

INHALT

DIAGNOSTIK UND THERAPIE

- ▶ **Breit neutralisierende Antikörper zur Therapie und Prävention von HIV-1-Infektionen**
PD Dr. Dr. Philipp Schommers S. 2

- ▶ **Was kann das Labor zur Diagnostik und Therapieüberwachung der HIV-Infektion leisten?**
Prof. Dr. med. Josef Eberle S. 5

DER KLINISCHE FALL

- ▶ **Ein langer Weg mit vielen Hindernissen**
Assistenzärztin Franziska Schrapel,
Prof. Dr. med. Josef Eberle S. 8

FÜR SIE GELESEN

- ▶ **Mit Gentherapie zur Heilung von HIV?**
cand. med. Adrian Ruhle S. 11



Für den Inhalt der Artikel sind die Autoren * allein verantwortlich. Ziel dieses Bulletins ist es, Ärzte, Gesundheitsbehörden und Patienten über aktuelle wissenschaftliche sowie klinische Themen aus dem Bereich der Retroviren zu informieren. Zweimal im Jahr wird in kurzer Form der aktuelle Forschungsstand zu verschiedenen Themen wiedergegeben. Für Verbesserungsvorschläge und Anregungen sind wir sehr dankbar.

* Aus Gründen guter Lesbarkeit verwenden wir im Text des Bulletins überwiegend das generische Maskulinum, das selbstverständlich und gleichberechtigt alle Geschlechter einbezieht!

Die Redaktion

EDITORIAL

Sehr geehrte Kolleginnen und Kollegen,
sehr geehrte Damen und Herren,

ich freue mich, Ihnen die zweite Ausgabe des »Retroviren Bulletins« des Jahres 2022 aus München vorzustellen.

PD Dr. Philipp Schommers stellt in seinem Artikel das Potenzial breit neutralisierender Antikörper (bNAbs) in der Therapie und Prävention von HIV-1-Infektionen dar. Bei COVID-19 haben bNAbs für bestimmte Patientengruppen bereits Einzug in den klinischen Alltag gefunden. Dr. Schommers veranschaulicht die derzeitigen wissenschaftlichen Fragestellungen und Herausforderungen auf dem Weg zu einer hoffentlich breiten klinischen Anwendung von bNAbs auch bei der HIV-Infektion.

In dieser Ausgabe zieht **Prof. Josef Eberle** als »Diagnostiker der ersten Stunde« eine Zwischenbilanz, was das Labor bei der Diagnostik und Therapieüberwachung der HIV-Infektion leisten kann. Das breite Spektrum an Fragen, Untersuchungsverfahren und Lösungsansätzen zeigt, dass auch in Zukunft eine hohe diagnostische Expertise an der Schnittstelle von Labor und Klinik erforderlich sein wird.

Franziska Schrapel und **Prof. Josef Eberle** berichten gemeinsam über den interessanten Fall einer HIV-1-Enzephalitis. Die differentialdiagnostische Ursachenforschung führte unter anderem auch über Bildgebung, HIV-Resistenzbestimmung sowie liquorchemische Diagnostik zum Erfolg durch eine antiretrovirale Therapieanpassung. Mitentscheidend waren hartnäckige Versuche der genotypischen Resistenzbestimmung auch bei niedrigen Viruslasten.

In der Rubrik »Für Sie gelesen« widmet sich **cand. med. Adrian Ruhle** dem Ansatz der Gentherapie bei HIV-Infektionen. Er stellt dar, was diese eigentlich beinhaltet und ob wir in Zukunft mit Hilfe gentherapeutischer Ansätze dem langersehten Ziel der Heilung von HIV ein Stück näherkommen können.

Blieben Sie gesund! Mit allen guten Wünschen,
Ihr Professor Oliver T. Keppler

Breit neutralisierende Antikörper zur Therapie und Prävention von HIV-1-Infektionen

Trotz des enormen Erfolgs in der antiretroviralen Therapie (ART) und Prävention von HIV-Infektionen werden Antikörper gegen HIV weiterhin weltweit mit viel Aufwand erforscht. Vor allem die breit neutralisierenden Antikörper (bNAbs), die teils bis zu 100 % der getesteten Viren neutralisieren können, sind hierbei von besonderem Interesse, denn sie vereinen gleich mehrere positive Eigenschaften. Im Vergleich zu den meisten derzeit verfügbaren antiretroviralen Medikamenten unterbrechen bNAbs die virale Replikation, indem sie an das Hüllprotein (*envelope*) von HIV andocken (**Abb. 1**). Hiermit verhindern sie zum einen die Fusion des Virus mit der Wirtszelle und sind außerdem durch Interaktionen mit anderen Immunzellen (T-Zellen, NK-Zellen etc.) in der Lage, weitere antivirale Mechanismen des Immunsystems zu aktivieren. So können bNAbs eine stärkere Antwort des Immunsystems gegenüber HIV induzieren, indem sie über den Fc-Teil weitere Immunzellen aktivieren, die ihrerseits dann verschiedene antivirale Abwehrmechanismen in Gang setzen [1]. Zudem führt eine Gabe von bNAbs zu einer besseren humoralen Antwort des Immunsystems [2]. Außerdem haben bNAbs eine lange Halbwertszeit von mehreren Wochen bis Monaten [3], was eine Behandlung/Prävention mit bNAbs durch Injektionen mit mehreren Monaten Abstand denkbar macht. Sollten hier noch Depot-Effekte genutzt werden können, wie sie z.B. bei der *Long-acting*-ART angewandt werden, könnten sogar noch größere Zeitintervalle möglich sein.

Die jüngsten klinischen Erfolge von Ebolavirus- und SARS-CoV-2-neutralisierenden Antikörpern haben das Potenzial monoklonaler Antikörper für die Behandlung und Prävention von Viruserkrankungen aufgezeigt [4, 5]. Antikörper haben bereits die Behandlung von onkologischen und rheumatologischen Erkrankungen revolutioniert und werden in Zukunft sicherlich auch zur Behandlung von infektiologischen Erkrankungen immer mehr eingesetzt werden. Am Beispiel von SARS-CoV-2 zeigte sich bereits einerseits das große Potential monoklonaler Antikörper, andererseits zeigte sich jedoch auch rasch, dass solche Therapien immer wieder an das Virus angepasst werden müssen, da durch Mutationen im Oberflächenprotein die Wirkung der Antikörper verloren gehen kann [6]. Auch erste klinischen Studien zu HIV-1 zeigen, welche Herausforderungen noch zu bewältigen sind für eine breite klinische Anwendung von bNAbs zur Therapie und Prävention von HIV-1-Infektionen. Im Folgenden werden kürzlich identifizierte HIV-1-Antikörper vorgestellt, die Ergebnisse aktueller klinischer Studien und deren Auswirkungen diskutiert und Ansätze zur Optimierung der zukünftigen klinischen Anwendung von bNAbs vorgestellt.

Identifizierung von bNAbs

Untersuchungen in großen Kohorten mit HIV-1-Infizierten haben gezeigt, dass nur ein Bruchteil dieser Patienten es schafft, bNAbs zu entwickeln [7]. Aus diesen sogenannten *Elite-Neutralisern* schaffte man es dann in den letzten 10 bis 15 Jahren durch neue molekulargenetische Verfahren, mehr und mehr hochaktive bNAbs zu isolieren. Nachdem die DNA der jeweiligen B-Zelle, welche den hochaktiven bNAbs produziert, isoliert ist, können bNAbs im Labor im großen Maßstab als monoklonale Antikörper hergestellt und getestet werden. So wurden seit etwa 2009 viele verschiedene bNAbs identifiziert, die an verschiedenste Epitope des HIV-Hüllproteins andocken (**Abb. 2**) [8]. Fortlaufend werden Antikörper entdeckt, die neue, bisher unbekanntere Fähigkeiten haben: Mit N49P7 identifizierten Sajadi et al. den ersten bNAbs gegen die CD4-Bindungsstelle (CD4bs), der bis zu

100% der getesteten Stämme abdeckt [9]. Antikörper 1-18, ein weiterer kürzlich isolierter CD4bs-bNAbs, ist der erste bNAbs, der in der Lage ist, virale Fluchtmutationen *in vivo* zu begrenzen [10]. LN01 ist ein bNAbs, welcher gegen die hochkonservierte Untereinheit der MPER (*membrane-proximal external region*) des gp41 gerichtet ist. Über zwei spezifische Lipidbindungsstellen ist es LN01 möglich, sowohl an die Transmembranregion, als auch an Lipide zu binden [11]. Darüber hinaus wurde mit PG05 und SF12 eine neue Klasse von bNAbs entdeckt, die an das so genannte *Silent Face* auf der HIV-1-Hülle binden, welches bisher für immunologisch nicht aktiv gehalten wurde [12, 13].

Klinische Studien mit bNAbs

Einige dieser bNAbs sind mittlerweile in klinischen Studien getestet worden. Dazu gehören bNAbs, die an die CD4-Bindungsstelle

(VRC01, 3BNC117, VRC07-523, N6), den V3-Loop (10-1074, PGT121), den V1/V2-Loop (PGDM1400, CAP256V2) und an die MPER-Region (10E8V) binden.

In mehreren Phase I-II-Studien konnten einige dieser Antikörper bereits zeigen, dass ihre Gabe sicher ist, sie eine effektive antivirale Aktivität haben und sie die Zeit bis zu einem Rebound der Viruslast verzögern können, wenn beispielsweise initial behandelte Patienten ihre ART pausieren [14]. Außerdem konnte die kürzlich veröffentlichte *Antibody-mediated-prevention* (AMP)-Studie zeigen, dass der Antikörper VRC01 zwar auf die gesamte Kohorte gesehen nicht vor HIV-Infektionen schützen konnte, er jedoch gegenüber VRC01-sensiblen Viren eine deutliche Schutzwirkung bot [15]. Dieses Ergebnis ist insbesondere deshalb von großer Bedeutung, da inzwischen sehr viel potentere und breiter wirksame Antikörper als VRC01 zur Verfügung stehen und mit diesen eventuell eine besse-

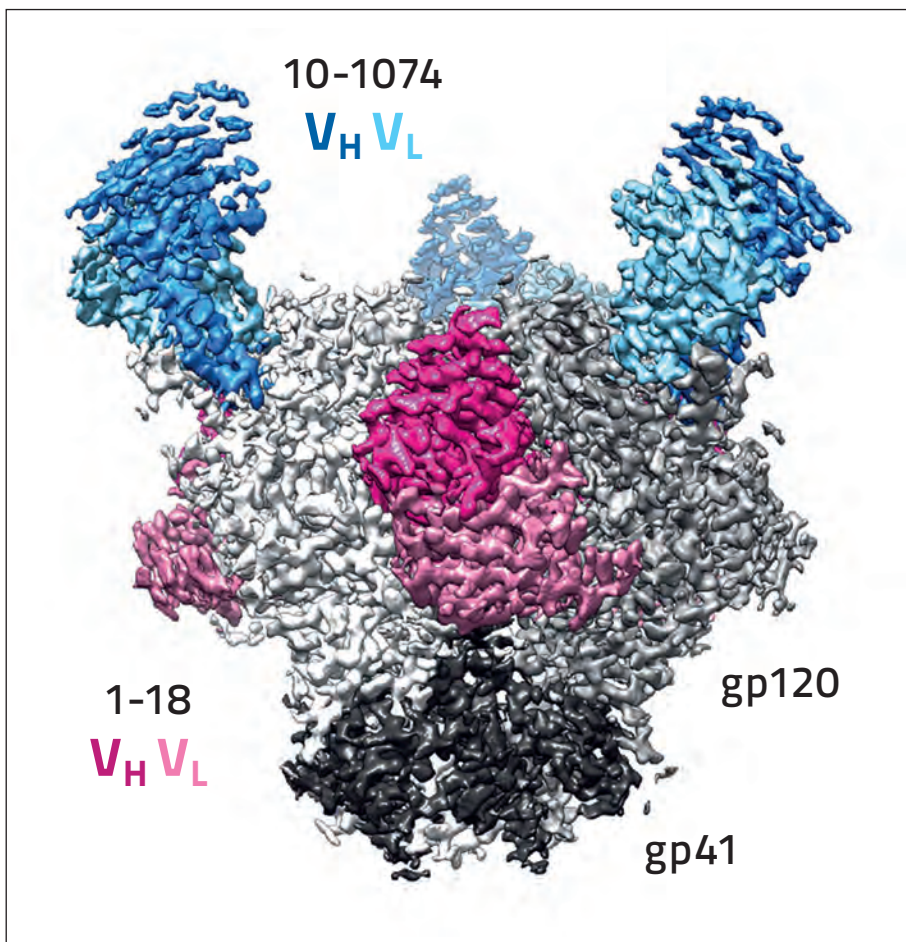


Abb. 1: Kryo-Elektronenmikroskopische Aufnahme des HIV-Hüllproteins (hellgrau: gp120, dunkelgrau: gp41), an den die Antikörper 1-18 (pink) und 10-1074 (blau) binden. (Quelle: Schommers et al.: Cell 2020).

re Schutzwirkung vermittelt werden kann. In allen bisherigen klinischen Studien zeigt sich jedoch, dass die Eigenschaft des HI-Virus, rasch Fluchtmutationen auszubilden, eine große Hürde für die zukünftige Therapie und Prävention mit bNabs darstellt.

Virale Fluchtmutationen als Herausforderung

Analog zur frühen ART, welche als Monotherapie häufig zu Resistenzen führte, ist auch bei bNabs eine rasche Entwicklung von Fluchtmutationen zu sehen, wenn Antikörper einzeln gegeben werden oder nur einzeln aktiv sind. Jedoch zeigte sich auch in der Antikörpertherapie, dass im Vergleich zur Monotherapie die kombinierte Verabreichung von zwei bNabs mit nicht überlappenden Epitopen zu einer potenteren und länger anhaltenden antiviralen Wirkung führt. Solange die Antikörper in therapeutischer Konzentration im Serum vorlagen, zeigte sich zudem keine Resistenzentwicklung [16]. Letztlich sind jedoch Resistenzen gegenüber bestimmten bNabs in Patienten weit verbreitet, sodass die Selektion der richtigen bNab-Therapie für den jeweiligen Patienten entscheidend ist für den späteren Therapie- oder Präventionserfolg. Hierfür stehen jedoch aktuell noch keine Methoden bereit, die einen breiten klinischen Einsatz erlauben, da die Vorhersage eines Phänotyps aus Sequenzdaten häufig zu ungenau ist und genauere Methoden noch mit großem Arbeitsaufwand und Kosten verbunden sind.

Reduktion des viralen Reservoirs mit bNabs

Der große Pool latent infizierter Zellen – das sogenannte virale Reservoir – ist eines der Haupthindernisse für eine Heilung HIV-1-infizierter Personen und die Hoffnung ist groß, dass zukünftig bNabs effektiv zur Verringerung dieses Reservoirs beitragen können. Um die Größe dieses latenten Virusreservoirs zu verringern zielt die so genannte *Shock-and-Kill*-Strategie darauf ab, latent infizierte Zellen zu aktivieren, die dann durch den *Kill*-Teil beseitigt werden können, der durch cART oder andere antivirale Wirkstoffe wie bNabs vermittelt wird [17]. Aufgrund ihrer starken neutralisierenden Wirkung und ihrer Fc-vermittelten Effektor-Funktionen wurde schon früh diskutiert, bNabs für diese neue Strategie einzusetzen. Zwei kürzlich veröffentlichte Studien, in denen CD4bs-bNabs zusammen mit *Histon-Deacetylase* (HDAC)-Inhibitoren getestet wurden, zeigten jedoch keine Wirkung auf das virale Reservoir und auf die Zeit bis zum viralen Rebound bei zuvor avirämi-

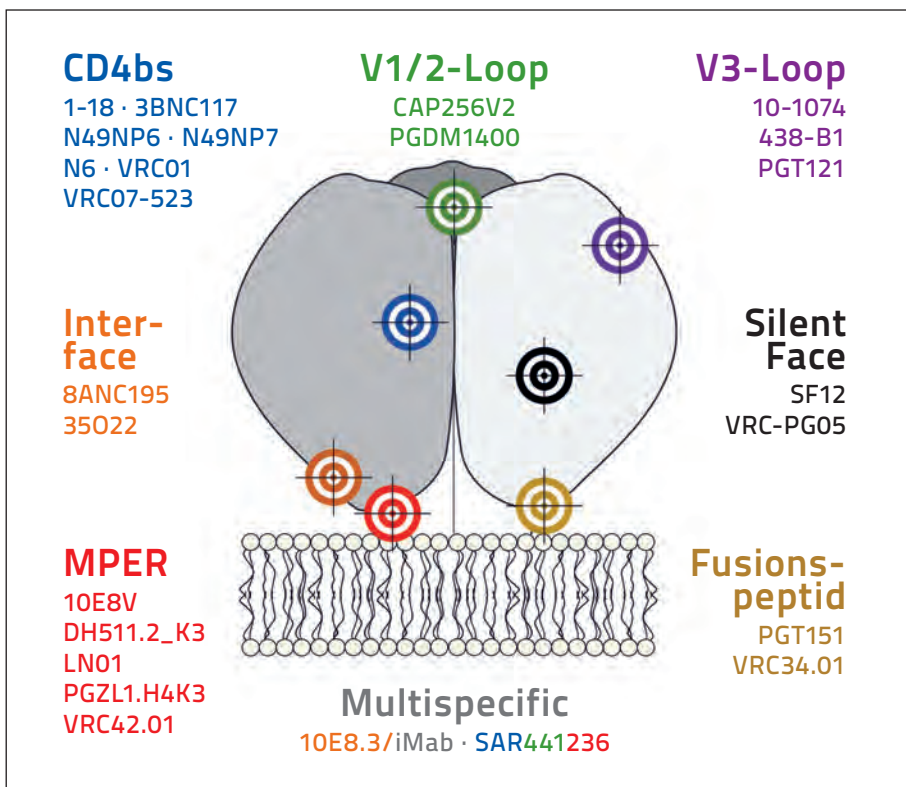


Abb. 2: Breit neutralisierende Antikörper (bNabs), welche an die CD4-Bindestelle (CD4bs, blau), den V1/2-Loop (grün), den V3-Loop (violett), das Interface (orange), die MPER-Region (rot), die Silent-Face-Region (schwarz) und an das Fusionspeptid (braun) des HIV-Hüllproteins (grau) binden. Die Farben der multispezifischen Antikörper spiegeln die jeweiligen Epitope wieder. (Quelle: Gruell & Schommers, Curr. Opinion in Virol. 2022).

schen Patienten. In einer einarmigen Studie, in der acht Patienten VRC07-523LS in Kombination mit Vorinostat erhielten, wurde keine signifikante Verringerung des latenten HIV-Reservoirs festgestellt [18]. Auch in einer ähnlich konzipierten Studie, in welcher der CD4bs-bNAb 3BNC117 zusammen mit Romidepsin gegeben wurde, zeigte sich keine Verringerung des zellassozierten Virusreservoirs und die Kombination verlängerte nicht die Zeit bis zum viralen Rebound im Vergleich zur Kontrollgruppe [1]. Diese Studien machen deutlich, dass es nach wie vor schwierig ist, das latente Virusreservoir beim Menschen signifikant zu reduzieren und dass möglicherweise wirksamere Wirkstoffe für die HIV-Reaktivierung (*Shock*) und den antiviralen (*Kill*) Teil dieses Therapie-Konzepts erforderlich sind.

Fazit

Breit neutralisierende Antikörper sind im Allgemeinen sicher, ihre schon generell lange Halbwertszeit lässt sich durch Modifikationen noch weiter verlängern, sie haben eine sehr potente antivirale Wirkung und können durch Fc-vermittelte Effekte eine verbesserte Immunreaktion gegenüber HIV-1 auslösen. Die Ergebnisse verschiedener *Proof-of-Concept*-Studien haben jedoch gezeigt, dass noch einige Hürden zu nehmen sind, bevor bNAbs in der Klinik eine breite Anwendung finden werden. Die Virusresistenz stellt nach wie vor eine große Herausforderung dar, könnte aber durch bNAb-Kombinationen oder Antikörper, die die Fluchtmutationen verhindern, überwunden werden. Passive Immunisierungsstrategien werden auf wirksamere bNAbs und/oder Kombinationen mehrerer bNAbs angewiesen sein, um einen wirksamen Schutz vor einer Infektion zu bieten. Auch eine Verringerung des Reservoirs mag durch bNAbs möglich sein, erfordert aber neue Strategien und Ansätze als die bisher erprobten.

Nach zahlreichen sehr vielversprechenden klinischen Studien, aber auch den ersten Rückschlägen, müssen zukünftige Studien nun auch beweisen, dass bNAbs in der klinischen Anwendung eine wichtige Rolle spielen werden. Hierfür müssen neue intelligente Konzepte mit den besten aktuell verfügbaren Antikörpern erprobt werden, um das Potential der Kombination von mehreren hochaktiven bNAbs voll auszuschöpfen. Zuletzt ist die Forschung an den bNAbs jedoch auch ganz entscheidend für die weitere Entwicklung einer Impfung gegen HIV-Infektionen. Diese Impfungen werden neutralisierende Antikörper induzieren müssen, um effektiv vor Infektionen schützen zu können. Aus den bisherigen

Arbeiten hat man gelernt, wie solche Antikörper aussehen müssen und wie sie eventuell durch eine Impfung zu induzieren sind. Erste klinische Studien mit entsprechenden neuen Impfkandidaten sind bereits gestartet (NCT05001373):

► <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT05001373>

Quellen

- Niessl J, Baxter AE, Mendoza P, Jankovic M, Cohen YZ, Butler AL, Lu CL, Dubé M, Shmeliovich I, Gruell H et al. Combination anti-HIV-1 antibody therapy is associated with increased virus-specific T cell immunity. *Nat Med* 2020, 26: 222-227.
► <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0747-1>
- Schoofs T, Klein F, Braunschweig M, Kreider EF, Feldmann A, Nogueira L, Oliveira T, Lorenzi JC, Parrish EH, Learn GH et al. HIV-1 therapy with monoclonal antibody 3BNC117 elicits host immune responses against HIV-1. *Science* 2016, 352: 997-1001.
► <https://doi.org/10.1126/science.aaf0972>
- Gaudinski M, Coates E, Houser D, Chen G, Yamschikov G, Saunders J, Holman L, Gordon I, Plummer S, Hendel C, Conan-Cibotti M, Gomez Lorenzo M, Sitar S, Carlton K, Laurencot C, Bailer R, Narpala S, McDermott A, Namboodiri A, Pandey J, Schwartz R, Hu Z, Koup R, Capparelli E, Graham B, Mascola J, Ledgerwood J et al. Safety and pharmacokinetics of the Fc-modified HIV-1 human monoclonal antibody VRC01LS: A Phase 1 open-label clinical trial in healthy adults. *Plos Med* 2018, 15(1): e1002493.
► <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002493>
- Mulangu S, Dodd LE, Davey RT, Jr., Tshiani Mbaya O, Proschan M, Mukadi D, Lusakibanza Manzo M, Nzolo D, Tshomba Oloma A, Ibanda A et al. A Randomized, Controlled Trial of Ebola Virus Disease Therapeutics. *N Engl J Med* 2019, 381: 2293-2303.
► <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1910993>
- Gupta A, Gonzalez-Rojas Y, Juarez E, Crespo Casal M, Moya J, Falci DR, Sarkis E, Solis J, Zheng H, Scott N et al. Early Treatment for Covid-19 with SARS-CoV-2 Neutralizing Antibody Sotrovimab. *N Engl J Med* 2021, 385: 1941-1950.
► <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2107934>
- Gruell H, Vanshilla K, Korenkov M, Tober-Lau P, Zehner M, Münn F, Janicki H, Augustin M, Schommers P, Sander LE et al.: SARS-CoV-2 Omicron sublineages exhibit distinct antibody escape patterns. *Cell Host & Microbe*.
► <https://doi.org/10.1016/j.chom.2022.07.002>
- Rusert P, Kouyos RD, Kadelka C, Ebner H, Schanz M, Huber M, Braun DL, Hozé N, Scherrer A, Magnus C et al. Determinants of HIV-1 broadly neutralizing antibody induction. *Nat Med* 2016, 22: 1260-1267.
► <https://doi.org/10.1038/nm.4187>
- Gruell H, Schommers P. Broadly neutralizing antibodies against HIV-1 and concepts for application.

Current Opinion in Virology 2022, 54: 101211.
► <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2022.101211>

9 Sajadi MM, Dashti A, Rikhtegaran Tehrani Z, Tolbert WD, Seaman MS, Ouyang X, Gohain N, Pazgier M, Kim D, Cavet G et al. Identification of Near-Neutralizing Antibodies against HIV-1 by Deconvolution of Plasma Humoral Responses. *Cell* 2018, 173: 1783-1795 e1714.
► <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.061>

10 Schommers P, Gruell H, Abernathy ME, Tran MK, Dingsens AS, Gristick HB, Barnes CO, Schoofs T, Schlotz M, Vanshilla K et al. Restriction of HIV-1 Escape by a Highly Broad and Potent Neutralizing Antibody. *Cell* 2020, 180: 471-489.e422.
► <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.01.010>

11 Pinto D, Fenwick C, Caillat C, Silacci C, Guseva S, Dehez F, Chipot C, Barbieri S, Minola A, Jarrossay D et al. Structural Basis for Broad HIV-1 Neutralization by the MPER-Specific Human Broadly Neutralizing Antibody LN01. *Cell Host Microbe* 2019, 26: 623-637.e628.
► <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.09.016>

12 Zhou T, Zheng A, Baxa U, Chuang GY, Georgiev IS, Kong R, O'Dell S, Shahzad-Ul-Hussan S, Shen CH, Tsybovsky Y et al. A Neutralizing Antibody Recognizing Primarily N-Linked Glycan Targets the Silent Face of the HIV Envelope. *Immunity* 2018, 48: 500-513.e506.
► <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.02.013>

13 Schoofs T, Barnes CO, Suh-Toma N, Golijanin J, Schommers P, Gruell H, West AP, Jr., Bach F, Lee YE, Nogueira L et al. Broad and Potent Neutralizing Antibodies Recognize the Silent Face of the HIV Envelope. *Immunity* 2019, 50: 1513-1529.e1519.
► <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.04.014>

14 Caskey M, Klein F, Nussenzweig MC. Broadly neutralizing anti-HIV-1 monoclonal antibodies in the clinic. *Nat Med* 2019, 25: 547-553.
► <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0412-8>

15 Corey L, Gilbert PB, Juraska M, Montefiori DC, Morris L, Karuna ST, Edupuganti S, Mgodini NM, deCamp AC, Rudnicki E et al. Two Randomized Trials of Neutralizing Antibodies to Prevent HIV-1 Acquisition. *N Engl J Med* 2021, 384: 1003-1014.
► <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2031738>

16 Mendoza P, Gruell H, Nogueira L, Pai JA, Butler AL, Millard K, Lehmann C, Suárez I, Oliveira TY, Lorenzi JCC et al. Combination therapy with anti-HIV-1 antibodies maintains viral suppression. *Nature* 2018, 561: 479-484.
► <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0531-2>

17 Deeks SG, Archin N, Cannon P, Collins S, Jones RB, de Jong MAWP, Lambotte O, Lamplough R, Ndung'u T, Sugarman J et al. Research priorities for an HIV cure: International AIDS Society Global Scientific Strategy 2021. *Nature Medicine* 2021, 27: 2085-2098.
► <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01590-5>

18 Gay CL, James KS, Tuyishime M, Falcinelli SD, Joseph SB, Moeser MJ, Allard B, Kirchherr JL, Clohosey M, Raines SLM et al. Stable Latent HIV Infection and Low-Level Viremia Despite Treatment with the Broadly Neutralizing Antibody VRC07-523LS and the Latency Reversal Agent Vorinostat. *J Infect Dis* 2021.
► <https://doi.org/10.1093/infdis/jiab487>

PD Dr. Dr. Philipp Schommers
Emmy-Noether-Gruppenleiter

Labor für antivirale Immunität
Klinik I für Innere Medizin, Uniklinik Köln

Robert-Koch-Str. 21 · 50931 Köln

philipp.schommers@uk-koeln.de



Was kann das Labor zur Diagnostik und Therapieüberwachung der HIV-Infektion leisten?

Seit den Anfängen der Labordiagnostik für die HIV-Infektion im Sommer 1984 und ersten kommerziellen Suchtests ab Sommer 1985 hat sich viel getan. Die HIV-Diagnostik ist für die Infektionsserologie und die molekulare Infektionsdiagnostik zum Motor für die Entwicklung von Testwerkzeugen in großen Bereichen der medizinischen Mikrobiologie geworden.

Serologische Suchtests

Auf dem Sektor der serologischen Tests sind HIV-Suchtests Spitzenprodukte, was Sensitivität und Spezifität angeht. Die Spezifität in den Zulassungsstudien mit Blutspendern liegt regelmäßig über 99,85%. Wir sehen also weniger als zwei falsch-positive Ergebnisse auf 1.000 nicht-infizierte Getestete. Bei Krankenhauspatienten ist die Spezifität etwas geringer, aber immer noch im Bereich von ca. 99%. Die Sensitivität ist abhängig von der Zeitspanne zwischen Infektion und Blutabnahme. Aktuelle Suchtests der 4. Generation erfassen jede HIV-Infektion, die länger als 12 Wochen besteht, zu annähernd 100%. Sechs Wochen nach der Infektion sind es bereits über 99%. HIV-1-p24-Antigen wird in Laborkombitests mit Nachweisgrenzen im Bereich von weniger als 50 pg/ml detektiert. Damit und durch die geschickte Verwendung des Sandwich-Prinzips sowie die Auswahl geeigneter Antigene können parallel erste IgM-Antworten neben lebenslang persistierenden IgG-Antikörpern übergangslos bereits ab der 4. Woche nach einer Infektion erkannt werden. Es werden alle heute bekannten HIV-1-Varianten sicher erfasst. Dazu gehören HIV-Infektionen mit der weltweit dominierenden Hauptgruppe M (ca. 40 Millionen lebende Infizierte) mit allen Subtypen (A bis L [1]), über 100 definierte »zirkulierende rekombinante Formen« (CRFs), neue rekombinante Viren, viel seltenere Infektionen mit Viren der Gruppe O (einige 10.000 weltweit), die sehr seltenen Viren der Gruppe N (<20 Isolate) – bis hin zu den extrem seltenen Viren der Gruppe P (<5). Zusätzlich erfassen diese Suchtests auch alle Infektionen mit HIV-2 (aller Gruppen und Rekombinanten) mit der Einschränkung, dass die Zeit bis zur Serokonversion eventuell bis zu drei Monate dauern könnte.

Für die Selbstanwendung außerhalb eines Labors wurden einfach zu handhabende Tests entwickelt, die spätestens drei Monate nach der Infektion aus einem Tropfen Blut ebenfalls alle HIV-Infektionen nachweisen können.

bei angenommener Prävalenz	33%	10%	3,3%	1%	0,3%	0,1%	0,01%
korrekter Vorhersagewert bei 99,85% Spezifität = BLUTSPENDER	99,7%	98,6%	95,7%	87%	67%	40%	6,3%
falsche Diagnose	0,3%	1,4%	4,3%	13%	33%	60%	93,7%
korrekter Vorhersagewert bei 99% Spezifität = PATIENT	98%	92%	77%	50%	23%	9%	
falsche Diagnose	2%	8%	23%	50%	77%	91%	

Abb. 1: Abhängigkeit der Korrektheit für positive Suchtestergebnisse von der Prävalenz. Für bestimmte Prävalenzwerte (Durchseuchungen) wurde exemplarisch der positive prädiktive Wert bei gegebener Spezifität des HIV-Suchtests für **BLUTSPENDER** (obere Hälfte) und für **PATIENTEN** (untere Hälfte) berechnet. Blutspender haben in Deutschland typischerweise eine geringere HIV-Prävalenz als 1:10.000; bei Patienten liegt die Prävalenz je nach Ambulanz bei etwa 1:1.000 oder höher (schwarz umrandet).

Bestätigungstest und Therapieüberwachung

Mit der Entwicklung von Immunoblots und *Line-Immuno-Assays* (LIA) wurde eine Bestätigungstestebene geschaffen, die über Mustererkennung unspezifische Reaktionen in den Suchtests zeitnah aufdecken kann. Obwohl die Fehlerrate der Suchtestebene sehr gering ist (Spezifität >99%, s.o.), ist bei niedrigen Prävalenzen – Deutschland: ca. 0,1% – immer der Vorhersagewert für positive Ergebnisse sehr niedrig und daher eine Bestätigung unverzichtbar (**Abb. 1**).

Auf der molekularen Testebene war ebenfalls die HIV-Diagnostik Schrittgeber für die rasante Entwicklung moderner Verfahren. Die hohe Variabilität zwang Testhersteller zur Erstellung akkurater Alignments vieler Virusstämme, um ausreichend konservierte Regionen im Virusgenom zu erkennen. Parallel zu dieser Optimierung wurden weitere, seltenere Virusgruppen entdeckt, sodass es doch bis ins letzte Jahrzehnt gedauert hat, bis Nukleinsäurenachweisverfahren (NAT) alle HIV-1-Infektionen erfassen können. Die gebräuchlichen Realtime-Verfahren erlauben eine Quantifizierung der Viruskonzentration im Blutplasma von kleiner 50 bis zu mehreren Millionen RNA-Kopien pro Milliliter! Interne Kontrollen, die – beginnend bei der Extraktion über die Umschreibung der Virus-RNA in DNA bis

zur Amplifikation – den gesamten Prozess überwachen, sind heute in allen NAT-Systemen Standard. Für viele Realtime-Anwendungen gibt es inzwischen auch Kartuschen-Testsysteme, die durch ihre einfache Anwendung bestechen und für eine *Random-access*-Abarbeitung geeignet sind.

Analyse des Therapieversagens

Beim Versagen der HIV-Therapie wurde die Sequenzierung der Nukleinsäuresequenzen für die virale Protease und die Reverse Transkriptase schon vor 25 Jahren begonnen. Die Diskussion um die Bedeutsamkeit minorer Viruspopulationen bei der Resistenzanalyse beförderte den technologischen Umschwung von der Sanger-Methode zum *Next-Generation-Sequencing* (NGS). Inzwischen wird regelmäßig auch das Gen der Integrase sequenziert und für spezielle Therapien mit Fusions-Inhibitoren und CCR5-Antagonisten Teile der Virushülle aufgeschlüsselt.

Die HIV-Diagnostik hat eine Spitzenposition eingenommen und viele andere Bereiche der Infektionsmedizin zu einer höheren Qualität (Vorhersagewerte für negative und positive Ergebnisse; quantitative Ergebnisse) und Geschwindigkeit (kürzere *time-to-result*) mitgerissen. Wir haben hohe Standards erreicht. Gibt es da überhaupt noch offene Fragen?

**PEP und PrEP
können die Diagnose verzögern**

Wir haben mit der Post-Expositions-Prophylaxe nach Risikokontakten (PEP) und mehr noch durch die Prä-Expositions-Prophylaxe (PrEP) bei Männern, die Sex mit unterschiedlichen Männern (MSM) haben, die Konstellation, dass um den Zeitpunkt der tatsächlichen Infektion Medikamente eingenommen werden, welche die HIV-Replikation drosseln, aber nicht zuverlässig komplett unterbinden. In mehreren großen Studien zeigte die PrEP eine mittlere Schutzrate von ca. 86% [2]. Wenn in der Frühphase einer Infektion die Virusreplikation verlangsamt ist, führt das zwangsläufig auch zu einer Verzögerung des p24-Antigen-Nachweises und zur Verspätung der immunologischen Erkennung und damit der Antikörperbildung [3]. Leider gilt das auch für den Nachweis von HIV-RNA mittels PCR [4]. Alle oben beschriebenen zeitlichen Grenzen für den Nachweis einer HIV-Infektion sind damit verwischt. Diese Unsicherheit macht auch die klinische Entscheidung eines Wechsels von PrEP zur antiretroviralen Therapie (ART) kompliziert, weil beim Auslassversuch, der für die endgültige Diagnose nötig ist, ein potentieller Schaden für das Immunsystem der Patienten entstehen kann, den man gerne durch eine sehr frühe Therapie vermeiden würde.

Unspezifitäten bei serologischen Tests

Die aufgeführten Spezifitäten werden in großen Zulassungsstudien bei gesunden Blutspendern erhoben. Das ist anders nicht praktikabel, da die Größenordnung an Probanden für die Messung und Berechnung derart exakter Werte deutlich über 10.000 liegen muss. In der klinischen Praxis werden die Tests dann aber an kranken Personen durchgeführt, in deren Blut teilweise heftige Immunreaktionen ablaufen. Damit ist die Rate an beobachteten falschen Ergebnissen deutlich höher. Zur Klärung muss daher öfter ein serologischer Bestätigungstest durchgeführt werden oder eine NAT, die aber nur bei eindeutig positivem Ergebnis (>1000 Kopien/ml) die serologische Bestätigung ersetzen kann [5].

Ist nur der Suchtest reaktiv, Bestätigungstest und NAT aber negativ, handelt es sich meist um ein unspezifisches Suchtestergebnis. Hier kann es schon ausreichen sicherzustellen, dass das Serum gut durchgeronnen ist, ein zweites Mal zentrifugiert wird oder für einige Stunden gekühlt gelagert, bevor man den Suchtest wiederholt. Aber bei bestimmten Patientengruppen sollte auch an *human-anti-mouse-antibo-*

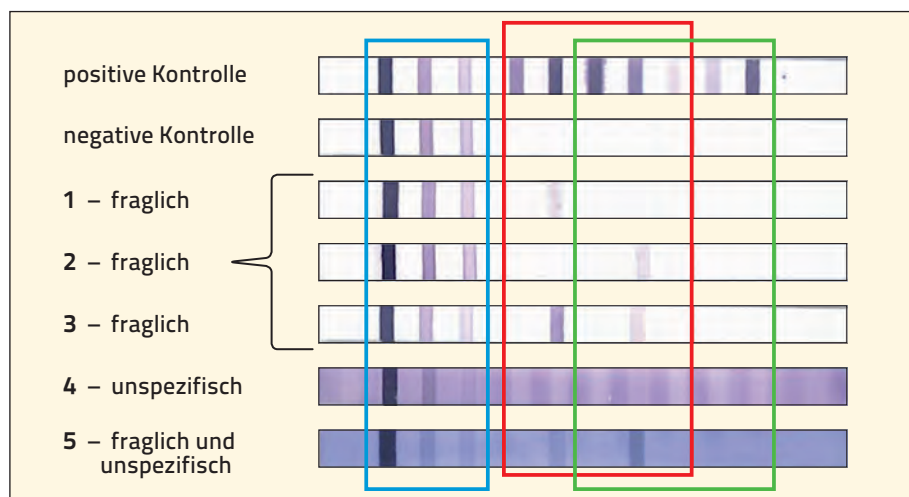


Abb. 2: Serologischer Bestätigungstest: Beispiel *Linie-Immuno-Assay* (LIA).

blauer Rahmen: Banden für die Prozesskontrolle, durch welche die Zugabe des Patientenserums, die korrekte Testdurchführung und Färbung kontrolliert werden sowie der Cutoff definiert ist.

roter Rahmen: für den HIV-1-Infektionsnachweis gültige Antigenbanden (von links nach rechts): **sgp120 · gp41 · p31 · p24 · p17.**

grüner Rahmen: für den HIV-2-Infektionsnachweis gültige Antigenbanden (von links nach rechts): **p31 · p24 · p17 · sgp105 · gp36.**

Die Proteinstrukturen der HIV-1-Integrase (p31) und des Gag-Gens (p24 und p17) sind bei HIV-2 hinreichend konserviert, sodass es bei HIV-2-Infektionen zur Kreuzerkennung kommt. Bei den Patienten mit fraglichen Ergebnissen im LIA (Spuren 1 bis 4) konnte im zeitlichen Verlauf eine HIV-Infektion ausgeschlossen werden. Der zu Spur 5 gehörende Patient ist mit HIV-1 infiziert.

dies (HAMA) gedacht werden, die z.B. nach einer früheren Therapie mit Rituximab (chimärer monoklonaler Maus/Mensch-Anti-CD20-Antikörper) auftreten können und die mit dem Testprinzip in Konflikt geraten.

Manchmal führen Bestätigungstests nicht zu einer Klärung, weil z.B. die NAT negativ ist und der Immunoblot/LIA kein eindeutiges Ergebnis liefert (Abb. 2, Spuren 1, 2 und 3). Solche Konstellationen – reaktiver HIV-Suchtest und einzelne Bande im Immunoblot/LIA – können mehrere Erklärungen haben:

1. beginnende HIV-1-Serokonversion (bei negativer HIV-1-NAT extrem unwahrscheinlich, außer, der Patient nimmt eine PrEP/cART);
2. HIV-2-Serokonversion bei Färbung von HIV-2-Antigenen (sehr theoretisch, wurde bisher in Deutschland meines Wissens noch nie gesehen);
3. unspezifische Aktivierung eines B-Zellklons mit Bildung von Antikörpern, die an antigene Strukturen im Testsystem binden, häufiger im Zusammenhang mit Immunaktivierung durch Allergien oder andere Infektionen (z.B. SARS-CoV-2).

Gelegentlich hilft zur Klärung nur ein erneuter Bluttest nach mehreren Wochen. Im Falle einer HIV-Infektion würde man eine deutliche Signalzunahme im Suchtest und die Erkennung mehrerer Banden im Bestätigungsverfahren erwarten. Bei gleichbleibender Situation oder bei Abschwächung der Reaktion spricht das gegen eine HIV-Infektion.

Daneben existieren technische Probleme bei der Auswertung des serologischen Bestätigungsverfahrens, wenn z.B. der ganze Streifen eine dunkle Färbung annimmt und damit die maschinelle Auswertung verhindert (Abb. 2, Spuren 4 und 5).

Die Erklärung für diese starke Hintergrundfärbung liegt in einer Reaktion der Patientenantikörper gegen das blockierende Protein, das alle ungenutzten Bereiche des Streifens bedeckt, also Stellen, auf denen keine virusspezifischen Antigene aufgebracht sind. Beim blockierenden Protein handelt es sich meist um bovines Serumalbumin alias *non-fat dry milk* (Trockenmilchpulver), und der Patient hat Antikörper gegen Kuhmilch. In einem Beispiel (Abb. 2, Spur 5) hatte der Patient aber zusätzlich HIV-spezifische Banden und wie sich bei der PCR herausstellte: eine anbehandelte HIV-1-Infektion.

Unspezifitäten bei molekularen Tests

Man könnte meinen, die Spezifität der Bestätigung einer Infektion mittels NAT sei über jeden Zweifel erhaben, aber dennoch tauchte kürzlich ein erster Fall auf, bei dem eine Patientin, obwohl sie nicht mit HIV infiziert war, ein positives Ergebnis für HIV-RNA erhielt [6]. Die Patientin hatte eine chimäre Antigenrezeptor(CAR)-T-Zelltherapie mit einem lentiviralen Vektor der 3. Generation erhalten und dieser enthält Sequenzen, die vermutlich mit dem 5'-LTR- und Gag-Gebereich des HIV-1 übereinstimmen. Somit werden mit NATs, deren Zielregionen dort liegen, falsch positive Ergebnisse

erzielt. NAT-Verfahren, die diese Bereiche meiden, sind dagegen nicht betroffen.

Resistenztestung

Bei versagender ART mit wiederholt nachweisbaren, geringen Viruslasten >200 Kopien/ml wird von der Deutschen AIDS-Gesellschaft (DAIG) eine Resistenzanalyse empfohlen [7], was jedoch häufig problematisch ist. Das hat mehrere Gründe:

1. Der zu untersuchende Virusabschnitt ist in der Regel weit weniger gut konserviert als der Abschnitt für die Virusquantifizierung.
2. Während für die Viruslastbestimmung nur ein kurzes Stück von 100 bis 200 Basen der HIV-RNA amplifiziert wird, sind es für die Resistenzsequenzierung Stücke von 400 bis 2.000 Basen.
3. Die hohe Variabilität zwischen den HIV-1-Subtypen der Gruppe M stellt eine zusätzliche Herausforderung für die Definition geeigneter Primer dar.

Es gilt also immer: Die Effizienz der Amplifikation vor dem Sequenzierungsverfahren ist schlechter als die der Viruslast-Tests, und daher lässt sich nicht in jedem Fall ein Ergebnis erzielen.

Alternativen sind, HIV aus einem größeren Plasmavolumen (ca. 10 ml) zu konzentrieren oder eine Resistenztestung aus proviraler DNA aus Lymphozyten (EDTA-Blut) durchzuführen. Für beide Verfahren empfiehlt sich der direkte Kontakt mit dem durchführenden Labor und gegebenenfalls etwas Geduld bzw. ein zweiter Versuch, wenn es beim ersten Mal nicht klappt.

Sanger versus NGS

Bisher zeichnen sich keine prinzipiellen Unterschiede zwischen den Ergebnissen aus den beiden Verfahren ab. Das ist wenig überraschend, da eine häufige Entdeckung minorer Varianten, die sich noch nicht durchgesetzt haben, aber bei besserer Auflösung schon nachweisbar wären, unwahrscheinlich ist.

Doch gerade dieser mangelnde Unterschied ist unbefriedigend!

In den Informationen, die wir aus dem NGS-Verfahren gewinnen, sollte es möglich sein, mehr über den Zustand der Interaktion zwischen Virus und Wirt zu erfahren:

- Wie viele überalterte Virussequenzen mit Stopp-Codons oder APOBEC-Mutanten erkennen wir?
- Was bedeuten diese Mutationen, wenn sie zufällig auf einem für die Resistenz wichtigen Codon zu liegen kommen?
- Handelt es sich um replizierende Viren oder nur um freigesetzten »Virus-schrott« aus sterbenden Zellen?

Besonders für die Bewertung proviraler Sequenzen fehlt hier weiterhin ein Konsens zwischen den NGS-Anwendern und die Dokumentation des Vorteils von NGS- versus Sanger-Sequenzen für die Behandlung von Patienten.

Bezieht man neuere Therapieoptionen (Ibalizumab, Lenacapavir) in die Resistenztestung mit ein und will man künftig Interaktionen zwischen der individuellen Genetik des Patienten und »seinem HIV« (Stichwort: individualisierte Therapie) berücksichtigen, dann wird eine komplette Sequenzierung des HIV in den kommenden Jahren unverzichtbar werden. Es gibt dazu schon eine Vielzahl von Ansätzen [8, 9, 10], die teilweise sogar bei niedrigen Viruslasten von 1.000 Kopien/ml Erfolg versprechen [11].

Sonderfall HIV-2

Grundsätzlich gilt für Diagnostik und Therapieüberwachung von HIV-2 das Gleiche wie für HIV-1. Allerdings ist auf der Bestätigungsebene die immunologische Bestätigung mittels Immunoblot/LIA sehr viel wichtiger, da die Viruslasten während langer Phasen der HIV-2-Infektion nicht nachweisbar sind. Aufgrund von kreuzreagierenden Antikörpern werden im Rahmen von HIV-1-Infektionen nicht selten auch HIV-2-Glykoproteine angefärbt, so dass die Frage nach Doppelinfektionen aufgeworfen wird. Neben parallelen Untersuchungen von Serumverdünnungen in HIV-1- und HIV-2-Bestätigungstestsystemen kann in Einzelfällen der Nukleinsäurenachweis eine Entscheidung erleichtern.

Fazit

Es gibt neue Fragestellungen und Aufgaben für die Weiterentwicklung der Diagnostik auf dem Gebiet von HIV. Wir dürfen die bekannten Grundlagen für die Diagnostik, also u.a. die Berücksichtigung von prädiktiven Werten, von Unspezifitäten etc. nicht vergessen und müssen parallel dazulernen, die neuen technischen Möglichkeiten für eine stärker individualisierte Therapieüberwachung richtig einzusetzen.
Die Arbeit im HIV-Labor bleibt spannend!

- 1 Yamaguchi J, Vallari A, McArthur C, et al. Brief Report: Complete Genome Sequence of CG-0018a-01 Establishes HIV-1 Subtype L. *J AIDS* 2020; 83: 319-322. <https://doi.org/10.1097/QAI.0000000000002246>
- 2 Spinner CD, Boesecke C, Zink A, et al. HIV pre-exposure prophylaxis (PrEP): a review of current knowledge of oral systemic HIV PrEP in humans. *Infection* 2016; 44: 151-158. <https://doi.org/10.1007/s15010-015-0850-2>
- 3 Seed CR, Styles CE, Hoad VC, et al. Effect of HIV pre-exposure prophylaxis (PrEP) on detection of early infection and its impact on the appropriate post-PrEP deferral period. *Vox Sanguinis* 2021; 116: 379-387. <https://doi.org/10.1111/vox.13011>
- 4 Zucker J, Carnevale C, Rai A, et al. Positive or Not, That Is the Question: HIV Testing for Individuals on Pre-exposure Prophylaxis. *J AIDS* 2018; 78: e11-13. <https://doi.org/10.1097/QAI.0000000000001665>
- 5 Rabenau HF, Bannert N, Berger A, et al. Nachweis einer Infektion mit Humanem Immundefizienzvirus (HIV): Serologisches Screening mit nachfolgender Bestätigungsdiagnostik durch Antikörperbasierte Testsysteme und/oder durch HIV-Nukleinsäure-Nachweis. Stellungnahme der Gemeinsamen Diagnostikkommission der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung von Viruskrankheiten (DVV) und der Gesellschaft für Virologie (GfV). *Bundesgesundheitsbl* 2015; 58: 877-886. <https://doi.org/10.1007/s00103-015-2174-x>
- 6 Villalba JA, Maus MV, Frigault MJ, et al. False-Positive Human Immunodeficiency Virus Test Results in Patients Receiving Lentivirus-Based Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy: Case Report, Review of the Literature, and Proposed Recommendations. *Journal of Infectious Disease* 2022; 225: 1933-1936. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiab605>
- 7 Deutsch-Österreichische Leitlinien zur antiretroviralen Therapie der HIV-1-Infektion. 2020, 9. Auflage. Empfehlung 19. <https://daignet.de/site-content/hiv-leitlinien/leitlinien-1/deutsch-oesterreichische-leitlinien-zur-antiretroviralen-therapie-der-hiv-1-infektion>
- 8 Kijak GH, Sanders-Buell E, Pham P, et al. Next-generation sequencing of HIV-1 single genome amplicons. *Biomolecular Detection and Quantification* 2019; 17: 100080. <https://doi.org/10.1016/j.bdq.2019.01.002>
- 9 Wright IA, Delaney KE, Katusiime MGK, et al. NanoHIV: A Bioinformatics Pipeline for Producing Accurate, Near Full-Length HIV Proviral Genomes Sequenced Using the Oxford Nanopore Technology. *Cells* 2021; 10: 2577. <https://doi.org/10.3390/cells10102577>
- 10 Berg MG, Yamaguchi J, Alessandri-Gradt E, et al. A Pan-HIV Strategy for Complete Genome Sequencing. *Journal of Clinical Microbiology* 2016; 54: 868-882. <https://doi.org/10.1128/JCM.02479-15>
- 11 Hebberecht L, Vancoillie L, Schauvliege M, et al. Single genome sequencing of near full-length HIV-1 RNA using a limiting dilution approach. *Journal of Virological Methods* 2019; 274: 113737. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2019.113737>

Prof. Dr. med. Josef Eberle

Klinische Virologie, NRZ für Retroviren am Max von Pettenkofer-Institut der Universität München (LMU)

Pettenkoferstraße 9a · 80336 München

eberle@mvp.lmu.de



Ein langer Weg mit vielen Hindernissen

Eine 44-jährige Patientin wurde wegen eines subakut aufgetretenen grobschlägigen Tremors sowie allgemeiner AZ-Verschlechterung zur diagnostischen Abklärung stationär aufgenommen. Seit 2007 ist eine HIV-Infektion im Stadium C3 bei Zustand nach intravenösem Drogenkonsum bekannt. Zuletzt befand sich die Patientin unter regelmäßiger kombinierter antiretroviraler Therapie (cART) mit Raltegravir und Darunavir/Ritonavir. Ihre CD4⁺-Zellzahl ist aktuell bei 480/μl.

Bisherige Vorgeschichte (2007 bis 2019)

Beginn der cART im Oktober 2007 mit Emtricitabin/Tenofoviridisoproxilfumarat/Raltegravir bei einem CD4⁺-Nadir <100 Zellen/μl. Abbruch der Therapie aufgrund von Incompliance bzw. Verhinderung einer Therapie durch den Lebensgefährten. Wernicke-Encephalopathie bei vorbekannter Polytoxikomanie und Alkoholabusus, betreutes Wohnen.

Seit Oktober 2016 Gewichtsabnahme von ca. 8 kg, Mundsoor seit April 2017, refraktär auf lokale Behandlung. Im Juli 2017 atypische Pneumonie mit atypischen Mykobakterien (*mycobacteria-other-than-tuberculosis* = MOTT). Die Therapie der atypischen Mykobakterien erfolgte mit Rifabutin, Ciprofloxacin und Azithromycin. Umstellung der cART auf Emtricitabin/Tenofovirafenamid/Raltegravir ab August 2017 bei einer HI-Viruslast von 150 Kopien/ml und 97 CD4⁺-Zellen/μl Blut.

Ein Thorax-CT im Oktober 2017 zeigte neue Infiltrate im rechten Oberlappen flächig konfluierend und ein rückläufiges, einschmelzendes Infiltrat mit Bronchusanschluss und umgebenden neuen alveolären Veränderungen sowie Begleiterguss im linken Oberlappen. Nach Erregersicherung und Resistenzanalyse wurde ein erneuter

Therapiezyklus mit Rifabutin/Ciprofloxacin/Azithromycin gestartet. Die HI-Viruslast lag bei 770 Kopien/ml, die CD4⁺-Zellzahl bei 160/μl.

Zwischen Oktober und Dezember 2018 stieg die HI-Viruslast auf 13.800/μl an und die CD4⁺-Zellen sanken auf 73/μl. Es lagen keine Resistenzen gegen die cART vor.

Im April/Mai 2019 stieg die HI-Viruslast auf 270.000 Kopien/ml an. Ein weiterer Resistenztest offenbarte eine komplette Resistenz gegen nukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (NRTIs), bei Empfindlichkeit für nichtnukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (NNRTIs) und Protease-Inhibitoren (PIs). Es wurde erneut mit einer cART mit Raltegravir und Darunavir/Ritonavir begonnen.

Im Oktober 2019 bestand ein stagnierender Thorax-CT-Befund, eine neuerliche bronchoalveoläre Lavage war nicht auswertbar, die HI-Viruslast ergab 69 Kopien/ml. Eine Thorax-CT-Verlaufskontrolle zeigte ein leicht progredientes Infiltrat.

Aktuelle Befunde aus Bildgebung und Liquorchemie

Schädel-CT-morphologisch zeigte sich eine auffallend hypodense Darstellung des periventrikulären Marklagers, sodass wir eine

MRT ergänzten. Hier ergaben sich ausgeprägte, mit einer Encephalitis zu vereinbarende Veränderungen im supratentoriellen Marklager und im Kortex (**Abb. 1 a, b, c**). Diese Veränderungen wurden aber als nicht typisch für eine HIV-Encephalitis oder eine progressive multifokale Leukoencephalopathie (PML) bewertet.

Liquorchemisch (**Tabelle 1**, Liquorbefunde) zeigte sich eine leichtgradige lymphomonozytäre Pleozytose mit begleitender 3-Klassen-Reaktion (Erhöhung von IgG, IgA und IgM) sowie Nachweis oligoklonaler Banden, ohne Hinweis auf Schrankenstörung.

Bei der vorbestehenden HIV-Erkrankung erfolgte eine umfassende mikrobiologische sowie virologische Diagnostik inklusive der Suche nach atypischen Erregern (Aspergillose, *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum*, *Candida*, *Cryptococcus neoformans*, Histoplasmose) und Toxoplasmose, die aber keinen Erregernachweis erbrachte. Bei leicht erhöhten Serum/Liquor-AK-Indices für EBV (1,8), HSV-1 und -2 (1,7), VZV (1,4), CMV (1,4) und Toxoplasmose (2,3) bestand kein Hinweis auf eine die Symptomatik erklärende Infektion.

In der Zusammenschau aller Befunde gelang keine ätiologisch eindeutige Einordnung der Encephalitis. Auffal-

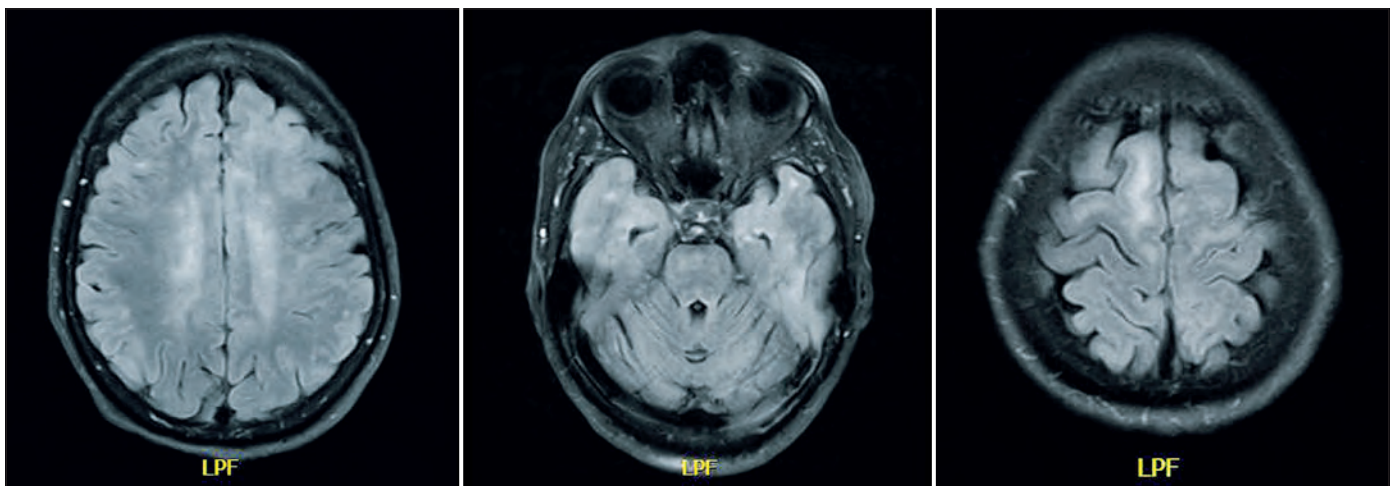


Abb. 1 a, b, c: MRT-Bilder mit eher unspezifischen T2/Flair-Hyperintensitäten.

lend war eine signifikante Differenz der HI-Viruslasten im Blut (1.000 Kopien/ml) und im Liquor (4.200 Kopien/ml) mit deutlich erhöhter Kopienanzahl im Liquor. Wir begannen eine kalkulierte anti-

infektive Therapie mit Ceftriaxon, Ampicillin sowie Aciclovir. In den im Verlauf erfolgten Re-Punktionen zeigte sich eine Abnahme der Liquor-Pleozytose.

Infektiologische Analyse

Mit 480 CD4+-Helferzellen/ μ l liegt ein relativ guter Immunstatus vor, eine zerebrale Toxoplasmose und auch ein Lymphom sind daher unwahrscheinlich. Für ein Lymphom ließ sich bisher auch kein richtungsweisender Befund bildmorphologischer oder liquorchemischer Art fassen.

Die Viruslast ist nicht unter der Nachweisgrenze, aber dennoch als eher niedrig einzustufen. Eine HIV-Encephalopathie/-Encephalitis ist bei der Liquor-Viruslast eher unwahrscheinlich. Eine HIV-assoziierte neurokognitive Störungen (HAND) tritt hauptsächlich ohne cART auf und nicht unter einer cART.

Die im Vergleich zur Blut-Viruslast erhöhte Liquor-Viruslast tritt in seltenen Fällen auch unter prinzipiell gut funktionierender ART auf und nennt sich *viral escape*. Dabei können kognitive und fokale neurologische Störungen auftreten. Durch das Korsakow-Syndrom und die Wernicke-Encephalopathie sind die Symptome im Fall unserer Patientin zusätzlich schwierig zu objektivieren.

Tabelle 1: Liquorbefunde

Liquorbefunde	Normwerte	03.05.2022	12.05.2022	21.07.2022
Zellen/ μ l	< 5	11,78	6,12	3,41
Lymphozytenanteil (%) aktiviert (%)	< 75 < 5	85 8	76 12	99 < 5
Gesamteinweiß mg/l	< 500	616,9	594,5	525,5
Albuminquotient (L/S x 10^{-3})	< 5 bis 10	4,2	5,1	3,8
Immunglobulinsynthese IgM, IgG, IgA	nein	ja	ja	ja
Laktat (mmol/l)	0,9 bis 2,7	2,2	1,6	1,6
Glukosequotient L/S	> 0,5	0,64	0,3	0,62
virale Nukleinsäuren (EBV, CMV, Adenovirus, HSV1/2, VZV, Enterovirus, Parechovirus, HHV6/7, JC-Virus)	kein Nachweis	kein Nachweis	kein Nachweis	kein Nachweis
bakterielle Kultur	kein Nachweis	kein Nachweis	kein Nachweis	kein Nachweis

Tabelle 2: Resistenzbefunde

Substanz	RNA aus:	Blutplasma 2017	Blutplasma 2018	Blutplasma 2022	Liquor 2022
Doravirin		empfindlich	empfindlich	empfindlich	empfindlich
Efavirenz		empfindlich	empfindlich	empfindlich	empfindlich
Etravirin		empfindlich	empfindlich	empfindlich	empfindlich
Nevirapin		empfindlich	empfindlich	empfindlich	empfindlich
Rilpivirin		empfindlich	empfindlich	empfindlich	empfindlich
Abacavir		empfindlich	resistent	empfindlich	empfindlich
Emtricitabin/Lamivudin		empfindlich	resistent	empfindlich	empfindlich
Stavudin		empfindlich	resistent	empfindlich	empfindlich
Tenovofir		empfindlich	resistent	empfindlich	empfindlich
Zidovudin		empfindlich	empfindlich	empfindlich	empfindlich
Atazanavir		empfindlich	empfindlich	empfindlich	empfindlich
Darunavir		empfindlich	empfindlich	empfindlich	empfindlich
Fosamprenavir		empfindlich	empfindlich	empfindlich	empfindlich
Lopinavir		empfindlich	empfindlich	empfindlich	empfindlich
Saquinavir		empfindlich	empfindlich	empfindlich	empfindlich
Tipranavir		empfindlich	empfindlich	empfindlich	empfindlich
Bictegravir		n.d.	n.d.	kein Ergebnis	resistent
Cabotegravir		n.d.	n.d.	kein Ergebnis	resistent
Dolutegravir		n.d.	n.d.	kein Ergebnis	resistent
Dolutegravir_BID		n.d.	n.d.	kein Ergebnis	resistent
Elvitegravir		n.d.	n.d.	kein Ergebnis	resistent
Raltegravir		n.d.	n.d.	kein Ergebnis	resistent
n.d. = nicht durchgeführt					

Das weitere Vorgehen

Es erfolgte daher die Resistenzbestimmung aus Blut und Liquor zur Einschätzung der aktuellen Wirksamkeit der antiretroviralen Therapie sowie die Erweiterung der cART um Zidovudin/Lamivudin bei suffizienter ZNS-Penetration (Tabelle 2, Resistenzbefunde, S.9). Die Therapie mit Integrase-Inhibitoren ist zumindest im Liquorraum nicht mehr wirksam. Neben der bereits begonnenen Intensivierung mit Zidovudin/Lamivudin ist an ein Recycling von NRTIs und NNRTIs zu denken, da diesbezüglich derzeit keine Resistenzen nachweisbar waren.

Differentialdiagnostisch war auch eine infektiöse Genese durch opportunistische Keime nicht auszuschließen, hierfür sprach die Regredienz der Pleozytose unter anti-infektiver Therapie.

Bezüglich der gebotenen fokal- bzw. herd-neurologischen Symptomatik erfolgte zunächst die medikamentöse Einstellung auf Valproat, welche im weiteren Verlauf bei insuffizienter Wirksamkeit auf Clonazepam umgestellt wurde. Hierunter zeigte sich eine deutliche Abnahme des Tremors. Ein langsames Ausschleichen des Valproats wurde empfohlen.

Die antikoagulative Therapie mit Edoxaban bei nachgewiesener Lungenarterienembolie setzten wir fort. Die Antikoagulation soll für mindestens sechs Monate fortgeführt werden, anschließend ist eine klinische Re-Evaluation empfohlen.

Die Patientin zeigte sich während des stationären Verlaufs stets kreislaufstabil ohne Hinweise für eine respiratorische Insuffizienz. So konnten wir am 3. Juni 2022 die Patientin in einem stabilen Allgemeinzustand und kognitiven Vorzustand in die pflegerische Einrichtung entlassen. Zum

Entlassungszeitpunkt zeigte sich der Tremor deutlich regredient.

Abschließende Vorstellung

Im Verlauf kam es zur elektiven stationären Wiederaufnahme der Patientin mit klinischer und diagnostischer Re-Evaluation. Hier zeigte sich sowohl liquorchemisch (am 21. Juli 2022) als auch klinisch ein deutlich gebesserter Zustand mit vollständiger Regredienz des Tremors, mit Besserung des Allgemeinzustands, der Orientierung und der Mobilität. Liquorchemisch war keine Pleozytose mehr nachweisbar. Es besteht weiterhin eine autochthone Antikörperproduktion im Sinne einer 3-Klassen-Reaktion (Abb.2) und dem Nachweis oligo-klonaler Banden, welche als Zustand nach einer viralen Enzephalitis deutbar sind. Die weiterführende mikrobiologische Diagnostik insbesondere zur Frage der HI-Viruslast in Blut und Liquor ist zum Zeitpunkt dieser Falldarstellung noch ausstehend.

Zusammenfassend zeigt dieser Fall insbesondere die Notwendigkeit einer ergänzenden liquorchemischen Diagnostik bei Patienten mit neu aufgetretenen neurokognitiven Symptomen bei gleichzeitig vorliegender HIV-Erkrankung. Auch bei serologischer Wirksamkeit der antiretroviralen Therapie ist ein zerebraler Befall im Sinne eines *viral escape* differentialdiagnostisch zu diskutieren. Die Etablierung einer medikamentösen Therapie mit hoher ZNS-Penetration ist dann das Mittel der Wahl.

Die HIV-Enzephalitis ist eine Erkrankung mit mannigfaltigen neurokognitiven Symptomen, variabler liquorchemischer Präsentation und nicht immer eindeutiger bildmorphologischer Präsentation (siehe hierzu auch die unspezifischen MR-Hyperintensitäten in Abb. 1a, b, c).

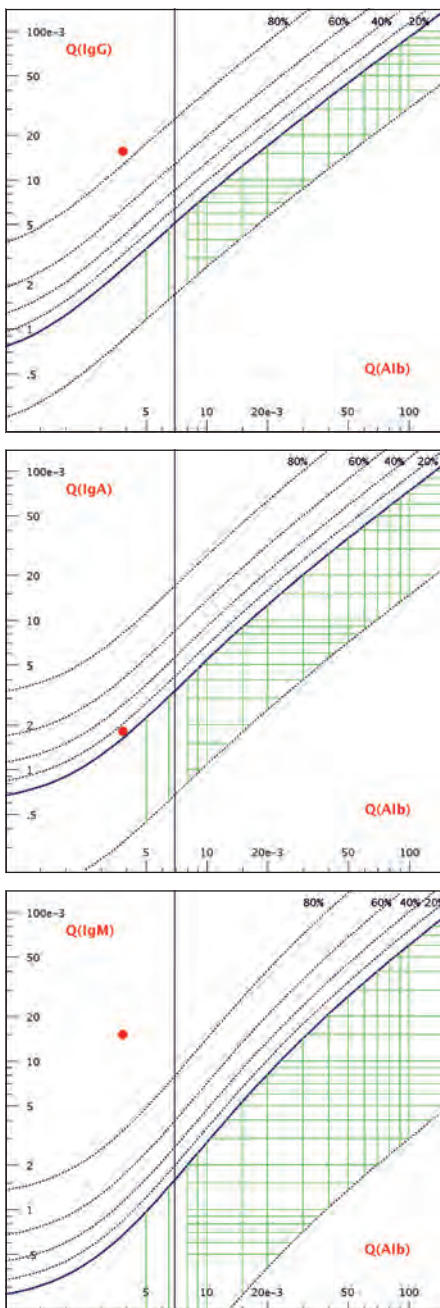


Abb. 2: Blut-Liquor-Quotient nach Reiber, 3-Klassen-Reaktion.

Manchmal treten auch diskordante Resistenzen auf, sodass hier eine Resistenzbestimmung aus dem Liquor möglicherweise aufschlussreich ist. Eine Therapieoptimierung könnte nur durch bessere Liquorgängigkeit der Einzelsubstanzen erfolgen. Hier liegt mit einem Integrase-Inhibitor und einem PI schon eine gute Option vor. Mit NRTIs und NNRTIs wird man aufgrund des früheren Resistenzprofils eher zurückhaltend sein, so dass insgesamt wenig Spielraum gegeben ist. Präferiert wäre diesbezüglich Dolutegravir statt Raltegravir (CNS-Penetration, score-Kategorie 4). Darunavir/Ritonavir sollte belassen werden, jedoch sind hier Interaktionen mit Quetiapin beschrieben und die gleichzeitige Gabe nicht empfohlen, da es zu Anstiegen der Quetiapin-Dosis kommen kann.

Franziska Schrapel
Assistenzärztin für Neurologie I

Universitätsklinikum Halle

Ernst-Grube-Straße 40 · 06120 Halle

franziska.schrapel@uk-halle.de



Prof. Dr. med. Josef Eberle

Klinische Virologie, NRZ für Retroviren
am Max von Pettenkofer-Institut
der Universität München (LMU)

Pettenkoferstraße 9a · 80336 München

eberle@mvp.lmu.de



Mit Gentherapie zur Heilung von HIV?

Eine HIV-Infektion bedeutet für Betroffene auch heute noch eine lebenslange Herausforderung. Trotz der inzwischen guten Therapiemöglichkeiten ist der Wunsch nach einer Heilung von HIV noch immer hochaktuell. In den vergangenen Jahrzehnten gab es verschiedene Ansätze, beispielsweise mit Immuntherapien oder Impfungen, eine Heilung zu ermöglichen, allerdings ohne nachhaltigen Erfolg [1, 2]. Seit einigen Jahren ist der Begriff »Gentherapie« vereinzelt im klinischen Alltag sowie auch vermehrt in der Forschung zu hören. Wäre dies nicht ein neuer Ansatz, HIV endgültig zu heilen? Und was bedeutet Gentherapie eigentlich?

Gentherapie und HIV-Antikörper

Der wissenschaftliche Dienst des Deutschen Bundestages beschreibt Gentherapie als einen Versuch »[...] durch die Veränderung der Erbinformationen eines Menschen genetisch bedingte Krankheiten zu behandeln oder diesen vorzubeugen.« [3]. Betont wird hierbei die Behandlung von genetisch bedingten, also angeborenen Erkrankungen, zu denen HIV als Infektionskrankheit definitionsgemäß nicht gehört. Dennoch könnten die Werkzeuge der Gentherapie auch bei der Behandlung von Infektionskrankheiten nützlich sein. Eine Arbeitsgruppe in Tel Aviv unter der Leitung von Dr. Barzel hat vor kurzem eine Arbeit hierzu in einem Mausmodell veröffentlicht, die ich Ihnen gerne näher vorstellen möchte [4]:

Die Veröffentlichung verfolgt den Ansatz, den mauseigenen Immunzellen, genauer gesagt den B-Zellen, einen Bauplan für die Produktion von anti-HIV-Antikörpern zur Verfügung zu stellen und diesen im Genom der Zellen zu verankern. Der hier verwendete Antikörper mit Namen 3BNC117 hat bereits in anderen Studien einen starken antiviralen Effekt bei einer HIV-1-Infektion gezeigt, indem er mit der CD4-Bindungsstelle des HIV-1-Hüllproteins interagiert [5]. Ein Problem von anti-HIV-Antikörpern – oder auch »breit neutralisierenden Antikörpern« (bNAbs) – ist die Halbwertszeit, die beispielsweise für 3BNC117 bei etwa 16 Tagen liegt, wodurch eine sich wiederholende Injektion unumgänglich ist [6]. Nur durch die feste Verankerung in der DNA der Immunzellen würde der Körper des Patienten jedoch selbstständig in der Lage sein, solche bNAbs zu produzieren und eine Dauertherapie obsolet machen. Notwendig hierfür ist jedoch eine Veränderung des Genoms der B-Zellen, welche Nahmed et al. [4] mithilfe der Werkzeuge der Gentherapie durchgeführt haben. Sie injizierten den Mäusen Vektoren, welche zum einen für das Enzym Cas9 und die passende gRNA kodieren sowie zum anderen die Gensequenz, also den Bauplan, für den Antikörper

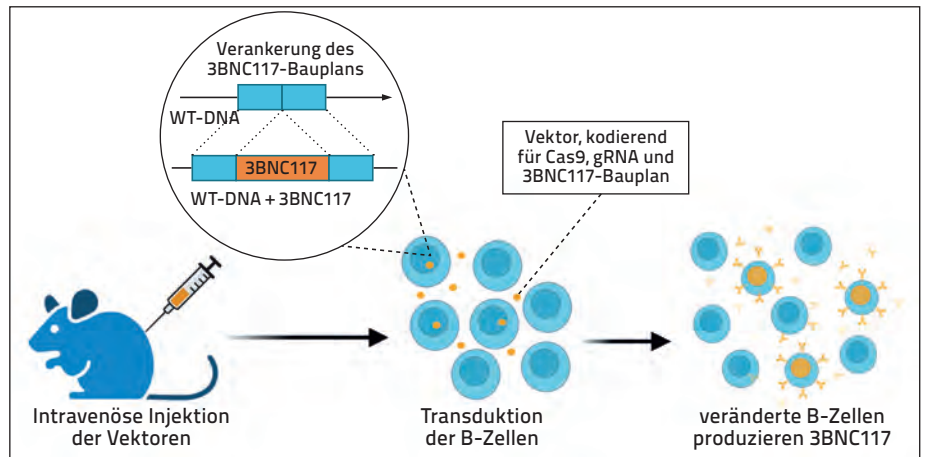


Abb. 1: In der Studie von Nahmad et al. [4] wurde den Mäusen ein Mix aus Vektoren injiziert, die entweder für das Enzym Cas9 und die passende gRNA kodieren oder die Gensequenz für den Antikörper 3BNC117 beinhalten. Falls die Transduktion der B-Zellen und der Einbau der Gensequenz erfolgreich war, produzieren diese den Antikörper 3BNC117; WT = Wildtyp. (erstellt mit biorender.com).

per 3BNC117 enthalten. Das Enzym Cas9 ist eine Endonuklease und in der Lage, gezielt Schnitte in der DNA der Zellen zu setzen; die gRNA ist notwendig, damit dies nur an gewünschten Stellen im Erbgut passiert und leitet hierfür Cas9 zu der zuvor geplanten Stelle im Genom [7]. In unserem Fall ist dies der IgH-Lokus, eine wichtige Stelle für die Produktion von Antikörpern. Wenn nun ein Schnitt in der DNA auftritt, versuchen zelleigene Mechanismen diesen zu reparieren. Dabei kann es dazu kommen, dass der Antikörperbauplan miteingebaut und fest im Genom der Zelle verankert wird. In der Theorie wären die Zellen nun bereit, selbstständig 3BNC117 zu produzieren (**Abb. 1**) und so eine HIV-Infektion zu bekämpfen.

In der Praxis konnte die Arbeitsgruppe von Dr. Barzel 130 Tage nach der Injektion tatsächlich deutliche Spiegel des Antikörpers im Blut der Mäuse nachweisen, wobei etwa 0,5% aller B-Zellen im Körper der Maus diesen Antikörper am Ende produzierten. Ob diese Antikörper nun in der Lage wären, eine HIV-Infektion zu bekämpfen, bleibt jedoch offen, da das klassische Mausmodell leider nicht die Möglichkeit einer HIV-Infektion bietet.

Ausblick

Die Arbeitsgruppe von Dr. Barzel konnte eindrucksvoll zeigen, dass es möglich ist, B-Zellen im lebenden Organismus genetisch gezielt zu manipulieren und sie in »3BNC117-Produzenten« zu verwandeln. Doch bedeutet dies auch, dass Gentherapie eine Heilung von HIV bringen wird? Trotz der eindrucklichen Ergebnisse scheint bisher erst ein kleiner Schritt zur Therapie von HIV mithilfe der Werkzeuge der Gentechnik gegangen worden zu sein. Als nächster Schritt muss wohl ein ähnliches Experiment in einem HIV-suszeptiblen Tiermodell durchgeführt werden, um zu beweisen, dass die körpereigen produzierten Antikörper einen starken und langfristigen antiviralen Effekt haben. Zudem müsste auch die Sicherheit der Therapie näher unter die Lupe genommen werden, um möglichen Nebenwirkungen vorzubeugen. Bei Therapien, die auf eine Veränderung des Genoms abzielen, stellt sich insbesondere die Frage nach *off-target effects*. Diese beschreiben Veränderungen im Genom an nicht gewünschten Stellen, die potenzielle Nebenwirkungen auslösen können. In der vorgestellten Ver-

öffentlichung wurden solche zwar untersucht, allerdings noch nicht in einer Tiefe, die notwendig für eine Therapie am Menschen wäre. Erst danach könnte eine mögliche klinische Studie mit menschlichen Probanden in Betracht gezogen werden.

An dieser Stelle sollte eine weitere Studie erwähnt werden, die 2019 ebenso eine Therapie mit körpereigen produzierten Antikörpern entwickeln wollte [8]. Priddy et al. nutzten den Antikörper PG9, welcher ebenso wie 3BNC117 als bNAb bezeichnet wird. Die Intention dieser Studie war jedoch nicht eine feste Integration des Bauplans für PG9 in das Genom der Zellen. Stattdessen nutzte sie einen Vektor, der lediglich den Bauplan für PG9 beinhaltet, ohne weitere Faktoren wie Cas9 oder eine gRNA. Im Gegensatz zu der oben vorgestellten Studie aus Tel Aviv konnte sie jedoch bereits an menschlichen Probanden durchgeführt werden, allerdings mit ernüchterndem Ergebnis. Obwohl kaum Nebenwirkungen beschrieben wurden, konnte in keinem der Probanden der Antikörper nachgewiesen werden und nur das Serum von zwei aus 16 Probanden zeigte eine neutralisierende Wirkung gegen wenige HIV-Stämme.

Dies sollte jedoch nicht dazu führen, den Ansatz von Dr. Barzel vorschnell aufzugeben, da durch eine feste Integration im Genom der B-Zellen stärkere und vielschichtigere antivirale Effekte zu erwarten sind. Ohne ins Detail gehen zu wollen, seien Begriffe wie »somatische Hypermutation«, »klonale Selektion« sowie »immunologisches Gedächtnis« zu erwähnen, die alle einen positiven Effekt auf die antivirale Immunantwort versprechen. All diese Effekte wurden in der Publikation von Dr. Barzel im Tiermodell dargestellt, wodurch sein Ansatz einen möglicherweise entscheidenden Vorteil gegenüber bisherigen Versuchen zu beinhalten scheint.

Auch wenn dieser Ansatz der Gentherapie in Zukunft keine Heilung von HIV verspricht, scheinen ihre Werkzeuge nützlich für neue Therapieoptionen zu sein, z.B. um langfristig ohne die Einnahme antiretroviraler Medikamente auszukommen. Neben der Fokussierung auf eine körpereigene Produktion von bNAbs können diese neuen Instrumente auch viele weitere Therapiean-

sätze unterstützen. Einer dieser weiteren Ansätze ist beispielsweise die Idee, das Enzym Cas9 zu nutzen, um bereits integrierte HIV-1-Sequenzen aus dem Genom wieder herauszuschneiden. In der Theorie könnte dies zu einer Zerstörung des viralen Reservoirs führen und einen Virus-Rebound nach Beendigung der antiretroviralen Therapie verhindern [9].

Fazit

In den letzten Jahren haben sich viele neue Ansätze zur Heilung von HIV ergeben, insbesondere die neuen Methoden der Gentechnik scheinen hierbei eine große Rolle gespielt zu haben. Ob sich daraus auch die langersehnte Heilung von HIV ergibt, wird die Zukunft zeigen.

Quellen

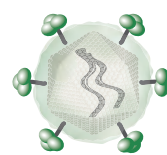
- 1 Wahren B, Liu M. Therapeutic vaccination against HIV. *Expert Review of Vaccines* 3, 179-188 (2004).
<https://doi.org/10.1586/14760584.3.4.S179>
- 2 Margolis DM et al. Curing HIV: Seeking to Target and Clear Persistent Infection. *Cell* 181, 189-206 (2020).
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.03.005>
- 3 Wissenschaftlicher Dienst, Bundestag
<https://www.bundestag.de/resource/blob/852226/d37bc32fab0a37e0c6009d2e-93d2a075/WD-9-116-20-pdf-data.pdf> (2021)
- 4 Nahmad AD et al. In vivo engineered B cells secrete high titers of broadly neutralizing anti-HIV antibodies in mice. *Nature Biotechnology* (2022).
<https://doi.org/10.1038/s41587-022-01328-9>
- 5 Johannes HM, Scheid F et al. Sequence and Structural Convergence of Broad and Potent HIV Antibodies That Mimic CD4 Binding. *Science* 333 (2011).
<https://doi.org/10.1126/science.1207227>
- 6 Cohen YZ et al. Safety, pharmacokinetics, and immunogenicity of the combination of the broadly neutralizing anti-HIV-1 antibodies 3BNC117 and 10-1074 in healthy adults: A randomized, phase 1 study. *PLOS ONE* 14 (2019).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219142>
- 7 Mali P, Esvelt KM, Church GM. Cas9 as a versatile tool for engineering biology. *Nature Methods* 10, 957-963 (2013).
<https://doi.org/10.1038/nmeth.2649>
- 8 Priddy FH et al. Adeno-associated virus vectored immunoprophylaxis to prevent HIV in healthy adults: a phase 1 randomised controlled trial. *The Lancet HIV* 6, 230-239 (2019).
[https://doi.org/10.1016/S2352-3018\(19\)30003-7](https://doi.org/10.1016/S2352-3018(19)30003-7)
- 9 Sheykhsan M et al. Could gene therapy cure HIV? *Life Sci* 277, 119451 (2021).
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119451>

cand. med. Adrian Ruhle

Virologie, NRZ für Retroviren
am Max von Pettenkofer-Institut
der Universität München (LMU)

Fedor-Lynen-Straße 23 · 81377 München

ruhle@mvp.lmu.de



NRZ Retroviren
München



IMPRESSUM

Herausgeber:

Nationales Referenzzentrum für Retroviren
Max von Pettenkofer-Institut
Ludwig-Maximilians-Universität München

Leitung:

Prof. Dr. med. Oliver T. Keppler
FA für Medizinische Mikrobiologie, Virologie
und Infektionsepidemiologie

Koordinator Diagnostik:

Prof. Dr. med. Josef Eberle

Koordinatoren Öffentlichkeitsarbeit:

Prof. Dr. med. Oliver T. Keppler
Prof. Dr. med. Josef Eberle

Koordinator Retroviren Bulletin:

Dr. rer. nat. Natascha Grzimek-Koschewa

Kontakt:

Max von Pettenkofer-Institut · Hauptgebäude
Pettenkoferstr. 9a · 80336 München

Tel.: +49 89 / 21 80 - 7 28 35

E-Mail: nrzretroviren@mvp.lmu.de

► <http://www.mvp.uni-muenchen.de/nationales-referenzzentrum-fuer-retroviren/>

Grafische Gestaltung:

www.grafikstudio-hoffmann.de

Druck: www.stoba-druck.de

THEMEN DER NÄCHSTEN AUSGABE*

- Nachweis von HIV-1-RNA ohne HIV-Infektion
- Interessante klinische Fälle

* Änderungen vorbehalten

WIR DANKEN



dem Robert Koch-Institut,
dem Bundesministerium für Gesundheit (BMG)
und dem Förderverein Infektionsmedizin
München e.V., die die Arbeit des NRZ fördern,

sowie folgenden Firmen
für ihre freundliche Unterstützung:



Roche Diagnostics
Deutschland GmbH



Abbott
GmbH & Co. KG



Gilead Sciences
GmbH



EUROIMMUN
Medizinische Labor-
diagnostika AG



Cepheid
GmbH



DiaSorin
Deutschland GmbH