

Aus der Abteilung für Infektions- und Tropenmedizin  
Medizinische Poliklinik Innenstadt der  
Ludwig-Maximilians-Universität München  
Leiter: Prof. Dr. Th. Löscher

Serologischer Verlauf bei einer Infektion mit *T. pallidum* innerhalb einer  
Hochrisikopopulation in Tansania, Ostafrika

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

vorgelegt von  
Britta Dechamps  
aus  
München  
2005

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med Th. Löscher

Mitberichterstatter: Priv.Doz. Dr. St. Odenbreit

Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter: Dr. med M. Hölscher

Dekan: Prof. Dr. med D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 01.12.2005

# Serologischer Verlauf bei einer Infektion mit *T. pallidum* innerhalb einer Hochrisikopopulation in Tansania, Ostafrika

Inhaltsverzeichnis	Seite
1. Einleitung	6
<b>1.1. Hintergrund der Studie</b>	6
<b>1.2. Epidemiologie der Syphilis</b>	8
1.2.1. In Europa	9
1.2.2. In Afrika	10
1.2.3. STI-HIV- Wechselwirkungen	13
<b>1.3. Eigenschaften von <i>T. pallidum</i></b>	15
1.3.1. Mikro- und Molekularbiologie	15
1.3.2. Immunologie	16
1.3.3. Pathogenese	18
<b>1.4. Klinischer Verlauf und Manifestation der Syphilis</b>	18
1.4.1. Primäres Stadium	19
1.4.2. Sekundäres Stadium	20
1.4.3. Latentes Stadium	21
1.4.4. Tertiäres Stadium	22
1.4.5. Einfluss einer HIV-Infektion	22
<b>1.5. Diagnose der Syphilis</b>	24
1.5.1. Testverfahren	24
1.5.1.1. Direkter Erregernachweis	25
1.5.1.2. Indirekter Erregernachweis	26
1.5.1.2.1. Unspezifische Antikörpertests	26
1.5.1.2.2. Spezifische Antikörpertests	27
1.5.1.2.3. <i>T. pallidum</i> spezifische IgM- Antikörpertests	29
1.5.1.2.4. Enzymimmunoassays	29
1.5.1.2.5. Andere Testverfahren	32
1.5.2. Algorithmus	32
1.5.3. Einfluss einer HIV-Infektion	34
1.5.4. Biologisch falsch positive Reaktionen	36
<b>1.6. Therapie der Syphilis</b>	38
1.6.1. Frühe Syphilis	38
1.6.2. Späte Syphilis	39
1.6.3. Therapie bei HIV-Infizierten	40
1.6.4. Syndromisches Management	41

<b>1.7. Serologisches Verhalten unter medikamentöser Therapie</b> .....	42
1.7.1. Heilung .....	43
1.7.2. Serologisches Verhalten in den verschiedenen Syphilisstadien .....	44
1.7.3. Therapieversagen .....	47
1.7.4. Reinfektion/ Rückfall/ Reaktivierung .....	49
1.7.5. Einfluss einer HIV-Infektion .....	51
<b>1.8. Prävention und Kontrolle</b> .....	52
<b>2. Problemstellung und Zielsetzung der Doktorarbeit</b> .....	55
<b>2.1. Problemstellung</b> .....	55
<b>2.3. Fragestellung und Zielsetzung</b> .....	56
<b>3. Material und Methoden</b> .....	57
<b>3.1. Studiensetting</b> .....	57
<b>3.2. Studienpopulation</b> .....	57
<b>3.3. Studiendurchführung</b> .....	58
<b>3.4. Studiendesign</b> .....	60
3.4.1. Studienart .....	60
3.4.2. Definitionen .....	61
3.4.3. Gruppeneinteilung und Auswahl .....	64
<b>3.5. Studienproben/ Datenerhebung</b> .....	66
3.5.1. Soziodemographische Daten .....	66
3.5.2. Klinische Daten und Probengewinnung .....	66
3.5.3. Serologische Daten .....	66
<b>3.6. Labor Prozeduren</b> .....	68
3.6.1. RPR .....	68
3.6.2. TPPA .....	69
3.6.3. IgM-INNO-LIA™ .....	70
3.6.4. IgM-FTA-ABS .....	72
3.6.5. PCR .....	73
<b>3.7. Studienbeitrag der Doktorandin</b> .....	73
<b>4. Ergebnisse</b> .....	74
<b>4.1. Demographische Daten der Kohorte</b> .....	74

<b>4.2. Serologische Daten der Kohorte</b> .....	75
4.2.1. Ergebnisse der Basiserhebung (Study round S1) .....	75
4.2.2. Einteilung in klinische Gruppen .....	77
4.2.3. Gesamtsensitivität der Testverfahren bei Syphilisinfektion.....	79
<b>4.3. Ergebnisse der klinischen Gruppen</b> .....	81
4.3.1. Gruppe A: Unterscheidung zwischen Neuinfektion/ Reinfektion/ Rückfall.....	81
4.3.1.1. Gruppe A-1: Neuinfektion .....	81
4.3.1.2. Gruppe A-2 Reinfektion/ Rückfall .....	83
4.3.1.3. Gruppe A-3 Ausschluss Neuinfektion .....	85
4.3.2. Gruppe B: Heilung nach Therapie .....	88
4.3.2.1. Gruppe B-1: Serologische Heilung .....	88
4.3.2.2. Gruppe B-2: Therapieversagen .....	92
<b>5. Diskussion</b> .....	94
<b>5.1. Bewertung des Patientenkollektiv</b> .....	94
<b>5.2. Bewertung der Datenerhebung</b> .....	95
<b>5.3. Bewertung der Daten</b> .....	97
5.3.1. Überblick über die Gesamtergebnisse der Testverfahren.....	97
5.3.2. Stärken und Schwächen der Aussagekraft der Standardkombination .....	98
5.3.3. Stärken und Schwächen der Aussagekraft der IgM-Tests .....	100
5.3.4. Bewertung der Aussagekraft der Testverfahren bzgl. der Fragestellungen ....	102
5.3.4.1. Fragestellung der Neuinfektion .....	103
5.3.4.2. Fragestellung der Reinfektion/ Rückfall .....	105
5.3.4.3. Fragestellung der Heilung .....	107
<b>5.4. Konklusion und Empfehlungen</b> .....	110
<b>6. Zusammenfassung</b> .....	113
<b>7. Verzeichnis der Abkürzungen, Abbildungen und Tabellen</b> .....	115
<b>8. Literaturverzeichnis</b> .....	117
<b>9. Lebenslauf</b> .....	129
<b>10. Danksagung</b> .....	130

# 1. Einleitung

Syphilis bleibt in vielen Ländern eine Bedrohung für die Gesundheit. Trotz der Verfügbarkeit einer erfolgreicheren medikamentösen Therapie gab es 1997 in den USA einen epidemiologischen Ausbruch, und auch im Jahr 2002 stieg dort die Anzahl der infizierten Fälle leicht an<sup>2</sup>. In Russland und anderen Transformationsländern der ehemaligen Sowjetunion bleibt die Inzidenz verhältnismäßig hoch<sup>80,113</sup>. Ähnlich verhält es sich in Europa. In den sogenannten Entwicklungsländern beeinträchtigt Syphilis neben anderen sexuell übertragbaren Krankheiten das Leben und die Produktivität jedes Einzelnen erheblich. Entzündliche und insbesondere ulzeröse Geschlechtskrankheiten wie Syphilis führen zu einem erhöhten Risiko der HIV-Übertragung<sup>69</sup>. Dies ist ein wichtiger Grund, präventive und therapeutische Anstrengungen bei der Bekämpfung von Syphilis zu verstärken. Neben den wichtigen Public Health Maßnahmen, wie z.B. medizinisch-hygienische Aufklärungsprogramme für Prostituierte, sind wissenschaftliche Untersuchungen nötig, die Fragen zu Manifestation, Serologie und Therapie bei einer zeitgleichen Infektion mit Syphilis und HIV klären. Afrikanische Staaten als am stärksten betroffene Länder bezüglich beider Infektionskrankheiten bieten sich zur Durchführung von Studien besonders an.

## 1.1. Hintergrund der Studie

Die Republik Tansania in Ostafrika gliedert sich in 25 Regionen auf. Die Region Mbeya ist davon mit einer Fläche von 64350 km<sup>2</sup> die siebtgrößte. Mit einer Bevölkerungsdichte, die in der unteren Mitte (24,5 Ew./km<sup>2</sup>) liegt und insgesamt bei 2,3 Millionen angenommen wird, gehört sie zu den wenig dicht besiedelten ländlichen Gebieten des Staates. Ausnahmen sind die Hauptstadt Mbeya mit ca. 350 000 Einwohnern und die Siedlungen, die am Rande des „Transafrican Highway“ liegen. Diese zwischen den beiden Weltkriegen ausgebaute Überlandstrasse verbindet Tansania mit Uganda und Kenia im Norden, sowie mit Malawi, Sambia und schließlich Südafrika im Süden. Sie gehört damit zu den wichtigsten Handelsverbindungen in Afrika. An ihren dicht besiedelten Rändern haben sich die Bewohner neben der sonst üblichen landwirtschaftlichen Selbstversorgung kleine Dienstleistungsbetriebe und andere handeltreibende Gewerbe eingerichtet.

In Tansania schätzt das „National AIDS Control Programme“ (NACP) die Anzahl der neuen HIV-Fälle (inklusive einer angenommenen Dunkelziffer) im Jahr 2000 auf 60000. Mbeya gehört mit 3264 kumulativ gemeldeten HIV/AIDS Fällen zu den am stärksten betroffenen Gebieten<sup>197</sup>. In dieser Region findet seit 1989 ein vom NACP, von der „Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit“ (GTZ) aus Deutschland und von der Abteilung für Tropenmedizin der Ludwig-Maximilian-Universität München konzipiertes Programm zur Erhebung, Prävention und Versorgung von HIV-Infektionen statt. Seit 1989 verstärkt dieses „Mbeya Regional AIDS Control Programme“ (MRACP) seine Bemühungen um die Prävention und Behandlung sexuell übertragbarer Infektionen (STIs) mit Schwerpunkt auf Syphilis.

Im September 2000 implementierte die Ludwig-Maximilian-Universität München mit finanzieller Unterstützung der Europäischen Kommission in der Region Mbeya ein Forschungsprojekt mit dem Namen HISIS („HIV SuperInfection Studies“) über die immunologischen, virologischen und soziokulturellen Faktoren der HIV-Superinfektion, also der Infektion mit verschiedenen Subtypen des HI-Virus. Das angestrebte Ziel ist zunächst, einen Beitrag für die Kriterien zur Auswahl von geeigneten HIV-Impfkandidaten zu erarbeiten. Zu diesem Zweck wurde eine offene Kohorte von 600 in Bars beschäftigten Frauen, die in 14 Gemeinden meist entlang des oben erwähnten Highways leben, rekrutiert, die für 2,5 Jahre in dreimonatigen Abständen auf HIV-Infektion und Superinfektion untersucht wurden.

Als eine der sieben Partner der „HISIS Study Group“ ist die „London School of Hygiene and Tropical Medicine“ (LSHTM) eingebunden. [Weitere Partner in Kollaboration mit der Europäischen Gemeinschaft sind die Ludwig-Maximilian-Universität München, das Mbeya Referral Hospital mit dem Mbeya Regional AIDS Programm und das Muhimbili College der Gesundheitswissenschaften an der Universität von Dar es Salaam, beide in Tansania, die Henry M. Jackson Foundation, Rockville, USA, die London School of Hygiene and Tropical Medicine, London, U.K., die University of Cape Town, Südafrika, das National Public Health Institute, Helsinki, Finnland]. Ihr obliegt die Durchführung der Diagnostik und klinischen Untersuchung zur Erhebung der sexuell übertragbaren Krankheiten in der Kohorte.

Die Erforschung, Prävention und Nachsorge im Zusammenhang mit den HISIS und STI Aktivitäten wurde als „Barworkers Health Project“ (BHP) betitelt und als solches in der Region eingeführt. Die ausführenden Organe sind das lokale HISIS- und STI-Studententeam, das Regional Medical Office (RMO) in Mbeya, das Mbeya Referral Consultant Hospital (Bezirkskrankenhaus für die südliche Region Tansanias), das Muhimbili College der

Gesundheitswissenschaften an der Universität von Dar es Salaam und die Abteilung für Infektions- und Tropenmedizin der Ludwig-Maximilian-Universität München.

Ein Schwerpunkt der Studie ist die Erhebung von soziodemographischen/ -kulturellen und sexuellen Daten. Zweiter Schwerpunkt ist die Erhebung der Inzidenz und Prävalenz von Geschlechtskrankheiten (*Herpes simplex 2*, *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans*, *Neisseria gonorrhoea*, *Chlamydia trachomatis*), um das Ausmaß der Infektion mit STIs in Relation zu dem der HIV-Infektion setzen zu können. Dabei wird innerhalb der Gruppe der STIs besonderes Augenmerk auf die Syphilis gerichtet. Die derzeitige Standardbehandlung von 2,4 MIU Benzathin Penizillin wird mit einer oralen Einmaldosis von 2g Azithromycin verglichen. Ein weiteres Studienziel ist es, festzustellen, ob Frauen, die schon gegen Syphilis behandelt wurden, sich erneut (re-)infizieren. Ebenso wird die Rate der Neuinfektionen, Reinfektionen, Rückfälle und Behandlungsversagern festgestellt. Die vorliegende Arbeit ist in diese Studie eingebettet

## **1.2. Epidemiologie**

Sexuell übertragene Krankheiten (Sexually transmitted diseases/ infections = STD/Is) bilden die zahlenmäßig stärkste Gruppe innerhalb der Infektionskrankheiten<sup>69</sup>. Vor allem Menschen zwischen 15 und 50 Jahren sind betroffen. Primär sind der Genital- und Reproduktionstrakt infiziert. STIs werden vorwiegend durch Geschlechtsverkehr übertragen, aber auch andere sexuelle Kontakte oder die vertikale Infektion von Mutter zu Kind sind möglich. STDs verlaufen chronisch mit langen klinisch inapparenten Phasen und mit Folgeschäden, unter denen Frauen mehr zu leiden haben als Männer. Komplikationen sind vor allem die PID (pelvic inflammatory disease = PID), ektopische Schwangerschaften, weibliche und männliche Infertilität, Aborte, Früh- und Totgeburten, neonatale Konjunktivitis und kongenitale Syphilis sowie eine allgemein erhöhte neonatale und kindliche Infektions- und Todesrate<sup>44,219</sup>. Damit stehen bei Frauen im reproduktiven Alter diese Krankheiten (ausgeschlossen HIV) an zweiter Stelle, was die Ursache für den Verlust an Lebensjahren angeht<sup>44</sup>. Syphilis bleibt damit eine der Hauptursachen für den Verlust der Leibesfrucht und einen ungünstigen Ausgang der Schwangerschaft<sup>219</sup>. Die Auswirkungen von STIs (exklusive HIV) mit einem Anteil von 8-9% aller Krankheiten bei Frauen zwischen 15 und 45<sup>69</sup> auf die



Gesundheit und die Gesellschaft stellen damit die Welt, vor allem die Entwicklungsländer vor eine medizinische und soziale Herausforderung.

Über 20 verschiedene Erreger sind bekannt und werden in bakterielle und virale Agenzien, Protozoen, Pilze und Ektoparasiten unterteilt. Entzündliche und ulzeröse Infektionen sind auch ein Grund für den rapiden Anstieg von HIV<sup>64</sup>. Die weltweite Inzidenz der häufigeren bakteriellen und viralen STDs wird auf 125 Millionen Fälle jährlich geschätzt<sup>44</sup>, die World Health Organisation (WHO) ging nach einer erneuten Analyse sogar von 333 Millionen Infektionen im Jahr 1995 aus<sup>69</sup>.

Syphilis ist unter diesen eine der ältesten und bekanntesten Geschlechtskrankheiten. Die schwerwiegenden Folgen bei Nichtbehandlung, die plazentare Transmission auf Neugeborene mit nachfolgender konnataler Syphilis, die Wechselwirkung mit HIV sowie die gute antibiotische Empfänglichkeit des Erregers stellen sie in den Mittelpunkt medizinischen und gesellschaftlichen Interesses. Öffentliche Gesundheitsmaßnahmen (Public Health Maßnahmen) versuchen durch syndromisches Management, die Krankheit in den Entwicklungsländern besser zu kontrollieren.

### 1.2.1. In Europa

In Deutschland spielt die Krankheit mit einem Rückgang von 85/ 100 000 Infektionen im Jahr 1950 auf 1,4 Infektionen pro 100 000 Einwohner im Jahr 1990 eine untergeordnete Rolle<sup>86,187</sup>. In den Jahren 1982-92 findet sich eine extrem hohe Seroprävalenz zwischen 26 und 58% für Syphilis unter den HIV-Infizierten. Zwischen 1995 bis 2000 liegt die Zahl der jährlichen Syphilismeldungen konstant bei 1120 - 1150 pro Jahr<sup>174</sup>. Seit Inkrafttreten der anonymen Labormeldepflicht Anfang 2001 sind im Jahr 2001 und im ersten Halbjahr 2002 insgesamt 2783 Meldungen eingegangen. Ob dieser Anstieg durch die Änderung des Meldeverfahrens oder durch eine tatsächliche Zunahme der Fälle bedingt ist, ist schwierig einzuschätzen. Ähnlich wie in anderen europäischen Ländern spielt vor allem die Zunahme der Syphilisinfektionen bei homosexuellen Männern in Ballungsräumen eine große Rolle<sup>156,174</sup>. In Großbritannien fielen die Raten infektiöser Syphilis in den frühen 1980er Jahren und blieben bis 1998 stabil (0,3 Fälle/100 000 in 1998)<sup>119</sup>. Seitdem ist ein Wiederanstieg in der Inzidenz bakterieller (v.a. Syphilis und Gonorrhö) und viraler STIs zu beobachten, was auf eine reduziertes Bewusstsein für ihre Gefährlichkeit vor allem unter homosexuellen Männern und eine Vernachlässigung in den Gesundheitskampagnen zurückgeführt wird<sup>156</sup>.

Die Ansteckung mit Syphilis und anderen sexuell übertragbaren Krankheit ereignet sich zu einem großen Teil auf Kontakten während Auslandsreisen. 5% der Europäer haben gelegentlichen Sex im Ausland, davon praktiziert die Hälfte den Geschlechtsverkehr ohne Kondom, ungeachtet der Tatsache, dass circa 50% der Prostituierten mit HIV, Gonorrhö oder Syphilis und anderen STIs infiziert sind<sup>194</sup>. Fast 90% der Syphilisinfizierten stecken sich außerhalb des Landes und auf Reisen an, wovon wiederum ein Drittel der Fälle auf Intimkontakten in osteuropäischen Ländern und Russland basieren soll<sup>67</sup>. In Russland stieg die Zahl der Neuinfektionen 1996 auf 263 pro 100 000 an, was einen 62fachen Anstieg seit 1988<sup>204</sup> bedeutet. Davon beeinflusst wurden auch die Neuen Unabhängigen Staaten (Newly Independent States – NIS) wie Slowenien, in dem 1994 ein 18facher Anstieg von früher Syphilis verzeichnet wurde<sup>80</sup>. Diese Inzidenzraten blieben über einen Zeitraum von fünf Jahren erhöht. Besonders betroffen war die Gruppe der Fernlastwagenfahrer. Die neuen Zahlen sinken, so dass der Ausbruch vorübergehend gewesen zu sein scheint<sup>113</sup>.

### 1.2.2. In Afrika

Quellen über Inzidenz und Prävalenz in Entwicklungsländern beruhen auf Fallberichten und epidemiologischen Studien. Bei den STDs ergibt sich jedoch das Problem, dass die Symptome unspezifisch sind und keinen Rückschluss auf eine bestimmte Ursache bzw. den Erreger zulassen. So zum Beispiel vaginaler Ausfluss: Er kann Folge sein einer Infektion mit *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans*, *Neisseria gonorrhoea*, *Chlamydia trachomatis* oder auch bei Bakterieller Vaginose auftreten. Erschwerend kommt der stigmatisierende Faktor dieser Erkrankungen hinzu, der Betroffene davon abhält, professionelle Hilfe aufzusuchen. Insgesamt kann gesagt werden, dass das Erhebungssystem tendenziell die Anzahl neuer Fälle unterschätzt<sup>69</sup>. Bei einem Versuch, den wahren Zahlen durch eine Überarbeitung veröffentlichter und unveröffentlichter Daten so nah wie möglich zu kommen, schätzt die WHO die Anzahl der neuen Fälle von Syphilis im Jahr 1995 weltweit auf 12,5 Millionen – 19,7% fallen auf das südlich der Sahara gelegene Afrika. Diese 3,5 Millionen teilen sich fast gleich auf das männliche (1,56) und weibliche Geschlecht (1,97) auf<sup>69</sup>. Syphilis bleibt in Afrika vor allem im südlichen und östlichen Teil des Kontinents ein Gesundheitsproblem, während niedrigere Prävalenzen im Westen und Norden gefunden werden<sup>191</sup>. Obwohl genaue Zahlen nicht für alle afrikanischen Länder verfügbar sind, zeigen verschiedene Studien aus Ländern in Zentral-, Ost- und Südafrika eine hohe Prävalenz, die von 0,9 bis 94% reicht<sup>190</sup> je nach untersuchter Population und Ort. Variationen können durch unterschiedliche soziale, kulturelle und ökonomische Faktoren bedingt sein. Zu beachten ist

aber auch, dass sich diese Studien hinsichtlich Design, Population und Größe zum Teil sehr unterscheiden und nicht immer vergleichbar sind. Teilweise untersuchen sie Hochrisikopopulationen wie Prostituierte, teilweise Niedrigrisiko- bzw. Normalpopulationen (wie Polizeibeamte, Schwangere, die pränatale Kliniken besuchen oder Industriearbeiter).

Die Region südlich der Sahara ist auch die am stärksten von HIV betroffene Region weltweit. Die Verbreitung des Virus, dessen Hauptübertragungsweg der Geschlechtsverkehr zwischen heterosexuellen Erwachsenen ist<sup>207</sup>, wird von einer Vielzahl von sozialen, ökonomischen, kulturellen und biologischen Faktoren beeinflusst. Mobilität und Urbanität sind zwei Kriterien, die ein erhöhtes Risiko für eine HIV-Infektion in Afrikas Bevölkerung bewirken<sup>18</sup>. Weitere Einflussfaktoren sind fehlender Zugang zu angemessener Behandlung und/oder Aufklärung sowie eine soziale Stigmatisierung<sup>69</sup>. Mit Syphilis assoziierte Faktoren sind andere STDs, fehlende Beschneidung bei Männern und der Bildungsstand<sup>190</sup>. Weiterhin wird die Prävalenz beeinflusst durch: Unadäquate sexuelle Gesundheitsaufklärung, Beschneidung bei Frauen oder andere Manipulationen, welche die Anzahl der Infektionen im Reproduktionstrakt erhöhen, Scheidung von unfruchtbaren Frauen, traditionelle Bräuche und mangelnde sexuelle Aufklärung, unter Unverheirateten und Jugendlichen ist das Risiko ebenfalls erhöht<sup>118,217</sup>.

Risikofaktor bei beiden Geschlechtern ist das Alter – bei Männern fand sich die Spitze in der Gruppe der über 34jährigen, bei den Frauen lag der Gipfel in einem Alter zwischen 19 und 24 Jahren. Bei unbeschnittenen Männern und bei Kohabitation mit multiplen Geschlechtspartnern fand sich eine höhere Prävalenz. Ebenso sind ein niedriges Bildungsniveau, ein niedriges Selbstwertgefühl und die Beschäftigung als Farmer mit einer höheren Inzidenz assoziiert. Eine höhere Prävalenz wurde bei denen gefunden, die erst kürzlich geschieden, getrennt oder verwitwet waren. Am höchsten lag sie in Siedlungen, die in der Nähe von Strassen lagen und am niedrigsten bei Populationen auf Inseln. Bei Frauen war die Prävalenz assoziiert mit geringer Bildung, früh stattgefundenem erstem Geschlechtsverkehr und geringer Selbstwahrnehmung (nach<sup>81,118,155,205</sup>).

Dass die Inzidenz bei Frauen geringer ist, die Prävalenz aber höher, weist auf eine längere Dauer der Krankheit hin, die - da sie sich bei Frauen im Inneren des Genitaltraktes abspielt - oft unbemerkt abläuft und daher nicht behandelt wird<sup>134</sup>.

Bevölkerungsgruppen, die als Hoch-Risiko-Populationen für HIV-Infektionen und STIs in der südlichen Subsahara gelten, sind vor allem sogenannte „female sex workers“<sup>37,140,208</sup>. Darunter fallen Prostituierte, aber auch Beschäftigte in Bars und Hotels. Weitere Kerngruppen

sind Fern- und Lastwagenfahrer<sup>172</sup>, fern von zuhause Arbeitende und Heranwachsende<sup>162</sup>. Die HIV-Prävalenz in diesen Gruppen ist um ein bis zu siebenfaches höher als in der normalen Bevölkerung. Dass Frauen eine Risikogruppe bilden und hier besonders die Prostituierten betroffen sind<sup>41,65,211</sup>, zeigt sich unter anderem in folgenden Studien:

In einer Kohorte von Prostituierten in Nairobi fanden sich genitale Ulzerationen bei 2,8-11,8%, aktive Syphilis bei 14-52%<sup>116</sup>. Ebenfalls in Kenia in einer ähnlichen Kohorte wurde aktive Syphilis bei 18,2% der sich sexuell anbietenden Frauen diagnostiziert<sup>110</sup>. Noch höher war die Anzahl von Betroffenen in einer Studienpopulation von 1281 weiblichen Prostituierten in Abidjan an der Elfenbeinküste: 25% waren mit Syphilis infiziert<sup>72</sup>. Ebenso hoch war die Prävalenz einer Kohorte von Prostituierten auf Madagaskar: 18,4% hatten einen positiven RPR Test<sup>229</sup>.

Daher sind solche Hochrisikopopulationen Zielgruppen für die Bemühungen zur Kontrolle, Epidemiologie und Prävention von STIs<sup>168</sup>. Interventionsstudien, die sexuelle Verhaltensänderungen und frühe Diagnose und Therapie der STIs zum Ziel haben und in denen die Übertragungsrate von STIs gesenkt werden, sind daher effektiv in der Reduktion der Verbreitung von STIs<sup>117,193</sup>.

Stehen Hochrisikogruppen meist am Beginn einer nationalen Epidemie, so folgt die Durchseuchung der generellen Population: In Harare, Zimbabwe wird 1999 eine Seroprävalenz der Syphilis von 2,3% bei Fabrikarbeitern aufgezeichnet<sup>83</sup>. Im Murewa Distrikt desselben Landes finden sich bei 9,2% der Frauen, die sich einer Schwangerschaftsvorsorge unterziehen, aktive Syphilis und eine Rate von 8% für gebärende Frauen<sup>107</sup>. Über 4 Jahre wurde in Burkina Faso eine annähernd gleiche Seroprävalenz der Syphilis von 0,24% bei Frauen, die pränatale Kliniken in Burkina Faso besuchten, dokumentiert<sup>191</sup>. Im kriegsgebeutelten Mozambique finden sich Syphilisprävalenzraten von 18%<sup>126</sup>. In Malawi konnte bei Männern, die mit Beschwerden eine STD-Klinik aufsuchen, bei 10,7% aktive Syphilis festgestellt werden<sup>131</sup>. Die Ergebnisse einer langjährig begleiteten Dorfpopulation im Ostsenegal offenbarten bei 11% eine vergangene Infektion mit Syphilis und bei 5% aktive Syphilis<sup>118</sup>.

Das ostafrikanische Tansania leidet ebenfalls besonders stark unter STIs und HIV: Die Daten einer ländlichen Population in der Mwanza Region Tansanias belegen eine Syphilisprävalenz von 7,5% bei Männern und von 9,1% bei Frauen<sup>205</sup>. Etwas höher (15%) ist die Rate bei einer Vergleichspopulation im Nordwesten Tansanias<sup>142</sup>. Mit dem Ziel, die Seroprävalenz von

Treponematosen bei Kindern zwischen 0-14 Jahren einer allgemeinen Population eines tansanischen Dorfes festzustellen, fand sich bei 6,4% der Mädchen und 1,1% der Jungen ein positiver Screeningtest<sup>14</sup>. Dabei war der geschlechtsspezifische Unterschied am stärksten im Alter zwischen 10-14 Jahren ausgeprägt, hier waren 11,1% der Mädchen gegenüber nur 1,0% der Jungen infiziert. Aufgrund u.a. fehlender serologischer Übereinstimmung mit den Eltern gehen die Autoren von sexuellem Missbrauch der weiblichen Heranwachsenden aus. In einer Kohorte von Polizeioffizieren in der Hauptstadt Tansanias Dar es Salaam wird eine Rate von 3,1% (Männer) und 8,6% (Frauen) beobachtet<sup>14</sup>, wohingegen bei einer Gruppe HIV-positiver Frauen bei 5,9% aktive Syphilis im Rahmen der Schwangerschaftsvorsorge diagnostiziert wurde<sup>209</sup>. Laut Surveillance Report des Nationalen AIDS Kontroll-Programms bewegt sich die Syphilisprävalenz bei schwangeren Frauen zwischen 0 und 44,5% im Jahr 2000 abhängig von den jeweiligen Regionen. In der Regionalhauptstadt Mbeya findet sich eine Rate von 5,5% in der urbanen Zone und 6,1% in den ländlichen Gebieten. Insgesamt nimmt die Syphilisprävalenz in Tansania tendenziell ab, was auf die erfolgreiche Implementierung von Kontrollprogrammen zurückgeführt wird<sup>148</sup>. Zur erleichterten Durchführung dieser Programme wird die Diagnose und Behandlung der STIs nicht nur im Rahmen einer kausalen Ursachensuche mit den pathogenen Erregern angegangen, sondern es werden symptomgleiche Gruppen zusammengestellt. Dieses sogenannte „Syndromische Management“ unterscheidet vornehmlich zwischen „Genital Discharge Syndrom (GDS)“, „Genital Ulcer Disease (GUS)“ und „Pelvic Inflammatory Disease (PID)“ (siehe 1.6.4.).

### 1.2.3. STI- HIV-Wechselwirkungen

Die Wahrscheinlichkeit, dass beim Geschlechtsverkehr der HI-Virus übertragen wird, hängt von der Infektiosität des HIV-Trägers einerseits und der Empfänglichkeit des Partners andererseits ab<sup>21,214</sup>. Die Infektiosität hängt von der Viruslast im inokulierten Material wie der Samen- oder zervikovaginalen Flüssigkeit ab und korreliert mit der Viruslast im Plasma<sup>30</sup>.

Koinfektionen mit anderen STIs und deren akuter Erscheinungsform sowie jedwede Entzündung der genitalen Schleimhaut, wodurch deren Schutzbarriere durchbrochen wird, verstärken die Ansteckungswahrscheinlichkeit durch erhöhte HIV-Absonderung („HIV-shedding“)<sup>73,77,145</sup>.

Der verstärkende Effekt, den sexuell übertragene Krankheiten (STDs) allgemein und ulzeröse Geschlechtskrankheiten im Besonderen auf die Übertragung von HIV haben, ist inzwischen aufgrund biologischer und epidemiologischer Forschung weithin anerkannt<sup>34,64</sup>. Klassische

STDs erleichtern die Übertragung von HIV, indem sie entweder die Infektiösität des Betroffenen oder die Empfänglichkeit des Geschlechtspartners durch die nicht mehr intakte Schleimhautbarriere erhöhen<sup>35</sup>. Oft handelt es sich um eine Kombination aus beidem.

Ein Synergismus zwischen ulzerösen Geschlechtskrankheiten wie Syphilis und HIV entsteht vermutlich durch

- a) syphilitische Schleimhautläsionen, die den Zugang für HI-Viren in das Blut erleichtern,
- b) eine Anhäufung von Zielzellen für die HI-Viren durch die lokale Entzündung
- c) eine erhöhte Übertragungs- und Ansteckungsrate durch die Ausscheidung von HI-Viren.

Studien zeigen, dass ulzeröse und nicht-ulzeröse Geschlechtskrankheiten in Populationen mit hoher HIV-Prävalenz vermehrt vorkommen<sup>72</sup>. Ulzeröse STIs haben wohl einen größeren Einfluss auf die HIV-Übertragung<sup>64,144</sup>. Sie können durch verstärktes „Shedding“, d.h. das Absondern von HI-Viren in Sekreten wie Samen oder zervikovaginaler Flüssigkeit die Infektiösität der Betroffenen und damit die Übertragungsrate verstärken<sup>33,47,115,200</sup>. Durch den Zusammenbruch der intakten Schleimhautbarriere bei einem genitalen Ulkus mag der begleitende entzündliche Prozess mit seinem Exsudat den HI- Viren einen erleichterten Zugangs- und Übertragungsweg liefern<sup>115</sup>. Vermehrt HIV-DNA fand sich bei Patienten mit Gonorrhö, Chlamydien oder zervikovaginalen Ulzera und zervikalem Mukopus<sup>73</sup>. Den spezifischen Effekt einer einzelnen Infektion im Komplex der Geschlechtskrankheiten herauszufiltern, ist nicht leicht, da die Entstehungsvorgänge bei gleichem Übertragungsweg und ähnlichen Risikofaktoren sehr ähnlich sind<sup>206</sup>. Oft herrschen multiple Infektionen vor.

In Interventionsstudien hauptsächlich in Afrika zeigte sich, dass eine verstärkte Therapie von STIs durch Syndromisches Management nicht nur einen positiven Effekt auf die Prävalenz dieser Krankheiten hatte, sondern auch auf die der HIV-Inzidenz<sup>72,81,106,136</sup>. Diese Beobachtung eröffnet neue Dimensionen in der Prävention und Reduktion von HIV-Infektionen durch verbesserte Kontrolle und Behandlung von ulzerösen Geschlechtskrankheiten. Allerdings konnte bei einer Massenbehandlung von STIs in Uganda dieser Erfolg nicht beobachtet werden<sup>221</sup>. Diese unterschiedlichen Ergebnisse lassen annehmen, dass die Kontrolle von STIs abhängig vom Stadium der HIV-Epidemie, dem Verhältnis von bakteriellen (besser therapierbaren) zu viralen (schlechter therapierbaren) STIs in einer Population und von der Art der Intervention ist<sup>81</sup>. Diese Erkenntnisse werden zunehmend in Präventions- und Kontrollprogramme einbezogen. Nach dem Report des Nationalen AIDS Kontroll-Programms in Tansania ging die Rate an Syphilis und anderen

sexuell übertragbaren Krankheiten durch die konsequente Einführung des Syndromischen Managements zurück. In Folge davon verringerte sich auch die HIV-Inzidenz. Zum Teil erklären diese Wechselwirkungen die unterschiedliche Prävalenz der HIV-Infektion in den verschiedenen Ländern und Regionen Afrikas, sie sind aber in ihrer Komplexität nicht leicht einzuschätzen. Andere Risikofaktoren so z.B. Ulkustyp und Geschlecht spielen ebenfalls eine Rolle<sup>34,47,64</sup>.

Isolierte Herangehensweisen an die HIV-Infektion ohne Beachtung der STIs und umgekehrt sind damit keine Option für eine syndromisch-therapeutische oder präventiv-kontrollierende Herangehensweise in afrikanischen und anderen sogenannten unterentwickelten Ländern<sup>93</sup>.

### **1.3. Eigenschaften von *T. pallidum***

Die Erstbeschreibung von Spirochäten in „syphilitischen Krankheitsprodukten“ durch Schaudinn und Hoffmann brachte eine erste Annäherung an den bis dato unbekanntem Erreger<sup>185</sup>. Doch es dauerte einige Zeit bis sich der Name „*Treponema pallidum*“ für das Bakterium eingebürgert hatte<sup>171</sup>. „*Treponema*“, weil es im Dunkelfeldmikroskop wie ein schraubenförmiges Gewinde aussieht und „*pallidum*“ wegen seiner bleichen Farbe.

#### 1.3.1. Mikro- und Molekularbiologie

*T. pallidum* gehört zur Klasse der Spirochaetales, Familie Spirochaetaceae mit der Gattung *Treponema*, Subspezies *pallidum*. Seine Größe variiert von 6 bis 20µm in der Länge und von 0,10 bis 0,18µm im Durchmesser, die es im Lichtmikroskop nicht sichtbar werden lässt. Die äußere Membran besteht hauptsächlich aus einer Biphospholipidschicht, die nur wenig integrale Membranproteine trägt<sup>31,38</sup>. Dieser Umstand scheint eine Rolle bei der Persistenz des Bakteriums trotz kompetenter Immunantwort und der Entwicklung kreuzreagierender nichtspezifischer Kardiolipin-AK zu spielen<sup>206</sup>. Der mikroaerophile Erreger *T. pallidum* kann nicht *in vitro* angezüchtet werden, nur mit der Dunkelfeldmikroskopie ist eine Lebendbeobachtung möglich. Der Mensch ist sein einzig natürlicher Wirt. Damit zählt er zu der Gruppe der obligaten Parasiten<sup>159</sup>.

Kürzlich hat eine Arbeitsgruppe<sup>160</sup> das gesamte Genom sequenzieren können: Es handelt sich um ein zirkuläres Chromosom von 1138006 bp und enthält 1041 ORFs (open reading frames). Es stellte sich heraus, dass *T. pallidum* nur begrenzte biosynthetische Fähigkeiten besitzt. Der

Organismus kann keine Enzymkofaktoren, keine Fettsäuren und keine Nukleotide de novo synthetisieren. Zu seiner Energiegewinnung ist die Umwandlung von Phosphoenolpyruvat/Pyruvat zu Aspartat nötig. Das Bakterium braucht daher viele Nährstoffe von seinem Wirt. Mit einer kleinen Anzahl von integralen Proteinen (22) schützt es sich vor der Immunantwort. Die Virulenzproteine hingegen werden von einer Vielzahl duplizierter Gene flankiert und versteckt, die für putative Membranproteine kodieren und als Porine oder Adhäsine fungieren können.

Eine Vielzahl von treponemalen Antigenen konnte aufgrund von Immunoblotting, Radioimmunpräzipitation und Immunelektrophorese definiert werden. Wichtige Proteine der äußeren Membran, Tmp (treponemal membrane proteins) genannt, werden anhand ihres Molekulargewichtes definiert: 47 kDa, 44,5 kDa (Tmp A), 34 kDa (Tmp C), 28-34 kDa (Tmp D) und 15,5 kDa<sup>196</sup>. Diese werden zur serologischen Diagnostik mit neuen Testverfahren benutzt.

Beim Vergleich des Genoms des Syphiliserregers mit dem eines anderen Angehörigen der Spirochäten, nämlich *Borrelia Burgdorferi*, stellte sich heraus, dass 46% der Treponemen-ORFs Orthologien in *B. Burgdorferi* haben. Die Hälfte der 115 gemeinsamen ORFs scheint einzigartig für die Spirochäten zu sein. Die nicht-pathogenen Subspezies und die anderen Spirochäten (z.B. *Borrelia Burgdorferi*) erschweren durch Kreuzreaktionen die korrekte serologische Diagnosestellung<sup>149</sup>.

### 1.3.2. Immunologie

Obwohl die Sequenzierung des Genoms von *T. pallidum* die Wissenschaft einen großen Schritt nach vorne machen ließ, sind die komplexen immunologischen Interaktionen des Bakteriums mit seinem Wirt noch nicht endgültig geklärt. Folgendes wird diskutiert:

Der Aufbau von *T. pallidum* mit seiner Biphasenlipidschicht weist darauf hin, dass die hauptsächlichsten Immunogene der Membran Proteolipide unter der Oberfläche sind<sup>31,38</sup>. Diese Tatsache und die langsame Teilungszeit von 30-33h führen dazu, dass die Immunantwort des frisch Infizierten verzögert wird, da die Hauptimmunogene nicht zugänglich sind, solange die Spirochäten intakt sind<sup>206</sup>. Beim akuten Befall des menschlichen Organismus mit Treponemen zerlegen Makrophagen und andere antigen-präsentierende Zellen die treponemalen Antigene und präsentieren sie den T-Helfer-Zellen, welche wiederum Lymphokine wie Interleukin-2 sezernieren, um die T-zellvermittelte Immunantwort hervorzurufen. Nichtspezifische Mechanismen wie Opsonierung und Ingestion von



Makrophagen führen zu einer raschen und fast vollständigen Eliminierung der Erreger an der Inokulationsstelle.

Wie schaffen es trotzdem einige Bakterien dieser Immunreaktion zu entkommen und Syphilis zu einer chronisch-systemischen Krankheit werden zu lassen?

Die erfolgte Immunantwort selbst bleibt unvollständig, da die zelluläre Th1-Antwort zugunsten der uneffektiveren humoralen Th2-Antwort downreguliert wird<sup>55</sup>. Dies soll durch die verstärkte Ausschüttung von Prostaglandin E2 von Seiten der Makrophagen erfolgen. PGE2 inhibiert auch die von den T-Helferzellen induzierte Synthese von  $\gamma$ -Interferon. *T. pallidum* selbst stimuliert die PGE2-Produktion der Makrophagen. Die aufgrund dieser Mechanismen zu früh gestoppte effiziente Th1-Antwort lässt einige Treponemen im akuten Stadium der Immunantwort entkommen. Diese können sich dann im Organismus weitervermehren und zum chronischen Stadium führen. Diese Theorie findet Unterstützung, beobachtet man zusätzlich mit HIV infizierte Patienten, bei denen eine kräftige Antikörperreaktion erhalten ist, aber die charakteristischerweise gestörte zelluläre Abwehr zu besonders malignen Verläufen von Syphilis führen kann<sup>182</sup>. Der genaue Mechanismus, mit dem *T. pallidum* in die Zellen eindringt, ist nicht bekannt, doch konnte eine Anheftung an Säugetier-Zellen in vitro gezeigt werden<sup>54</sup>. Diese Anheftung erfolgt eventuell durch bestimmte Liganden<sup>16</sup> und die daraufhin mögliche Invasion ist ein wesentlicher Virulenzfaktor des Bakteriums.

Die Immunantwort erfolgt durch das zelluläre und humorale Abwehrsystem. Etwa vier Tage nach Ansteckung werden spezifische IgM-Antikörper synthetisiert, die etwa 10 – 12 Tage post infectionem mit verschiedenen Essays nachgewiesen werden können, die IgG-AK hingegen erst später<sup>146</sup>. IgG-Antikörper folgen aber schnell und dominieren dann<sup>98</sup>. Die Produktion der IgG-Antikörper hält meist für Jahre an, auch nach eingeleiteter Therapie. Im Sekundärstadium tritt das Phänomen der Prämunität auf, d.h. der Organismus kann nicht erneut infiziert werden, ist aber auch nicht in der Lage, den Erreger zu eliminieren – offenbar besteht ein Zusammenhang mit der Ausbildung der systemischen Immunität. Der Betroffene ist in den ersten zwei Jahren als infektiös anzusehen. Im allgemeinen wird folgende Immunantwort bei entsprechender Therapie beobachtet: bei erfolgreich sanierender Behandlung verschwinden die IgM-Antikörper innerhalb von drei bis zwölf Monaten aus dem Blut und sind serologisch nicht mehr nachweisbar<sup>53</sup>. Ist das Zeitintervall zwischen Infektion und Behandlungsbeginn klein, kann die Infektion narbenfrei ausheilen, d.h. ohne die

Bildung von IgG-Antikörpern. Serologische Reaktionen sind dann alle negativ. Ist das Zeitfenster groß, haben sich viele IgG-Antikörper gebildet, die meist nicht mehr unter die Nachweisgrenze fallen und lebenslänglich nachweisbar bleiben - die sogenannte IgG-Narbe<sup>53</sup>.

### 1.3.3. Pathogenese

Sind die extrem invasiven Bakterien erst einmal in den menschlichen Organismus eingedrungen – Voraussetzung für eine Infektion sind Mikrotraumata der Haut und Schleimhaut an den jeweiligen Eintrittspforten<sup>54,146</sup> –, wandern sie sofort in die Lymphknoten und verteilen sich im restlichen Körper. Sie heften sich schnell an die Zelloberfläche und durchdringen endotheliale Verbindungen und Gewebsschichten. Bei der syphilitischen Infektion erfolgt immer eine disseminierte Spirochotämie<sup>206</sup>. Daher kann letztendlich jedes Organ befallen sein, bevorzugt sammeln sich die Treponemen in Haut, ZNS und Blutgefäßen. Dies könnte auch erklären, dass *T. pallidum* an Orten im Organismus, an denen sich Antibiotika schlecht anreichern können, wie im ZNS oder im Auge, nicht vollständig eliminiert wird und im Organismus persistieren kann<sup>149,159</sup>. Denkbar ist aber auch eine Maskierung seiner Oberfläche durch wirtseigene Proteine oder Glykosaminoglykane oder eine intrazelluläre Lokalisation als Schutz vor der Immunantwort.

Charakteristisch ist die vaskuläre Beteiligung, die oft zu obliterativer Endarteriitis führt. Daraus ableitbar eintretende Folgen durch Organbeteiligungen sind Aortitis, Schlaganfall, Demenz, Tabes dorsalis und lokale Gewebszerstörung durch Gumma. Im Stadium der sekundären Syphilis werden zumindest einige Symptome auf die Bildung von Immunkomplexen und die Folgen davon zurückgeführt<sup>54</sup>. Syphilis ist unbehandelt eine chronisch-systemische, dann letale Krankheit.

## **1.4. Klinischer Verlauf und Manifestation der Syphilis**

Der natürliche Verlauf der Syphilis mit ihrem klinischen Erscheinungsbild wurde seit ihrem Auftreten beobachtet und beschrieben<sup>164</sup>. Die „Osloer Studie“ aus dem 19. Jahrhundert, in der 1978 infizierte Patienten über 20 Jahre lang beobachtet wurden, beinhaltet das breiteste Wissen über den natürlichen Verlauf der Syphilis und wurde 1955 reanalysiert<sup>32</sup>. In der „Tuskegee Study“ des U.S. Public Health Service 1932 wurden unter kritisierten, heute als

unethisch angesehenen Umständen, mit Syphilis infizierte Afroamerikaner über 40 Jahre lang beobachtet, aber nicht behandelt<sup>176</sup>. Beide Studien zeigten, dass infizierte Menschen, die keine wirksame Behandlung erhalten, späte systemische Komplikationen entwickeln. Aus diesen Beobachtungen resultierend, wurde der Krankheitsverlauf in ein inkubierendes, primäres, sekundäres, frühes latentes, spätes latentes und tertiäres Stadium eingeteilt.

Syphilis wird heute aufgrund einer effektiven antibiotischen Therapie nur mehr selten in ihrem natürlichen Verlauf gesehen. Auch eine eventuell zusätzlich vorhandene HIV-Infektion kann den Verlauf beeinflussen. Daher wird die erwähnte Unterteilung nicht mehr als sinnvoll angesehen. Sie wird gerne zugunsten der Bezeichnungen *frühe Syphilis*, die das inkubierende, primäre, sekundäre und frühe latente Stadium einschließt, und *späte Syphilis*, unter die das spät latente und das tertiäre Stadium subsummiert wird, aufgegeben<sup>66,75</sup>. Diese einfache Einteilung hat sich in der Praxis als nützlich erwiesen.

Zur Beschreibung des stadienhaften Krankheitsverlaufes wird anschließend noch einmal auf die klassische Einteilung zurückgegriffen.

#### 1.4.1. Primäres Stadium

Hauptübertragungsweg der Syphilis ist der sexuelle Kontakt, die zweithäufigste Ansteckung erfolgt über die plazentare Transmission von Mutter auf Kind. Die Übertragungswahrscheinlichkeit auf den Partner wird mit 30 - 60% angegeben<sup>95,190,206</sup>. Bluttransfusion, Küssen und unabsichtliche Inokulation auf andere Weise gehören zu den sehr seltenen Übertragungsarten<sup>149</sup>.

Der Zeitraum von der Inokulation der Erreger bis zum Auftreten der ersten Symptome, die Inkubationszeit, wird mit drei bis vier Wochen angegeben<sup>67</sup>, andere räumen dafür eine Zeit von drei bis 90 Tagen ein<sup>190</sup>.

Die klassische syphilitische Läsion ist der harte Schanker – Ulkus durum. Meist an dem Ort der Inokulation selber, tritt er einzeln auf, ist induriert, mit einer sauberen Basis und nicht schmerzhaft. Trifft man auf diese Kombination, beträgt die Spezifität 98%, die Sensitivität allerdings nur 31% für eine Infektion mit Syphilis<sup>46</sup>. Die Größe des Schankers schwankt zwischen 0,3 bis 3 cm. Der Rand ist meist scharf abgegrenzt. Beim Mann sitzt er am häufigsten am Sulcus coronaris des Penis oder seiner Glans. Unter Homosexuellen findet man oft anorektale Schanker. Der weibliche Geschlechtstrakt ist an den Labia majora und minora befallen. Extragenitale Läsionen sind selten und treten dann meist an der Schleimhaut des Mundes auf. Diese sind oft schmerzhaft. Meist ist kein Exsudat oder eine Entzündung zu

sehen<sup>206</sup>. Die variable Morphologie erschwert die klinische Diagnose. Jedes genitale Ulkus gilt als Syphilis bis das Gegenteil bewiesen ist<sup>66</sup>. Der Schanker bildet sich innerhalb drei bis sechs Wochen von selbst zurück – auch ohne Therapie.

Zweites Charakteristikum ist eine regionäre Lymphadenopathie, die in Abhängigkeit der Größe des Ulkus, des Immunstatus des Betroffenen und einer eingeleiteten Therapie mehr oder weniger stark ausgeprägt und mehr oder weniger schmerzhaft ist<sup>86,206</sup>. Sie kann sich auch als Lymphangitis in Form eines tastbar verhärteten Lymphgefäßstrangs äußern.

#### 1.4.2. Sekundäres Stadium

Aufgrund der langsamen Teilungszeit der Bakterien dauert es einige Zeit, bis das Immunsystem auf die Invasion des Erregers reagiert und sich die klinisch sichtbaren Manifestationen des Sekundärstadiums zeigen<sup>206</sup>. Minimum sind zwei Wochen, es werden Zeiträume von bis zu 12 Wochen bzw. sechs Monaten<sup>190</sup> genannt. Gerne wird ein Mittel von 46 Tagen als Richtlinie herangezogen<sup>67</sup>. Der Schanker selbst kann daher auch noch in diesem Stadium vorhanden sein.

Diese Phase ist gekennzeichnet durch die Dissemination der Spirochäten im Körper. Der Betroffene fühlt sich krank mit Allgemeinsymptomen wie Fieber, Gewichtsverlust, oder Arthralgien. In 90% der Fälle ist die Haut betroffen, wobei diese Symptome nur gering ausgeprägt sein können und daher übersehen werden können: die Exantheme werden als (generalisiert) makulös, makulo-papulös, singular papulös oder pustulös beschrieben. Sie sind am ganzen Körper zu finden, wobei sie oft am Körperstamm beginnen. Meistens sind die Handflächen und Fußsohlen miteinbezogen und werden als wichtiges Kriterium zur Differenzierung von anderen exanthematischen Krankheiten herangezogen<sup>99</sup>. Die Ausschläge jucken normalerweise nicht. Kondylomata lata sind der charakteristische Hinweis auf dieses Stadium, hier muss differentialdiagnostisch v.a. an die Kondylomata accuminata der Papillomaviren gedacht werden. Eine generalisierte Lymphadenopathie ist in 70-85% aller Fälle vorhanden und betrifft die subokzipitalen, hinteren zervikalen, aurikalen und die epitrochlearen Lymphknoten<sup>195</sup>. Das ZNS ist in 40% aller Fälle (Kopfweg, Tinnitus, Taubheit oder Vertigo) involviert, was aber nicht bedeutet, dass alle Betroffenen eine Neurosyphilis oder syphilitische Meningitis entwickeln<sup>130</sup>.

Da nahezu jedes Organ befallen sein kann – Schilddrüse, Nebennieren, Lungen, Milz, Pankreas und Muskeln bleiben ausgespart, kann auch jede organische Dysfunktion syphilitischer Ursache sein<sup>206</sup>.

### 1.4.3. Latentes Stadium

Dieses Stadium umfasst den Zeitraum vom Verschwinden der Symptome des Sekundärstadiums bis zur Entwicklung von Zeichen des Tertiärstadiums oder bis zur Feststellung einer therapeutischen Heilung<sup>190</sup>. Diese Periode ist asymptomatisch und nur durch positive serologische Tests nachweisbar. Das latente Stadium wird in frühlatent und spätlatent unterteilt. Leider ist die Einteilung international nicht ganz einheitlich. Die Einteilung bezieht sich auf den Zeitraum, in dem ein spontaner infektiöser Rückfall in das Sekundärstadium erfolgt. Passiert dies innerhalb des ersten Jahres spricht man von Frühlatenz, nach dem ersten Jahr als Spätlatenz<sup>66,75</sup>.

In Deutschland wird das spätlatente Stadium diagnostiziert, wenn keine klinischen Symptome mehr auftreten. Die Infektion wird vom Organismus immunologisch kontrolliert, aber eine Hypersensitivitätsreaktion vom verzögerten Typ (Typ IV) gegen den Erreger ist nachweisbar, die zusammen mit dem humoralen Abwehrsystem als entscheidend für die Unterdrückung der Infektion angesehen wird. Dies bedeutet aber nicht zwingend die Eliminierung; die Gründe für die Persistenz der Treponemen sind noch ungeklärt<sup>87</sup>.

In den USA wird in der Praxis latente Syphilis definiert als „early latent“ (EL) – frühlatent -, wenn es den Beweis gibt, dass die Infektion innerhalb der letzten 12 Monate erworben wurde.

[Dieser kann basieren auf a) einem nichtreaktiven Test oder einem Anstieg um zwei Verdünnungsstufen eines entsprechenden Testes innerhalb der letzten 12 Monate, b) einer Anamnese bezüglich Symptomen primärer oder sekundärer Syphilis ohne Behandlung innerhalb der letzten 12 Monate, c) einer Anamnese bezüglich einer Exposition gegenüber einem Partner mit bestätigter oder vermuteter Syphilis in allen Stadien ohne Behandlung innerhalb der letzten 12 Monate.]

Wenn kein Beweis erbracht werden kann, wird der Fall als „late latent“ (LL) – spätlatent - definiert<sup>70</sup>.

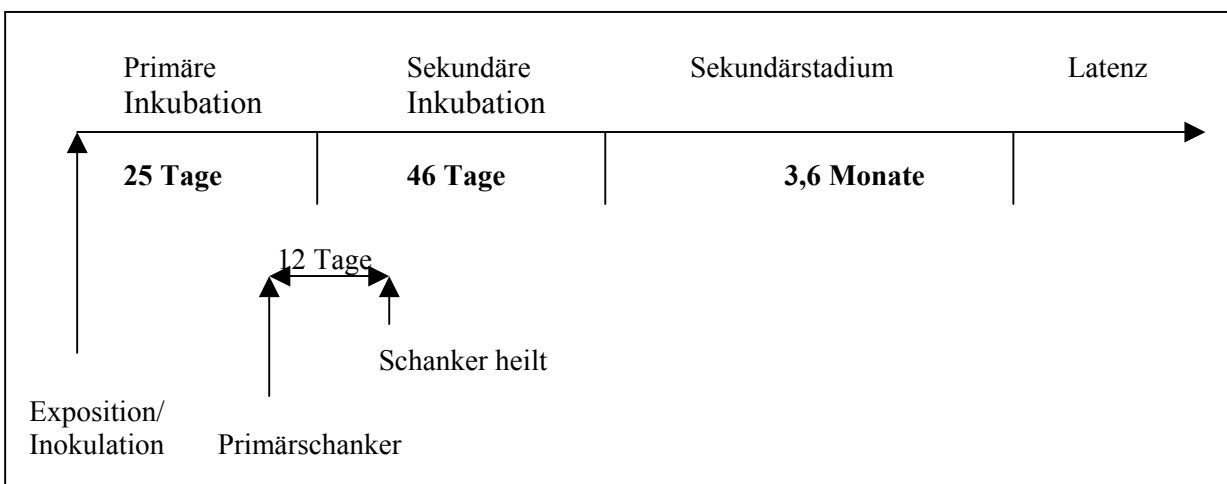


Abb.1 nach<sup>67</sup>: Übersicht über den zeitlichen Verlauf der Frühen Syphilis

#### 1.4.4. Tertiäres Stadium

Das Tertiärstadium der Syphilis manifestiert sich nach unterschiedlich langer Latenzzeit als chronisch granulomatöse Entzündung mit dem Schwerpunkt in den Organsystemen ZNS, kardiovaskuläres System und Haut<sup>206</sup>. Die Neurosyphilis erlangt im Gegensatz zu der heute sehr selten zu beobachtenden kardiovaskulären Syphilis wieder mehr Aufmerksamkeit, da diskutiert wird, ob diese bei HIV-Infizierten häufiger und in stärkerem Ausmaß auftritt<sup>79,152</sup>. Da bei 15 – 40 % der mit Syphilis Infizierten in allen Stadien die Treponemen in der zerebrospinalen Flüssigkeit zu finden sind, ist nicht sicher, ob diese Patienten alle ein größeres Risiko haben, Neurosyphilis zu entwickeln<sup>76,128</sup>. Die Neurosyphilis wird unterteilt in eine asymptomatische, meningovaskuläre und parenchymatös-gummatöse Form<sup>149,190</sup>. Eine progressive Meningitis führt zu der meningovaskulären Syphilis mit Befall der Meningen und Zerstörung von Gefäßen des Gehirns und Rückenmarks aufgrund multipler Mikroinfarkte durch eine obliterative Endarteriitis. Dies führt hauptsächlich zu neurologischen Ausfallserscheinungen. Bei der parenchymatösen Form werden die Nerven- und Gewebszellen durch die direkte Invasion der Spirochäten zerstört. Die progressive Paralyse mit Befall des Gehirns äußert sich als Enzephalopathie mit eventuell einem hirnorganischen Psychosyndrom (HOPS), während bei der Tabes dorsalis mit Befall des Rückenmarks die spinalen Hinterstränge und -säulen betroffen sind, was zu der entsprechenden neurologischen Symptomatik führt.

Das kardiovaskuläre System ist in Form einer Zerstörung der Herzklappen, meist der Aortenklappe und konsekutiver Herzinsuffizienz sowie als Aortenaneurysma oder Befall von anderen Koronar- und peripheren Gefäßen betroffen. Die Haut ist in Mitleidenschaft gezogen durch das Auftreten von Syphiliden (kutane, plaqueartige, braun-rote, flach-papulöse oder knotig-vernarbende Herde) oder von Gummen (subkutane, gummiartige Knoten), die auch in inneren Organen oder Knochen lokalisiert sein können und gewebszerstörend wirken.

#### 1.4.5. Einfluss einer HIV-Infektion

Es gibt eine Anzahl von Fallstudien über atypische und/oder schwerere Manifestationen der Syphilis und über einen rascheren Übergang in progressivere Stadien der Krankheit, vor allem in das der Neurosyphilis bei gleichzeitiger HIV-Infektion<sup>79,152</sup>. Die gestörte Immunfunktion bei HIV-Infizierten, besonders die gestörte zelluläre Immunantwort kann die adäquate Reaktion auf die syphilitische Infektion verändern. Als Folgen können auftreten: ein akzelerierter Krankheitsprogress, verwirrende, weil unübliche klinische Symptome und ein

vermehrtes Auftreten von Komplikationen<sup>92,121,190</sup>. Es wird auch ein Zusammenhang zwischen der HIV-Infektion und der Reaktivierung einer „ausgeheilten“ syphilitischen Infektion vermutet<sup>79</sup>. Vereinzelt wird von „Lues maligna“ gesprochen<sup>182</sup>. In einer Fall-Kontroll-Studie beobachtete man, dass Sekundärsymptome mit größerer Wahrscheinlichkeit in der Gruppe der HIV-infizierten Männer auftraten<sup>96</sup>. Die dermatologischen Charakteristika in Form des palmar-plantaren oder generalisierten makulopapulösen Ausschlags waren bei beiden Gruppen gleich zu beobachten. Im Primärstadium persistierte bei HIV-Positiven der Schanker eher als bei HIV-Negativen. Die Auswirkungen des Immundefektes zeigten sich bei den HIV-infizierten Patienten darin, dass bei einer CD4 Zellzahl <500/ $\mu$ l sich eher sekundäre Symptome zeigten als bei Patienten mit einer höheren Zellzahl. In einer multizentrisch angelegten Studie über aktive Syphilis bei 11368 HIV-Patienten in Deutschland konnten beinahe alle klinischen Erscheinungsbilder gefunden werden<sup>187</sup>: Am häufigsten wurden primäre Ulzera oder makulopapulöse Sekundärsymptome in den HIV-Stadien CDC II oder III beobachtet. Ulzeröse Sekundärsyphilis, auch als maligne Syphilis bezeichnet, wurde bei 7,3% aller Syphilisinfizierten gefunden und damit 6mal häufiger als in einer historischen Vergleichsgruppe. 16 Fälle von Neurosyphilis traten in den fortgeschritteneren HIV-Stadien auf.

Es findet sich eine weitere Vielzahl von Fallberichten über das häufigere Auftreten von Neurosyphilis, das vor allem auf den B-Zell-Defekt zurückgeführt wird<sup>102,108,135,151</sup>. Übereinstimmend kommen die Autoren zu dem Schluss, dass eine HIV-Infektion den Übergang zur Neurosyphilis beschleunige.

Strittig bleibt, ab wann von Neurosyphilis gesprochen wird. Ein Befall des ZNS mit Treponemen erfolgt bei 40% aller Betroffenen, ohne dass gleich von Neurosyphilis gesprochen werden kann<sup>130</sup>. Zudem sind die Fallzahlen meist zu klein und zu schwer zu vergleichen, als dass die These von einem progredienten Verlauf zur Neurosyphilis bei gleichzeitiger HIV-Infektion etabliert werden konnte.

In anderen Studien werden atypische oder schlimmere Sekundärsymptome bei HIV-Positiven insgesamt nicht häufiger beobachtet<sup>78,152</sup>. Bisher konnte keine Häufung von schlimmeren Verläufen beobachtet werden, weder bezüglich Hautmanifestationen, auftretender Arthritis, Hepatitis oder Osteitis. Dies ist erklärbar, wenn angenommen wird, dass die klinischen Symptome des sekundären Stadiums durch die zirkulierenden Immunkomplexe und nicht durch die Anwesenheit der Erreger hervorgerufen werden<sup>152</sup>. Auch in einer Kohorte von 50 mit Syphilis infizierten Drogenkonsumenten wird kein Unterschied der klinischen Präsentation zwischen HIV-Positiven und Negativen festgestellt. Der Autor kann auch keine

Relation des syphilitischen Stadiums zu den immunologischen und serologischen Stadien der HIV-Erkrankung nachweisen<sup>78</sup>. Es bleibt also eine Herausforderung, die oft vielfältigen Zeichen einer syphilitischen Infektion von begleitenden Infektionen im Rahmen der HIV-Erkrankung abzugrenzen und zu erkennen<sup>92</sup>.

## 1.5. Diagnose der Syphilis

Syphilis zu diagnostizieren, ist wegen des selten zu beobachtenden stadienhaften Verlaufes sowie der mangelnden Vertrautheit der Ärzte mit dieser Krankheit schwierig.

Die Diagnose der Syphilis beruht auf der Trias:

- Anamnese und klinische Untersuchung
- Direkter Erregernachweis im Patientenmaterial
- Indirekter Nachweis der Treponemen durch serologische Testverfahren.

Letztem Punkt kommt aufgrund der Vielfältigkeit der oft atypischen klinischen Zeichen in den verschiedenen Stadien und der daraus entstehenden Unsicherheit in der klinischen Diagnosefindung von jeher besondere Bedeutung zu. Der Darstellung der verschiedenen Testverfahren - soweit sie für vorliegende Arbeit von Bedeutung sind - wird an dieser Stelle viel Platz eingeräumt, um die Schwierigkeiten in der richtigen Interpretation der Testergebnisse sowie in der Auswahl der verwendbaren Testverfahren dem Leser näher zu bringen.

### 1.5.1. Testverfahren

Seit der Einführung des ersten serologischen Testes im Jahr 1906, dem Komplement Fixationstest nach Wassermann<sup>218</sup> wurden viele Testverfahren entwickelt. Allein –, *es gibt keinen einzelnen optimalen Test*<sup>224</sup>. Die Schwierigkeit liegt in der Natur des Erregers, der nicht in vitro kultiviert und mit den üblichen Färbemethoden nicht sichtbar gemacht werden kann. Die Testverfahren werden eingeteilt in

- a) direkter Erregernachweis durch mikroskopische Untersuchung oder PCR,
- b) nichttreponemale/ unspezifische/ indirekte Antikörpertests,
- c) treponemale/ spezifische/ direkte Antikörpertests und
- d) direkte Antigentests



#### 1.5.1.1. Direkter Erregernachweis

##### *Dunkelfeldmikroskopie*

Diese älteste und einfache Methode verlangt einen erfahrenen Untersucher, der im Mikroskop die *Treponemae pallida* entdecken und von den nicht pathogenen Kommensalen anhand ihrer Bewegungen und Morphologie unterscheiden können muss<sup>53,224</sup>. Der Vorteil dieser Methode liegt in der möglichen frühen Diagnosestellung, wenn noch keine Antikörper gebildet wurden. Ihre Limitation ist durch das zwingende Vorhandensein von geeigneten Läsionen (orale Defekte sind nicht geeignet), von denen das Material (Reizserum eines Primäreffekts oder Sekrete nässender Sekundäreffloreszenzen) gewonnen werden kann und die anschließend sofort nötige Untersuchung gegeben. Das Ergebnis kann falsch negativ sein bei nicht ausreichender oder schlechter Probengewinnung<sup>123</sup>. Die Nachweisgrenze liegt bei circa 100 000 Erregern/ ml. Die Sensitivität liegt bei 80%<sup>111</sup>.

##### *Polymerase-Kettenreaktion (PCR)*

Es werden *Treponema pallidum* spezifische Nukleinsäuren nachgewiesen. Der Nachweis kann sowohl aus frischen Läsionen als auch von aus Blut, Liquor, Amnionflüssigkeit oder Urin gewonnen Proben geführt werden. Der Primer kodiert in der Regel das 47kD Oberflächenantigen<sup>53</sup>. Sogar nach spontaner Abheilung können Biopsien an der Stelle des ehemaligen Schankers noch in der PCR positiv nachgewiesen werden<sup>223</sup>. Die Sensitivität ist sehr hoch, es können ein bis fünf Organismen pro Probe nachgewiesen werden<sup>22</sup>. Die PCR ist in bestimmten Situationen die praktischste, sensitivste und spezifischste Technik<sup>224</sup>. Auch möglich ist der Nachweis durch die in vitro DNA-Amplifizierung aus heparinisiertem Vollblut, durch Exsudat aus Läsionen, Stanzbiopsien und von Abstrichen der Ulzera<sup>225</sup>. Die PCR kann nicht in allen Laboratorien durchgeführt werden und ist auch wegen der aufwändigen und kostenintensiven Durchführung noch keine routinemäßig erfolgende Untersuchung. Der Stellenwert der PCR in der Gesamtdiagnostik der Syphilis ist noch nicht definiert<sup>86</sup>.

Eine *Multiplex-PCR* weist mit einem Ansatz von drei verschiedenen Primern die häufigsten Erreger genitaler Ulzerationen, nämlich *Haemophilus ducreyi*, *Treponema pallidum* und *Herpes Simplex Virus Typ 1/ 2* nach und kann schon ab ein bis zehn Organismen jeder einzelnen Infektion aufspüren<sup>165</sup>.

### 1.5.1.2. Indirekter Erregernachweis

Der indirekte Erregernachweis beruht auf der Entdeckung von Antikörpern, die der Organismus im Laufe der Infektion bildet. Dabei müssen zwei Typen von Antikörpern unterschieden werden: nichttreponemale = unspezifische = Antikörper und treponemale = spezifische = Antikörper.

#### 1.5.1.2.1. Unspezifische Antikörpertests

Bei der Herkunft der nichttreponemalen oder antilipoidalen Antikörper ist nicht ausreichend bekannt, ob ihre Synthese durch Antigenstrukturen des Erregers oder durch Freisetzung von Lipoidantigenen aus zerstörtem Wirtsgewebe initiiert wird<sup>86</sup>. Bei letzterer Überlegung wird angenommen, dass die antilipoidalen Antikörper als immunologische Reaktionsprodukte auf einen entzündungsbedingten Zellverfall im Organismus entstehen<sup>52</sup>. Bei der Zerstörung der Zellen werden lipoidhaltige Mitochondrien freigesetzt, gegen die das Immunsystem Antikörper produziert. Kardiolipin wird von den Treponemen freigesetzt. Diese Antikörper entstehen zur ähnlichen Zeit wie die spezifischen Antikörper der Immunglobulinklassen und spiegeln damit ebenso den pathologischen Prozess des befallenen Organismus wieder. Sie können aber in keine Relation zur Entwicklung einer Immunität gesetzt werden<sup>224</sup>. Allerdings können diese Antikörper unter verschiedenen Umständen (siehe Punkt 1.5.4), bei denen Gewebe zerstört wird, produziert werden, so dass biologisch falsch positive Reaktionen in den Testergebnissen zu messen sind. Auf diese Weise wird ihre Aussagekraft gesenkt. Zudem ist die Sensitivität im primären Stadium und in den späten Phasen gering.

#### *Veneral Disease Research Laboratory Test (VDRL)*

Als Antigen wird ein Kardiolipin-Lecithin-Cholesterol-Gemisch verwendet, das beim Vorhandensein von antilipoidalen Antikörpern eine sichtbare Ausflockung hervorruft. Probe der Wahl ist das Serum. Die Sensitivität ist abhängig von den verschiedenen Stadien und liegt bei einem Mittelmaß von 80%, die Spezifität bei 98 %<sup>112</sup>. Der VDRL ist der Test der Wahl bei Neurosyphilis für die Untersuchung der zerebrospinalen Flüssigkeit (VDRL-CSF), die Durchführung weicht geringfügig ab.

#### *Rapid Plasma Reagin Test (RPR)*

Es handelt sich hierbei um einen makroskopischen Präzipitationstest, der das modifizierte VDRL Antigen unter anderem mit dem Zusatz von Kohlepartikeln für die Visualisierung nützt (genaue Durchführung siehe Punkt 3.6.1). Hierbei kann auch Plasma verwendet werden.

Die stadienabhängige Sensitivität ist leicht höher als die des VDRL, während die Spezifität gleich ist<sup>122</sup>. Er wird heute hauptsächlich in der Form des RPR-18mm Card-Test verwendet<sup>122</sup>.

Beide Tests werden als Screeninginstrumente für die Syphilis eingesetzt, da sie billig, leicht erhältlich und einfach auch bei einer großen Anzahl von Proben durchzuführen sind. Sie werden qualitativ zur Diagnosestellung als auch quantitativ zur Bewertung der Therapie eingesetzt. Auf diese Weise können sie als Aktivitätsparameter benützt werden, was sie von den Treponemenspezifischen Testverfahren unterscheidet, die einmal positiv ausgeschlagen, meist lebenslang reagieren. Durch diese Möglichkeit der Verlaufsbeurteilung bleiben die unspezifischen Tests ein wichtiges Mittel in der klinischen Diagnostik.

#### 1.5.1.2.2. Spezifische Antikörpertests

Diese Testverfahren basieren auf dem Nachweis spezifischer Antikörper, die gegen treponemale Komponenten gerichtet sind und als Antigen Extrakte von *Treponema pallidum* benutzen. Die Antigenstruktur von *T. pallidum* ist allerdings komplex und teilt biologische Eigenschaften mit anderen Mikroorganismen (vor allem nichtpathogenen Treponemen und anderen Spirochäten). Daher treten Kreuzreaktionen auf, die eine zuverlässige Diagnose von *Treponema pallidum* erschweren.

Treponemenspezifische Tests werden vor allem als Bestätigungstests für positive nichttreponemale Tests eingesetzt. Sie sind nicht zum Monitoring der Therapie geeignet, da sie jahrelang, meist lebenslang positiv bleiben. Als Screening Methode eignen sie sich nicht, da sie oft falsch negativ sind<sup>123</sup>. Falsch positive Ergebnisse sind seltener; sie werden bei „mixed connective tissue disease“ oder Autoimmunkrankheiten gefunden. Zur Zeit werden standardmäßig der Fluoreszenz-Treponema-Antikörper-Absorptions-Test (FTA-ABS), der Treponema pallidum Häm- oder Partikel AgglutinationsAssay (TPHA /TPPA) und der Mikrohämagglutinationstest (MHA-TP) eingesetzt.

#### *Fluoreszenz Treponema Antikörper-Absorptions Test (FTA-ABS)*

Als Antigen werden abgetötete Erreger des pathogenen Nichols-Stammes verwendet, die auf Objektträgern fixiert sind. Das Patientenserum wird mit einem Homogenisat aus *T. phagedensis* (Reiter) absorbiert, um kreuzreagierende Antikörper zu entfernen. Unter dem

Fluoreszenzmikroskop kann das Ergebnis abgelesen werden. Die Sensitivität ist hoch<sup>68</sup>. Die multikomponente Methode ist anfälliger für Fehlerquellen<sup>123</sup>.

#### *Treponema pallidum* Häm- oder Partikel- Agglutinations- Assay (TPHA /TPPA)

Zur Antigenpräparation wird ein Ultraschallsonikat oder ein partiell gereinigter Antigenextrakt von *T. pallidum spp. pallidum* verwendet. Werden die Fragmente des pathogenen Stammes an der Oberfläche tierischer Erythrozyten fixiert, spricht man vom Häm-Agglutinations-Test, werden sie an Gelatine-/Bentonitkügelchen fixiert vom Partikel-Agglutinations-Test. Sind im Patientenserum entsprechende Antikörper vorhanden, tritt eine makroskopisch sichtbare Agglutination ein. Der Vorteil des Partikelagglutinationstest ist, dass heteroagglutinierende Antikörper nicht stören. Aus diesem Grunde ersetzt er inzwischen fast vollständig den älteren Hämagglutinationstest<sup>123,169</sup>. Vorteile dieses Verfahrens sind die hohe Spezifität und Sensitivität sowie die einfache technische Durchführung. Der Test kann auch quantitativ ausgewertet werden, allerdings ist kein direkter Rückschluss von der Titerhöhe auf die Krankheitsaktivität möglich<sup>86</sup>.

Bei einem Vergleich des TPPA mit dem FTA-ABS, MHA-TP (und RPR bei Patienten mit primärer Syphilis) und zusätzlicher Evaluation des Testes als Monitoringinstrument zur Effektivität der Therapie nach 6 und 12 Monaten ist der TPPA laut Autorenmeinung vergleichbar in Sensitivität und Spezifität mit dem MHA-TP (100% respektive 94,4%) und FTA-ABS (98,5% respektive 100%)<sup>27</sup>. Durch einen korrelationsfähigen Titerabfall des TPPA im Verlauf der Therapie komme er gerade auch als Monitoringtest in Frage. Damit würde er sich stark von den bisherigen spezifischen Antikörpertestverfahren unterscheiden, die diesbezüglich nur als Marker einer durchgemachten Infektion herangezogen werden.

Weitere Vorteile des TPPA sind eine leichtere und kostengünstigere Durchführung (er braucht kein Fluoreszenzmikroskop, ist weniger subjektiv als der FTA-ABS und leichter zu interpretieren als der MHA-TP).

#### 1.5.1.2.3. *T. pallidum* spezifische IgM- Antikörpertests

In dieser Gruppe von Testverfahren wird versucht, durch den Nachweis von IgM-Antikörpern den Aktivitätsgrad der Infektion zu bestimmen. Der entscheidende Teil der Methodik ist die Abtrennung der IgG- von der IgM-Fraktion<sup>86</sup>.

Das bisherige Standardverfahren ist der FTA-ABS 19 S *IgM-Antikörpertest*. Dieser fraktionierte IgM-Antikörper-Immunoassay trennt die zwei Antikörperklassen durch

Säulenchromatographie oder Ultrazentrifugation voneinander. Die IgM-Fraktion wird mit Hilfe der indirekten Immunfluoreszenz mittels eines markierten Anti-Human-IgM-Serums untersucht. Mögliche Fehlerquelle sind biologisch-falsch-positive (BFP) Reaktionen aufgrund vorhandenem Rheumafaktor und biologisch-falsch-negative (BFN) Reaktionen durch eine kompetitive Hemmung durch die IgG-AK<sup>138</sup>. Als Antigen werden hier komplette Treponemen eingesetzt. Dieser Test soll in Spezifität und Sensitivität hervorragend mit den klinischen Ergebnissen korrelieren<sup>98,147</sup>.

#### 1.5.1.2.4. Enzym-Immunoassays

Eine neue Gruppe stellen die erstmals 1975 von Veldkamp und Visser beschriebene Methode des Enzym-Immuno-Assay (EIA) oder Enzym-Linked-Immunosorbent-Assay (ELISA) im Rahmen der Syphilisdiagnostik für den Nachweis von IgM und/oder IgG Antikörpern dar<sup>212</sup>. Die Vielzahl dieser Verfahren, die entweder mit dieser oder einer modifizierten Technik arbeiten, verlangt eine neue Evaluation der Vorgehensweise in der serologischen Syphilisdiagnostik<sup>51</sup>.

Man erhofft sich aufgrund der spezifischen Immunantwort mit verschiedenen Antikörperklassen eine frühere Aufdeckung aktiver Stadien sowie Aufschluss über die Unterscheidung Reinfektion/Rückfall/Neuinfektion sowie eine Aussage zur Behandlungsbedürftigkeit des Patienten<sup>124,125</sup>. Ebenso wird anvisiert, mit dieser Testgruppe ein Instrument zur Therapieüberwachung in die Hände zu bekommen<sup>98,143,147</sup>.

Bei einer neueren Studie scheinen sich diese Erwartungen zu erfüllen<sup>26</sup>: der ELISA-Test erreicht nicht nur eine hohe Sensitivität und Spezifität; in den einzelnen Krankheitsstadien konnte bei entsprechend abfallenden Titern der Nachweis von IgM-Antikörper erbracht werden, so dass der Test bei zusätzlich technischen Vorteile (leicht, objektiv, automatisiert) als gut einsetzbar für Screening und Diagnose der Syphilis angesehen wird.

Als Antigene werden gereinigte Extrakte oder Sonikate von *T. pallidum spp pallidum* oder Partialantigene verwendet, die auf einer Mikrotiterplatte fixiert sind. Man unterscheidet die „kompetitive“, „capture“ und „Sandwich“ Technik. Aus den diskrepanten Ergebnissen der eingesetzten Testverfahren resultiert die noch kontroverse Bewertung des Stellenwertes dieser Verfahren. Ob die Unterschiede wirklich auf verschiedene Sensitivitätsergebnisse zurückzuführen sind oder ob sie aus sich gegen verschiedene Polypeptide des Bakteriums richtende Reaktionen resultieren, ist momentan noch nicht sicher zu beurteilen<sup>146</sup>.

Beim *kompetitiven EIA* werden Fragmente von *T. pallidum* als Antigen an einer festen Phase fixiert und mit dem Patientenserum überschichtet. Die treponemalen Antikörper im Testserum konkurrieren mit Peroxidase konjugierten humanen Antikörpern. Die Antigen-Antikörperkomplexe werden markiert und ihre Menge durch Bestimmung der Enzymaktivität ermittelt. Der Test wird vorrangig als Suchtest angewendet, die Sensitivität und Spezifität ist mit dem des TPHA vergleichbar. Verglichen mit dem FTA-Abs und dem TPHA in verschiedenen klinischen Stadien der Syphilis zeigte sich eine Sensitivität von 99,5% und eine Spezifität von 99,4%<sup>49</sup>. Es soll keine Kreuzreaktionen oder BFPs geben. Damit kann dieser leicht zu gebrauchende, automatische Test als Screeninginstrument verwendet werden<sup>186</sup>.

Bei der Sandwich-Technik wird obiges Prinzip dahingehend abgewandelt, dass das Patientenserum vor dem Überschichten auf der festen Phase mit einem Anti-IgG-Serum präzipitiert wird<sup>52</sup>. Beim *IgM Capture Elisa* oder *indirekten Enzymimmunoassay* wird die „capture“ Technik verwendet. Beim IgM Captia werden  $\mu$ -Ketten spezifischer Anti-Human-IgM-Antikörper an die feste Phase fixiert. Das Patientenserum wird hinzugegeben und während der Inkubation wird das IgM im Serum gehalten („captured“). Das Konjugat - gereinigtes *T. pallidum* Antigen, monoklonale Antikörper und Streptavidin enthaltend – entdeckt an Oberflächen gebundene IgM-AK. Die durch Verfärbung sichtbare Enzymaktivität ist proportional zu der Antikörperaktivität. Der monoklonale gegen ein Antigen des Axialfilaments von *T. pallidum* gerichtete Antikörper führt zu einer hohen analytischen Spezifität. Dieser Test wird vor allem für die kongenitale (Sensitivität 100%) und primäre (Sensitivität 82%) Syphilis empfohlen, weniger für die sekundären (60%) und latenten (53%) Stadien<sup>98</sup>.

#### *EIA mit der Verwendung von rekombinanten Antigenen*

Neu ist die Evaluation eines rekombinanten Antigen-Latex-Agglutination-Testes<sup>233</sup> und eines Enzyme-Immunosorbent-Assays<sup>184</sup>, die einen Pool von drei rekombinanten *T. pallidum* Antigenen (TpN15, TpN17, TpN47) benutzen. Die Schnelligkeit des Testverfahrens wird als ein besonderer Vorteil für die Nutzung als Screeninginstrument herausgehoben<sup>233</sup>. Rekombinante Antigene (TpN15, TpN17, TpN47) und Antikörper gegen diese sind im Gegensatz zu Wildtyp Antigenen vom Nichols Stamm im ganzen Verlauf der Syphilis nachzuweisen und dominieren vor allem in den späten Stadien<sup>15,159</sup>. Enzym-Immuno-Assay-Testverfahren sind daher in der Lage, Syphilis in allen Stadien ähnlich gut zu serodiagnostizieren<sup>184,235</sup>.

Zu dieser Gruppe von Testverfahren ist auch der INNO-LIA™ zu rechnen, der in vorliegender Arbeit als Vergleichstest Anwendung findet und der ein Banden-Immunoassay ist. Das Prinzip beruht darauf, dass ein Nylonstreifen mit verstärktem Plastikrücken in verschiedenen Reihen mit rekombinanten Proteinen (TpN47, TpN17, TpN15) und einem synthetischen Peptid (TmpA) beschichtet wird. Zusätzlich zu diesen Syphilis-Antigenen, werden vier Kontrollreihen auf jedem Streifen aufgetragen: Anti-Streptavidin, Anti-Human Ig für die 3+ Kontrolle, Human IgG für die 1+ Kontrolle und Human IgG für die Trennlinie zum Negativen (+/-). Die Testprobe wird zusammen mit dem multipel beschichteten Streifen inkubiert. Sind spezifische *T. pallidum* Antikörper vorhanden, binden diese an die verschiedenen Antigenreihen. Anschließend wird ein von der Ziege stammendes Anti-Human IgG verbunden mit alkalischer Phosphatase hinzugegeben. Diese heftet sich an den gebildeten Antigen-Antikörper-Komplex. Durch die Inkubation mit dem Enzymsubstrat und chromogenem Färbesubstrat wird eine braune Färbung hervorgerufen, deren Intensität direkt proportional zu der vorhandenen Menge an spezifischen Antikörpern ist.

Insgesamt ist ein starker Trend bei der Verwendung von ELISA Techniken in der Serodiagnostik der Syphilis zu beobachten<sup>51,189</sup>. Der Vorteil dieser Ansätze liegt in der zeitsparenden, automatisch ablaufenden Technik; durch die schnelle Bearbeitung einer großen Anzahl von Proben können sie ihren Einsatz als Screeninginstrument finden, allerdings hat sich noch keine der verschiedenen Testverfahren mit ihren unterschiedlichen Ergebnissen bezüglich Spezifität und Sensitivität als Standard durchsetzen können. Die oft große Anzahl nicht eindeutig bestimmbarer Ergebnisse erfordert ein Wiederholen des Testes, was die ohnehin teure Technik noch aufwändiger macht. Die neuen Methoden werden daher bis jetzt meist in Kombination mit den alten Verfahren oder als Ergänzung verstanden<sup>170,173</sup>.

#### 1.5.1.2.5. Andere Testverfahren

##### *Immunoblot*

Bei diesem Verfahren erhält man ein Muster der Immunantwort, in dem im elektrischen Feld getrennte Polypeptide von *T. pallidum* auf Nitrozellulosepapier gegeben werden, dann dem Testserum ausgesetzt werden und durch Peroxidase markiert werden. Ein Test wird als positiv angesehen, wenn mindestens drei der vier Antigene von diagnostischer Bedeutung mit dem Molekulargewicht von 15,5, 17, 44,5 und 47 kDa entdeckt werden<sup>24</sup>. Die Sensitivität reicht je

nach Studie von 94 bis 99% und die Spezifität wird mit 88 bis 100% angegeben<sup>24,52,236</sup>. Der Test findet vor allem als Bestätigungstest der Syphilis Verwendung. In der klinischen Diagnostik ist er nicht etabliert.

Ein neuer Ansatz ist der *Enzyme-linked-Immospot Assay (Elispot)*, der die Antikörpersezernierenden Zellen (ASZ) misst<sup>198</sup>: diese erscheinen im peripheren Blut drei bis fünf Tage nach Stimulation durch das Antigen, weisen nach sieben bis neun Tagen eine Spitze auf und sind in den Tagen 14 bis 21 nicht mehr nachweisbar. Diese Dynamik kann sie zu guten Markern für das aktive Krankheitsstadium machen und zum Therapiemonitoring geeignet sein lassen. Zirkulierende ASZ repräsentieren aktivierte B-Lymphozyten und damit die Stimulierung des Immunsystems. Damit sollen sie auch im schwierig interpretierbaren latenten Stadium aufdecken können, ob der bakterielle Erreger noch aktiv ist.

### 1.5.2. Algorithmus

Die verschiedenen serologischen Untersuchungsmöglichkeiten und deren Ergebnisse in den unterschiedlichen Stadien der Krankheit verwirren. Nachfolgend wird ein einheitliches Vorgehen hinsichtlich Diagnosestellung und Vergleichbarkeit der Fälle, wie es von Klinikern, Forschern und Laborfachleuten gleichermaßen gewünscht wird, vorgestellt. Dieser Algorithmus [nach <sup>51,53,101,231</sup>] oder ähnliche finden vor allem in großen Kliniken westlicher Industrieländer Anwendung:



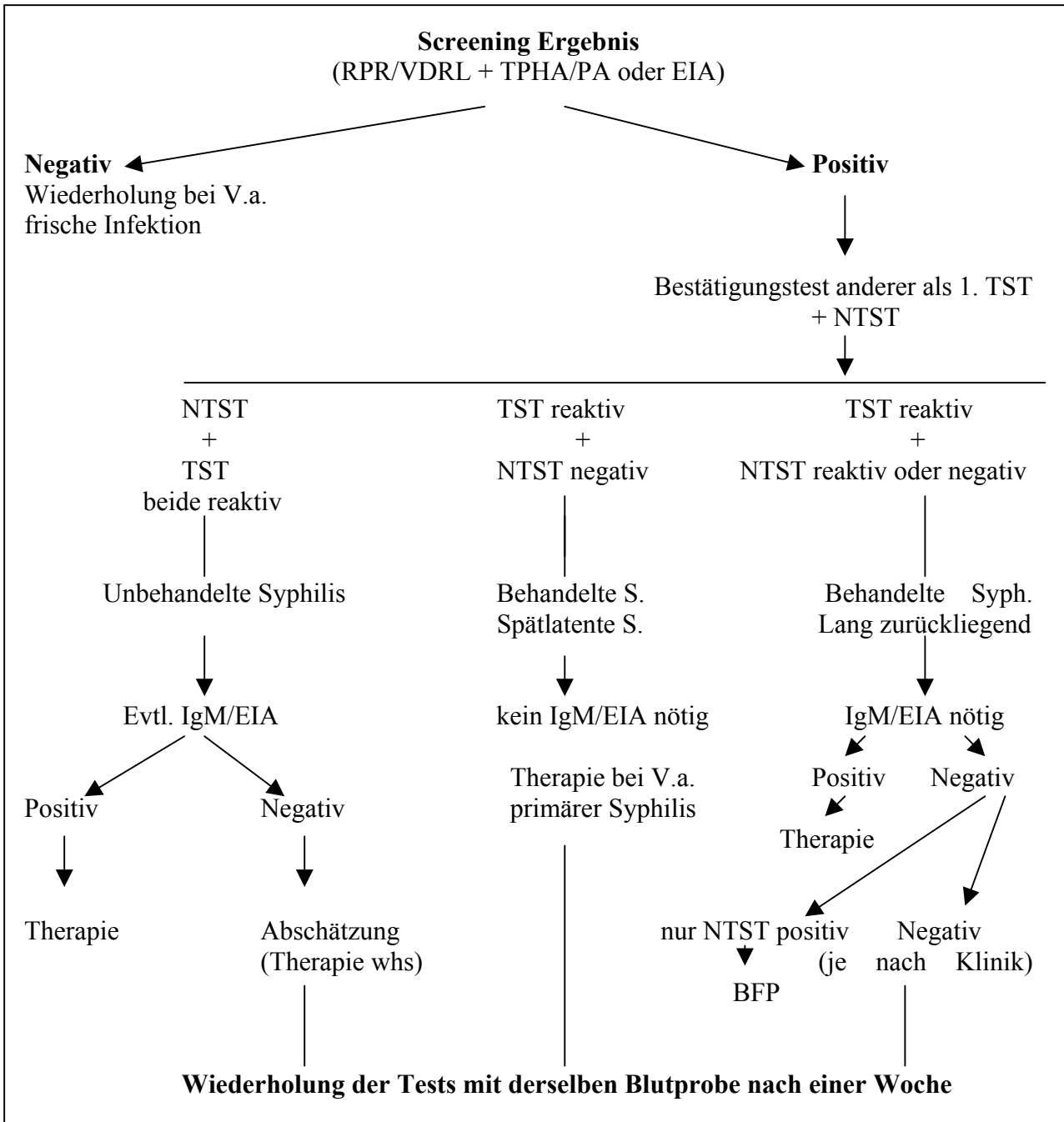


Abbildung 2: Vorgehen bei Verdacht auf Infektion mit *T. pallidum* (nach<sup>51,53,101,231</sup>)

Der FTA-ABS wird aufgrund seiner geringen Spezifität nicht länger als „Goldstandard“ angesehen<sup>231</sup>. Seinen Einsatz findet er in der Bewertung diskrepanter Probenergebnisse<sup>51</sup>. Die akkuratesten Ergebnisse soll eine Durchführung mit dem TPHA/TPPA zur Bestätigung eines EIA oder eines EIAs zur Bestätigung eines TPHA/TPPA ergeben<sup>232</sup>.

### 1.5.3. Einfluss einer HIV-Infektion

Die Wechselwirkungen zwischen der HIV- und Syphilis-Infektion sind Gegenstand zahlreicher Untersuchungen<sup>34,64,73,144</sup>. Nicht nur, dass die Infektion mit Syphilis die Ansteckung mit HIV erleichtert<sup>33,47,115</sup> und beide somit in engem epidemiologischen Zusammenhang stehen, auch auf die serologischen Parameter wirkt sich die HIV-Infektion aus. Endgültige Aussagen können bei einer nötigen Neuevaluierung der Testverfahren noch nicht gemacht werden. Generell wird bei dual infizierten Patienten von einer ähnlichen bis gleichen Reaktivität der Syphilistests ausgegangen mit einer allerdings verminderten Sensitivität und Spezifität<sup>78,85,234</sup>. Allerdings werden auch atypische Reaktionen im Testverhalten beobachtet<sup>11,152</sup>. Zusammenfassend kann man folgende Probleme des serologischen Verhaltens bei konkomitant bestehender HIV-Infektion feststellen:

- a) fehlende Reaktivität trotz bestätigter Syphilis Infektion,
- b) falsch negative oder ungewöhnlich hohe Titer in unspezifischen AK-Tests
- c) Verschwinden der Reaktivität der spezifischen AK-Tests mit der Zeit.

Ad a: Bei einer Doppelinfektion mit HIV sind verzögerte und/ oder ausbleibende Testreaktionen zu beobachten<sup>53,79,92</sup>. Die Ursache soll in der verzögerten oder ausbleibenden Immunantwort bei einer unterschiedlichen großen Schädigung des Immunsystems liegen. Eine andere Studie findet hingegen für HIV-Infizierte eine höhere Wahrscheinlichkeit, dass die Tests stark reagieren<sup>78</sup>. Bei einer experimentell induzierten Simian-Immundefizienz-Virus-Infektion bei Rhesusaffen wurde anschließend eine verzögerte Elimination von *T. pallidum* beobachtet und daraus auf eine ähnlich verzögerte humane Immunantwort bezüglich der Treponemen bei HIV-Infizierten geschlossen<sup>133</sup>. In einer Vergleichsstudie ( IgG Elisa versus TPHA und FTA-ABS) ergab sich für jeden der treponemenspezifischen Tests eine niedrigere Sensitivität in der Gruppe der HIV-Positiven<sup>234</sup>.

Ad b: Als weiteres atypisches Verhalten wurde bei HIV-Positiven im Sekundärstadium Seronegativität mit nicht-reaktiven VDRL- und FTA-ABS-Tests beobachtet<sup>79,92</sup>. Die Wahrscheinlichkeit, dass selbst Treponemenspezifische Tests nicht reagieren, ist bei HIV-Infizierten höher<sup>76,187</sup>: Erst weitergehende diagnostische Maßnahmen wie die Biopsie der entsprechenden Läsion und anschließende Silberfärbung führten dann in diesen Fällen zur richtigen Diagnose. Umgekehrt kann das klinische Bild besonders bei typischer papulärer Hautbeteiligung und Vorhandensein eines genitalen Ulkus zur Diagnose Syphilis verleiten, bis – unter anderem nach negativen TPHA, FTA und VDRL – der geäußerte Verdacht, dass

diesem eine primäre HIV-Infektion zugrunde liegt, serologisch bestätigt werden konnte<sup>25</sup>. Die B-Zell-Dysregulation bei der Immunschwäche kann zu hohen Antikörperspiegeln und damit zu hohen VDRL-Titern<sup>78</sup> führen oder aber auch die Agglutination verhindern. Das ergibt falsch negative Werte in den nichttreponemalen Tests und wird mit dem Begriff „Prozone Phänomen“ umschrieben<sup>153</sup>. Dieses Phänomen scheint bei HIV-Infizierten häufiger aufzutreten als in der Population der Nichtinfizierten. Parallel zu diesen Beobachtungen wurden sehr hohe VDRL-Titer und quantitativ hohe TPHA-Spiegel dokumentiert<sup>123</sup>. Gleichzeitig verhielt sich der FTA-ABS aber teilweise negativ, was auf die sehr hohen IgG-Titer, die den sehr sensitiven Test beeinflussen sollen, zurückgeführt wurde<sup>187</sup>.

Ad c: In einer Fall-Kontroll-Studie bewirkte die HIV-Infektion einen signifikanten Abfall der spezifischen Antikörper gegenüber *T. pallidum* bei Patienten, die früher gegen Syphilis behandelt worden waren. Ebenso wurde eine signifikante Verminderung der geometrischen Mittelwerte der Titer zwischen der ersten (zum Zeitpunkt als die HIV-Infektion noch nicht erfolgt war) und der zweiten Probe gefunden<sup>103</sup>. Eine weitere wichtige Beobachtung war, dass der serologische Nachweis (in Form der spezifischen AK-Tests) einer vergangenen Infektion mit Syphilis verschwinden kann. Bei 10% in der HIV Gruppe, aber in keinem Fall der Kontrollgruppe, konnten die treponemalen Antikörper durch die Tests nicht mehr gefunden werden. Bei HIV-Positiven mit in der Vergangenheit behandelter Syphilis scheint also die Reaktivität der Treponemen-spezifischen Tests verloren zu gehen<sup>85</sup>. Das Ausmaß der Immunschwäche scheint mit diesem Vorgang in Korrelation zu stehen. Auch bei Betroffenen, die nur eine einzelne syphilitische Episode zu verzeichnen hatten, scheinen die spezifischen Tests eher negativ zu werden. Ähnliche Ergebnisse wurden beobachtet: 11% aus der Gruppe der HIV-Positiven hatten negative Resultate in allen Treponemenspezifischen AK-Tests und 25 % bei mindestens einem dieser Verfahren<sup>234</sup>. Es konnte allerdings keine Korrelation zu HIV-Stadien aufgezeigt werden. Der Verlust der Testreaktivität trat aber auch bei HIV-Negativen auf, vor allem wenn sie erst spät gegen Syphilis behandelt wurden oder eine Reinfektion hatten<sup>78</sup>.

Diese Ergebnisse zeigen, dass treponemale Tests nicht mehr zuverlässig Auskunft geben über frühere Syphilisinfektionen. Dies scheint v.a. bei HIV-Infizierten (besonders bei voranschreitender Immundysfunktion) der Fall zu sein, aber auch bei HIV-Negativen.

Eine höhere Wahrscheinlichkeit, dass bei HIV-Infizierten mehr biologisch falsch positive (BFP) Reaktionen auftreten (hervorgerufen durch den Zustand der Hypergammaglobulinämie, den die Virusinfektion bewirkt), wird in mehreren Studien dokumentiert<sup>10,104,180</sup>.

So lag die Wahrscheinlichkeit für ein RPR-Ergebnis ein falsch positives zu sein, in einer HIV-positiven Gruppe um ein zwanzigfaches höher (5,8%) als in der HIV-negativen Gruppe (0,2%). Diese sehr große Abweichung von der durchschnittlichen BFP-Rate von ca. 1% in der Normalbevölkerung konnte in dieser Studie nur zum Teil mit intravenösem Drogenkonsum erklärt werden; nach Adjustierung der Daten lag die Wahrscheinlichkeit sogar noch viel höher<sup>10</sup>. Andere Daten belegen eine signifikant höhere BFP-Rate von 3,8% bei HIV-Positiven gegenüber 0,8% bei HIV-Negativen. 10% dieser falsch positiven Reaktionen waren Testergebnisse mit Spiegeln höher als 1/16<sup>180</sup>. Im Gegensatz zu diesen Beobachtungen wird an anderer Stelle demonstriert, dass ein positiver RPR-Wert bei HIV-Infizierten meist keinen falsch positiven, sondern einen richtigen Wert darstellt<sup>183</sup>.

Geht man von einem Zusammenhang zwischen biologisch falsch positiven Reaktionen und der HIV-Infektion aus, so mag es durchaus sinnvoll sein, bei einem positiven RPR eine HIV-Infektion zu vermuten und eine dahingehende Untersuchung zu veranlassen<sup>104</sup>.

#### 1.5.4. Biologisch Falsch Positive Reaktionen (BFP)

Ein Serum, das in der Messung einen positiven nicht-Treponemenspezifischen Testwert ergibt, aber keine Reaktion in den Treponemenspezifischen Tests aufweist, wird als biologisch falsch positiv erachtet<sup>29</sup>. Richtig falsch positive Reaktionen sind auf technische Fehler oder eben das Nicht-Vorhandensein der Krankheit zurückzuführen.

Kardiolipin ist ein saures Diphospholipid, das in der inneren mitochondrialen Wand von Säugetierzellen gefunden wird. Antikörper gegen dieses Kardiolipin werden bei den unspezifischen Tests, den Kardiolipin- oder Phospholipidtests, nachgewiesen, wenn diese durch die Infektion mit den Treponemen, bei denen Kardiolipin freigesetzt wird, vom Immunsystem gebildet werden. Kardiolipin-Antikörper kommen in kleinen Mengen auch bei Gesunden vor. Bei diesen werden sie jedoch normalerweise durch ein inhibierendes Globulin neutralisiert. Wenn dieser Gegenspieler aus welchen Gründen auch immer reduziert ist, können die Testverfahren, die auf dieser Grundlage beruhen, reagieren und eine falsch positive Reaktion die Folge sein<sup>153</sup>. Bei den Treponemenspezifischen Tests wird von einer sehr viel geringeren falsch-positiven Rate ausgegangen, da sich diese spezifisch gegen bestimmte Epitope der Treponemen richten. Ob die Enzymimmunoassays, die sich auf

Antigene der inneren Membran als Reaktionsgegner stützen, ebenfalls unempfindlicher sind, bleibt abzuwarten, ist aber wahrscheinlich. Auch die Evaluation der PCR diesbezüglich steht noch aus<sup>153</sup>.

Je niedriger die Prävalenz der Syphilis in einer Population ist, umso höher ist die Wahrscheinlichkeit, dass ein positiver Kardiolipintest ein falsch-positiver ist. Allgemein wird von einer BFP-Rate von circa 1% in der durchschnittlichen Erwachsenenbevölkerung ausgegangen<sup>139</sup>. Biologisch falsch positive Reaktionen werden in akute – weniger als sechs Monate dauernd - und chronische – länger als sechs Monate dauernde - Ereignisse eingeteilt:

Tabelle 1: Ursachen für biologisch falsch positive Reaktionen (nach <sup>153,190</sup> )	
Ursachen für akute BFP	Ursachen für chronische BFP
<b>Physiologisch</b> Schwangerschaft	<b>Physiologisch</b> Alter Dysproteinämien Lymphoproliferative KH
<b>Spirochäten</b> Leptospirose Rückfallfieber Lyme Krankheit	<b>Mangelzustände</b> Mangelernährung Maligne Erkrankungen Leberzirrhose i.v. Drogenkonsum
<b>Akute Infektionen</b> Windpocken Herpesinfektion Infekt. Mononukleose Toxoplasmose Zytomegalieinfektion Masern Mumps Virale Hepatitis Pneumonie Malaria Akute Sepsis	<b>Chronische Infektionen</b> Tuberkulose Lymphogranuloma venereum Lepromatöse Lepra Malaria Kala-Azar Trypanosomiasis HTLV-1 Infektion HIV/AIDS
<b>Impfungen</b> Typhus Windpocken Gelbfieber	<b>Autoimmunkrankheiten</b> SLE Polyarteriitis nodosa Rheumatoide Arthritis Sjögren Syndrom Mixed connective tissue disease Hashimoto Thyreoditis Hämolytische Anämie Primäre Biliäre Zirrhose Idiopathische Thrombozytopenie

Ein weiteres häufiges Problem ist eine mögliche Kreuzreaktion mit verwandten Mikroorganismen, vor allem mit anderen Spirochäten, wie *Borrelia burgdorferi*. Diese Reaktionen sind vor allem bedingt durch Antikörper, die mit Borrelienantigenen im Bereich von 80, 66, 60, 41 und 39 kD reagieren<sup>86</sup>.

## 1.6. Therapie der Syphilis

Eher klägliche Therapieversuche fanden im 16. bis 19. Jahrhundert mit Quecksilber statt, denen nur eine leichte Verbesserung mit Salvarsan (Arsphenamin = Arsen) zu Beginn des 20. Jahrhunderts folgte. Die Erleichterung war 1943 groß, mit dem Einsatz von Penizillin einen Quantensprung in der Behandlung der Syphilis zu erzielen<sup>149,190</sup>. Die Heilung steht in Relation zur Dosis, den Dosis-Intervallen, dem Beginn und der Behandlungsdauer. Seit der Einführung von Penizillin hat noch keine prospektive kontrollierte Studie über die ideale Dosis und Dauer der Therapie bei Syphilis stattgefunden<sup>1</sup>. Dies liegt unter anderem in der Schwierigkeit, den Erreger nach dem Rückgang der Läsionen in einer Kultur nachweisen zu können. Daher muss auf die Serologie als (einziger) Parameter für Verlauf und Heilung der Krankheit zurückgegriffen werden<sup>177</sup>. Penizillin ist das Standardantibiotikum, aber Alternativen sind z.B. bei Penizillinunverträglichkeit denkbar. Allerdings wurde ein Plasmid entdeckt, das eine genetische Potenz für Makrolid-Resistenz gegen *T. pallidum* birgt<sup>158</sup>. Dieses Ergebnis ist aber bisher nicht reproduzierbar gewesen, so dass immer noch von einem für die Antibiotische Therapie sehr empfänglichen Erreger ausgegangen werden kann. Die Unkenntnis über die nötige Antibiotikakonzentration in Blut und Liquorflüssigkeit und der erfolgenden Elimination oder Persistenz der Bakterien erschweren die Einschätzung, ob eine Heilung eintritt oder nicht<sup>150</sup>. Die erfolgreiche Behandlung hängt von einem ausreichend lang anhaltenden adäquaten Medikamentenspiegel in den Geweben zur Elimination des Erregers ab. Penizillin wird intravenös verabreicht, da peroral nur unzureichende Spiegel im Blut erreicht werden<sup>190</sup>. Wünschenswert ist es, gleichbleibend hohe Konzentrationen in der Liquorflüssigkeit zu erreichen, um der häufigen Dissemination der Treponemen ins ZNS vorzubeugen. Es kann aber nicht davon ausgegangen werden, dass Penizillinspiegel im Liquor gleichzusetzen sind mit der Konzentration im Gehirngewebe<sup>76</sup>.

Die Heilung der Krankheit hängt aber nicht nur von der Wirksamkeit der verabreichten Medikamente ab, sondern auch vom Status des Immunsystems. Diese Erkenntnis gewinnt neue Bedeutung in Zeiten der HIV-Infektion<sup>190</sup>. Der Einsatz der Medikamente ändert sich mit dem jeweiligen Stadium:

### 1.6.1. Frühe Syphilis (Primäres, sekundäres und frühlatentes Stadium)

Das Ziel der Behandlung in diesem Stadium ist das Verschwinden der mukokutanen Läsionen und die Verhinderung ihres Wiederauftretens sowie die Verhinderung von einem Übergang in

die Folgestadien und von Spätfolgen. Das wird mit einer einmaligen Dosis von 2,4 MIU Benzathin Penizillin G (BPG) erreicht. Die serologischen Marker fallen unter dieser Therapie ab<sup>12,177</sup>. Zweifel bleiben, ob bei der serologisch nur unsicher festzustellenden Heilung die empfohlene Dosis ausreicht<sup>150</sup>. Kein anderes Antibiotikum zeigt niedrigere Versagensraten als Penizillin, und keines kann in Depotform appliziert werden, so dass Penizillin die erste Wahl bleibt.

Alternativen sind andere  $\beta$ -Lactam-Antibiotika wie 1g Ceftriaxon täglich über mindestens eine Woche<sup>8,9</sup> mit einer allerdings leicht verminderten Effektivität bezüglich zu erreichender Liquorspiegel<sup>76</sup>. Azithromycin 500mg, ein Makrolid, besticht durch seine hohe Gewebskonzentration und lange Halbwertszeit mit der daraus resultierenden complianten Einnahme (einmal täglich für 10 Tage p.o.)<sup>9,213</sup>. Hingegen erreicht Erythromycin keine guten ZNS-Spiegel und hatte die höchste Nachbehandlungsrate<sup>188</sup>. Tetrazykline wie Doxzyklin erzielen zwar hohe Liquorspiegel, sind aber als Alternativpräparate noch nicht evaluiert.

### 1.6.2. Späte Syphilis (Spätlatentes und tertiäres Stadium)

Therapeutisches Ziel ist es, einen Rückfall mit dem Auftreten sekundärer Symptome sowie spätere Komplikationen wie Aortitis, Neurosyphilis oder Gummen zu verhindern. Die dreimalige Injektion von 2,4 MIU BPG in drei Wochen erreicht zwar keine Treponementötenden Spiegel im ZNS, wurde aber vor der „HIV-Ära“ als ausreichendes antiprogressives Regime beurteilt<sup>12</sup>. Eine Beurteilung ist im spätlatenten Stadium besonders schwierig, da man nicht weiß, ob der Betroffene klinische Symptome entwickelt hätte, wenn er nicht behandelt worden wäre. Insgesamt verlangt diese Periode eine längere Behandlungsdauer, da von einer noch langsameren Teilungszeit der Treponemen und damit längeren Exposition im Organismus ausgegangen wird<sup>76</sup>.

Im Tertiären Stadium zielt die Therapie vor allem auf die Behandlung der Neurosyphilis ab, da über die Wirkung von Medikamenten auf die kardiovaskuläre Syphilis so gut wie nichts bekannt ist<sup>190</sup>. Aufgrund unterschiedlicher Therapieregime ist es nötig, das spätlatente Syphilisstadium vom asymptomatischen neurosyphilitischen abzugrenzen. Hilfreich dabei ist der VDRL-CSF-Test. Die dafür notwendige invasive Lumbalpunktion zur Liquorgewinnung als ideale, aber aufwendige und teure Methode wird nur unter bestimmten Umständen [Auftreten neurologischer Symptome, syphilitische Aortitis, HIV-Infektion, latente Syphilis, Nicht-Ansprechen auf die Therapie (nicht adäquat fallende Spiegel) oder klinisches Behandlungsversagen (ansteigende Titer)<sup>9,177,192</sup>] vorgenommen: Ein klinisch pragmatischer Ansatz geht davon aus, dass eine

Liquoruntersuchung nur wenig zusätzlichen Nutzen im Vergleich zu einer empirischen Therapie mit Penizillin bringt<sup>227</sup>.

### 1.6.3. Therapie bei HIV-Infizierten

Die serologischen Marker sind bei HIV-Infizierten noch schwieriger zu beurteilen. In den letzten Jahren veröffentlichte Fallberichte geben Anlass zu der Meinung, dass die bestehenden medikamentösen Regimes nicht ausreichend sind für gleichzeitig HIV- und Syphilis Infizierte und ein progredienter Verlauf zur Neurosyphilis nicht ausreichend gestoppt wird<sup>79,152</sup>. Ob aber das Behandlungsversagen bei HIV-Infizierten und die raschere Entwicklung einer Neurosyphilis wirklich auf eine nicht ausreichende Therapie oder auf die Immunschwäche selbst zurückzuführen sind, kann noch nicht endgültig beurteilt werden. Daher ist die Anzahl der berichteten Fälle Anlass genug, die bisherigen Richtlinien kritisch zu verfolgen, vor allem weil Neurosyphilis eine seltene Komplikation bleibt, für die es keine prädiktorischen Marker gibt<sup>12,177</sup>.

Aus diesen Gründen und dem Mangel an praktikablen Alternativen haben sich zwei Ansätze herauskristallisiert:

Einmal, bei HIV-Infizierten dieselbe Therapie wie bei HIV-Negativen anzuwenden mit engmaschiger serologischer und klinischer Überwachung und der Möglichkeit der Liquor-Untersuchung bei nicht zufriedenstellenden serologischen Ergebnissen im Verlauf.

Andererseits, die Initialtherapie zu verstärken durch a) den Zusatz von Amoxicillin über 14 Tage, b) die tägliche Injektion von Procaine Penizillin G, oder c) eine Ceftriaxon Dosis oder BPG Dosis zusätzlich zu der empfohlenen Einzeldosis von 2,4 MIU BPG und einer engmaschigen Verlaufskontrolle.

Eine generelle Lumbalpunktion kann – in Gesundheitssystemen mit dem entsprechenden Angebot – in Erwägung gezogen werden. Die Kosten-Nutzen-Analyse ist umstritten. Die Therapie bei konkomitant HIV-Infizierten bleibt daher, bis neue Forschungserkenntnisse vorliegen, die gleiche wie bei HIV-Negativen und richtet sich nach den entsprechenden Stadien<sup>9</sup>. Insgesamt ist ein Trend in Richtung einer stärkeren Therapie zu beobachten, die sich auf die „Analogie zwischen der Ära der Behandlung immunkompetenter Patienten mit wenig wirksamen Medikamenten und momentaner Verabreichung effektiverer Medikamente an immunschwache Patienten“<sup>151</sup> stützt.



#### 1.6.4. Syndromisches Management und Medikation

Die verschiedenen Geschlechtskrankheiten sind sich in ihrer Symptomatik oft sehr ähnlich und unspezifisch. Da aber eine wirksame Behandlung nur möglich ist, wenn der Erreger bekannt ist, versucht man – wie in Ländern mit einem entwickelten Gesundheitssystem üblich – die jeweilige Ursache der Symptome herauszufinden. Oft ist dies aber nur mit Hilfe von aufwändigen und teuren Laborverfahren möglich. Daher versucht man in Ländern mit einem eher unterentwickelten bzw. schlecht ausgestatteten Gesundheitssystem, sich diesem Problem durch die Schaffung eines „Syndromischen Managements“ anzunähern. Dieser mit „syndromatischer Fallvorgehensweise“ oder „fallbezogenen Richtlinien“ zu übersetzende Ansatz trägt der Tatsache Rechnung, dass in diesen Ländern meist weder vor Ort noch in den Krankenhäusern Möglichkeiten gegeben sind, der pathologischen Ursache bzw. dem kausalen Agens, auf den Grund zu gehen. Dies liegt oft an der unzureichenden Ausstattung der Laboratorien. Grund ist aber auch, dass die Patienten nicht auf die oft Tage dauernden Untersuchungen (wie z.B. bebrütete Kulturen) warten oder über das Ergebnis informiert werden können. Daher behilft man sich, in dem bestimmte Symptome möglichen Syndromen, die alle klinisch relevanten Ätiologien inkludieren, zugeordnet werden und die dann mit den entsprechenden medikamentösen Regimes abgedeckt werden. Die Hilfesuchenden erhalten dadurch schon bei der ersten Kontaktaufnahme mit einer medizinischen Gesundheitsinstitution überall die gleiche Therapie<sup>228</sup>. Die konsequente Durchsetzung dieser Vorgehensweise erleichtert die Diagnosestellung und Therapie. Ein weiterer Vorteil ist, dass der einheitliche Algorithmus auch von medizinischem Hilfspersonal durchgeführt werden kann und so mehr Menschen Zugang zu medizinischer Hilfe bekommen. Die prompte Behandlung erhöht zudem die Zufriedenheit der Patienten, ihre Akzeptanz einer Therapie und resultiert in einer verminderten Übertragungsrate.

In dem relevanten Bereich der STIs wird vornehmlich zwischen „Genital Discharge Syndrom (GDS)“, „Genital Ulcer Disease (GUS)“ und „Pelvic Inflammatory Disease (PID)“ unterschieden. Diese Unterteilung wurde in ihrer Validität, Sensitivität und Spezifität in mehreren afrikanischen Studien überprüft, wobei die Ergebnisse die Wichtigkeit und Richtigkeit bestätigten<sup>42</sup>. Die Algorithmen müssen den speziellen Situationen in Ländern und Regionen bezüglich der ätiologischen Erregerverteilung genauso wie der Antibiotischen Resistenzlage angepasst werden. Die syndromische Vorgehensweise bei den Teilnehmerinnen in der untersuchten Population der vorliegenden Arbeit wird unter 3.3 erläutert.

Prostituierte, die besser mit dem Begriff der „female sexworkers (FSW)“ umschrieben werden, da sie oft noch anderen Beschäftigungen (z.B. als Kellnerinnen oder Verkäuferinnen) in den gleichen Etablissements nachgehen, sind einer der wichtigsten Zielgruppen von Public Health Maßnahmen und des syndromischen Managements. Sie werden in Studien, bei denen die syndromische Vorgehensweise mit Diagnose und Behandlung z.B. einer zervikalen Infektion ohne Labortest durchgeführt wird, adressiert<sup>45,154</sup>. Die Prostitution ist eine der wenigen Arbeiten, mit der sich Frauen in Entwicklungsländern eigenständig versorgen können. Interventionen, die ihre Gesundheit fördern, unterstützen nicht nur die Gesundheit der Gesellschaft der jeweiligen Region, sondern sind eine kosteneffiziente Maßnahme in der Prävention von STIs und HIV<sup>39,141</sup>. So werden zum Beispiel in Zambia Heilungsraten bei der auf syndromischen Management basierenden Behandlung bei GDS von 97-98% bei beiden Geschlechtern, und bei GUD von 83% bei den Frauen gegenüber 69% bei den Männern, berichtet<sup>89</sup>. Damit das syndromische Management aber in der Durchführung von den Frauen angenommen wird, sind neben Maßnahmen der primären Prävention die Bereitstellung von kostenlosem STI-Screening und Behandlung in regelmäßigen Intervallen sowie freier Zugang zu allen STI-Services Voraussetzung<sup>117,161</sup>. Studien aus Kenia evaluierten den Effekt von STI/HIV Prävention und anderen unterstützenden Maßnahmen einschließlich der Bereitstellung von Kondomen, Beratung, Screening und Behandlung<sup>13,109</sup>: diese Interventionen führten zu einer signifikanten Reduktion des risikoreichen Sexualverhaltens und schlussendlich auch der STI Inzidenz<sup>71</sup>, besonders dann wenn die Umsetzung unter Einbezug von soziodemographischen Verhaltensfaktoren erfolgte<sup>3</sup>. Nachteile des syndromischen Managements sind die mögliche Über-Diagnostizierung und Über-Therapie bei Patienten, die sich zwar mit einem Syndrom präsentieren, welches aber nicht auf einer erregerbedingten Infektion beruht.

### **1.7. Serologisches Verhalten unter medikamentöser Therapie**

Die klinischen Symptome verschwinden bei den Betroffenen zwar von selbst, dies bedeutet aber keine Heilung, da die im Organismus persistierenden Erreger unbehandelt zu den beschriebenen Spätmanifestationen führen. Daher ist die Serologie nötig, um Aussagen über Dauer, Stadium und Heilung der Infektion zu treffen. Die Serologie ist aber in ihrer

Aussagekraft eingeschränkt durch die limitierte Genauigkeit der Testverfahren, von denen keines einen genauen Aggregatzustand der Infektion wiedergeben kann.

### 1.7.1. Heilung

Nachdem es keine einfache Antwort gibt, wann eine Syphilisinfektion als geheilt betrachtet werden kann, hat man sich für folgende Definitionen von „Heilung“ entschieden<sup>101,149</sup>:

1. *Klinische Heilung*: sie beinhaltet das Verschwinden der Infektiosität, den Rückgang klinischer Symptome sowie die sichere Verhinderung früher und später Rückfälle. Letzteres bedeutet die Eliminierung der Erreger aus Ulzera oder sekundären Läsionen.
2. *Serologische Heilung*: diese wird deutlich an abfallenden Spiegeln sowohl der unspezifischen als auch spezifischen Antikörper-Testverfahren. Da aber die Reaktivität der Tests im Laufe der Krankheit von selber abnimmt, kann dies nicht immer von abfallenden Spiegeln aufgrund der Behandlung unterschieden werden, auch wenn der Abfall bei unbehandelten Patienten meist sehr viel langsamer vorangeht.
3. *Biologische Heilung*: diese umfasst die komplette Eradikation der Erreger aus dem betroffenen Organismus. Wie weit das mittels der Antibiotischen Behandlung gelingt, ist nicht klar. Treponemen persistieren möglicherweise trotzdem im Organismus, zum Beispiel in Phagozyten oder nicht-phagozytischen Zellen<sup>48</sup>.

Es wird ersichtlich, dass die angewandte Therapie meist keine Heilung in allen drei Definitionsbereichen erreicht, was sich dann in späten Rückfällen, nicht erfolgreicher Seroreversion oder nachweislich persistierenden Bakterien im Organismus zeigt.

Nachdem es keinen „Test for Cure“ gibt, werden die Spiegel der indirekten Testverfahren als Marker für eine erfolgreiche Behandlung verwendet<sup>129</sup>. In Follow-Up Abständen von 1,3, 6, 12 und 24 Monaten für Patienten mit früher Syphilis und von 12 und 24 Monaten im späten Stadium (ausgenommen Neurosyphilis) werden die unspezifischen und auch die spezifischen Antikörpertests wiederholt<sup>190</sup>. Bei HIV-Infizierten folgen jährliche Abstandsuntersuchungen nach. Wenn die quantitativen Testergebnisse in diesen Zeitabständen adäquat abfallen (s.u.), geht man von einer Heilung des Patienten aus. Der Abfall im Titer ist abhängig von Stadium, Anfangstiter und der Vorgeschichte. Längere Krankheitsdauer und mehrmalige syphilitische Episoden sind mit einem langsameren Abfall verbunden und weniger wahrscheinlich zu

serorevertieren. [Im Englischen wird deutlich zwischen Serokonversion und Seroreversion unterschieden: letztere bedeutet eine Wandlung von positiv nach negativ zurück, während Serokonversion einen Umschlag von negativ zu positiv meint. Im Deutschen wird nicht so strikt getrennt und der Begriff der Serokonversion meist für beide Möglichkeiten begriffen, die sich aus dem Kontext erklären, während der der Seroreversion eher unüblich ist. In vorliegender Arbeit werden zum besseren Verständnis die englischen Begriffe in deutscher „Übersetzung“ verwendet.] Die Enzym-Immunoassays haben sich zum Monitoring der Behandlung noch nicht etabliert, auch wenn sie in der Praxis diesbezüglich teilweise ihre Anwendung finden<sup>97</sup> und evaluiert werden.

### 1.7.2. Serologisches Verhalten in den verschiedenen Syphilisstadien

Eine der wichtigsten Studien bezüglich des serologischen Verlaufs ist eine retrospektive Analyse von Patienten, die gegen primäre oder sekundäre Syphilis behandelt wurden, von Brown et Zaidi<sup>20</sup>. Sie erstellten Kurven, die den Titerabfall bei den Behandelten beschreiben. Dabei wurde ein Abfall von zwei Verdünnungsstufen innerhalb drei Monaten und von drei innerhalb von sechs Monaten gefunden.

Die Seroreversion erfolgt umso schneller -

- Je kürzer die Krankheitsdauer war
- Je kürzer die Läsion vorhanden war
- Je niedriger der initiale Titer war
- Bei primärer Syphilis bzw. Erstinfektion
- Bei Behandlung mit Penizillin G oder Tetrazyklin

Eine Nachbehandlung wurde nötig, wenn (a) klinische Zeichen wieder auftraten, (b) ein Anstieg von zwei Verdünnungsstufen oder mehr im Titer eines nichttreponemalen Tests auftrat oder (c) ein Titer  $>1/8$  persistierte. Die Anzahl der Patienten, deren Titer langsamer als die aufgestellte 95. Perzentile abfielen, wurde evaluiert: Dies betraf 7% der mit BPG Behandelten, 16% der mit Erythomyzin Behandelten, 46% der schon früher gegen Syphilis Behandelten und 89% von denen, bei deren Behandlung ein klinisches Versagen auftrat. Die kumulative Nachbehandlungsrate betrug 3,8% nach 12 Monaten und 10,7% nach 24 Monaten für eine tägliche Verabreichung von 0,6 MIU Prokain Penizillin über acht Tage. Es ist aber nicht auszuschließen, dass viele der nach 24 Monaten wiederzubehandelnden Patienten reinfiziert waren<sup>76</sup>.

Die Autoren definierten daher folgende Situationen:

- Heilung = symptomfrei nach Therapie,
- Rückfall = Symptomentwicklung ohne Reexposition,
- Reinfektion = Symptome nach Reexposition mit Infizierten.

Die Tatsache, dass die Spiegel der unspezifischen AK-Tests zwar abfallen, aber die Geschwindigkeit bis zu einer eventuellen Seroreversion abhängig ist vom Krankheitsstadium, bestätigt eine retrospektive Arbeit, bei welcher der VDRL nach sechs Monaten immer noch bei 16,7% im primären, 27,5% im sekundären und bei 18,95% im frühlatenten Stadium positiv war. Nach 12 Monaten war dies bei entsprechend 11,38%, 17,25% und 15,79% der Fall, während sich nach 30 Monaten ein reaktives Testergebnis bei immer noch 6,6%, 8,38% und 11,58% zeigte<sup>199</sup>. Bei einem frühen Therapiebeginn im primären Stadium wird also die schnellste Seroreversion erreicht und kann sogar die Entstehung eines seropositiven Stadiums verhindern, während die Betroffenen im latenten Stadium am längsten auf eine serologische Heilung warten müssen. Ebenfalls wird eine Korrelation mit dem Anfangstiter festgestellt: je höher dieser, umso länger bleiben die Spiegel positiv und revertieren langsamer. Im latenten Stadium dauert es trotz niedriger Initialtiter bis zu einer eventuellen Seronegativität am längsten. Daten einer anderen Untersuchung belegen sogar einen noch höheren Prozentsatz an serologisch positiven Nachweisen in diesen Zeiträumen bei primärer und sekundärer Syphilis trotz Therapie<sup>5</sup>.

Eine Kohortenstudie bekräftigt die Annahme, dass die Seroreversionsrate bezüglich des unspezifischen Tests am höchsten bei Patienten mit erstmaliger primärer oder sekundärer Syphilis ist<sup>179</sup>. Der geforderte zwei- bis dreifache Verdünnungsabfall wurde innerhalb von sechs und 12 Monaten beobachtet. Die Seroreversion ist direkt verknüpft mit dem initialen RPR-Titer: Je niedriger dieser, desto besser spricht er in der Serologie an, v.a. im primären Stadium. Bei wiederholten syphilitischen Episoden und bei Patienten, bei denen die Syphilis erstmalig im sekundären oder latenten Stadium diagnostiziert wurde, trat eine Seroreversion selten oder gar nicht auf. Bei Patienten, bei denen im Sekundärstadium die Titer 1/8, 1/16 oder 1/128 waren, war die Wahrscheinlichkeit größer, dass der RPR negativ wurde, während sich die Seroreversion im latenten Stadium nur einstellte, wenn der Initialtiter 1/8 oder kleiner war. Bei vielen Patienten trat keine Seroreversion ein, die Spiegel fielen im unspezifischen AK-Test nur langsam ab, schlussendlich bei allen um das vierfache.

Im Gegensatz zu der bisherigen Annahme, dass Treponemen-spezifische Tests ein Leben lang reaktiv bleiben, erfolgte in dieser Studie bei Patienten mit erstmaliger Syphilis, die im Primärstadium behandelt wurde, eine Seroreversion. Aber keiner der Patienten mit latenter Syphilis wurde seronegativ. Die Autoren relativierten die Parameter einer erfolgreichen Therapie dahingehend, dass ein 2-3facher Verdünnungsabfall innerhalb 6 und 12 Monaten bei primärer und sekundärer Syphilis erfolgen muss, bei Patienten mit latenter Syphilis hingegen ein langsamerer Abfall ausreichend ist.

Eine Studienreihe belegte eine schnellere und umfassendere Seroreversion bei einer Therapie mit der doppelten Dosis an BPG als empfohlen<sup>58-60,62,63</sup>. Alle Patienten im Primärstadium wiesen innerhalb eines Jahres negative Werte auf, alle im Sekundärstadium innerhalb zweier Jahre. Auch bei diesen Untersuchungen dauerte es bei Patienten mit frühlatenter Syphilis am längsten, bis ihre Serologien negativ wurden; bei über 95% geschah dies innerhalb von zwei Jahren und bei allen Betroffenen innerhalb von vier Jahren.

Die Beobachtung, dass die spezifischen treponemalen Tests nicht mehr lebenslang nachweisbar sind, sondern negativ werden, konnte in einer Studie an Patienten, deren Seren im frühlatenten Stadium nach Behandlung untersucht wurden, wiederholt werden<sup>7</sup>. Zum Teil standen die nicht-reaktiven Ergebnisse in den spezifischen AK-Tests zu negativen RPR-Werten im Verhältnis. Der FTA-Abs zeigte sich im Vergleich zum MHA-TP sensitiver und der Seroreversion zugänglicher. Als mögliche Ursache für die Umwandlung der Tests wird auch hier eine im Verhältnis zum Standard verstärkte Therapie angeführt. Generell möchten die Autoren festhalten, dass die Titer nach Behandlung nicht das Stadium der Krankheit reflektieren, in welchem der Patient behandelt wurde.

Ähnliche Parallelen im Verhalten des RPR und TPPA im Follow Up konnte eine andere Studie feststellen<sup>27</sup>: beide Tests zeigten im Zeitverhältnis zur Therapie einen deutlichen Titerabfall. 56% der Patienten mit primärer Syphilis hatten einen substantiellen Abfall, d.h. die RPR-Spiegel sanken um mind. zwei Verdünnungsstufen innerhalb von sechs Monaten. In 26% der Ergebnisse des mit dem MHA-TP und in 70% der des mit dem TPPA gemessenen Seren erfolgte ebenfalls ein derartiger Abfall. Seroreversion war insgesamt nur bei 13% zu beobachten, aber ausschließlich in dem unspezifischen Verfahren. Allen Studienteilnehmern konnte nach einem Jahr ein Abfall um mindestens zwei Verdünnungsstufen im RPR und TPPA nachgewiesen werden. Jeder Patient mit sekundärer Syphilis hatte nach 12 Monaten mindestens eine zweifachen Titerabsenkung im RPR und TPPA, nicht aber im MHA-TP. Die Anzahl derjenigen im Stadium der latenten Syphilis, die einen signifikanten Spiegelabfall hatten, war insgesamt geringer, aber im TPPA und RPR fast gleich.

In Studien, die den Verlauf der IgM-Antikörper beobachteten, wird bei diesen ebenso ein Abfall nachgewiesen. Allerdings erfüllen nicht alle das Kriterium, nach sechs Monaten negativ zu werden. Die Sensitivität im Vergleich zu den Treponemen-spezifischen Testverfahren kann noch nicht beschrieben werden<sup>97</sup>. Eine klare Korrelation zwischen der Höhe der IgM-Antikörper und der Follow-Up Zeit von sechs Monaten nach Behandlung kann

bei einem Abfall der IgM-AK um die Hälfte gefunden werden. Sie fallen nach diesem Intervall noch weiter ab, können aber immer nachgewiesen werden. IgG-Antikörper finden sich noch zu 90 % nach diesen sechs Monaten. Eine Untersuchung bei Patienten mit nur einer singulären syphilitischen Episode konnte bei 77% nach sechs Monaten keine IgM-AK mehr entdecken<sup>163</sup>. Ein Schlussfolgerung ist, dass IgM-AK bald nach Beginn der Therapie (meist innerhalb von Wochen bis Monaten) nicht mehr produziert werden, während die IgG-Synthese anhält. Die Dauer der FTA-Abs-IgM-Reaktivität nach Behandlung ist abhängig vom Krankheitsstadium, aber alle Seren reagieren negativ mit der Zeit. Andere Forschungen konnten einen kürzeren Zeitraum mit einem Mittel von 3,4 Monaten für den erwarteten vierfachen Abfall beim IgM-FTA-Abs demonstrieren<sup>138</sup>. IgM-Antikörper verschwinden laut dieser Studie bei primärer Syphilis innerhalb von 3-12 Monaten und innerhalb von 2-22 Monaten bei sekundärer Syphilis nach Behandlung. Im latenten Stadium reagieren die Testansätze hingegen noch positiv. Jeder bemerkenswerte Abfall von IgM-AK wird dann als Therapieerfolg gewertet.

In der späten Phase der Syphiliserkrankung ist der Titerabfall in den nicht-spezifischen Antikörpertests verlangsamt und abgestuft<sup>190</sup>. Eine Studie demonstriert, dass circa 30% der Patienten mit spätlatenter Syphilis keinen vierfachen Abfall der unspezifischen Spiegel 12 Monate nach Therapiebeginn vorfinden können<sup>74</sup>. Andere wiederum beobachten bei 95% der Patienten in diesem Stadium einen solchen Abfall<sup>132</sup>. Niedrigpositive Titer bei bis zu 50% der Betroffenen nach zwei Jahren seien häufig, stellen ein normales serologisches Verhalten in diesem Stadium dar und seien nicht als Zeichen für Reinfektion oder Behandlungsversagen mit anschließender Nachbehandlungsindikation zu werten, sagen andere Autoren<sup>57,123</sup>. Sogar nach erfolgter Nachbehandlung können diese niedrigen Titer beständig vorhanden bleiben.

### 1.7.3. Therapieversagen

Es gibt keine Ergebnisse, die eindeutig ein Behandlungsversagen definieren. Generell gilt eine Therapie als nicht erfolgreich, wenn die Definitionen der klinischen und serologischen Heilung nicht erfüllt sind. Da wiederum im natürlichen Verlauf der Krankheit die klinischen Symptome schneller zurückgehen, wird ein Patient als geheilt angesehen, wenn die serologischen Ergebnisse niedriger werden oder negativ werden. Formelle Kriterien für ein Behandlungsversagen schließen mit ein (nach <sup>82</sup>):

- a) der Patient hat klinische Zeichen oder Symptome, die syphilisverdächtig sind
- b) es erfolgt ein Titeranstieg um zwei Verdünnungsstufen in unspezifischen AK-Tests
- c) ein positiver VDRL- oder RPR-Test persistiert noch ein Jahr nachdem der Patient gegen primäre Syphilis behandelt wurde oder zwei Jahre nach sekundärer Syphilis.

Ein Abfall um zwei und um drei Verdünnungsstufen nach drei respektive sechs Monaten gilt als früher Indikator für eine erfolgreiche Behandlung<sup>20,179</sup>. Dieser serologische Verlauf kann oft nur bei erstmalig Infizierten, die frühzeitig im Primärstadium behandelt wurden, beobachtet werden. Bei Patienten mit latenter Syphilis oder mit früheren Episoden ist diese Aussage weniger zutreffend. Seropositivität auf niedrigem Niveau muss aber noch keine Indikation für eine Nachbehandlung sein<sup>56,199</sup>. Eine erneute Therapie ist indiziert bei einem Titeranstieg oder persistierend hohem Titer, während eine kurzzeitig positive Serologie bei schon erfolgter Seroreversion kein Behandlungsversagen bedeuten muss, sondern wahrscheinlich mit der Anzahl der inokulierten Treponemen und deren Verhalten verknüpft ist<sup>199</sup>: Ist die Antikörperantwort verzögert, können beim Betroffenen erst negative Ergebnisse getestet werden, bevor sein Serum positiv reagiert, dann kann sich dieses Verhalten über die Behandlung hinziehen. Eine weitere mögliche Definition von Behandlungsversagen ist ein vierfacher RPR-Titer Anstieg nach Therapie ohne Reexposition<sup>179</sup>.

Bei einer Studie auf Madagaskar entschied man sich, dass ein positiver RPR-Wert sechs Monate nach adäquater Behandlung eine Indikation für eine Wiederholung der Medikamentengabe mit zwei Dosen 2,4 MIU Benzathin Penizillin G sei<sup>17</sup>. Dieses Vorgehen muss allerdings unter den besonderen Umständen eines Gesundheitssystems gesehen werden, in dem nur der RPR-Test als Aktivitäts- und Kontrollmarker genutzt werden kann.

Andere Autoren beurteilen die Seroreversion als Gradmesser für die Effizienz der Therapie nicht als notwendige Voraussetzung. Ein stabil niedriger Titer im Stadium der frühen Latenz wird ebenso als Heilung betrachtet<sup>129</sup>. Persistierende Treponemen provozieren nämlich einen permanent niedrigen Level der Antigenstimulation, die bei Kontrolle der Infektion durch das Immunsystem mit einem Abfall der Antikörper verbunden ist. Es fehlen Prädiktoren, die Versagen oder Heilung beurteilen. Eine statistische Methode soll dem Abhilfe schaffen: diese basiert auf der Beobachtung, dass die individuelle serologische Antwort eine lineare Funktion der Zeit zu sein scheint. Werden nun die Titer der RPR-Testergebnisse der ersten Monate nach Behandlung gesammelt und angemessen dargestellt (beide Achsen müssen logarithmisch sein), kann der Abfall dieser Kurve als prädiktorischer Wert für eine



Seroreversion genutzt werden. Der Arzt kann damit schon zu einem frühen Zeitpunkt sehen, ob der Patient adäquat auf die Therapie anspricht<sup>181</sup>.

Behandlungsversagen, das sich klinisch mit Rückkehr, Persistenz oder Progredienz der Symptome präsentiert und sich serologisch durch einen ansteigenden Antikörpertiter darstellt, sind eher seltene Ereignisse. Aber selbst wenn solche Situationen nicht auftreten, garantiert dies nicht die Verhinderung von Spätfolgen oder die biologische Heilung der Betroffenen. Ohne die Möglichkeit, die Elimination der Erreger aus dem Organismus als Kriterium für Heilung festzustellen, bleibt nur die Beobachtung und Beurteilung des serologischen Verlaufs. Die Strenge der Kriterien bezüglich des Abfallens der Titer können bei der Menge an unterschiedlichen Aussagen und Beobachtungen in Frage gestellt werden<sup>129</sup>. Was „akzeptabel“ ist, ist weiterhin Gegenstand aktueller Untersuchungen und Diskussionen<sup>12</sup>.

#### 1.7.4. Reinfektion/ Rückfall/ Reaktivierung

Die Frage nach Nachweises und Beurteilung einer Reinfektion, hat sich mit dem Aufkommen der ELISA-Techniken seit Mitte der 70 Jahre verstärkt, weil durch sie eine abgestufte Beurteilung des Immunstatus des Betroffenen möglich ist. Mit der HIV-Infektion und ihrer Wechselwirkung mit Syphilis haben die Fragen nach Reinfektion/ Rückfall/ Reaktivierung neue Brisanz gewonnen.

Die Definition einer Reinfektion kann anhand neu auftauchender klinischer Manifestationen erfolgen oder anhand serologischer Ergebnisse. Eine übliche Definition bestimmt Reinfektion als das (Wieder-)Auftreten von Symptomen nach Reexposition mit Infizierten<sup>20</sup>. Bisher ging man davon aus, dass Treponemen-spezifische Testverfahren lebenslang positiv bleiben und daher keine Indikatoren einer erneuten oder Reinfektion sein können. Auch ein Rückfall oder eine Reaktivierung während einer syphilitischen Episode würden anhand dieser Marker unentdeckt bleiben. Neuere Untersuchungen zeigen nun, dass auch diese Testverfahren negativ serorevertieren können<sup>7,179</sup>. Meist tritt die Seroreversion aber nur bei einem kleinen Prozentsatz und bei dem erst nach einem Zeitraum von mehreren Jahren auf, so dass diese Ergebnisse als nicht verwendbar für die Beurteilung von Reinfektion oder Rückfall der gegenwärtigen Infektion herangezogen werden können. Neuere Untersuchungen müssen zeigen, ob auch in dieser Hinsicht eine Reevaluation erfolgen muss.

Fallen die Spiegel der unspezifischen Testverfahren nicht in dem erforderlichen Maße ab bzw. werden nicht negativ, so wird meist von Behandlungsversagen ausgegangen. Lang anhaltende niedrigpositive Titer können aber stadienabhängig und Folge von spätem Therapiebeginn oder anderen intervenierenden Ereignissen sein und sprechen nicht zwingend für eine noch/ neu behandlungsbedürftige Syphilis. Im Umkehrschluss des geforderten Titerabfalls von mindestens zwei Verdünnungsstufen wird bei einem solchen Anstieg während der Behandlungsphase von einer Reinfektion, einem Rückfall oder einer Reaktivierung ausgegangen. Eine Differenzierung dieser drei Möglichkeiten ist aber anhand der gängigen Testverfahren nicht sicher möglich, wenn auch die Reinfektion die wahrscheinlichste Ursache ist<sup>101,224</sup>. Als möglicher Hinweis mag gelten, dass die Spiegel der lipoidalen Antikörper während der Phase einer Reinfektion durchgehend höher sind als in der Primärepisode und die serologische Reaktion langsamer erfolgt<sup>56</sup>. Meist fehlen aber die für diese Einschätzung nötigen anamnestischen Vorkenntnisse. Ereignisse wie eine eintretende Schwangerschaft, Autoimmunkrankheiten oder immunsupprimierende Erkrankungen oder Medikamente können einen Einfluss auf die Reaktion haben, so dass die Testwerte höher sind, ohne dass von einer echten Reaktivierung ausgegangen werden muss.

Der spezifischste Indikator für eine Neu- oder Re-Infektion ist das Auftauchen von IgM-Antikörpern als Marker der frühesten spezifischen Immunantwort. Ihre Halbwertszeit beträgt circa fünf Tage. Ein Stopp der Krankheit bzw. eine Heilung geht normalerweise mit dem Verschwinden der IgM-Antikörper einher, es sind aber positive IgM-Spiegel in den sekundären und latenten Stadien nachgewiesen worden<sup>97,138</sup>. Eine anhaltende IgM-Synthese ist ein Zeichen einer dauernden Antigenstimulation im Organismus<sup>129,198</sup>, ohne dass eindeutig zu sagen ist, wie sehr das Immunsystem die Infektion kontrolliert. Eine Schlussfolgerung kann folgendermaßen lauten<sup>163</sup>: Patienten, bei denen keine IgM-Antikörper nachweisbar sind, können demzufolge behandelt und kuriert sein oder nicht infiziert. Es ist kein therapeutisches Eingreifen nötig. Patienten mit nachweisbaren IgM-Antikörpern können sowohl unbehandelt, unadäquat behandelt, kürzlich behandelt oder reinfiziert sein. In diesen Fällen ist eine medikamentöse Intervention indiziert. Verschwinden die IgM-Antikörper nach der Nachbehandlung, kann dies als Bestätigung der Diagnose Reinfektion aufgefasst werden. Positive Testergebnisse in IgM-EIAs erlauben also a) die Diagnose aktive Syphilis, und b) die Differenzierung zwischen latenter Syphilis, Reinfektion und atypischer Syphilis<sup>138</sup>. Auf Basis eines solch positiven Tests soll auch die Unterscheidung Reinfektion (positiver IgM-AK Nachweis) und Rückfall (kein Nachweis von IgM-AK) erfolgen können. Verkompliziert wird

die Sache dadurch, dass bei Patienten mit Zwei- oder Mehrfachinfektion die in vivo Synthese der IgM-Antikörper durch die Neubildung der IgG-Antikörper blockiert werden kann. Die Anzahl letzterer steigt durch die Boosterung präformierter IgG-Antikörper, den Gedächtniszellen, stark an. So kann es auch der Fall sein, dass bei einer erneuten zweiten Infektion IgM-Antikörper gar nicht nachgewiesen werden können oder sich aber erst mit einer zeitlichen Verzögerung im Serum zeigen<sup>146</sup>.

#### 1.7.5. Einfluss einer HIV-Infektion

Die HIV-Infektion beeinflusst auch die serologische Reaktion unter medikamentöser Therapie<sup>152</sup>: Untersuchungen, die gleiches serologisches Verhalten bei HIV-Positiven und –Negativen festgestellt haben<sup>19,79,202</sup>, stehen Studien gegenüber, die für HIV-Infizierte eine höhere Wahrscheinlichkeit für atypisches Verhalten festgestellt haben<sup>123,132</sup>.

Bei einer Studie, bei der dual Infizierte mit nur Syphilisinfizierten bezüglich ihres serologischen Verhaltens nach Behandlung verglichen wurden, wurde bei den HIV-Positiven ein geringerer Anteil gefunden, die eine signifikante Verbesserung im Sinne eines Titerabfalls um zwei Verdünnungsstufen erfuhren<sup>230</sup>. Und dies, obwohl die HIV-Infizierten eine höhere therapeutische Dosis (dreifache Dosis BPG) erhielten. Wenn ein Absinken des RPR-Spiegels erfolgte, war dieses langsamer als bei den „nur Syphilisinfizierten“, vor allem wenn die Titer niedrig waren. Der Unterschied war nicht so groß in den Gruppen mit Titern  $> 1/32$ . In einer retrospektiven Fall-Kontroll-Studie erfüllten nur 53% der HIV-positiven Patienten mit primärer Syphilis das Kriterium „Serologische Heilung“<sup>201</sup>. Kein signifikanter Unterschied konnte in der Gruppe mit sekundärer Syphilis festgestellt werden, sowohl Behandlungsversagen als auch Heilung waren bei HIV-Positiven und –Negativen ähnlich verteilt.

Eine randomisierte Studie konnte keinen Nachweis erbringen, dass eine stärkere Dosierung bei HIV-Infizierten einen schnelleren serologischen Abfall zur Folge hatte<sup>178</sup>. Allerdings fielen die RPR-Titer langsamer ab, und auch serologisch definiertes Behandlungsversagen trat bei HIV-Infizierten öfter auf. Klinisches Therapieversagen war hingegen bei HIV-Positiven wie -Negativen unüblich. In einer anderen Arbeit wurde immerhin eine Rate von 18% an Behandlungsversagen oder Rückfall bei HIV-Infizierten dokumentiert<sup>132</sup>. Diese Beobachtungen waren nicht mit der CD4-Zellzahl oder einem speziellen medikamentösen

Regime assoziiert. Sie traten vor allem bei Betroffenen im sekundären Stadium auf. Die VDRL-Titer fielen unter der Therapie in fast allen Fällen ab.

Bei einer anderen Arbeit fiel kein signifikanter Unterschied der serologischen Antwort zwischen HIV-positiven und HIV-negativen Prostituierten auf<sup>74</sup>. Es erfolgte eine Unterteilung in hoch- ( $>1/8$ ) und niedrigtitrige ( $<1/8$ ) Gruppen. Als adäquate serologische Reaktion auf die Therapie wurde ein vierfacher Abfall in der ersteren und ein negatives RPR-Ergebnis in der letzteren Gruppe definiert. Der RPR-Titer war ebenso wie der TPHA-Spiegel bei den HIV-Positiven geometrisch gesehen durchschnittlich niedriger. Es konnte kein signifikanter Unterschied bei den RPR-Titern zu den Zeitpunkten 6, 12 und 24 Monate zwischen der hoch- und niedrigtitrigen Gruppe bezüglich des HIV-Status demonstriert werden.

In dieser Studie herrschten hauptsächlich niedrige Titer vor. Wahrscheinlich handelte es sich bei den Teilnehmerinnen meist um Patientinnen im spätlatenten Stadium, die bei dem Ausüben einer risikoreichen sexuellen Beschäftigung die Infektionen schon vor längerer Zeit erworben hatten. Ein weiteres Argument für die Stadienzuordnung ist der langsame Abfall des RPR-Titers, der im frühen Stadium typischerweise schneller und bei mehr Patienten hätte erfolgen müssen. Übereinstimmend mit anderen Studien wird demonstriert, dass niedrige Anfangstitere zu einer schnelleren Seroreversion tendieren als hohe<sup>20,179,199</sup>.

Man geht also bei HIV-Infizierten von einem zwar verlangsamten, aber insgesamt doch gleich gutem serologischem Ansprechen auf die Therapie aus<sup>9</sup>. Der Verlust der Reaktivität in Treponemen-spezifischen Testverfahren wird sowohl bei HIV-Negativen als auch -Positiven gefunden. Es war nicht möglich, eine Assoziation zwischen dem Verlust der Reaktivität und dem HIV-Serostatus herzustellen<sup>7</sup>.

## **1.8. Prävention und Kontrolle**

Die von Parran 1937 verfasste Strategie zur Eindämmung der Syphilis umfasst die Punkte

- 1) Öffentliche Erziehung und Bildung
- 2) Screening
- 3) Klinische Diagnose und Therapie
- 4) Partnerbehandlung
- 5) Prophylaktische Behandlung<sup>166</sup>.

In abgewandelter und erneuerter Form basierend auf neuen Erkenntnissen und Studien gelten diese Grundsätze immer noch. Public Health Maßnahmen sind besonders wichtig, um der Bevölkerung die Folgen von Syphilis und anderen Geschlechtskrankheiten verständlich zu machen. Das Bewusstsein, dass eine sexuell erworbene Krankheit oft noch eine zweite oder dritte mit sich ziehen kann, muss früh in den Köpfen verankert werden. Denn eine davon kann HIV sein.

Eine wichtige Studie vergleicht den Einfluss auf die Senkung der HIV-Inzidenz bei a) reiner Verhaltensintervention, b) Verhaltens- plus STI-Therapieintervention (mit syndromischen Management) und c) einer Kontrollgruppe unter dem Einfluss von staatlichen Vorsorgeprogrammen<sup>105</sup>. Die HIV-Inzidenz konnte in keiner Gruppe signifikant gesenkt werden. Die Inzidenz von aktiver und hochtitriger Syphilis differierte kaum in den Gruppen a) und b), fiel aber in den Jahren des Beobachtungszeitraumes ab. Die Autoren erklären diese teils widersprüchlichen Aussagen unter anderem mit dem dilutierenden Effekt durch die Verteilung von Kondomen und dem Angebot der HIV-Beratung und -Testung. Durch die niedrige HIV-Inzidenz war zudem die untersuchte Gruppe zu klein. Klar herausgestellt wird die Tatsache, dass nicht die Art der Intervention, sondern die Eigenheiten der Population und der Region, wie z.B. Antibiotika-Resistenzen, maßgebende Faktoren sind und die Algorithmen dementsprechend angepasst werden müssten. Die Art der Verhaltens- als auch therapeutischen Interventionen muss daher sorgfältig den lokalen Gegebenheiten angepasst werden.

Das Screening hat das Ziel der Aufdeckung klinisch nicht symptomatischer Fälle, also meist Betroffene im latenten Stadium, der Prävention von kongenitaler Syphilis, der Prävention von komplikationsreichen Spätfolgen und der Reduktion der Transmission. Durch eine Reduzierung der Übertragung von Syphilis, wird auch die Transmission von HIV gesenkt. Massenscreening bleibt in Ländern mit hoher Prävalenz immer noch eine notwendige Maßnahme, während sie in solchen mit niedriger Prävalenz als nicht mehr kosteneffektiv gilt. Besonderes Augenmerk muss auf Risikogruppen gerichtet werden. Durch den Einsatz von einer einmaligen Dosis Benzathin Penizillin konnte das Risiko eines komplikationsreichen Schwangerschaftsverlaufs bei Syphilisinfizierten Müttern in Tansania gesenkt werden<sup>220</sup>. Syphilis agiert zudem immer noch als Surrogatmarker für andere STIs und HIV<sup>190</sup>.

Je schneller die richtige Diagnosestellung erfolgt und die entsprechende Therapie eingeleitet wird, umso geringer ist das Risiko von Komplikationen<sup>94</sup>. In Folge sinkt auch die Übertragungsrate. Die Schwierigkeit der richtigen Diagnose erfordert Fortbildungen im

ärztlichen Bereich, um die Komplexität der serologischen und klinischen Befunde zu diskutieren, aber auch nicht zuletzt um das Bewusstsein für das Vorhandensein von Syphilis zu schärfen. Die Entwicklung eines neuen schnellen und sicheren Testverfahrens sowie die Herstellung eines einfach zu verabreichenden Medikamentes mit hoher Compliance und Wirksamkeit stehen dabei auf der Wunschliste der Syphilologen.

Erneute verstärkte Anstrengungen aller Verantwortlichen sind nötig, um dem verstärkten Wiederauftreten der Syphilis und anderer sexuell übertragbarer Krankheiten zu begegnen. Die erfolgte Gensequenzierung kann zu einem besseren Verständnis der immunologischen Abläufe führen. Der Einsatz von longitudinalen Studien, die alle Krankheitsstadien in ihrem klinischen und serologischen Verlauf beobachten und evaluieren, ist ein wichtiges Glied in der Kette zur Beherrschung dieser lang bekannten Krankheit. Der Mangel an sicheren Parametern zur Feststellung der Heilung fordert die Entwicklung neuer Testverfahren. Der wichtigste Schritt zu Senkung der Inzidenz ist die Aufklärung über Ansteckung und Entstehung der Syphilis, sowie generell der sexuell übertragbaren Krankheiten.

„Weiterhin sollte uns allen bewusst sein, dass eine weitere Erschwerung durch die begrenzten medizinischen Ressourcen und fehlenden Alternativen in den Entwicklungsländern hinzu kommt, mit der die Mehrzahl dieser Patienten konfrontiert sind“<sup>210</sup>.

## **2. Problemstellung und Zielsetzung der Doktorarbeit**

### **2.1. Problemstellung**

Infektionskrankheiten bleiben eine Krankheitsgruppe mit hoher Inzidenz und Prävalenz besonders in afrikanischen Ländern, die vor allem von HIV-Epidemien betroffen sind. Sexuell übertragbare Infektionen beeinträchtigen nicht nur wegen ihrer Triggereigenschaft für die Übertragung von HIV, sondern auch in ihren krankheitseigenen Auswirkungen die Gesundheit und Produktivität der Bevölkerung. Speziell Risikogruppen wie Prostituierte, die oft als Transformationsgruppen zur Normalbevölkerung dienen, sind daher als Zielgruppen für Studien geeignet.

Die bakterielle Syphilis als initial ulzeröse Infektion gehört zu den häufigeren und bedrohlichen sexuell übertragbaren Krankheiten. In ihrem scheinbar selbstlimitierenden Verlauf, bei dem keine fortdauernde Immunität gebildet wird, können die latenten und späten Phasen oft nur noch durch die Serologie nachgewiesen werden. Mit den Aussagen der herkömmlichen serologischen Testverfahren kann oft keine Einordnung der Infektion getroffen werden. Es sind Folgeuntersuchungen in zeitlichen Abständen nötig, um eine Unterscheidung zwischen akuter, latenter oder abgeheilter Infektion herauszufinden sowie um eine Aussage über den Verlauf der Krankheit zu treffen. Diese zeitliche Beobachtung sowie eine Nachverfolgung der Patienten erfolgt in afrikanischen Ländern aufgrund reduzierter Ressourcen meist nicht, hier werden Diagnosestellung und Therapieentscheid oft in derselben Stunde getroffen.

Neue Testverfahren sollen die Syphilisdiagnostik verbessern. Vor allem Enzym-Immunoassays, die die IgM-Antikörper der frühen Immunantwort aufdecken, sind Gegenstand zahlreicher Studien. In vorliegender Arbeit werden in einer longitudinalen Untersuchung einer afrikanischen Hochrisikopopulation verschiedene serologische Verfahren in ihrem Verlauf beobachtet. Anhand der Ergebnisse der „Standardmethoden“ RPR + TPPA bei über 100 mit Syphilis infizierten Frauen, die über 15 Monate beobachtet wurden, werden verschiedene klinische Situationen definiert. Dazu gehören Fragestellungen wie Neuinfektion und Reinfektion/ Rückfall, Biologisch Falsch Positive Reaktionen, Heilung und Therapieversagen. An ausgewählten Fällen dieser Gruppen wurde der zusätzliche Informationsgewinn durch den IgM-FTA-ABS + IgM-INNO-LIA evaluiert.

### 2.3. Fragestellung und Zielsetzung

Die serologischen Daten der Basiserhebung geben einen Überblick über den Infektionszustand der Kohorte. Anhand des serologischen Verlaufs des RPR-Screeningtests und des TPPA-Tests als definierte „Standardmethode“ werden verschiedene klinische Gruppen gebildet, denen die Frauen zugeordnet werden. Aus diesen Gruppen werden Studienteilnehmerinnen ausgewählt, deren Testergebnisse in ihrem serologischen Verlauf den Gegenstand dieser Doktorarbeit bilden. Bei diesen Frauen wird ihr Blut in bestimmten Zeitabständen zusätzlich mit dem

1. RPR-Test im Tropeninstitut der Uni Antwerpen,
2. IgM-FTA-ABS-Test im Tropeninstitut Antwerpen
3. IgM-INNO-LIA, ein Banden-Immunoassay, der in einem In-house-Verfahren des Tropeninstitutes Antwerpen modifiziert wurde, untersucht.

Die grundsätzliche Fragestellung ist, ob die zusätzlichen Testverfahren den Untersuchern andere Informationen über die Aktivität und den Verlauf bei einer Infektion mit *T. pallidum* und über die klinische Einordnung geben. Anhand der Ergebnisse dieser Testverfahren sollen

- die Gesamtsensitivität des IgM-INNO-LIA und des IgM-FTA-ABS dargestellt,
- der Verlauf der verschiedenen Testverfahren verglichen,
- die Aussagekraft der etablierten Testkombination (RPR + TPPA) bezüglich der Zuordnung zu den klinischen Gruppen
  - o in Kombination mit einem bekannten Treponemen-spezifischen IgM-Antikörpertest (FTA-ABS)
  - o in Kombination mit einem neuen Treponemen-spezifischen IgM-Antikörpertest (IgM-INNO-LIA) untersucht und
- der zusätzliche Informationsgewinn durch den IgM-INNO-LIA analysiert werden.



## **3. Material und Methoden**

### **3.1. Studiensetting**

Vorliegende Arbeit ist eingebettet in die Forschung der HIV-Superinfection Study (HISIS) – Studiengruppe der Ludwig-Maximilian-Universität München und in ein Forschungsprojekt der London School of Hygiene and Tropical Medicine (LSHTM) zur Epidemiologie und Kontrolle von ulzerösen sexuell übertragbaren Krankheiten und deren Interaktion mit HIV. Die übergeordnete Forschungsrichtung der HISIS zielt auf die Auswahl von geeigneten HIV-Impfkandidaten und –Studien. Die Studie wurde von der Kommission für Wissenschaft und Technologie und dem Nationalen AIDS Kontrollprogramm der Vereinigten Republik von Tansania als auch von dem Medizinischen Forschungskomitee in Mbeya eingesehen und genehmigt.

### **3.2. Studien Population**

Im Rahmen der HISIS-Studie wurde zwischen September und Dezember 2000 eine Kohorte von 600 Frauen aus einer Population mit hohem Risiko für HIV und sexuell übertragbare Krankheiten ausgewählt. Die Auswahlkriterien waren

- a) weibliches Geschlecht,
- b) Beschäftigung in einer modernen oder traditionellen Bar [in einer traditionellen Bar wird selbstgebrautes Bier (Pombe) verkauft, sie wird meist von ärmeren Menschen besucht als eine moderne Bar, in der Handelsbier und Softgetränke angeboten werden], einem Restaurant oder einem Motel und
- c) Alter zwischen 18 und 35 Jahren.

In der Vorbereitungsphase der Studie Juni bis August 2000 wurde ein Überblick über die sozialen Verhältnisse in 15 Gemeinden entlang des TAZA-Highways (Tansania – Zambia Highway) gewonnen. In diesen in die Studie aufgenommenen Orten arbeiten mehr als 2000 Personen, davon 83% weiblichen Geschlechts, als Bedienungen bzw. Angestellte in 544 Einrichtungen, die sich in 262 Bars, 97 Motels ("Guesthouses"), 61 Restaurants und 124 lokale Bierausschankstellen („Pombeshop“) aufteilen. Eine Kohorte von 600 Frauen wurde aus diesen Etablissements rekrutiert. Das Durchschnittsalter der Frauen betrug 25,3 Jahre.

Auch wenn die Mobilität dieser Population hoch angesetzt werden kann, treten die Veränderungen bezüglich der Wohn- und Wirkstätte meist innerhalb der ausgewählten 20 Plätze (HTA = „High Transmission Areas“) aufgrund ihrer Vorzüge wie Nähe zur Strasse, zur Stadt, zu Handel auf. Daher konnten die meisten Frauen der Kohorte auch nach Umzug oder Wechsel des Arbeitsplatzes weiterverfolgt werden.

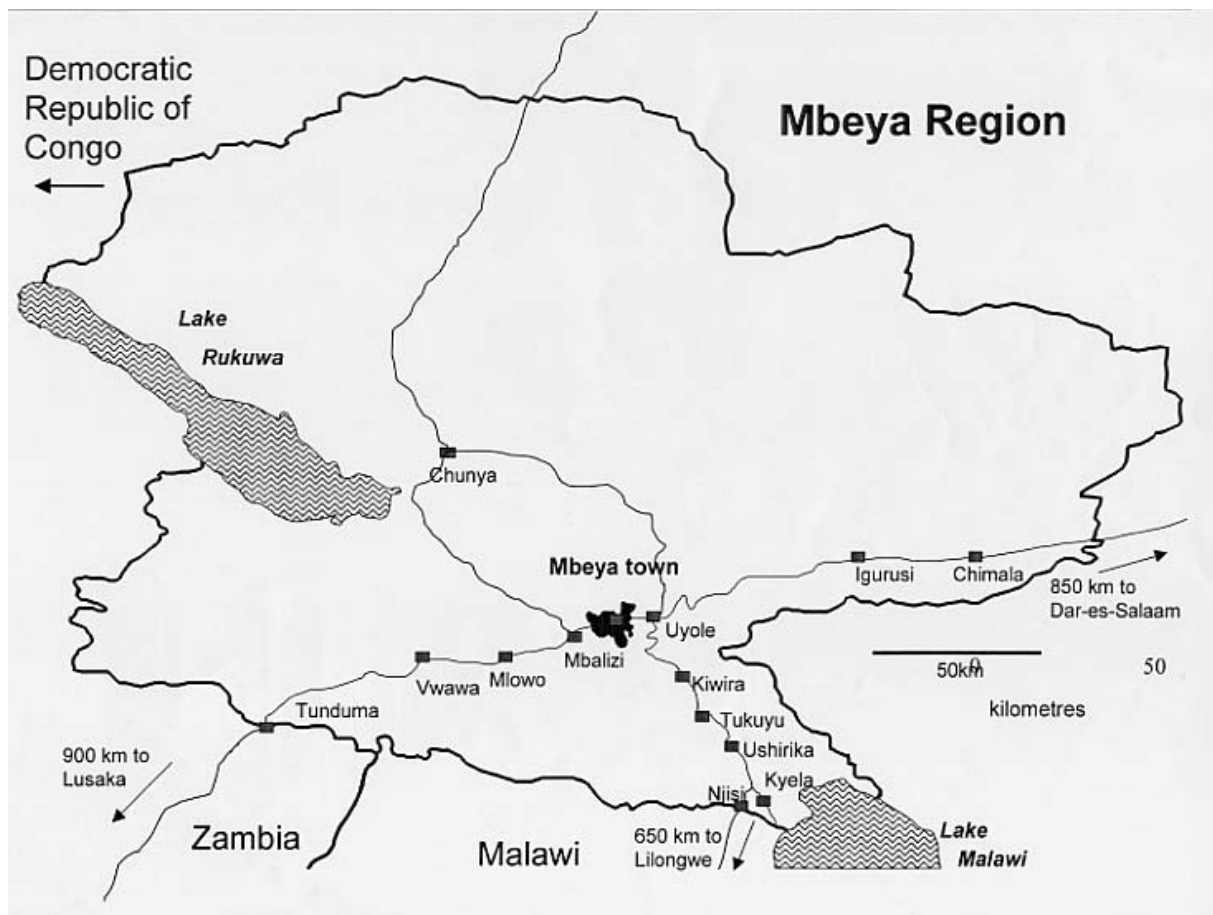


Abb. 3: Die Region Mbeya mit den HTAs

### 3.3. Studiendurchführung

Wöchentlich wurde Dienstags und Donnerstags je ein ausgewählter Platz besucht. Bei 20 Orten dauerte eine Follow-Up Runde 10 Wochen, nach einer ein- bis zweiwöchigen Pause begann die nächste, so dass die Frauen etwa alle drei Monate untersucht wurden. Geplant waren im ganzen 10 Runden, die aus einer Basiserhebung, dem Follow-Up 0, und anschließenden neun Follow-Up Runden bestanden.

Zum Zeitpunkt, an dem die Daten für diese Arbeit gesammelt wurden, waren die Untersuchungen und Erhebungen bis einschließlich F5 abgeschlossen. Aus diesem Zeitraum sind alle für vorliegende Untersuchung relevanten Daten miteinbezogen. Die Bezeichnungen S1 bis S6, die in einigen der Tabellen zu finden sind, beziehen sich auf die Bezeichnung „study round“, für welches das „S“ steht, und sind gleichbedeutend mit den Follow Ups F0 bis F5.

Frauen, die an zwei aufeinanderfolgenden Runden nicht teilnahmen, schieden aus der Studie aus. Sie wurden, genauso wie Frauen, die starben, oder Frauen, die sich entschieden, nicht mehr an der Studie teilzunehmen, durch andere Personen, welche die Auswahlkriterien erfüllten, ersetzt. Es gab Kontaktpersonen vor Ort, die für die Kommunikation zwischen den Projektleitern und den Frauen zuständig waren. Die Identität der Studienteilnehmerinnen wurde durch eine Identifikationskarte mit Bild und der Zuteilung einer auf der Karte festgehaltenen laufenden Identifikationsnummer gesichert. So konnten auch Frauen, die umzogen, eindeutig zugeordnet werden. Jede teilnehmende Frau unterschrieb einen „informed consent“, in dem sie nach detaillierter Information zum Ablauf der Studie und zu den Risiken ihr Einverständnis zur Befragung und Untersuchung gab.

Für die Behandlung von sexuell übertragbaren Krankheiten wurde in diesem Projekt das in Tansania und anderen Entwicklungsländern übliche „*syndromic management*“ angewendet (vgl. Punkt 1.6.4) und in Anpassung an lokale Besonderheiten nach folgendem Schema vorgegangen:

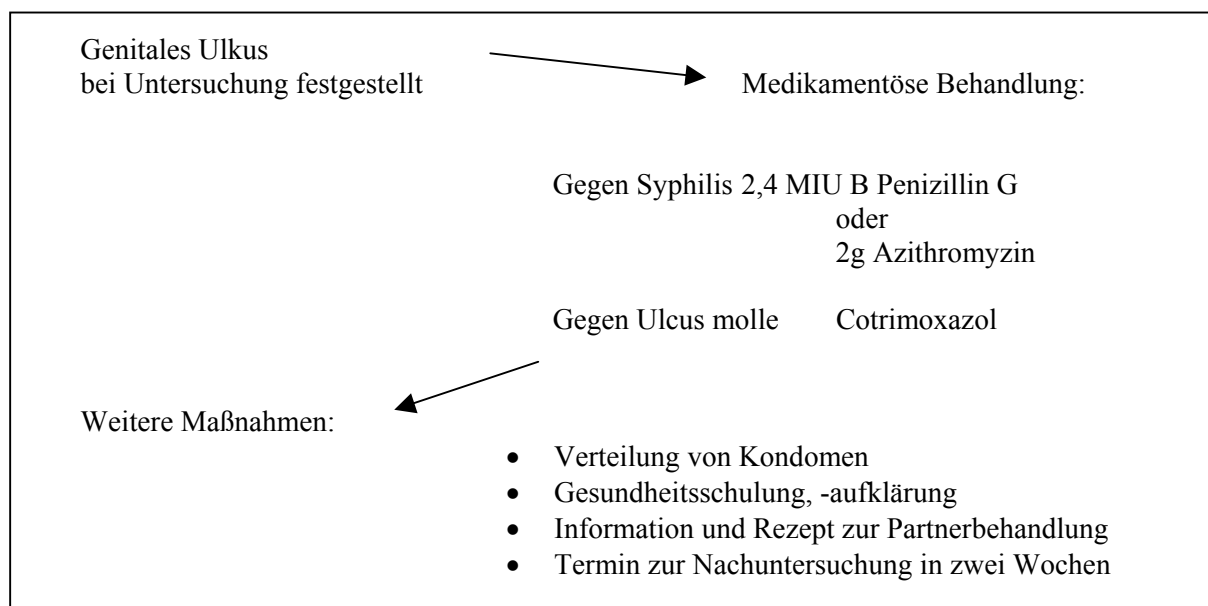


Abb. 4: Syndromisches Management STIs

Frauen mit Symptomen erhielten kostenlos die entsprechenden Medikamente. Teilnehmerinnen, bei denen Ulzera diagnostiziert wurden, wurden vom medizinischen Personal in zwei- und sechswöchigem Abstand zur Kontrolle des Therapieverlaufs und eventuell nötiger Weiterbehandlung aufgesucht.

Zum Zeitpunkt der Untersuchung oder am Tag vorher – jeweils abhängig von der Ortslage - bekamen die Frauen eine Gesundheits- und Hygieneaufklärung. Eine „pre-test“ HIV-Beratung (vor der ersten Blutabnahme) und „post-test“ Beratung zu den Ergebnissen waren ebenso Teil der Untersuchung. Alle Frauen wurden auf HIV getestet, das Ergebnis jedoch nur auf persönlichen Wunsch durch einen ausgebildeten „Counsellor“ den Betroffenen mitgeteilt. Neben diesen beschriebenen Schritten mit kostenloser Medikation zogen die Frauen noch von einer monetären Aufwandsentschädigung für die Arbeitsabwesenheit Nutzen aus ihrer kontinuierlichen Anwesenheit.

### **3.4. Studien Design**

#### 3.4.1. Studienart

Die vorliegende Doktorarbeit ist vornehmlich deskriptiv. Sie beschreibt den Verlauf der Reaktivität serologischer Syphilistests über den Beobachtungszeitraum und untersucht die Aussagekraft von Kombinationen der verschiedenen Verfahren (RPR, TPPA, IgM FTA-ABS und IgM-INNO-LIA) im Hinblick auf verschiedene serologisch und klinisch definierte Situationen. Von besonderem Interesse ist die Beurteilung der Syphilisinfektion bei schwer von einander abgrenzbaren Situationen wie Neuinfektion, Reinfektion, Rückfall und Therapieerfolg sowie Therapieversagen. Die mögliche Beeinflussung der HIV-Infektion auf Testergebnisse kann aufgrund zu kleiner vergleichbarer Fallzahlen der Gruppen nicht evaluiert werden.

### 3.4.2. Definitionen

Folgende klinische Definitionen gelten in vorliegender Arbeit<sup>100,228</sup>.

#### Klinische Syphilis-Stadien:

**Primäre Syphilis** ist das Auftreten von einem Ulkus oder mehreren Ulzera in Kombination

- a) mit dem Nachweis von *Treponema pallidum* durch eine PCR aus den Ulzera oder
- b) mit der serologischen Diagnose einer Syphilisneuinfektion (Serokonversion von negativem zu positivem RPR-Test).

**Sekundäre Syphilis** wird angenommen bei

- a) charakteristischem Hautausschlag auf Händen und Fußsohlen
  - b) Kondylomata lata
- in Kombination mit einer positiven Serologie.

**Latente Syphilis** wird diagnostiziert bei allen Frauen,

die einen positiven RPR- und TPPA-Test, aber keine klinische Zeichen einer Syphilis haben.

**Reinfektion oder Rückfall** wird angenommen bei

- a) erneutem Auftreten von Ulzera oder Kondylomata lata nach einer klinisch symptomfreien Zeit oder
- b) einem Titeranstieg von zwei oder mehr Verdünnungsstufen im RPR-Test.

Die Testverfahren wurden in Abschnitt 1.5 bereits vorgestellt. Die für vorliegende Arbeit durchgeführten Testverfahren werden unter Punkt 3.6. beschrieben. Im folgenden wird die im Projekt angewandte Interpretation der Testergebnisse und deren Bedeutung dargestellt.

Tabellenüberblick zur angewandten Interpretation der Syphilisserologie:

Tabelle 2: Interpretation der Syphilisserologie (nach<sup>100,228</sup>)

Serologiergebnisse	Interpretation mit Standardkombination RPR und TPPA		IgM (INNO-LIA) Ergebnisse	Interpretation mit zusätzlicher Aussage des IgM Testes
RPR-, TPPA-	1. Keine Syphilis oder 2. Sehr frühes Stadium ohne AK-Bildung		+	frühes Stadium
			-	keine Infektion oder sehr frühes Stadium
RPR-, TPPA+	Erfolgreich behandelte Syphilis		Keine Untersuchung mit dem IgM-Test	
Ohne Symptome RPR+, TPPA+	1. Latente Syphilis, unbehandelt 2. Kürzlich behandelte Syphilis (Behandlungserfolg nicht beurteilbar) 3. Therapieversager		+	1. latente Syphilis 2. kürzlich behandelte Syphilis (Behandlungserfolg nicht beurteilbar)
			-	1. spät latente Syphilis oder 2. erfolgreich behandelte Syphilis
RPR $\leq$ 1/4	1. Spät latente Syphilis und/oder behandelte Syphilis (Behandlungserfolg nicht beurteilbar) 2. Therapieversager		+	1. spät latente Syphilis 2. kürzlich behandelte Syphilis (Behandlungserfolg nicht beurteilbar)
			-	1. Spät latente Syphilis 2. Erfolgreich behandelte Syphilis
RPR $\geq$ 1/8	1. Früh latente Syphilis und/oder behandelte Syphilis (Behandlungserfolg nicht beurteilbar) 2. Therapieversager		+	1. Früh latente Syphilis 2. Behandelte Syphilis (Behandlungserfolg nicht beurteilbar)
			-	Kürzlich erfolgreich behandelte Syphilis
Mit Symptomen RPR+, TPPA+	Primäre oder sekundäre Syphilis		+	Bestätigung der aktiven Infektion
			-	Falsches Testergebnis?

Serologieergebnisse	Interpretation mit Standardkombination RPR und TPPA		IgM (INNO-LIA) Ergebnisse	Interpretation mit zusätzlicher Aussage des IgM Testes
Titerveränderungen innerhalb von 6 Monaten nach Behandlung				
Abfall > 2 Verdünnungsstufen	Serologische Heilung		Negativwerden (Seroreversion)	Serologische Heilung
			Abnahme der Anzahl positiver Banden	Tendenz zur Heilung
			Gleichbleibend	1. in Fragestellung der serologischen Heilung 2. Nachhinken des IgM Testes
Anstieg $\geq 2$ Verdünnungsstufen	Reinfektion oder Rückfall		Zunahme der Anzahl positiver Banden	Tendenz zur Annahme einer Reinfektion/ Rückfall
			Positivwerden (Serokonversion)	Annahme einer Reinfektion
			Negativ	in Fragestellung der serologischen Testergebnisse
Gleichbleibender Titer, kein RPR Abfall				
Anfangstiter RPR $\leq 1/4$	Fraglich ausgeheilte Syphilis mit Serumnarbe		+	Wahrscheinlich nicht ausgeheilte Infektion
			-	Wahrscheinlich ausgeheilte Infektion mit Serumnarbe
Anfangstiter RPR $\geq 1/8$	Therapieversagen möglich		+	Therapieversagen wahrscheinlich
			-	1. Nachhinken des RPR Testes bei 2. eingetretener serologischer Heilung im IgM Test

### 3.4.3. Gruppenaufteilung und Auswahl

Die Ergebnisse des RPR-Screeningtestes waren das entscheidende Kriterium für die Zuordnung der Studienteilnehmerinnen zu bestimmten Gruppen. Folgende Gruppen wurden definiert:

Gruppe A: Fälle mit Neuinfektion/Reinfektion/ Rückfall
A-1: Neuinfektion (n = 11)
A-2: Reinfektion/ Rückfall (n = 10)
A-3: Ausschluss einer Neuinfektion bei transientem positiven Test mit V.a. BFP (n = 9)
Gruppe B: Serologischer Verlauf nach medikamentöser Behandlung
B-1: Serologische Heilung (n = 23)
B-2: Therapieversagen bei ausbleibender serologischer Heilung (n = 10)

Aufgrund begrenzter finanzieller Ressourcen konnten nicht alle Proben der 105 RPR-positiven Frauen mit den IgM-Antikörper-Tests untersucht werden. Es wurde eine Auswahl von 56 Frauen getroffen.

Gruppe A war von besonderem Interesse und wurde deshalb vollständig miteinbezogen. Aus Gruppe B (Syphilisinfizierte, die gegen Syphilis behandelt wurden), die zahlenmäßig den größten Anteil darstellt, wurde bei den Teilnehmerinnen eine den Untergruppen prozentual angepasste Anzahl ausgewählt. Von Gruppe B-1, die durch einen hohen Titer definiert ist (siehe unten) erhoffte man sich dabei mehr Aussagekraft und graduelle Unterschiede als von Gruppe B-2 mit niedrigem Titelverlauf (der allein schon aus labortechnischen Bedingungen eine differenziertere Aussage von vornherein erschwert) und wählte dementsprechend eine größere Zahl an Proben aus Gruppe B-1.

**Gruppe A: Fälle mit Neuinfektion/ Reinfektion/ Rückfall:** alle Studienteilnehmerinnen (ST), bei denen aufgrund des RPR-Titerverlaufs entweder von einer Neuinfektion, einem Rückfall oder einer Reinfektion ausgegangen wird.

**A-1: Neuinfektion:** Alle Probandinnen, die nach einem negativen RPR-Test ein neu positives hochtitriges RPR-Testergebnis aufwiesen (n=11).

Ausgewählt wurden jeweils das Serum der Runde, in der das letzte Mal ein negatives Ergebnis gemessen wurde, das Serum der darauffolgenden Runde mit dem ersten positiven Testergebnis, zwei Beobachtungszeiträume (entspricht ca. sechs Monaten) später, um einen zu erwartenden Heilungserfolg in Form von einem Abfallen um zwei Verdünnungsstufen zu beobachten.



**A-2: Reinfektion/ Rückfall:** Alle Frauen, bei denen der RPR-Test nach einem vorherigen Titerabfall einen Titeranstieg um mindestens zwei Verdünnungsstufen zeigte (n = 10), fallen hier herunter. Mit den IgM-Tests wurde das Serum mit dem Abfall, mit dem Anstieg und wenn möglich das aus der Runde vor und nach dem Ereignis untersucht.

**A-3: Ausschluss Neuinfektion:** Die Gruppe ist zweigeteilt: Studienteilnehmerinnen, bei denen der neu aufgetretene positive RPR-Wert nur vorübergehend und niedrigtitrig war (n = 6), waren auf Biologisch Falsch Positive Reaktionen (BFP) verdächtig. Hier wurde das Serum des jeweilig letzten negativen Testergebnisses zur Untersuchung gebracht, das darauffolgend erstmalig bzw. vorübergehend positive und das Serum der darauffolgenden Runde, um den Verdacht der Einmaligkeit des positiven Ergebnisses und damit einer falsch positiven Reaktion beurteilen zu können. Der zweite Teil bestand aus Frauen, bei denen ein positiver RPR-Test, aber ein zweimalig negativer TPPA-Test vorlagen, also echte BFPs. Deren Seren aus den Runden 1 und der vor- und nachfolgenden des zweiten negativen TPPA-Ergebnisses wurden eingehender untersucht (n = 3).

**Gruppe B: Fälle mit der Frage der Heilung nach Therapie:** alle Studienteilnehmerinnen, die eine positive Syphilisserologie (RPR und TPPA) hatten und medikamentös behandelt wurden.

**B-1: Serologische Heilung:** Frauen, die einen Titerabfall um zwei Verdünnungsstufen oder negativer Serologie nach mindestens drei und spätestens neun Monaten hatten.

41 Personen hatten einen hohen Anfangstiter ( $\geq 1/8$ ), ausgewählt wurden 16. Sieben Frauen, die in die Gruppe A fielen, wurden auch an dieser Stelle ausgewertet, so dass sich die Gesamtzahl der Gruppe erhöht. Sieben zeigten einen niedrigen Titer, ausgewählt wurden 2. Zur Untersuchung mit dem INNO-LIA IgM-Test wurden jeweils das Serum mit dem hohen /niedrigen Anfangstiter und das nach einem Zeitraum von 6 Monaten, also zwei Runden später, ausgewählt. Die Gruppenzahl beträgt dann 23 (n = 23).

**B-2: Therapieversagen bei ausbleibender serologischer Heilung:** Frauen mit persistierenden niedrigtitrig positiven RPR-Werten, die auch nach Behandlung mit Penizillin im ganzen Beobachtungszeitraum nicht negativ wurden oder bei denen kein Titerabfall von zwei Verdünnungsstufen innerhalb 9 Monaten eintrat. Ausgewertet wurde mindestens das Serum der ersten und dritten Beobachtungsrunde. Insgesamt erfüllten dieses Kriterium 34 Teilnehmerinnen, ausgewählt wurden 10 (n = 10).

### **3.5. Studienproben/ Datenerhebung**

#### 3.5.1. Soziodemographische Daten

Ein geschultes Team von Interviewerinnen, die aus der Umgebung stammen und daher die Stammsprachen sprechen, erhob bei jedem Besuch Daten über den sozialen Hintergrund der Teilnehmerinnen sowie über ihr sexuelles Verhalten und ihr daraus erwachsendes Risiko. Dies geschah anhand strukturierter Fragebögen in denen unter anderem nach Anzahl der Geschlechtspartner, Gebrauch von Kondomen, Wissen über HIV, sowie Wechsel von Arbeitsplatz und Wohnstätte gefragt wurde.

#### 3.5.2. Klinische Daten und Probengewinnung

Ein "Assistant Medical Officer", drei "Medical Assistants" und eine Krankenschwester [Der Assistant Medical Officer hat fünf Jahr medizinische Ausbildung hinter sich und ersetzt in vielen Gegenden die Funktion des Arztes, des "Medical Doctors". Medical Assistants durchlaufen drei Jahre einer medizinischen Ausbildung, sie stehen etwas unter den Assistant Medical Officers, aber über den "Rural Medical Aids", die nach zwei Jahren Ausbildung kurative Arbeit leisten.] waren für die klinische Untersuchung zuständig. Sie erhoben die Anamnese bezüglich aktueller und während der vergangenen drei Monaten aufgetretener Krankheitssymptome und fragten nach speziellen HIV- und STI-bezogenen Symptomen (z.B. Ulkus, Ausfluss, Juckreiz im Genitalbereich, Lymphknotenschwellungen). Anschließend wurde jede Frau ganzkörperlich untersucht. Eine vaginale Spekulumuntersuchung wurde vorgenommen und das Ergebnis festgehalten. Wurde bei einer Patientin ein Ulkus diagnostiziert, so wurde von diesem ein Abstrich (oder mehrere, je nach Anzahl der Ulzera) entnommen und zur weiteren Untersuchung verschickt. Jede Probe wurde mit einem bedruckten Label, der Identifikationsnummer der Frau entsprechend, versehen und konnte so immer rückverfolgt werden.

#### 3.5.3. Serologische Daten

Bei jedem Follow-Up Besuch wurde den Frauen über eine intravenöse Kanüle Blut abgenommen. Insgesamt drei CPDA Monovetten® und ein EDTA Röhrchen wurden unter Kühlung sofort in das Labor des Mbeya Referral Hospital gebracht. Nach der Aufbereitung und Aufteilung des Serums auf zehn Röhrchen wurden alle Proben bei -20°C eingefroren und so bis zum Zeitpunkt des Testens aufbewahrt. Nur die Blutröhrchen, die für das RPR-Testen am nächsten Tag vorgesehen waren, wurden im Kühlschrank bei -4°C untergebracht, bevor auch diese tiefgefroren wurden. In vorliegende Arbeit fließen Ergebnisse aus folgenden Untersuchungen mit ein:

Aus dem Fachlabor des Mbeya Referral Hospital:

**Syphilis-Serologie:** Die Blutproben aller Frauen wurden in jeder Runde mit dem nicht-spezifischen kommerziell erhältlichen **RPR-Test** (VDRL Carbon Antigen VD 25 und Testkarten, Murex Diagnostics Ltd, Dartford, England) auf Phospholipidantikörper qualitativ und quantitativ untersucht.

Zusätzlich wurde ein Treponemen-spezifischer Test, der **TPPA** (SERODIA® TP-PA, Fujirebio, Inc., Tokyo, Japan) bei allen Frauen am Studienbeginn, bei allen Frauen, die serokonvertieren, bei allen neu in die Studie eingetretenen Frauen und bei allen Frauen in der dritten, sechsten und neunten Follow-Up Runde durchgeführt. (Genaue Durchführung laut Anweisung der Hersteller siehe unten.)

**HIV-Antikörper Tests:** Die Serumproben aller Frauen wurden mit zwei verschiedenen Testverfahren (Abbott HIV1/2 und Enzygnost Anti-HIV 1/2 Plus, Behring, Marburg, BRD) in jeder Runde auf HIV getestet. War das Ergebnis über zwei aufeinanderfolgende Follow-Up Besuche positiv, galten diese Teilnehmerinnen von da ab für den gesamten Studienzeitraum als HIV-positiv. Negativ getestete Proben der Teilnehmerinnen wurden in jeder Runde auf eine Veränderung des HIV-Status überprüft.

Aus dem Labor des Tropeninstitutes in Antwerpen:

**Syphilis-Serologie:** Die ausgewählten Proben wurden mit einem Line-Immunoassay (INNO-LIA™, Innogenetics, Gent, Belgien) in einem modifizierten In-house-Verfahren und dem FTA-ABS (Trepo-Spot IF, bioMerieux, Lyon, France) auf Treponemen-spezifische AK untersucht. Ebenso wurde der RPR-Test durchgeführt.

Aus dem Labor der Universität Manitoba in Kanada:

**PCR für Syphilis:** Bei allen entdeckten Ulzera wurden die Abstriche mit einer Multiplex PCR (Roche Diagnostic Systems, Branchburg, New Jersey, USA) auf Syphilis, *HSV2*-Infektion und *Haemophilus ducreyi* untersucht.

### 3.6. Labor Prozeduren

Anschließend werden die eingesetzten technischen Laborverfahren beschrieben, wie sie - nach den Angaben der Hersteller oder modifiziert - in diesem Projekt zum Einsatz kamen.

#### 3.6.1. RPR (VDRL Carbon Antigen VD 25, Murex Biotech Ltd und Testkarten Murex Diagnostics Ltd, Dartford, England)

Ein Ergebnis der Infektion mit Syphilis ist die Zerstörung von Gewebe. Daraufhin werden vom Immunsystem zirkulierende Antikörper produziert, „Reagin“ genannt, die gegen einige dieser Gewebekomponenten gerichtet sind. Das VDRL Carbon Antigen ist nicht treponemaler Herkunft, sondern eine kolloidale Lösung aus Gewebslipid-Kardiolipin. Dieses reagiert – vorausgesetzt die Anwesenheit von Cholesterol und Lecithin ist ausgeglichen – mit dem Reagin in Form von sichtbaren Flocken. Die Mikrokohlepartikel in der Lösung verstärken das Sichtbarwerden der Ausflockung.

Das Plasma der Frauen wird aus dem Kühlschrank genommen und gewartet, bis es Raumtemperatur erreicht. Pro Testkarte gibt es acht Ringe von 18 mm Durchmesser.

Für den qualitativen Test werden in jeden dieser Ringe zuerst 16 µl des Antigens und dann 50 µl unverdünntes Plasma gegeben und mit der Pipettenspitze vermischt, bis der Kreis ausgefüllt ist. Der letzte Ring wird mit positivem Kontrollserum des Herstellers und Antigen gefüllt. Anschließend wird die Karte auf den mechanischen Rotator gelegt und bei 100rpm für 8 min durchgeschüttelt, bis das Ergebnis mit bloßem Auge bei hellem Licht abgelesen werden kann. Ein Ergebnis wird als reaktiv (positiv) angesehen, wenn ein sichtbares Zusammenklumpen der schwarzen Partikel entdeckt werden kann und als nicht-reaktiv oder negativ, wenn die Kohlepartikel in gleichmäßiger Suspension verbleiben.

Für die quantitative Durchführung wird zuerst ein ebenfalls 30µl starker Tropfen Kochsalz in jeweils vier der Ringe gegeben, bevor in den ersten Ring 50µl Plasma hinzugefügt werden und wieder mit der Pipette durch Aspiration und Expulsion miteinander vermischt werden. 50µl dieser Lösung werden in den nächsten Ring übertragen und dort ebenso damit verfahren bis zum vierten Kreis. Damit ergibt sich eine Verdünnung von 1/2 im ersten Ring, 1/4 im zweiten und so weiter bis zu 1/16 im letzten. Es kann beliebig weiterverdünnt werden. Zu jeder verdünnten Plasmaprobe wird nun wieder ein Tropfen des Antigens hinzugegeben und vermischt, die Karte auf den Rotator gelegt und dort für 8 Minuten belassen. Der Titer wird definiert als die höchste Verdünnungsstufe, die eine noch klar sichtbare Verklumpung zeigt.

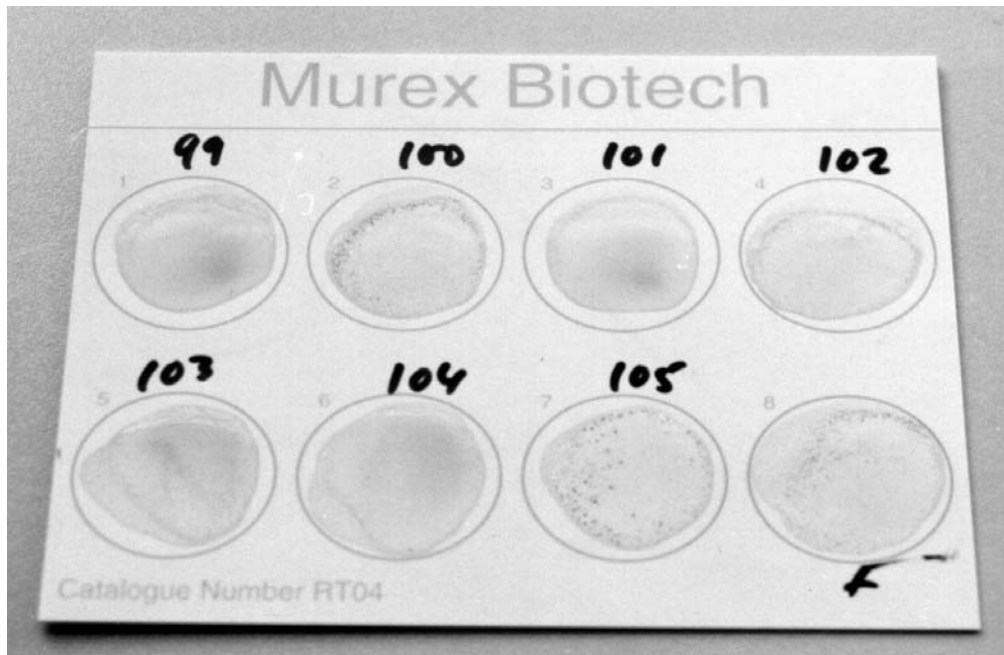


Abbildung 5: Testkarte RPR-Test

### 3.6.2. TPPA (SERODIA® TP-PA, Fujirebio, Inc., Tokyo)

Der *Treponema pallidum* Partikel Agglutinationstest beruht als spezifischer Test auf der Immunreaktion mit spezifischen Anti-*Treponema pallidum* Antikörpern. Sind diese im Humanserum vorhanden, agglutinieren sie mit den Gelatinepartikeln, die mit gereinigtem *Treponema pallidum* Antigen (Stamm Nichols) beschichtet wurden. Der Erreger selbst wird mit dem Test nicht erfasst.

Vor Beginn der Testdurchführung werden die Reagenzien auf Raumtemperatur gebracht und die Lösungen gemäß den Angaben des Herstellers gemischt. Es werden inaktivierte gelagerte Seren benutzt.

Die für diese Arbeit durchgeführte qualitative Testung erfordert zuerst das Vorlegen des Verdünnungspuffers zu 100µl in Well 1 und zu 25µl in Well 2,3, 4 der Mikrotiterplatte. In Well 1 wird nun 25µl des Probandenserums hinzugegeben und vermischt. Anschließend entnimmt man mit der Mikropipette wiederum 25µl aus diesem Ansatz, gibt sie zu Well 2 hinzu, mischt, pipettiert wiederum 25µl daraus in Well 3, mischt, wiederholt diesen Vorgang mit Well 4 aus dem man schlussendlich 25µl verwirft. In Well 3 werden nun 25µl nicht-sensibilisierte Partikel hinzugegeben und in Well 4 25µl sensibilisierte Partikel. Die Platte wird 30 Sekunden gut geschüttelt, abgedeckt und bei Raumtemperatur für zwei Stunden erschütterungsfrei inkubiert.

Die Endverdünnung beträgt damit in Kavität 1 der Mikrotiterplatte 1:5, in Kavität 2 1:10 und in Well 3, das zugleich die positive Kontrolle ist, 1/40 und in Well 4, das als Reagenzkontrolle dient, 1/80.

Das Ablesen der Agglutination und die Bewertung der Probandenserum erfolgt im Vergleich mit der Positiv- und der Reagenzkontrolle. Zeigt das Patientenserum in der Verdünnungsstufe von 1/80 eine deutlich größere und diffusere Ringbildung als die in der Reagenzkontrolle, ist sie als positiv zu bewerten. Dabei ist die äußere Umgrenzung aufgelöst und peripher davon eine Agglutination zu finden. Eine agglutinierte Zellmatte, die den ganzen Boden der Vertiefung bedeckt, ist das deutlichste Zeichen der Reaktivität in der qualitativen Durchführung.

### 3.6.3. IgM-INNO-LIA™ - Line-Immunoassay (INNO-LIA™ Syphilis, Innogenetics, Gent, Belgien).

Für den speziellen Nachweis von IgM-Antikörpern wurde ein Line- Immuno-Assay eingesetzt. Er bestätigt die Anwesenheit spezifischer Antikörper gegen *Treponema pallidum* in einem sehr frühen Stadium der Krankheit durch die enzymatisch sichtbar gemachte Reaktion gegen rekombinante Antigene (TpN47, TpN17, TpN15)<sup>50,88</sup>. In Kooperation mit der Firma Innogenetics erarbeitete die Universität Antwerpen an der Entwicklung einer IgM-Version des INNO-LIA Tests. Dabei werden in einem speziellen vorangesetztem Absorptionsvorgang, die IgG-Antikörper weitgehend eliminiert. Da dieser In-House-Test noch nicht validiert ist, wurde zum Vergleich noch der IgM FTA-ABS durchgeführt.

**Der Absorptionsvorgang:** Es wird ein Produkt aus 250µm Protein A-Acryl Strängen mit lyophilisiertem Pulver hergestellt. 1mg davon wird mit je 100 µl Serum gemischt und für zwei Stunden auf dem Rotator inkubiert. Anschließend wird so verfahren, wie es in der Herstellungsanleitung für den Test angegeben ist.

Sind die Materialien auf Raumtemperatur aufgewärmt, wird in jede Aushöhlung der Schale 1ml des Probenverdünners hineingegeben. Anschließend kommen 10µl der Probe respektive der negativen oder positiven Kontrolle in die jeweiligen Plätze hinzu. Ein Teststreifen muss dann in jede Aushöhlung eingelegt werden – dabei ist wichtig, dass der Streifen komplett untergetaucht ist. Das Tablett wird luftdicht abgeschlossen und über Nacht (16+/-2h) bei Raumtemperatur auf einen Shaker oder Rotator gelegt. Nach der Inkubation wird die Flüssigkeit aus den Aushöhlungen aspiriert. Jeder Streifen wird nun dreimal mit 1ml

Waschlösung für 5 min gewaschen. Danach wird 1ml Konjugat in jede Aushöhlung hinzugefügt. [Das Konjugat wird in dem in-house-Verfahren durch ein Produkt ersetzt, das aus 50ml TE Puffer + 10ml Alkalischer Phosphatase gereinigter Anti-humaner IgM-AK der Ziege zusammengesetzt ist.] Es folgt eine 30minütige geschüttelte Inkubation bei Raumtemperatur. Wieder wird die Flüssigkeit abgesaugt und die Tröge werden anschließend der Waschprozedur unterzogen. Nun wird überall 1ml Substrat hinzugefügt, inkubiert, die Flüssigkeit aspiriert und die Tröge gewaschen. Nach diesem Schritt wird 1ml der Stoplösung in jede Höhle gegeben und die Tablett für 10 bis 30 Minuten inkubiert, bis die Lösung wieder aspiriert werden kann. Jetzt werden die Streifen mit Pinzetten aus den Trögen entfernt und auf absorbierendes Papier gelegt und auf dem Datenblatt befestigt. Zur Interpretation der Ergebnisse müssen die Streifen völlig getrocknet sein:

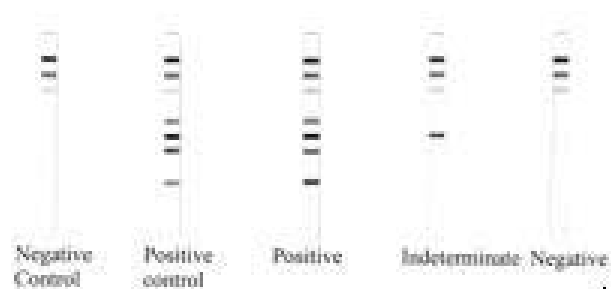


Abb. 6: Interpretation INNO-LIA

Die Antigen-Reihen werden in ihrer Farbintensität mit den Kontrollreihen verglichen. Die Ergebnisse werden von „negativ“ bis zu „+4“ bewertet.

Reaktion der Antigenbanden	Interpretation	Kontrolle
Alle Banden -	Probe negativ	Positivkontrolle $\geq 1$ Bande +
1 Bande +/-	Probe negativ	Negativkontrolle negativ
1 Bande +	Probe nicht bestimmbar	Kontrolllinie 1+ bis 3+ positiv
$\geq 2$ Banden +/- oder positiv	Probe positiv	Streptavidinbande negativ

Aufgrund der erfolgten Modifikation im In-house-Verfahren mit dem vorgeschalteten Absorptionsverfahren der Universität Antwerpen änderte sich die Beurteilung der Banden in ihrer Farbintensität folgendermaßen:

Reaktion der Antigenbanden	Interpretation	Kontrolle
Alle Banden -	Probe negativ	Positivkontrolle $\geq 1$ Bande +
Nur die 3+ Bande wird sichtbar		
1 Bande klar sichtbar	Probe positiv	

Eine Probe ist reaktiv, wenn zwei oder mehr Banden eine Reaktion von +/- oder höher zeigen. Sie ist nicht bestimmbar, wenn eine Antigenbande mit 1+ oder stärker reagiert. Negativ, wenn alle Antigenbanden negativ sind oder eine Bande als +/- erscheint. Die Positivkontrolle muss

mindestens mit 1+ oder stärker bewertet werden und die Negativkontrolle als negativ, damit die Testreihe als gültig angesehen werden kann. Ebenso müssen die Kontrolllinien 1+ bis 3+ auf dem Streifen sichtbar sein, damit dieser zur Bewertung steht und die Streptavidinbande muss negativ sein.

#### 3.6.4. IgM-FTA-ABS (Trepo-Spot IF bioMerieux, Lyon, France)

Der FTA-ABS ist ein Treponemen-spezifischer indirekter Immunfluoreszenztest. Das Prinzip beruht darauf, dass IgM-Serumantikörper mit einem durch Fluoreszin markierten Antihuman-IgM-Antikörper nachgewiesen werden. Dazu muss Patientenserum auf einen mit Antigen beschichteten Objektträger aufgetragen werden, auf welches das Serum mit der Bildung von Antikörpern reagiert.

Zuerst werden die beschichteten Objektträger ca. 15 Minuten auf Raumtemperatur gebracht. Die Patientenseren und die Positivkontrolle werden laut Anweisung des Herstellers verdünnt. Dabei gilt bei rein qualitativem Vorgehen ein Mischverhältnis von 1:5 (Serum : Absorbens). Anschließend werden je 10µl der zu testenden Seren auf einen Objektträger aufgetragen. Ein Ausstrich wird mit 10µl Konjugatkontrolle (BABS-Puffer) und ein Ausstrich mit 10µl Absorbenskontrolle (Absorbens) überschichtet. Die Objektträger werden dann für 30 Minuten in der feuchten Kammer bei 37° C inkubiert. In der Zwischenzeit stellt man den PBS-Tween Puffer her, indem man 2 Tropfen Tween 80 auf 1 Liter PBS mischt. Nach der Inkubationszeit werden die Objektträger je zweimal für fünf Minuten darin gewaschen, dann sofort mit destilliertem Wasser abgespült. Nach dem Abtropfen trocknen die Objektträger, bevor jedes Feld mit 10µl Antihuman-polyvalenten Immunglobulinen (Fluoline-H, bioMerieux) beschichtet wird. Wiederum inkubieren die Objektträger für 30 Minuten in der 37° C heißen feuchten Kammer und werden anschließend zweimal für je fünf Minuten in PBS-Tween gewaschen. Nach der Spülung im Aqua dest.-Bad und dem Trocknen werden sie mit einem Deckglas abgedeckt.

Bei der sich anschließenden Ablesung der Proben gelten keine oder nur schwach fluoreszierende Seren als negativ, grüne, mehr oder weniger intensiv fluoreszierende Proben als positiv. Die Kontrollproben für Konjugat und Absorbens dürfen nicht fluoreszieren, das positive Kontrollserum muß stark grün erscheinen. In diesem Sinne qualitativ getestete positive Seren können noch zusätzlich quantitativ getestet werden. Dies ist bei vorliegender Arbeit nicht erfolgt.



### 3.6.5. PCR (Multiplex PCR von Roche Diagnostic Systems, Branchburg, New Jersey, USA

Das in der Abteilung für Mikrobiologie der Universität Manitoba in Kanada verwendete Verfahren zur Aufdeckung von HSV- Infektion, *Haemophilus ducreyi* oder Syphilis ist eine In-House Modifikation. Hier wird das Prinzip der PCR beschrieben, für die Beschreibung der genaueren Verfahrensweise wird auf einschlägige Handbücher verwiesen:

Die PCR als Amplifikationsverfahren für Nukleinsäuren besteht aus den drei Teilschritten der Extraktion, der Amplifikation und der Detektion. Die Extraktion aus den jeweiligen Proben erfolgt durch Denaturieren, Anlagerung von Oligonukleotid-Primer an einen DNA-Einzelstrang bei niedriger Temperatur, Synthese des Doppelstrangs unter der Wirkung thermostabiler Enzyme, der DNA-Polymerase und der Ablösung des neu gebildeten Stranges bei hoher Temperatur. Die Amplifizierung findet durch den wiederholten Ablauf im gleichen Reaktionsansatz statt. Der Nachweis der exponentiell vermehrten Nukleinsäuren muss mit dem Einsatz von speziellen Sonden erfolgen.

### **3.7. Studienbeitrag der Doktorandin**

Von August 2001 bis März 2002 arbeitete die Verfasserin dieser Dissertation für das Barworkers Health Projekt in Mbeya, Tansania. Der Tätigkeitsschwerpunkt lag im Labor bei der Überwachung der eingehenden Blutproben, bei ihrer Sortierung, sowie bei der Kontrolle der einzelnen Schritte bezüglich der HIV- und Syphilis-Tests. Wichtig war vor allem im Bereich der Syphilistestverfahren eine Verbesserung hinsichtlich Standardisierung in Durchführung und Ergebnisbeschreibung zu erzielen. Durch die Mitarbeit bei den regelmäßigen Untersuchungen der Kohorte im Feld lernte sie Symptome, Klinik, Diagnose und syndromische Behandlung der verschiedenen sexuell übertragbaren Krankheiten kennen, aber sie war auch im Bereich Kommunikation, Labor- und Datenmanagement tätig und konnte dadurch Einsicht in Aufbau und Durchführung eines großen Forschungsprojektes in einem sogenannten Entwicklungsland gewinnen.

Für vorliegende Doktorarbeit wurden neben den oben genannten Arbeiten in diesem Zeitraum die Syphilistests durchgeführt und die Auswertung der Ergebnisse kontrolliert. Es sind die von Beginn der Studien im September 2000 bis Ende März 2002 vorliegenden Ergebnisse der Syphilistests sowie kohortenspezifische Erhebungen eingearbeitet.

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Demographische Daten der Kohorte

Die Kohorte dieser Studie bestand aus 600 Frauen, die als so genannte „barworker bzw. sex workers“ arbeiteten. Es handelte sich dabei um eine Risikopopulation. Da es in Tansania keine Bordelle gibt, bieten sich Frauen in Bars oder in Gaststätten an in denen „pombe“, lokal gebräutes Zuckerrohr oder Bananenbier verkauft wird. Anhand der aus den Fragebogen ausgewerteten und von den Interviewerinnen erhobenen Daten konnten folgende soziodemographischen Charakteristika der rekrutierten Frauen beschrieben werden:

Demographische Charakteristika	
Alter (Mittel; SD)	25; 4.3
- < 20 Jahre	52 (8.7%)
- 20-24 Jahre	210 (35.0%)
- 25-29 Jahre	222 (37.0%)
- 30+ Jahre	116 (19.3%)
Familienstand	
- single	209
- verheiratet	48
- nicht verheiratet, aber in Partnerschaft	79
- verwitwet	71
- geschieden	193
Ausbildung	
- Grundschule nicht abgeschlossen	96 (16.5%)
- Grundschule abgeschlossen	433 (74.3%)
- Erweiterte Schulbildung	54 (9.2%)
Arbeitsplatz	
- moderne Bar	289 (48.2%)
- locale selbstbrauende Bar (kilabu)	169 (28.2%)
- Pension	43 (7.2%)
- Hotel	70 (11.7%)
- Kiosk (ähnlich wie Bar)	29 (4.8%)
Dauer der bisherigen Arbeit	
- < 1 Jahr	187 (32.1%)
- 1-2 Jahre	221 (37.9%)
- 2-5 Jahre	115 (19.3%)
- 6+ Jahre	60 (10.3%)
Sexualverhalten	
Alter beim ersten GV	
- 9-12	17 (2.8%)
- 13-14	111 (18.5%)
- 15-16	244 (40.7%)
- 17-18	168 (28.0%)
- 19-26	60 (10.0%)

Anzahl der gelegentlichen Partner während der letzten 12 Monate		
- keinen		256 (42.7%)
- 1 bis 4		228 (38.0%)
- 5 oder mehr		115 (19.2%)
Sex gegen Geld während der letzten 12 Monate (n=587)		
- nein		339 (56.5%)
- ja		248 (41.3%)
Gebrauch von Kondomen mit dem festen Partner während des letzten GV (n=544)		
- ja		144 (26.4%)
- nein		400 (73.4%)
Gebrauch von Kondomen mit dem gelegentlichen Partner (n=331)		
- immer		140 (42.3%)
- manchmal		148 (44.7%)
- nie		43 (13.0%)

## 4.2. Serologische Daten der Kohorte

### 4.2.1. Ergebnisse der Basiserhebung (Study round S1)

Die Frauen wurden bei jeder Follow-Up-Untersuchung auf eine Infektion mit HIV, eine Infektion mit *T. pallidum* sowie Infektionen mit anderen Erregern von STIs (wie Chlamydien, Herpes genitalis oder Bakterieller Vaginose) getestet. In vorliegender Arbeit interessierten vorrangig die Syphilistests, die Erhebungen bezüglich der anderen STDs werden in anderen Studien abgehandelt. Es wurden der RPR-Test als Screeningtest bei jeder Runde, der TPPA-Test als Bestätigungstest anfangs nur in jeder dritten Runde und HIV-Tests in jeder Runde durchgeführt.

Bezüglich der serologischen Daten der Basiserhebung aus der ersten Runde S1 - auch als Follow-Up 0 bezeichnet - konnte daher festgestellt werden:

Tab. 4: Übersicht über die serologischen Ergebnisse der Basiserhebung S1 (n = 600)						
	RPR+ve	RPR-ve	TPPA+ve	TPPA-ve	HIV+ve	HIV-ve
<b>S1</b>	105 (17,5%)	496 (82,5%)	263 (43,8%)	337 (56,2%)	193 (32,2%)	407 (67,8%)
Aufteilung der Testergebnisse bei allen Screeningtestpositiven (RPR) (n = 105)						
RPR+ve	RPR-ve	TPPA+ve	TPPA-ve	BFP*	HIV+ve	HIV-ve
105	0	103 (98,1%)	2 (1,09%)	2 (1,09%)	74 (70,5%)	31 (29,5%)
50 ≥ 1/8						
55 < 1/8						

\*BFP = biological false positive reactions

105 von 600 Frauen (17,5%) zeigten ein positives Messergebnis im RPR-Test, 495 (82,5%) waren in diesem Screeningtest negativ. 263 (43,8%) der 600 Frauen hatten einen positiven TPPA-Test, wohingegen dieser Treponemenspezifische Test bei 337 (56,2%) negativ war. Bei zweien war der TPPA-Test negativ, aber der RPR-Test positiv. Damit war bei diesen Fällen per definitionem von biologisch falsch positiven Reaktionen des RPR auszugehen. Insgesamt waren bei der Basiserhebung 193 (32,2%) der 600 Frauen HIV-positiv und 407 (67,8%) HIV-negativ.

Von den 105 Frauen, die einen positiven RPR-Test aufwiesen und bei denen damit von einer Infektion mit *T. pallidum* ausgegangen wurde, hatten wiederum 50 einen Titer der gleich hoch oder höher als 1/8 war. 55 Frauen zeigten einen Titer niedriger als 1/8. Die einzelnen Werte teilten sich folgendermaßen auf:

Abb. 7: Verteilung der hohen RPR-Titer in S1

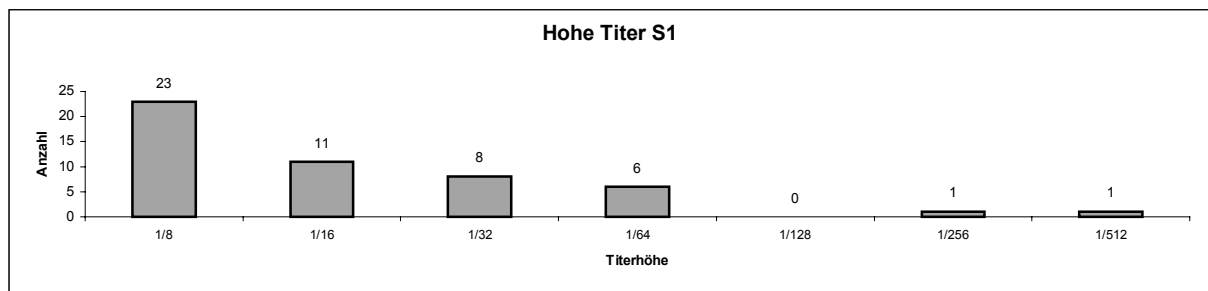
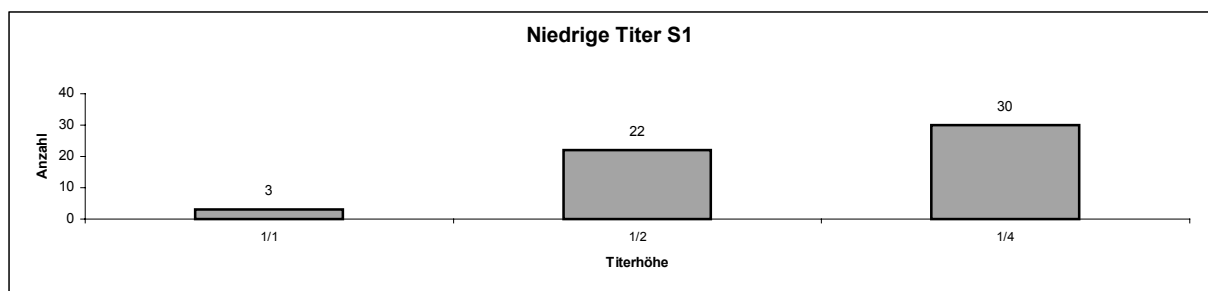


Abb. 8: Verteilung der niedrigen RPR-Titer in S1



Bei 103 von 105 RPR-positiven Studienteilnehmerinnen zeigte sich ein positiver TPPA-Test. HIV-positiv waren 74 der 105 RPR-positiven Frauen, was einen prozentualen Anteil von 70,5% ausmacht.

Der regelrechte Abfall des RPR-Tests um zwei Verdünnungsstufen als Zeichen für Heilung verteilte sich folgendermaßen: Bei 44,64% trat er innerhalb des am kürzesten möglichen Beobachtungszeitraums von 3 Monaten ein, bei 12,5% nach mindestens sechs Monaten, in 10,7% der Fälle nach neun Monaten und in jeweils wenigen Fällen nach 12 und 15 Monaten.

Bei immerhin 19,64% war kein regelrechter Abfall innerhalb des ausgewerteten Zeitraums zu beobachten und bei 7,14% konnte keine Aussage getroffen werden.

Tab. 5: Abfall des RPR-Titers um zwei Verdünnungsstufen innerhalb von Monaten (n = 56)						
Monate	3	6	9	12	15	Kein Abfall innerhalb des Beobachtungszeitraums
	25 (44,64%)	7 (12,5%)	6 (10,71%)	1 (1,78%)	2 (3,57%)	11 (19,64%)
Bei 4 Frauen (7,14%) war aufgrund des zu kurzen Beobachtungszeitraums keine Aussage möglich.						

Die Spiegel dieses unspezifischen Tests fielen besonders schnell ab, wenn die Betroffenen in einem frühen Krankheitsstadium (nach Neuinfektion) behandelt wurden. Diese Tatsache als auch dass bei vielen Betroffenen trotz Therapie nach Monaten die Testergebnisse noch reaktiv waren, steht im Einklang mit den Beobachtungen anderer Studien (vgl. 1.7.2).

#### 4.2.2. Einteilung in klinische Gruppen

Anhand des serologischen Verlaufes der RPR-Ergebnisse wurden die 105 RPR-positiven Frauen definierten klinischen Gruppen zugeordnet, da man von der Höhe der RPR-Titer auf die Aktivität der Krankheit schließen kann als auch mit diesem Test das bisher direkteste Monitoring einer Infektion mit *T. pallidum* möglich ist.

Tab.6: Klinische Einteilung der Frauen nach dem RPR-Screeningverlauf (n = 105)				
<b>Gruppe A</b> (n = 30)	Neuinfektion	11 (10,5%)	ausgewählt 11	ausgewählt aus Gruppe A: <b>30</b>
	Reinfektion	10 (9,5%)	ausgewählt 10	
	Ausschluss Neuinfektion	9 (8,6%)	ausgewählt 9	
<b>Gruppe B</b> (n = 75)	Heilung	41 (39,1%)	ausgewählt 16	ausgewählt aus Gruppe B: <b>26</b>
	Therapieversagen	34 (32,4%)	ausgewählt 10	

Insgesamt 30 Frauen wurden der Gruppe A zugeordnet, deren Besonderheiten im Serologieverlauf ein starkes Interesse hervorriefen. Bei elf Frauen wurde die Neuinfektion beobachtet. Neun Personen wiesen nicht eindeutige RPR-Ergebnisse auf, bei ihnen sollte eine Neuinfektion ausgeschlossen werden. Zu dieser Gruppe gehörten auch Frauen mit möglichen biologisch falsch positiven Reaktionen. Zehn Frauen wurden einer Reinfektion oder eines Rückfalles verdächtig bei wieder ansteigendem Titer.

Gruppe B beinhaltete Frauen, bei denen der serologische Verlauf nach Therapie beurteilt werden sollte. 41 Frauen hatten einen unauffälligen regelrechten Titerverlauf, der unter der medikamentösen Therapie abfiel. Bei 34 Frauen blieb der RPR-Titer über den Beobachtungszeitraum niedrig positiv ohne signifikanten Abfall trotz der medikamentösen Behandlung.

Insgesamt wurden **56 Studienteilnehmerinnen ausgewählt**, deren Testergebnisse in ihrem serologischen Verlauf den Gegenstand dieser Doktorarbeit bilden. Bei diesen Frauen wurde ihr Blut mit dem RPR-Test in Mbeya und im Tropeninstitut der Uni Antwerpen, mit dem TPPA-Test, mit dem IgM-FTA-ABS und dem neuen IgM-INNO-LIA untersucht, mit der Frage, ob die zusätzlichen Testverfahren den Untersuchern andere Informationen über die Aktivität und den Verlauf bei einer Infektion mit *T. pallidum* und über die klinische Einordnung geben. Zudem wurde die Sensitivität des IgM-INNO-LIA mit der des IgM-FTA-ABS verglichen und der IgM-INNO-LIA evaluiert.

In der Gruppe A war die Frage, ob eine Verbesserung der Diagnosestellung bei einmaliger Untersuchung mit den IgM-Tests erzielt werden kann. In der Gruppe B stand die Fragestellung im Mittelpunkt, ob die IgM-Tests schneller als der RPR-Test auf die medikamentöse Therapie reagieren und eine bessere Aussage, ob und wann eine Heilung eintritt, ermöglichen. Zudem war von Interesse, ob der IgM-INNO-LIA dabei einen Vorteil über den IgM-FTA-ABS erlangt, indem mit einer Veränderung des Bandenmusters eine noch schnellere und abgestufte Aussage getroffen werden kann.

Im Tropeninstitut der Universität Antwerpen wurden zur Qualitätskontrolle die serologischen Ergebnisse des RPR-Test bezüglich der für diese Arbeit ausgewählten Proben wiederholt. Dabei ergaben sich in drei Fällen Abweichungen, die zu einer unterschiedlichen Gruppenzuordnung der Studienteilnehmerinnen geführt hätten. Eine Frau (ID 55) zeigte durchgehend reaktive Titer, so dass sie nicht der Gruppe der fraglichen Neuinfektionen, sondern die der persistierend niedrigen Titer zugeordnet worden wäre. In einem anderen Fall

(ID 34) war der RPR-Test durchgehend negativ, was den Ausschluss zu jeglicher Gruppe bedeutete. Bei einer Frau (ID 380) zeigte sich über drei Runden ein hochtitriger RPR-Spiegel von

	RPR-Ant+	RPR-Ant-	Total
RPR-Mby+	143	1	144
RPR-Mby -	1	24	25
	144	25	169

1/128, so dass diese Studienteilnehmerin definitionsgemäß zu der Gruppe der ausbleibenden

serologischen Heilung gehören würde. Bei einer Person (ID 149) kann aufgrund einer kreuzweisen Abweichung der Resultate von einer Vertauschung der Proben ausgegangen werden. Es wurden alle 169 Testwerte bezüglich ihrer qualitativen Aussage miteinander verglichen, Schwankungen um eine Verdünnungsstufe wurden toleriert. Die Übereinstimmung zwischen den beiden Testreihen betrug 98,8%.

#### 4.2.3. Gesamtsensitivität der Testverfahren bei definierter Syphilisinfektion

Bei der weitergehenden Untersuchung der ausgewählten 56 Frauen stellte sich folgendes Bild dar: Anhand der positiven Ergebnisse der Standardkombination RPR + TPPA konnte bei 54 der 56 Frauen eine als „**wahr**“ **definierte Syphilis** festgestellt werden. Zwei Frauen hatten einen negativen TPPA, in diesen Fällen wurde von biologisch falsch positiven Reaktionen ausgegangen.

	TPPA+ve	TPPA-ve	
RPR+ve	54	2	56
RPR-ve	0	0	0
	<b>54</b>		56

	FTA-ABS+ve	FTA-ABS-ve	
HIV+ve	22 (40,7%)	15 (27,7%)	37
HIV-ve	10 (18,5%)	7 (12,7%)	17
<b>Gesamt</b>	<b>32 (59,3%)</b>	<b>22 (40,7%)</b>	<b>54</b>

	INNO-LIA+ve	INNO-LIA-ve	
HIV+ve	26 (48,1%)	12 (22,2%)	37
HIV-ve	13 (24,1%)	3 (5,5%)	17
<b>Gesamt</b>	<b>39 (72,2%)</b>	<b>15 (27,7%)</b>	<b>54</b>

Von den 54 Frauen mit wahrer Syphilis war der IgM-FTA-ABS bei 32 Frauen positiv ( $32/54 = 59,3\%$ ) und der IgM-INNO-LIA bei 39 ( $39/54 = 72,2\%$ ) positiv. Ein Unterschied in der Sensitivität zwischen HIV-Positiven und HIV-Negativen war folgendermaßen zu beobachten: Bei den HIV-positiven Frauen war bei etwas mehr als doppelt sovielen (22) als bei den HIV-Negativen

(10) der FTA-ABS positiv. Beim IgM-INNO-LIA verhielt es sich ebenso, dass die Anzahl der HIV-Positiven, die einen reaktiven INNO-LIA-Test aufwiesen, doppelt so groß war wie die Anzahl der HIV-Negativen. War der FTA-ABS negativ ( $22/54 = 40,7\%$ ), so war dabei die Anzahl der HIV-Positiven wieder doppelt so hoch. Hingegen gab es bei den Frauen, die einen negativen IgM-INNO-LIA zeigten, viermal mehr HIV-positive Frauen als HIV-negative.

Der IgM-INNO-LIA scheint bezüglich der Feststellung einer Syphilisinfektion eine höhere Sensitivität zu erlangen als der IgM-FTA-ABS.

Allerdings fielen unter diese Kategorie der wahren Syphilis auch Fälle, die über einen längeren Zeitraum sehr niedrige RPR-Titer wie 1/2 aufwiesen. Legte man daher bei den 56 ausgewählten Studienteilnehmerinnen die Definition einer **aktiven Syphilisinfektion** zugrunde, bei der ein RPR-Titer von mindestens 1/8 oder höher vorliegen musste, um Fälle, bei denen eine Syphilisinfektion klinisch unwahrscheinlich war, auszuschließen, so fielen in diese Gruppe nur noch **40 der 56 Frauen**. Davon waren bei 30 (75,0%) der IgM-FTA-ABS und bei immerhin 33 (82,5%) der IgM-INNO-LIA positiv. 27 Frauen (67,5%) hatten gleichzeitig eine HIV-Infektion. Einzelverteilt sich dies folgendermaßen: Von den Frauen, die einen positiven FTA-AbS-Test hatten, waren annähernd doppelt soviel Frauen HIV-positiv, bei denjenigen mit einem positiven IgM-INNO-LIA genau doppelt so viele. Ähnlich stellte sich das Verhältnis in den Fällen mit einem negativen IgM-Testergebnis dar. Die Sensitivität der beiden IgM-Testansätze bezüglich der Diagnose einer aktiven Syphilis unterscheidet sich in hier in kaum.

Tab. 11: Sensitivität FTA-ABS bei aktiver Syphilis			
	FTA-ABS+ve	FTA-ABS-ve	
HIV+ve	19 (48,2%)	8 (20,0%)	27
HIV-ve	11 (27,5%)	2 (5,0%)	13
<b>Gesamt</b>	<b>30 (75,0%)</b>	<b>10 (25,0%)</b>	<b>40</b>

Tab. 12: Sensitivität INNO-LIA bei aktiver Syphilis			
	INNO-LIA+ve	INNO-LIA-ve	
HIV+ve	22 (55,0%)	5 (12,5%)	27
HIV-ve	11 (27,5%)	2 (5,0%)	13
<b>Gesamt</b>	<b>33 (82,5%)</b>	<b>7 (17,5%)</b>	<b>40</b>

Im Folgenden werden die Ergebnisse innerhalb der klinisch erfolgten (wahrscheinlichste Diagnose aufgrund des serologischen RPR-Verlaufs) Gruppenzuteilung besprochen. Wichtig war dabei, ob die jeweilige Fragestellung innerhalb der Gruppe mit den IgM-Tests besser und schneller geklärt werden konnte.



### 4.3. Ergebnisse der klinischen Gruppen

#### 4.3.1. Gruppe A: Fälle mit Unterscheidung zwischen Neuinfektion/ Reinfektion und Rückfall

In diese Gruppe wurden alle Frauen aufgenommen, bei denen aufgrund des RPR-Titerverlaufs eine Neuinfektion vorlag oder ausgeschlossen werden sollte oder von einem Rückfall bzw. einer Reinfektion ausgegangen werden konnte.

##### 4.3.1.1. Gruppe A-1: Neuinfektion:

In diese Gruppe wurden diejenigen, die nach einem negativen RPR-Testergebnis einen neu positiven hochtitrigen RPR-Wert aufwiesen, mit der Diagnose Neuinfektion aufgenommen.

Tabelle 13: Ergebnisse Gruppe A-1 Neuinfektion (n=11)									
ID –No	RPR-Mby	RPR-Ant	TPPA	FTA-ABS	IgM - INNO-LIA Banden				Gesamt-
					TpN 47	TpN 17	TpN 15	TmpA	
4-S1	Negativ		Negativ						
S2	Negativ								
S3	Negativ	Negativ		Negativ	-	-	-	-	Negativ
S4	1/32	1/32	Positiv	Positiv	+	+	-	+	Positiv
S5	1/4								
S6	1/4	1/4		Positiv	-	-	-	+	Positiv
45-S1	Negativ		Negativ						
S2	Negativ	Negativ		Positiv	+	+	-	+	Positiv
S3 n.e.									
S4	1/32	1/32	Positiv	Positiv	+	+	-	+	Positiv
S5	1/2								
S6	1/4	1/2		Positiv	+	+	-	+	Positiv
89-S1	Negativ		Negativ						
S2	Negativ								
S3	Negativ	Negativ		Positiv	-	-	-	-	Negativ
S4	1/16	1/16	Positiv	Positiv	+	+	+	+	Positiv
S5	1/2	1/2		Negativ	-	-	-	-	Negativ
S6	1/2	1/2		Negativ	-	-	-	-	Negativ
289-S1	Negativ		Positiv						
S2	Negativ								
S3 n.e.									
S4	Negativ		Positiv						
S5	Negativ	Negativ		Negativ	-	-	-	-	Negativ
S6	1/8	1/8		Positiv	-	-	-	-	Negativ
349-S1	Negativ	Negativ	Positiv	Negativ	-	+	-	+	Positiv
S2	1/32	1/32		Positiv	-	+	+	+	Positiv
S3	1/4								
S4	1/2	1/2	Positiv	Positiv	-	+	+	+	Positiv
S5	1/1								
S6	1/1	1/1		Positiv	-	+	-	+	Positiv
352-S1	Negativ		Positiv						
S2	Negativ								
S3	Negativ								
S4	Negativ	Negativ	Positiv	Negativ	-	-	-	-	Negativ
S5	1/128	1/256		Positiv	+	+	+	+	Positiv
S6	1/32	1/32		Positiv	-	+	+	+	Positiv
ID –No	RPR-Mby	RPR-Ant	TPPA	FTA-ABS	IgM - INNO-LIA Banden				Gesamt-
					TpN 47	TpN 17	TpN 15	TmpA	Ergebnis

360-S1	Negativ	Negativ	Positiv	Positiv	+	-	+	+	Positiv
S2	1/64	1/32		Positiv	+	+	+	+	Positiv
S3	1/2								
S4	1/2	1/1	Positiv	Positiv	-	-	-	+	Positiv
S5 n.e.									
S6 n.e.									
396-S1	Negativ		Positiv						
S2	Negativ	1/1		Negativ	-	-	-	-	Negativ
S3	1/32	1/32		Positiv	+	-	-	+	Positiv
S4	1/8	1/16	Positiv	Negativ	-	-	-	-	Negativ
S5 n.e.									
S6 n.e.									
439-S1	Negativ		Positiv						
S2	Negativ								
S3	Negativ								
S4	Negativ		Positiv						
S5	Negativ	Negativ		Positiv	-	-	-	-	Negativ
S6	1/64	1/64		Positiv	+	-	-	+	Positiv
446-S1	Negativ	Negativ	Positiv	Negativ	-	-	-	-	Negativ
S2	1/32	1/32		Positiv	+	-	+	+	Positiv
S3	1/2								
S4	1/2	1/2	Positiv	Negativ	-	-	+	+	Positiv
S5	1/2								
S6	1/4	1/2		Negativ	-	-	-	+	Positiv
532-S1	Negativ		Negativ						
S2	Negativ								
S3	Negativ								
S4	Negativ	Negativ	Negativ	Positiv	-	-	+	-	Positiv
S5	Negativ	Negativ		Positiv	+	-	+	-	Positiv
S6	1/64	1/64		Positiv	+	+	+	+	Positiv
n.e. – Frau in dieser Runde zur Untersuchung nicht erschienen									

Zum Zeitpunkt der RPR-Serokonversion (negativ ► positiv) war bei 10 der 11 Frauen (90,9%) der INNO-LIA positiv, der FTA-ABS reagierte bei allen elf Frauen positiv. In sechs Fällen wurde der INNO-LIA zeitgleich mit der RPR-Serokonversion positiv, ebenso der FTA-ABS, allerdings nicht bei denselben Frauen. In den anderen vier (INNO-LIA) bzw. fünf (FTA-ABS) Fällen reagierten die IgM-Tests schon vor der Serokonversion des RPRs positiv, d.h. bei diesen Frauen hätte schon drei Monate früher Syphilis diagnostiziert werden können. Bei einer Frau ergab der INNO-LIA negative Resultate bei beiden durchgeführten Messungen.

Bei zwei Frauen (ID 89, 396) wurden der INNO-LIA und der FTA-ABS innerhalb von drei Monaten (einer Follow-Up Runde) wieder negativ. Alle anderen blieben - je nach möglichem Beobachtungszeitraum – noch mindestens sechs bis 15 Monate positiv.

Gruppe A-1 Neuinfektion	n	INNO-LIA+ve zum Zeitpunkt der Serokonversion	INNO-LIA+ve vor der Serokonversion	FTA-ABS+ve zum Zeitpunkt der Serokonversion	FTA-ABS+ve vor der Serokonversion
definiert durch Serokonversion	11	10 (90,9%)	4 (36,36%)	11 (100%)	5 (45,45%)

#### 4.3.1.2. Gruppe A-2 Reinfektion/ Rückfall

In dieser Gruppe wurden die Frauen zusammengefasst, die nach einem vorherigen Titerabfall einen Titeranstieg um mindestens zwei Verdünnungsstufen im RPR aufwiesen und einen hochtitrigen Verlauf hatten. Dieser Anstieg konnte Folge eines Rückfalls nach primärem therapeutischem Ansprechen sein oder eine Reinfektion. Die beiden IgM Blots sollten hier auf ihren zusätzlichen diagnostischen Wert hin untersucht werden.

<b>Tabelle 15: Ergebnisse Gruppe A-2 Reinfektion/ Rückfall (n = 10)</b>									
ID –No	RPR-Mby	RPR-Ant	TPPA	FTA-ABS	IgM - INNO-LIA Banden				Gesamt- Ergebnis
					TpN 47	TpN 17	TpN 15	TmpA	
54-S1	1/32	1/32	Positiv	Positiv	+	+	+	+	Positiv
S2	1/1								
S3	1/2	1/1		Positiv	-	-	-	+	Positiv
S4	1/2	1/2	Positiv	Positiv	-	-	-	+	Positiv
S5	1/8	1/16		Positiv	-	-	-	+	Positiv
S6	1/4								
66-S1	1/2	1/2	Positiv	Negativ	-	-	-	-	Negativ
S2	1/4								
S3	1/128	1/128		Positiv	+	+	+	+	Positiv
S4	1/64		Positiv						
S5	1/16	1/16		Positiv	-	+	-	+	Positiv
S6	1/8	1/8		Positiv	-	+	+	-	Positiv
105-S1	1/64	1/64	Positiv	Positiv	+	+	+	+	Positiv
S2	1/32								
S3	1/16	1/16		Positiv	+	+	+	+	Positiv
S4	1/16		Positiv						
S5	1/16	1/16		Positiv	+	+	-	+	Positiv
S6	1/64	1/64		Positiv	+	+	-	+	Positiv
117-S1	1/8	1/8	Positiv	Negativ	-	-	+	-	Positiv
S2	1/4								
S3	1/8	1/8		Negativ	-	-	+	-	Positiv
S4	1/32	1/32	Positiv	Negativ	-	-	+	-	Positiv
S5	1/16	1/16		Negativ	-	-	+	-	Positiv
S6	1/16	1/16		Negativ	-	-	-	-	Negativ
149-S1	1/32	1/32	Positiv	Negativ	-	-	-	-	Negativ
S2	1/8								
S3	1/4	1/64		Negativ	-	-	-	-	Negativ
S4	1/64	1/4	Positiv	Negativ	-	-	-	-	Negativ
S5	1/4								
S6	1/8	1/4		Negativ	-	-	-	-	Negativ
314-S1	1/2		Positiv						
S2	1/4	1/4		Positiv	+	+	+	+	Positiv
S3	1/32	1/32		Positiv	+	+	+	+	Positiv
S4	1/8		Positiv						
S5	1/4	1/4		Positiv	+	+	+	+	Positiv
S6	1/4								
431-S1	1/64	1/32	Positiv	Positiv	+	+	+	+	Positiv
S2	1/16								
S3	1/8	1/8		Positiv	-	+	+	+	Positiv
S4	1/8		Positiv						
S5	1/8	1/8		Positiv	-	+	+	+	Positiv
S6	1/64	1/32		Positiv	-	+	+	+	Positiv

ID –No	RPR-Mby	RPR-Ant	TPPA	FTA-ABS	IgM - INNO-LIA Banden				Gesamt-Ergebnis
					TpN 47	TpN 17	TpN 15	TmpA	
456-S1	1/8	1/8	Positiv	Positiv	-	+	+	+	Positiv
S2	1/8	1/8		Positiv	+	+	-	+	Positiv
S3	1/32	1/32		Positiv	+	+	+	-	Positiv
S4	1/128	1/128		Positiv	Positiv	+	+	+	Positiv
S5	1/32				Positiv	+	+	-	Positiv
S6	1/16	1/16			Positiv	+	+	-	Positiv
474-S1	1/128		Positiv	Positiv	+	+	+	+	Positiv
S2	1/256	1/256		Positiv	+	+	+	+	Positiv
S3	1/32				Positiv	+	+	+	Positiv
S4	1/16	1/16		Positiv	Positiv	+	+	+	Positiv
S5	1/8	1/8		Positiv	Positiv	+	+	+	Positiv
S6	1/64	1/64		Positiv	Positiv	+	+	+	Positiv
577-S1	1/2	1/2	Positiv	Negativ	-	+	-	+	Positiv
S2	1/2				Negativ	-	+	-	Positiv
S3	1/2	1/2		Negativ	-	+	-	+	Positiv
S4	1/4				Negativ	-	+	-	Positiv
S5	1/2	1/2		Negativ	-	+	-	+	Positiv
S6	1/8	1/8		Negativ	-	+	-	+	Positiv

Zum Zeitpunkt des RPR-Titeranstiegs hatten neun von zehn Frauen dieser Gruppe einen positiven IgM-INNO-LIA Test und sieben einen positiven FTA-ABS. Bei einer (ID 66) davon waren vor dem Anstieg beide IgM-Tests negativ. In diesem Fall würden die IgM-Tests auf eine Neu- oder Re-Infektion schließen lassen. Durchgehend negative FTA-ABS-Tests trotz hoher und wiederansteigender RPR-Titer konnten bei drei Frauen beobachtet werden, bei einer (ID 149) war auch der IgM-INNO-LIA stets negativ. Es konnte sich also um keine aktuelle und daher auch um keine Neu-/ Reinfektion handeln. Ob es sich also in diesem Fall um eine ungenügend therapierte Syphilisinfektion mit Serumnarben oder um eine Infektion im latenten Stadium handelte, blieb offen. In den anderen beiden Fällen (ID 117, ID 577) konnte aufgrund der sich widersprechenden Aussagen der IgM-Blots keine Aussage getroffen werden. Der IgM-INNO-LIA veränderte sich bei acht von den neun diesbezüglich positiven Frauen über den Beobachtungszeitraum hinweg nicht, so dass der Test keinen Hinweis auf eine sich verändernden Immunstatus und damit Anhaltspunkte für den Infektionsablauf lieferte.

Gruppe Reinfektion/ Rückfall	n	INNO-LIA+ve zum Zeitpunkt des RPR- Titeranstiegs	INNO- LIA+ve vor RPR- Titeranstieg	INNO- LIA-ve	FTA-ABS+ve zum Zeitpunkt des RPR- Titeranstiegs	FTA-ABS+ve vor RPR- Titeranstieg	FTA- ABS-ve
definiert durch Titeranstieg	10	9 (90%) davon 1 Serokonversio n	8 (80%)	1	7 (70%) davon 1 Serokonversio n	6 (60%)	3

#### 4.3.1.3 Gruppe A-3 Ausschluss Neuinfektion

Diese Personengruppe definierte sich durch einen neu positiven RPR-Titer, der allerdings nur vorübergehend und in sehr niedrigem Maße auftrat, so dass der Verdacht auf falsch positive Testwerte bei nicht aktiver Syphilis gegeben war. Eine echte Neuinfektion sollte mit Hilfe der IgM-Tests ausgeschlossen werden.

Inkludiert wurden in einer zweiten kleinen Untergruppe schwer einzuordnende Fälle mit per definitionem echter biologisch falsch positiver Reaktion (RPR positiv, TPPA negativ) bei ebenfalls sehr schwachem RPR-Wert. Diese Fälle galt es mit den IgM-Verfahren zu überprüfen, um anhand der Resultate eventuell eine neue Zuordnung treffen zu können.

<b>Tabelle17: Ergebnisse Gruppe A-3 Ausschluss Neuinfektion (n=6)</b>									
ID –No	RPR-Mby	RPR-Ant	TPPA	FTA-ABS	IgM - INNO-LIA Banden				Gesamt- Ergebnis
					TpN 47	TpN 17	TpN 15	TmpA	
24-S1	Negativ		Positiv						
S2	Negativ	Negativ		Negativ	-	-	-	-	Negativ
S3	1/2	1/2		Negativ	-	-	-	-	Negativ
S4	1/2	1/2	Positiv	Negativ	-	-	-	+	Positiv
S5	Negativ								
S6	Negativ								
34-S1	Negativ		Positiv						
S2	Negativ								
S3	Negativ	Negativ		Negativ	-	-	-	-	Negativ
S4	1/2	Negativ	Positiv	Negativ	-	-	-	-	Negativ
S5	Negativ	Negativ		Negativ	-	-	+	+	Positiv
S6	Negativ								
55-S1	1/2		Positiv						
S2	1/1								
S3	1/1	1/1		Negativ	-	-	-	-	Negativ
S4	1/2	1/2	Positiv	Negativ	-	-	-	-	Negativ
S5	1/2	1/2		Negativ	-	-	-	-	Negativ
S6	Negativ								
347-S1	Negativ		Positiv						
S2	Negativ	Negativ		Negativ	-	-	-	-	Negativ
S3	1/2	1/2		Negativ	-	-	-	-	Negativ
S4	1/2	1/2	Positiv	Negativ	-	-	-	-	Negativ
S5	Negativ								
S6	1/2								
460-S1	Negativ		Positiv						
S2	Negativ								
S3	Negativ	Negativ		Negativ	-	-	-	-	Negativ
S4	1/2	1/1	Positiv	Negativ	-	-	-	-	Negativ
S5	1/2	1/2		Negativ	-	-	-	-	Negativ
S6	Negativ								
572-S1	Negativ	Negativ	Positiv	Negativ	-	-	-	-	Negativ
S2	Negativ	Negativ		Negativ	-	-	-	-	Negativ
S3	1/2	1/2		Negativ	-	-	-	-	Negativ
S4	1/2	1/1	Positiv	Negativ	-	-	-	-	Negativ
S5	1/2								
S6	1/2								

Beide IgM-Tests waren bei allen sechs Frauen zum Zeitpunkt der fraglichen Neuinfektion - mit RPR-Titeranstieg – und auch vorher negativ. Damit wurde eine neue Syphilisinfektion mit größter Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen. In zwei Fällen reagierte der IgM-INNO-LIA eine Runde später schwach positiv. Ob diese Resultate als falsch positiv eingeordnet werden können, blieb fraglich. Der zu jedem Zeitpunkt negative FTA-ABS ließ darauf hindeuten.

Gruppe Ausschluss Neuinfektion definiert durch	n	INNO-LIA+ve zum Zeitpunkt des RPR-Titeranstiegs	INNO-LIA-ve vor Zeitpunkt des RPR-Titeranstiegs	FTA-ABS+ve zum Zeitpunkt des RPR-Titeranstiegs	FTA-ABS-ve vor Zeitpunkt des RPR-Titeranstiegs
Titeranstieg vorübergehend	6	0	6	0	6

Es gab einige komplizierte Fälle, die aufgrund des serologischen Verlaufes der Standardkombination RPR + TPPA nur schwer einzuordnen waren. Bei zwei Frauen war der TPPA zweimalig negativ, bei einer bei wiederholtem Testen dann positiv, so dass diese Fälle als biologisch falsch positiver Reaktionen geführt wurden. Allerdings waren die RPR-Werte nur schwach positiv und überzeugten nicht im Sinne einer echten Syphilisinfektion. Daher waren die Aussagen der IgM-Verfahren von besonderem Interesse.

ID –No	RPR-Mby	RPR-Ant	TPPA	FTA-ABS	IgM - INNO-LIA Banden				Gesamt-Ergebnis
					TpN 47	TpN 17	TpN 15	TmpA	
42-S1	1/2		Negativ						
S2	1/1	1/1		Positiv	+	+	+	+	Positiv
S3	1/2	1/2		Positiv	+	-	+	-	Positiv
S4	1/2		Negativ						
S5	1/2	1/2		Positiv	+	-	+	-	Positiv
S6	1/1								
59*-S1	1/2	1/2	Negativ	Negativ	-	-	-	+	Positiv
S2	1/2								
S3	Negativ	Negativ		Negativ	-	-	-	+	Positiv
S4	Negativ		Positiv*						
S5	Negativ	Negativ		Negativ	-	-	-	+	Positiv
S6	Negativ								
548-S1	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ	-	-	-	-	Negativ
S2	1/2	1/2		Negativ	-	-	-	-	Negativ
S3	1/2								
S4	1/2	1/2	Negativ	Negativ	-	-	-	-	Negativ
S5	Negativ								
S6	Negativ								

\* Serokonversion des TPPA erst bei wiederholter Testung – Weiterführung in dieser Kategorie

Bei diesen Studienteilnehmerinnen mit echter biologisch falsch positiver Reaktion verhielten sich die IgM-Tests sehr unterschiedlich. Der IgM-INNO-LIA war bei zwei von den drei Fällen positiv zum Zeitpunkt der positiven RPR-Werte, der FTA-ABS nur in einem dieser Fälle (ID 42). Bei dieser Frau sprach das Ergebnis am ehesten für eine neue oder frische Infektion mit *T. pallidum*. Im zweiten Fall (ID 59) war der FTA-ABS negativ und der INNO-LIA positiv. Hier handelte es sich allerdings um die Frau, bei welcher der TPPA später positiv konvertierte, jedoch der RPR negativ. Die IgM-Ergebnisse halfen somit nicht weiter. Bei der dritten Frau (ID 548) reagierten beide IgM-Tests negativ und wiesen damit den niedrigen RPR-Wert am ehesten als eine echte biologisch falsch positive Reaktion aus.

In dieser Kategorie war die HIV-Infektion von speziellem Interesse, da bei einer solchen Koinfektion Treponemenspezifische Tests wie der TPPA negativ reagieren können (vgl. 1.7.2.). Im ersten und dritten Fall waren die Frauen von Beginn an mit HIV infiziert, im zweiten Fall war der HIV-Test stets negativ. So könnte dies zwar die Erklärung für falsch negative TPPA-Ergebnisse im ersten Fall gewesen sein, aber im dritten Fall schien es unwahrscheinlich, dass es sich nicht um eine biologisch falsch positive Reaktion handeln sollte.

#### 4.3.2. Gruppe B: Heilung nach Therapie

In diese Gruppe fielen alle Studienteilnehmerinnen mit einer positiven Syphilisserologie (RPR und TPPA positiv), die medikamentös behandelt wurden.

Zwei Situationen wurden unterschieden:

- a. B-1: Serologische Heilung (RPR-Titerabfall um zwei Verdünnungsstufen oder Seroreversion zu negativ).
- b. B-2. ausbleibende serologische Heilung (persistierende niedrigtitrig positive RPR-Werte trotz Behandlung oder Titerabfall um zwei Stufen tritt nicht ein).

##### 4.3.2.1. Gruppe B-1: Serologische Heilung

Alle Probandinnen, deren RPR-Titer beim zweiten Beobachtungszeitraum (nach mindestens drei, spätestens neun Monaten) um zwei Verdünnungsstufen abgefallen war oder deren Test negativ wurde, galten als „serologisch geheilt“. Personengruppen mit niedrigem (kleiner 1/8) und hohem (größer bzw. gleich 1/8) Anfangstiter wurden gleichermaßen aufgeführt.

<b>Tabelle 20: Ergebnisse Gruppe B-1 Serologische Heilung (n=23)</b>									
ID –No	RPR-Mby	RPR-Ant	TPPA	FTA-ABS	IgM - INNO-LIA Banden				Gesamt-
					TpN 47	TpN 17	TpN 15	TmpA	Ergebnis
13-S1	1/128	1/128	Positiv	Positiv	+	+	-	+	Positiv
S2	1/16								
S3	1/16	1/16		Positiv	+	+	-	+	Positiv
S4	1/16		Positiv						
S5	1/16	1/16		Positiv	+	+	-	+	Positiv
S6	1/16								
38-S1	1/8	1/4	Positiv	Negativ	+	-	-	-	Positiv
S2	1/4								
S3	1/4	1/4		Negativ	+	-	-	-	Positiv
S4	1/2		Positiv						
S5	1/2	1/4		Negativ	+	-	-	-	Positiv
S6	1/2								
45*-S1	Negativ		Negativ						
S2	Negativ	Negativ		Positiv	+	+	-	+	Positiv
S3 n.e.									
S4	1/32	1/32	Positiv	Positiv	+	+	-	+	Positiv
S5	1/2								
S6	1/4	1/2		Positiv	+	+	-	+	Positiv
64-S1	1/16	1/16	Positiv	Positiv	+	+	+	+	Positiv
S2	1/2								
S3	1/2	1/2		Positiv	+	+	+	+	Positiv
S4	1/2		Positiv						
S5	1/1	1/1		Positiv	+	+	+	+	Positiv
S6	Negativ								
89*-S1	Negativ		Negativ						
S2	Negativ								
S3	Negativ	Negativ		Positiv	-	-	-	-	Negativ
S4	1/16	1/16	Positiv	Positiv	+	+	+	+	Positiv
S5	1/2	1/2		Negativ	-	-	-	-	Negativ
S6	1/2	1/2		Negativ	-	-	-	-	Negativ



ID -No	RPR-Mby	RPR-Ant	TPPA	FTA-ABS	IgM - INNO-LIA Banden				Gesamt- Ergebnis
					TpN 47	TpN 17	TpN 15	TmpA	
105*S1	1/64	1/64	Positiv	Positiv	+	+	+	+	Positiv
S2	1/32								
S3	1/16	1/16		Positiv	+	+	+	+	Positiv
S4	1/16		Positiv						
S5	1/16	1/16		Positiv	+	+	-	+	Positiv
S6	1/64	1/64		Positiv	+	+	-	+	Positiv
145-S1	1/64	1/64	Positiv	Positiv	+	-	-	+	Positiv
S2	1/16								
S3	1/8	1/8		Positiv	-	-	-	+	Positiv
S4	1/4		Positiv						
S5	1/4	1/4		Positiv	-	-	-	+	Positiv
S6	1/2								
201-S1	1/16	1/16	Positiv	Negativ	-	-	-	-	Negativ
S2	1/8								
S3	1/8	1/8		Negativ	-	-	-	-	Negativ
S4	1/4		Positiv						
S5	1/4								
S6	1/4								
235-S1	1/256	1/256	Positiv	Positiv	+	+	-	+	Positiv
S2	1/16								
S3	1/8	1/8		Positiv	+	+	-	-	Positiv
S4	1/8		Positiv						
S5	1/8	1/8		Positiv	+	+	-	+	Positiv
S6	1/2								
315-S1	1/512		Positiv						
S2	1/512	1/512		Positiv	+	+	+	+	Positiv
S3	1/256								
S4	1/64	1/64	Positiv	Positiv	+	+	-	+	Positiv
S5	1/64								
S6	1/32	1/32		Positiv	+	+	-	+	Positiv
318-S1	1/16	1/16	Positiv	Negativ	-	+	-	-	Positiv
S2	1/4								
S3	1/2	1/2		Negativ	-	-	-	-	Negativ
S4	1/4		Positiv						
S5	Negativ								
S6 n.e.									
323-S1	1/8	1/8	Positiv	Positiv	+	+	+	+	Positiv
S2	1/4								
S3	1/4	1/8		Positiv	+	+	+	+	Positiv
S4	1/2		Positiv						
S5	1/2	1/2		Positiv	+	+	+	-	Positiv
S6	1/2								
330-S1	1/32	1/16	Positiv	Positiv	-	+	+	+	Positiv
S2	1/4								
S3	1/4	1/4		Negativ	-	-	-	-	Negativ
S4	1/4		Positiv						
S5	1/2								
S6	1/2								
332-S1	1/16		Positiv						
S2	1/4	1/4		Negativ	-	-	-	-	Negativ
S3	1/4	1/4		Negativ	-	-	-	+	Positiv
S4	1/4		Positiv						
S5	1/4	1/4		Negativ	-	-	-	+	Positiv
S6	1/4								

ID –No	RPR-Mby	RPR-Ant	TPPA	FTA-ABS	IgM - INNO-LIA Banden				Gesamt- Ergebnis
					TpN 47	TpN 17	TpN 15	TmpA	
343-S1	1/16	1/16	Positiv	Positiv	+	+	+	+	Positiv
S2	Negativ								
S3	Negativ	Negativ		Positiv	-	+	-	+	Positiv
S4	Negativ		Positiv						
S5	Negativ	Negativ		Positiv	-	+	-	+	Positiv
S6	Negativ								
344-S1	1/32	1/32	Positiv	Positiv	+	+	+	+	Positiv
S2	1/2								
S3	1/4	1/2		Positiv	+	+	+	-	Positiv
S4	1/4		Positiv						
S5	1/2	1/2		Positiv	+	+	+	+	Positiv
S6	1/2								
360*S1	Negativ	Negativ	Positiv	Positiv	+	-	+	+	Positiv
S2	1/64	1/32		Positiv	+	+	+	+	Positiv
S3	1/2								
S4	1/2	1/1	Positiv	Positiv	-	-	-	+	Positiv
S5 n.e.									
S6 n.e.									
380-S1	1/256	1/128	Positiv	Positiv	+	+	+	+	Positiv
S2	1/256								
S3	1/64	1/128		Positiv	+	+	-	+	Positiv
S4	1/64		Positiv						
S5 n.e.									
S6	1/8	1/8		Positiv	-	+	-	+	Positiv
396*S1	Negativ		Positiv						
S2	Negativ	1/1		Negativ	-	-	-	-	Negativ
S3	1/32	1/32		Positiv	+	-	-	+	Positiv
S4	1/8	1/16	Positiv	Negativ	-	-	-	-	Negativ
S5 n.e.									
S6 n.e.									
431*S1	1/64	1/32	Positiv	Positiv	+	+	+	+	Positiv
S2	1/16								
S3	1/8	1/8		Positiv	-	+	+	+	Positiv
S4	1/8		Positiv						
S5	1/8	1/8		Positiv	-	+	+	+	Positiv
S6	1/64	1/32		Positiv	-	+	+	+	Positiv
474*S1	1/128		Positiv						
S2	1/256	1/256		Positiv	+	+	+	+	Positiv
S3	1/32								
S4	1/16	1/16	Positiv	Positiv	+	+	+	+	Positiv
S5	1/8	1/8		Positiv	+	+	+	+	Positiv
S6	1/64	1/64		Positiv	+	+	+	+	Positiv
521-S1	1/2	1/4	Positiv	Negativ	-	+	-	-	Positiv
S2	1/1								
S3	1/2	1/2		Negativ	-	+	-	-	Positiv
S4	1/2		Positiv						
S5	1/1	1/1		Negativ	-	+	-	-	Positiv
S6	Negativ								
561-S1	1/2		Positiv						
S2	1/2	1/2		Negativ	-	-	-	+	Positiv
S3	1/2								
S4	1/2	1/2	Positiv	Negativ	-	-	-	+	Positiv
S5	Negativ	Negativ		Negativ	-	-	-	+	Positiv
S6	Negativ								

\* - Frau ursprünglich in anderer Gruppe geführt, hier zusätzlich ausgewertet  
n.e. – Frau in dieser Runde zur Untersuchung nicht erschienen

Beim RPR-Test galt ein Abfall um zwei Verdünnungsstufen nach mindestens drei maximal neun Monaten als serologische Heilung.

Eine Seroreversion (positiv -> negativ) als klarer Ausdruck einer serologischen Heilung war beim IgM-INNO-LIA in vier (ID 89, 318, 330, 396) der insgesamt 23 ausgewerteten Fällen zu beobachten und bei dreien davon ebenso beim IgM-FTA-ABS. Zweimal trat die Seroreversion innerhalb von drei Monaten, zweimal innerhalb von sechs Monaten ein – in einem Fall (ID 318) war der IgM-FTA-ABS durchgehend negativ. Die Heilung war in diesen Fällen in beiden IgM-Tests und vor allem beim IgM-INNO-LIA schneller zu verfolgen als mit dem RPR-Test, dessen Werte zwar regelrecht abfallen, aber nicht serorevertieren. Ein negativer RPR ist vor allem bei niedrigen Anfangstitern oder bei schnell behandelten Frauen zu beobachten.

Der FTA-ABS war bei 14 und der IgM-INNO-LIA immer noch bei 18 Frauen positiv, während die RPR-Titer schon abgefallen waren. Bei sieben von diesen Frauen reduzierte sich die Anzahl positiver Banden nicht, während bei acht Frauen nach einem Zeitraum von sechs Monaten die Anzahl positiver Banden abnahm und bei dreien nach zwölf Monaten. Die ersten Banden, die im Behandlungsverlauf ihre Reaktivität verloren, waren TpN 47 und TpN 15. Der IgM-INNO-LIA erlangte hierbei einen Vorteil über den IgM-FTA-ABS, da er auch quantitative Aussagen treffen und die Heilung im Verlauf aufzeigen konnte.

Bei einer Studienteilnehmerin waren beide IgM-Tests stets negativ und schlossen damit eine frische Infektion eher aus. Der INNO-LIA wies nur bei dieser einen Frau (ID 201) durchgehend negative Werte auf, während der FTA-ABS insgesamt bei sechsen negativ war.

Tab. 21: Zusammenfassung Ergebnisse B1 (n = 23)																		
Gruppe Serologische Heilung definiert durch RPR-Abfall (zwei Stufen)																		
INNO- LIA Seroreversion innerhalb von	INNO- LIA+ve	INNO- LIA+ve Reduktion der Banden bei n = 11 innerhalb von	INNO- LIA-ve	FTA-ABS Seroreversion innerhalb von	FTA- ABS+ve	FTA- ABS-ve												
<table border="1"> <tr> <td>3 Mte</td> <td>6 Mte</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>2</td> </tr> </table>	3 Mte	6 Mte	2	2	18	<table border="1"> <tr> <td>6 Mte</td> <td>12 Mte</td> </tr> <tr> <td>8</td> <td>3</td> </tr> </table>	6 Mte	12 Mte	8	3	1	<table border="1"> <tr> <td>3 Mte</td> <td>6 Mte</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>1</td> </tr> </table>	3 Mte	6 Mte	2	1	14	6
3 Mte	6 Mte																	
2	2																	
6 Mte	12 Mte																	
8	3																	
3 Mte	6 Mte																	
2	1																	
4	3																	

#### 4.3.2.2. Gruppe B-2: Therapieversagen

Trat auch nach medikamentöser Behandlung im RPR-Test kein Titerabfall von zwei Verdünnungsstufen innerhalb von sechs bis neun Monaten auf oder persistierte der Wert auf niedrig positivem Niveau, wurde dies bei den Betroffenen als ausbleibende serologische Heilung eingestuft.

<b>Tabelle 22: Ergebnisse Gruppe B-2 Therapieversagen (n=10)</b>									
ID –No	RPR-Mby	RPR-Ant	TPPA	FTA-ABS	IgM - INNO-LIA Banden				Gesamt- Ergebnis
					TpN 47	TpN 17	TpN 15	TmpA	
26-S1	1/4	1/4	Positiv	Positiv	-	+	-	+	Positiv
S2	1/4								
S3	1/4	1/4	Positiv	Positiv	-	+	-	-	Positiv
S4	1/4								
S5	1/4	1/4	Positiv	Positiv	-	+	-	-	Positiv
S6	1/4								
232-S1	1/2	1/2	Positiv	Negativ	-	-	-	+	Positiv
S2	1/2								
S3	1/2	1/2	Positiv	Negativ	-	-	-	+	Positiv
S4	1/2								
S5	1/2	1/2		Negativ	-	-	-	+	Positiv
S6	1/2								
346S1	1/8	1/8	Positiv	Positiv	-	+	+	+	Positiv
S2	1/4								
S3	1/4	1/4		Positiv	+	+	+	+	Positiv
S4	1/4	1/4	Positiv	Positiv	+	+	+	+	Positiv
S5	1/8								
S6	1/4	1/2		Positiv	-	+	-	+	Positiv
413-S1	1/8	1/8	Positiv	Negativ	-	-	-	-	Negativ
S2	1/8								
S3	1/4	1/4	Positiv	Negativ	-	-	-	-	Negativ
S4	1/8	1/8		Negativ	-	-	-	-	Negativ
S5	1/8								
S6	1/8								
416-S1	1/2	1/2	Positiv	Negativ	-	-	-	-	Negativ
S2	1/2								
S3	1/2	1/2		Negativ	-	-	-	-	Negativ
S4	1/2								
S5	1/2								
S6	1/2								
438-S1	1/8	1/8	Positiv	Negativ	-	-	-	-	Negativ
S2	1/16								
S3	1/8	1/8		Negativ	-	-	-	-	Negativ
S4	1/8	1/8	Positiv	Negativ	-	-	-	-	Negativ
S5	1/8								
S6	1/8								
454- S1	1/8	1/8	Positiv	Negativ	-	-	-	+	Positiv
S2	1/8								
S3	1/4	1/8		Negativ	-	-	-	+	Positiv
S4	1/4	1/4	Positiv	Negativ	-	-	-	+	Positiv
S5	1/4								
S6	1/4	1/4		Negativ	-	-	-	+	Positiv
479-S1	1/2	1/2	Positiv	Negativ	-	-	-	-	Negativ
S2	1/2								
S3	1/2	1/2		Negativ	-	-	-	-	Negativ
S4	1/2								
S5	1/2								
S6	1/2								

515-S1	1/2	1/2	Positiv	Negativ	-	-	-	-	Negativ
S2	1/2			Positiv	-	+	-	-	Positiv
S3	1/2	1/2							
S4	1/2								
S5	1/2								
S6	1/2								
558-S1	1/16	1/16	Positiv	Positiv	+	+	-	+	Positiv
S2	1/8								
S3	1/8	1/8		Positiv	+	+	-	+	Positiv
S4	1/4	1/4	Positiv	Positiv	+	+	-	+	Positiv
S5	1/4								
S6	1/4	1/4		Negativ	-	-	-	+	Positiv

Bei fünf bzw. bei sieben Frauen der Gruppe ergaben der IgM-INNO-LIA bzw. der IgM-FTA-ABS negative Resultate bei zum Teil recht hohen RPR-Titern. Diese Reaktion sprach gegen eine aktuelle Auseinandersetzung des Immunsystems mit *T. pallidum* und wies damit eher auf den Zustand des latenten Stadiums hin. Die Beobachtung von lang anhaltender Seropositivität im latenten Stadium und bei spätem Therapiebeginn stände damit im Einklang mit anderen Studien. In den Fällen mit negativen IgM-Resultaten könnte daher am ehesten von einer stabilen „Heilung“ gesprochen werden.

In den weiteren fünf Fällen, in denen der IgM-INNO-LIA positiv war, reduzierte sich bei dreien davon die Anzahl der positiven Banden über den Beobachtungszeitraum. Der IgM-FTA-ABS zeigte sich bei immerhin noch drei Frauen positiv. Bei einer Probandin (ID 558) stellte sich beim Testen mit dem FTA-ABS eine Seroreversion (positiv -> negativ) ein, diese Beobachtung deckte sich mit der Abnahme von positiven Banden des INNO-LIA bei dieser Frau. Die positiven Reaktionen in beiden IgM-Tests ließen bei diesen Frauen eher den Rückschluss zu, dass eine serologische Heilung ausgeblieben war, so dass es sich hierbei um Therapieversagen handeln könnte. Eine sichere Unterscheidung zwischen Serumnarbe und Therapieversagen war jedoch auch mit den IgM-Verfahren nicht möglich.

Gruppe Therapieversagen	n	INNO-LIA+ve zum Zpkt. der ausbleibenden Heilung	INNO-LIA-ve zum Zpkt. der ausbleibenden Heilung	FTA-ABS+ve zum Zpkt. der ausbleibenden Heilung	FTA-ABS-ve zum Zpkt. der ausbleibenden Heilung
definiert durch ausbleibende serologische Heilung	10	5	5	3	7

## 5. Diskussion

### 5.1. Bewertung des Patientenkollektivs

Um die aus vorliegender Dissertation gewonnenen Informationen mit anderen Arbeiten vergleichbar zu machen, bietet sich eine kurze Gegenüberstellung der Daten des Kollektivs zu Patientengruppen anderer Studien an.

Das Kollektiv der untersuchten Frauen setzte sich aus der Untergruppe einer sogenannten Risikopopulation zusammen – den sogenannten „female bar workers“. Es handelt sich hierbei um Frauen, die, um ihren Lebensunterhalt zu verdienen oder aufzubessern, sexuelle Dienste für Geld oder andere materielle Güter anbieten. Aufgrund des häufigen und häufig ungeschützten Geschlechtsverkehrs sind sie einem höheren Risiko ausgesetzt, sich mit Geschlechtskrankheiten zu infizieren. Wegen der hohen Inzidenz von STIs und HIV wird die Gruppe der „female sex workers“ daher häufig zu wissenschaftlichen Untersuchungen in diesen Fragen herangezogen<sup>4,17,37,127,167</sup>. Die in dieser Arbeit untersuchte Kohorte war daher vergleichbar mit anderen „sex worker“-Kohorten auf dem afrikanischen Kontinent<sup>3,36,43,91,120,154,157,215</sup>.

Durch den nahe gelegenen "Transafrica-Highway" erhöhte sich für die Frauen der Kohorte das Risiko für eine Infektion mit HIV und Geschlechtskrankheiten<sup>162</sup>. Der sexuelle Kontakt mit Fernlastwagenfahrern, die selber eine Hochrisikopopulation für STI's und HIV sind<sup>23,84,137</sup>, potenzierte die Gefahr<sup>161</sup>. Verhaltensweisen wie das in afrikanischen Ländern übliche vaginale „douching“ [Hierbei duschen sich die Frauen nach dem Geschlechtsverkehr die Scheide aus oder versuchen diese mit starker mechanischer Irritation oder chemischen Anwendungen zu „säubern“, wobei oft die natürliche Scheidenflora zugrunde geht.] erhöhen die Inzidenz von Bakterieller Vaginose und anderen STIs sowie als Folge von HIV<sup>65</sup>. Oft veranlassen die Frauen entweder aus Scham oder weil sie die [im Inneren des Geschlechtstraktes gelegenen] Manifestationen wie Ulzera nicht wahrnehmen, keine Behandlung<sup>134</sup>.

Ein wichtiger Umstand für die Bewertung der Ergebnisse war die hohe HIV-Inzidenz in dieser Kohorte. In welchem Ausmaß diese Infektion die verschiedenen Ergebnisse beeinflusste, konnte nicht abgeschätzt werden. Davon betroffen sind in erster Linie die serologischen Resultate<sup>11,78,85,187,234</sup>. Aber auch klinische Alterationen in Form von untypischen Symptomen, die nicht in der syndromischen Vorgehensweise aufgeführt wurden (z.B. Hautausschläge nicht an Händen und Fußsohlen), könnten zu einer falschen

Einschätzung führen<sup>79,92,96,152</sup>. Die hohe Anzahl an gleichzeitig vorhandenen venerischen Infektionen erschwerte die Betrachtung einer einzelnen Infektion. Der Zeitpunkt der Ersterkrankung war anamnestisch meist nicht erhebbar. Gerne behandeln sich die Frauen bei leichten Beschwerden mit in Tansania wie in den meisten afrikanischen Ländern nicht rezeptpflichtigen und billigen Antibiotika oder anderen Medikamenten selber. Diese Eigenmedikation kann die Beobachtungen im Zusammenhang mit den serologischen Reaktionen bezüglich der Einschätzung des Therapieerfolges verfälschen. Zusätzlich war die Compliance bezüglich der Einnahme von verschiedenen Medikamenten nicht genau einzuschätzen, auch wenn in diesem Projekt die Medikamente zur Syphilisbehandlung unter Aufsicht verabreicht wurden. Dem Problem der hohen Mobilität der Frauen konnte mit einer intensiven Betreuung durch die Kontaktpersonen, welche die Frauen zum Beispiel auch nach einem Umzug aufsuchten und zur Wiedervorstellung luden, begegnet werden. Zudem deckten die verschiedenen HTAs ein großes Gebiet in der Region ab. Die Follow-Up Rate war daher sehr gut.

## **5.2. Bewertung der Datenerhebung**

Die Gesamtheit der gewonnenen Daten setzte sich aus verschiedenen Einheiten zusammen: die Erhebung der soziodemographischen Daten, die klinische Untersuchung und deren Dokumentation, sowie die mittels labortechnischer Verfahren resultierenden serologischen Ergebnisse.

Die soziodemographischen Daten, die anhand strukturierter Fragebögen von speziell ausgebildeten Interviewerinnen wiederholt erhoben wurden, gaben ein umfangreiches Bild des Lebensumfeldes, der Lebensumstände und anderer beeinflussender Faktoren wieder. Ebenso wurden Fragen zur Häufigkeit des Geschlechtsverkehrs, dem Gebrauch von Kondomen, der Art der Kontrazeption, Verhaltensweisen wie „vaginal douching“ und anderes gestellt. Leider waren die Erfahrungen aus ähnlichen Studien dahingehend, dass Aussagen zum Risikoverhalten, speziell des sexuellen Verhaltens, oft inkorrekt sind<sup>28,216,222</sup>. Auch beim „Barworkers Health Project“ war davon auszugehen, dass die Angaben zum Teil nicht der Wahrheit entsprechen.

Die klinische Untersuchung wurde von Ärzten und medizinischem Assistenzpersonal durchgeführt, die ihre Erfahrung in ähnlichen Studien oder in der Abteilung für venerische Krankheiten des „Referral Hospitals“ gewonnen haben. Zu Beginn des Projektes fand ein

Training zur Durchführung der Spekulumuntersuchung statt. Es wurde ein strukturierter Ablauf der Untersuchung eingeübt, so dass die regelmäßigen Follow-Up Besuche im Feld in der immer gleichen Reihenfolge verliefen. So konnte eine gute Qualität der klinischen Datenerhebung gewährleistet werden.

Es wurden etablierte Testverfahren in der HIV-Testung (HIV ELISA und Western Blot) und der Untersuchung der Ulzera (PCR) verwendet<sup>203</sup>. Die Kühlkette wurde eingehalten und die Proben nach Verarbeitung bis zur Verschickung in Stickstoffeinheiten gelagert.

Bei der Durchführung des RPR-Tests waren einige Besonderheiten zu beachten: Das Ablesen der Verdünnungsstufen, also in welcher Verdünnung die letzte sichtbare Reaktion erfolgte, ist subjektiv<sup>123</sup>. Bis zu einem gewissen Grad kann das Ablesen jedoch trainiert und erlernt werden. Um die Auswertungen noch weiter zu optimieren, wurde eine Zweifach-Testung eingeführt, bei der die Doktorandin und eine Laborkraft unter Aufsicht des Laborchefs, der zugleich bei zweifelhaften Proben Ansprechpartner war, jedes eingehende Serum bewerteten. Schwankungen um eine Verdünnungsstufe, die selbst bei mehrfachen Testen auftraten, wurden toleriert. Aufgrund dieser algorithmischen Vorgehensweise konnte im Rahmen der vom Testverfahren vorgegebenen Sensitivität und Spezifität von einer korrekten Interpretation ausgegangen werden<sup>101</sup>. Weiterhin wurde das Laborpersonal auf die Notwendigkeit einer schnellen Durchführung der Testprozedur bei doch stärker schwankenden klimatischen Raumtemperaturen hingewiesen und dahingehend überwacht. Um große Abweichungen trotzdem auszuschließen, wurde der RPR-Test bei allen ausgewählten Proben im Antwerpener Labor noch einmal durchgeführt. Die qualitative TPPA-Testung<sup>169</sup> ergab keine Probleme in der Durchführung und Auswertung.

Enzym- oder Bandenimmunoassays finden immer mehr Verbreitung in der serologischen Diagnosestellung der Syphilis<sup>26,97,124,125,186,235</sup>. Es hat sich aber noch kein Testverfahren als Standard durchsetzen können, so dass in jedem Labor ein anderes Verfahren zum Einsatz kommt<sup>51</sup>. Die Hoffnung auf einen einzigen Test, der die vielfältigen Schwierigkeiten in der Interpretation der Serologie reduziert, hat sich noch nicht erfüllt.

Der in vorliegender Arbeit verwendete INNO-LIA erweckte große Erwartungen bezüglich seiner bisher guten Ergebnisse in Spezifität und Sensitivität<sup>50,88</sup>. Da er originär nur die Anwesenheit von IgG-Antikörpern aufdeckt, entwickelte die Universität Antwerpen eine modifizierte In-house-Technik zum Nachweis von IgM-Antikörpern. Aufgrund der erfolgten Modifikation mit einem vorgeschalteten Absorptionsverfahren änderte sich die Beurteilung der Banden. Dies hatte zur Folge, dass die Beurteilung der positiven Ergebnisse keine großen Abstufungen mehr erlaubte, was die Interpretationsbreite einschränkte. Zudem ist das



Originalverfahren noch wenig und das modifizierte noch gar nicht evaluiert worden. Deswegen wurde zum Vergleich der IgM-FTA-ABS herangezogen. Die Übereinstimmung zwischen diesen beiden war in den meisten Fällen sehr hoch, so dass die Aussagen des modifizierten INNO-LIA-Tests glaubwürdig erscheinen<sup>40</sup>.

### 5.3. Bewertung der Daten

#### 5.3.1. Überblick über die Gesamtergebnisse der Testverfahren

Eine Rate von 17,5% RPR-positiven Frauen ist für eine Normalpopulation sehr hoch, in dieser Risikopopulation von Prostituierten jedoch erklärlich und vergleichbar mit ähnlichen Kohorten<sup>110,116,142,229</sup>. Die Verteilung der RPR-Spiegel auf etwa jeweils die Hälfte hohe und niedrige Titer lässt auf ein buntes Infektionsmuster schließen. Nach dem bei diesen Frauen bis auf zwei alle auch einen positiven Bestätigungstest (TPPA) aufwiesen, wurde bei 17,16% von einer Syphilisinfektion ausgegangen. Die damit erklärliche BFP-Rate von 1,09% entspricht der, die man in einer Erwachsenenpopulation durchschnittlich annimmt<sup>153</sup>. Dies erstaunt jedoch in dieser Kohorte, wenn man davon ausgeht, dass eine konkomitante HIV-Infektion mehr falsch positive Reaktionen in der Syphilisdiagnostik hervorrufen kann<sup>10,104</sup>. Schon zu Beginn waren 32,2% in der Kohorte mit HIV infiziert. Damit kann der verstärkende Effekt, den besonders die ulzeröse Syphilis auf die erleichterte Übertragung von HIV hat, in vorliegender Arbeit ebenfalls vermutet und bestätigt werden<sup>34,35,64</sup>.

Der RPR-Verlauf unter medikamentöser Therapie verhält sich ebenfalls vergleichbar zu anderen Studien<sup>20,179,199</sup>. Ein regelrechter Abfall in kürzester Zeit tritt zwar bei 44,64% auf, aber bei vielen Frauen dauert ein zu beobachtender Spiegelabfall länger. Bei knapp 20% ereignete sich ein solcher während des gesamten Beobachtungszeitraumes nicht, wie es vor allem in latenten Stadien beschrieben wird<sup>179</sup>.

Anhand der ausgewählten 56 Frauen, deren serologische Ergebnisse aller Testverfahren dargestellt wurden, konnten zwei IgM-Tests näher beschrieben werden. Bezog man sich auf die Ergebnisse der Standardkombination von positivem RPR und TPPA, so bestätigte der IgM-FTA-ABS eine Syphilisinfektion in 59,3% der 54 Fälle und der neue IgM-INNO-LIA bei 74,1%. Verengte man das Kriterium der Syphilisinfektion auf eine aktive Syphilis (Titer  $\geq$  1/8), so steigt die Sensitivität beim IgM-FTA-ABS auf 75,0% und beim IgM-INNO-LIA auf

85,0% an. Die bisher guten Ergebnisse bezüglich Spezifität und Sensitivität des FTA-ABS<sup>98,138,147</sup> wurden hier nicht erreicht. Auch der neue IgM-INNO-LIA erreichte keine zufriedenstellenden Werte und steht damit im Gegensatz zu den bisher eher euphorischen Berichten<sup>50,88</sup>. Dass er damit die an ihn gerichteten Erwartungen nicht erfüllte, konnte aber natürlich auch an der nötigen Modifikation des Testvorgangs liegen als auch an der zu geringen Fallzahl. Auch die klinische Gruppeneinteilung war konzeptionell schwierig mit den Erwartungen an die Testverfahren in Einklang zu bringen.

### 5.3.2. Stärken und Schwächen der Aussagekraft der Standardkombination (RPR + TPPA)

Die Aussagekraft von RPR und TPPA richtet sich stark nach den klinischen Stadien, in denen sich der Infizierte befindet. Unspezifische Testverfahren wie der RPR haben ihre Schwäche im frühen Primärstadium, wenn noch keine lipoidalen Antikörper vorhanden sind<sup>123</sup>. Sie können in einem Viertel der Fälle negativ sein<sup>101</sup>. Angaben über die Höhe der RPR-Titer variieren, es finden sich niedrig positive ( $<1/4$ )<sup>90</sup> als auch höhere Spiegel ( $>1/8-32$ )<sup>199</sup>. Die Reaktionsstärke hängt vom Zeitpunkt der Testung im Verhältnis zum Infektionsbeginn ab: je näher am Übergang zum Sekundärstadium getestet wird, um so höher sind die Spiegel.

Die Kombination eines Ulkus zusammen mit einem positiven VDRL oder spezifischen Testes bedeutet nicht immer primäre Syphilis in der Schlussfolgerung<sup>224</sup>. In bestimmten Fällen mag das Ulkus anderen Ursprungs sein und der positive Titer eine latente Syphilis offenbaren. Sind diese Fälle in westlichen Ländern eher selten, so können sie in einer mit verschiedenen STIs gleichzeitig infizierten Population wie der in dieser Studie häufig sein.

Treponemen-spezifische Tests wie der TPPA finden im frühen Stadium als Screeningtest keine Anwendung, da auch die spezifischen Antikörper meist noch nicht vorhanden sind<sup>123</sup>. Handelt es sich allerdings nicht um die erste Syphilisinfektion, so kann es sein, dass noch von einer früheren Episode Antikörper im Blut sind, die im Test reagieren.

Im Sekundärstadium sind spezifische wie unspezifische Tests meist zu 100% positiv<sup>101,190</sup>, ein negativer spezifischer Test schließt die Diagnose aus. Charakteristisch für das sekundäre Stadium ist die disseminierte Spirochotämie und damit auch die Präsenz der Antikörper. Nichttreponemale und treponemale Tests sind jetzt zu meist 100% positiv. Mit dem direkten Nachweis aus Läsionen wird die definitive Diagnose gesichert<sup>123</sup>. Ein negatives Ergebnis in einem Lipoid-Antikörper-Test schließt die Diagnose sekundäre Syphilis aus<sup>101</sup>. Die Titer steigen im sekundären Stadium meist über  $1/8$  an<sup>199</sup>. Allgemein wird ein positiver

RPR/VDRL und ein positiver Bestätigungstest aus der Gruppe der spezifischen Antikörpertests als Grundlage für die Diagnose einer frischen Syphilis akzeptiert.

Geht die Krankheit in das chronische Stadium der Latenz über, weil sie bis jetzt noch nicht behandelt wurde, ändert sich auch das serologische Verhalten: die RPR-Titer fallen mit der Länge der Latenzzeit. Ein direkter Nachweis ist nicht möglich, da in diesem Zeitraum keine frischen Läsionen vorhanden sind. Es fehlen überhaupt klinische Symptome. Latente Syphilis wird daher angenommen, wenn reaktive Tests in Kombination mit einem negativen Testergebnis ein Jahr früher vorhanden sind oder es aus anderen Gründen angenommen werden kann, dass der Infektionszeitpunkt nicht länger als ein Jahr zurückliegt<sup>70</sup>.

Die Testergebnisse zeigen meist den niedrigsten Level der Immunantwort<sup>226</sup>. Das erschwert die Diagnose im spätlatenten Syphilisstadium, in der die unspezifischen Tests nur schwach positiv oder gar nicht reagieren. Selten werden auch hochtitrige RPR-Ergebnisse größer 1/8 und 1/32 in diesem Stadium gefunden<sup>70</sup>. Werden die Betroffenen erst in diesem Stadium getestet, ergibt der negative Screeningtest keinen Verdacht auf eine Infektion mit Syphilis. Aus diesem Grund muss zugleich ein spezifischer Test durchgeführt werden, der unabhängig von der Infektionsdauer bzw. dem Intervall zwischen Infektionszeitpunkt und Testzeitpunkt positiv bleibt. Allerdings gibt es Anzeichen dafür, dass auch diese Tests negativ werden können, vor allem wenn in einem frühen Stadium behandelt wurde oder gleichzeitig eine HIV-Infektion vorliegt<sup>78,85,183</sup>. Damit kann ein positiver unspezifischer Test in Kombination mit einem negativen spezifischen Test eine falsch positive Reaktion sein (und damit keine behandlungsbedürftige Infektion) oder aber ein richtig positives Testergebnis mit Verlust der Reaktivität im spezifischen Test (und damit eine entweder frische oder latente Syphilisinfektion)<sup>183</sup>! Biologisch falsch positive Reaktionen treten bei durchschnittlich 1% der Bevölkerung auf<sup>153</sup>, bei HIV-Infizierten etwas öfter<sup>10,104,180</sup>. Daher mag es durchaus sinnvoll sein, bei einem positivem RPR-Resultat eine HIV-Infektion zu vermuten und eine entsprechende Untersuchung zu veranlassen<sup>104</sup>. Gibt es auch Studien, die eine Beeinflussung der Serologie durch die HIV-Infektion belegen<sup>76,79,92</sup>, dazu gehören vor allem falsch negative oder ungewöhnlich hohe Titer in unspezifischen AK-Tests, so wird im Großen und Ganzen doch von einer vergleichbaren Ansprechbarkeit der Testverfahren ausgegangen<sup>85,123,190</sup>.

Gerade hinsichtlich der Interpretation von nur vorübergehenden schwach positiven Resultaten ist zu bedenken, dass der RPR-Test beim Ablesen der letztendlichen Reaktionsstufe einer subjektiven Einschätzung unterliegt. Unterscheidungen zwischen negativ, 1/1 und 1/2 sind manchmal nicht klar zu treffen. Es gab Schwierigkeiten, einen Befund zu interpretieren, der

im ersten Testdurchgang eine Agglutination aufweist, die aber in der Verdünnungsreihe nicht mehr nachweisbar ist.

Trotz ihrer Schwächen ist die Kombination der beiden Testgruppen bisher das wichtigste Verfahren in der Syphilisdiagnostik. Der RPR- Test bleibt zudem der einzige Test, dem eine Eigenschaft als Aktivitäts- und Verlaufsparemeter zugebilligt und der damit zum Monitoring der Therapie herangezogen werden kann. Der TPPA deckt hingegen auch eine vergangene Auseinandersetzung des Organismus mit *T. pallidum* auf.

### 5.3.3. Stärken und Schwächen der Aussagekraft der IgM-Tests

Es ist schwierig, die Möglichkeiten des IgM-Tests generell einzuschätzen, da sich die Enzym-/Bandenimmunoassays noch nicht so lange in der Verwendung befinden wie die üblichen Treponemen-spezifischen und unspezifischen Tests und auch die älteren IgM-spezifischen Tests. Zwar wird in fast allen großen Labors inzwischen ein IgM-EIA zur Diagnose der Syphilis miteingesetzt, aber es hat sich noch kein einzelner Ansatz als Standard durchsetzen können<sup>51,189</sup>. Die neuen Methoden werden daher bis jetzt meist in Kombination mit den alten Verfahren oder als Ergänzung verstanden<sup>169,170,173</sup>.

Man erhofft sich aufgrund der spezifischen Immunantwort bezüglich der verschiedenen Antikörperklassen eine frühere Aufdeckung aktiver Stadien, Aufschluss über die Unterscheidung Reinfektion/ Rückfall/ Neuinfektion sowie eine Aussage zur Behandlungsbedürftigkeit des Infizierten<sup>124,125</sup>. Ebenso wird anvisiert, mit dieser Testgruppe die Therapie überwachen zu können<sup>98,143,147</sup>. In einer Studie<sup>26</sup> erreichte der ELISA nicht nur eine hohe Sensitivität und Spezifität, sondern es konnte sogar in den einzelnen Krankheitsstadien der Nachweis von IgM-Antikörpern erbracht werden. Die Titer fielen in den späteren Stadien ab, so dass der Test bei zusätzlich technischen Vorteilen (leicht, objektiv, automatisiert) als gut einsetzbar für Screening und Diagnose der Syphilis angesehen wird. Enzym-/Banden-Immunoassays sind daher in der Lage, Syphilis in allen Stadien ähnlich gut zu serodiagnostizieren<sup>184,235</sup>.

Gerade im frühen Primärstadium, wenn unspezifische und spezifische Antikörper noch nicht vorhanden sind, hofft man, mithilfe des Nachweises von IgM-Antikörpern Syphilis noch früher diagnostizieren zu können<sup>175</sup>. Antikörper vom IgM- und IgG-Typ sind in der Regel

beide in diesem Stadium vorhanden und können mit den entsprechenden Enzymimmunoassays auch spezifisch nachgewiesen werden<sup>124,138</sup>. Die größere Menge von IgG- als IgM-Antikörper kann auf eine kompetitive Hemmung der Antikörper an den Bindungsstellen zurückzuführen sein<sup>163</sup>. Die Spiegel sind in frühen Stadien meist höher als in späten<sup>99</sup>. Es kann sogar sein, dass ein IgM-Nachweis in dieser Phase allein in der Lage ist, eine frische Infektion nachzuweisen, da die anderen Testverfahren in der frühen Phase der Infektion alle noch negativ sein können<sup>175</sup>. Bei der Beurteilung der IgM-Antikörperbefunde darf nicht schematisch vorgegangen werden. Ohne Kenntnis der Infektions- und Behandlungsanamnese kann nicht davon ausgegangen werden, dass ein positiver Test bedeutet, dass eine Therapie indiziert ist und ein negativer Test, dass keine Therapie nötig ist. Zu komplex ist das Reaktionsmuster, besonders bei Reinfektion, Reaktivierung oder lange zurückliegender Infektion<sup>86</sup>.

Im Sekundärstadium reagiert der Test meist auch positiv<sup>124</sup>. Diese Infektionsphase wird dominiert von der Verteilung der Spirochäten im Organismus und der Auseinandersetzung des Immunsystems damit, so dass zwar vornehmlich IgG-Antikörper, aber auch solche der IgM-Klasse gefunden werden.

Im latenten Stadium sinkt die Immunantwort auf den geringsten Level<sup>226</sup>. IgM-Antikörper sind gar nicht nachweisbar oder nur in geringen Mengen vorhanden<sup>163</sup>. Eine mögliche Ursache ist die Blockade der in vivo Synthese von IgM-Antikörpern durch hohe IgG-Antikörperspiegel bei lang bestehender Infektion<sup>53</sup>. Oftmals versagen daher IgM-spezifische Ansätze in diesem Stadium<sup>138</sup>. Mögliche Ursachen für das Versagen der Immunoassays bei latenter Syphilis sind<sup>98</sup>:

a) ELISA weist nur die Reaktion gegen das axiale Filament der Treponemen nach; wenn dieses nicht betroffen ist, erfolgt keine Reaktion

b) manche Epitope der Treponemen, die erst in der latenten Phase immunogen werden, werden vom ELISA nicht entdeckt, aber vom FTA-ABS schon.

Ein neuer Ansatz mit dem Nachweis von Antikörper-sezernierenden-Zellen (ASZ) kann eventuell zeigen, ob die Erreger noch als Antigen das Immunsystem stimulieren<sup>198</sup>. Insgesamt ist der Nachweis von IgG-Antikörper in diesem Stadium durch die Enzymimmunoassays sehr viel sensitiver<sup>124</sup>.

Je weiter das latente Stadium voranschreitet, umso spärlicher können IgM-AK entdeckt werden. Aufgrund einer Serumnarbe können aber in der Regel IgG-AK mit Enzymimmunoassays noch nachgewiesen werden<sup>53,124</sup>.

Eine neuere Untersuchung<sup>88</sup> beschreibt eine Sensitivität des INNO-LIA von 100% und eine Spezifität 99,3%. Die Evaluation wurde durch das Testen von bekannt positiven, negativen und unbestimmbaren Sera im Vergleich mit dem TPHA, FTA-ABS und VDRL durchgeführt, manche positiven Testergebnisse zusätzlich mit dem IgM-EIA und 19S-IgM-FTA-ABS. Gerade bei bislang unklaren Fällen erreichte der INNO-LIA in 24 von 27 klare Ergebnisse. Trotzdem folgern die Autoren, dass Bestätigungstests nötig sind und das Testergebnis allein nicht ausreicht, um die Einordnung in die verschiedenen Stadien klar vorzunehmen.

#### 5.3.4. Bewertung der Aussagekraft der Testverfahren bezüglich der Fragestellungen

Je nach Konstellation der Testergebnisse ergaben sich bestimmte Fragestellungen.

1. Diagnose Neuinfektion: bei welcher Ergebniskonstellation kann mit Sicherheit eine Neuinfektion diagnostiziert werden? Wann handelt es sich nur um eine vorübergehende Titererhöhung im Stadium der Latenz? Oder handelt es sich bei dem hohen Titer um eine biologisch falsch positive Reaktion, die z.B. aufgrund von Begleiterkrankungen wie Malaria auftritt<sup>153</sup>? Nur mit den Ergebnissen der unspezifischen Testverfahren konnte in diesen Fällen keine sichere Unterscheidung getroffen werden. Auch die Treponemen-spezifischen Testresultate des TPPA haben nur limitierte Aussagekraft, da sie in einer Gruppe mit hoher STI-Prävalenz immer noch positiv aufgrund vergangener Syphilisepisoden sein können. Die Unterscheidung ist aber hinsichtlich therapeutischer und prognostischer Konsequenzen wichtig.

2. Frage Reinfektion/ Rückfall: Erfolgte der Titeranstieg nach einem vorherigen Abfall wegen einer erneuten Ansteckung? Und hat der Organismus dann versagt, eine Prämunität, einen Schutz vor Ansteckung bei noch nicht erfolgreicher Bekämpfung der Treponemen, herzustellen?<sup>224</sup> Handelt es sich hierbei um ein Versagen der Therapie nach primärem Ansprechen oder ist der Anstieg auf andere Umstände wie z.B. eine Schwangerschaft zurückzuführen?

3. Frage der Heilung: ab welchen Werten gilt ein Betroffener als geheilt<sup>20,129,179</sup>? Wann müssen die Tests negativ werden, um einen Heilungsprozess zu dokumentieren? Welcher Zeitraum, in dem die RPR-Spiegel absinken, darf noch toleriert werden?

#### 5.3.4.1. Fragestellung der Neuinfektion

Die Frage der Neuinfektion wurde bei Frauen gestellt, die nach einem negativen RPR-Testergebnis einen neu positiven hochtitrigen RPR Test aufweisen. Wurde bei diesen noch relativ sicher von einer neuen Infektion ausgegangen, so gab es eine Personengruppe, bei welcher der neu auftretende positive RPR-Wert nur vorübergehend und niedrigtitrig war, was einem regulären stadienhaften Verlauf widerspricht<sup>123,190</sup>. Aber auch bei Frauen mit einem positiver RPR-Test, aber einem zweimalig negativen TPPA-Test, also eigentlich einer biologisch falsch positiven Reaktion, stellte sich die Frage einer Neuinfektion.

Bei einer Neuinfektion hätte man sich vom IgM-Test eine Serokonversion von negativ zu positiv erwartet. Betrachtete man die Ergebnisse der IgM-Tests, so war der INNO-LIA zum Zeitpunkt der RPR-Serokonversion bei zehn von elf positiv und der IgM-FTA-ABS bei allen. In sechs Fällen davon handelte es sich beim INNO-LIA ebenfalls um eine Serokonversion. Allerdings erfolgte diese in keinem Fall eher als beim RPR-Screeningtest. Bei vieren aus der Gruppe hätte mit dem INNO-LIA schon eine Runde früher Syphilis diagnostiziert werden können und mit dem IgM-FTA-ABS bei fünf. Allerdings limitierte das Zeitfenster von drei Monaten diesen Vorteil, so dass sich die Hoffnung auf die Festlegung eines initialen Infektionszeitpunktes nur bedingt erfüllte. Da die IgM-Tests nicht die in dem erwarteten Maße schnell angepasste Reaktionsfähigkeit zeigten, blieb ebenso eine Beobachtung über einen längeren Zeitraum nötig. Der IgM-INNO-LIA revertierte nicht schneller zum Negativen als der IgM-FTA-ABS oder der RPR. Es war kein bestimmtes Verhaltensmuster bezüglich der Negativwerdung erkennbar: bei zwei Fällen erfolgte die Seroreversion innerhalb einer Runde nach Behandlung, meistens hielt jedoch die positive Reaktion noch über mehrere Runden an. Der erhoffte Vorteil, dass im IgM-INNO-LIA eine schnelle Serokonversion und darauffolgende schnelle Seroreversion dokumentiert werden könnte, trat nur teilweise ein.

Sind die RPR-Messwerte nur niedrig und vorübergehend, sind diese Ergebnisse suspekt auf eine Neuinfektion. Bei einer frischen Erstinfektion erwartet man eher hohe Titer<sup>190,199</sup>. Wenn die Infektion allerdings früh im Anfangsstadium untersucht wurde, dann sind auch niedrige RPR-Titer möglich<sup>90,101</sup>. Wurde die Infektion zudem sehr schnell behandelt, ist es möglich, dass die serologische Heilung innerhalb so kurzer Zeit eintritt, dass die RPR-Spitzen unterdrückt werden<sup>20,179</sup>. Eine andere Interpretationsmöglichkeit ist das Auftreten falsch positiver Resultate mit fluktuierend positiven RPR-Werten bei Einflüssen wie akuten oder chronischen Infektionen<sup>153,190</sup>. Diese Wahrscheinlichkeit ist bei den Frauen der vorliegenden afrikanischen Population, mit dem zusätzlichen Risiko tropischer Erkrankungen, besonders

hoch. Zu vergessen ist auch nicht, dass die Population eine hohe Inzidenz für STIs hat, so dass es möglich ist, dass bei den Frauen ein spätlatentes Syphilisstadium vorliegt, das von den unspezifischen Screeningtests normalerweise nicht aufgedeckt wird. Wenn durch eine Schwächung des Immunsystems z.B. HIV dieses Stadium reaktiviert wird, kann eine Titeranhebung entstehen<sup>151</sup>. Andererseits können aus unbekanntem Gründen persistierende Treponemen die Antikörper stimulieren und eine RPR-Titererhöhung hervorrufen<sup>129</sup>. Daher ist der Ausschluss einer fraglichen Neuinfektion bei niedrigem RPR-Wert durch ein negatives IgM-Testergebnis wünschenswert.

In den sechs Fällen mit dieser Fragestellung wiesen beide IgM-Tests durchgehend negative Werte auf. Bei zweien zeigte sich eine positive Reaktion des IgM-INNO-LIA eine Runde später als der beobachtete niedrig positive RPR-Anstieg. Zudem war das Ergebnis mit nur einer reaktiven Bande schwach positiv. Dies, sowie die Tatsache, dass der FTA-ABS in 100% negativ war, unterstrich die Vermutung, dass es sich um biologisch falsch positive Reaktionen des RPR-Tests bei durchlebter Syphilis handelte. Welche Faktoren die falsch positiven Ergebnisse hervorriefen, konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht beurteilt werden.

Umgekehrt stellte sich bei den drei Frauen mit sicheren biologisch falsch positiven Reaktionen (RPR-Test positiv, aber TPPA negativ) die Frage, ob die RPR-Werte wirklich falsch positiv waren oder ob etwa der TPPA zu früh negativ geworden war. Dieser Umstand kann vor allem bei gleichzeitiger HIV-Erkrankung vorkommen<sup>7,183</sup>. Schwierigkeiten ergeben sich in solchen Fällen bei der Abgrenzung zum frühen Stadium, in dem der Treponemenspezifische Test noch nicht reagiert haben und demzufolge negativ sein kann<sup>123,190</sup>. Da der RPR-Test in diesen zweifelhaften Fällen nicht eindeutig stark ausschlug, war die Einordnung kompliziert. Die Aussagen der IgM-Tests waren daher hilfreich:

Bei einer Frau war die RPR-Reaktion am wahrscheinlichsten richtig positiv, da der IgM-INNO-LIA als auch der IgM-FTA-ASB positiv waren. Diese Frau war wahrscheinlich frisch infiziert. Ist hier die Infektion so früh behandelt worden, dass der TPPA gar nicht erst serokonvertierte oder beeinflusste die vorhandene HIV-Infektion das Testergebnis? Im nächsten Fall konnte eine Syphilisinfektion aufgrund negativer Resultate in beiden IgM-Test sehr wahrscheinlich ausgeschlossen werden, so dass hier eine echt biologisch falsch positive Reaktion vorzuliegen schien. Auch diese Frau war HIV-positiv. Bei der dritten Frau dieser Kategorie konnte weder eine Infektion bestimmt noch ausgeschlossen werden. Das Ergebnis des IgM-INNO-LIA war schwach positiv und der IgM-FTA-ABS negativ und der TPPA serokonvertierte nach wiederholter Testung zum Positiven. In diesem Fall konnte keine klare



Aussage getroffen werden. Da diese Frau nicht mit HIV infiziert war, konnte zumindest ein möglicher Einfluss dieser Infektion auf die Serologie ausgeschlossen werden.

#### 5.3.4.2. Fragestellung der Reinfektion/ Rückfall

Steigt der Titer eines unspezifischen Tests nach einem vorherigen Titerabfall wieder an, kann das mehrere Gründe haben: dieser Anstieg kann Folge eines Rückfalles sein bzw. eines klinischen Behandlungsversagens nach primärem Ansprechen. Hat sich die Betroffene erneut infiziert, so handelt es sich um eine Reinfektion<sup>150</sup>. Der Titeranstieg kann aber auch auf andere Umstände, wie zusätzliche Infektionskrankheiten oder eine Schwangerschaft zurückzuführen sein<sup>190</sup>. Diese Möglichkeiten können zumindest nach bisherigen Maßstäben aufgrund der serologischen Resultate schwer voneinander unterschieden werden. Auch in vorliegender Arbeit waren die Befunde dieser Frauen nicht leicht einzuordnen.

Bei der Auswertung mit dem zusätzlichen Diagnostikprogramm konnte am ehesten ein einziger von den 10 Fällen als Reinfektion angesehen werden. Insgesamt waren der IgM-INNO-LIA in neun von zehn und der IgM-FTA-ABS in sieben der zehn Fälle positiv. Davon waren acht respektive sechs auch schon vor dem Zeitpunkt des RPR-Titeranstiegs positiv, so dass keine Aussage über eine Änderung der IgM-Antikörper getroffen werden konnte. Zwei Situationen konnten unterschieden werden:

Situation 1: Bei der Hälfte der zehn Frauen war vor dem darauffolgenden RPR-Anstieg die Therapie serologisch erfolgreich. In keinem Fall konnte ein IgM-Verlauf im Sinne einer an diese Heilung angepassten Seroreversion (IgM positiv → IgM negativ) beobachtet werden, die dann zum Zeitpunkt der fraglichen Reinfektion wieder serokonvertierte. Es konnte auch in keinem Fall eine Zunahme positiver Banden zum Zeitpunkt des RPR-Titeranstiegs dokumentiert werden, was den Verdacht auf Reinfektion unterstützt hätte. Die Reaktionsfähigkeit der IgM-Verfahren und vor allem des IgM-INNO-LIA schien träger zu sein als erhofft. Die Werte bei den IgM-Tests zeigten sich bei vier Frauen durchgehend positiv und bei einer durchgehend negativ. Daraus könnte die Schlussfolgerung gezogen werden, dass die Infektion im ganzen Beobachtungszeitraum die Produktion von IgM-AK stimulierte, obwohl die nichtspezifischen AK im RPR-Test abfielen. Rekombinante Antigene (TpN15, TpN17, TpN47) wie sie im INNO-LIA im Gegensatz zu Wildtyp Antigenen vom Nichols Stamm verwendet werden, sind im ganzen Verlauf der Syphilis nachzuweisen, dominieren aber vor allem in den späten Stadien<sup>15,159</sup>. Ob es sich daher um Frauen mit

Reinfektionen handelte oder eher um Frauen im latenten Stadium, deren RPR-Titer aus anderen Gründen anstiegen, kann nicht abschliessend beurteilt werden. Möglich ist auch, dass die Seropositivität der Frauen aufgrund ungenügender medikamentöser Therapie entstand. Gerade bei zeitgleicher HIV-Infektion wird in einigen Studien postuliert<sup>79,150,178</sup>, dass die normale Therapie nicht ausreichend ist. Neun von zehn Frauen dieser Gruppe sind HIV-positiv. In einem Fall (ID 149) reagierten beide IgM-Tests durchgängig negativ bei gleichzeitigem Nachweis eines klinischen Ulkus, reaktiven anderen Tests und der Bestätigung einer positiven PCR. Da die Frau klinische Symptome aufwies (Ulkus) und sich somit nicht im latenten Stadium befand, verwundert das komplette Nichtansprechen der IgM-Tests. Handelte es sich hier um eine kompetitive Hemmung der IgM-AK durch die Klasse der IgG-AK<sup>6,163</sup>? Falsch negative Reaktionen können in diesem Stadium oder im Übergang zum sekundären infolge des „Prozone Phänomen“ auftreten: ein Überschuss an Antikörpern verhindert die Agglutination<sup>149</sup>.

Situation 2: In der anderen Hälfte der Frauen erfolgte kein für eine serologische Heilung ausreichender RPR-Titerabfall vor dem darauffolgenden Titeranstieg. Diese Frauen wurden alle aufgrund ihres positiven Screeningtestes in der ersten Runde medikamentös behandelt. Der Infektionsstatus und das Stadium waren daher unbekannt. Es ist nahezu unmöglich zu sagen, ob es sich bei den Spiegelerhöhungen um Reinfektionen, Neuinfektionen, Behandlungsversagen oder RPR-Schwankungen aus anderen (biologischen) Gründen handelt. Bei einer Frau (ID 66) konnte eine Reinfektion angenommen werden: die IgM-Testverfahren konvertieren zugleich mit dem RPR-Titeranstieg. Allerdings war der RPR-Test schon eine Runde vorher positiv. Das bestätigt, die Beobachtung, dass bisher kein Nachweis erbracht werden konnte, dass die Reaktion eher als in unspezifischen Screeningtests erfolgt<sup>175</sup>. Das Verhalten des in einem Fall stets negativen IgM-FTA-ABS bei gleichzeitig schwach positivem IgM-INNO-LIA, während die RPR-Werte dagegen hochtitrig positiv schwankten, war schwer interpretierbar. Es können andere, in dieser Arbeit nicht erschlossene Einflüsse so stark auf den RPR-Titer eingewirkt haben. Bei den restlichen drei Frauen waren beide IgM-Tests positiv ohne Beobachtung einer serologischen Heilung. In diesen Fällen war es auch möglich, dass es sich bei allen eher um einen scheinbaren Rückfall aufgrund nicht ausreichender Behandlung handelte. Die schwankenden RPR-Titer zugleich mit den reaktiven IgM-Tests liessen zumindest vermuten, dass sich die Syphilisinfektion in einem aktiven Zustand befand.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Erwartung einer Korrelation der IgM-Tests zu Titerabfall und -Anstieg im RPR-Test besonders durch eine Veränderung des Bandenmusters im IgM-INNO-LIA nicht erfüllt wurde. Im ersten Szenario unterstützten die IgM-Tests weder die Annahme einer Heilung noch schlossen sie eine solche komplett aus. Der RPR-Anstieg könnte daher Folge sein eines Rückfalls aufgrund nicht ausreichender medikamentöser Behandlung. Wenn die Syphilisinfection mit den vorherrschenden Regimes nicht komplett unter Kontrolle gebracht wird, sondern ständig das Immunsystem stimuliert, muss dann die medikamentöse Dosis in Populationen mit hoher HIV-Inzidenz erhöht werden<sup>58,79,150</sup>? Auch bei den Frauen ohne serologische Heilung bestätigten die IgM-Testverfahren zwar das Vorhandensein einer „frischen“ Infektion, konnten jedoch den Zeitpunkt nicht näher eingrenzen. Rückfall im Sinne einer nicht ausreichenden Behandlung schien wahrscheinlich zu sein, konnte aber nicht mit Sicherheit behauptet werden.

#### 5.3.3.3. Fragestellung der Heilung

Wann ist jemand von der Syphilis geheilt? Wann tritt ein Therapieversagen im Unterschied zu einer stabilen Heilung bei bestehender Serumnarbe auf? In den früheren Jahrhunderten wurde eine Betroffener als geheilt angesehen, wenn die äußerlich sichtbaren Symptome verschwunden waren<sup>171</sup>. Heute wissen wir, dass damit die Problematik keinesfalls gelöst ist, da die klinischen Symptome im natürlichen Krankheitsverlauf zwar von selber zurückgehen, dies aber keine Heilung der Syphilis bedeutet. Die im Organismus persistierenden Erreger führen unbehandelt die Spätmanifestationen herbei. Daher werden die serologischen Marker als Heilungsparameter herangezogen. Da aber die Reaktivität der Tests im Laufe der Krankheit von selber abnimmt, kann dies nicht immer von abfallenden Spiegeln aufgrund der Behandlung unterschieden werden, auch wenn der Abfall bei unbehandelten Patienten meist sehr viel langsamer vorangeht<sup>101</sup>. Nachdem es jedoch keinen „Test for Cure“ gibt<sup>129</sup>, können bisher als einzige die Spiegel der indirekten Testverfahren als Marker für eine erfolgreiche Behandlung herangezogen werden. In Follow-Up Abständen von 1,3, 6, 12 und 24 Monaten für Patienten mit früher Syphilis und von 12 und 24 Monaten im späten Stadium (ausgenommen Neurosyphilis) werden die unspezifischen und auch die spezifischen Antikörpertests wiederholt ausgewertet<sup>190</sup>. Die endgültige Bewertung der Enzym-/Bandenimmunoassays steht diesbezüglich noch aus, aber auch bei diesen wird ein regelhafter Abfall in der Titerhöhe beobachtet<sup>98,124,138</sup>.

Wie unter 1.6.2 bis 1.6.6 belegt wurde, ist das serologische Verhalten abhängig von Krankheitsstadium, Anfangstiter und anamnestischer Vorgeschichte. In vorliegender Arbeit wurde im Einvernehmen mit ähnlichen Studien eine Frau als geheilt eingestuft, wenn nach mindestens drei Monaten (eine Follow-Up Runde) spätestens neun Monaten (drei Follow-Up Runden) ein Titerabfall von zwei Verdünnungsstufen beobachtet werden konnte<sup>20,123,179,190,199</sup>. Andere Studien demonstrieren, dass die Reaktivität serologischer Tests auch nach diesem Zeitraum noch lange vorhanden bleiben kann<sup>5,56,76</sup> und daher das Zeitfenster zu eng angelegt sein könnte. Vor allem bei gleichzeitiger HIV-Infektion oder ungünstiger Compliance scheint ein längerer Beobachtungszeitraum, in dem ein langsamerer Titerabfall toleriert werden muss, bevor von einer ausbleibenden Heilung oder gar von einem Behandlungsversagen gesprochen werden kann, sinnvoll zu sein<sup>79,149,177</sup>.

In der Gruppe der unter Therapie geheilten Frauen (n=23) erwartete man negativ werdende Reaktionen in den IgM -Tests, zumindest aber eine Abnahme der Anzahl positiver Banden beim IgM-INNO-LIA. Ersteres Ereignis trat nur bei vieren (17,4%) im IgM-INNO-LIA und nur bei dreien (13%) im IgM-FTA-ABS ein. Bei dieser Frau wurde aber die Aussagekraft der Testverfahren durch die geringe Anzahl der Proben zu nur zwei Zeitpunkten stark beeinträchtigt.

Bezieht man als Erfolgskriterium ein Abfall der positiven Banden des IgM-INNO-LIA mit ein, erhöhte sich die Zahl der serologisch Geheilten um 11. Bei acht Frauen zog sich dieser Bandenverlust über sechs Monaten hin, bei dreien dauerte es immerhin 12 Monate. Die ersten Banden, die im Behandlungsverlauf ihre Reaktivität verloren, waren TpN 47 und TpN 15. Meistens handelte es sich nur um eine Verminderung von einer Bande, die weniger positiv wurde. Inwiefern damit tatsächlich ein Heilungsprozess einher ging, ist fraglich. Bei zweien dieser Frauen erhöhte sich die Anzahl positiver Banden wieder um eine auf die vorherige Anzahl, so dass bei etwa gleichbleibend hohen RPR-Titern die Aussagekraft dieser Schwankung schwer zu beurteilen war. Einzig bei einer Probandin spiegelte sich im Abfall von vier auf eine positive Bande deutlich der Heilungsprozess wieder. In all diesen Fällen war auch der FTA-ABS durchgehend positiv.

Die bei 14 Frauen in beiden IgM-Tests positiven Ergebnisse sprachen gegen eine Heilung, aber unterstützten die Beobachtung von anderen Studien, dass die Serologie nach Behandlung noch lange positiv bleibt<sup>138,190</sup>. In einem Fall schlossen durchgehend negative Ergebnisse der beiden IgM-Testverfahren eine frische Infektion aus. Denkbar wäre eine Einordnung in das spätlatente Stadium der Syphilis bei Erhöhung der RPR-Titer aus anderen biologischen

Gründen oder aber auch eine Hemmung der IgM-AK-Produktion. Der IgM-FTA-ABS war in immerhin sechs Fällen negativ. Kann er den den Heilungsprozess besser anzeigen oder verdeutlichte der INNO-LIA mit seiner möglichen quantitativen Aussage den immunologischen Prozess [der noch stimulierenden Treponemen] genauer? Dann sollten allerdings unterschiedliche Heilungskriterien für die beiden IgM-Tests gelten.

Therapieversagen bei ausbleibender serologischer Heilung war bei insgesamt 10 Frauen festgestellt worden. Es stellte sich die Frage, warum die RPR-Werte auch nach Behandlung mit Penizillin auf einem niedrigen positiven Level persistieren? Durch die Aussagen der IgM-Tests erhoffte man sich eine Einschätzung, ob die Syphilisinfection aktiv war oder nicht. Bei ersterem Fall hätte man mehr oder wenig stark positive Reaktionen erwartet, bei letzterem negative Ergebnisse.

Bei fünf bzw. bei sieben Frauen zeigten sich negative Ergebnisse im IgM-INNO-LIA bzw. IgM-FTA-ABS-Test. Die Beobachtung einer lang anhaltenden Seropositivität wurde vor allem im latenten Stadium und bei spätem Therapiebeginn gemacht. Insofern stünden vorliegende Ergebnisse im Einklang mit anderen Studien<sup>74,179</sup>. Es kann daher am ehesten von einer stabilen „Heilung“ gesprochen werden. Der Level der Immunantwort ist im latenten Stadium am geringsten<sup>163</sup>. Das könnte ein Grund sein, dass IgM-Antikörper gar nicht nachweisbar oder nur in geringen Mengen vorhanden sind. Eine andere mögliche Ursache wäre die Blockade der in vivo Synthese von IgM-Antikörpern durch hohe IgG-Antikörperspiegel bei lang bestehender Infektion<sup>53</sup>. Daher versagen IgM-spezifische Ansätze in diesem Stadium oft<sup>138</sup>. Je weiter das latente Stadium voranschreitet, umso spärlicher wird der IgM-Nachweis. IgG-AK können aufgrund der Serumnarbe hingegen noch nachgewiesen werden<sup>53</sup>.

Der IgM-INNO-LIA war in den restlichen fünf Fällen positiv, bei dreien davon nahm die Anzahl positiver Banden ab. Ob dies eine Tendenz der Abheilung bedeutete oder nur ein natürliches Nachlassen der aktiven Infektion, war schwer zu sagen. Der IgM-FTA-ABS war hingegen noch in drei Fällen positiv, wobei es in einem davon zur Seroreversion kam. Bei dieser Frau war auch eine Abnahme positiver Banden zu sehen. Proben von späteren Zeitpunkten, die weiter Aufschluss geben könnten, hatten keinen Eingang in diese Arbeit gefunden, so dass die Verhaltensweise schlecht einzuordnen bleibt. Bei den Frauen mit positiven Reaktionen in beiden IgM-Tests konnte von Therapieversagen gesprochen werden, eine definitive Unterscheidung zu einer seropositiven Narbe im spätlatenten Stadium konnte aber auch mit diesen Ergebnissen nicht getroffen werden. Zugrundeliegende Ursachen für die

reaktiven IgM-Tests könnten eine ständige Stimulation des Organismus durch eine low-grade Infektion<sup>128</sup> sein und/ oder seine Unfähigkeit, die Erreger zu eliminieren z.B. aufgrund einer Immunschwäche<sup>11,149,152</sup>. Eventuell wurde diese Stimulierung durch die mit einer Bande schwache Reaktivität des IgM-INNO-LIA angezeigt. Gut möglich ist aber auch, dass eine unvollständige Absorption der IgG-AK bei der Testvorbereitung die Ursache war.

Stadien der späten Syphilis können sich generell durch niedrig positive Spiegel darstellen. Dies ist auch in vorliegender Arbeit der Fall. Einige Autoren meinen daher, dass dies keine ausbleibende Heilung bedeutet, sondern die Heilungskriterien anders definiert werden müssten, so dass sogar von einer ausgeheilten Syphilis gesprochen werden kann<sup>129,199</sup>. Bei der Frage, warum RPR-Test und auch der IgM-Test im latenten Stadium trotz Behandlung nicht negativ werden, gehen einige Autoren von einer ständigen Antigenstimulation aus<sup>98,198</sup>. IgM-Tests können also nicht einfach durch ihre Negativität eine Infektion ausschließen, wie man es anfangs dachte<sup>138</sup>. Wenn die Infektion schon lange im Organismus bestand, so auch in vielen Fällen dieser Arbeit, kann eine spät einsetzende Therapie die serologischen Werte zum Teil nicht mehr merklich beeinflussen<sup>123,190</sup>. Umstritten ist auch, ob die medikamentöse Dosis ausreichend ist<sup>9,178</sup>. Auch in vorliegender Arbeit scheinen Drei-Monats-Abstanduntersuchungen in vielen Fällen zu kurz zu sein, um Änderungen aufzunehmen, die sich erst in längeren Beobachtungszeiträumen mitteilen<sup>61,181</sup>.

#### **5.4. Konklusion und Empfehlungen**

Bei der Interpretation der Syphilisserologie und der Einsatzmöglichkeiten der Testverfahren in dieser Arbeit blieben viele Fragen offen. Für die Syphilisserologie der verschiedenen Stadien war ein Zusammenspiel der verschiedenen Testverfahren nötig. Kein einzelner Test erwies sich als geeignet genug, die Diagnose mit der Zuordnung zu einem Krankheitsstadium stellen zu können.

Auch der IgM-INNO-LIA erfasste nur Teilaspekte der Infektion. Seine Anwendung war vor allem hilfreich, um die Dynamik der Syphilis zu verfolgen. Bei der Beurteilung einer Neuinfektion war er hilfreich in der sicheren Bestätigung der Diagnose. Allerdings hatte man sich von dem Test noch konkretere Aussagen zur Unterscheidung einer frischen oder alten Infektion erhofft. Er reagierte kaum schneller als der RPR-Test und deckte nur in wenigen

Fällen schon vor diesem eine Syphilisinfektion auf. Er wurde auch nicht schneller, d.h. innerhalb von drei Monaten, negativ, so dass im Umkehrschluss nicht von einem positiven Ergebnis auf eine frisch erworbene Infektion geschlossen werden konnte. Allerdings liess die auf Veränderungen reagierende variable Bandenzahl Tendenzen erkennen. Die Beobachtungen in der Frage der Reinfektion und daraus folgend der nach einer Immunität des befallenen Organismus gegenüber einer erneuten Infektion wiesen eher auf das Problem der nicht ausreichenden medikamentösen Behandlung bei unbekannter Ursache der langen Persistenz der Erreger im Organismus hin.

Aus dieser Eigenheit und der deswegen faktischen Unmöglichkeit der Elimination und biologischen Heilung ließe sich vielleicht auch die lange Reaktivität des Testes erklären. Trotz der im Ansatz möglichen Verlaufsbeobachtung erlangte der INNO-LIA in vorliegender Arbeit keinen Vorteil über den RPR als „test for cure“.

Der RPR-Test scheint nach wie vor am besten geeignet zu sein, als Verlaufsparemeter die Therapie zu überwachen und den Therapieerfolg zu beurteilen. Der fluktuierende und durch biologische Faktoren beeinflusste RPR-Verlauf ist bei dieser Beurteilung allerdings oft unbefriedigend. Die Voraussetzung des Titerabfalls um zwei Verdünnungsstufen für das Kriterium der Heilung bewährte sich auch in dieser Arbeit. Das Stadium der Negativität wurde allerdings ebenfalls oft nicht erreicht. Wenn die persistierenden niedrigen RPR-Spiegel Ausdruck einer low-grade Syphilisinfektion sind, würde dies mit der anhaltend schwachen Reaktivität des INNO-LIA korrelieren. In der untersuchten Kohorte mit ihrer hohen STI-Prävalenz und dem Risiko für andere Infektionskrankheiten könnten die RPR-Schwankungen aber vielleicht in mehr Fällen als in einer anderen Population auf unspezifische biologisch beeinflussende Reaktionen des Immunsystems zurückzuführen sein. Der Einfluss der HIV-Infektion, der in dieser Arbeit nicht evaluiert werden konnte, darf nicht unterschätzt werden. Eventuell resultierte daraus eine schwächere Bekämpfung der Syphilisinfektion. Auch die Therapieregimes müssen in diesem Zusammenhang vielleicht neu überdacht werden. So wiesen die Ergebnisse des INNO-LIA darauf hin, dass die medikamentöse Dosis für eine (serologische) Heilung eventuell nicht ausreichend war. Somit würde diese Arbeit die in anderen Untersuchungen geäußerte Forderung nach einer stärkeren Therapiedosis unterstützen.

Anhand der angestellten Analyse konnte gezeigt werden, dass Treponemen-spezifische Testverfahren wie der TPPA vor allem als Bestätigungstest dienen. Beobachtete Serokonversionen dokumentierten den Infektionszeitpunkt, positive Ergebnisse belegten die Auseinandersetzung des Organismus mit *Treponema pallidum*. In vorliegender Arbeit konnte

auch gezeigt werden, dass diese Tests ihre Reaktivität verlieren, was vor allem bei gleichzeitiger HIV-Infektion inzwischen in mehreren Studien demonstriert werden konnte und daher in dieser Kohorte nicht erstaunt.

Für die praktische Umsetzung der Beobachtungen aus der vorliegenden Arbeit, lassen sich folgende Empfehlungen abgeben:

- Es ist nötig, den Verlauf der Syphilisinfektion ausreichend lange, d.h. mindestens zwei Jahre zu beobachten.
- Der Einsatz von verschiedenen Testverfahren für eine möglichst differenzierte Aussage hat sich bewährt und ist nützlich. Ein IgM-Test sollte dabei nicht fehlen, kann aber die Kombination der verschiedenen Verfahren nicht ersetzen.
- Die drei Säulen Anamnese, Klinik und Serologie bilden weiterhin das Fundament einer korrekten Diagnosestellung. Zudem braucht es dazu in der Syphilis erfahrene Personen.
- Die Bestimmung der Heilung ist schwierig. Daher sollte erstens die Reaktivität im Verlauf genau beobachtet werden, aber auch eine Erhöhung bzw. Wiederholung der Medikamentendosis nicht ausgeschlossen werden.

Weiterhin lassen sich aus den hier wiedergegebenen Untersuchungen folgende Forderungen ableiten:

- Weitere Forschungen sind nötig, um genauere Kenntnisse von *Treponemae pallidae* in vivo zu erhalten und ihr pathophysiologisches Verhalten besser zu verstehen. Darauf basierend können die Testverfahren verbessert werden.
- Prospektive Studien zu Serologie und Therapie sind nötig, auch um den Einfluss der HIV-Infektion besser abschätzen zu können.
- Auf pathologischer, klinischer und diagnostischer Ebene sowie durch Public Health Maßnahmen müssen Anstrengungen gemacht werden, um die Bedrohung durch Syphilis abzuwenden.



## 6. Zusammenfassung

Syphilis bleibt eine häufige Erkrankung vor allem in Entwicklungsländern wie Tansania und speziell bei Risikogruppen wie Prostituierte. Oft geht eine Koinfektion mit HIV einher, was die Inzidenz beider Infektionen erhöht und die Diagnose erschwert. Die Serologie ist die Methode der Wahl zur Feststellung der Syphilisinfektion, die Serodiagnose erweist sich aber oft als schwierig bei der Bestimmung von Krankheitsstadium, -aktivität, und -verlauf. Verschiedene Testverfahren wie der Rapid Plasma Reagin (RPR) Test, der *Treponema pallidum* Partikel Agglutinations (TPPA) Test und spezifische IgM-Antikörpertests werden dabei eingesetzt, da es keinen einheitlichen Goldstandard gibt.

In vorliegender Arbeit wurden die Ergebnisse von RPR und TPPA als Goldstandard herangezogen, um „wahre Syphilis“ (RPR + TPPA positiv) oder „aktive Syphilis“ (RPR  $\geq$  1/8) zu definieren. Ziel war es, die Aussagekraft dieser Testkombination mit zwei IgM-spezifischen Tests, dem Fluoreszenz IgM-Antikörper Absorptionstest (IgM-FTA-ABS) und einem neuen Multiparameter IgM-Banden-Immunoassay (IgM-INNO-LIA) zu überprüfen. Vor allem galt es, die Sensitivität des neuen Tests und seinen Nutzen im Hinblick auf eine verbesserte Aussagekraft zu untersuchen. Dieser Banden-Immunoassay, der rekombinante und synthetische Polypeptid-Antigene von *T. pallidum* Proteinen benutzt, wurde in einem In-house-Verfahren des Tropeninstitutes Antwerpen zum Nachweis von IgM-Antikörpern modifiziert. Es wurde ein Zeitraum von fünfzehn Monaten ausgewertet.

Aus der Kohorte von 600 Frauen, die als Prostituierte in Bars arbeiteten, waren 17,5% (105 von 600) mit Syphilis infiziert, 67,4% (420/600) hatten eine HIV-Infektion. Unter den Syphilisinfizierten wurde bei 11 (10,5%) eine Neuinfektion beobachtet, bei 10 (9,5%) der Verdacht auf eine Reinfektion geäußert, bei 9 (8,6%) eine fragliche Neuinfektion mit dem Verdacht auf biologisch falsch positive RPR-Reaktionen festgestellt, bei 41 (39,1%) die serologische Heilung beobachtet und bei 34 (32,4%) persistierende RPR-Titer als Therapieversagen tituliert. Insgesamt wurden aus diesen klinischen Gruppen 56 Frauen ausgewählt, von denen 54 wahre Syphilis hatten, hiervon aber nur 40 eine aktive, hochtitrige Syphilis. In ersterem Szenario wiesen der IgM-FTA-ABS eine Sensitivität von 59,3% und der IgM-INNO-LIA eine Sensitivität von 74,1% auf. Bei der aktiven hochtitrigen Syphilis erhöhte sich die Sensitivität auf 75,0% (IgM-FTA-ABS) respektive 85,0% (IgM-INNO-LIA).

Ein Abfall des RPR-Testergebnisses um zwei Verdünnungsstufen trat bei 44,64% innerhalb des am kürzesten möglichen Zeitraums von 3 Monaten ein, bei 12,5% nach mindestens sechs Monaten, in 10,7% der Fälle nach neun Monaten und in jeweils wenigen Fällen nach 12 und 15 Monaten. Bei immerhin 19,64% war kein regelrechter Abfall innerhalb des ausgewerteten Zeitraums zu beobachten.

Innerhalb der klinischen Gruppen wurden folgende Beobachtungen gemacht:

Die beiden IgM-Tests diagnostizierten in knapp der Hälfte der Fälle eine Neuinfektion mit *T. pallidum* früher als die Standardkombination. Bei der Frage der Reinfektionen lieferten die IgM-Verfahren bei fast durchweg gleichbleibend positiven Ergebnissen keine Anhaltspunkte bezüglich eines sich verändernden Infektionsstadiums, nur ein Fall konnte als wahrscheinliche Reinfektion ausgemacht werden. Die Erwartung, dass die IgM-Tests schneller reagieren und vor allem der IgM-INNO-LIA die Krankheitsaktivität und den Verlauf besser monitoren würde, erfüllte sich nur sehr eingeschränkt: Das Bandenmuster veränderte sich nur in wenigen Fällen schneller als der RPR-Spiegel. Ihre Stärke bewiesen die Tests im Ausschluss von falsch positiven RPR-Reaktionen. Bei schwer einzuordnenden Fällen wie schwachen RPR-Reaktionen bei gleichzeitiger TPPA-Negativität halfen die IgM-Verfahren in zwei von drei Fällen bei der Diagnosestellung weiter.

Der Eintritt einer Heilung - sichtbar durch einen entsprechenden RPR-Titerabfall - wurde durch die Seroreversion (4/23) des IgM-INNO-LIA bestätigt oder durch den Abfall der Anzahl positiver Banden, der in fast der Hälfte der Fälle (11/23) eintrat. Allerdings deckte sich die Veränderung des Bandenmusters mit dem Abfall des RPR-Spiegels, so dass der Test keinen wesentlichen Vorteil über den RPR-Test erlangte. In 50% der Fälle (n = 10) konnte der IgM-INNO-LIA und in 70% konnte der IgM-FTA-ABS ausschließen, dass es sich bei persistierend positiven RPR-Titern um ein Therapieversagen handelt. Vielmehr beschrieben sie den Zustand einer Serumnarbe im latenten Stadium.

Zum Abschluss kann gesagt werden, dass der IgM-INNO-LIA bei aktiver Syphilis eine nur mäßige Sensitivität (85%) aufwies. In der Verlaufsbeobachtung der Infektion erlangte er keinen wesentlichen Vorteil über die Standardkombination. Seine Stärke bewies er im Ausschluss von falsch positiven Reaktionen und im Aussortieren von Therapieversagern bei der Beurteilung von lang anhaltend positiven Titern im latenten Stadium. Als Problem stellte sich heraus, dass die Studie für den Test nicht optimal konzipiert war und vor allem die Definitionen der klinischen Gruppen zu schwierig waren. Insgesamt ist der Test nur als Ergänzung zu den bisherigen Standardverfahren zu sehen und in afrikanischen Ländern daher aufgrund der meist knappen Ressourcen eher nicht sinnvoll einzusetzen.

## 7. Verzeichnis der Abkürzungen, Abbildungen und Tabellen

### Abkürzungen:

AK - Antikörper  
BCIP – 5-bromo, 4- chloro, 3-inolylphosphate- Substrat  
BFP – Biologisch Falsch Positive Reaktion  
BPG – Benzyl Penizillin G  
CPDA – Citrat-Phosphat-Dextrose-Adenin  
CSF – Z(C)erebrospinale Flüssigkeit  
EDTA – *Escherichia coli* Ethylendiamintetraacetat  
FTA-ABS – Fluoreszenz Treponema Antikörper - Absorptionstest  
HISIS – HIV Superinfection Studies  
HIV – Human Immunodeficiency Virus  
HTA`s – High Transmission Areas  
LSHTM – London School of Hygiene and Tropical Medecine  
MIU – Million Internationale Einheit (Unit)  
MRACP - Mbeya Regional AIDS Control Programme  
NACP - National AIDS Control Programme  
PCR – Polymerase Chain Reaction  
PGE2 – Prostaglandin E2  
RPR – Rapid Plasma Reagin  
SIV – Simian Immunodeficiency Virus  
ST – Studienteilnehmerin  
STD/I – Sexual Transmitted Diseases/ Infections  
TPH/PA – *Treponema pallidum* Häm/ Partikelagglutinations Assay  
TpN – *Treponema pallidum* Antigen vom Nichols Stamm  
VDRL – Venereal Disease Research Laboratory (Test)

### Abbildungen:

Abb. 1:	Übersicht über den zeitlichen Verlauf der frühen Syphilis	S. 21
Abb. 2:	Algorithmus bei V.a. Infektion mit <i>T. pallidum</i>	S. 33
Abb. 3:	Landkarte: Die Region Mbeya mit den HTAs	S. 58
Abb. 4:	Syndromisches Management STIs	S. 59
Abb. 5:	Testkarte RPR-Test	S. 69
Abb. 6:	Interpretation INNO-LIA	S. 71
Abb. 7:	Verteilung der hohen RPR-Titer in S1	S. 76
Abb. 8:	Verteilung der niedrigen RPR-Titer in S1	S. 76

### Tabellen:

Tab.1:	Ursachen für BFPs	S. 37
Tab. 2:	Interpretation der Syphilisserologie	S. 62-63
Tab. 3:	Soziodemographische Charakteristika der 600 rekrutierten Frauen	S. 74-75
Tab. 4:	Übersicht über die serologischen Ergebnisse der Basiserhebung S1	S. 75
Tab. 5:	Abfall des RPR-Titers innerhalb von Monaten	S. 77
Tab. 6:	Klinische Einteilung der Frauen nach dem RPR-Screeningverlauf	S. 77
Tab. 7:	Übereinstimmung RPR Mbeya / Antwerpen	S. 78
Tab. 8:	Wahre Syphilis	S. 79
Tab. 9:	Sensitivität FTA-ABS bei wahrer Syphilis	S. 79

Tab. 10:	Sensitivität INNO-LIA bei wahrer Syphilis		S. 79
Tab. 11:	Sensitivität FTA-ABS bei aktiver Syphilis		S. 80
Tab. 12:	Sensitivität INNO-LIA bei aktiver Syphilis		S. 80
Tab. 13:	Ergebnisse Gruppe A-1 Neuinfektion		S. 81-82
Tab. 14:	Zusammenfassung Ergebnisse A-1	-	S. 82
Tab. 15:	Ergebnisse Gruppe A-2 Reinfektion/ Rückfall	-	S. 83-84
Tab. 16:	Zusammenfassung Ergebnisse A-2	-	S. 84
Tab. 17:	Ergebnisse Gruppe A-3 Ausschluss Neuinfektion	-	S. 85-86
Tab. 18:	Zusammenfassung Ergebnisse Ausschluss Neuinfektion	-	S. 86
Tab. 19:	Ergebnisse Gruppe BFP	-	S. 86
Tab. 20:	Ergebnisse Gruppe B-1 Serologische Heilung	-	S. 88-90
Tab. 21:	Zusammenfassung Ergebnisse B-1	-	S. 91
Tab. 22:	Ergebnisse Gruppe B-2 Therapieversagen	-	S. 92
Tab. 23:	Zusammenfassung Ergebnisse B-2	-	S. 93

## 8. Literaturverzeichnis

1. 1998 guidelines for treatment of sexually transmitted diseases. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR Recomm Rep* 1998;**47**(RR-1):1-111.
2. From the MMWR. Primary and Secondary Syphilis - United States, 2000-2001. *MMWR* 2002;**51**:971-973.
3. Alary M, Lowndes CM. The central role of clients of female sex workers in the dynamics of heterosexual HIV transmission in sub-Saharan Africa. *Aids* 2004;**18**(6):945-7.
4. Alary M, Mukenge-Tshibaka L, Bernier F, et al. Decline in the prevalence of HIV and sexually transmitted diseases among female sex workers in Cotonou, Benin, 1993-1999. *Aids* 2002;**16**(3):463-70.
5. Anderson J, Mindel A, Tovey SJ, Williams P. Primary and secondary syphilis, 20 years' experience. 3: Diagnosis, treatment, and follow up. *Genitourin Med* 1989;**65**(4):239-43.
6. Anonymous. Kit for the confirmation of antibodies against *Treponema pallidum* in human serum or plasma: Innogenetics N.V., 1990.
7. Augenbraun M, Rolfs R, Johnson R, Joesoef R, Pope V. Treponemal specific tests for the serodiagnosis of syphilis. Syphilis and HIV Study Group. *Sex Transm Dis* 1998;**25**(10):549-52.
8. Augenbraun M, Workowski K. Ceftriaxone therapy for syphilis: report from the emerging infections network. *Clin Infect Dis* 1999;**29**(5):1337-8.
9. Augenbraun MH. Treatment of syphilis 2001: nonpregnant adults. *Clin Infect Dis* 2002;**35**(Suppl 2):S187-90.
10. Augenbraun MH, DeHovitz JA, Feldman J, Clarke L, Landesman S, Minkoff HM. Biological false-positive syphilis test results for women infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* 1994;**19**(6):1040-4.
11. Augenbraun MH, McCormack WM. Sexually transmitted diseases in HIV-infected persons. *Infect Dis Clin North Am* 1994;**8**(2):439-48.
12. Augenbraun MH, Rolfs R. Treatment of syphilis, 1998: nonpregnant adults. *Clin Infect Dis* 1999;**28** Suppl 1:S21-8.
13. Baeten JM, Richardson BA, Martin HL, Jr., et al. Trends in HIV-1 incidence in a cohort of prostitutes in Kenya: implications for HIV-1 vaccine efficacy trials. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2000;**24**(5):458-64.
14. Bakari M, Lyamuya E, Mugusi F, et al. The prevalence and incidence of HIV-1 infection and syphilis in a cohort of police officers in Dar es Salaam, Tanzania: a potential population for HIV vaccine trials. *Aids* 2000;**14**(3):313-20.
15. Baker-Zander SA, Hook EW, 3rd, Bonin P, Handsfield HH, Lukehart SA. Antigens of *Treponema pallidum* recognized by IgG and IgM antibodies during syphilis in humans. *J Infect Dis* 1985;**151**(2):264-72.
16. Baseman JB, Hayes EC. Molecular characterization of receptor binding proteins and immunogens of virulent *Treponema pallidum*. *J Exp Med* 1980;**151**(3):573-86.
17. Behets FM, Rasolofomanana JR, Van Damme K, et al. Evidence-based treatment guidelines for sexually transmitted infections developed with and for female sex workers. *Trop Med Int Health* 2003;**8**(3):251-8.
18. Bloom SS, Urassa M, Isingo R, Ng'weshemi J, Boerma JT. Community effects on the risk of HIV infection in rural Tanzania. *Sex Transm Infect* 2002;**78**(4):261-6.
19. Bordon J, Martinez-Vazquez C, de la Fuente-Aguado J, et al. Response to standard syphilis treatment in patients infected with the human immunodeficiency virus. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999;**18**(10):729-32.

20. Brown ST, Zaidi A, Larsen SA, Reynolds GH. Serological response to syphilis treatment. A new analysis of old data. *Jama* 1985;**253**(9):1296-9.
21. Buchacz KA, Wilkinson DA, Krowka JF, Koup RA, Padian NS. Genetic and immunological host factors associated with susceptibility to HIV-1 infection. *Aids* 1998;**12 Suppl A**:S87-94.
22. Burstain JM, Grimpel E, Lukehart SA, Norgard MV, Radolf JD. Sensitive detection of *Treponema pallidum* by using the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1991;**29**(1):62-9.
23. Bwayo JJ, Omari AM, Mutere AN, et al. Long distance truck-drivers: 1. Prevalence of sexually transmitted diseases (STDs). *East Afr Med J* 1991;**68**(6):425-9.
24. Byrne RE, Laska S, Bell M, Larson D, Phillips J, Todd J. Evaluation of a *Treponema pallidum* western immunoblot assay as a confirmatory test for syphilis. *J Clin Microbiol* 1992;**30**(1):115-22.
25. Calza AM, Kinloch S, Mainetti C, Salomon D, Saurat JH. Primary human immunodeficiency virus infection mimicking syphilis. *J Infect Dis* 1991;**164**(3):615-6.
26. Castro R, Prieto ES, Santo I, Azevedo J, Exposto Fda L. Evaluation of an enzyme immunoassay technique for detection of antibodies against *Treponema pallidum*. *J Clin Microbiol* 2003;**41**(1):250-3.
27. Castro R, Prieto, E.S., santo, I., Azevedo, J., Exposto, F. Evaluation of the Passive Particle Agglutination Test in the Serodiagnosis and Follow-Up of Syphilis. *Am J Clin Pathol* 2001;**116**:581-585.
28. Catania JA, Gibson DR, Chitwood DD, Coates TJ. Methodological problems in AIDS behavioral research: influences on measurement error and participation bias in studies of sexual behavior. *Psychol Bull* 1990;**108**(3):339-62.
29. Catterall RD. Presidential Address to the M.S.S.V.D. Systemic disease and the biological false positive reaction. *Br J Vener Dis* 1972;**48**(1):1-12.
30. Chakraborty H, Sen PK, Helms RW, et al. Viral burden in genital secretions determines male-to-female sexual transmission of HIV-1: a probabilistic empiric model. *Aids* 2001;**15**(5):621-7.
31. Chamberlain NR BM, Erwin AL, Radolf JD, Norgard MV. Major integral membrane protein immunogens of *Treponema pallidum* are proteolipids. *Infect Immun* 1989;**57**:2872-2877.
32. Clark EG, Danbolt, N. The Oslo Study of the natural history of untreated syphilis. *J Chron Dis* 1955;**2**:311-344.
33. Clemetson DB, Moss GB, Willerford DM, et al. Detection of HIV DNA in cervical and vaginal secretions. Prevalence and correlates among women in Nairobi, Kenya. *Jama* 1993;**269**(22):2860-4.
34. Cohen MS. Sexually transmitted diseases enhance HIV transmission: no longer a hypothesis. *Lancet* 1998;**351 Suppl 3**:5-7.
35. Cohen MS, Miller WC. Sexually transmitted diseases and human immunodeficiency virus infection: cause, effect, or both? *Int J Infect Dis* 1998;**3**(1):1-4.
36. Connolly CA, Ramjee G, Sturm AW, Abdool Karim SS. Incidence of Sexually Transmitted Infections among HIV-positive sex workers in KwaZulu-Natal, South Africa. *Sex Transm Dis* 2002;**29**(11):721-4.
37. Cowan F, Langhaug L, Swarthout T, et al. Are rural women who have sex in exchange for gifts or money part of a core group? *Int J STD AIDS* 2001;**12 (Suppl 2)**:53.
38. Cox DL CP, McDowall AW, Radolf JD. The outer membrane, not a coat of host proteins, limits antigenicity of virulent *Treponema pallidum*. *Infect Immun* 1992;**60**:1076-1083.
39. Creese A, Floyd K, Alban A, Guinness L. Cost-effectiveness of HIV/AIDS interventions in Africa: a systematic review of the evidence. *Lancet* 2002;**359**(9318):1635-43.

40. Crucitti T. Personal Communication, 2004.
41. Dada AJ, Ajayi AO, Diamondstone L, Quinn TC, Blattner WA, Biggar RJ. A serosurvey of *Haemophilus ducreyi*, syphilis, and herpes simplex virus type 2 and their association with human immunodeficiency virus among female sex workers in Lagos, Nigeria. *Sex Transm Dis* 1998;**25**(5):237-42.
42. Dallabetta GA, Gerbase AC, Holmes KK. Problems, solutions, and challenges in syndromic management of sexually transmitted diseases. *Sex Transm Infect* 1998;**74 Suppl 1**:S1-11.
43. D'Costa LJ, Plummer FA, Bowmer I, et al. Prostitutes are a major reservoir of sexually transmitted diseases in Nairobi, Kenya. *Sex Transm Dis* 1985;**12**(2):64-7.
44. De Schryver A, Meheus A. Epidemiology of sexually transmitted diseases: the global picture. *Bull World Health Organ* 1990;**68**(5):639-54.
45. Diallo MO, Ghys PD, Vuylsteke B, et al. Evaluation of simple diagnostic algorithms for *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* cervical infections in female sex workers in Abidjan, Cote d'Ivoire. *Sex Transm Infect* 1998;**74 Suppl 1**:S106-11.
46. DiCarlo RP, Martin DH. The clinical diagnosis of genital ulcer disease in men. *Clin Infect Dis* 1997;**25**(2):292-8.
47. Dickerson MC, Johnston J, Delea TE, White A, Andrews E. The causal role for genital ulcer disease as a risk factor for transmission of human immunodeficiency virus. An application of the Bradford Hill criteria. *Sex Transm Dis* 1996;**23**(5):429-40.
48. Durst RD, Jr., Sibulkin D, Trunnell TN, Allyn B. Dose-related seroreversal in syphilis. *Arch Dermatol* 1973;**108**(5):663-4.
49. Ebel A, Bachelart L, Alonso JM. Evaluation of a new competitive immunoassay (BioElisa Syphilis) for screening for *Treponema pallidum* antibodies at various stages of syphilis. *J Clin Microbiol* 1998;**36**(2):358-61.
50. Ebel A, Vanneste L, Cardinaels M, et al. Validation of the INNO-LIA syphilis kit as a confirmatory assay for *Treponema pallidum* antibodies. *J Clin Microbiol* 2000;**38**(1):215-9.
51. Egglestone SI, Turner AJ. Serological diagnosis of syphilis. PHLS Syphilis Serology Working Group. *Commun Dis Public Health* 2000;**3**(3):158-62.
52. F. Müller. Treponematosen. In: Thomas L, ed. Labor und Diagnose. 4 ed. Marburg: Med. Verlagsgesellschaft, 1992: 1530-1545.
53. F. Müller HJH. Syphilis. In: Thomas L, ed. Labor und Diagnostik. Marburg: Med. Verlagsgesellschaft, 1992: 1232-1241.
54. Fitzgerald TJ. Pathogenesis and immunology of *Treponema pallidum*. *Annu Rev Microbiol* 1981;**35**:29-54.
55. Fitzgerald TJ. The Th1/Th2 switch in syphilitic infection: is it detrimental? *Infect Immun* 1992;**60**:3475-3479.
56. Fiumara NJ. Reinfection primary, secondary, and latent syphilis: the serologic response after treatment. *Sex Transm Dis* 1980;**7**(3):111-5.
57. Fiumara NJ. Serologic responses to treatment of 128 patients with late latent syphilis. *Sex Transm Dis* 1979;**6**(4):243-6.
58. Fiumara NJ. Treatment of early latent syphilis of less than a year's duration: an evaluation of 275 cases. *Sex Transm Dis* 1978;**5**(3):85-8.
59. Fiumara NJ. Treatment of early syphilis under one year's duration: serologic response to treatment of 368 patients. *J Am Acad Dermatol* 1986;**15**:1059-1061.
60. Fiumara NJ. Treatment of primary and secondary syphilis. Serological response. *Jama* 1980;**243**(24):2500-2.
61. Fiumara NJ. Treatment of primary and secondary syphilis: serologic response. *J Am Acad Dermatol* 1986;**14**:487-491.

62. Fiumara NJ. Treatment of secondary syphilis: an evaluation of 204 patients. *Sex Transm Dis* 1977;**4**:96-99.
63. Fiumara NJ. Treatment of seropositive primary syphilis: an evaluation of 196 patients. *Sex Transm Dis* 1977;**4**:92-95.
64. Fleming DT, Wasserheit JN. From epidemiological synergy to public health policy and practice: the contribution of other sexually transmitted diseases to sexual transmission of HIV infection. *Sex Transm Infect* 1999;**75**(1):3-17.
65. Fonck K, Kaul R, Keli F, et al. Sexually transmitted infections and vaginal douching in a population of female sex workers in Nairobi, Kenya. *Sex Transm Infect* 2001;**77**(4):271-5.
66. French P. National guideline for the management of late syphilis. *Sex Transm Dis* 1999;**75** (Suppl 1):S34 - 37.
67. Garnett GP, Aral SO, Hoyle DV, Cates W, Jr., Anderson RM. The natural history of syphilis. Implications for the transmission dynamics and control of infection. *Sex Transm Dis* 1997;**24**(4):185-200.
68. George RW. Fluorescent treponemal antibody-absorption (FTA-ABS) test. In: Larsen SA, Pope V, Johnson RB, Kennedy Jr EJ, eds. A manual of tests for syphilis. 9th ed. Washington: American Public Health association., 1998: 223-245.
69. Gerbase AC, Rowley JT, Mertens TE. Global epidemiology of sexually transmitted diseases. *Lancet* 1998;**351** Suppl 3:2-4.
70. Gershman KA, Hoffman, R.E. Comparison of early and late Syphilis - Colorado 1991. *MMWR* 1991;**42**(8):155-157.
71. Ghys PD, Diallo MO, Ettiegne-Traore V, et al. Increase in condom use and decline in HIV and sexually transmitted diseases among female sex workers in Abidjan, Cote d'Ivoire, 1991-1998. *Aids* 2002;**16**(2):251-8.
72. Ghys PD, Diallo MO, Ettiegne-Traore V, et al. Genital ulcers associated with human immunodeficiency virus-related immunosuppression in female sex workers in Abidjan, Ivory Coast. *J Infect Dis* 1995;**172**(5):1371-4.
73. Ghys PD, Fransen K, Diallo MO, et al. The associations between cervicovaginal HIV shedding, sexually transmitted diseases and immunosuppression in female sex workers in Abidjan, Cote d'Ivoire. *Aids* 1997;**11**(12):F85-93.
74. Goeman J, Kivuvu M, Nzila N, et al. Similar serological response to conventional therapy for syphilis among HIV-positive and HIV-negative women. *Genitourin Med* 1995;**71**(5):275-9.
75. Goh B. National guideline for the management of early syphilis. *Sex Transm Dis* 1999;**75** (Suppl 1):S29 - 33.
76. Goldmeier D, Hay, P. A review and update on adult syphilis, with particular reference to its treatment. *Int J STD AIDS* 1993;**4**:70-82.
77. Goulston C, McFarland W, Katzenstein D. Human immunodeficiency virus type 1 RNA shedding in the female genital tract. *J Infect Dis* 1998;**177**(4):1100-3.
78. Gourevitch MN, Selwyn PA, Davenny K, et al. Effects of HIV infection on the serologic manifestations and response to treatment of syphilis in intravenous drug users. *Ann Intern Med* 1993;**118**(5):350-5.
79. Gregory N, Sanchez M, Buchness MR. The spectrum of syphilis in patients with human immunodeficiency virus infection. *J Am Acad Dermatol* 1990;**22**(6 Pt 1):1061-7.
80. Grgic-Vitek M, KI, Potocnik M., Rogl-Butina M. Syphilis epidemic in Slovenia influenced by syphilis epidemic in the Russian Federation and other newly independent states. *Int J STD AIDS* 2002;**13** Suppl 2:2-4.
81. Grosskurth H, Mosha F, Todd J, et al. A community trial of the impact of improved sexually transmitted disease treatment on the HIV epidemic in rural Tanzania: 2. Baseline survey results. *Aids* 1995;**9**(8):927-34.



82. Guinan ME. Treatment of primary and secondary syphilis: defining failure at three- and six-month follow-up. *Jama* 1987;**257**(3):359-60.
83. Gwanzura L, Latif A, Bassett M, Machekano R, Katzenstein DA, Mason PR. Syphilis serology and HIV infection in Harare, Zimbabwe. *Sex Transm Infect* 1999;**75**(6):426-30.
84. Gysels M, Pool R, Bwanika K. Truck drivers, middlemen and commercial sex workers: AIDS and the mediation of sex in south west Uganda. *AIDS Care* 2001;**13**(3):373-85.
85. Haas JS, Bolan G, Larsen SA, Clement MJ, Bacchetti P, Moss AR. Sensitivity of treponemal tests for detecting prior treated syphilis during human immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis* 1990;**162**(4):862-6.
86. Hagedorn HJ. [Current aspects in the diagnosis of syphilis]. *Immun Infekt* 1993;**21**(4):94-9.
87. Hagedorn HJ. [Syphilis]. *Dtsch Med Wochenschr* 1991;**116**(43):1650.
88. Hagedorn HJ, Kraminer-Hagedorn A, De Bosschere K, Hulstaert F, Pottel H, Zrein M. Evaluation of INNO-LIA syphilis assay as a confirmatory test for syphilis. *J Clin Microbiol* 2002;**40**(3):973-8.
89. Hanson S, Sunkutu RM, Kamanga J, Hojer B, Sandstrom E. STD care in Zambia: an evaluation of the guidelines for case management through a syndromic approach. *Int J STD AIDS* 1996;**7**(5):324-32.
90. Hart G. Syphilis tests in diagnostic and therapeutic decision making. *Ann Intern Med* 1986;**104**(3):368-76.
91. Hawken MP, Melis RD, Ngombo DT, et al. Part time female sex workers in a suburban community in Kenya: a vulnerable hidden population. *Sex Transm Infect* 2002;**78**(4):271-3.
92. Hicks CB, Benson PM, Lupton GP, Tramont EC. Seronegative secondary syphilis in a patient infected with the human immunodeficiency virus (HIV) with Kaposi sarcoma. A diagnostic dilemma. *Ann Intern Med* 1987;**107**(4):492-5.
93. Hook EW, 3rd. AIDS commentary: Syphilis and HIV infection. *J Infect Dis* 1989;**160**:530-534.
94. Hook EW, 3rd. Biomedical Issues in syphilis control. *Sex Transm Dis* 1996;**23**(1):5-8.
95. Hook EW, 3rd, Marra CM. Acquired syphilis in adults. *N Engl J Med* 1992;**326**(16):1060-9.
96. Hutchinson CM, Hook EW, 3rd, Shepherd M, Verley J, Rompalo AM. Altered clinical presentation of early syphilis in patients with human immunodeficiency virus infection. *Ann Intern Med* 1994;**121**(2):94-100.
97. Ijsselmuiden OE, Schouls LM, Stolz E, et al. Sensitivity and specificity of an enzyme-linked immunosorbent assay using the recombinant DNA-derived *Treponema pallidum* protein TmpA for serodiagnosis of syphilis and the potential use of TmpA for assessing the effect of antibiotic therapy. *J Clin Microbiol* 1989;**27**(1):152-7.
98. Ijsselmuiden OE, Van der Sluis J.J., Mulder A., Stolz E., Bolton K.P., Van Eijk R.V.W. An IgM capture enzyme linked immunosorbent assay to detect IgM antibodies to treponemes in patients with syphilis. *Genitourin Med* 1989;**65**:79-83.
99. Ishinaga M, Sasaki E. Clinical survey of syphilis at the Dermatological Clinic of Nippon Medical School Hospital from 1984 to 1988, with special reference to the recent clinical manifestations and evaluation of IgM antibodies to *Treponema pallidum*. *J Dermatol* 1990;**17**(10):618-29.
100. IUSTI. European STD Guidelines. *Int J STD AIDS* 2001;**12**:Suppl 3.
101. Jaffe HW, Musher DM. Management of reactive syphilis serology. In: Holmes K, Mardh PA, Sparling PJ, et al., eds. Sexually Transmitted Diseases. New York: McGraw Hill Information Services Co., 1990.

102. Johns DR, Tierney M, Felsenstein D. Alteration in the natural history of neurosyphilis by concurrent infection with the human immunodeficiency virus. *N Engl J Med* 1987;**316**(25):1569-72.
103. Johnson PD, Graves SR, Stewart L, Warren R, Dwyer B, Lucas CR. Specific syphilis serological tests may become negative in HIV infection. *Aids* 1991;**5**(4):419-23.
104. Joyanes P, Borobio MV, Arquez JM, Perea EJ. The association of false-positive rapid plasma reagin results and HIV infection. *Sex Transm Dis* 1998;**25**(10):569-71.
105. Kamali A, Kinsman J, Nalweyiso N, et al. A community randomized controlled trial to investigate impact of improved STD management and behavioural interventions on HIV incidence in rural Masaka, Uganda: trial design, methods and baseline findings. *Trop Med Int Health* 2002;**7**(12):1053-63.
106. Kamali A, Nunn AJ, Mulder DW, Van Dyck E, Dobbins JG, Whitworth JA. Seroprevalence and incidence of genital ulcer infections in a rural Ugandan population. *Sex Transm Infect* 1999;**75**(2):98-102.
107. Kambarami RA, Manyame B, Macq J. Syphilis in Murewa District, Zimbabwe: an old problem that rages on. *Cent Afr J Med* 1998;**44**(9):229-32.
108. Katz DA, Berger JR, Duncan RC. Neurosyphilis. A comparative study of the effects of infection with human immunodeficiency virus. *Arch Neurol* 1993;**50**(3):243-9.
109. Kaul R, Kimani J, Nagelkerke NJ, et al. Reduced HIV risk-taking and low HIV incidence after enrollment and risk-reduction counseling in a sexually transmitted disease prevention trial in Nairobi, Kenya. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2002;**30**(1):69-72.
110. Kaul R, Kimani J, Nagelkerke NJ, et al. Risk factors for genital ulcerations in Kenyan sex workers. The role of human immunodeficiency virus type 1 infection. *Sex Transm Dis* 1997;**24**(7):387-92.
111. Kennedy Jr EJ. Darkfield microscopy for the detection and identification of *T. pallidum*. In: Larsen SA, Pope V., Johnson R., Kennedy Jr, E.D., ed. A manual of tests for syphilis. 9th ed. Washington DC: American Public Health Organisation, 1998: 193-207.
112. Kennedy Jr EJ, Creighton ET. Venereal disease research laboratory (VDRL) slide test. In: Larsen SA, Pope V, Johnson RB, Kennedy Jr EJ, eds. A manual of tests for syphilis. 9th ed. Washington: American Public Health Association, 1998: 193-207.
113. Khryanin A.A. LSG. Actual trends in the incidence of syphilis and gonorrhoea in Novosibirsk, Russia (1989 - 2001). *Abstract book STI Kongress Vienna 2002* 2002.
114. Klouman E, Masenga EJ, Sam NE. Serological markers for treponemal infection in children in rural Kilimanjaro, Tanzania: evidence of syphilis or non-venereal treponematoses? *Genitourin Med* 1997;**73**(6):522-7.
115. Kreiss J, Willerford DM, Hensel M, et al. Association between cervical inflammation and cervical shedding of human immunodeficiency virus DNA. *J Infect Dis* 1994;**170**(6):1597-601.
116. Kreiss JK, Koech D, Plummer FA, et al. AIDS virus infection in Nairobi prostitutes. Spread of the epidemic to East Africa. *N Engl J Med* 1986;**314**(7):414-8.
117. Laga M, Alary M, Nzila N, et al. Condom promotion, sexually transmitted diseases treatment, and declining incidence of HIV-1 infection in female Zairian sex workers. *Lancet* 1994;**344**(8917):246-8.
118. Lagarde E, Guyavarch E, Piau JP, et al. Treponemal infection rates, risk factors and pregnancy outcome in a rural area of Senegal. *Int J STD AIDS* 2003;**14**(3):208-15.
119. Lamagni T.L. HG, Rogers P.A. New cases seen at genitourinary medicine clinics: England 1998. *Commun Dis Rep Suppl* 1999;**9**(6):1-12.
120. Lankoande S, Meda N, Sangare L, et al. Prevalence and risk of HIV infection among female sex workers in Burkina Faso. *Int J STD AIDS* 1998;**9**(3):146-50.

121. Larsen AR. Syphilis. *Clin Lab Med* 1989;**9**:545-557.
122. Larsen SA, Creighton ET. Rapid plasma reagin (RPR) in 18mm circle card test. In: Larsen SA, Pope V, Johnson RB, Kennedy Jr EJ, eds. A manual of tests for syphilis. 9th ed. Washington DC.: American Public Health Association, 1998: 157-178.
123. Larsen SA, Steiner BM, Rudolph AH. Laboratory diagnosis and interpretation of tests for syphilis. *Clin Microbiol Rev* 1995;**8**(1):1-21.
124. Lefevre JC, Bertrand MA, Bauriaud R. Evaluation of the Captia enzyme immunoassays for detection of immunoglobulins G and M to *Treponema pallidum* in syphilis. *J Clin Microbiol* 1990;**28**(8):1704-7.
125. Lindenschmidt EG, Laufs R, Muller F. Microenzyme-linked immunosorbent assay for the detection of specific IgM antibodies in human syphilis. *Br J Vener Dis* 1983;**59**(3):151-6.
126. Lindstrand A, Bergstrom S, Bugalho A, Zanconato G, Helgesson AM, Hederstedt B. Prevalence of syphilis infection in Mozambican women with second trimester miscarriage and women attending antenatal care in second trimester. *Genitourin Med* 1993;**69**(6):431-3.
127. Lowndes CM, Alary M, Meda H, et al. Role of core and bridging groups in the transmission dynamics of HIV and STIs in Cotonou, Benin, West Africa. *Sex Transm Infect* 2002;**78 Suppl 1**:i69-77.
128. Lukehart SA. Immunology and pathogenesis of syphilis. In: Quinn TC, ed. Sexually transmitted diseases. New York: Raven Press, 1992: 141-163.
129. Lukehart SA. Serologic testing after therapy for syphilis: is there a test for cure? *Ann Intern Med* 1991;**114**(12):1057-8.
130. Lukehart SA, Hook EW, 3rd, Baker-Zander SA, Collier AC, Critchlow CW, Handsfield HH. Invasion of the central nervous system by *Treponema pallidum*: implications for diagnosis and treatment. *Ann Intern Med* 1988;**109**(11):855-62.
131. Lule G, Behets FM, Hoffman IF, et al. STD/HIV control in Malawi and the search for affordable and effective urethritis therapy: a first field evaluation. *Genitourin Med* 1994;**70**(6):384-8.
132. Malone JL, Wallace MR, Hendrick BB, et al. Syphilis and neurosyphilis in a human immunodeficiency virus type-1 seropositive population: evidence for frequent serologic relapse after therapy. *Am J Med* 1995;**99**(1):55-63.
133. Marra CM, Handsfield HH, Kuller L, Morton WR, Lukehart SA. Alterations in the course of experimental syphilis associated with concurrent simian immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis* 1992;**165**(6):1020-5.
134. Maruti S, Hwang LY, Ross M, Leonard L, Raffel J, Hollins L. The epidemiology of early syphilis in Houston, Texas, 1994-1995. *Sex Transm Dis* 1997;**24**(8):475-80.
135. Matlow AG, Rachlis, A.R. Syphilis serology in human immunodeficiency virus-infected patients with symptomatic neurosyphilis. *Rev Infect Dis* 1990;**12**:703-707.
136. Mayaud P, Mosha F, Todd J, et al. Improved treatment services significantly reduce the prevalence of sexually transmitted diseases in rural Tanzania: results of a randomized controlled trial. *Aids* 1997;**11**(15):1873-80.
137. Mbugua GG, Muthami LN, Mutura CW, et al. Epidemiology of HIV infection among long distance truck drivers in Kenya. *East Afr Med J* 1995;**72**(8):515-8.
138. Merlin S, Andre, J., Alacocoque, B., Paris-Hamelins, A. Importance of specific IgM antibodies in 116 patients with various stages of syphilis. *Genitourin Med* 1985(**61**):82-87.
139. Moore JF, Mohr CF. Biological false positive serological tests of syphilis. Type, incidence and cause. *JAMA* 1952;**150**:467-473.
140. Morison L, Weiss HA, Buve A, et al. Commercial sex and the spread of HIV in four cities in sub-Saharan Africa. *Aids* 2001;**15 Suppl 4**:S61-9.

141. Moses S, Plummer FA, Ngugi EN, Nagelkerke NJ, Anzala AO, Ndinya-Achola JO. Controlling HIV in Africa: effectiveness and cost of an intervention in a high-frequency STD transmitter core group. *Aids* 1991;**5**(4):407-11.
142. Mosha F, Nicoll A, Barongo L, et al. A population-based study of syphilis and sexually transmitted disease syndromes in north-western Tanzania. 1. Prevalence and incidence. *Genitourin Med* 1993;**69**(6):415-20.
143. Moskophidis M, Muller F. Molecular analysis of immunoglobulins M and G immune response to protein antigens of *Treponema pallidum* in human syphilis. *Infect Immun* 1984;**43**(1):127-32.
144. Moss GB, Overbaugh J, Welch M, et al. Human immunodeficiency virus DNA in urethral secretions in men: association with gonococcal urethritis and CD4 cell depletion. *J Infect Dis* 1995;**172**(6):1469-74.
145. Mostad SB, Overbaugh J, DeVange DM, et al. Hormonal contraception, vitamin A deficiency, and other risk factors for shedding of HIV-1 infected cells from the cervix and vagina. *Lancet* 1997;**350**(9082):922-7.
146. Müller F. Review: specific immunoglobulin M and G antibodies in the rapid diagnosis of human treponemal infections. *Diagn Immun* 1986;**4**:1-9.
147. Müller F, Lindenschmidt, E.-G. Demonstration of specific 19S (IgM) antibodies in treated and untreated syphilis. *Br J Vener Dis* 1982;**58**:12-17.
148. Müller O, Jordan, B., Vogel, U. Combating HIV and AIDS in sub-Saharan Africa. *Lancet* 2001;**357**:1364.
149. Musher DM. Biology of *Treponema pallidum*. In: Holmes KK, Mardh PA, Sparling PF, Weisner PJ, eds. Sexually Transmitted Diseases. 2nd ed. New York: McGraw Hill, 1989: 205-211.
150. Musher DM. How much penicillin cures early syphilis? *Ann Intern Med* 1988;**109**(11):849-51.
151. Musher DM. Syphilis, neurosyphilis, penicillin and AIDS. *J Infect Dis* 1991;**163**:1201-1206.
152. Musher DM, Hamill RJ, Baughn RE. Effect of human immunodeficiency virus (HIV) infection on the course of syphilis and on the response to treatment. *Ann Intern Med* 1990;**113**(11):872-81.
153. Nandwani R, Evans DT. Are you sure it's syphilis? A review of false positive serology. *Int J STD AIDS* 1995;**6**(4):241-8.
154. Ndoye I, Mboup S, De Schryver A, et al. Diagnosis of sexually transmitted infections in female prostitutes in Dakar, Senegal. *Sex Transm Infect* 1998;**74** **Suppl 1**:S112-7.
155. Newell J, Senkoro K, Mosha F, et al. A population-based study of syphilis and sexually transmitted disease syndromes in north-western Tanzania. 2. Risk factors and health seeking behaviour. *Genitourin Med* 1993;**69**(6):421-6.
156. Nicoll A. HG, Donnelly M., Livingstone S., De Angelis D., Fenton K., Evans b., Gill O.N., Catchpole M. Assessing the impact of national anti-HIV sexual health campaign: trends in the transmission of HIV and other sexually transmitted infections in England. *Sex Transm Dis* 2001;**77**(4):242-247.
157. Nkya WM, Gillespie SH, Howlett W, et al. Sexually transmitted diseases in prostitutes in Moshi and Arusha, Northern Tanzania. *Int J STD AIDS* 1991;**2**(6):432-5.
158. Norgard MV, Miller JN. Plasmid DNA in *Treponema pallidum* (Nichols): potential for antibiotic resistance by syphilis bacteria. *Science* 1981;**213**(4507):553-5.
159. Norris SJ. Polypeptides of *Treponema pallidum*: progress toward understanding their structural, functional, and immunologic roles. *Treponema Pallidum Polypeptide Research Group. Microbiol Rev* 1993;**57**(3):750-79.
160. Norris SJ, Fraser CM, Weinstock GM. Illuminating the agent of syphilis: the *Treponema pallidum* genome project. *Electrophoresis* 1998;**19**(4):551-3.

161. Nyamuryekung'e K, Laukamm-Josten U, Vuylsteke B, et al. STD services for women at truck stop in Tanzania: evaluation of acceptable approaches. *East Afr Med J* 1997;**74**(6):343-7.
162. Nzyuko S, Lurie P, McFarland W, Leyden W, Nyamwaya D, Mandel JS. Adolescent sexual behavior along the Trans-Africa Highway in Kenya. *Aids* 1997;**11 Suppl 1**:S21-6.
163. O'Neill P, Nicol CS. IgM class antitreponemal antibody in treated and untreated syphilis. *Br J Vener Dis* 1972;**48**(6):460-3.
164. Oriel JD. The scars of venus. London, England: Springer Verlag, 1994.
165. Orle KA, Gates CA, Martin DH, Body BA, Weiss JB. Simultaneous PCR detection of *Haemophilus ducreyi*, *Treponema pallidum*, and herpes simplex virus types 1 and 2 from genital ulcers. *J Clin Microbiol* 1996;**34**(1):49-54.
166. Parran T. Shadow on the land - syphilis: Reynald & Hitchcock, 1937.
167. Piot P, Laga M. Prostitutes: a high risk group for HIV infection? *Soz Praventivmed* 1988;**33**(7):336-9.
168. Plummer FA, Nagelkerke NJ, Moses S, Ndinya-Achola JO, Bwayo J, Ngugi E. The importance of core groups in the epidemiology and control of HIV-1 infection. *Aids* 1991;**5 Suppl 1**:S169-76.
169. Pope V, Fears MB, Morrill WE, Castro A, Kikkert SE. Comparison of the Serodia *Treponema pallidum* particle agglutination, Captia Syphilis-G, and SpiroTek Reagin II tests with standard test techniques for diagnosis of syphilis. *J Clin Microbiol* 2000;**38**(7):2543-5.
170. Pope V, Fears, M.B. An enzyme immunoassay for treponemal antibodies. In: Larsen SA, Pope, V., Johnson, R., Kennedy Jr, E.J., ed. A manual of tests for syphilis. 9th ed. Washington DC: American Public Health Organisation, 1998: 289-303.
171. Quetel C. History of syphilis. Oxford, England: Blackwell Scientific Publications Ltd., 1990.
172. Rakwar J, Lavreys L, Thompson ML, et al. Cofactors for the acquisition of HIV-1 among heterosexual men: prospective cohort study of trucking company workers in Kenya. *Aids* 1999;**13**(5):607-14.
173. Reisner BS, Mann LM, Tholcken CA, Waite RT, Woods GL. Use of the *Treponema pallidum*-specific captia syphilis IgG assay in conjunction with the rapid plasma reagin to test for syphilis. *J Clin Microbiol* 1997;**35**(5):1141-3.
174. Robert-Koch-Institut. Aktuelle Entwicklung der Syphilis in Deutschland. *Epid Bull* 2002;**39**:329-336.
175. Robert-Koch-Institut. Syphilis im Stadium 1 - Aspekte der Diagnostik. *Epid Bull* 2002;**5**:33-34.
176. Rockwell DH, Yobs, A.R., Moore, M.B. The Tuskegee Study of untreated syphilis. The 30th year of observation. *Arch Intern Med* 1964;**114**:792-798.
177. Rolfs RT. Treatment of syphilis, 1993. *Clin Infect Dis* 1995;**20 Suppl 1**:S23-38.
178. Rolfs RT, Joesoef MR, Hendershot EF, et al. A randomized trial of enhanced therapy for early syphilis in patients with and without human immunodeficiency virus infection. The Syphilis and HIV Study Group. *N Engl J Med* 1997;**337**(5):307-14.
179. Romanowski B, Sutherland R, Fick GH, Mooney D, Love EJ. Serologic response to treatment of infectious syphilis. *Ann Intern Med* 1991;**114**(12):1005-9.
180. Rompalo AM, Cannon RO, Quinn TC, Hook EW, 3rd. Association of biologic false-positive reactions for syphilis with human immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis* 1992;**165**(6):1124-6.
181. Rose MS, Fick GH, Romanowski B, Love EJ. First year serologic response to treatment for syphilis: a model for prediction of seroreversion. *Stat Med* 1997;**16**(18):2103-15.

182. Rubinstein R.A. CS. Malignant Syphilis (lues maligna) and concurrent infection with HIV. *Int J Dermatol* 1995;**34**:403-407.
183. Rusnak JM, Butzin C, McGlasson D, Blatt SP. False-positive rapid plasma reagin tests in human immunodeficiency virus infection and relationship to anti-cardiolipin antibody and serum immunoglobulin levels. *J Infect Dis* 1994;**169**(6):1356-9.
184. Sambri V, Marangoni A, Simone MA, D'Antuono A, Negosanti M, Cevenini R. Evaluation of recomWell Treponema, a novel recombinant antigen-based enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of syphilis. *Clin Microbiol Infect* 2001;**7**(4):200-5.
185. Schaudinn F, Hoffmann E. Vorlaeufiger Bericht ueber das Vorkommen von Spirochaeten in syphilitischen Krankheitsprodukten und bei Papillomen. *Arbeit-Kaiser-Klin. Gesundheits.* 1905;**22**:527.
186. Schmidt BL, Edjlalipour M, Luger A. Comparative evaluation of nine different enzyme-linked immunosorbent assays for determination of antibodies against *Treponema pallidum* in patients with primary syphilis. *J Clin Microbiol* 2000;**38**(3):1279-82.
187. Schofer H, Imhof M, Thoma-Greber E, et al. Active syphilis in HIV infection: a multicentre retrospective survey. The German AIDS Study Group (GASG). *Genitourin Med* 1996;**72**(3):176-81.
188. Schroeter AL, Lucas JB, Price EV, Falcone VH. Treatment for early syphilis and reactivity of serologic tests. *Jama* 1972;**221**(5):471-6.
189. Silletti RP. Comparison of CAPTIA syphilis G enzyme immunoassay with rapid plasma reagin test for detection of syphilis. *J Clin Microbiol* 1995;**33**(7):1829-31.
190. Singh AE, Romanowski B. Syphilis: review with emphasis on clinical, epidemiologic, and some biologic features. *Clin Microbiol Rev* 1999;**12**(2):187-209.
191. Sombie I, Meda N, Cartoux M, et al. Seroprevalence of syphilis among women attending urban antenatal clinics in Burkina Faso, 1995-8. The DITRAME Study Group. DIminuation de la TRANsmission Mere-Enfant. *Sex Transm Infect* 2000;**76**(4):314-6.
192. STDs WOOHAa. An overview of selected curable STDs. Syphilis estimates, 1995. Geneva: World Health Organisation, 1995.
193. Steen R, Vuylsteke B, DeCoito T, et al. Evidence of declining STD prevalence in a South African mining community following a core-group intervention. *Sex Transm Dis* 2000;**27**(1):1-8.
194. Steffen R. DBC, Banos A. Travel epidemiology - a global perspective. *Int J Antimicrob Agents* 2003;**21**(2):89-95.
195. Stokes JH, Beerman H, Ingraham NR. Modern clinical syphilology, diagnosis, treatment. Case study. 3rd ed: Philadelphia: WB Saunders, 1945.
196. Strugnell RA, Cockayne A, Penn CW. Molecular and antigenic analysis of *Treponemes*. *Critic Rev Microbiol* 1990;**17**:231-251.
197. Swai R, Somi, G., Kwesigabo, G., Chalamilla, G., Lyamuya, E., Isingo, R., Ndayongjeje, J., Tesha, P., Mgonggolwa, T. National AIDS Control Programme. HIV/ AIDS/ STI Surveillance Report January - December 2000. Dar es Salaam: Ministry of Health, 2000.
198. Tabidze IL, Lee FK, Tambe P, et al. Enzyme-linked immunospot assay for the diagnosis of active *Treponema pallidum* infection during the various stages of syphilis. *Sex Transm Dis* 1999;**26**(8):426-30.
199. Talwar S, Tutakne MA, Tiwari VD. VDRL titres in early syphilis before and after treatment. *Genitourin Med* 1992;**68**(2):120-2.
200. Telzak EE, Chiasson MA, Bevier PJ, Stoneburner RL, Castro KG, Jaffe HW. HIV-1 seroconversion in patients with and without genital ulcer disease. A prospective study. *Ann Intern Med* 1993;**119**(12):1181-6.

201. Telzak EE, Greenberg MS, Harrison J, Stoneburner RL, Schultz S. Syphilis treatment response in HIV-infected individuals. *Aids* 1991;**5**(5):591-5.
202. Terry PM, Page ML, Goldmeier D. Are serological tests of value in diagnosing and monitoring response to treatment of syphilis in patients infected with human immunodeficiency virus? *Genitourin Med* 1988;**64**(4):219-22.
203. Thomas L. Labor und Diagnose. Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik. Frankfurt/ Main: TH-Books Verlagsgesellschaft mbH, 2000.
204. Tichonova L, Borisenko K, Ward H, Meheus A, Gromyko A, Renton A. Epidemics of syphilis in the Russian Federation: trends, origins, and priorities for control. *Lancet* 1997;**350**(9072):210-3.
205. Todd J, Munguti K, Grosskurth H, et al. Risk factors for active syphilis and TPHA seroconversion in a rural African population. *Sex Transm Infect* 2001;**77**(1):37-45.
206. Tramont EC. Syphilis in adults: from Christopher Columbus to Sir Alexander Fleming to AIDS. *Clin Infect Dis* 1995;**21**(6):1361-9.
207. UNAIDS. Report on the global HIV/AIDS epidemic., 2002.
208. UNAIDS/WHO. UNAIDS/WHO Epidemiological Fact Sheet on HIV/AIDS and sexually transmitted infections. United Republic of Tanzania., 2000.
209. Urassa WK, Kapiga, S.H., Msamanga, G.I., Antelman, G., Coley, J., Fawzi, W.W. Risk factors for syphilis among HIV-infected women in Dar es Salaam, Tanzania. *Afr J Reprod Health* 2001;**5**(3):54-62.
210. Van Dam J. Management of syphilis in times of HIV. *Genitourin Med* 1997;**73**:159-160.
211. Van Damme L, Raharimalala L, Ratsimbazafy N, et al. STI prevalence and associated factors among female sex workers. *Int J STD AIDS* 2001;**12** (Suppl 2): 180.
212. Veldkamp J, Visser, A.M. Application of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in the serodiagnosis of syphilis. *Br J Vener Dis* 1975;**51**:227-231.
213. Verdon MS, Handsfield HH, Johnson RB. Pilot study of azithromycin for treatment of primary and secondary syphilis. *Clin Infect Dis* 1994;**19**(3):486-8.
214. Vernazza PL, Eron JJ, Fiscus SA, Cohen MS. Sexual transmission of HIV: infectiousness and prevention. *Aids* 1999;**13**(2):155-66.
215. Vuylsteke BL, Ghys PD, Traore M, et al. HIV prevalence and risk behavior among clients of female sex workers in Abidjan, Cote d'Ivoire. *Aids* 2003;**17**(11):1691-4.
216. Walden VM, Mwangulube K, Makhumula-Nkhoma P. Measuring the impact of a behaviour change intervention for commercial sex workers and their potential clients in Malawi. *Health Educ Res* 1999;**14**(4):545-54.
217. Wasserheit JN. The significance and scope of reproductive tract infections among Third World Women. *Int J Gynecol Obst* 1989;**3** Suppl: 145-168.
218. Wassermann A NA, Brück C. Eine serodiagnostische Reaktion bei Syphilis. *Dtsch Med Wochenschr* 1906;**32**:745-746.
219. Watson-Jones D, Changalucha J, Gumodoka B, et al. Syphilis in pregnancy in Tanzania. I. Impact of maternal syphilis on outcome of pregnancy. *J Infect Dis* 2002;**186**(7):940-7.
220. Watson-Jones D, Gumodoka B, Weiss H, et al. Syphilis in pregnancy in Tanzania. II. The effectiveness of antenatal syphilis screening and single-dose benzathine penicillin treatment for the prevention of adverse pregnancy outcomes. *J Infect Dis* 2002;**186**(7):948-57.
221. Wawer MJ, Sewankambo NK, Serwadda D, et al. Control of sexually transmitted diseases for AIDS prevention in Uganda: a randomised community trial. Rakai Project Study Group. *Lancet* 1999;**353**(9152):525-35.
222. Weinhardt LS, Forsyth AD, Carey MP, Jaworski BC, Durant LE. Reliability and validity of self-report measures of HIV-related sexual behavior: progress since 1990 and recommendations for research and practice. *Arch Sex Behav* 1998;**27**(2):155-80.

223. Wicher K. Syphilis in the shadow of HIV and Lyme disease: The laboratory diagnosis of syphilis. *J Spirochet Tick Born Dis* 1998;**5**:28-37.
224. Wicher K, Horowitz HW, Wicher V. Laboratory methods of diagnosis of syphilis for the beginning of the third millennium. *Microbes Infect* 1999;**1**(12):1035-49.
225. Wicher K, Noordhoek GT, Abbruscato F, Wicher V. Detection of *Treponema pallidum* in early syphilis by DNA amplification. *J Clin Microbiol* 1992;**30**(2):497-500.
226. Wicher V, Zabek J, Wicher K. Pathogen-specific humoral response in *Treponema pallidum*-infected humans, rabbits, and guinea pigs. *J Infect Dis* 1991;**163**(4):830-6.
227. Wiesel J, Rose, D.N., Silver, A.L., Sacks, H.S., Bernstein, R.H. Lumbar puncture in asymptomatic late syphilis. An analysis of the benefits and risks. *Arch Intern Med* 1985;**145**:465-468.
228. World Health Organization. Guidelines for the Management of Sexually Transmitted Infections, 2001.
229. Xueref S, Holianjavony J, Daniel R, Kerouedan D, Fabry J, Vanhems P. The absence of HIV seropositivity contrasts with a high prevalence of markers of sexually transmitted infections among registered female sex workers in Toliary, Madagascar. *Trop Med Int Health* 2003;**8**(1):60-6.
230. Yinnon AM, Coury-Doniger P, Polito R, Reichman RC. Serologic response to treatment of syphilis in patients with HIV infection. *Arch Intern Med* 1996;**156**(3):321-5.
231. Young H. Guidelines for serological testing for syphilis. *Sex Transm Infect* 2000;**76**(5):403-5.
232. Young H. Syphilis. Serology. *Dermatol Clin* 1998;**16**(4):691-8.
233. Young H, Moyes A, de Ste Croix I, McMillan A. A new recombinant antigen latex agglutination test (Syphilis Fast) for the rapid serological diagnosis of syphilis. *Int J STD AIDS* 1998;**9**(4):196-200.
234. Young H, Moyes A, Ross JD. Markers of past syphilis in HIV infection comparing Captia Syphilis G anti-treponemal IgG enzyme immunoassay with other treponemal antigen tests. *Int J STD AIDS* 1995;**6**(2):101-4.
235. Young H, Moyes A, Seagar L, McMillan A. Novel recombinant-antigen enzyme immunoassay for serological diagnosis of syphilis. *J Clin Microbiol* 1998;**36**(4):913-7.
236. Young H, Walker PJ, Merry D, Mifsud A. A preliminary evaluation of a prototype western blot confirmatory test kit for syphilis. *Int J STD AIDS* 1994;**5**(6):409-14.



## 9. Lebenslauf

Geburtsdatum:	04.02.1976
Geburtsort:	München
Wohnort:	Knöbelstrasse 32 – 80538 München
Familienstand:	Verheiratet
1986 – 1995 6/1995	Besuch der Gymnasien Starnberg und Pullach Abschluss der Allgemeinen Hochschulreife (1,5)
1990 - 2002	Ehrenamtliche/nebenamtliche Betätigung als Rettungssanitäterin bei der Johanniter-Unfall-Hilfe (JUH) und dem Arbeiter-Samariter-Bund, München, Mitarbeit im Katastrophenschutz und in den Jugend- und Erwachsenengruppen der JUH
4/1996 – 5/1997	Studium der Allgemeinen und Vergleichenden Literaturwissenschaft (Komparatistik) in München und Berlin
10/1997	Aufnahme des Studiums der Humanmedizin an der Universität Leipzig
8/1999	Ärztliche Vorprüfung an der Universität Leipzig, Wechsel an die Ludwig-Maximilians-Universität München
3/2000	Assistenz des Programmkoordinators des SAH (Schweizerisches Arbeiterhilfswerk) für humanitäre Not- und Soforthilfe bei der Versorgung der Erdbebenopfer in der Türkei
8/2000	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung in München
8/2001 - 3/2002	Mbeya, Tansania: Datensammlung für die Doktorarbeit, Labor- und Datenmanagement im Rahmen eines Forschungsprojektes (Barworkers Health Project) des Tropeninstitutes München
3/2003	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (1,6)
4/2003 – 4/2004	Praktisches Jahr: Inselspital Bern, Schweiz – Innere, Abteilung für Infektiologie KH Starnberg und KH Schwabing, München – Chirurgie Frauenklinik der Universität, München – Gynäkologie
5/2004 10/2004	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (2) Erhalt der Approbationsurkunde
9/2004 – 6/2005	Fertigstellung der Doktorarbeit als Doktorandin an der Abteilung für Infektions- und Tropenmedizin, Klinikum Innenstadt, München
Seit 7/2005	Assistenzärztin in der Frauenklinik vom BRK, München

## 10. Danksagung

Mein aufrichtiger Dank gilt Herrn Dr. Michael Hölscher, der mir mit der Überlassung des Themas ermöglichte, an diesem Projekt teilzunehmen und mich durch eigenständiges Arbeiten einen wertvollen Einblick in die verschiedensten Bereiche des umfangreichen Unterfangens gewinnen ließ.

Herzlichen Dank auch Herrn Prof. Dr. Löscher für die Übernahme der Arbeit und für die Begutachtung.

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. Gabriele Riedner, die mich zu Beginn meines Aufenthaltes in Tansania bei sich aufnahm, mir half, mich dort einzuleben, die mit mir alle Schwierigkeiten der Arbeit diskutierte, mich an ihrem reichen Erfahrungsschatz bezüglich Arbeiten in einem Entwicklungsland teilhaben ließ.

Ganz herzlich möchte ich mich bei den Mitgliedern des „Barworkers Health Project“ Familie bedanken, die mich in ihre offenen Arme aufnahm und mich acht Monate lang mit Spaß und Freude während der gemeinsamen Arbeit behütete.

Ein großer Dank gilt auch meiner Familie für ihre immerwährende Unterstützung gleich welcher Art zu jedem Zeitpunkt.

Ohne meinen Mann Axel hätte ich diese Arbeit nicht fertig gestellt. Er hat mich in jeder Phase dieser Arbeit erlebt, mich aufgerichtet, wenn es nötig war und mir geholfen – ihm sei diese Arbeit gewidmet.