ $\mu$ l verfügbar. In dem Zeitraum jedoch, in welchem die Daten für diese Studie gesammelt wurden, erhielt keine Teilnehmerin eine antiretrovirale Behandlung.

### **3.1.2.2. Cohort-development (CODE-Studie)**

Für diese Studie wurden zwischen September 2002 und April 2003 3.096 Freiwillige (1.778 Frauen und 1.318 Männer) aus der Normalbevölkerung rekrutiert. Sie stammten aus einer ländlichen und zwei städtischen Gegenden in und um Mbeya Town herum. Die CODE-Teilnehmer wurden dann über einen Zeitraum von 3,5 Jahren ungefähr alle sechs Monate untersucht [6]. Die HIV-Prävalenz bei Aufnahme in die Kohorten betrug 19% bei den CODE-Frauen und 14% bei den CODE Männern [6, 67].

### **3.1.2.3. Einschlusskriterien und Charakterisierung**

CODE- und HISIS-Teilnehmer wurden nur in die dieser Dissertation zugrunde liegende Untersuchung eingeschlossen, wenn sie zu Beginn der jeweiligen Studie HIV-negativ waren (das waren 247 HISIS Barfrauen, 1440 CODE Frauen und 1138 CODE Männer) und sich im weiteren Verlauf der Kohortenstudien mit HIV-1 infizierten (das waren 49 HISIS Barfrauen, 63 CODE Frauen und 38 CODE Männer). Um in diese Untersuchung eingeschlossen zu werden, durfte außerdem der letzte HIV-negative Studienbesuch nicht länger als neun Monate vor dem ersten

HIV-positiven liegen, um den Infektionszeitpunkt mit der notwendigen Genauigkeit schätzen zu können. Voraussetzung war auch mindestens ein weiterer Studienbesuch nach dem ersten positiven Studienbesuch, der 5 – 12 Monate nach dem geschätzten Infektionszeitpunkt lag. Dies war notwendig um den VLS zu berechnen. 46 HISIS Barfrauen, 41 CODE Frauen und 21 CODE Männern erfüllten alle obigen Kriterien.

Im Folgenden werden die drei eingeschlossenen Gruppen der serokonvertierten Erwachsenen durchgängig als Barfrauen, CODE Frauen und CODE Männer bezeichnet.

### **3.2. Datensammlung**

#### **3.2.1. Interviews, klinische Untersuchungen und Probenahmen**

Mithilfe standardisierter Fragebögen befragten geschulte Mitarbeiter alle Studienteilnehmer zum sozialen und demographischen Hintergrund sowie zum Verhalten, und zwar in der Landessprache Kiswahili.

Alle Interviews, klinische Untersuchungen und Probenahmen für CODE und HISIS fanden an dafür geeigneten Örtlichkeiten statt.

#### **3.2.2. Labormethoden**

Für die venösen Blutentnahmen wurde folgendes Material benutzt:

- (1) Butterfly, winged infusion set (Firma Diagonal)
- (2) Multiadapter (Firma Diagonal)
- (3) S-Monovette, Vacutainer, gelb, 8,5 ml, Stabilisator CPDA (Firma Sarstedt)

(4) S-Monovette, Vacutainer, rot, 2,7 ml, Stabilisator EDTA (Firma Sarstedt)

Der HIV-Serostatus wurde mithilfe zweier diagnostischen ELISAs (enzyme-linked immunosorbent assays) bestimmt (Enzygnost Anti HIV 1/2 Plus, Dade Behring, Liederbach, Deutschland; Determine HIV 1/2, Abbott, Wiesbaden, Deutschland). Abweichende Ergebnisse wurden mithilfe eines HIV-1 Western Blot verifiziert (HIVblot 2.2 Genelabs/Abbott, Wiesbaden, Deutschland). Die RNA-Viruslast wurde mit dem Roche Amplicor Viral load assay 1.5 (Roche Diagnostics, Basel, Schweiz) mit einer Sensitivität von  $\geq 400$  Viruskopien/ml bestimmt. Der erste Studienbesuch mit positiver Viruslast und/oder Seropositivität mit vorangehendem für Viruslast und Serologie negativem Studienbesuch wurde als der erste HIV-positive Studienbesuch festgelegt.

Die CD4<sup>+</sup>-Zellzahl wurde mit einem FACSCalibur MultiSET System mit Trucount Rörchen bestimmt (Becton; Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA). Der HIV-1-Subtyp und multiple Infektionen wurde zum VLS-Zeitpunkt mithilfe des Multi-region Hybridisation Assay (MHA) untersucht, indem Subtyp A, C und D spezifische fluoreszierende Proben in fünf Genomregionen in real-time PCR format verwendet wurden [20, 31]. Das Vorliegen einer multiplen Infektion wurde angenommen, wenn mehr als eine Subtyp-spezifische Probe an die gleiche Genomregion hybridisierte. Die HLA-Klasse-I Genotypisierung wurde durchgeführt wie bei Turner et al. [81] beschrieben. HLA-Klasse-I-Allele sind in Übereinstimmung mit vorherigen Studien [19, 45] als “protektiv” (A0205, B5801, B8101, B4201 und B5703), “schädlich” (B5802, B4501, B1801, und B1503 in der Subtyp-C-Epidemie) oder “neutral” (alle anderen) klassifiziert worden. Aus logistischen Gründen konnten CD4<sup>+</sup>-Zellzahl, HLA-Klasse-I-Allele und

Virustypen nicht für alle Teilnehmer bestimmt werden, weshalb für diese Untersuchungen niedrigere Teilnehmerzahlen resultierten.

Die Syphilis-Serologie wurde mit dem Serodia Treponema pallidum particle assay (TPPA) (Fujirebio Inc., Japan) und dem rapid plasma reagin (RPR) test (VD25; Murex Diagnostics, UK) bestimmt [67, 68]. Bei Einschluss in die Studie wurden alle Teilnehmer durch ELISA (MONOLISA HbsAg ULTRA, Bio-Rad, Hercules, CA) auf Hepatitis B getestet, positive Ergebnisse wurden mithilfe der Neutralisationsmethode von HbsAg (MONOLISA HbsAg Confirmation test, Bio-Rad, Hercules, CA) bestätigt.

### **3.3. Statistische Analysemethoden**

Die Daten wurden doppelt in Microsoft Access (Microsoft Corp., Redmond, WA) eingegeben, verglichen und Eingabefehler korrigiert. Für die statistische Analyse wurde das Statistikprogramm Stata (Version 10) (Stata Corp., College Station, TX) verwendet. Weil weder VLS noch CD4<sup>+</sup>-Zellzahl normalverteilt waren und der VLS auch nicht durch log-Transformation normalisiert werden konnte, wurden die Unterschiede dieser drei Parameter zwischen den drei Gruppen mithilfe des nicht parametrischen Wilcoxon ranksum Test auf Signifikanz getestet. Der viral load setpoint (VLS) wurde in Übereinstimmung mit Mei, Wang & Holte [54] als der Median der Viruslastmessungen des Teilnehmers zwischen 5 und 12 Monaten nach dem geschätzten Infektionszeitpunkt definiert.

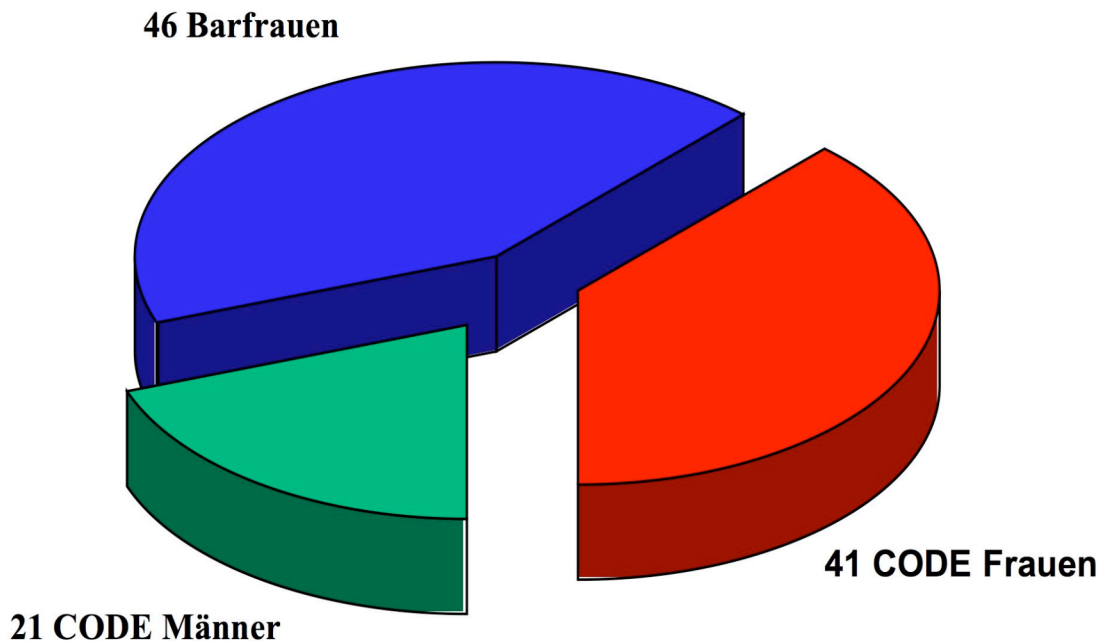
Unterschiede zwischen den Gruppen bezüglich binärer Charakteristika (z.B. An- oder Abwesenheit von multiplen Infektionen) wurden mithilfe des “equality of proportions test” auf Signifikanz getestet. Assoziationen zwischen verschiedenen

Risikofaktoren und einem binären Ergebnis, das anzeigt ob der VLS unter oder über dem Median der Viruslast aller Teilnehmer liegt, wurden mithilfe von univariaten und multivariaten Poisson Regressionsmodellen analysiert [8, 76].

Um den Infektionszeitpunkt zu schätzen, wurde die durchschnittliche Zeitdauer von der Infektion bis zur Seropositivität auf 33 Tage und die bis zum RNA-Virusnachweis auf 11 Tage festgelegt [12, 43]. Als Infektionszeitpunkt wurde dann der Mittelpunkt des entstandenen Zeitfensters festgelegt. Beispielsweise wird bei Teilnehmern, deren erster positiver Studienbesuch sowohl viruspositiv als auch seropositiv war, der Infektionszeitpunkt in der Mitte zwischen 11 Tage vor dem letzten negativen und 33 Tage vor dem ersten positiven Studienbesuch angegeben. Bei Teilnehmern, die zunächst nur viruspositiv aber nicht seropositiv waren, wird der geschätzte Infektionszeitpunkt als 22 Tage vor diesem Studienbesuch festgelegt.

#### 4. Ergebnisse

Insgesamt erfüllten 108 Teilnehmer alle im Methodenteil erwähnten Einschlusskriterien (siehe Diagr. 1).



*Diagramm 1:* Verteilung der insgesamt 108 serokonvertierten Studienteilnehmer, die alle im Methodenteil genannten Einschlusskriterien erfüllten.

##### 4.1. Generelle Charakteristika der Studienpopulation

Das mittlere Alter beim enrollment (Aufnahme in die Kohorte) betrug bei den CODE-Frauen 22 Jahre (IQR 20 bis 28) und bei den Barfrauen 25 Jahre (IQR 22 bis 28). Die CODE-Männer besaßen das mittlere Alter von 24 Jahren (IQR 20 bis 28). Die Prävalenz von Hepatitis B und Syphilis TPPA Positivität war bei den Barfrauen (17,4% und 41,3%) deutlich höher als bei den CODE Teilnehmern (7,1% und 12,5% für Frauen, 0% und 4,8% für Männer). Weitere ausgewählte

Charakteristika der drei seroconverter Gruppen beim enrollment sind in Tabelle 2 gezeigt.

*Tabelle 2:* Ausgewählte soziale Charakteristika der Studienpopulation beim enrollment.

	<u>Barfrauen</u>		<u>CODE Frauen</u>		<u>CODE Männer</u>		<u>Alle zusammen</u>		
	<u>n</u>	<u>%</u>	<u>n</u>	<u>%</u>	<u>n</u>	<u>%</u>	<u>n</u>	<u>%</u>	
<b>Bildung</b>									
Keine	1	2,2	5	12,2	4	19,0	10	9,3	
Primary	42	91,3	32	78,0	16	76,2	90	83,3	
Secondary	3	6,5	4	9,8	1	4,8	8	7,4	
<b>Konfession</b>									
katholisch	14	30,4	7	17,1	2	9,5	23	21,3	
protestantisch	30	65,2	26	63,4	13	61,9	69	63,9	
muslimisch	2	4,3	3	7,3	0	0,0	5	4,6	
Keine Religion	0	0,0	5	12,2	6	28,6	11	10,2	
<b>Familienstand</b>									
Single	5	10,9	13	31,7	13	61,9	31	28,7	
Ein Ehepartner	41	89,1	27	65,9	7	33,3	75	69,4	
≥ 2 Ehepartner	0	0,0	1	2,4	1	4,8	2	1,9	

n = Zahl der Teilnehmer

## 4.2. HIV-1-Virämie und CD4-Zellzahlen am viral load setpoint (VLS)

Im Durchschnitt betrug der Zeitraum zwischen geschätztem Infektionszeitpunkt und den viral load setpoint (VLS) – Messungen 8,4 Monate (Schwankungsbereich 5,4 bis 10,1) für die Barfrauen, 9,1 Monate (5,7 bis 11,9) für die CODE Frauen und 8,7 Monate (6,1 bis 9,7) für die CODE Männer.

*Tabelle 3: HIV-1 viral load und CD4-Zellzahlen am viral load setpoint*

	Barfrauen	P <sup>a</sup>	CODE Frauen	P <sup>b</sup>	CODE Männer	P <sup>c</sup>	Alle zusammen
HIV-1 Viruskopien pro ml <sup>d</sup>							
n untersucht	46		41		21		108
Median	69.850	0,133	28.600	<b>0,011</b>	158.000	0,109	69.850
Median log <sub>10</sub>	4,84		4,46		5,2		4,84
IQR für log <sub>10</sub>	(4.04 to 5.33)		(3.05 to 5.29)		(4.37 to 5.58)		(4.06 to 5.45)
Mean log <sub>10</sub> (SD)	4.67 (0.85)		4.27 (1.15)		4.99 (0.88)		4.58 (1.01)
VLS controller <sup>e</sup>	8,7%	<b>0,025</b>	26,8%	0,113	9,5%	0,912	15,7%
CD4+ Zellen/μl							
n untersucht	20		32		21		73
Median	516	0,792	491	<b>0,028</b>	381	<b>0,050</b>	478
IQR für den Median	(391 to 623)		(395 to 761)		(250 to 499)		(362 to 644)
Mean (SD)	553 (237)		594 (289)		421 (224)		533 (265)

n = Anzahl der Teilnehmer; IQR = interquartile range; SD = Standardabweichung; <sup>a, b, c</sup> p-Werte für den Unterschied zwischen <sup>a</sup> Barfrauen und CODE Frauen, <sup>b</sup> CODE Frauen und CODE Männern und <sup>c</sup> Barfrauen und CODE Männern; für Unterschiede in der Viruslast und CD4+ Zellzahlen wurde der Wilcoxon-ranksum-Test verwendet; <sup>d</sup> den Median, den Median log<sub>10</sub> und den Mean aufzuführen, mag überflüssig erscheinen, aber es erleichtert den Vergleich mit anderen Studien, in denen mit diesen Werten gearbeitet wird, um den VLS zu charakterisieren; es soll jedoch angemerkt werden, dass der Mean nicht wirklich geeignet ist, Daten zu charakterisieren, die nicht der Gauß'schen Normalverteilung folgen; <sup>e</sup> VLS < 2000 Kopien/ml

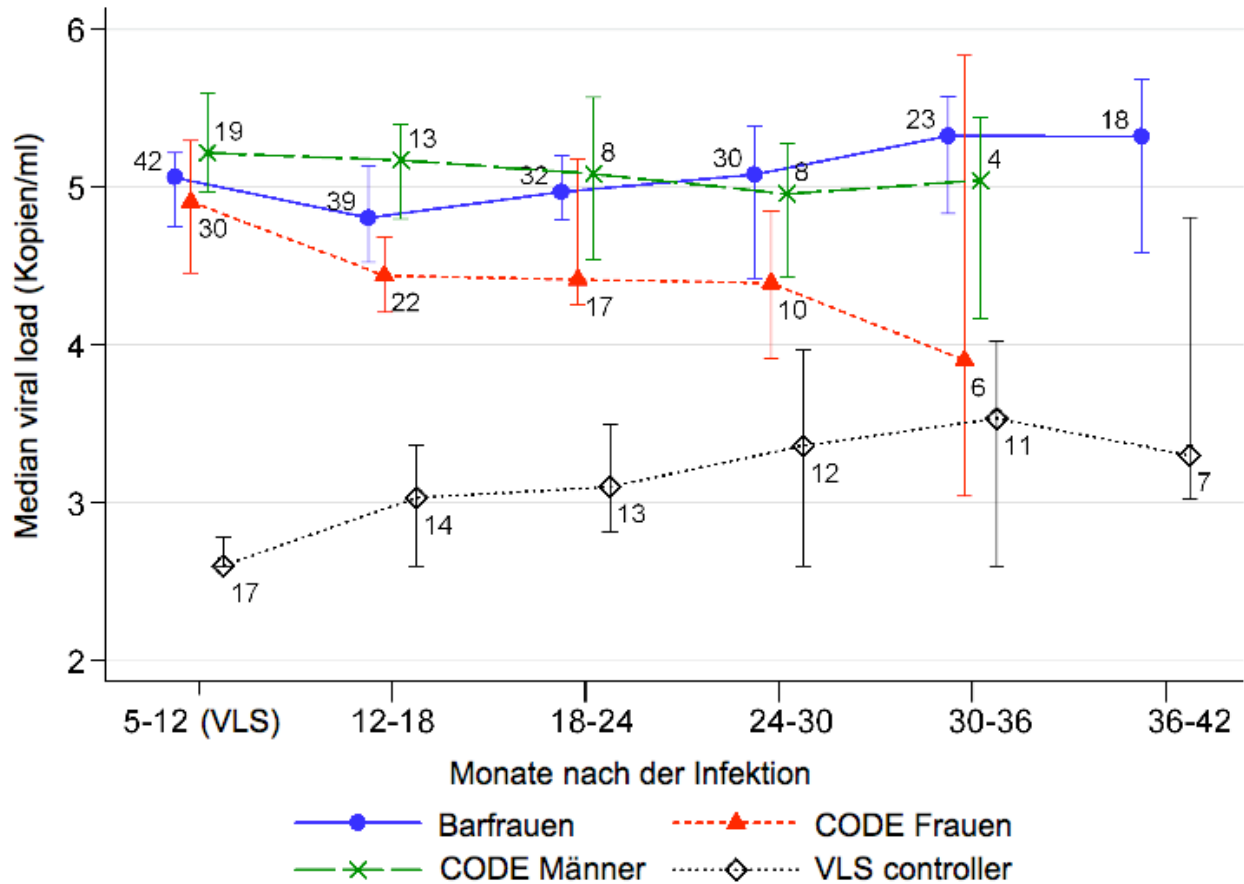


Der Median der Viruslast am VLS für alle drei Gruppen zusammengenommen war 69.850 Kopien/ml, was auch dem Median des VLS der Barfrauen entsprach (siehe Tab. 3). Im Vergleich dazu war der Median der Viruslast am VLS der CODE Frauen mit 28.600 Kopien/ml niedriger, sowie der der CODE Männer mit 158.000 Kopien/ml höher. Der Unterschied des VLS zwischen CODE Frauen und CODE Männern war signifikant ( $p=0,011$ ). Damit übereinstimmend war der Median der CD4+-Zellzahl am VLS der CODE Männer signifikant geringer als der der beiden Frauengruppen.

Die drei Gruppen unterschieden sich auch in ihrem Anteil an Teilnehmern mit einem VLS unter 2000 Kopien/ml (nachfolgend wird diese Gruppe als "VLS controller" oder nur „controller“ bezeichnet).

Die Entwicklung der Viruslast über einen Zeitraum von bis zu 24 Monaten wurde für die drei Gruppen unter Ausschluss der VLS controller einzeln analysiert. Die VLS controller wurden dabei separat untersucht. Die Auswertung zeigt, dass die Viruslast trotz kleiner Teilnehmerzahlen bei Zeitintervallen über zwei Jahre nach Infektionszeitpunkt in allen Gruppen relativ stabil bleibt (siehe Diagr. 2, Seite 26).

Während 26,8% der CODE Frauen VLS controller waren, entfielen bei den Barfrauen nur 8,7% ( $p=0,025$ ) und bei den CODE Männern nur 9,5% ( $p=0,113$ ) auf diese Gruppe (siehe Tab. 3 und Diagr. 2). Wenn man die Viruslasten der VLS controller nicht berücksichtigt, ist der VLS-Median bei CODE Frauen 2,8-mal höher (81.100 anstatt 28.600 Kopien/ml), bei Barfrauen jedoch nur 1,7-mal höher (116.825 anstatt 69.850 Kopien/ml) als der Vergleichswert bei Einschluss der VLS controller.

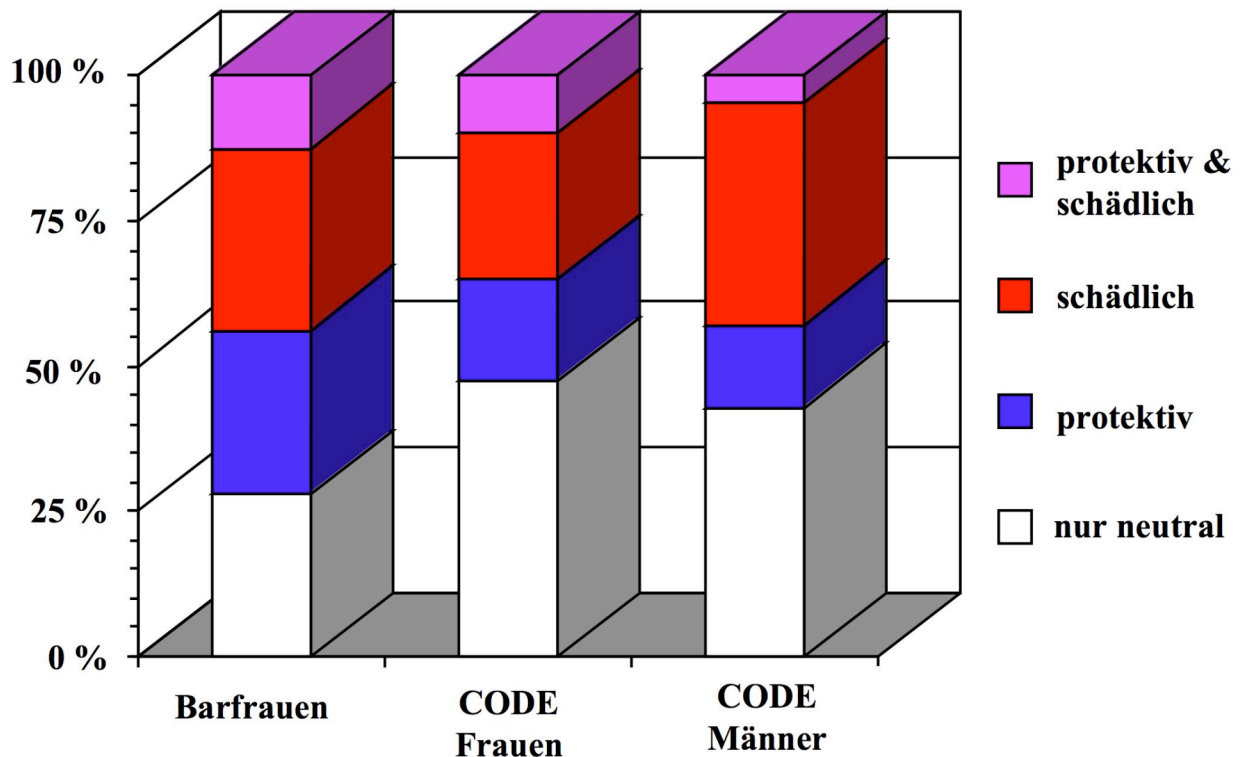


*Diagramm 2:* Die Viruslast im Zeitverlauf innerhalb verschiedener Studiengruppen. 95% Konfidenzintervalle sowie Anzahl der Teilnehmer sind für alle Gruppen und Zeitpunkte eingetragen. Teilnehmer mit einem VLS < 2000 Kopien/ml (VLS controller) sind separat eingetragen und ihre Daten in den entsprechenden Gruppen nicht eingeschlossen.

Da die Gruppenunterschiede des VLS nach Ausschluss der VLS controller nicht mehr signifikant waren, deuten diese Ergebnisse darauf hin, dass die beobachteten Gruppenunterschiede im VLS weitgehend durch die unterschiedliche Häufigkeit von VLS controllern erklärt werden könnten.

### 4.3. HLA-Klasse-I-Allele

Die nachfolgende Analyse der Verteilung von HLA-Klasse-I-Allelen zeigte eine ungleiche, aber nicht signifikant unterschiedliche Aufteilung unter den drei Kohorten (siehe Diagr. 3 und Tab. 4).



*Diagramm 3:* Verteilung der HLA-Klasse-I-Allele in den drei Kohorten, klassifiziert als protektiv (A0205, B5801, B8101, B4201, B5703), schädlich (B5802, B4501, B1801 und B1503 in der Subtyp C Epidemie) sowie neutral (alle anderen).

CODE Männer hatten den niedrigsten Anteil an "protektiven" (A0205, B5801, B8101, B4201 und B5703) und den höchsten Anteil an "schädlichen" Allelen (B5802, B4501, B1801, und B1503 in Subtype C Epidemien) im Vergleich zu CODE Frauen und Barfrauen.

Tabelle 4: Verteilung der HLA Klasse I in den drei Gruppen

	Barfrauen	P <sup>a</sup>	CODE Frauen	P <sup>b</sup>	CODE Männer	P <sup>c</sup>	Alle
HLA-Klasse-I-Allele							
n untersucht	32		40		21		93
Nur "neutrale" HLA-Allele	28,1%	0,094	47,5%	0,730	42,9%	0,268	39,8%
"Protektive" HLA-Allele	28,1%	0,281	17,5%	0,747	14,3%	0,239	20,4%
"Protektive" und "Schädliche"	12,5%	0,737	10,0%	0,479	4,8%	0,346	9,7%
"Schädliche" HLA-Allele	31,3%	0,556	25,0%	0,287	38,1%	0,607	30,1%

n = Anzahl der Teilnehmer; <sup>a, b, c</sup> p-Werte für den Unterschied zwischen <sup>a</sup> Barfrauen und CODE Frauen, <sup>b</sup> CODE Frauen und CODE Männern und <sup>c</sup> Barfrauen und CODE Männern wurden mit dem equality-of-proportions-Test berechnet

#### 4.4 HIV-1-Subtypen und multiple Infektionen

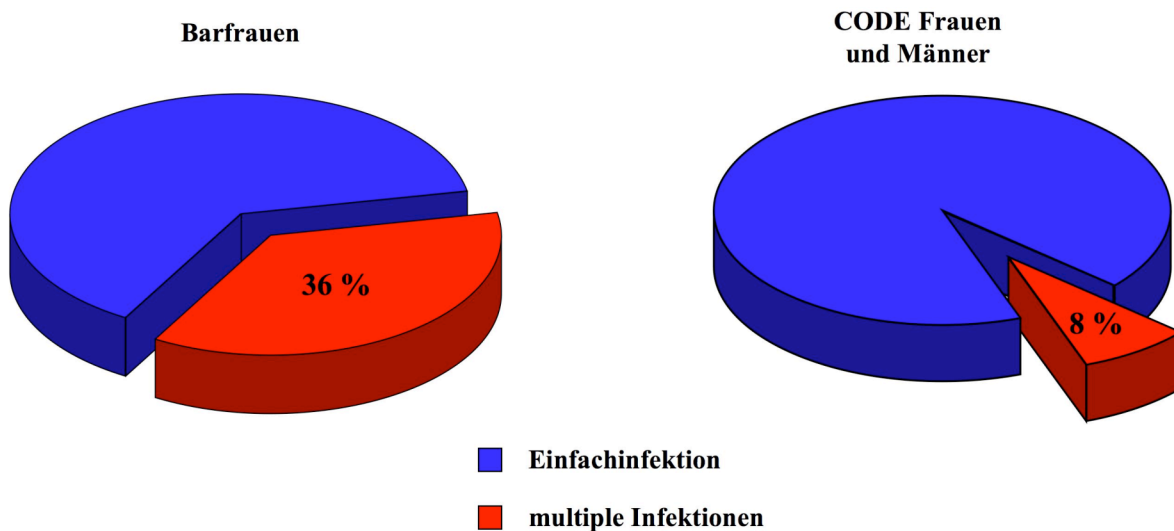
Tabelle 5: Verteilung der Subtypen und multiplen Infektionen in den drei Gruppen

	Barfrauen	P <sup>a</sup>	CODE Frauen	P <sup>b</sup>	CODE Männer	P <sup>c</sup>	Alle
Infizierende Subtypen							
n untersucht	33		16		9		58
Nur A	9,1%	0,712	12,5%	0,269	0,0%	0,348	8,6%
Nur C	24,2%	<b>0,027</b>	56,3%	0,973	55,6%	0,072	37,9%
Nur D	0,0%	0,147	6,3%	0,667	11,1%	0,053	3,5%
Rekombinierte	30,3%	0,390	18,8%	0,835	22,2%	0,634	25,9%
Multiple Infektionen	36,4%	<b>0,025</b>	6,3%	0,667	11,1%	0,146	24,1%

n = Anzahl der Teilnehmer; <sup>a, b, c</sup> p-Werte für den Unterschied zwischen <sup>a</sup> Barfrauen und CODE Frauen, <sup>b</sup> CODE Frauen und CODE Männern und <sup>c</sup> Barfrauen und CODE Männern wurden mit dem equality-of-proportions-Test berechnet

Bei der Subtypenverteilung gab es keine größeren Unterschiede zwischen CODE Frauen und Männern, wobei mehr als 50% der Neuinfektionen durch Subtyp C bedingt waren und nur wenige multiple Infektionen auftraten (8%). Im Vergleich dazu stellten bei den Barfrauen Teilnehmerinnen mit multiplen Infektionen die größte Gruppe (36,4%), Subtyp C verursachte hier nur 24% der Neuinfektionen.

Die große Anzahl an multiplen HIV-Infektionen am VLS bei Barfrauen ist besonders auffällig, wenn man bedenkt dass der VLS nur 5 bis 12 Monate nach dem geschätzten Infektionszeitpunkt gemessen wurde (siehe Tab. 5 auf Seite 28 und Diagramm 4).



*Diagramm 4:* Vergleich der Anzahl von multiplen Infektionen der Hochrisikokohorte der Barfrauen mit Frauen und Männern der Normalbevölkerung (CODE).

#### 4.5. Risikofaktoren für einen erhöhten VLS

Um potentielle Risikofaktoren für einen erhöhten VLS zu identifizieren, wurde zuerst eine univariate Poisson Regressionsanalyse mit einer binären Ergebnisvariable durchgeführt. Diese zeigte an, ob die individuelle Viruslast am VLS über oder unter dem Median aller Teilnehmer (= 69.850 Kopien/ml) lag. Falls der univariate p-Wert für mindestens ein Stratum der Risikofaktorvariablen  $\leq 0,1$  war, dann wurde sie in ein multivariates Modell eingeschlossen, um ihre Assoziation mit dem VLS auf gegenseitige Abhängigkeit zu testen.

Potentielle Risikofaktoren, die sich nicht für den initialen Einschluss in die multivariate Regression qualifizierten, wurden nochmals untersucht, indem sie einzeln in das Modell eingeführt wurden. So konnte man sehen, ob ihre Assoziation zum VLS sich nach Adjustierung für andere wichtige Variable verändern würde. Faktoren, wie der infizierende Subtyp (A, C, D oder rekombinante Viren), Syphilis und Hepatitis B Infektion bei Studieneinschluss, waren nur schwach und nicht-signifikant mit dem VLS assoziiert. Weder Alter, noch die anderen sozio-ökonomischen Faktoren und Verhaltensweisen, die untersucht wurden (Konfession, Bildungsstand, Haushaltsgröße, Familienstand, Zahl der Kinder, Gebrauch von Kontrazeptiva, vorhergehende HIV-Testung) zeigten eine Assoziation mit dem VLS nahe am Signifikanzniveau oder zeigten einen starken Einfluss auf andere Variablen, wenn sie dem multivariaten Modell hinzugefügt wurden. Alle diese Variablen sind in Tabelle 6 (siehe Seite 31) aufgeführt.

*Tabelle 6:* Ergebnisse der univariaten Poisson Regression. Aufgeführt sind alle Faktoren, die aufgrund zu geringer univariater Signifikanz ( $p > 0,1$ ) bei der multivariaten Regression in Tabelle 7 nicht berücksichtigt wurden.

Covariate	n	RR	95% CI	P	Covariate	n	RR	95% CI	P
Subtypen am VLS					Konfession				
A	5	1	(0,30 bis 3,23)	0,97	Katholisch	23	0,81	(0,48 bis 1,36)	0,43
C	22	1			Protestantisch	69	1		
D	2	1,22	(0,28 bis 5,41)	0,790	Muslimisch	5	0,75	(0,25 bis 2,24)	0,6
Rekombinante	15	1,4	(0,54 bis 2,40)	0,73	Keine Religion	11	0,85	(0,43 bis 1,68)	0,64
Multiple Infektionen	14	1,8	(0,95 bis 3,20)	0,072	Bildungsstand				
Hepatitis B					Kein Schulbesuch	10	0,56	(0,21 bis 1,49)	0,245
Positiv	10	0,58	(0,22 bis 1,53)	0,271	Primary	90	1		
Negativ	79	1			Secondary	8	0,70	(0,28 bis 1,76)	0,453
Syphilis					Haushaltsgröße				
Positiv	25	1	(0,60 bis 1,53)	0,86	0 - 1	33	1,29	(0,81 bis 2,04)	0,28
Negativ	82	1			2 - 3	38	1		
Alter					> 3	35	1,09	(0,66 bis 1,78)	0,74
18 bis 20	23	1			Familienstand				
21 bis 23	21	0,8	(0,47 bis 1,50)	0,56	ledig	31	1,24	(0,85 bis 1,83)	0,27
24 bis 30	45	0,90	(0,57 bis 1,43)	0,67	1 Ehepartner	75	1		
31 oder älter	19	0,75	(0,39 bis 1,41)	0,37	> 1 Ehepartner	2	1,07	(0,26 bis 4,40)	0,92
Kontrazeption					Zahl der Kinder				
Keine	44	1			0	35	0,99	(0,65 bis 1,51)	0,959
Pille	12	1,05	(0,55 bis 2,00)	0,888	1 - 2	50	1		
Injektionen	19	0,77	(0,40 bis 1,51)	0,448	> 2	23	0,84	(0,49 bis 1,43)	0,515
Andere	2	1,05	(0,25 bis 4,37)	0,949	Vorherige HIV-Testung				
Kondom für Männer	7	0,9	(0,36 bis 2,24)	0,818	Nein	90	1		
					Ja	18	0,87	(0,50 bis 1,52)	0,62

Fußnoten wie bei Tabelle 7

*Tabelle 7:* Assoziation von multiplen HIV-Infektionen und “protektiven” und “schädlichen” HLA-Klasse-I-Allelen mit erhöhtem viral load setpoint. Ergebnisse der univariaten und multivariaten Analyse.

Covariate	Univariate Modelle				Multivariate Modelle <sup>a</sup>				VLS-Median <sup>c</sup>	% erhöhter VLS <sup>c</sup>
	n	RR	95% CI	P	n	RR	95% CI	P		
Studiengruppe										
CODE Frauen	41	1			40	1			26000	37,5
CODE Männer	21	1,83	(1.14 to 2.93)	0,012	21	1,76	(1.09 to 2.85)	0,021	158000	71,4
Barfrauen	46	1,28	(0.79 to 2.07)	0,313	32	1,35	(0.73 to 2.51)	0,341	104900	53,1
Anwesende HLA Allele										
Nur "Neutrale"	37	1			37	1			35400	43,2
"Protektive"	19	0,61	(0.26 to 1.41)	0,248	19	0,60	(0.28 to 1.29)	0,192	23400	26,3
"Prot. & Schädliche"	9	1,29	(0.64 to 2.57)	0,480	9	1,38	(0.70 to 2.69)	0,352	72500	55,6
"Schädliche"	28	1,73	(1.13 to 2.66)	0,012	28	1,70	(1.11 to 2.59)	0,014	195000	75,0
Multiple HIV Infektionen <sup>b</sup>										
Nein	44	1			43	1			58650	44,2
Ja	14	1,65	(1.03 to 2.66)	0,038	14	1,65	(1.03 to 2.63)	0,036	183475	71,4
Nicht bestimmt	36	1,16	(0.72 to 1.86)	0,544	36	1,29	(0.78 to 2.13)	0,316	77400	50,0

n = Anzahl der Teilnehmer im Stratum; RR = risk ratio für einen VLS über dem Gesamtmedian von 69.850 Kopien/ml; VLS-Median = VLS-Median im Stratum; <sup>a</sup> Beinhaltet alle in das Modell eingeschlossenen Variablen; <sup>b</sup> Multiple HIV-Infektionen entsprechend dem MHA, MHA-Daten waren nur für 58 Teilnehmer verfügbar; <sup>c</sup> VLS-Median und % mit erhöhtem VLS für Teilnehmer die in das multivariate Modell eingeschlossen worden sind;



Männliches Geschlecht, die Anwesenheit „schädlicher“ HLA-Klasse-I-Allele und multiple HIV-1-Infektionen waren stark und signifikant assoziiert mit einem erhöhten VLS (siehe Tab. 7 auf Seite 32 und Diagramm 5 auf Seite 34). Barfrauen hatten ein deutlich erhöhtes Risiko für einen erhöhten VLS gegenüber CODE Frauen, auch wenn dieser Zusammenhang nicht signifikant war. Die Anwesenheit von „protektiven“ HLA-Klasse-I-Allelen hatte eine starke, aber nicht signifikante negative Assoziation mit der Viruslast. Die Stärke und Signifikanz der Assoziationen dieser Faktoren mit dem VLS sind in der univariaten und multivariaten Analyse ähnlich. Dies zeigt einen jeweils von den anderen Faktoren nahezu unabhängigen Einfluss auf die Viruslast, wie aus Tabelle 7 ersichtlich.

In Diagramm 5 sind die VLS –Unterschiede in den drei Gruppen gut ersichtlich. Es sind nur die Teilnehmer mit vollständigem Datensatz zu Einfach- oder Mehrfachinfektionen, sowie HLA Klasse I Allelen gezeigt. Die rote Linie markiert 2000 Viruskopien pro ml, also sind alle Teilnehmer darunter controller. Die Teilnehmer mit Mehrfachinfektionen und „schädlichen“ HLA Allelen sind mit einem gelben Dreieck repräsentiert. Es ist ersichtlich, dass sie alle einen höheren VLS als der Median in ihrer Gruppe besitzen. Die Teilnehmer mit Mehrfachinfektionen (weisses Dreieck) oder „schädlichen“ HLA Allelen (gelber Kreis) häufen sich in der oberen Gegend des Diagramms.

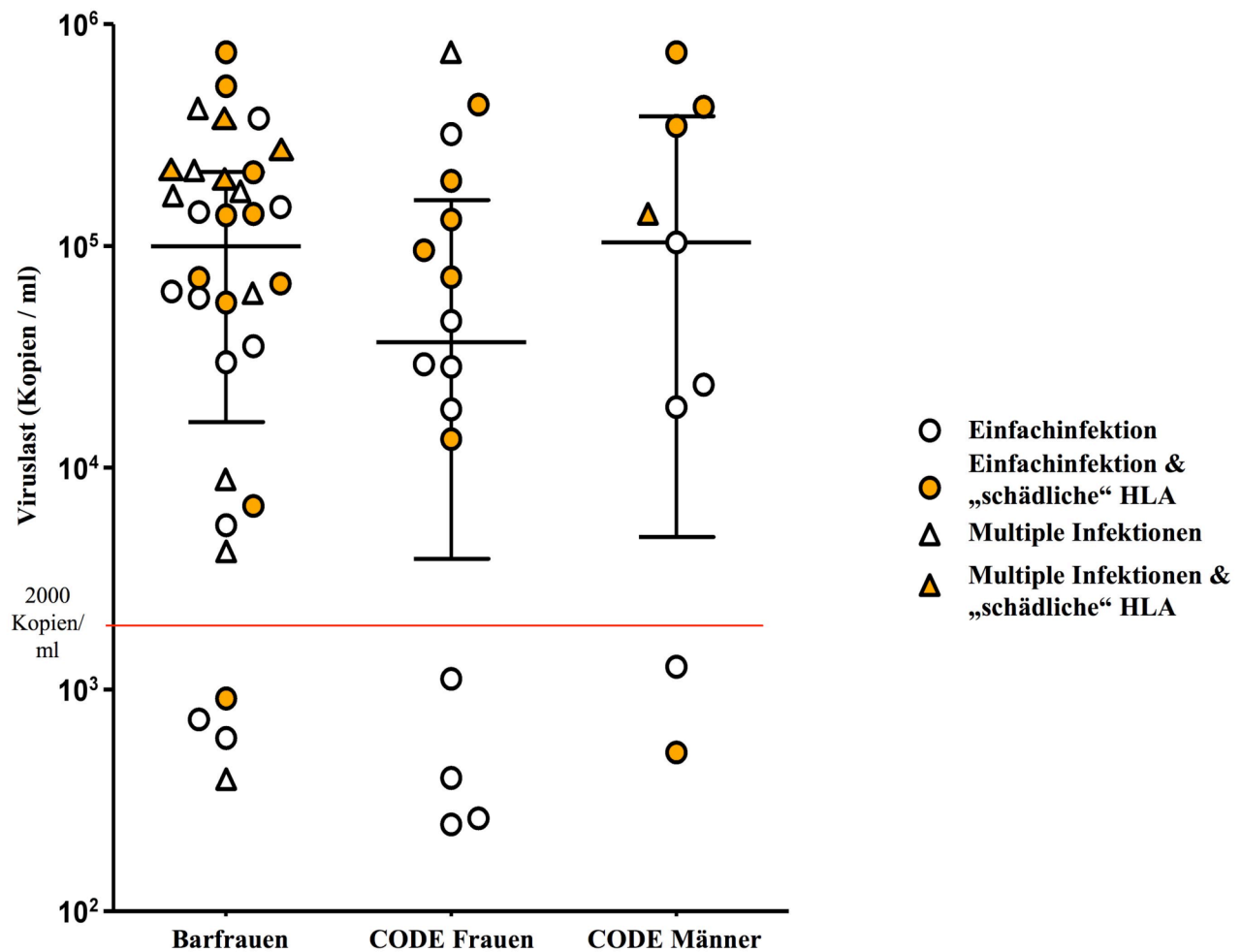


Diagramm 5: VLS, multiple Infektionen und Gegenwart von “schädlichen” HLA-Klasse-I-Allelen (es wurden nur Teilnehmer mit vollständigem Datensatz eingeschlossen).

## **5. Diskussion**

Bei HIV-Infektionen stellt der viral load setpoint (VLS) einen wichtigen und allgemein anerkannten Prädiktor für die Progression zu AIDS dar. Zudem ist der VLS ein wichtiger Marker für die Evaluierung von Impfstoffen und Mikrobioziden, welche nicht die Infektion verhindern, sondern die Viruslast vermindern sollen.

### **5.1. Einordnung der VLS Ergebnisse**

Ein Vergleich dieser hier vorliegenden VLS-Ergebnisse mit denen aus anderen Teilen Subsahara-Afrikas zeigt, dass die CODE Frauen am unteren Ende des Spektrums von 4.45 bis 4.61  $\log_{10}$  RNA Kopien/ml liegen, welches bei drei anderen Studien mit Frauen aus ostafrikanischer Normalbevölkerung gefunden wurde [46, 49, 66]. Im Gegensatz dazu hatten die Barfrauen in unserer Studie einen VLS-Median der deutlich über dem Bereich (3.71 bis 4.33  $\log_{10}$  Kopien/ml) lag, der in anderen Studien mit Frauen aus Hochrisikogruppen in Afrika gefunden wurde [24, 25, 50, 73]. Auch der VLS der CODE Männer lag beträchtlich über dem zweier vergleichbarer Studien (4.74 und 4.76  $\log_{10}$  Kopien/ml), die Männer aus der ostafrikanischer Normalbevölkerung betrafen [46, 66]. Die Feststellung, dass Männer der Normalbevölkerung einen höheren VLS als Frauen der Normalbevölkerung haben, stimmt mit den Erkenntnissen zweier weiterer Studien aus Ostafrika überein. Forschungsergebnisse aus anderen Teilen der Welt bestätigen dies, wenngleich der zwischengeschlechtliche VLS-Unterschied nicht mit einem Unterschied in der HIV-Progression zu AIDS einherzugehen scheint [46, 56, 66].

In der vorliegenden Studie hatten Barfrauen ein größeres Risiko, einen erhöhten VLS zu haben, als CODE Frauen, auch nach Einbeziehung von multiplen Infektionen und HLA-Klasse-I-Allelen im multivariaten Modell. Die anderen evaluierten biologischen, sozio-demographischen und Verhaltensvariablen erklärten diese Unterschiede nicht. Es ist daher wahrscheinlich, dass zusätzliche Faktoren eine Rolle spielten, die nicht in der Studie berücksichtigt wurden.

## **5.2. Multiple HIV-1-Infektionen**

Teilnehmer mit multiplen HIV-1 Infektionen hatten ein größeres Risiko einen erhöhten VLS zu haben, als jene mit einfacher Infektion. Dies stimmt mit den Ergebnissen einer früheren, kleineren Untersuchung überein [25] und wird auch dadurch bestätigt, dass multiple HIV-Infektionen die Krankheitsprogression beschleunigen können [84].

Die extrem hohe Prävalenz von multiplen HIV-Infektionen unter Barfrauen relativ früh nach der Serokonversion ist erstaunlich. Eine mögliche Erklärung ist ihre häufigere Exposition gegenüber unterschiedlichen HIV-Stämmen, die auch bei ihren Sexualpartnern (z. B. Lastwagenfahrer) häufig sind, weil diese selbst einer Hochrisikogruppe für multiple HIV-Infektionen angehören. Unsere Daten zeigen gerade innerhalb solcher Subpopulationen ein hohes Risiko für simultane Koinfektionen mit multiplen Virusstämmen. Hohe Viruslasten gehen auch mit einem erhöhten Übertragungsrisiko einher, und folglich steigt durch eine multiple HIV-Infektion das Risiko der HIV-Übertragung.

Der Anteil an multiplen Infektionen in den beiden Kohorten ist nicht vollkommen vergleichbar, da Kohorten-spezifische Unterschiede bei den Studienbesuchsintervallen (dreimonatlich in HISIS und sechsmonatlich in CODE) zu einer unterschiedlichen Anzahl an MHA-Tests führten. Dies wiederum könnte eine niedrigere Sensitivität für die Ermittlung von multiplen HIV-Infektionen unter CODE-Teilnehmern zur Folge gehabt haben. Allerdings wäre, auch wenn für jede HISIS-Teilnehmerin nur eines der MHA Ergebnisse verwendet worden wäre, der Anteil an multiplen Infektionen in dieser Gruppe immer noch dreimal so hoch wie unter CODE-Teilnehmern gewesen (24% vs. 8%,  $p=0,105$ ).

### **5.3. HLA-Klasse-I-Allele**

Der Einfluss genetischer Polymorphismen innerhalb des HLA-Klasse-I-Allel-Genloki auf die HIV-Viruslast und die Krankheitsprogression während der chronischen Infektion ist gut dokumentiert [1, 2, 14, 19, 21, 45, 79]. Besonders die Exprimierung von Allel B57 korreliert mit der Abwesenheit der symptomatischen HIV-1 Serokonversionskrankheit [1]. Dies ist wichtig, denn Patienten mit schwereren Symptomen und längerer Dauer der akuten HIV-1-Infektion tendieren dazu, schneller AIDS zu entwickeln [1]. Weiterhin ist zwischen HLA-B57 und günstigen klinischen, virologischen und immunologischen Ereignissen während der akuten HIV-Infektion eine Assoziation gefunden worden [2]. Die hier durchgeführten Analysen zeigen, dass die Exprimierung von "schädlichen" HLA-Klasse-I-Allelen, die mit schlechter Viruslastkontrolle in der chronischen Phase von HIV assoziiert ist, auch schon früh nach der HIV-Infektion signifikant mit schlechter Viruskontrolle einhergeht. Dies legt nahe, dass die Viruskontrolle nicht

langsam über einen längeren Zeitraum verloren geht, sondern vielmehr in diesen Personen niemals effizient vorhanden war.

#### **5.4. Schlussfolgerungen**

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Frauen mit Hochrisikoverhalten und Männer aus der Normalbevölkerung einen höheren VLS hatten als vergleichbare Populationen aus anderen Teilen Afrikas südlich der Sahara - während Frauen aus der Normalbevölkerung einen deutlich niedrigeren VLS aufwiesen. Frauen mit Hochrisikoverhalten hatten einen deutlich höheren Anteil an multiplen Infektionen als Teilnehmer aus der Normalbevölkerung. Männliches Geschlecht und die Anwesenheit von "schädlichen" HLA-Allelen und multiplen HIV-Infektionen waren signifikant mit einem höheren VLS assoziiert. Hingegen war die Anwesenheit von "protektiven" HLA-Allelen zwar mit einem niedrigeren VLS assoziiert, diese Assoziation war jedoch nicht signifikant. Der infizierende HIV-1-Subtyp (A, C oder D), Hepatitis B und Syphilis Infektionen beim Studienbeginn und die sozio-demographischen und Verhaltensfaktoren, die untersucht wurden, waren nur schwach und nicht-signifikant mit dem VLS der Studienteilnehmer assoziiert.

## 6. Zusammenfassung

Der viral load setpoint (VLS) weist sowohl interindividuell, als auch interpopulativ große Schwankungen auf. Aus diesem Grund sind in Europa und Nordamerika gewonnene Daten zur HIV-1-Viruslast nicht direkt auf Subsahara-Afrika, die am schwersten von dieser Infektion betroffene Region der Erde, übertragbar. Der VLS gehört jedoch zu den wichtigsten Markern des Verlaufs der primären HIV-Infektion.

Das Hauptziel der vorliegenden Dissertation war deshalb die Feststellung des HIV-1 viral load setpoints bei serokonvertierten Erwachsenen der Region Mbeya in Tansania. Weiterhin wurde nach Virus- und Wirtsfaktoren gesucht, welche die Viruslast am VLS beeinflussen.

Ursprünglich HIV-negative Teilnehmer aus zwei unterschiedlichen Kohorten wurden in diese Studie eingeschlossen und bis zu vier Jahre lang beobachtet: (1) Barfrauen aus einer Hochrisikokohorte, sowie (2) Frauen und Männer aus der Normalbevölkerung. Sie wurden regelmäßig besucht, um Proben zu sammeln und Informationen über den sozio-ökonomischen Hintergrund sowie den allgemeinen Gesundheitszustand zu erhalten.

Der VLS wurde für insgesamt 108 Studienteilnehmer berechnet. Mit verschiedenen Laboranalysen sollten virale und Wirtsfaktoren identifiziert werden, die einen Einfluss auf den VLS haben könnten. Um die Assoziationen zu evaluieren, sind univariate sowie multivariate Poisson Regressionsmodelle zum Einsatz gekommen.

Der VLS-Median betrug 69.850 RNA Kopien/ml für die Barfrauen, 28.600 für die Frauen und 158.000 für die Männer der Normalbevölkerung. Der VLS war damit in Mbeya für Frauen aus Hochrisikogruppen sowie Männer aus der Normalbevölkerung höher als bei vergleichbaren Populationen aus anderen Ländern Afrikas südlich der Sahara.

Als signifikante Einflussfaktoren auf den VLS ergaben sich die multiple Infektion mit mehreren Subtypen (RR=1,65, 95%CI=1,03-2,66), männliches Geschlecht (RR=1,83, 95%CI=1,14-2,93) und die Expression von "schädlichen" HLA-Klasse-I-Allelen (RR=1,73, 95%CI=1,13-2,66). Die Analyse anderer potentieller Einflussfaktoren ergab keine weiteren signifikanten Assoziationen mit dem VLS.

Insgesamt gesehen legen die Ergebnisse nahe, dass mehrere Virus- und Wirtsfaktoren den natürlichen Verlauf der HIV-1-Infektion beeinflussen. Der antagonistische und synergistische Effekt dieser Faktoren untereinander könnte für die VLS-Unterschiede in dieser Untersuchung und die anderer ähnlicher Kohorten in Subsahara-Afrika ursächlich sein.



## 7. Literaturverzeichnis

1. Altfeld M, Addo MM, Rosenberg ES, Hecht FM, Lee PK, Vogel M, Yu XG, Draenert R, Johnston MN, Strick D, Allen TM, Feeney ME, Kahn JO, Sekaly RP, Levy JA, Rockstroh JK, Goulder PJ, Walker BD. **Influence of HLA-B57 on clinical presentation and viral control during acute HIV-1 infection.** *Aids* 2003,17:2581-2591.
2. Altfeld M, Kalife ET, Qi Y, Streeck H, Lichterfeld M, Johnston MN, Burgett N, Swartz ME, Yang A, Alter G, Yu XG, Meier A, Rockstroh JK, Allen TM, Jessen H, Rosenberg ES, Carrington M, Walker BD. **HLA Alleles Associated with Delayed Progression to AIDS Contribute Strongly to the Initial CD8(+) T Cell Response against HIV-1.** *PLoS Med* 2006,3:e403.
3. Altman LK. **New Homosexual Disorder Worries Health Officials.** *The New York Times* 1982.
4. Andersson S, Norrgren H, da Silva Z, Biague A, Bamba S, Kwok S, Christopherson C, Biberfeld G, Albert J. **Plasma viral load in HIV-1 and HIV-2 singly and dually infected individuals in Guinea-Bissau, West Africa: significantly lower plasma virus set point in HIV-2 infection than in HIV-1 infection.** *Arch Intern Med* 2000,160:3286-3293.
5. Andersson S, Norrgren H, Dias F, Biberfeld G, Albert J. **Molecular characterization of human immunodeficiency virus (HIV)-1 and -2 in individuals from guinea-bissau with single or dual infections: predominance of a distinct HIV-1 subtype A/G recombinant in West Africa.** *Virology* 1999,262:312-320.
6. Arroyo MA, Hoelscher M, Sateren W, Samky E, Maboko L, Hoffmann O, Kijak G, Robb M, Birx DL, McCutchan FE. **HIV-1 diversity and prevalence differ between urban and rural areas in the Mbeya region of Tanzania.** *Aids* 2005,19:1517-1524.
7. Artenstein AW, VanCott TC, Mascola JR, Carr JK, Hegerich PA, Gaywee J, Sanders-Buell E, Robb ML, Dayhoff DE, Thitivichianlert S, et al. **Dual infection with human immunodeficiency virus type 1 of distinct envelope subtypes in humans.** *J Infect Dis* 1995,171:805-810.
8. Barros AJ, Hiraikata VN. **Alternatives for logistic regression in cross-sectional studies: an empirical comparison of models that directly estimate the prevalence ratio.** *BMC Med Res Methodol* 2003,3:21.
9. Becker-Pergola G, Mellquist JL, Guay L, Mmiro F, Ndugwa C, Kataaha P, Jackson JB, Eshleman SH. **Identification of diverse HIV type 1 subtypes and dual HIV type 1 infection in pregnant Ugandan women.** *AIDS Res Hum Retroviruses* 2000,16:1099-1104.

10. Blackard JT, Renjifo B, Chaplin B, Msamanga G, Fawzi W, Essex M. **Diversity of the HIV-1 long terminal repeat following mother-to-child transmission.** *Virology* 2000,274:402-411.
11. Blackard JT, Renjifo BR, Mwakagile D, Montano MA, Fawzi WW, Essex M. **Transmission of human immunodeficiency type 1 viruses with intersubtype recombinant long terminal repeat sequences.** *Virology* 1999,254:220-225.
12. Busch MP, Lee LL, Satten GA, Henrard DR, Farzadegan H, Nelson KE, Read S, Dodd RY, Petersen LR. **Time course of detection of viral and serologic markers preceding human immunodeficiency virus type 1 seroconversion: implications for screening of blood and tissue donors.** *Transfusion* 1995,35:91-97.
13. Butto S, Argentini C, Mazzella AM, Iannotti MP, Leone P, Nicolosi A, Rezza G. **Dual infection with different strains of the same HIV-1 subtype.** *Aids* 1997,11:694-696.
14. Carrington M, Nelson GW, Martin MP, Kissner T, Vlahov D, Goedert JJ, Kaslow R, Buchbinder S, Hoots K, O'Brien SJ. **HLA and HIV-1: heterozygote advantage and B\*35-Cw\*04 disadvantage.** *Science* 1999,283:1748-1752.
15. Diaz RS, Sabino EC, Mayer A, Mosley JW, Busch MP. **Dual human immunodeficiency virus type 1 infection and recombination in a dually exposed transfusion recipient. The Transfusion Safety Study Group.** *J Virol* 1995,69:3273-3281.
16. Donnelly CA, Bartley LM, Ghani AC, Le Fevre AM, Kwong GP, Cowling BJ, van Sighem AI, de Wolf F, Rode RA, Anderson RM. **Gender difference in HIV-1 RNA viral loads.** *HIV Med* 2005,6:170-178.
17. Dowling WE, Kim B, Mason CJ, Wasunna KM, Alam U, Elson L, Birx DL, Robb ML, McCutchan FE, Carr JK. **Forty-one near full-length HIV-1 sequences from Kenya reveal an epidemic of subtype A and A-containing recombinants.** *Aids* 2002,16:1809-1820.
18. Fellay J, Shianna KV, Ge D, Colombo S, Ledergerber B, Weale M, Zhang K, Gumbs C, Castagna A, Cossarizza A, Cozzi-Lepri A, De Luca A, Easterbrook P, Francioli P, Mallal S, Martinez-Picado J, Miro JM, Obel N, Smith JP, Wyniger J, Descombes P, Antonarakis SE, Letvin NL, McMichael AJ, Haynes BF, Telenti A, Goldstein DB. **A whole-genome association study of major determinants for host control of HIV-1.** *Science* 2007,317:944-947.
19. Frahm N, Kiepiela P, Adams S, Linde CH, Hewitt HS, Sango K, Feeney ME, Addo MM, Lichterfeld M, Lahaie MP, Pae E, Wurcel AG, Roach T, St John MA, Altfeld M, Marincola FM, Moore C, Mallal S, Carrington M, Heckerman D, Allen TM, Mullins JI, Korber BT, Goulder PJ, Walker BD, Brander C. **Control of human immunodeficiency virus replication by cytotoxic T lymphocytes targeting subdominant epitopes.** *Nat Immunol* 2006,7:173-178.

20. Geldmacher C, Currier JR, Gerhardt M, Haule A, Maboko L, Birx D, Gray C, Meyerhans A, Cox J, Hoelscher M. **In a mixed subtype epidemic, the HIV-1 Gag-specific T-cell response is biased towards the infecting subtype.** *Aids* 2007,21:135-143.
21. Geldmacher C, Currier JR, Herrmann E, Haule A, Kuta E, McCutchan F, Njovu L, Geis S, Hoffmann O, Maboko L, Williamson C, Birx D, Meyerhans A, Cox J, Hoelscher M. **CD8 T-cell recognition of multiple epitopes within specific Gag regions is associated with maintenance of a low steady-state viremia in human immunodeficiency virus type 1-seropositive patients.** *J Virol* 2007,81:2440-2448.
22. Gottlieb GS, Sow PS, Hawes SE, Ndoye I, Redman M, Coll-Seck AM, Faye-Niang MA, Diop A, Kuypers JM, Critchlow CW, Respess R, Mullins JI, Kiviat NB. **Equal plasma viral loads predict a similar rate of CD4+ T cell decline in human immunodeficiency virus (HIV) type 1- and HIV-2-infected individuals from Senegal, West Africa.** *J Infect Dis* 2002,185:905-914.
23. Grant AD, Djomand G, De Cock KM. **Natural history and spectrum of disease in adults with HIV/AIDS in Africa.** *Aids* 1997,11 Suppl B:S43-54.
24. Gray CM, Mlotshwa M, Riou C, Mathebula T, de Assis Rosa D, Mashishi T, Seoighe C, Ngandu N, van Loggerenberg F, Morris L, Mlisana K, Williamson C, Karim SA, Team CAIS. **Human immunodeficiency virus-specific gamma interferon enzyme-linked immunospot assay responses targeting specific regions of the proteome during primary subtype C infection are poor predictors of the course of viremia and set point.** *J Virol* 2009,83:470-478.
25. Grobler J, Gray CM, Rademeyer C, Seoighe C, Ramjee G, Karim SA, Morris L, Williamson C. **Incidence of HIV-1 dual infection and its association with increased viral load set point in a cohort of HIV-1 subtype C-infected female sex workers.** *J Infect Dis* 2004,190:1355-1359.
26. Hansmann A, Schim van der Loeff MF, Kaye S, Awasana AA, Sarge-Njie R, O'Donovan D, Ariyoshi K, Alabi A, Milligan P, Whittle HC. **Baseline plasma viral load and CD4 cell percentage predict survival in HIV-1- and HIV-2-infected women in a community-based cohort in The Gambia.** *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005,38:335-341.
27. Harris ME, Serwadda D, Sewankambo N, Kim B, Kigozi G, Kiwanuka N, Phillips JB, Wabwire F, Meehen M, Lutalo T, Lane JR, Merling R, Gray R, Wawer M, Birx DL, Robb ML, McCutchan FE. **Among 46 near full length HIV type 1 genome sequences from Rakai District, Uganda, subtype D and AD recombinants predominate.** *AIDS Res Hum Retroviruses* 2002,18:1281-1290.
28. Herbing K-H. **HIV-1-Subtypisierung mittels Multi-Region Hybridisation Assay in Bevö Ikerungsgruppen mit unterschiedlichem sexuellen Risikoverhalten in Mbeya Region, Tansania** *Dissertation* 2006:160.

29. Heyndrickx L, Alary M, Janssens W, Davo N, van der Groen G. **HIV-1 group O and group M dual infection in Benin.** *Lancet* 1996;347:902-903.
30. Hierholzer J, Montano S, Hoelscher M, Negrete M, Hierholzer M, Avila MM, Carrillo MG, Russi JC, Vinales J, Alava A, Acosta ME, Gianella A, Andrade R, Sanchez JL, Carrion G, Russell K, Robb M, Birx D, McCutchan F, Carr JK. **Molecular Epidemiology of HIV Type 1 in Ecuador, Peru, Bolivia, Uruguay, and Argentina.** *AIDS Res Hum Retroviruses* 2002;18:1339-1350.
31. Hoelscher M, Dowling WE, Sanders-Buell E, Carr JK, Harris ME, Thomschke A, Robb ML, Birx DL, McCutchan FE. **Detection of HIV-1 subtypes, recombinants, and dual infections in east Africa by a multi-region hybridization assay.** *Aids* 2002;16:2055-2064.
32. Hoelscher M, Hanker S, Barin F, Cheingsong-Popov R, Dietrich U, Jordan-Harder B, Olaleye D, Nagele E, Markuzzi A, Mwakagile D, Minja F, Weber J, Gurtler L, Von Sonnenburg F. **HIV type 1 V3 serotyping of Tanzanian samples: probable reasons for mismatching with genetic subtyping.** *AIDS Res Hum Retroviruses* 1998;14:139-149.
33. Hoelscher M, Kim B, Maboko L, Mhalu F, von Sonnenburg F, Birx DL, McCutchan FE. **High proportion of unrelated HIV-1 intersubtype recombinants in the Mbeya region of southwest Tanzania.** *Aids* 2001;15:1461-1470.
34. Hoffmann C, Rockstroh JK, Kamps BS. **HIV.NET 2008.** *Steinhäuser Verlag* 2008.
35. Hoffmann O, Zaba B, Wolff B, Sanga E, Maboko L, Mmbando D, von Sonnenburg F, Hoelscher M. **Methodological lessons from a cohort study of high risk women in Tanzania.** *Sex Transm Infect* 2004;80 Suppl 2:ii69-73.
36. Holm-Hansen C, Ayehunie S, Johansson B, Nkya W, Shao J, Haukenes G. **HIV-1 proviral DNA sequences of env gp41 PCR amplicates from Tanzania.** *Apmis* 1996;104:459-464.
37. Holt, Rinehart, Winston. **World Atlas.** (www document) URL am 30.09.2009.  
<[http://go.hrw.com/atlas/norm\\_hm/tanzania.htm](http://go.hrw.com/atlas/norm_hm/tanzania.htm)>
38. Howell RM, Fitzgibbon JE, Noe M, Ren ZJ, Gocke DJ, Schwartz TA, Dubin DT. **In vivo sequence variation of the human immunodeficiency virus type 1 env gene: evidence for recombination among variants found in a single individual.** *AIDS Res Hum Retroviruses* 1991;7:869-876.
39. Hymes KB, Cheung T, Greene JB, Prose NS, Marcus A, Ballard H, William DC, Laubenstein LJ. **Kaposi's sarcoma in homosexual men-a report of eight cases.** *Lancet* 1981;2:598-600.
40. Iversen AK, Learn GH, Fugger L, Gerstoft J, Mullins JI, Skinhoj P. **Presence of multiple HIV subtypes and a high frequency of subtype chimeric viruses in heterosexually infected women.** *J Acquir Immune Defic Syndr* 1999;22:325-332.

41. Janini LM, Pieniazek D, Peralta JM, Schechter M, Tanuri A, Vicente AC, dela Torre N, Pieniazek NJ, Luo CC, Kalish ML, Schochetman G, Rayfield MA. **Identification of single and dual infections with distinct subtypes of human immunodeficiency virus type 1 by using restriction fragment length polymorphism analysis.** *Virus Genes* 1996,13:69-81.
42. Janini LM, Tanuri A, Schechter M, Peralta JM, Vicente AC, Dela Torre N, Pieniazek NJ, Luo CC, Ramos A, Soriano V, Schochetman G, Rayfield MA, Pieniazek D, Kalish ML. **Horizontal and vertical transmission of human immunodeficiency virus type 1 dual infections caused by viruses of subtypes B and C. Identification of single and dual infections with distinct subtypes of human immunodeficiency virus type 1 by using restriction fragment length polymorphism analysis.** *J Infect Dis* 1998,177:227-231.
43. Kahn JO, Walker BD. **Acute human immunodeficiency virus type 1 infection.** *N Engl J Med* 1998,339:33-39.
44. Kanki PJ, Hamel DJ, Sankale JL, Hsieh C, Thior I, Barin F, Woodcock SA, Gueye-Ndiaye A, Zhang E, Montano M, Siby T, Marlink R, I ND, Essex ME, S MB. **Human immunodeficiency virus type 1 subtypes differ in disease progression.** *J Infect Dis* 1999,179:68-73.
45. Kiepiela P, Leslie AJ, Honeyborne I, Ramduth D, Thobakgale C, Chetty S, Rathnavalu P, Moore C, Pfafferott KJ, Hilton L, Zimbwa P, Moore S, Allen T, Brander C, Addo MM, Altfeld M, James I, Mallal S, Bunce M, Barber LD, Szinger J, Day C, Klenerman P, Mullins J, Korber B, Coovadia HM, Walker BD, Goulder PJ. **Dominant influence of HLA-B in mediating the potential co-evolution of HIV and HLA.** *Nature* 2004,432:769-775.
46. Kiwanuka N, Laeyendecker O, Robb M, Kigozi G, Arroyo M, McCutchan F, Eller LA, Eller M, Makumbi F, Birx D, Wabwire-Mangen F, Serwadda D, Sewankambo NK, Quinn TC, Wawer M, Gray R. **Effect of human immunodeficiency virus Type 1 (HIV-1) subtype on disease progression in persons from Rakai, Uganda, with incident HIV-1 infection.** *J Infect Dis* 2008,197:707-713.
47. Kiwelu IE, Nakkestad HL, Shao J, Sommerfelt MA. **Evidence of subtype B-like sequences in the V3 loop region of human immunodeficiency virus type 1 in Kilimanjaro, Tanzania.** *AIDS Res Hum Retroviruses* 2000,16:1191-1195.
48. Kiwelu IE, Renjifo B, Chaplin B, Sam N, Nkya WM, Shao J, Kapiga S, Essex M. **HIV type 1 subtypes among bar and hotel workers in Moshi, Tanzania.** *AIDS Res Hum Retroviruses* 2003,19:57-64.
49. Kumwenda JJ, Makanani B, Taulo F, Nkhoma C, Kafulafula G, Li Q, Kumwenda N, Taha TE. **Natural history and risk factors associated with early and established HIV type 1 infection among reproductive-age women in Malawi.** *Clin Infect Dis* 2008,46:1913-1920.

50. Lavreys L, Baeten JM, Chohan V, McClelland RS, Hassan WM, Richardson BA, Mandaliya K, Ndinya-Achola JO, Overbaugh J. **Higher set point plasma viral load and more-severe acute HIV type 1 (HIV-1) illness predict mortality among high-risk HIV-1-infected African women.** *Clin Infect Dis* 2006,42:1333-1339.
51. Long EM, Martin HL, Jr., Kreiss JK, Rainwater SM, Lavreys L, Jackson DJ, Rakwar J, Mandaliya K, Overbaugh J. **Gender differences in HIV-1 diversity at time of infection.** *Nat Med* 2000,6:71-75.
52. Lyamuya E, Olausson-Hansson E, Albert J, Mhalu F, Biberfeld G. **Evaluation of a prototype Amplicor PCR assay for detection of human immunodeficiency virus type 1 DNA in blood samples from Tanzanian adults infected with HIV-1 subtypes A, C and D.** *J Clin Virol* 2000,17:57-63.
53. McCutchan FE. **Understanding the genetic diversity of HIV-1.** *Aids* 2000,14 Suppl 3:S31-44.
54. Mei Y, Wang L, Holte SE. **A comparison of methods for determining HIV viral set point.** *Stat Med* 2007.
55. Mhalu F, Bredberg-Raden U, Mbeni E, Pallangyo K, Kiango J, Mbise R, Nyamuryekunge K, Biberfeld G. **Prevalence of HIV infection in healthy subjects and groups of patients in Tanzania.** *Aids* 1987,1:217-221.
56. Napravnik S, Poole C, Thomas JC, Eron JJ, Jr. **Gender difference in HIV RNA levels: a meta-analysis of published studies.** *J Acquir Immune Defic Syndr* 2002,31:11-19.
57. Neilson JR, John GC, Carr JK, Lewis P, Kreiss JK, Jackson S, Nduati RW, Mbori-Ngacha D, Panteleeff DD, Bodrug S, Giachetti C, Bott MA, Richardson BA, Bwayo J, Ndinya-Achola J, Overbaugh J. **Subtypes of human immunodeficiency virus type 1 and disease stage among women in Nairobi, Kenya.** *J Virol* 1999,73:4393-4403.
58. Newsweek. **The AIDS debate: Call it a Draw.** 1987.
59. Nkengasong JN, Kestens L, Ghys PD, Koblavi-Deme S, Otten RA, Bile C, Maurice C, Kalou M, Laga M, Wiktor SZ, Greenberg AE. **Dual infection with human immunodeficiency virus type 1 and type 2: impact on HIV type 1 viral load and immune activation markers in HIV-seropositive female sex workers in Abidjan, Ivory Coast.** *AIDS Res Hum Retroviruses* 2000,16:1371-1378.
60. Norrgren H, da Silva Z, Biague A, Andersson S, Biberfeld G. **Clinical progression in early and late stages of disease in a cohort of individuals infected with human immunodeficiency virus-2 in Guinea-Bissau.** *Scand J Infect Dis* 2003,35:265-272.
61. Peeters M, Gershy-Damet GM, Fransen K, Koffi K, Coulibaly M, Delaporte E, Piot P, van der Groen G. **Virological and polymerase chain reaction studies of HIV-1/HIV-2 dual infection in Cote d'Ivoire.** *Lancet* 1992,340:339-340.

62. Peeters M, V. Courgnaud E. **Overview of Primate Lentiviruses and Their Evolution in Non-human Primates in Africa.** *HIV Sequence Compendium 2002, Theoretical Biology and Biophysics Group, Los Alamos National Laboratory, Los Alamos.* 2002.
63. Phillips A. **Short-term risk of AIDS according to current CD4 cell count and viral load in antiretroviral drug-naive individuals and those treated in the monotherapy era.** *Aids* 2004,18:51-58.
64. Ramos A, Tanuri A, Schechter M, Rayfield MA, Hu DJ, Cabral MC, Bandea CI, Baggs J, Pieniazek D. **Dual and recombinant infections: an integral part of the HIV-1 epidemic in Brazil.** *Emerg Infect Dis* 1999,5:65-74.
65. Renjifo B, Gilbert P, Chaplin B, Vannberg F, Mwakagile D, Msamanga G, Hunter D, Fawzi W, Essex M. **Emerging recombinant human immunodeficiency viruses: uneven representation of the envelope V3 region.** *Aids* 1999,13:1613-1621.
66. Richardson BA, Mbori-Ngacha D, Lavreys L, John-Stewart GC, Nduati R, Panteleeff DD, Emery S, Kreiss JK, Overbaugh J. **Comparison of human immunodeficiency virus type 1 viral loads in Kenyan women, men, and infants during primary and early infection.** *J Virol* 2003,77:7120-7123.
67. Riedner G, Hoffmann O, Rusizoka M, Mmbando D, Maboko L, Grosskurth H, Todd J, Hayes R, Hoelscher M. **Decline in sexually transmitted infection prevalence and HIV incidence in female barworkers attending prevention and care services in Mbeya Region, Tanzania.** *Aids* 2006,20:609-615.
68. Riedner G, Rusizoka M, Hoffmann O, Nichombe F, Lyamuya E, Mmbando D, Maboko L, Hay P, Todd J, Hayes R, Hoelscher M, Grosskurth H. **Baseline survey of sexually transmitted infections in a cohort of female bar workers in Mbeya Region, Tanzania.** *Sex Transm Infect* 2003,79:382-387.
69. Robbins KE, Bandea CI, Levin A, Goedert JJ, Blattner WA, Brubaker G, Brown TM, Schochetman G, Kalish ML, Shao J, O'Brien TR. **Genetic variability of human immunodeficiency virus type 1 in rural northwest Tanzania.** *AIDS Res Hum Retroviruses* 1996,12:1389-1391.
70. Robertson DL, Sharp PM, McCutchan FE, Hahn BH. **Recombination in HIV-1.** *Nature* 1995,374:124-126.
71. Sala M, Zambruno G, Vartanian JP, Marconi A, Bertazzoni U, Wain-Hobson S. **Spatial discontinuities in human immunodeficiency virus type 1 quasispecies derived from epidermal Langerhans cells of a patient with AIDS and evidence for double infection.** *J Virol* 1994,68:5280-5283.
72. Salminen MO, Carr JK, Robertson DL, Hegerich P, Gotte D, Koch C, Sanders-Buell E, Gao F, Sharp PM, Hahn BH, Burke DS, McCutchan FE. **Evolution and probable transmission of intersubtype recombinant human immunodeficiency virus type 1 in a Zambian couple.** *J Virol* 1997,71:2647-2655.

73. Sarr AD, Eisen G, Gueye-Ndiaye A, Mullins C, Traore I, Dia MC, Sankale JL, Faye D, Mboup S, Kanki P. **Viral dynamics of primary HIV-1 infection in Senegal, West Africa.** *J Infect Dis* 2005,191:1460-1467.
74. Sarr AD, Sankale JL, Gueye-Ndiaye A, Essex M, Mboup S, Kanki PJ. **Genetic analysis of HIV type 2 in monotypic and dual HIV infections.** *AIDS Res Hum Retroviruses* 2000,16:295-298.
75. Siwka W, Schwinn A, Baczko K, Pardowitz I, Mhalu F, Shao J, Rethwilm A, ter Meulen V. **vpu and env sequence variability of HIV-1 isolates from Tanzania.** *AIDS Res Hum Retroviruses* 1994,10:1753-1754.
76. Spiegelman D, Hertzmark E. **Easy SAS calculations for risk or prevalence ratios and differences.** *Am J Epidemiol* 2005,162:199-200.
77. Sterling TR, Vlahov D, Astemborski J, Hoover DR, Margolick JB, Quinn TC. **Initial plasma HIV-1 RNA levels and progression to AIDS in women and men.** *N Engl J Med* 2001,344:720-725.
78. Takehisa J, Zekeng L, Miura T, Ido E, Yamashita M, Mboudjeka I, Gurtler LG, Hayami M, Kaptue L. **Triple HIV-1 infection with group O and Group M of different clades in a single Cameroonian AIDS patient.** *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1997,14:81-82.
79. Tang J, Tang S, Lobashevsky E, Myracle AD, Fideli U, Aldrovandi G, Allen S, Musonda R, Kaslow RA. **Favorable and unfavorable HLA class I alleles and haplotypes in Zambians predominantly infected with clade C human immunodeficiency virus type 1.** *J Virol* 2002,76:8276-8284.
80. Thomson MM, Delgado E, Manjon N, Ocampo A, Villahermosa ML, Marino A, Herrero I, Cuevas MT, Vazquez-de Parga E, Perez-Alvarez L, Medrano L, Taboada JA, Najera R. **HIV-1 genetic diversity in Galicia Spain: BG intersubtype recombinant viruses circulating among injecting drug users.** *Aids* 2001,15:509-516.
81. Turner S, Ellexson ME, Hickman HD, Sidebottom DA, Fernandez-Vina M, Confer DL, Hildebrand WH. **Sequence-based typing provides a new look at HLA-C diversity.** *J Immunol* 1998,161:1406-1413.
82. UNAIDS. **Report on the global AIDS epidemic.** 2008:362.
83. United Republic of Tanzania. **Mbeya Region and its eight districts.** (www document) URL am 30.09.2009: <<http://tanzania.go.tz/census/mbeya.htm>>
84. van der Kuyl AC, Cornelissen M. **Identifying HIV-1 dual infections.** *Retrovirology* 2007,4:67.
85. Wikipedia, Die freie Enzyklopädie. **AIDS.** (www document) URL am 1.09.2009: <<http://de.wikipedia.org/wiki/Aids>>



86. Xin KQ, Ma XH, Crandall KA, Bukawa H, Ishigatsubo Y, Kawamoto S, Okuda K. **Dual infection with HIV-1 Thai subtype B and E.** *Lancet* 1995,346:1372-1373.
87. Zhu T, Wang N, Carr A, Wolinsky S, Ho DD. **Evidence for coinfection by multiple strains of human immunodeficiency virus type 1 subtype B in an acute seroconverter.** *J Virol* 1995,69:1324-1327.
88. Zwart G, Wolfs TF, Bookelman R, Hartman S, Bakker M, Boucher CA, Kuiken C, Goudsmit J. **Greater diversity of the HIV-1 V3 neutralization domain in Tanzania compared with The Netherlands: serological and genetic analysis.** *Aids* 1993,7:467-474.

**8. Abkürzungen**

AIDS	acquired immune deficiency syndrome
CI	confidence interval
CODE	cohort development study
cpx	complex
CRFs	circulating recombinant forms
ELISA	enzyme linked immunosorbent assay
GRID	gay related immune deficiency
HbsAg	Hepatitis B surface antigen
HISIS	HIV superinfection study
HIV	human immunodeficiency virus
HLA	human leukocyte antigen
IQR	interquartile range
log	Logarithmus
MHA	multi-region hybridisation assay
n	Anzahl
p	p-value
PCR	polymerase chain reaction
RNA	Ribonukleinsäure
RPR	rapid plasma reagin
RR	risk ratio
SD	standard deviation
SIV	simian immunodeficiency syndrome
TPPA	Treponema pallidum particle-immunoassay
UNAIDS	The Joint United Nations Programme on HIV/AIDS
URFs	unique recombinant forms
VLS	viral load setpoint

## 9. Danksagung

Herrn PD Dr. med. Michael Hölscher danke ich für die freundliche Überlassung des interessanten Themas dieser Arbeit, für seine hilfreichen Ratschläge und für die Ermöglichung meiner beiden Aufenthalte in Mbeya, Tansania. Durch die Mitarbeit im Mbeya Medical Research Program (MMRP) konnte ich in Tansania wertvolle Einblicke in die Problematik erhalten.

Herrn Dipl. biol. Elmar Saathoff, PhD, danke ich für die hervorragende Betreuung und seine kompetente Hilfe bei der statistischen Auswertung.

Weiterhin spreche ich Herrn Prof. Dr. med. Thomas Löscher, dem Direktor des Tropeninstituts, meinen Dank aus für seine Unterstützung.

Herzlichen Dank an die Angestellten des Tropeninstituts und des Mbeya Medical Research Programs für ihre Hilfe und Beratung.

Auch den Teilnehmern der CODE- und HISIS-Studien sei gedankt, ohne sie wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

**10. Lebenslauf**

Name	Michael Pritsch
Geboren	29.09.1981 in Regensburg
Nationalität	Deutsch
Familienstand	Unverheiratet
Kinder	Keine
Adresse	Preysingstr. 8, 81667 München
Email	michael.pritsch@gmail.com

**Ausbildung**

seit 04/2010	<b>Abteilung für Infektions- und Tropenmedizin der LMU München</b> Arzt in Weiterbildung
09/2009 - 12/2009	<b>Liverpool School of Tropical Medicine Liverpool, UK</b> Diploma of Tropical Medicine and Hygiene (DTM&H)
04/2003 – 06/2009	<b>Ludwig-Maximilians-Universität (LMU) München</b> Studium der Humanmedizin, Approbation 06/2009
03/2008 – 07/2008	<b>Harvard Medical School (HMS) Boston, MA, USA</b> PJ-Stipendium der LMU
07/2004 – 02/2005	<b>Universidad Miguel Hernández</b> <b>San Juan de Alicante, Spanien</b> ERASMUS-Stipendiat
07/2001 – 09/2002	<b>St. Christopher's School Bristol, UK</b> Anderer Dienst im Ausland
09/1992 – 07/2001	<b>Benedikt-Stattler-Gymnasium Bad Kötzing</b>

**Wissenschaftlicher Werdegang**

seit 06/2005	<b>Abteilung für Infektions- und Tropenmedizin der LMU München</b> Promotion
seit 07/2004	<b>Thieme Verlag Stuttgart</b> Co-Autor des Lehrbuchs „Biochemie des Menschen“, 3. Auflage 2005
09/2007 – 09/2009	<b>Abteilung für Infektions- und Tropenmedizin der LMU München</b> Studentische Hilfskraft bei Impfstudien für Vogelgrippe (H5N1), Schweinegrippe (H1N1) und Japanische Enzephalitis
11/2005 – 04/2006	<b>Mbeya Medical Research Programme Mbeya, Tansania</b> Forschungsaufenthalte
04/2004 – 07/2004	<b>Anatomisches Institut der LMU München</b> Demonstrationsassistent