

Aus dem Robert Koch-Institut,  
Abteilung für Infektionsepidemiologie

DISSERTATION

Erweiterte Surveillance von HIV-Infektionen -  
Enhanced HIV Surveillance

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor rerum medicinalium (Dr. rer. medic.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Alexandra Hofmann, MPH

aus Dresden

Datum der Promotion: 03.12.2021

# Inhaltsverzeichnis

|   |     |
|---|-----|
| Abkürzungsverzeichnis .....   | 3   |
| 1. Zusammenfassung der Publikationspromotion.....                                     | 4   |
| 1.1. Abstrakt (Deutsch).....  | 4   |
| 1.2. Abstract (Englisch) .....  | 5   |
| 1.3. Einleitung.....  | 6   |
| 1.4. Methoden .....   | 12  |
| 1.5. Ergebnisse.....  | 15  |
| 1.6. Diskussion und Schlussfolgerung.....   | 18  |
| 1.7. Literaturverzeichnis .....   | 25  |
| 2. Eidesstattliche Versicherung.....  | 31  |
| 3. Anteilserklärung an den erfolgten Publikationen.....                               | 32  |
| 4. Originalarbeiten als Promotionsleistung .....                                      | 34  |
| Publikation 1 .....   | 34  |
| Publikation 2 .....   | 48  |
| Publikation 3 .....   | 57  |
| Publikation 4 .....   | 76  |
| 5. Lebenslauf.....  | 86  |
| 6. Publikationsliste .....  | 88  |
| 6.1. Publikationen in wissenschaftlichen Zeitschriften im Peer-Review Verfahren ..... | 88  |
| 6.2. Weitere Publikationen.....   | 90  |
| 6.3. Zitierfähige wissenschaftliche Beiträge (Veranstaltungen mit Tagungsband).....   | 91  |
| 6.4. Weitere wissenschaftliche Beiträge .....   | 98  |
| 7. Danksagung.....  | 100 |

## Abkürzungsverzeichnis

|             |  |
|-------------|--|
| AIDS        | Acquired Immune Deficiency Syndrome  |
| ART         | antiretrovirale Therapie   |
| BED-CEIA    | BED HIV-1 Capture enzyme immunoassay   |
| CD4         | cluster of differentiation 4   |
| COMET       | Context-based Modeling for Expeditious Typing  |
| CRF         | Circulating Recombinant Form   |
| DFS         | Filterpapierproben mit Dried fluid spots   |
| EBM         | einheitliche Bewertungsmaßstab   |
| ECDC        | Europäische Zentrum für die Prävention und die Kontrolle von Krankheiten             |
| ELISA       | enzyme linked immunosorbent assay  |
| et al.      | und andere   |
| FLTR        | false longterm rate  |
| GOP         | Gebührenordnungsposition   |
| HET         | Personen mit heterosexuellen Kontakten   |
| HIV         | Humane Immundefizienz-Virus  |
| IfSG        | Infektionsschutzgesetz   |
| IgG         | Immunglobuline G   |
| INSTI       | integrase strand transfer inhibitors   |
| InzSurv-HIV | Surveillance von rezenten HIV-Infektionen  |
| KI          | Konfidenzintervall   |
| MSM         | Männer, die Sex mit Männern haben  |
| NGS         | next generation sequencing   |
| NNRTI       | Nichtnukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren                                |
| NRTIs       | Nukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren                                     |
| Odn         | normalisierte optische Dichte  |
| OR          | Odds Ratio   |
| PCR         | Polymerase-Kettenreaktion  |
| PI          | Proteaseinhibitoren  |
| PrEP        | HIV-Prä-Expositions-Prophylaxe   |
| RKI         | Robert Koch-Institut   |
| RNA         | Ribonukleinsäure   |
| TDR         | transmitted drug resistance  |
| USA         | Vereinigten Staaten von Amerika  |
| WHO         | Weltgesundheitsorganisation  |
| Zi          | Zentralinstitut für die kassenärztliche Versorgung in der Bundesrepublik Deutschland |

# 1. Zusammenfassung der Publikationspromotion

## 1.1. Abstrakt (Deutsch)

**Einleitung:** Ende 2018 lebten weltweit 37,9 Millionen Menschen mit einer HIV-Infektion und etwa 1,7 Millionen Menschen hatten sich geschätzt 2018 mit HIV infiziert. Die Strategie der Weltgesundheitsorganisation aus dem Jahr 2016 hat das Ziel, AIDS (Acquired Immune Deficiency Syndrome) bis 2030 zu beenden. Daher ist es wichtig sicherzustellen, dass 90% der HIV-Infizierten, ihren Status kennen und 90% der diagnostizierten therapiert werden und davon 90% das Virus unterdrücken können („90-90-90-Strategie“). Um diese Ziele zu überwachen wurden für die HIV-Surveillance in Deutschland neben der gesetzlichen Meldepflicht von HIV-Diagnosen weitere Bausteine aufgebaut. Dazu zählt u.a. die Überwachung von rezenter HIV-Infektionen (InzSurv-HIV) und die molekulare Surveillance von rezenter HIV-Infektionen. Es wurde eine neue Methode zur Ermittlung von Personen die auf HIV getestet wurden und somit ihren HIV-Status kennen, geprüft.

**Methoden:** Für InzSurv-HIV wurden Filterpapierproben mit getrockneten Blutstropfen (DFS) von neudiagnostizierten HIV-Fällen gesammelt, um diese auf rezente HIV-Infektionen zu untersuchen. Die Filterpapierproben wurden zusätzlich dazu genutzt um das Virus zu sequenzieren und den HIV-Subtyp zu bestimmen sowie auf erworbene medikamentöse Resistenzen (TDR) zu untersuchen. Mithilfe von Abrechnungsdaten des Zentralinstituts der kassenärztlichen Vereinigungen (Zi) wurde die Anzahl der Personen ermittelt, bei denen ein HIV-Test im niedergelassenen Bereich durchgeführt wurde und daher ihren HIV-Status kennen.

**Ergebnisse:** Bei den HIV-Neudiagnosen mit DFS lag der Anteil der rezenter HIV-Infektionen zwischen 2008 und 2014 bei 30,1% (95% KI 29,2%-31,0%). Der Anteil der rezenter HIV-Infektionen war am höchsten bei Männern, die Sex mit Männern hatten (35,0%, MSM). Unter 809 2013 und 2014 sequenzierten rezenter HIV-Infektionen lag der Anteil der TDR bei 10,8%. Der HIV-Subtyp B wurde am häufigsten (77,0%), gefolgt vom HIV-Subtyp A (5,1%), festgestellt. Im Zeitraum von 2013 - 2016 sank der Anteil rezenter HIV-Infektionen mit dem HIV-Subtyp B, wohingegen der HIV-Subtyp A anstieg. Der Anteil der TDR lag in diesem Zeitraum bei 11,0%. Zwischen 864.065 Personen (in 2011) und 999.465 Personen (in 2015) wurden im Zeitraum von 2010 und 2015 jährlich auf HIV im niedergelassenen Bereich getestet.

**Diskussion und Schlussfolgerung:** Es konnten erfolgreich weitere Bausteine der HIV-Surveillance in Deutschland eingeführt werden. Durch die Nutzung von Routinedaten des Zi konnte erstmalig

die Anzahl der durchgeführten HIV-Tests bei Personen im niedergelassenen Bereich bundesweit ermittelt werden.

## **1.2. Abstract (Englisch)**

Title: Enhanced HIV Surveillance

**Background:** About 37.9 million people lived worldwide with an HIV-Infection in 2018, about 1.7 million were newly infected in 2018. The World Health Organisation adopted a new strategy in 2016 with the goal to eliminate AIDS (Acquired Immune Deficiency Syndrome) until 2030. This goal is achieved if 90% of those living with HIV know their diagnosis, 90% of persons diagnosed with HIV receive a therapy and from those about 90% are virally suppressed. To reach these goals the surveillance for HIV in Germany was enhanced with a surveillance of recent HIV-Infections (InzSurv-HIV), molecular surveillance of HIV and new methods were developed to establish the number of persons tested, in addition to the regular notification of HIV diagnosed cases.

**Methods:** For InzSurv-HIV dried filter spots were collected from newly diagnosed HIV cases and tested for recent HIV infections. The dried filter spots were also used for sequencing to identify HIV Subtypes and to analyse the transmitted drug resistances (TDR) by recent HIV infections. By using reimbursement data from statutory health insurances from the central research institute of ambulatory health care (Zi) the number of persons with HIV tests can be estimated for ambulatory care.

**Results:** Between 2008 and 2014 about 30.1% of the newly diagnosed HIV cases with dried filter spots were recently infected. The highest percentage of recent HIV infections could be found among men who had sex with men (31.7%). From 809 successfully sequenced recent HIV-Infections (2013 - 2014) the TDR was 10.8%. HIV-Subtype B (77.0%) was common among recent HIV-Infections, followed by Subtype A (5.1%). Between 2013 - 2016 the percentage of subtype B decreased and subtype A increased slightly. During the same time period TDR was 11.0%. About 864,065 to 999,465 persons received annually an HIV test between 2010 and 2015.

**Discussion and Conclusion:** To enhance the HIV Surveillance different additional modules could be successfully introduced in Germany. For the first time, the number of persons with HIV tests in ambulatory care could be established by using routine data provided by Zi.

### **1.3. Einleitung**

Weltweit lebten Ende 2018 37,9 Millionen Menschen mit einer HIV-Infektion und es wird geschätzt, dass etwa 1,7 Millionen Menschen sich in 2018 neu mit HIV infiziert haben (1). Für Europa schätzt das „Europäisches Zentrum für die Prävention und die Kontrolle von Krankheiten“ (ECDC), dass 2018 etwa 2.165.454 Menschen in Europa mit HIV lebten und davon etwa 1.724.600 (80%) von ihrer Infektion wussten (2). Für Deutschland schätzte das Robert Koch-Institut (RKI), dass in Deutschland Ende 2018 etwa 87.900 (81.600 - 93.000) Menschen mit HIV lebten und davon etwa 77.300 (71.300 - 82.800), also 87,9% der Infizierten, von ihrer HIV-Infektion wussten (3).

#### **Humanes Immundefizienz-Virus (HIV)**

HIV-Infektionen sind von Mensch zu Mensch, durch Blut oder andere infektiöse Körperflüssigkeiten übertragbar. Häufigster Übertragungsweg sind dabei ungeschützte Sexualekontakte. HIV greift das Immunsystem des Körpers, speziell die weißen Blutkörperchen (CD4 Zellen), an und zerstört diese Zellen und schwächt damit das Immunsystem. Der Verlauf der HIV-Infektion wird in 3 verschiedene Stadien eingeteilt, ausgehend von einer akuten Infektion gefolgt von einem symptomarmen Stadium, welches Monate oder Jahre andauern kann. Bei allen Infizierten erfolgen allerdings irreversible Störungen der Immunabwehr, die im Endstadium der HIV-Infektion als AIDS (Acquired Immune Deficiency Syndrome) bezeichnet wird und ohne Therapie zum Tod führte (4).

Eine HIV-Infektion kann nicht geheilt werden. Durch eine antiretrovirale Kombinationstherapie kann jedoch die Entstehung eines klinisch relevanten Immundefektes und der daraus folgenden Komplikationen verhindert werden (4). Für die antiretrovirale Therapie einer HIV-Infektion werden unterschiedliche Wirkstoffe miteinander kombiniert, die u.a. verschiedenen Medikamentenklassen zugeordnet werden. Das Virus entwickelt unter dem antiretroviralen Selektionsdruck Resistenzen gegen die einzelnen Wirkstoffe und diese resistenten Virusvarianten können bei einer HIV-Infektion übertragen werden. Um eine HIV-Infektion gut zu therapieren, ist eine regelmäßige Kontrolle der Viruslast sowie des Immunstatus mit einer eventuellen Anpassung der Therapie erforderlich (4).

Der Nachweis einer HIV-Infektion erfolgt im Rahmen einer Stufendiagnostik durch zwei unterschiedliche Verfahren: dem Suchtest (meist ein ELISA- enzyme linked immunosorbent assay) zum Nachweis spezifischer Antikörper, gefolgt von einem Bestätigungstest (Immunoblot

oder Nukleinsäure-Amplifikations-Test z.B. durch eine Polymerase-Kettenreaktion - PCR), als Nachweis von Virusantigen oder viralen Nukleinsäuren (5).

Um die Übertragung von HIV-Infektionen zu verhindern, ist somit eine gute Therapie der HIV-Infizierten notwendig. Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) hat 2016 eine globale HIV-Strategie veröffentlicht mit dem Ziel, AIDS bis 2030 zu beenden und die Anzahl der HIV-Neuinfektionen zu reduzieren (6). Sie enthält auch Ziele, die bis 2020 erreicht werden sollen. Dazu gehört die Sicherstellung, dass 90% aller Personen, die mit HIV infiziert sind, ihren HIV-Status kennen, somit auf HIV getestet wurden. Sowie das von den HIV diagnostizierten Personen 90% eine Therapie erhalten und davon 90% eine niedrige Viruslast (unter der Nachweisgrenze) haben (6). Mit einer frühzeitig initiierten und lebenslangen Therapie kann sich das individuelle Immunsystem der erkrankten Person besser regenerieren und eine Übertragung auf andere Personen kann damit verhindert werden (6, 7).

Für das Erreichen der in der WHO Strategie beschriebenen Ziele ist es daher wichtig, die HIV-Infektionen eines Landes zu beschreiben und zu überwachen. Dies kann durch die Surveillance von HIV-Infektionen gewährleistet werden.

### **Surveillance von HIV-Infektionen**

Surveillance ist die kontinuierliche, systematische Erhebung von Daten in einer definierten Bevölkerung, sowie deren Analyse und Interpretation mit dem Ziel, Public Health-Maßnahmen entsprechend planen, implementieren und evaluieren zu können (8). Wörtlich bedeutet dabei Surveillance Überwachung bzw. Beobachtung. Ziel der Surveillance von Infektionskrankheiten ist es valide, zeitnahe, regional gegliederte Daten zu erheben und diese über verschiedene Regionen und die Zeit vergleichen zu können (8). Ein weiteres Ziel der Surveillance von Infektionskrankheiten ist neben der Evaluation von Präventions- und Interventionsmaßnahmen, die Ausbruchserkennung und die Identifikation von Risikogruppen (8).

In Deutschland erfolgt die Surveillance von Infektionskrankheiten durch eine passive Datenerfassung. Sie basiert auf einer gesetzlichen Meldepflicht (Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen, Infektionsschutzgesetz - IfSG) (9).

HIV gehört zu den meldepflichtigen Erregern, die nichtnamentlich (anonym) direkt vom Labor ans RKI gemeldet werden müssen (§7.3 IfSG), dabei ist der direkte oder indirekte Nachweis einer HIV-Infektion meldepflichtig (9). Die Meldung erfolgt postalisch mit einem vom RKI entworfenen

Meldebogen, der eine fortlaufende Nummer enthält. Der HIV-Meldebogen erfasst alle im Gesetz geforderten Informationen zu einem positiven HIV-Fall (§10 IfSG) (9). Auf dem HIV-Meldebogen wird beispielsweise nach dem Diagnosedatum, Informationen zum Fall sowie zu Laboruntersuchungen gefragt. Um zu vermeiden, dass ein Fall mehrmals gezählt wird, erhält jeder Fall einen HIV-Code, der die Identifikation von mehrfachen Meldungen eines Falls erleichtern soll (9, 10). Der/die einsendende / behandelnde Arzt/Ärztin ist verpflichtet, das Labor bei der Meldepflicht zu unterstützen und ergänzende Angaben zu dem HIV positiven Fall zu übermitteln (z. B. Alter, Geschlecht, vermuteter Transmissionsweg; Herkunft, vermuteter Infektionsort) (10).

In der Surveillance von HIV-Infektionen wird als wichtige epidemiologische Maßzahl die (kumulierte) Inzidenz verwendet. Sie gibt die Anzahl der Neuerkrankten in Bezug auf die zu Grunde liegende Bevölkerung in einem bestimmten Zeitraum an (11). Die Bestimmung der Inzidenz von HIV-Infektionen ist mit Daten aus dieser passiven Surveillance nicht möglich, denn die Meldung einer Diagnose (Diagnosedatum) erlaubt keinen direkten Rückschluss auf den Infektionszeitpunkt (Infektionsdatum), da zwischen Infektion und Diagnose viel Zeit vergehen kann (12). Somit wird in der Surveillance von HIV-Infektionen üblicherweise die Inzidenz der neudiagnostizierten HIV-Fälle berichtet (12) und die Anzahl der Neuinfizierten wird mithilfe von Modellierungen geschätzt (3). Die Schätzung für Deutschland nutzt dafür mehrere Datenquellen wie die HIV-Meldezahlen, die Todesursachen-Statistik, sowie Daten zu Verschreibungen von antiretroviralen Medikamenten bei gesetzlich versicherten Patienten (13).

Bei der Ermittlung einer Inzidenz ist auch noch zu definieren, welchen Nenner man verwendet, also auf welche Personengruppe sich die Inzidenz bezieht. In der Regel wird dabei als Nenner die Bevölkerung Deutschlands verwendet. Alternativ könnte jedoch auch die Anzahl der Personen verwendet werden, die auf HIV getestet wurden, als Ausgangspunkt für die Überwachung der Ziele der WHO-Strategie (6). Damit alle Personen ihren HIV-Statuts kennen, benötigen diese Zugang zu HIV-Tests und die Möglichkeit sich testen zu lassen. In Deutschland stehen für die Bevölkerung verschiedene kostenlose Testmöglichkeiten zur Verfügung: niedrighschwellige anonyme Testangebote der Aidshilfen oder der Gesundheitsämter. Aber auch HIV-Tests im niedergelassenen Bereich sind möglich im Rahmen der Schwangerschaftsvorsorge oder bei einem Krankheitsverdacht.



## **Erweiterte HIV-Surveillance**

Eine Meldepflicht hat den Vorteil, dass gesetzlich festgelegt ist, welche Informationen zu melden sind und dass jede in Deutschland bestätigte HIV-Infektion zu melden ist (10). Durch eine Meldepflicht erhält man allerdings keine Informationen über den Verlauf der HIV-Infektion. Zwischen der Infektion mit HIV und der Diagnose können viele Jahre vergehen. Deshalb ist es auf Basis der Meldedaten nicht direkt möglich, die Inzidenz der HIV-Infektionen in einem Jahr zu bestimmen oder Aussagen über das aktuelle Infektionsgeschehen zu treffen. Daher sollte die HIV-Surveillance durch weitere Bausteine ergänzt werden. So kann beispielsweise für die Modellierung der HIV Epidemie verschiedene Datenquellen genutzt werden um sowohl die Inzidenz der HIV-Neuinfektionen als auch die HIV Prävalenz in Deutschland zu schätzen. Um das HIV-Infektionsgeschehen umfassender abbilden zu können, ist es daher erforderlich die gesetzliche Meldedaten zu ergänzen. So können beispielsweise Beobachtungsstudien ergänzende Informationen über den Verlauf der Infektion oder zur Medikation liefern (14). Hinzu kommt eine, für die Ärzteschaft, freiwillige AIDS Fallmeldung die seit 1982 im AIDS-Fallregister erfasst und dokumentiert werden (14). Verschiedene Befragungen der Labore zur Anzahl durchgeführter HIV-Testungen ergänzen die erweiterte Surveillance (15-17).

Seit den 2000er Jahren wurden verschiedene serologische Tests entwickelt, mit Hilfe derer die Dauer einer bestehenden HIV-Infektion ermittelt werden kann. Also ob sich bei der untersuchten HIV-Infektion um eine rezente (also kürzlich erworbene) HIV-Infektion handelt, die etwa 6 Monate vor der Diagnose erworben wurde (18). Mit den sogenannten „Tests for recent HIV- Infection“ kann dabei zwischen einer kürzlich erfolgten HIV-Infektion und einer länger bestehenden HIV-Infektion unterschieden werden, um auf diese Weise die Inzidenz der HIV-Neuinfektionen genauer bestimmen zu können. Unter den ersten etablierten Tests Anfang der 2000er war der von Sedia Bioscience „BED HIV-1 Capture enzyme immunoassay“ (BED-CEIA) (19) entwickelte und kommerziell erhältliche Test. Der BED-CEIA misst den Anteil der HIV-1 spezifischen Immunglobulin G (IgG) Antikörper in Relation zu den gesamten IgG (18). Der Test wurde in Deutschland im Rahmen einer Pilotstudie 2005 - 2007 evaluiert (20) und anschließend in einer bundesweiten Studie angewendet (21). Dies führte zur Einführung einer bundesweiten Surveillance von rezenten HIV-Infektionen in 2011, als weiterer Baustein der bestehenden HIV Surveillance in Deutschland (18).

Im Rahmen der Surveillance von rezenten HIV-Infektionen wurde 2013 zusätzlich eine molekulare Surveillance von HIV-Infektionen aufgebaut (22). Es erfolgte dabei zunächst eine Testung auf Rezenz durch die im Rahmen der Surveillance gesammelten Filterpapierproben von neudiagnostizierten HIV-Fällen und anschließend erfolgte eine Genomsequenzierung der Probe (22). Anhand der Genomsequenz kann der HIV-Subtyp sowie resistenzassoziierte Mutationen ermittelt werden. Mit diesen Informationen ist es möglich, einen Überblick über aktuell zirkulierende HIV-Subtypen sowie Informationen zu Transmissionsnetzwerken oder auch HIV-Ausbrüchen (z.B. in bestimmten Gruppen) zu erhalten (14, 23).

Übertragene resistente Viren (transmitted drug resistance, TDR) sind von klinischer Bedeutung, da sie die Wirksamkeit der antiretroviralen Therapie (ART) beeinträchtigen und zu einem Anstieg der Viruslast im Plasma im Falle eines Therapieversagens führen können (24). Die WHO schrieb in 2010, dass eine HIV-1 Resistenzsurveillance ein wichtiges weltweites Ziel ist, um die Effektivität der ART zu gewährleisten (25).

Die Erfassung der zirkulierenden HIV-Subtypen in verschiedenen Ländern ist von epidemiologischer und klinischer Relevanz. Diese Informationen beeinflussen dabei die Sicherheit und die Genauigkeit der Diagnostik und sind wichtig für die HIV-Prävention und Entwicklung von Impfungen (22). Durch die Einführung der HIV-Prä-Expositions-Prophylaxe (PrEP) in 2019 als gesetzliche Krankenkassenleistung (26), wird regelmäßiges Testen auf HIV und nach bestätigter HIV-Infektion, ein sofortiger Beginn einer ART umso wichtiger, dennoch kann eine übertragene HIV-Resistenz den Erfolg einer Therapie mindern. Eine Untersuchung auf genotypische Resistenzen ist daher vor dem Beginn einer Therapie wichtig.

Um im Rahmen der WHO Strategie zu überprüfen, wie viele Personen ihren HIV-Status kennen, werden in Deutschland Informationen über die Anzahl der durchgeführten Tests bei Personen benötigt. Das RKI hat Befragungen bei Laboren durchgeführt (sog. Nennerstudien), um die Anzahl der durchgeführten HIV-Tests (Such- und Bestätigungstests) zu erfassen sowie die Positivenrate zu bestimmen (15-17), um so u.a. auch zeitliche Trends bei den HIV-Meldungen besser interpretieren zu können. Diese Befragungen hatten einige Limitationen: Unter anderem ist die Anzahl der Labore, die eine HIV-Diagnostik in Deutschland durchführen, unbekannt. Daher ist unklar, ob die teilnehmenden Labore an einer Befragung repräsentativ für alle HIV diagnostizierenden Labore sind. Die wichtigste Einschränkung ist jedoch, dass in der HIV-Diagnostik mehrere Tests je Person durchgeführt werden. Zunächst wird ein Suchtest durchgeführt, der mit einem anderen Testverfahren bestätigt wird. Fällt der zweite Test positiv

aus, wird der Test mit einer weiteren Probe wiederholt, um Verwechslungen oder auch Probenkontaminationen auszuschließen (5). Somit kann es vorkommen, dass mehrere Tests je Person durchgeführt werden, die möglicherweise auch in verschiedenen Laboren durchgeführt werden. Einen Rückschluss auf die Anzahl der getesteten Personen ist bei einer Befragung der Labore schwierig. Um zu eruieren, wie viele Personen sich auf HIV testen lassen und somit ihren HIV-Status kennen, wird daher eine andere Herangehensweise benötigt.

## **Ziel**

Ziel der hier vorgestellten Arbeiten ist es, die zusätzlichen Bausteine der erweiterten HIV-Surveillance in Deutschland zu beschreiben und dabei:

1. den Aufbau einer Surveillance von rezenter Infektionen darzustellen (18), mit den Zielen der
  - a. Ermittlung des Anteils von rezenter HIV-Infektionen unter den diagnostizierten HIV-Infektionen und der
  - b. Beschreibung der Fälle mit einer rezenter HIV-Infektion sowie
2. die aus der Surveillance von rezenter HIV-Infektionen entwickelte molekulare Surveillance zu beschreiben (22, 23), mit den Zielen der
  - a. Überwachung der aktuell zirkulierenden Subtypen in Deutschland und der
  - b. Überwachung der aktuell übertragenen Resistenzen in Deutschland sowie
3. die Nutzbarkeit von Routinedaten für die erweiterte Surveillance von HIV-Infektionen zu prüfen (27), um
  - a. die Anzahl der auf HIV getesteten Personen zu ermitteln und einen
  - b. Nenner für die bessere Ermittlung der HIV-Inzidenz zu erhalten.

Die zusätzlichen Bausteine der erweiterten HIV-Surveillance dienen dazu, Rückschlüsse hinsichtlich aktueller HIV-Infektionen in bestimmten Risikogruppen zu ziehen sowie herauszufinden, welche HIV-Subtypen und HIV-Resistenzen übertragen werden. Des Weiteren kann damit der Nenner der Inzidenz von HIV-Infektionen, sowie die Anzahl der Personen bestimmt werden, die zu einem bestimmten Zeitpunkt ihren HIV-Status kennen. Die Ergebnisse sollen dazu beitragen, Präventionsbotschaften oder auch Empfehlungen an das aktuelle HIV-Infektionsgeschehen anzupassen und somit einen Beitrag zur Überwachung der HIV-Infektionen in Deutschland zu leisten und damit auch die Erreichung der WHO Ziele zu überwachen.

Aus diesen übergeordneten Zielen resultiert u.a. die Beschreibung des Anteils der rezenten HIV-Infektionen unter den neudiagnostizierten HIV-Infektionen (2008 bis 2014), sowie die Identifikation von Faktoren, die mit einer rezenten HIV-Infektion einhergehen, um die aktuellen Transmissionsdynamiken besser zu verstehen (18).

Ein weiteres Ziel ist es, die übertragenen Resistenzen und die Bestimmung der HIV-1 Subtypen unter den neudiagnostizierten (rezenten) HIV-Infektionen (2013-2014) zu ermitteln (22), um potenzielle phylogenetische Verwandtschaften und HIV-Transmissionscluster zwischen 2013 und 2016 zu beschreiben (23).

Im Rahmen der erweiterten HIV-Surveillance soll zudem geprüft werden, ob die Nutzung von Daten, die zu einem anderen Zweck erhoben wurden (sog. Routinedaten bzw. Sekundärdaten), eine sinnvolle Möglichkeit sind, um die Anzahl der getesteten Personen zu ermitteln, um auf diese Weise den Nenner für die Berechnung der Inzidenz besser bestimmen zu können (27).

#### **1.4. Methoden**

##### **Surveillance von rezenten HIV-Infektionen (InzSurv-HIV)**

Basis der InzSurv-HIV sind die nicht-namentlich an das RKI gemeldeten HIV-Neudiagnosen gemäß IfSG (§7.3) Die Anzahl der HIV-Diagnosen variiert nach meldendem Labor. Für den Aufbau der Surveillance von rezenten HIV-Infektionen wurden daher zunächst nicht alle Labore in Deutschland rekrutiert, die HIV-Infektionen diagnostizieren, sondern spezifisch jene rekrutiert, die häufig eine HIV-Diagnostik durchführen und somit viele Meldungen ans RKI übermitteln. Weiterhin wurde eine Zufallsstichprobe weiterer Labore mit weniger HIV-Meldungen ausgewählt (18). Die teilnehmenden InzSurv-HIV Labore meldeten etwa 91% aller HIV-Diagnosen zwischen 2008 - 2014 (18). Diese Labore tropften für InzSurv-HIV Restblut, welches aus der Diagnostik der HIV-Infektion eines Falles übrigblieb, auf Filterpapier (Whatmann #903), als getrocknete Tropfen von Serum oder getrocknete Plasmatropfen (zusammen Dried Fluid Spots; DFS) (18). Die DFS wurden anschließend zusammen mit dem HIV-Meldebogen direkt an das RKI gesendet (18).

Für die erste Beschreibung der Surveillance der rezenten HIV-Infektionen wurden DFS verwendet, die zwischen 2008 und 2014 in zwei verschiedenen Projektphasen gesammelt wurden (18). Es wurden dabei ausschließlich Fälle beschrieben, die zwischen 2008 und 2014 erstmalig mit HIV diagnostiziert wurden und für die eine Filterpapierprobe vorhanden war (18). Für die in dem Artikel beschriebene Analyse wurden Fälle, die jünger als 18 Jahre waren bzw. bei denen als Transmissionsrisiko „Mutter zu Kind Übertragung“ auf dem HIV-Meldebogen

angegeben wurde, ausgeschlossen. Zusätzlich wurden Fälle mit unbekanntem Alter und unbekanntem Geschlecht ausgeschlossen (18).

### **Laboruntersuchungen zur Ermittlung der HIV-Rezenz (frische Infektion)**

Die Untersuchungen der Filterpapierproben erfolgte am RKI im Fachgebiet 18 (HIV und andere Retroviren), die für die Ermittlung einer rezenten Infektion den Untersuchungsassay BED-CEIA nutzten, zunächst von der Firma Calypte® und seit 2014 einen Assay der Firma Sedia® (Sedia Bioscience Corporation, Portland, Oregon, USA) (18). Der Anteil der IgG Antikörper in Relation zum gesamt IgG wird beim BED-CEIA anhand der normalisierten optischen Dichte (ODn) gemessen (18). Fälle werden als rezent bzw. als kürzlich erworbene Infektion klassifiziert, wenn die ODn  $<0,8$  ist (18). Für den BED-CEIA der Firma Sedia® wurde eine rezente Infektion definiert als HIV-Fall, bei denen die Infektion vor 197 Tagen (127 - 236 Tage) erfolgte bzw. bei Fällen mit HIV-Subtyp B von 162 Tagen erfolgte (18). Calypte® ermittelte mit ihrem Test einen Cut-off von 155 Tagen (18). In einer Pilotstudie, die in Berlin durchgeführt wurde, konnte eine rezente HIV-Infektion bis zu 20 Wochen (140 Tage) nach der Infektion nachgewiesen werden (28). Die Sensitivität und Spezifität des Tests beträgt laut Parekh et al. 81,7% bzw. 89,1% (19). Für Deutschland wurde eine Sensitivität 80% und eine Spezifität von 86% für einen cut off von ODn $<0,8$  ermittelt (28). Der BED-CEIA ist daher nur für epidemiologische Studien zugelassen und wird nur bei zuvor diagnostizierten HIV-Infektionen genutzt. Dabei wird geprüft, wieviel Zeit zwischen Infektionszeitpunkt und Diagnosezeitpunkt vergangen ist (18). Für die Entscheidung ob eine rezente HIV-Infektion vorliegt, wurde zusätzlich ein Testalgorithmus vom ECDC verwendet, um vom verwendeten Test falsch klassifizierte Ergebnisse zu korrigieren (29). Für eine vollständige Nutzung des Algorithmus fehlten allerdings Angaben zu den im Rahmen des Algorithmus verwendeten Variablen, die teilweise nur unvollständig auf dem HIV-Meldebogen abgefragt werden (29). So konnten damit nur vom verwendeten Test falsch klassifizierte rezente HIV-Infektionen korrigiert werden, nicht jedoch falsch klassifizierte länger bestehende Infektionen (18).

### **Erweiterung InzSurv-HIV um die Untersuchung auf HIV-Subtypen und Resistenzen**

Um unter den rezenten HIV-Neudiagnosen die aktuell zirkulierenden HIV-Subtypen und erworbenen medikamentösen Resistenzen (TDR) zu ermitteln, wurden die DFS der InzSurv-HIV genutzt. Die Nutzung von DFS für die Surveillance führte bei der Ermittlung von Subtypen und Resistenzen zu vergleichbaren Ergebnissen wie Studien, die Plasmaproben nutzten (30, 31). Die

HIV-RNA wurde aus den Filterpapierproben extrahiert und mittels einer in-house Polymerase-Kettenreaktion (PCR) nach einem adaptierten Protokoll von Cleland et al. sequenziert (32). Die Einteilung in HIV-1 Subtypen erfolgte mithilfe des Rega HIV-1 Subtypen Tools und COMET HIV-1 (22, 33). Die Identifizierung der Resistenzmutationen basierte auf einer WHO-Liste von 2009 (34). Es wurden dabei die resistenzassoziierten Mutationen den drei verschiedenen Medikamentenklassen, nukleosidische Reverse Transkriptase Inhibitoren, nicht-nukleosidische Reverse Transkriptase Inhibitoren sowie Protease Inhibitoren (NRTI, NNRTI und PI) zugeordnet und unter Verwendung des Stanford Algorithmus als singuläre, doppelte oder multi-Resistenz eingeordnet und in Kategorien der Resistenz eingeteilt (hoch-resistent, intermediär und sensitiv (susceptible; empfänglich)) (22). Für die erstmalige Untersuchung wurden DFS von rezenter HIV-Infektionen aus den Diagnosejahren 2013 und 2014 genutzt (22).

In einer erweiterten zusätzlichen Analyse wurden die DFS von rezenter HIV-Infektionen der Diagnosejahre 2013 - 2016 verwendet (23). Dabei wurden bei einer rezenter HIV-Infektion die Genomabschnitte der Protease und der Reversen Transkriptase (2013 - 2016) sowie zusätzlich die Integrase (2014 - 2016) erzeugt (23). Im Jahr 2015 wurde die am RKI genutzte Sanger Sequenzierung durch NGS (next generation sequencing) mithilfe der Nutzung einer Illumina MiSeq Plattform, ergänzt (35). Der HIV-1 Subtyp wurde wie auch zuvor mittels des Rega HIV-Subtyping Tools (36) und dem COMET HIV-1 (33) einer *pol*-Sequenz zugeordnet. Auch hier wurde die Prävalenz einer TDR berechnet anhand der Anzahl der Fälle, die mit einer Variante einer Mutation in der WHO-Liste gelistet wurden (34). Zusätzlich wurden übertragene integrase strand transfer inhibitors (INSTI) Mutationen definiert als solche, die in der Stanford HIV-Datenbank als resistent gelistet wurden (23).

Mithilfe der Filterpapierproben der InzSurv-HIV und Blut bzw. Plasmaproben der Serokonverter Studie (37) wurden im Laufe der Zeit weitere Verfahren zur Ermittlung der rezenter HIV-Infektionen getestet: vor allem ein Aviditätstest und ein „Limiting Antigen Test“ evaluiert bzw. erprobt (38, 39). Auch wurde im RKI Labor ein neues Verfahren zur Ermittlung von Genotypen aus DFS für epidemiologische Studien entwickelt, welches durch Filterpapierproben der InzSurv-HIV und HIV-Referenzstämmen evaluiert wurde (40).

### **Nutzbarkeit von Routinedaten für die erweiterte Surveillance von HIV-Infektionen**

Um zu prüfen, ob Daten, die zu einem anderen Zweck erhoben wurden (sog. Routine bzw. Sekundärdaten), für Fragestellungen innerhalb der Surveillance von HIV-Infektionen genutzt

werden könnten, wurden Daten des Zentralinstituts für die kassenärztliche Versorgung in Deutschland (Zi) genutzt (27). Diese Daten enthalten bundesweite, pseudonymisierte, krankenkassenübergreifende Abrechnungsdaten aus dem niedergelassenen Bereich der Jahre 2010 - 2015 (27). Mithilfe dieser Daten sollte zunächst der Anteil gesetzlich versicherter Personen ermittelt werden, bei denen innerhalb eines Jahres mindestens ein HIV-Suchtest durchgeführt bzw. abgerechnet wurde. Zusätzlich dazu sollte erfasst werden bei wie vielen Personen davon im Anschluss ein HIV-Bestätigungstest durchgeführt wurde. Im niedergelassenen Bereich stehen mehrere Untersuchungsmethoden für den Nachweis einer HIV-Infektion zur Verfügung, die zu Abrechnungszwecken unterschiedlich kodiert werden und dadurch teilweise auch einen Rückschluss auf den Untersuchungsgrund zulassen (z.B. GOP 01811 - Untersuchung auf HIV-Antikörper bei einer Schwangeren im Rahmen der Mutterschaftsvorsorge, siehe auch Tabelle 1 bei Hofmann et al. (27)). HIV-Bestätigungsteste sollen laut Einheitlichem Bewertungsmaßstab (EBM) durchgeführt werden, wenn zuvor ein HIV-Suchtest reaktiv ausgefallen ist (41). So kann anhand der Daten der Anteil der reaktiven HIV-Suchtests ermittelt werden. Im Rahmen dieser Auswertung war es nicht möglich, zusätzlich unter den Personen bei denen ein HIV-Suchtest und ein HIV-Bestätigungstest abgerechnet wurde, zu ermitteln bei wie vielen davon der HIV-Bestätigungstest positiv war, also eine entsprechende HIV-Diagnose in den Abrechnungsdaten enthalten war. Als Surrogat wurde daher die Anzahl der durchgeführten HIV-Bestätigungstests im niedergelassenen Bereich mit den an das RKI gemeldeten HIV-Neudiagnosen verglichen (27), um beispielsweise abschätzen zu können, ob durch die im niedergelassenen Bereich getesteten Personen ein Rückschluss auf die insgesamt in Deutschland getesteten Personen möglich ist.

## **1.5. Ergebnisse**

### **Surveillance von rezenten HIV-Infektionen (InzSurv-HIV)**

Insgesamt haben 227 Labore zwischen 2008 und 2014 HIV-Diagnosen ans RKI übermittelt. Die an der Surveillance der rezenten Infektionen beteiligten Labore (n=108) übermittelten 91,3% (35.756 / 39.170) der HIV-Diagnosen. 53% (n=20.896) der übermittelten HIV-Diagnosen waren neudiagnostizierte HIV-Fälle. 99,1% (n=18.462) der gleichzeitig übermittelten DFS konnten einer HIV-Diagnose zugeordnet werden (siehe auch Grafik 1 bei Hofmann et al. (18)). Beim Vergleich aller HIV-Neudiagnosen (2008 - 2014) mit und ohne Filterpapierprobe konnten keine Unterschiede in Alter, Geschlecht und Transmissionsweg festgestellt werden. Einzig die Anzahl

der gesammelten Filterpapierproben unterschied sich im Laufe der Zeit, was auf eine kürzere Zeit der Sammlung von Filterpapierproben in 2010 zurückzuführen war (18).

Etwa ein Drittel ( $n=3.221$ ; 31,4%; 95% Konfidenzintervall – KI- 30,5%-32,2%) der HIV-Neudiagnosen mit DFS wurden als rezente HIV-Infektion klassifiziert, nach Anwendung des ECDC Algorithmus waren 30,1% ( $n=3.084$ ; 95% KI 29,2%-31,0%) der HIV-Neudiagnosen rezent. Der Anteil der rezenten Infektionen war bei Männern höher als bei Frauen, sowie am höchsten in der Altersgruppe der 18-25-Jährigen. Der Anteil der rezenten HIV-Infektionen war am höchsten bei Männern die Sex mit Männern haben (MSM), gefolgt von Personen, die sich Drogen injizierten (18). Der prozentuale Anteil der rezenten HIV-Infektionen bei Personen mit Herkunft Deutschland lag bei 33% ( $n=2.121$ ), wohingegen der Anteil bei Personen, die aus Subsahara-Afrika stammten, nur bei 17% ( $n=169$ ) lag. Personen, die aus Deutschland stammten, hatten häufiger eine rezente HIV-Infektion als Personen, die aus dem Ausland stammten. HIV-Fälle mit einer rezenten HIV-Infektion wurden häufiger in Deutschland infiziert als im Ausland (32,9% vs. 21,5%  $\chi^2 p < 0,001$ ). Bei aus dem Ausland stammenden HIV-Fällen zeigte sich, dass diese sich möglicherweise eher in Deutschland infiziert hatten als im Ausland (30,1% vs. 18,5%  $\chi^2 < 0,001$ ) (siehe auch Tabelle 2 und 3 bei Hofmann et. al.) (18).

Der Anteil der neudiagnostizierten Fälle mit DFS stieg im Beobachtungszeitraum leicht an von 1.264 in 2008 zu 2.033 Fällen in 2014. Der jährlich beobachtete Anteil der rezenten HIV-Infektionen schwankte zwischen 26% in 2010 und 32% in 2012. Ein signifikanter Anstieg von insgesamt 4% zwischen 2008 zu 2014 konnte mithilfe in einer univariaten logistischen Regression bestätigt werden (OR 1,023; 95%KI 1,006-1,049  $p < 0,012$ ) (siehe auch Grafik 3 bei Hofmann et al. (18)).

### **Molekulare Surveillance von Subtypen und Resistenzen bei rezenten HIV-Infektionen**

In 2013 und 2014 wurden 6.371 Filterpapierproben von HIV-Fällen gesammelt, davon wurden 2.034 (32%) serologisch als rezente HIV-Infektion klassifiziert mithilfe des BED-CEIA. Proben mit einem CD4 Wert  $< 200$  Zellen /  $\mu\text{l}$  oder einer Viruslast  $< 400$  Kopien /  $\mu\text{l}$  oder beidem wurden für diese Analyse als länger bestehende HIV-Infektion re-klassifiziert und ausgeschlossen. Insgesamt konnten von 1.797 rezenten HIV-Neudiagnosen 809 Proben erfolgreich amplifiziert und sequenziert werden (22). Davon wiesen 10,8% (87/809) eine Resistenz auf: 4,3% NRTI; 2,6% NNRTI; 3,0% PI (22). 77% ( $n=623/809$ ) der rezenten HIV-Infektionen hatten den Subtyp B. 23,0% ( $n=186/809$ ) wurden als HIV-non-B Subtyp klassifiziert (davon am häufigsten mit 5,1% Subtyp A,



n=41) (22). Der HIV-Subtyp B hatte eine signifikante Assoziation mit einem hohen Anteil von Resistenzen (12,0%; n=75/623) im Vergleich zu HIV-non-B Subtypen (vs. 6,4% p=0,04) (22). Bei Personen mit dem Transmissionsrisiko MSM konnte am häufigsten der HIV-Subtyp B (87,7%, n=436/497) nachgewiesen werden. Bei Personen mit heterosexuellen Kontakten (HET) wurden häufig HIV-non-B Subtypen (A, C, G) nachgewiesen (22). Bei Personen, die aus Deutschland stammten, lag der Anteil der HIV-non-B Subtypen signifikant niedriger als bei Personen, die aus anderen Ländern stammten (14%; n=68/485 vs. 45,6% n= 72/158 p<0,0001) (22).

Bei einer weiteren Analyse wurden HIV-Fälle mit DFS, die zwischen 2013 und 2016 neu diagnostiziert wurden, eingeschlossen (23). 10.643 DFS von neudiagnostizierten HIV-Fällen wurden für diesen Zeitraum an das RKI übermittelt, davon wurden 3.380 (31,8%) als rezente HIV-Infektion klassifiziert. Davon konnten 1.885 (55,8%) sequenziert werden. Für die Analyse der HIV-1 Genotypen der Integrase Genom Region waren 820 der 1.885 DFS der neudiagnostizierten HIV-Fälle vorhanden (23). Auch hier zeigte sich, dass der HIV-Subtyp B am häufigsten (68,6%) zu finden war. Die Anzahl der Fälle mit HIV-Subtyp B sanken jedoch signifikant zwischen 2013 und 2016 (23). Unter den HIV-non-B Subtypen war der häufigste HIV-Subtyp A (8,2%), gefolgt von einer zirkulierenden rekombinanten Form (CRF), CRF02\_AG (5,7%) und HIV-Subtyp C (5,0%). Der Anstieg der HIV-non-B Subtypen ist durch einen signifikanten Anstieg der HIV-Subtyp A und HIV-Subtyp C Fälle zu erklären (23).

Mithilfe der erweiterten Analyse konnte auch die Prävalenz und der Trend von übertragener Resistenz gegen die antiretroviralen Medikamentenklassen (TDR) ermittelt werden. Der Anteil der TDR lag laut WHO-Liste bei 11,0% (23). Ein zeitlicher Trend konnte zwischen 2013 und 2016 nicht beobachtet werden. Resistenzen gegen NNRTI konnten am häufigsten (4,7%) festgestellt werden, gefolgt von NRTI (4,5%) und PI (3,2%) (23). Es wurden signifikant höhere TDR bei MSM im Vergleich zu HET gefunden (23). Bei den HIV-Subtyp B Infektionen war die Prävalenz von TDR (12,4%) höher als im Vergleich zu allen HIV-non-B Subtyp Infektionen (8,1% p<0,01). Die höchsten Anteile von TDR wurden bei Fällen mit HIV-Subtyp A (14,9%) gefunden (siehe auch Tabelle 3 bei Hauser et. al.) (23). Eine Resistenz gegen INSTI wurde lediglich in einer analysierten Sequenz (von 820) gefunden (23).

### **Nutzbarkeit von Routinedaten für die erweiterte Surveillance von HIV-Infektionen**

Zwischen 2010 und 2015 wurde bei mindestens 5.487.703 Personen ein HIV-Suchtest im niedergelassenen Bereich abgerechnet, dies entspricht etwa 864.065 - 999.465 Personen

jährlich. In den analysierten Jahren wurden bei wesentlich mehr Frauen als Männern ein HIV-Suchtest abgerechnet (siehe auch Tabelle 2 bei Hofmann et al. (27)). Bei einem Großteil der Frauen wurde ein HIV-Suchtest im Rahmen der Mutterschaftsvorsorge durchgeführt. Bei etwa 2.410 bis 3.062 Personen wurde jährlich anschließend ein HIV-Bestätigungstest abgerechnet. HIV-Bestätigungstests wurden etwas häufiger bei Männern als bei Frauen durchgeführt. Die Reaktivrate schwankte somit in den Jahren 2010 - 2015 zwischen 0,26% und 0,35%, wobei die Rate im Zeitverlauf leicht sank (27). Im Zeitverlauf ist die Anzahl der Personen, bei denen ein HIV-Suchtest durchgeführt wurde, angestiegen. Die Anzahl der Personen, die im Anschluss einen HIV-Bestätigungstest hatten, nahm hingegen etwas ab (27). Vergleicht man die im selben Zeitraum an das RKI übermittelten HIV-Neudiagnosen mit den abgerechneten HIV-Bestätigungstests im niedergelassenen Bereich, so ist zu beobachten, dass die Anzahl der gemeldeten HIV-Neudiagnosen teilweise höher ist als die Anzahl der Personen, bei denen ein HIV-Bestätigungstest (vor allem bei Männern) durchgeführt wurde (27).

## **1.6. Diskussion und Schlussfolgerung**

### **Surveillance von rezenten HIV-Infektionen (InzSurv-HIV)**

Die erstmalige Beschreibung der rezenten HIV-Infektionen unter den HIV-Neudiagnosen in Deutschland zeigte, dass in fast einem Drittel der neudiagnostizierten HIV-Fälle eine rezente HIV-Infektion nachgewiesen werden konnte. Bei diesen Fällen erfolgte die HIV-Infektion innerhalb der letzten 6 Monate vor der Diagnose. Der beobachtete Anteil der rezenten HIV-Infektionen stieg sogar leicht, jedoch statistisch signifikant an. Der höchste Anteil von rezenten Infektionen konnte bei MSM beobachtet werden, was auch in anderen europäischen Ländern beobachtet wurde, die ebenfalls den BED-CEIA für den Nachweis einer rezenten HIV-Infektion nutzten (18). Mit dieser Analyse konnte auch gezeigt werden, dass knapp 2/3 der HIV diagnostizierten Fälle eine länger bestehende HIV-Infektion hatten. Diese Fälle wurden also später im Infektionsverlauf diagnostiziert und konnten somit möglicherweise ihre HIV-Infektion länger übertragen (18).

MSM haben ein hohes Risiko, eine HIV-Infektion zu erwerben. Jedoch ist in dieser Gruppe sowie in den anderen Transmissionsgruppen trotz verstärkter Präventionsbemühungen, der Anteil der länger bestehenden Infektionen zum Zeitpunkt der Veröffentlichung von Hofmann et al. immer noch hoch (18). Dies könnte bedeuten, dass nicht jeder MSM sich seines Risikos für den Erwerb eine HIV-Infektion bewusst ist und sich daher auch nicht regelmäßig testen lässt (18). Empfehlungen sprechen sich dafür aus, dass Personen mit einem Risiko für eine HIV-Infektion,

also auch MSM, sich regelmäßig testen lassen sollten, mindestens jedoch ein Mal im Jahr, bzw. bei MSM alle 3 - 6 Monate (42, 43). Die Analyse der Jahre 2008 - 2014 zeigten, dass diesen Empfehlungen wahrscheinlich nicht immer nachgekommen wurde. Für MSM bestehen viele Angebote, sich kostenlos und auch anonym auf HIV testen zu lassen. Bei einer Onlinebefragung 2013 / 2014 unter MSM in Deutschland gaben lediglich 38% der Befragten an, dass sie innerhalb der letzten 12 Monate auf HIV getestet wurden. 35% der Befragten gaben an noch nie auf HIV getestet worden zu sein (44). Bei einer europäischen Onlinebefragung gaben 79% aller MSM an, jemals auf HIV getestet worden zu sein, davon wurden 56% innerhalb der letzten 12 Monate auf HIV getestet (45).

Auch wenn der Anteil der rezente HIV-Infektionen bei MSM nicht sehr hoch ist, ist er beispielweise bei HET noch niedriger. Dies ist möglicherweise darauf zurückzuführen, dass eine HIV-Infektion von heterosexuellen Personen nicht als Risiko wahrgenommen wird, aber auch dass das Angebot eines HIV-Tests nicht ausreichend von der Ärzteschaft, beispielsweise im Rahmen einer Anamnese oder Routineuntersuchung, kommuniziert wird. Testangebote sollten daher auch für Personen mit heterosexuellen Kontakten weiter ausgebaut und die Risikowahrnehmung in dieser Gruppe erhöht werden. So könnte beispielweise in zukünftigen Präventionskampagnen deutlicher hervorgehoben werden, dass regelmäßiges Testen für alle Personen wichtig ist, die ein Risiko (z. B. ungeschützter bzw. kondomloser Geschlechtsverkehr) eingegangen sind (18, 43). Die Wahrnehmung für mögliche Risikokontakte sollte bei allen Personen, die Kontakt zum Gesundheitssystem haben (z.B. in der niedergelassenen Ärzteschaft, Drogenberatungsstellen, Beratungsstellen in Gesundheitsämtern usw.) erhöht werden, damit eine offene Kommunikation zu diesem Thema stattfinden kann und diesen Personen ggf. ein HIV-Test angeboten werden kann (18).

Bei Personen, die aus dem Ausland stammen, konnte eher eine länger bestehende Infektion beobachtet werden als bei Personen die aus Deutschland stammten. Dies könnte darauf hindeuten, dass diese Personen sich eher in ihrem Heimatland infiziert haben und eventuell auch schon von ihrer Infektion wussten, da jede neu in Deutschland diagnostizierte HIV-Infektion meldepflichtig ist. Andererseits kann es auch möglich sein, dass diese Personen nichts von ihrer HIV-Infektion wussten und aufgrund des möglicherweise besseren Gesundheitssystems erst in Deutschland erstmalig getestet wurden (18). In der Analyse konnte gezeigt werden, dass der Anteil der rezente HIV-Infektionen über die Zeit angestiegen ist. Im selben Zeitraum hat sich die Anzahl der neu diagnostizierten HIV-Fälle nicht stark verändert, so dass der Anstieg des Anteils

der rezenten HIV-Infektionen möglicherweise doch ein verbessertes HIV-Testangebot widerspiegelt (18). In einer aktuellen Analyse (2011 - 2018) wurde festgestellt, dass der Anteil der rezenten HIV-Infektion unter den HIV-Neudiagnosen weiterhin angestiegen ist und beispielsweise in 2018 bei 38,8% (bei MSM bei 44,5%) lag (14). Somit ist der Anteil der rezenten HIV-Infektionen seit der Etablierung der Surveillance immer weiter angestiegen, bei teilweise sinkenden HIV-Neudiagnosen (14) was für eine bessere Wahrnehmung von Testangeboten spricht.

Bei der Analyse der rezenten HIV-Infektionen ist limitierend zu beachten, dass die genaue Anzahl der getesteten Personen in Deutschland unklar ist und dass der Anteil der rezenten HIV-Infektion immer auch abhängig vom Testverhalten und der Anzahl der neudiagnostizierten HIV-Fälle ist. In 2011 wurden über 1,6 Millionen HIV-(Such-)-Tests durchgeführt (15). Der für InzSurv-HIV verwendete Test (BED-CEIA) zur Ermittlung einer rezenten HIV-Infektion hat eine geringe Sensitivität und Spezifität (81,7% und 89,1%) und eine relativ hohe falsch rezente Rate von 7,4% (19). Da der angewendete Test allerdings mit Proben der Serokonverter Studie evaluiert wurde (28), ist anzunehmen, dass der Test valide Angaben für Deutschland erzeugt. Der Test wurde im Rahmen der Surveillance von rezenten HIV-Infektionen mehrmals überprüft und die Verfahren zur Ermittlung der Rezenz weiterentwickelt (38, 39). Um weiterhin mehr Sicherheit über die Qualität des Testergebnisses zu erhalten, wurde auch der vom ECDC empfohlene Testalgorithmus angewendet (29). Allerdings konnte nicht der ganze Algorithmus verwendet werden, da die zur Verfügung stehenden Informationen nicht ausreichend vollständig vorhanden waren (18). Als weitere Limitation sollte erwähnt werden, dass keine Korrektur der Laborergebnisse bezüglich von falsch als länger bestehender HIV-Infektion klassifizierten rezenter HIV-Infektionen (FLTR) möglich war, was auch an fehlenden Angaben im HIV-Meldebogen lag. Dies könnte möglicherweise zu einer Überschätzung der länger bestehenden HIV-Infektionen führen. Im Jahr 2016 wurde allerdings im RKI Labor ein Multi Assay Algorithmus eingeführt, in dem der BED-CEIA und der BioRad Aviditätstest gemeinsam genutzt wurden, um u.a. die FLTR niedriger zu halten (38, 39).

### **Ausbau der HIV-Surveillance um die Untersuchung auf HIV-Subtypen und Resistenzen bei rezenten HIV-Infektionen**

Die Erweiterung der Surveillance von rezenten HIV-Infektionen um Untersuchungen auf HIV-Subtypen und übertragene Medikamentenresistenzen konnte erfolgreich für Filterpapierproben

etabliert werden (22). Da bei dieser Untersuchung länger bestehende HIV-Infektionen ausgeschlossen wurden, konnten aktuelle Trends im Infektionsgeschehen dargestellt werden (22). Der Anteil an Resistenzen unter den rezenten HIV-Infektionen lag bei 10,8% und ist vergleichbar mit Ergebnissen aus der Serokonverter Studie (37). Der am häufigsten vorkommende Subtyp in West-Europa ist HIV-Subtyp B (46) und war auch in Deutschland der häufigste Subtyp (22). Der HIV-Subtyp B konnte am häufigsten in der Risikogruppe MSM gefunden werden, der HIV-Subtyp A wurde häufiger in anderen Risikogruppen gefunden (22). Viele der Migrant\*innen mit einer rezenten HIV-Infektion hatten einen HIV-Subtyp der in ihrem Heimatland dominierte. Daraus könnte man schließen, dass diese HIV-Fälle sich entweder in ihrem Heimatland kürzlich infiziert haben oder innerhalb ihrer Gemeinschaft in Deutschland (22).

Bei einer weiteren tiefergehenden Analyse wurden 1.885 rezente HIV-Neudiagnosen zwischen 2013 und 2016 analysiert (23). Hier bestätigte sich, dass der HIV-Subtyp B der häufigste Subtyp in diesem Zeitraum war. Es konnte jedoch im gleichen Zeitraum ein signifikanter Anstieg von HIV-Non-B Subtypen beobachtet werden (Subtyp A, C, CRF02\_AG). Dieser Anstieg ist möglicherweise auf Immigrationsprozesse aus Ländern, in denen diese Subtypen häufiger vorkommen (z.B. Subsahara-Afrika / Zentral- / Ost-Europa), zurückzuführen, als Konsequenz der Flüchtlingsbewegung mit ihrem Höhepunkt in 2015. Der Anstieg von HIV-Fällen mit Subtyp A und C zeigt aber auch die Verbreitung dieser Subtypen in der Bevölkerung Deutschlands, was auch in anderen europäischen Ländern beobachtet werden konnte (47). Der Anteil der übertragenen Resistenzen lag stabil bei ca. 11%, wie er auch in der Serokonverter Studie für den Zeitraum 1996 bis 2010 beschrieben wurde (37). Allerdings lag der Anteil der übertragenen Resistenzen in ganz Europa bei 8,3% für den Zeitraum 2008 – 2010, bei Personen die kürzlich infiziert wurden, lag der Anteil jedoch bei 10,1% (48). Übertragene Resistenzen wurden häufiger bei Subtyp B als bei Non-B Subtypen gefunden, dies scheint sich aber anzugleichen (22, 23). In der erweiterten Analyse der rezenten HIV-Infektionen von 2013 - 2016 konnte erstmalig für Deutschland eine Analyse von vorhandenen INSTI Resistenzen, nach Einführung des Medikaments Raltegravir in 2007, durchgeführt werden (23). Obwohl lediglich ein Fall einer übertragenen Mutation gefunden wurde, sollte dies jedoch weiterhin beobachtet werden (23).

Im Jahr 2016 wurde das Medikament Truvada in der EU für die HIV-PrEP (Prä-Expositions-Prophylaxe) zugelassen (49). Eine Überwachung der übertragenen Resistenzen ist daher weiterhin wichtig, da möglicherweise resistente Mutationen eingeführt werden könnten. Wie in

der Analyse der Daten von 2013 - 2016 gezeigt, waren die Tenofovir-Resistenzen (Wirkstoff in Truvada) bis zum Jahr 2016 gering (23). Eine regelmäßige Testung auf HIV bei Personen, die HIV-PrEP nutzen, ist daher notwendig, um eine Überwachung von PrEP bezogenen Mutationen zu beobachten (23, 43). Die entsprechenden Voraussetzungen wurden zusammen mit der Kostenübernahme durch die Krankenkassen in 2019 geschaffen (26).

Als eine Limitation der Analyse der Daten von 2013 - 2016 zu HIV-Subtypen und Resistenzen könnte möglicherweise betrachtet werden, dass zum Zeitpunkt der Analyse nur rezente HIV-Infektionen untersucht wurden. Dies kann möglicherweise zu einer Überschätzung der Personen führen, die häufiger getestet wurden aufgrund ihrer persönlichen Risikoeinschätzung bzw. Wahrnehmung. Die Genotypisierung der Integrase wird erst seit 2014 am RKI durchgeführt und es konnte anfangs eine schlechte PCR-Erfolgsrate aufgrund der Degeneration der DFS beobachtet werden. Eine Vorhersage für alle Medikamentenklassen war daher im Rahmen der Analyse für die Veröffentlichung von Hauser et al. nur für 43% der rezenten HIV-Fälle möglich (23).

### **Nutzbarkeit von Routinedaten für die erweiterte Surveillance von HIV-Infektionen**

Durch die Daten des Zi konnte erstmalig die Anzahl der Personen ermittelt werden, die im niedergelassenen Bereich auf HIV getestet wurden (27). Anhand der Daten konnte beispielweise gezeigt werden, dass am häufigsten Frauen und von diesen am häufigsten Frauen im Rahmen der Mutterschaftsvorsorge, auf HIV getestet wurden und somit diese Gruppe ihren HIV-Status kennt. Im Vergleich zu den an das RKI gemeldeten HIV-Neudiagnosen fiel jedoch auf, dass die Anzahl der Männer, bei denen sowohl ein Such- als auch Bestätigungstest durchgeführt wurde niedriger ist als die an das RKI übermittelten HIV-Neudiagnosen für Männer (27). Diese Diskrepanz liegt vermutlich daran dass es neben der Testmöglichkeit im niedergelassenen Bereich auch noch weitere Testangebote gibt und möglicherweise auch HIV-Tests im niedergelassenen Bereich durchgeführt werden, die nicht abgerechnet, sondern von den Personen selbst bezahlt werden (27). Etwa 11% der Bevölkerung Deutschlands waren in 2019 privat krankenversichert (50). HIV-Tests von privat versicherten Personen sind in den Daten des Zi daher nicht enthalten (27). Die meisten HIV-Neudiagnosen in Deutschland werden bei MSM festgestellt. Bei einer Befragung unter MSM (2013 / 2014) gab weniger als die Hälfte der Befragten an, dass ihr letzter HIV-Test im niedergelassenen Bereich durchgeführt wurde (44). Auch eine internationale Studie unter MSM berichtet davon, dass etwa 33% der HIV-negativen MSM und 37% der HIV-positiven MSM ihren letzten HIV-Test im niedergelassenen Bereich erhielten (45). So spricht einiges dafür, dass

MSM sich eher in anderen Testeinrichtungen testen lassen und somit womöglich dort eher mehr HIV-Neudiagnosen registriert werden als im niedergelassenen Bereich. Dafür spricht auch eine Studie (2011-2012) von Marcus et al. in einer niedrighschwelligem Testeinrichtung, wo eine HIV-Positivrate von 2,9% gefunden wurde (51).

### **Schlussfolgerung**

Mithilfe verschiedener Labortestverfahren konnte eine langfristige Surveillance von rezenten HIV-Infektionen in Deutschland aufgebaut werden. Die Nutzung von Filterpapierproben für die Surveillance als Untersuchungsmaterial konnte im Rahmen der vorgestellten Veröffentlichungen bestätigt werden. Die Verwendung der Filterpapierproben führte dazu, dass bei rezenten HIV-Infektionen zusätzliche Informationen zum HIV-Subtyp und aktuell übertragene Resistenzen gegen verfügbare Medikamente flächendeckend und repräsentativ für rezente HIV-Infektionen gesammelt werden konnte. Seit Ende 2018 wird der BED-CEIA nicht mehr in Deutschland verwendet, daher war es wichtig, auch andere Verfahren zur Ermittlung von rezenten HIV-Infektionen zu überprüfen. So konnte beispielsweise der BioRad Aviditätstest zeitgleich mit dem BED-CEIA für einige Jahre verwendet werden, bevor der BED-CEIA nicht mehr produziert wurde. Es konnte dabei gezeigt werden, dass trotz des Wegfalls des BED-CEIA noch Trendanalysen möglich sind (39). Mithilfe der Surveillance von rezenten HIV-Infektionen kann somit eine Wissenslücke geschlossen werden. Es besteht nun die Möglichkeit mit der erweiterten Surveillance, das aktuelle Infektionsgeschehen zu überwachen und so Einfluss auf die Resistenzentwicklung und die Entwicklung von Leitlinien zur Therapie zu nehmen.

Die aufgebaute Surveillance von rezenten HIV-Infektionen mit der integrierten molekularen Surveillance erlaubt dabei die Überwachung der aktuell zirkulierenden HIV-Subtypen sowie der aktuell zirkulierenden übertragenden Resistenzen. Damit erhält man einen Überblick über aktuelle Übertragungen von HIV-Infektionen sowie die Identifikation von Subgruppen, in denen aktuell HIV übertragen wird, so können diese Gruppen durch spezielle Präventionsprogramme besser angesprochen werden. Detaillierte Informationen zu aufkommenden rekombinanten Formen oder TDR und ihre Transmissionsrouten könnten dazu beitragen, die therapeutischen Strategien zu überwachen oder zielgerecht präventive Maßnahmen zu verbessern.

Durch die erstmalige Auswertung der vom Zi zur Verfügung gestellten Daten konnte erfolgreich der Nutzen von Routinedaten für die Surveillance von HIV-Infektionen gezeigt werden (27). Die Nutzung von Routinedaten für die Surveillance von HIV-Infektionen ist somit eine gute

Möglichkeit, um im Rahmen der WHO-Strategie zur Elimination von AIDS Informationen über Personen zu erhalten, die auf HIV getestet wurden, und somit ihren HIV-Status kennen. Allerdings kann man über die Analyse der Daten nur diejenigen ermitteln, die im niedergelassenen Bereich getestet wurden. In Deutschland stehen der Bevölkerung jedoch noch andere Testmöglichkeiten zur Verfügung, die in diesen Daten nicht erfasst sind. Mittels Laborbefragungen erhält man die Anzahl der durchgeführten HIV-Test, die auch außerhalb des niedergelassenen Bereichs durchgeführt wurden (15-17). Um nun die Routinedaten zukünftig weiter für die HIV-Surveillance nutzen zu können, sind weitere Analysen notwendig z.B. um zu untersuchen wie viele Tests je Person im niedergelassenen Bereich pro Jahr durchgeführt wurden. Diese Information könnte dann eventuell genutzt werden um bei Laborbefragungen die ermittelten Testzahlen besser interpretieren zu können. Für die Nutzung von Routinedaten für die HIV-Surveillance ist auch wichtig, die Anzahl der Personen zu ermitteln, bei denen nach einer durchlaufenen Stufendiagnostik erstmalig eine HIV-relevante Diagnose kodiert wurde. Dies sollte in einer weiteren Zusammenarbeit mit dem Zi oder Besitzern von Routinedaten erprobt werden. Routinedaten sollten für die erweiterte Surveillance weiterhin genutzt werden, da damit u.a. auch weitere Ziele der WHO-Strategie überwacht werden könnten. Um Informationen zu Personen zu erhalten, die außerhalb des ambulanten Bereichs auf HIV getestet wurden, sind dennoch regelmäßige weitere Befragungen notwendig, um alle Testmöglichkeiten zu erfassen und damit die tatsächliche Anzahl der Personen zu bestimmen, die in Deutschland ihren HIV-Status kennen. Zusätzlich können diese Routinedaten auch für die statistische Modellierung der Inzidenz und Prävalenz von HIV-Infektionen in Deutschland verwendet werden.



## 1.7. Literaturverzeichnis

1. UNAIDS Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. UNAIDS data 2019. Geneva: UNAIDS; 2019. Report No.: UNAIDS/JC2959E. Available from: [https://www.unaids.org/sites/default/files/media\\_asset/2019-UNAIDS-data\\_en.pdf](https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/2019-UNAIDS-data_en.pdf)
2. European Centre for Disease Prevention and Control. Continuum of HIV care. Monitoring implementation of the Dublin Declaration on partnership to fight HIV/AIDS in Europe and Central Asia: 2018 progress report. Stockholm: ECDC; 2019. DOI: <https://doi.org/10.2900/89066>
3. an der Heiden M, Marcus U, Kollan C, Schmidt D, Gunsenheimer-Bartmeyer B, Bremer V. Schätzung der Zahl der HIV-Neuinfektionen und der Gesamtzahl von Menschen, die mit HIV in Deutschland leben, Stand Ende 2018. Epidemiologisches Bulletin. 2019(46):483-92. DOI: <http://dx.doi.org/10.25646/6410>
4. Robert Koch-Institut. HIV-Infektion / AIDS - RKI Ratgeber Berlin: Robert Koch-Institut; 2018 [updated 22.11.2018; cited 2020 16.06.2020]. Available from: [https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber\\_HIV\\_AIDS.html](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_HIV_AIDS.html).
5. Rabenau HF, Bannert N, Berger A, Donoso Mantke O, Eberle J, Enders M, Fickenscher H, Grunert HP, Gurtler L, Heim A, Huzly D, Kaiser R, Korn K, Nick S, Kucherer C, Nubling M, Obermeier M, Panning M, Zeichhardt H. Nachweis einer Infektion mit Humenem Immundefizienzvirus (HIV): Serologisches Screening mit nachfolgender Bestätigungsdiagnostik durch Antikörper-basierte Testsysteme und / oder durch HIV-Nukleinsäure-Nachweis. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz. 2015;58(8):877-86. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00103-015-2174-x>
6. World Health Organization. Global health sector strategy on HIV 2016-2021. Towards ending AIDS. Geneva: World Health Organization; 2016 2016. Report No.: WHO/HIV/2016.05. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/246178>
7. Lundgren JD, Babiker AG, Gordin F, Emery S, Grund B, Sharma S, Avihingsanon A, Cooper DA, Fätkenheuer G, Llibre JM, Molina JM, Munderi P, Schechter M, Wood R, Klingman KL, Collins S, Lane HC, Phillips AN, Neaton JD. Initiation of Antiretroviral Therapy in Early Asymptomatic HIV Infection. N Engl J Med. 2015;373(9):795-807. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1506816>
8. Ludwig M-S. Surveillance. In: Schlipkötter U, Wildner M, editors. Lehrbuch Infektionsepidemiologie. Bern: Huber; 2006. p. 57-67.
9. Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen (Infektionsschutzgesetz - IfSG) (Bundesgesetzblatt Jahrgang 2000 Teil I Nr. 33, ausgegeben zu Bonn am 25. Juli 2000, 2000).
10. Robert Koch-Institut. Anmerkungen zur Erfassung von HIV-Infektionen auf der Grundlage des neuen Infektionsschutzgesetzes. Epidemiologisches Bulletin. 2001;Sonderausgabe A:4.
11. Heißenhuber A, Kuhn J. Allgemeine Grundlagen der Epidemiologie. In: Schlipkötter U, Wildner M, editors. Lehrbuch Infektionsepidemiologie. Bern: Huber; 2006. p. 31-40.

12. Robert Koch-Institut. HIV-Jahresbericht 2016. Epidemiologisches Bulletin. 2017;39/2017:431-56. DOI: <https://doi.org/10.17886/EpiBull-2017-051>
13. an der Heiden M, Marcus U, Kollan C, Schmidt D, Voß L, Gunsenheimer-Bartmeyer B, Bremer V. Schätzung der Zahl der HIV-Neuinfektionen und der Gesamtzahl von Menschen mit HIV in Deutschland - 7. Anhang: Methoden zur Schätzung der HIV-Neuinfektionen und der Gesamtzahl von Menschen mit HIV in Deutschland. Epidemiologisches Bulletin. 2018(47):520-2. DOI: <https://doi.org/10.17886/EpiBull-2018-056.2>
14. Koppe U, Hanke K, Fiebig U, Schmidt D, Meixenberger K, Pantke A, Gunsenheimer-Bartmeyer B, Kollan C, Kühne A, Marcus U, Bannert N, Bremer V. HIV-Studien und HIV-Projekte am Robert Koch-Institut. Epidemiologisches Bulletin. 2019(49):527-39. DOI: <https://doi.org/10.25646/6423.2>
15. Robert Koch-Institut. „HIV-Nennerstudie“: Online Laborbefragung zur Bestandsaufnahme der HIV-Diagnostik in Deutschland 2011. Epidemiologisches Bulletin. 2015;07(15):47-50. DOI: <http://dx.doi.org/10.25646/4699>
16. Robert Koch-Institut. Webbasierte Erhebung zur HIV-Diagnostik in Deutschland 2009. Epidemiologisches Bulletin. 2010;2010(39):391-5. DOI: <http://dx.doi.org/10.25646/4474>
17. Robert Koch-Institut. Zu in Deutschland durchgeführten HIV-Such- und -Bestätigungstests im Jahr 2004. Epidemiologisches Bulletin. 2006;2006(1):2-5. DOI: <http://dx.doi.org/10.25646/4214>
18. Hofmann A, Hauser A, Zimmermann R, Santos-Hovener C, Batzing-Feigenbaum J, Wildner S, Kucherer C, Bannert N, Hamouda O, Bremer V, Bartmeyer B. Surveillance of recent HIV infections among newly diagnosed HIV cases in Germany between 2008 and 2014. BMC Infect Dis. 2017;17(1):484. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12879-017-2585-4>
19. Parekh BS, Kennedy MS, Dobbs T, Pau CP, Byers R, Green T, Hu DJ, Vanichseni S, Young NL, Choopanya K, Mastro TD, McDougal JS. Quantitative detection of increasing HIV type 1 antibodies after seroconversion: a simple assay for detecting recent HIV infection and estimating incidence. AIDS research and human retroviruses. 2002;18(4):295-307. DOI: <https://doi.org/10.1089/088922202753472874>
20. Bätzing-Feigenbaum J, Loschen S, Gohlke-Micknis S, Hintsche B, Rausch M, Hillenbrand H, Cordes C, Poggensee G, Kucherer C, Hamouda O. Implications of and perspectives on HIV surveillance using a serological method to measure recent HIV infections in newly diagnosed individuals: results from a pilot study in Berlin, Germany, in 2005-2007. HIV Medicine. 2009;10(4):209-18. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1468-1293.2008.00672.x>
21. Bätzing-Feigenbaum J, Loschen S, Gohlke-Micknis S, Zimmermann R, Herrmann A, Kamga Wambo O, Kucherer C, Hamouda O. Country-wide HIV incidence study complementing HIV surveillance in Germany. Euro Surveill. 2008;13(36). DOI: <http://dx.doi.org/10.25646/568>
22. Hauser A, Hofmann A, Hanke K, Bremer V, Bartmeyer B, Kuecherer C, Bannert N. National molecular surveillance of recently acquired HIV infections in Germany, 2013 to 2014. Euro Surveill. 2017;22(2). DOI: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2017.22.2.30436>

23. Hauser A, Hofmann A, Meixenberger K, Altmann B, Hanke K, Bremer V, Bartmeyer B, Bannert N. Increasing proportions of HIV-1 non-B subtypes and of NNRTI resistance between 2013 and 2016 in Germany: Results from the national molecular surveillance of new HIV-diagnoses. *PLoS One*. 2018;13(11):e0206234. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206234>
24. Wittkop L, Gunthard HF, de Wolf F, Dunn D, Cozzi-Lepri A, de Luca A, Kucherer C, Obel N, von Wyl V, Masquelier B, Stephan C, Torti C, Antinori A, Garcia F, Judd A, Porter K, Thiebaut R, Castro H, van Sighem AI, Colin C, Kjaer J, Lundgren JD, Paredes R, Pozniak A, Clotet B, Phillips A, Pillay D, Chene G, EuroCoord Csg. Effect of transmitted drug resistance on virological and immunological response to initial combination antiretroviral therapy for HIV (EuroCoord-CHAIN joint project): a European multicohort study. *Lancet Infect Dis*. 2011;11(5):363-71. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(11\)70032-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(11)70032-9)
25. World Health Organisation. WHO HIVResNet HIV drug resistance laboratory strategy. 2010. Available from: [https://www.who.int/hiv/pub/drugresistance/hiv\\_reslab\\_strategy.pdf](https://www.who.int/hiv/pub/drugresistance/hiv_reslab_strategy.pdf)
26. Bundesministerium für Gesundheit. Gesetzlicher Anspruch für HIV-Präexpositionsprophylaxe (PrEP) kommt 2019 [06.03.2021]. Available from: <https://www.bundesgesundheitsministerium.de/terminservice-und-versorgungsgesetz/prep.html>.
27. Hofmann A, Batzing J, Marcus U, Bremer V, Bartmeyer B. Wie viele Personen lassen sich in Deutschland im niedergelassenen Bereich auf HIV testen? *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*. 2020;63(10):1262-70. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00103-020-03210-y>
28. Loschen S, Batzing-Feigenbaum J, Poggensee G, Cordes C, Hintsche B, Rausch M, Dupke S, Gohlke-Micknis S, Rodig J, Hamouda O, Kucherer C. Comparison of the human immunodeficiency virus (HIV) type 1-specific immunoglobulin G capture enzyme-linked immunosorbent assay and the avidity index method for identification of recent HIV infections. *J Clin Microbiol*. 2008;46(1):341-5. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.01055-07>
29. European Centre for Disease Prevention and Control. Monitoring recently acquired HIV infections in the European context. Technical Report. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control; 2013 25.01.2016. Report No.: 978-92-9193479-9. DOI: <https://doi.org/10.2900/85544>
30. Masciotra S, Garrido C, Youngpairoj AS, McNulty A, Zahonero N, Corral A, Heneine W, de Mendoza C, Garcia-Lerma JG. High concordance between HIV-1 drug resistance genotypes generated from plasma and dried blood spots in antiretroviral-experienced patients. *AIDS (London, England)*. 2007;21(18):2503-11. DOI: <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e3281c618db>
31. World Health Organisation, WHO HIV ResNet Laboratory Working group. WHO Manual for HIV drug resistance testing using dried blood spot specimens. 2012. Report No.: WHO/HIV/2012.30. Available from: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/75829/1/WHO\\_HIV\\_2012.30\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/75829/1/WHO_HIV_2012.30_eng.pdf)

32. Cleland A, Davis C, Adams N, Lycett C, Jarvis LM, Holmes H, Simmonds P. Development of multiplexed nucleic acid testing for human immunodeficiency virus type 1 and hepatitis C virus. *Vox Sang.* 2001;81(2):93-101. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1423-0410.2001.00093.x>
33. Struck D, Lawyer G, Ternes AM, Schmit JC, Bercoff DP. COMET: adaptive context-based modeling for ultrafast HIV-1 subtype identification. *Nucleic Acids Res.* 2014;42(18):e144. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gku739>
34. Bennett DE, Camacho RJ, Otelea D, Kuritzkes DR, Fleury H, Kiuchi M, Heneine W, Kantor R, Jordan MR, Schapiro JM, Vandamme AM, Sandstrom P, Boucher CA, van de Vijver D, Rhee SY, Liu TF, Pillay D, Shafer RW. Drug resistance mutations for surveillance of transmitted HIV-1 drug-resistance: 2009 update. *PLoS One.* 2009;4(3):e4724. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004724>
35. Machnowska P, Hauser A, Meixenberger K, Altmann B, Bannert N, Rempis E, Schnack A, Decker S, Braun V, Busingye P, Rubaihayo J, Harms G, Theuring S. Decreased emergence of HIV-1 drug resistance mutations in a cohort of Ugandan women initiating option B+ for PMTCT. *PLoS One.* 2017;12(5):e0178297. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178297>
36. Pineda-Pena AC, Faria NR, Imbrechts S, Libin P, Abecasis AB, Deforche K, Gomez-Lopez A, Camacho RJ, de Oliveira T, Vandamme AM. Automated subtyping of HIV-1 genetic sequences for clinical and surveillance purposes: performance evaluation of the new REGA version 3 and seven other tools. *Infect Genet Evol.* 2013;19:337-48. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.04.032>
37. Zu Knyphausen F, Scheufele R, Kucherer C, Jansen K, Somogyi S, Dupke S, Jessen H, Schurmann D, Hamouda O, Meixenberger K, Bartmeyer B. First line treatment response in patients with transmitted HIV drug resistance and well defined time point of HIV infection: updated results from the German HIV-1 seroconverter study. *PLoS One.* 2014;9(5):e95956. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095956>
38. Hauser A, Santos-Hoeverer C, Meixenberger K, Zimmermann R, Somogyi S, Fiedler S, Hofmann A, Bartmeyer B, Jansen K, Hamouda O, Bannert N, Kuecherer C. Improved testing of recent HIV-1 infections with the BioRad avidity assay compared to the limiting antigen avidity assay and BED Capture enzyme immunoassay: evaluation using reference sample panels from the German Seroconverter Cohort. *PLoS One.* 2014;9(6):e98038. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098038>
39. Hauser A, Heiden MA, Meixenberger K, Han O, Fiedler S, Hanke K, Koppe U, Hofmann A, Bremer V, Bartmeyer B, Kuecherer C, Bannert N. Evaluation of a BioRad Avidity assay for identification of recent HIV-1 infections using dried serum or plasma spots. *J Virol Methods.* 2019;266:114-20. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2019.02.002>
40. Hauser A, Meixenberger K, Machnowska P, Fiedler S, Hanke K, Hofmann A, Bartmeyer B, Bremer V, Bannert N, Kuecherer C. Robust and sensitive subtype-generic HIV-1 pol genotyping for use with dried serum spots in epidemiological studies. *J Virol Methods.* 2018;259:32-8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2018.05.013>

41. Kassenärztliche Bundesvereinigung. Einheitlicher Bewertungsmaßstab (EBM) Stand: 4. Quartal 2015 Berlin 2015 [18.10.2017]. Available from: [https://www.kbv.de/media/EBM-2009-Archiv\\_2.zip](https://www.kbv.de/media/EBM-2009-Archiv_2.zip).
42. Gokengin D, Geretti AM, Begovac J, Palfreeman A, Stevanovic M, Tarasenko O, Radcliffe K. 2014 European Guideline on HIV testing. *Int J STD AIDS*. 2014;25(10):695-704. DOI: <https://doi.org/10.1177/0956462414531244>
43. Deutsche STI-Gesellschaft (DSTIG), Ärztliche Gesellschaft zur Gesundheitsförderung e.V. (AGGF), Bundesverband der Kinder- und Jugendärzte e.V. (BVKJ), Deutsche AIDS-Gesellschaft e.V. (DAIG), Deutsche Arbeitsgemeinschaft niedergelassener Ärzte für die Versorgung HIV-Infizierter (DAGNÄ e.V.), Deutscher Dermatologische Gesellschaft (DDG), Deutsche Gesellschaft für Allgemeinmedizin und Familienmedizin e.V. (DEGAM), Deutsche Gesellschaft für Andrologie (DGA), Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG), Deutsche Gesellschaft für Infektiologie (DGI), Deutsche Gesellschaft für psychosomatische Frauenheilkunde und Geburtshilfe (DGPF), Deutsche Gesellschaft für Rechtsmedizin (DGRM), Deutsche Gesellschaft für Sexualforschung (DGfS), Deutsche Gesellschaft für Urologie e.V. (DGU), Gesellschaft für Sexualpädagogik (GSP), Gemeinsame Diagnostikkommission der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten (DVV) und der Gesellschaft für Virologie (GfV), Kompetenznetz HIV/AIDS, Robert Koch-Institut. Sexuell übertragbare Infektionen (STI) – Beratung, Diagnostik und Therapie - AWMF S2k Leitlinie Registernummer 059 – 006. Berlin: Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V. (AWMF) e.V.; 2018. Available from: <https://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/059-006.html>
44. Marcus U, Gassowski M, Kruspe M, Drewes J. Recency and frequency of HIV testing among men who have sex with men in Germany and socio-demographic factors associated with testing behaviour. *BMC Public Health*. 2015;15:727. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12889-015-1945-5>
45. The EMIS Network. EMIS-2017 – The European Men-Who-Have-Sex-With-Men Internet Survey. Key findings from 50 countries. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control; 2019. DOI: <https://doi.org/10.2900/690387>
46. Hemelaar J, Gouws E, Ghys PD, Osmanov S. Global and regional distribution of HIV-1 genetic subtypes and recombinants in 2004. *AIDS (London, England)*. 2006;20(16):W13-23. DOI: <https://doi.org/10.1097/01.aids.0000247564.73009.bc>
47. Beloukas A, Psarris A, Giannelou P, Kostaki E, Hatzakis A, Paraskevis D. Molecular epidemiology of HIV-1 infection in Europe: An overview. *Infect Genet Evol*. 2016;46:180-9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.06.033>
48. Hofstra LM, Sauvageot N, Albert J, Alexiev I, Garcia F, Struck D, Van de Vijver D, Asjo B, Beshkov D, Coughlan S, Descamps D, Griskevicius A, Hamouda O, Horban A, Van Kasteren M, Kolupajeva T, Kostrikis LG, Liitsola K, Linka M, Mor O, Nielsen C, Otelea D, Paraskevis D, Paredes R, Poljak M, Puchhammer-Stockl E, Sonnerborg A, Stanekova D, Stanojevic M, Van Laethem K, Zazzi M, Zidovec Lepej S, Boucher CAB, Schmit JC, Wensing AMJ, for the Spread Program. Transmission of HIV Drug Resistance and the Predicted Effect on Current First-line Regimens in Europe. *Clin Infect Dis*. 2016;62(5):655-63. DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/civ963>

49. Verzeichnis der Beschlüsse der Europäischen Union über die Zulassung von Arzneimitteln vom 1. August 2016 bis 31. August 2016 (Veröffentlichung gemäß Artikel 13 bzw. Artikel 38 der Verordnung (EG) Nr. 726/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates) OJ C 362, 30.9.2016, p. 1–9 Sect. 362/1 (2016).
50. Böhm K. Gesundheitszustand der Bevölkerung und Ressourcen der Gesundheitsversorgung. In: Statistisches Bundesamt (Destatis), Wissenschaftszentrum Berlin für Sozialforschung (WZB), Bundesinstitut für Bevölkerungsforschung (BiB), Sozio-oekonomische Panel (SOEP) am Deutschen Institut für Wirtschaftsforschung (DIW Berlin), editors. Datenreport 2021 - Ein Sozialbericht für die Bundesrepublik Deutschland. Bonn: Bundeszentrale für politische Bildung; 2021. p. 325-33.
51. Marcus U, Ort J, Grenz M, Eckstein K, Wirtz K, Wille A. Risk factors for HIV and STI diagnosis in a community-based HIV/STI testing and counselling site for men having sex with men (MSM) in a large German city in 2011-2012. BMC Infect Dis. 2015;15:14. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12879-014-0738-2>

## 2. Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Alexandra Hofmann, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: Erweiterte Surveillance von HIV-Infektionen - Enhanced HIV Surveillance selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; [www.icmje.org](http://www.icmje.org)) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité - Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

### 3. Anteilserklärung an den erfolgten Publikationen

Alexandra Hofmann hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

**Publikation 1: Hofmann A**, Hauser A, Zimmermann R, Santos-Hövenner C, Bätzing-Feigenbaum J, Wildner S, Kücherer C, Bannert N, Hamouda O, Bremer V, Bartmeyer B.: Surveillance of recent HIV infections among newly diagnosed HIV cases in Germany between 2008 and 2014. BMC Infectious Diseases. 2017;17(1):484. DOI: 10.1186/s12879-017-2585-4. Impact factor: 2,620 für 2017 (Quelle: Journal Citation Reports)

- Verantwortlich für die Durchführung der Studie InzSurv-HIV
- Federführung bei der Konzeption des Artikels
- Durchführung der Literaturrecherche und Auswahl der relevanten Literatur
- Eigenverantwortliche Bereinigung und Analyse der Daten
- Federführung bei der Erstellung der Tabellen und Grafiken
- Federführung beim Verfassen und überarbeiten der Publikation
- Interpretation der Ergebnisse in Zusammenarbeit mit den Koautoren

**Publikation 2:** Hauser A, **Hofmann A**, Hanke K, Bremer V, Bartmeyer B, Kuecherer C, Bannert N.: National molecular surveillance of recently acquired HIV infections in Germany, 2013 to 2014. Euro Surveill. 2017;22(2). DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2017.22.2.30436. Impact factor: 7,127 für 2017 (Quelle: Journal Citation Reports)

- Bereitstellung und Datenbereinigung der epidemiologischen Daten aus der Studie InzSurv-HIV
- Unterstützung bei der Analyse der Daten
- Prüfung der Tabellen und Grafiken
- Interpretation der Ergebnisse in Zusammenarbeit mit den Koautoren
- Revidieren des Manuskripts

**Publikation 3:** Hauser A, **Hofmann A**, Meixenberger K, Altmann B, Hanke K, Bremer V, Bartmeyer B, Bannert N.: Increasing proportions of HIV-1 non-B subtypes and of NNRTI resistance between 2013 and 2016 in Germany: Results from the national molecular surveillance of new HIV-diagnoses. PLoS One. 2018;13(11): e0206234. DOI: 10.1371/journal.pone.0206234. Impact factor: 2,776 für 2018 (Quelle: Journal Citation Reports)



- Bereitstellung und Datenbereinigung der epidemiologischen Daten aus der Studie InzSurv-HIV
- Unterstützung bei der Datenanalyse
- Prüfung der Tabellen und Grafiken
- Interpretation der Ergebnisse in Zusammenarbeit mit den Koautoren
- Revidieren des Manuskripts

**Publikation 4: Hofmann, A**, Bätzing, J, Marcus, U, Bremer, V, Bartmeyer, B: Wie viele Personen lassen sich in Deutschland im niedergelassenen Bereich auf HIV testen?. Bundesgesundheitsbl 63, 1262–1270 (2020). DOI: 10.1007/s00103-020-03210-y.

Impact factor: 1,059 für 2019 (Quelle: Journal Citation Reports)

- Verantwortlich für die Konzeption und Durchführung der Studie zur Ermittlung der getesteten Personen im niedergelassenen Bereich
- Federführung bei der Konzeption des Artikels
- Durchführung der Literaturrecherche und Auswahl der relevanten Literatur
- Analyse der durch das Zi zusammengestellten aggregierten Daten
- Federführung bei der Erstellung der Tabellen und Grafiken
- Federführung beim Verfassen und überarbeiten der Publikation
- Interpretation der Ergebnisse in Zusammenarbeit mit den Koautoren

---

Unterschrift der Doktorandin

## 4. Originalarbeiten als Promotionsleistung

### Publikation 1

**Hofmann A**, Hauser A, Zimmermann R, Santos-Hövenner C, Bätzing-Feigenbaum J, Wildner S, Kücherer C, Bannert N, Hamouda O, Bremer V, Bartmeyer B.: Surveillance of recent HIV infections among newly diagnosed HIV cases in Germany between 2008 and 2014. BMC Infectious Diseases. 2017;17(1):484. DOI: 10.1186/s12879-017-2585-4. Impact factor: 2,620 für 2017 (Quelle: Journal Citation Reports)

RESEARCH ARTICLE

Open Access



# Surveillance of recent HIV infections among newly diagnosed HIV cases in Germany between 2008 and 2014

Alexandra Hofmann<sup>1,2\*</sup>, Andrea Hauser<sup>3</sup>, Ruth Zimmermann<sup>1</sup>, Claudia Santos-Hövenner<sup>1</sup>, Jörg Bätzing-Feigenbaum<sup>4</sup>, Stephan Wildner<sup>5</sup>, Claudia Kücherer<sup>3</sup>, Norbert Bannert<sup>3</sup>, Osamah Hamouda<sup>6</sup>, Viviane Bremer<sup>1</sup> and Barbara Bartmeyer<sup>1</sup>

## Abstract

**Background:** The HIV surveillance system in Germany is based on mandatory, anonymous notification of newly diagnosed HIV cases by laboratories. Because the time between HIV infection and the diagnosis of HIV varies widely between persons, it is difficult to determine the number of cases of recent HIV infection among newly diagnosed cases of HIV. In Germany, the BED-capture-enzyme immunoassay (BED-CEIA) has been used to distinguish between recent and long-standing HIV infection. The aim of this analysis is to report the proportion of cases of recent HIV infection among newly diagnosed cases in Germany between 2008 and 2014 and to identify factors associated with recent infections.

**Methods:** A sample of voluntary laboratories among all HIV diagnostic laboratories was recruited. Residual blood from HIV diagnostic tests was spotted on filter paper as dried serum or dried plasma spots and was sent along with the notification form of the HIV cases. The BED-CEIA test was performed. A case was defined as recent HIV infection with a BED-CEIA test result of less than 0.8 normalized optical density, with the exclusion of CDC stage C. The proportion of recent newly diagnosed HIV infections among different groups (such as transmission groups, gender or age groups) was calculated. We used logistic regression to identify factors associated with recent HIV infection and to identify subpopulations with high proportions of recent HIV infections.

**Results:** Approximately 10,257 newly diagnosed cases were tested for recency using the BED-CEIA. In total, 3084 (30.4%) of those were recently infected with HIV. The highest proportion of recent HIV infections was found among men who had sex with men (MSM) (35%) and persons between 18 and 25 years of age (43.0%). Logistic regression revealed that female German intravenous drug users with a recent HIV infection had a higher chance of being detected than German MSM (OR 2.27).

**Conclusions:** Surveillance of recent HIV infection is a useful additional tool to monitor the HIV epidemic in Germany. We could observe ongoing HIV transmission in Germany in general and in different subgroups, and we could identify factors associated with recent HIV infection in Germany.

**Keywords:** Surveillance, HIV, Recent HIV infection, Test for recency of infection, Bed-CEIA, Germany

\* Correspondence: HofmannA@rki.de

<sup>1</sup>Department for Infectious Disease Epidemiology, Unit 34 HIV/AIDS, STI and Blood-Borne Infections, Robert Koch-Institute, Seestr.10, 13353 Berlin, Germany

<sup>2</sup>Charité, Universitätsmedizin, Berlin, Germany

Full list of author information is available at the end of the article



## Background

In 2014, 83,400 (77,000–91,200) people were estimated to be living with HIV/AIDS in Germany. The majority of them were men who have sex with men (MSM; approximately 53,800), followed by people who were infected heterosexually with HIV (HET; approximately 10,500) and approximately 7900 persons who were intravenous drug users (IDU). The estimated HIV epidemic in Germany peaked in 1985, followed by a decline in the 1990s, an increase from 2000 to 2006, and stable infection rates from 2006 to 2014. It was estimated by modeling that in 2014, approximately 3200 people were newly infected with HIV. The highest estimated number of HIV infections occurred among MSM (2300) [1].

In Germany, the HIV surveillance system is based on mandatory, anonymous notification of newly diagnosed HIV cases by laboratories. Additional epidemiological information regarding the HIV mode of transmission and other clinical data is reported by physicians. AIDS case reporting is voluntary [2]. In addition to HIV notification data, several long-term observational cohort studies in different HIV-positive populations, such as the study on the clinical surveillance of HIV disease [3], the German HIV seroconverter study [4] and other biological and behavioural studies in the most affected vulnerable groups have been performed.

The time between HIV infection and the diagnosis of HIV varies widely between individuals. Therefore, it is difficult to calculate the number of persons newly infected with HIV per year to determine the incidence of HIV infections by exclusively using newly diagnosed HIV cases. As a consequence, all other supportive sources, such as the HIV cohorts and the mortality register, are used to model the incidence of new HIV infections per year and the number of people who live with HIV/AIDS in Germany by using the imputation method [1, 5].

In addition to modelling an estimated incidence and prevalence of HIV infected persons in Germany, cases of newly diagnosed HIV are regularly tested serologically for recent HIV infection (TRI) since 2011 to improve the method of estimating the HIV epidemic in Germany and to identify populations with recent transmission of HIV. Numerous serological assays for TRI were developed and applied within the last decade [6–9]. Most of the tests are based on the measurement of the maturation of HIV-1 specific antibodies, which occur within the first two years after seroconversion [10, 11]. Accordingly, based on the increase of the antibody titres [12–14], the proportion of HIV-specific immunoglobulin G (IgG) antibodies relative to total IgG [15] or the avidity of antibodies [16–20], TRIs can distinguish between recently acquired and long-standing infections. For many years, the BED-capture-enzyme immunoassay (BED-CEIA) [15] was the most

commonly used recency assay [21–23]. The BED-CEIA was evaluated for Germany in a pilot study (2005–2007) [24] and finally applied in a nationwide cross-sectional incidence study [25, 26]. The findings in this study were used to implement a nationwide surveillance system of recent HIV infections in 2011.

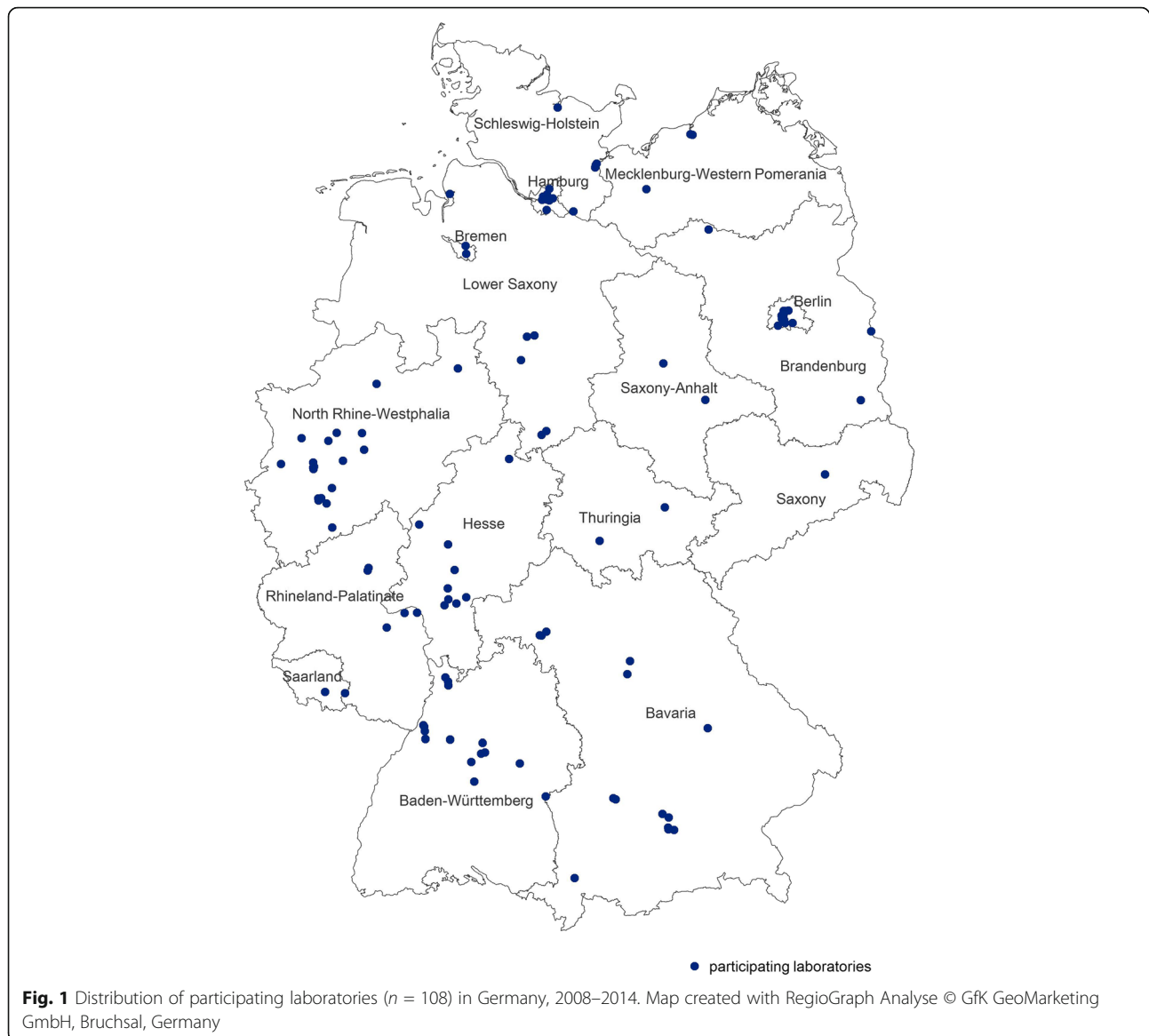
The aim of this analysis is to report the proportions of recent HIV infections among newly diagnosed HIV cases in Germany between 2008 and 2014 and to identify factors associated with recent infection in order to provide insight into current HIV transmission dynamics.

## Methods

### Sample collection

Newly diagnosed HIV cases were directly reported by laboratories to the Robert Koch Institute, RKI, which is the national public health institute of Germany. As the number of HIV notifications varies a lot between the reporting laboratories in Germany, only a subgroup of laboratories were recruited using convenience sampling for this analysis ( $n = 108$ ; Fig. 1). This subgroup of laboratories notified 90.5% of all newly HIV diagnosed cases between 2008 and 2014. These laboratories collected blood residuals from HIV diagnostics, which were spotted on filter paper (Whatman # 903, GE Healthcare Bio-Science Corp, Westborough, USA) as dried serum spots (DSS) or dried plasma spots (DPS) for the surveillance of recent HIV infections. The DSS/DPS samples were sent together with the routine HIV notification form to the RKI. For this analysis, DSS/DPS samples were used from two different studies. They were collected between 1st March 2008 and 30th June 2010 for a nationwide cross-sectional study and between the 1st January 2011 and 31st December 2014 for the study “surveillance of recent HIV infections”.

For this analysis, only persons were included, who were newly diagnosed with HIV between 2008 and 2014 and with one additional DSS/DPS sample available. HIV notifications and DSS/DPS samples were linked by using the number of the HIV notification form. Data on age, gender, mode of transmission, region of origin and assumed region of infection were used from the associated HIV notification form. Exclusion criteria for this analysis were unknown information on gender or age, age below 18 years, being infected with HIV via mother to child transmission, or DSS/DPS samples from double-notified HIV cases (Fig. 2). Ethical approval for the nationwide cross-sectional study was given by the ethics board at the Charité, University Medicine, Berlin, as well as approval from the data protection office of Germany according to the Federal Data Protection Act. The DSS/DPS samples used were residuals from routine HIV diagnostic processing; therefore, no patient informed consent was given. Furthermore, the DSS/DPS samples



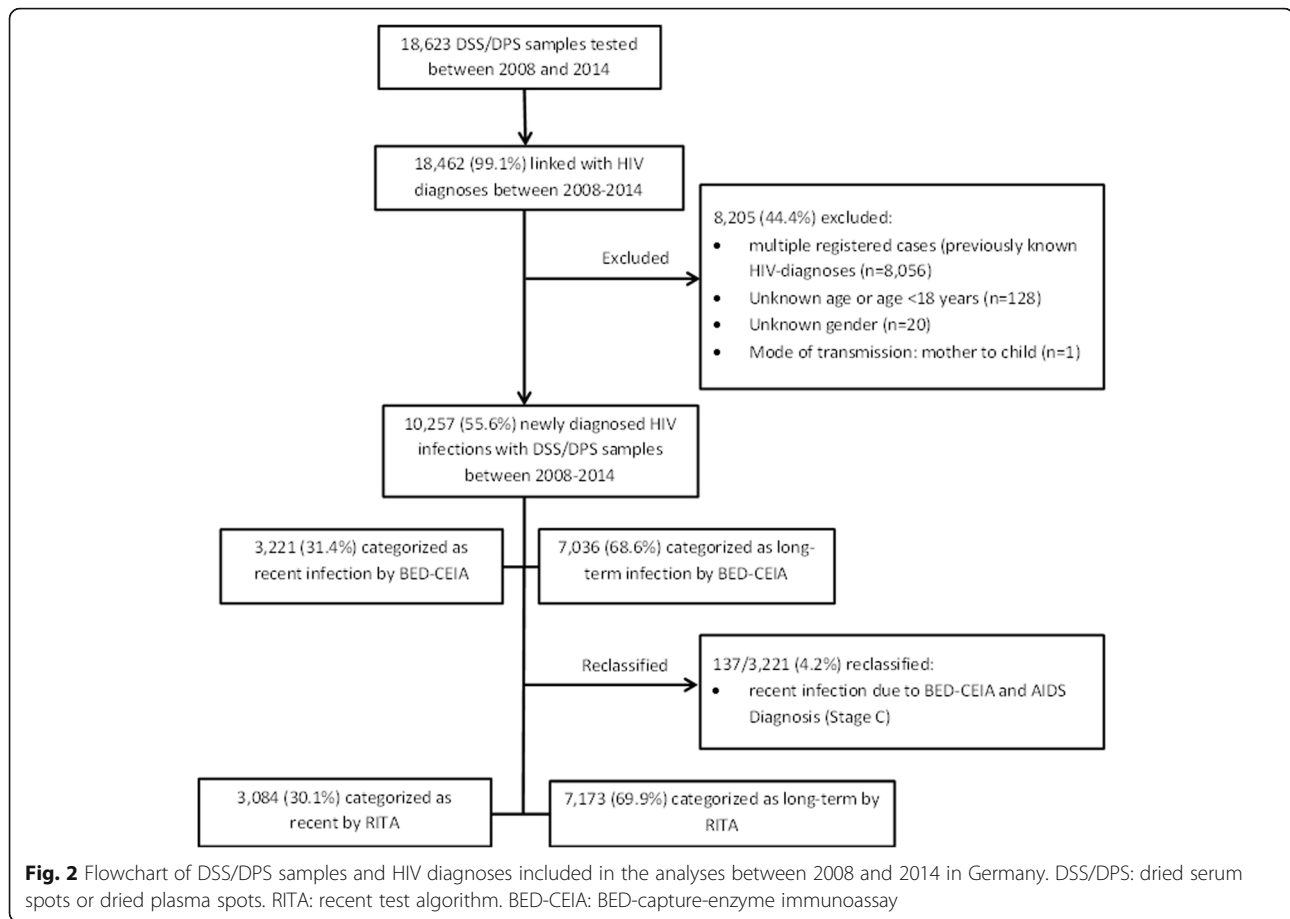
cannot be linked to an individual person because the HIV notification system is strictly anonymous. Additionally, the BED-CEIA is only licensed for epidemiological studies and not for individual diagnosis. Therefore, no extra benefit can be obtained by informing persons about positive BED-CEIA test results.

#### Laboratory testing

All DSS/DPS samples were tested for recency of HIV infection by the RKI study laboratory (HIV and Other Retroviruses Unit) using the BED-CEIA from the Calypte Biomedical Corporation, Portland, USA [27], and since 2014, the BED-CEIA from Sedia Biosciences Corporation, Portland, USA was used [28]. The BED-CEIA measures the proportion of HIV-1-specific immunoglobulin G (IgG) antibodies relative to total IgG at a normalized optical

density (ODn). Cases were classified as recent HIV infection or long-standing infection by the quantitative output relative to a defined cut off of  $ODn < 0.8$ . A recent HIV infection is determined, according to Sedia Biosciences Corporation, as an infection that occurred within the last 197 (range 127–236) days, or within the last 162 days for HIV subtype B [28]. Calypte reports a duration of 155 days [27], and in Germany, approximately 20 weeks (=140 days) was determined as the duration of a recent HIV infection [29]. The sensitivity and specificity of the BED-CEIA are low (81.7%; 89.1%) [15], and therefore, the test is recommended for surveillance purposes only using DSS/DPS samples from individuals who have already been diagnosed with HIV.

To minimize false recent classification of the BED-CEIA, an additional step, the recent test algorithm (RITA),



was applied following the European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) recommendation [30]. It is recommended that cases with a recent BED-CEIA test result should be recoded as long-standing infection if the case was reported with an AIDS defining illness (stage C of the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) criteria), CD4 cell counts  $< 200$  cells/mm<sup>3</sup> or a reported plasma viral load below 400 copies/ml. Data on CD4 cell counts and viral load are often missing in the HIV notification form and are therefore scarce. For example, in 2014, only 34% of the newly diagnosed HIV cases had information regarding CD4 cell count [31]. Therefore, only the information about AIDS defining illnesses reported on the notification form was used to minimize false BED-CEIA test results.

A newly diagnosed case of recent infection with HIV is therefore defined as a BED-CEIA test result with a cut off of less than 0.8 ODN and without any documented AIDS defining illnesses. In contrast, a case with long-standing HIV infection is defined as a case in which the BED-CEIA test result has a cut off equal to or higher than 0.8 ODN or an AIDS defining illness. By using this method, cases with a false recent test result can be identified and corrected; however false long-standing (FLS) test results were not corrected. To correct the FLS test

results, as well, further information about the cases is needed, such as previously documented HIV RNA+/Ab- or p24Ag+/Ab- within 180 days of the sample date, clinical symptoms of seroconversion, or previously documented HIV-negative test result within 180 days of the sample date [30]. This information is not available on the HIV notification form.

#### Statistical analysis

Analyses were performed using STATA 13.0 (Stata Statistical Software: Release 13, United States). To guarantee comparability between newly diagnosed HIV cases with DSS/DPS and all newly diagnosed HIV cases, a weight has been calculated by dividing the proportion of variable specifications among all newly diagnosed cases with the proportion of variable specifications of those newly diagnosed cases with DSS/DPS.

We analysed the number and the proportion of recent HIV infections among cases using the  $\chi^2$  test for bivariate comparison and logistic regression to assess the odds ratio for recent infections. Univariate logistic regression was performed. Factors with significant odds ratios were included in the multivariable logistic regression. Time trends were analysed by using logistic regression with recent infection

as a dependent variable and diagnosed cases with DSS/DPS per year as an independent variable. Multivariable logistic regression with recent infection as a dependent variable was also used to identify subgroups according to their gender and origin within different modes of transmission. Unknown data was included into analysis, such as unknown mode of transmission, origin or assumed region of infection for identifying subgroups. For the proportion of recent infections, the 95% confidence interval (95% CI) was calculated. A Mann-Whitney (Wilcoxon) rank sum test of medians was used to compare the age of those with recent infection and those with long-standing infection.

## Results

### Participating laboratories and availability of DSS/DPS among newly diagnosed HIV cases

Between 2008 and 2014, a total of 39,170 HIV diagnoses were reported by 227 laboratories nationwide. The participating laboratories ( $n = 108/227$ ; 47.6%) reported approximately 91.3% ( $n = 35,756$ ) of all HIV diagnoses between 2008 and 2014. Of these 39,170 HIV diagnoses, 20,896 (53.3%) were newly diagnosed cases (double or unknown notifications were excluded from analysis). During the same time period, a total of 18,623 DSS/DPS samples were sent to the RKI by these laboratories and 99.1% could be linked to an HIV notification form (Fig. 2). The distribution of the numbers of reported HIV cases by laboratories within subgroups is similar for newly diagnosed HIV cases with DSS/DPS ( $n = 10,257$ ) and all newly diagnosed cases ( $n = 20,487$  Table 1). The different weights ranged between 0.9 and 1.1 (Median 1), therefore no additional weight adjustment was included. Especially, the number of collected DSS/DPS samples differed in 2010 ( $n = 4.0$ ), when DSS/DPS samples were collected for a shorter time period than in other years. The number of collected DSS/DPS samples increased significantly over time ( $\chi^2 p < 0.001$ ).

### Characteristics of the overall study population of newly diagnosed HIV cases with DSS/DPS samples between 2008 and 2014

The study population consisted mostly of men (83.3%;  $n = 8,541/10,257$ ). The main mode of HIV transmission was MSM (58.4%), followed by an unknown mode of transmission (20.0%), HET (18.6%) and IDU (3.0%). One third (33.6%) of the study population was between 25 and 34 years old (Table 2). Most patients originated from Germany (62.4%), followed by people from sub-Saharan Africa (9.5% (Table 3). The most frequently reported presumed region of infection was Germany (69.5%), followed by sub-Saharan Africa (7.2%) (Table 3).

Information about CD4 cell count among newly diagnosed HIV cases with DSS/DPS was available from 32.1% ( $n = 3297$ ). Of those cases, 51.6% showed CD4 cell

**Table 1** Comparison of newly diagnosed HIV cases with and without DSS/DPS samples by gender, origin, age, mode of transmission, region of presumed infection, region of origin and year of diagnosis, 2008–2014, Germany

|                              | Newly diagnosed HIV cases, n % |       |                                  |       |           |
|------------------------------|--------------------------------|-------|----------------------------------|-------|-----------|
|                              | total                          |       | with DSS/DPS <sup>4</sup> Sample |       | weighting |
| Total                        | 20,487                         | 100%  | 10,257                           | 100%  |           |
| Gender                       |                                |       |                                  |       |           |
| Men                          | 17,137                         | 83.6% | 8,541                            | 83.3% | 1.0       |
| Women                        | 3,350                          | 16.4% | 1,716                            | 16.7% | 1.0       |
| Region of origin             |                                |       |                                  |       |           |
| Germany                      | 12,830                         | 62.6% | 6,405                            | 62.4% | 1.0       |
| Abroad                       | 5,454                          | 26.6% | 2,853                            | 27.8% | 1.0       |
| Unknown                      | 2,203                          | 10.8% | 999                              | 9.7%  | 1.1       |
| Age group                    |                                |       |                                  |       |           |
| < 25 years                   | 2,298                          | 11.2% | 1,216                            | 11.9% | 0.9       |
| 25–34 years                  | 6,687                          | 32.6% | 3,443                            | 33.6% | 1.0       |
| 35–44 years                  | 5,999                          | 29.3% | 2,986                            | 29.1% | 1.0       |
| 45–54 years                  | 3,824                          | 18.7% | 1,838                            | 17.9% | 1.0       |
| > =55 years                  | 1,679                          | 8.2%  | 774                              | 7.5%  | 1.1       |
| Mode of transmission         |                                |       |                                  |       |           |
| MSM <sup>1</sup>             | 11,541                         | 56.3% | 5,993                            | 58.4% | 1.0       |
| HET <sup>2</sup>             | 3,789                          | 18.5% | 1,909                            | 18.6% | 1.0       |
| IDU <sup>3</sup>             | 649                            | 3.2%  | 307                              | 3.0%  | 1.1       |
| Unknown                      | 4,508                          | 22.0% | 2,048                            | 20.0% | 1.1       |
| Region of presumed infection |                                |       |                                  |       |           |
| Germany                      | 14,184                         | 69.2% | 7,124                            | 69.5% | 1.0       |
| Abroad                       | 3,506                          | 17.1% | 1,803                            | 17.6% | 1.0       |
| Unknown                      | 2,797                          | 13.7% | 1,330                            | 13.0% | 1.1       |
| Year of Diagnosis            |                                |       |                                  |       |           |
| 2008                         | 2,745                          | 13.4% | 1,264                            | 12.3% | 1.1       |
| 2009                         | 2,815                          | 13.7% | 1,335                            | 13.0% | 1.1       |
| 2010 <sup>a</sup>            | 2,653                          | 12.9% | 332                              | 3.2%  | 4.0       |
| 2011                         | 2,644                          | 12.9% | 1,624                            | 15.8% | 0.8       |
| 2012                         | 2,920                          | 14.3% | 1,779                            | 17.3% | 0.8       |
| 2013                         | 3,232                          | 15.8% | 1,890                            | 18.4% | 0.9       |
| 2014                         | 3,478                          | 17.0% | 2,033                            | 19.8% | 0.9       |

<sup>1</sup> MSM men who have sex with men

<sup>2</sup> IDU persons who are intravenous drug users

<sup>3</sup> HET persons with heterosexual contact

<sup>4</sup> DSS/DPS Sample Dried Serum Spot/Dried Plasma Spot

<sup>a</sup>DSS/DPS samples were not continuously collected due to the end of the first study in June 2010

counts below 350 cells ( $n = 1700$ ). Late presentation (CD4 cell counts  $<350$  cells/mm<sup>3</sup> or CDC stadium AIDS) was identified in 10.1% ( $n = 949/9363$ ) of newly diagnosed cases with DSS/DPS with available data. Virus load information was available for 36.6% ( $n = 3755/10,257$ ) of newly diagnosed HIV cases with DSS/DPS.

**Table 2** Characteristics and factors associated with recent HIV infection among newly diagnosed HIV cases using DSS/DPS samples in Germany, 2008–2014

| Factor                       | Newly diagnosed HIV cases, n %  |       |                       |        | Univariate analysis |                     | Multivariable analysis (n = 10,257) |                     |
|------------------------------|---------------------------------|-------|-----------------------|--------|---------------------|---------------------|-------------------------------------|---------------------|
|                              | total with DSS/DPS <sup>4</sup> |       | with recent infection |        | OR*                 | 95% CI <sup>o</sup> | OR*                                 | 95% CI <sup>o</sup> |
| Total                        | 10,257                          | 100%  | 3,084                 | 30.01% |                     |                     |                                     |                     |
| Gender                       |                                 |       |                       |        |                     |                     |                                     |                     |
| Men                          | 8,541                           | 83.3% | 2,705                 | 31.7%  | (ref)               |                     | (ref)                               |                     |
| Women                        | 1,716                           | 16.7% | 379                   | 22.1%  | 0.61#               | 0.54–0.69           | 0.94                                | 0.79–1.12           |
| Region of origin             |                                 |       |                       |        |                     |                     |                                     |                     |
| Germany                      | 6,405                           | 62.5% | 2,121                 | 33.1%  | (ref)               |                     | (ref)                               |                     |
| Abroad                       | 2,853                           | 27.8% | 673                   | 23.6%  | 0.62#               | 0.56–0.69           | 0.74#                               | 0.66–0.84           |
| Unknown                      | 999                             | 9.7%  | 290                   | 29.0%  | 0.83##              | 0.71–0.96           | 0.94                                | 0.80–1.11           |
| Age group                    |                                 |       |                       |        |                     |                     |                                     |                     |
| < 25 years                   | 1,216                           | 11.9% | 523                   | 43.0%  | (ref)               |                     | (ref)                               |                     |
| 25–34 years                  | 3,443                           | 33.6% | 1,091                 | 31.7%  | 0.61#               | 0.54–0.70           | 0.63#                               | 0.55–0.72           |
| 35–44 years                  | 2,986                           | 29.1% | 846                   | 28.3%  | 0.52#               | 0.46–0.60           | 0.53#                               | 0.46–0.61           |
| 45–54 years                  | 1,838                           | 17.9% | 470                   | 25.6%  | 0.46#               | 0.39–0.53           | 0.45#                               | 0.39–0.53           |
| > =55 years                  | 774                             | 7.5%  | 154                   | 19.9%  | 0.33#               | 0.27–0.41           | 0.35#                               | 0.28–0.43           |
| Mode of transmission         |                                 |       |                       |        |                     |                     |                                     |                     |
| MSM <sup>1</sup>             | 5,993                           | 58.4  | 2,095                 | 35.0%  | (ref)               |                     | (ref)                               |                     |
| HET <sup>2</sup>             | 1,909                           | 18.6  | 393                   | 20.6%  | 0.48#               | 0.43–0.55           | 0.65#                               | 0.54–0.79           |
| IDU <sup>3</sup>             | 307                             | 3.0   | 107                   | 34.9%  | 1.00                | 0.78–1.27           | 1.18                                | 0.92–1.51           |
| Unknown                      | 2,048                           | 20.0  | 489                   | 23.9%  | 0.58#               | 0.52–0.65           | 0.68#                               | 0.60–0.77           |
| Region of presumed infection |                                 |       |                       |        |                     |                     |                                     |                     |
| Germany                      | 7,124                           | 69.4% | 2,346                 | 32.9%  | (ref)               |                     | (ref)                               |                     |
| Abroad                       | 1,803                           | 17.6% | 387                   | 21.5%  | 0.56#               | 0.49–0.63           | 0.85##                              | 0.73–0.99           |
| Unknown                      | 1,330                           | 13.0  | 351                   | 26.4%  | 0.73#               | 0.64–0.83           | 0.98                                | 0.84–1.14           |

<sup>1</sup>MSM: men who have sex with men<sup>2</sup>IDU: persons who are intravenous drug users<sup>3</sup>HET: persons with heterosexual contact<sup>4</sup>DSS/DPS: Dried Serum Spot/Dried Plasma Spot

\*OR: odds ratio

<sup>o</sup>95% CI: 95% Confidence interval# p-value:  $p < =0.001$ ## p-value:  $p < =0.05$ 

### Proportion of recent HIV infections among newly diagnosed HIV cases with DSS/DPS samples between 2008 and 2014

In total, 3221 (31.4%; 95% CI 30.5–32.2%) cases were classified as recent infections, of which 137 (4.2%) were reclassified according to the ECDC recommendation (see Fig. 2) [30]. The final study population consisted of 30.1% of cases with recent infection ( $n = 3084$ ; 95% CI 29.2–31.0%). The proportion of recent HIV infections among men was 31.7% compared to 22.1% among women ( $\chi^2 p < 0.001$ ). The highest proportion of recent infections (43.0%) was found among young persons between 18 and 25 years of age (Table 2). Within the different modes of transmission, the highest proportion of recent infections was found among MSM (35.0%), followed by IDU (34.9%) (Table 2). Persons with a recent

HIV infection were significantly younger than those with a long-standing HIV infection (median age 34 vs. 37 years;  $p < 0.001$  Wilcoxon). MSM with recent HIV infection were significantly younger than MSM with a long-standing HIV infection (median age 33 vs. 36 years;  $p < 0.001$  Wilcoxon). No difference in age regarding recent HIV infection could be found for HET (median age 35 vs. 36;  $p = 0.1215$  Wilcoxon) and IDU (median age 34 vs. 36;  $p = 0.0990$  Wilcoxon).

The proportion of recent infection was 33.1% among Germans and 17.3% among sub-Saharan Africans (Table 3). Newly diagnosed HIV cases from Germany were more likely to be recent infected than those identified among newly diagnosed HIV cases originating from abroad (33.1% vs. 23.6%;  $\chi^2 p < 0.001$ ) (Table 2). Persons reported to be infected with HIV in the Western Europe



**Table 3** Origin and presumed region of infection in cases of recent HIV infection among newly diagnosed HIV cases using DSS/DPS samples in Germany, 2008–2014

|   | Newly diagnosed HIV cases, n %  |       |                       |       | Univariate analysis |                     |
|---|---------------------------------|-------|-----------------------|-------|---------------------|---------------------|
|   | Total with DSS/DPS <sup>1</sup> |       | With recent infection |       | OR*                 | 95% CI <sup>o</sup> |
| Region of origin                        |                                 |       |                       |       |                     |                     |
| Germany                                 | 6,405                           | 62.4% | 2,121                 | 33.1% | (ref)               |                     |
| Eastern Europe                          | 384                             | 3.7   | 90                    | 23.4% | 0.62#               | 0.49–0.79           |
| Western Europe                          | 310                             | 3.0   | 98                    | 31.6% | 0.93                | 0.73–1.19           |
| Central Europe                          | 464                             | 4.5   | 143                   | 30.8% | 0.90                | 0.73–1.10           |
| Asia / Oceania                          | 274                             | 2.7   | 65                    | 23.7% | 0.63#               | 0.47–0.83           |
| America / Caribbean                     | 265                             | 2.6   | 68                    | 25.7% | 0.70##              | 0.53–0.92           |
| North / Northeast Africa                | 90                              | 0.9   | 20                    | 22.2% | 0.58##              | 0.35–0.95           |
| sub-Saharan Africa                      | 978                             | 9.5   | 169                   | 17.3  | 0.42#               | 0.35–0.50           |
| Unknown region                          | 88                              | 0.9   | 20                    | 22.7% | 0.59##              | 0.36–0.98           |
| Unknown                                 | 999                             | 9.7   | 290                   | 29.0% | 0.83##              | 0.71–0.96           |
| Region of origin (combined)             |                                 |       |                       |       |                     |                     |
| Germany                                 | 6,405                           | 62.4  | 2,121                 | 33.1% | (ref)               |                     |
| Abroad                                  | 2,853                           | 27.8  | 673                   | 23.6% | 0.62#               | 0.56–0.69           |
| Unknown                                 | 999                             | 9.7   | 290                   | 29.0% | 0.83##              | 0.71–0.96           |
| Region of presumed infection            |                                 |       |                       |       |                     |                     |
| Germany                                 | 7,124                           | 69.5  | 2,346                 | 32.9% | (ref)               |                     |
| Eastern Europe                          | 215                             | 2.1   | 41                    | 19.1% | 0.48#               | 0.34–0.68           |
| Western Europe                          | 205                             | 2.0   | 70                    | 34.1% | 1.06                | 0.79–1.42           |
| Central Europe                          | 145                             | 1.4   | 36                    | 24.8% | 0.67##              | 0.46–0.98           |
| Asia / Oceania                          | 266                             | 2.6   | 54                    | 20.3% | 0.52#               | 0.39–0.70           |
| America / Caribbean                     | 128                             | 1.2   | 30                    | 23.4% | 0.62##              | 0.41–0.94           |
| North / Northeast Africa                | 43                              | 0.4   | 13                    | 30.2  | 0.88                | 0.46–1.70           |
| sub-Saharan Africa                      | 737                             | 7.2   | 129                   | 17.5% | 0.43#               | 0.36–0.53           |
| Unknown Region                          | 64                              | 0.6   | 14                    | 21.9% | 0.57                | 0.31–1.03           |
| Unknown                                 | 1,330                           | 13.0  | 351                   | 26.4% | 0.73#               | 0.63–0.83           |
| Region of presumed infection (combined) |                                 |       |                       |       |                     |                     |
| Germany                                 | 7,124                           | 69.5  | 2,346                 | 32.9% | (ref)               |                     |
| Abroad                                  | 1,803                           | 17.6  | 387                   | 21.5% | 0.56#               | 0.49–0.63           |
| Unknown                                 | 1,330                           | 13.0  | 351                   | 26.4% | 0.73#               | 0.64–0.83           |

<sup>o</sup>95% CI: 95% confidence interval

\*OR: odds ratio

<sup>1</sup> DSS/DPS: Dried Serum Spot/Dried Plasma Spot

# *p*-value: *p* < =0.001

## *p*-value: *p* < =0.05

region (excluding Germany) had the highest proportion of recent infections (34.1%), followed by people from Germany (32.9%) as the presumed region of infection (Table 3). Cases with a recent HIV infection were more likely infected with HIV in Germany than abroad (32.9% compared to 21.5%;  $\chi^2$  *p* < 0.001). Cases from abroad with a recent infection were more likely reported to have acquired the infection in Germany (30.8% vs. 18.5%;  $\chi^2$  *p* < 0.001). Cases with recent infection and available information on CD4 cell showed significantly higher CD4 cell

counts than cases with long standing infection (Median 485 vs. 252 CD4 cells/mm<sup>3</sup>; *p* < 0.001 Wilcoxon). Among 2.2% (*n* =21/949) of cases defined as late presenters by CD4 cell count or CDC stage, a recent infection was identified by using the BED-CEIA.

#### Proportion of recent infections over time within transmission groups

The newly diagnosed HIV cases with available DSS/DPS samples increased from 1264 in 2008 to 2033 in 2014.

The DSS/DPS sample collection decreased in June 2010 due to the end of the first study (Table 1). The proportion of recent HIV infections per year varied from 26% in 2010 up to 32% in 2012, with an overall increase of 4% between 2008 and 2014 (data not shown). The overall increase could be confirmed by univariate logistic regression (OR 1.023; 95% CI 1.006–1.049;  $p < 0.012$ ). A similar trend was observed for MSM (OR 1.030; 95% CI 1.003–1.058) and for HET (OR 1.079; 95% CI 1.02–1.140). No significant trend over time (OR 0.965; 95% CI 0.865–1.076;  $p < 0.521$ ) was seen in IDU (Fig. 3).

**Association between recent infections and other variables**

The univariate logistic regression revealed that several factors were associated with recent HIV infection, such as mode of transmission, age, gender and region of infection, which are shown in Table 2. These associations were confirmed by multivariable logistic regression, which showed that cases with a different mode of transmission than MSM were more likely to have a long-standing HIV infection. Including persons younger than 25 years, the proportion of persons with long-standing HIV infections increased with age (Table 2).

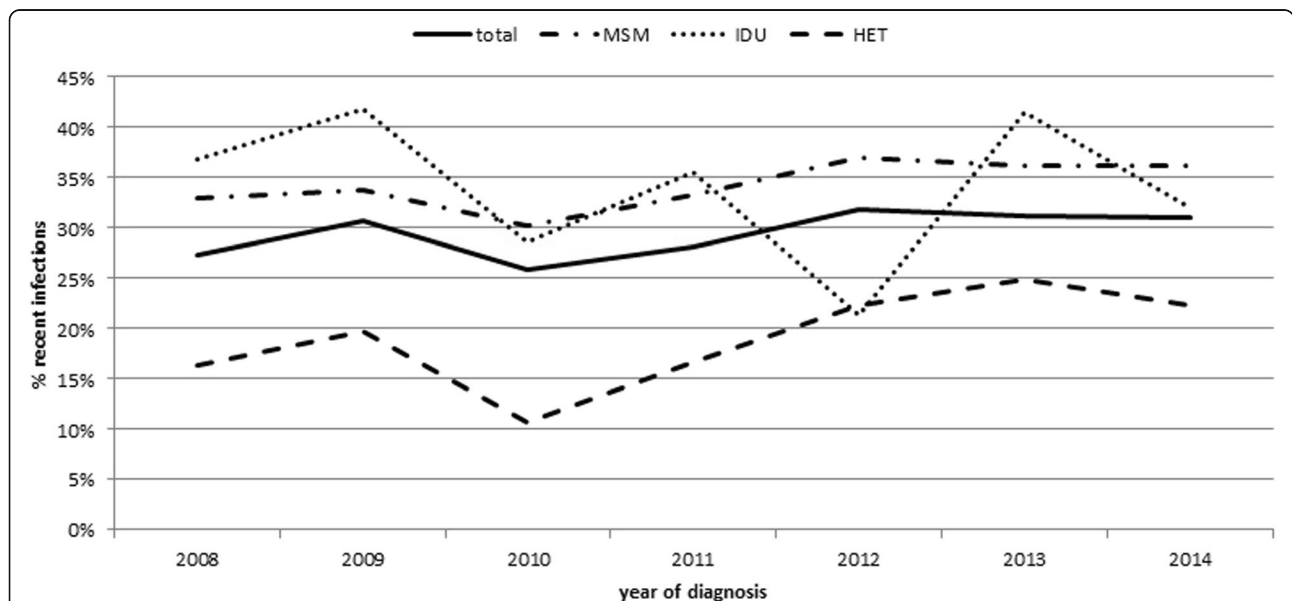
An additional multivariable logistic regression aimed to identify sub-groups within the main transmission groups revealed, that female German intravenous drug users had a higher chance of being diagnosed with a recent HIV infection (OR 2.49; 95% CI 1.40–4.41) than German MSM (Table 4). However, the numbers of female German drug users were small, with 28 (57.1%) cases of recent HIV infection among 49 female German drug users in total. Other groups with a lower chance of

being recently infected with HIV compared to German MSM were German heterosexual females (OR 0.70; 95% CI 0.55–0.90), heterosexual females with an origin abroad (OR 0.44; 95% CI 0.35–0.54), heterosexual females with an unknown origin (OR 0.34; 95% CI 0.17–0.70) and heterosexual men with an origin abroad (OR 0.39, 95% CI 0.29–0.53) (Table 4).

**Discussion**

This was the first analysis in Germany on national level to determine the proportion of recent HIV infections among newly diagnosed HIV cases by using the BED-CEIA according to ECDC corrections. One-third of newly diagnosed HIV infections between 2008 and 2014 were recent infections within the six months before diagnosis. Overall, we found a slight but significant increasing trend of recent HIV infection between 2008 and 2014, particularly among MSM and HET. The highest proportion of recent HIV infections was found in MSM (35.0%) in contrast to a low proportion in HET (20.6%). Logistic regression identified that only the small group of female German IDU had a higher chance of being newly diagnosed and coincidentally infected recently with HIV than MSM.

The overall proportion of recent HIV infections in Germany is similar to that of other European countries using the BED-CEIA for TRI. The overall proportion of recent HIV infections ranged from 23% among newly diagnosed cases in Catalonia, Spain (2006–2008) [32] to 35% in Sweden (2003–2010) [33]. However, in countries using other TRI, such as England, Northern Ireland, Wales or France, the proportion of recent HIV



**Fig. 3** Proportion of recent HIV infections among newly diagnosed HIV cases using DSS/DPS samples in different transmission groups by year in Germany, 2008–2014. MSM: men who have sex with men. IDU: persons who are intravenous drug users. HET: persons with heterosexual contact

**Table 4** Characteristics of subpopulations within the different modes of transmission with recent HIV infection among newly diagnosed HIV cases with DSS/DPS samples in Germany, 2008–2014

| Subpopulations               |       |                   | Newly diagnosed HIV cases, n % |                       |       | Univariate analysis |                     | Multivariable analysis (n = 10,257) |                     |
|------------------------------|-------|-------------------|--------------------------------|-----------------------|-------|---------------------|---------------------|-------------------------------------|---------------------|
|                              |       |                   | Total                          | With recent infection | %     | OR*                 | 95% CI <sup>o</sup> | OR*                                 | 95% CI <sup>o</sup> |
| MSM <sup>1</sup>             | Men   | German Origin     | 4,654                          | 1,652                 | 35.5% | (ref)               |                     | (ref)                               |                     |
|                              |       | non-German Origin | 944                            | 316                   | 33.5% | 0.91                | 0.79–1.06           | 0.87                                | 0.75–1.02           |
|                              |       | Unknown           | 395                            | 127                   | 32.2% | 0.86                | 0.69–1.07           | 0.85                                | 0.68–1.07           |
| IDU <sup>2</sup>             | Men   | German Origin     | 92                             | 37                    | 40.2% | 1.22                | 0.80–1.86           | 1.35                                | 0.88–2.06           |
|                              |       | non-German Origin | 114                            | 26                    | 22.8% | 0.54###             | 0.35–0.83           | 0.58##                              | 0.37–0.91           |
|                              |       | Unknown           | 24                             | 7                     | 29.2% | 0.75                | 0.31–1.81           | 0.76                                | 0.31–1.85           |
|                              | Women | German Origin     | 49                             | 28                    | 57.1% | 2.42##              | 1.37–4.28           | 2.49##                              | 1.40–4.41           |
|                              |       | non-German Origin | 17                             | 4                     | 23.5% | 0.56                | 0.18–1.72           | 0.52                                | 0.17–1.61           |
|                              |       | Unknown           | 11                             | 5                     | 45.5% | 1.51                | 0.46–4.97           | 1.50                                | 0.45–4.99           |
| HET <sup>3</sup>             | Men   | German Origin     | 175                            | 49                    | 28.0% | 0.71##              | 0.51–0.99           | 0.96                                | 0.68–1.36           |
|                              |       | non-German Origin | 414                            | 66                    | 15.9% | 0.34#               | 0.26–0.45           | 0.39#                               | 0.29–0.53           |
|                              |       | Unknown           | 13                             | 6                     | 46.2% | 1.56                | 0.52–0.46           | 1.92                                | 0.63–5.80           |
|                              | Women | German Origin     | 347                            | 95                    | 27.4% | 0.69##              | 0.54–0.87           | 0.70##                              | 0.55–0.90           |
|                              |       | non-German Origin | 901                            | 168                   | 18.6% | 0.42#               | 0.35–0.50           | 0.44#                               | 0.35–0.54           |
|                              |       | Unknown           | 59                             | 9                     | 15.3% | 0.33##              | 0.16–0.67           | 0.34##                              | 0.17–0.70           |
| Unknown                      | Men   | German Origin     | 960                            | 236                   | 24.6% | 0.59#               | 0.51–0.69           | 0.67#                               | 0.57–0.79           |
|                              |       | non-German Origin | 351                            | 67                    | 19.1% | 0.43#               | 0.33–0.56           | 0.48#                               | 0.36–0.63           |
|                              |       | Unknown           | 405                            | 116                   | 28.6% | 0.73##              | 0.58–0.91           | 0.80                                | 0.62–1.03           |
|                              | Women | German Origin     | 128                            | 24                    | 18.8% | 0.42#               | 0.27–0.66           | 0.46#                               | 0.30–0.73           |
|                              |       | non-German Origin | 112                            | 26                    | 23.2% | 0.58##              | 0.35–0.86           | 0.58##                              | 0.37–0.91           |
|                              |       | Unknown           | 92                             | 20                    | 21.7% | 0.50##              | 0.31–0.83           | 0.54##                              | 0.32–0.90           |
| Region of presumed infection |       |                   |                                |                       |       |                     |                     |                                     |                     |
|                              |       | Germany           | 7,124                          | 2,346                 | 32.9% | (ref)               |                     | (ref)                               |                     |
|                              |       | Abroad            | 1,803                          | 387                   | 21.5% | 0.56#               | 0.49–0.63           | 0.87                                | 0.74–1.02           |
|                              |       | Unknown           | 1,330                          | 351                   | 26.4% | 0.73#               | 0.64–0.83           | 0.97                                | 0.83–1.14           |
| Age group                    |       |                   |                                |                       |       |                     |                     |                                     |                     |
|                              |       | < 25 years        | 1,216                          | 523                   | 43.0% | (ref)               |                     | (ref)                               |                     |
|                              |       | 25–34 years       | 3,443                          | 1,091                 | 31.7% | 0.61#               | 0.54–0.70           | 0.63#                               | 0.55–0.72           |
|                              |       | 35–44 years       | 2,986                          | 846                   | 28.3% | 0.52#               | 0.46–0.60           | 0.53#                               | 0.46–0.61           |
|                              |       | 45–54 years       | 1,838                          | 470                   | 25.6% | 0.46#               | 0.39–0.53           | 0.45#                               | 0.39–0.53           |
|                              |       | > =55 years       | 774                            | 154                   | 19.9% | 0.33#               | 0.27–0.41           | 0.34#                               | 0.28–0.42           |

<sup>1</sup> MSM men who have sex with men<sup>2</sup> IDU persons who are intravenous drug users<sup>3</sup> HET persons with heterosexual contact<sup>o</sup>95% CI: 95% Confidence interval

\*OR: odds ratio

# p-value:  $p < =0.001$ ## p-value:  $p < =0.05$ 

infections ranged between 15% [34] and 25% [35], which is lower than in those countries using the BED-CEIA for TRI. The proportion of newly diagnosed and recently infected cases is constantly low over the time compared to the high proportion of long standing and late presenting HIV infections. This is alarming from the perspective of prevention, because those who are diagnosed late are

often unaware of their HIV infection for a long time and could therefore potentially transmit HIV. As a consequence, early detection and diagnosis of HIV infection is of utmost importance to prevent new infections. As a strategy for eliminating infections, testing must be brought to scale, followed by immediate sustainable treatment, irrespective of the immune status.

Men who have sex with men (MSM) are the group most at risk for HIV infection in the European Union (EU)/European Economic Association (EEA), as well as in the United States, despite targeted prevention programmes since the beginning of the HIV epidemic [36]. MSM are also the group in Germany with the highest proportion of newly diagnosed cases of recent HIV infection, similar to other European countries which used the BED-CEIA [32, 33] or other serological tests [34, 37].

It is recommended that persons at risk for HIV infection - such as MSM - should be tested at least once a year or even more often, depending on their risk behaviour [38, 39]. This may result in a higher proportion of recently diagnosed HIV infections. It is known that the awareness, knowledge and perceived level of personal risk for HIV infection among MSM is high, which might be one reason for regular test seeking and the high proportion of recent HIV infection we found in this group. Even though they test more regularly than do other groups with risky behaviour, the proportion of recent HIV infections among MSM should be much higher. In a recent German MSM online survey, approximately 60% of the questioned MSM were tested within the previous 12 months, and approximately 53% said they are getting tested on a regular basis [40]. However, nearly two-thirds (65%) of MSM who were newly diagnosed with HIV were diagnosed later than 6 months after the infection occurred. Reasons for late diagnosis may vary among different groups. The fear of stigmatization, a large geographical distance to the next anonymous testing site, or a lack of risk awareness may be related to HIV testing behaviour, especially among MSM [40]. The lack of risk awareness might also be the reason for the low proportion of recent HIV infections among HET. To improve testing frequency in groups with risky behaviour, such as MSM, IDU or HET, prevention programmes should include the importance of regular and easy access to HIV testing sites and increase the awareness of risks.

Female intravenous drug users also showed a high proportion of newly diagnosed cases with recent HIV infection. We also found that female drug users of German origin had a higher chance than MSM for having a recent HIV infection. The high proportion of recent HIV infections might be related to the fact that women more often seek contact with the health care system or are better reached by testing offers for HIV or Hepatitis C during opioid substitution therapy. However, as the numbers in this sub-group were small due to the small group size, we believe that the result of the logistic regression may be related to statistical chance, and the associated results must be interpreted carefully and should be further observed in the following years. Nevertheless, this result shows the importance of adapted prevention

programmes. All persons with risky sexual behaviour should be offered an HIV test regularly, whenever they have contact with the health care system. However, an HIV test should not only be offered by contact with the health care system, e.g. HIV/STI outreach clinics, it also should be included in harm reduction programmes for drug users and offered in low threshold drug services. Despite the continuous roll-out of HIV testing campaigns, services still need to improve the offers and the facilities for HIV testing to reduce late presentation.

The proportion of recent HIV infections decreased with age, meaning that long-standing infections were found more often in older age groups. This trend was also observed in other studies [33, 34, 37, 41]. The time between infection and diagnosis is usually shorter in younger persons; nevertheless, the proportion of recent HIV infection in persons older than 55 years is still nearly 24%, indicating that there is ongoing HIV-transmission in older age groups.

Persons who originated from abroad more often had a long-standing infection than did German natives. This could mean that most of these cases were infected and potentially diagnosed in their home country, but the cases were also diagnosed in Germany for the first time and thus reported by the laboratories as newly diagnosed in Germany. Another explanation might be that these people did not know about their infection and that they had not been reached appropriately by prevention programmes and testing strategies in Germany. To prevent HIV infections among persons from abroad, the prevention programmes have to be tailored in a way to reach those hard-to-reach groups. To improve understanding regarding persons originating from sub-Saharan Africa and living in Germany, a study was established in 2014 at the RKI that aimed to identify their specific needs and their knowledge about HIV in order to address sustainable prevention in this sub-group in Germany [42].

The proportion of recent infections among newly diagnosed cases increased over the time period. This could suggest a real increase in HIV infections. However, this increase is not reflected by the total number of newly diagnosed infections, which remained fairly stable over the past years [31]. Therefore, the increase in recent infections could reflect more specific testing during that time period. In Germany, data are only available regarding HIV diagnoses but not regarding negative test results or the total number of HIV tests performed. It is therefore impossible to draw firm conclusions on rates solely based on recency testing among newly diagnosed HIV cases without knowledge of the testing rates.

#### Limitations

There are some limitations to our analysis. First, the interpretation of the proportion of recent infections among

newly diagnosed HIV cases depends on testing patterns and the number of persons tested for HIV. There is only limited information available about the total number of persons tested in Germany. A study among HIV diagnostic laboratories estimated that approximately 1,6 million HIV screening tests were performed in 2011 [43]. In that study, the participating laboratories could not distinguish between performed tests and persons screened, and the study only had information about performed tests for one year. Interpreting time trends for HIV recency in Germany is therefore difficult. The HIV test-seeking pattern might vary between different populations; for example, MSM are tested more regularly and more frequently than other populations. Therefore, a direct estimation of the HIV incidence is not possible, and we can only report the proportion of recent infections among newly diagnosed sub-groups over time.

Second, the sensitivity and specificity of the BED-CEIA (81.7%; 89.1%) [15] are quite low, while the reported false recent rates (FRR) are high (7.4%) depending on the HIV-subtype distribution in the respective countries [44]. However, the BED-CEIA was evaluated using specimens from the German HIV-seroconverter cohort, where the date of infection was well-defined based on the laboratory diagnosis [29]. Therefore, the application of the BED assay to the German surveillance system is assumed to be valid to report the proportion of recent HIV infections among newly diagnosed HIV cases in Germany. Recently, we adapted the validation panel to an updated distribution of HIV-subtypes in Germany in order to re-calculate the FRR induced by the BED-CEIA, resulting in an FRR of 10% for Germany [45]. Because of the rather high FRR, a testing algorithm was applied using the recommendation of the ECDC [30]. For the reason that CD4 cell counts and viral load measurements are incomplete in the HIV notification system and are only reported in one-third of the notified cases, the recommended algorithm could only be used with the information about AIDS status. Therefore, the reported recent HIV infections may still be overestimated. Data to correct false long-standing test results are not available in the German HIV surveillance system; therefore, a correction is not possible. This might introduce an error into the data, because we might overestimate cases with long-standing infection. In 2016, we implemented a multi-assay algorithm, including the BED-CEIA and an avidity assay, to address this limitation.

## Conclusions

In conclusion, the surveillance of recent HIV infections is a useful additional tool to monitor the HIV epidemic in Germany. It allows the observation of ongoing HIV transmission in Germany, and we identified (sub) populations at risk who can now be addressed more specifically in prevention programs, such as offering more

frequent HIV-testing to those populations at risk. We could also identify factors associated with recent HIV infection, such as age, transmission group and origin. An early diagnosis is important for preventing new infections. Furthermore, the information gained through this part of the HIV surveillance programme can improve the statistical estimation models of the prevalence and incidence of HIV in Germany.

However, there is still the potential to improve the surveillance of recent HIV infections, for example, by implementing serological tests for recent infections with a higher sensitivity and specificity or to apply two serological tests in a multi-assay algorithm to achieve a more accurate proportion of recent HIV infections among the newly diagnosed HIV cases in Germany. It is also important to have a valid and accurate documentation of clinical data (such as CD4 count and virus load) to correct falsely identified recent or long-standing infections, as is recommended internationally. Additionally, to calculate the HIV incidence in Germany, it is important to include the total number of persons tested for HIV in Germany into the surveillance of recent HIV infections.

## Abbreviations

95% CI: 95% confidence interval; AIDS: acquired immunodeficiency syndrome; BED-CEIA: BED-capture-enzyme immunoassay; CDC: Centers for Disease Control and Prevention; DPS: dried plasma spots; DSS: dried serum spots; ECDC: European Centre for Disease Prevention and Control; EEA: European Economic Association; EU: European Union; FLS: false long-standing; FRR: false recent rate; HET: persons with heterosexual contacts; HIV: human immunodeficiency virus; IDU: persons who are intravenous drug users; MSM: men who have sex with men; OR: odds ratio; RITA: recent test algorithm; RKI: Robert Koch- Institute; TRI: test for recent (HIV) infections

## Acknowledgements

We would like to thank all participating laboratories for sending us dried filter spots for laboratory analysis and for the continuous exchange of ideas and suggestions. All participating laboratories who agreed to publish their names are listed at [http://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/H/HIVAIDS/Studien/InzSurv\\_HIV/beteiligte\\_Labore.html](http://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/H/HIVAIDS/Studien/InzSurv_HIV/beteiligte_Labore.html). Without them, the project would not have led to the present results. We would like to thank all participating staff at the RKI who were involved in the realization of the studies, especially the laboratory assistants for executing the BED-CEIA and the medical documentation officers for data entry and data quality control.

## Availability of data and materials

The dataset supporting the conclusions of this article is available in the Zenodo repository: <http://doi.org/10.5281/zenodo.260114>.

## Funding

The nationwide cross-sectional incidence study (2008–2010) and the "Surveillance of recent HIV infections" (2011–2014) were funded by the German Federal Ministry of Health.

## Authors' contributions

AH, RZ, CSH, BB, and AHau analysed and interpreted the data. AH, RZ, CSH, BB, and AHau wrote the paper. RZ, OH, CSH, CK, and BB contributed to the conception and the design of the studies. JBF designed and planned the nationwide cross-sectional incidence study. SW implemented the BED-CEIA in Germany. CK, AHau and SW tested DSS/DPS samples for recency of infection and interpreted the test results. RZ, CSH, AHau, NB, BB, VB, OH, and CK revised the article critically and OH, NB, VB, and BB gave the final approval for publishing the article. All authors read and approved the final manuscript.

**Ethics approval and consent to participate**

Ethical approval for the nationwide cross-sectional study was given by the ethics board at the Charité, University Medicine, Berlin, and approval was also granted by the data protection office of Germany according to the Federal Data Protection Act. The DSS/DPS samples used were residuals from routine HIV diagnostic processes; therefore, no informed consent was obtained from the patients. Furthermore, the DSS/DPS samples cannot be linked to individuals because the HIV notification system is strictly anonymous. Additionally, the BED-CEIA is only accredited for epidemiological studies and not for individual diagnosis. Therefore, no extra benefit can be obtained by informing persons about positive BED-CEIA test results.

**Consent for publication**

Not applicable.

**Competing interests**

The authors declare that they have no competing interests.

**Publisher's Note**

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

**Author details**

<sup>1</sup>Department for Infectious Disease Epidemiology, Unit 34 HIV/AIDS, STI and Blood-Borne Infections, Robert Koch-Institute, Seestr.10, 13353 Berlin, Germany. <sup>2</sup>Charité, Universitätsmedizin, Berlin, Germany. <sup>3</sup>Department of Infectious Diseases, Unit 18 HIV and Other Retroviruses, Robert Koch-Institute, Nordufer 20, 13353 Berlin, Germany. <sup>4</sup>Central Research Institute of Ambulatory Health Care in Germany (ZI), Berlin, Germany. <sup>5</sup>SGS Belgium NV, Generaal De Wittelaan 19, B-2800 Mechelen, Belgium. <sup>6</sup>Department for Infectious Disease Epidemiology, Robert Koch-Institute, Seestr.10, 13353 Berlin, Germany.

Received: 26 January 2017 Accepted: 3 July 2017

Published online: 11 July 2017

**References**

1. Robert Koch-Institut. Schätzung der Prävalenz und Inzidenz von HIV-Infektionen in Deutschland, Stand Ende 2014 Epidemiologisches Bulletin 2015;45(2015).
2. Hamouda O. HIV/AIDS surveillance in Germany. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2003;32(Suppl 1):49–54.
3. Batzing-Feigenbaum J, Kollan C, Kuhne A, Matysiak-Klose D, Günsenheimer-Bartmeyer B, Hamouda O, et al. Cohort profile: the German ClinSurv HIV project - a multicentre open clinical cohort study supplementing national HIV surveillance. *HIV Med*. 2010;
4. Zu Knyphausen F, Scheufele R, Kucherer C, Jansen K, Somogyi S, Dupke S, et al. First line treatment response in patients with transmitted HIV drug resistance and well defined time point of HIV infection: updated results from the German HIV-1 seroconverter study. *PLoS One*. 2014;9(5):e95956.
5. Robert Koch-Institut. Weiterführende Analysen zur HIV-Inzidenz- und -Prävalenzschätzung 2012. Epidemiologisches Bulletin. 2013;45:457–64.
6. Janssen RS, Satten GA, Stramer SL, Rawal BD, O'Brien TR, Weiblen BJ, et al. New testing strategy to detect early HIV-1 infection for use in incidence estimates and for clinical and prevention purposes. *JAMA*. 1998;280(1):42–8.
7. Murphy G, Parry JV. Assays for the detection of recent infections with human immunodeficiency virus type 1. *Euro Surveill*. 2008; 13(36).
8. Guy R, Gold J, Calleja JM, Kim AA, Parekh B, Busch M, et al. Accuracy of serological assays for detection of recent infection with HIV and estimation of population incidence: a systematic review. *Lancet Infect Dis*. 2009;9(12):747–59.
9. Busch MP, Pilcher CD, Mastro TD, Kaldor J, Vercauteren G, Rodriguez W, et al. Beyond detuning: 10 years of progress and new challenges in the development and application of assays for HIV incidence estimation. *AIDS (London, England)*. 2010;24(18):2763–71.
10. Curtis KA, Kennedy MS, Charurat M, Nasidi A, Delaney K, Spira TJ, et al. Development and characterization of a bead-based, multiplex assay for estimation of recent HIV type 1 infection. *AIDS Res Hum Retrovir*. 2012; 28(2):188–97.
11. Thomas HI, Wilson S, O'Toole CM, Lister CM, Saeed AM, Watkins RP, et al. Differential maturation of avidity of IgG antibodies to gp41, p24 and p17 following infection with HIV-1. *Clin Exp Immunol*. 1996;103(2):185–91.
12. Kothe D, Byers RH, Caudill SP, Satten GA, Janssen RS, Hannon WH, et al. Performance characteristics of a new less sensitive HIV-1 enzyme immunoassay for use in estimating HIV seroincidence. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2003;33(5):625–34.
13. Rawal BD, Degula A, Lebedeva L, Janssen RS, Hecht FM, Sheppard HW, et al. Development of a new less-sensitive enzyme immunoassay for detection of early HIV-1 infection. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2003;33(3):349–55.
14. Barin F, Meyer L, Lancar R, Deveau C, Gharib M, Laporte A, et al. Development and validation of an immunoassay for identification of recent human immunodeficiency virus type 1 infections and its use on dried serum spots. *J Clin Microbiol*. 2005;43(9):4441–7.
15. Parekh BS, Kennedy MS, Dobbs T, Pau CP, Byers R, Green T, et al. Quantitative detection of increasing HIV type 1 antibodies after seroconversion: a simple assay for detecting recent HIV infection and estimating incidence. *AIDS Res Hum Retrovir*. 2002;18(4):295–307.
16. Suligoi B, Galli C, Massi M, Di Sora F, Sciandra M, Pezzotti P, et al. Precision and accuracy of a procedure for detecting recent human immunodeficiency virus infections by calculating the antibody avidity index by an automated immunoassay-based method. *J Clin Microbiol*. 2002;40(11):4015–20.
17. Masciotra S, Dobbs T, Candal D, Hanson D, Delaney K, editors. Antibody avidity-based assay for identifying recent HIV-1 infections Based on Genetic Systems [TM] 1/2 Plus O EIA2010 16-19.2.2010 17th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections.
18. Wei X, Liu X, Dobbs T, Kuehl D, Nkengasong JN, Hu DJ, et al. Development of two avidity-based assays to detect recent HIV type 1 seroconversion using a multisubtype gp41 recombinant protein. *AIDS Res Hum Retrovir*. 2010;26(1):61–71.
19. Suligoi B, Rodella A, Raimondo M, Regine V, Terlenghi L, Manca N, et al. Avidity index for anti-HIV antibodies: comparison between third- and fourth-generation automated immunoassays. *J Clin Microbiol*. 2011;49(7):2610–3.
20. Chawla A, Murphy G, Donnelly C, Booth CL, Johnson M, Parry JV, et al. Human immunodeficiency virus (HIV) antibody avidity testing to identify recent infection in newly diagnosed HIV type 1 (HIV-1)-seropositive persons infected with diverse HIV-1 subtypes. *J Clin Microbiol*. 2007;45(2):415–20.
21. Hu DJ, Vanichseni S, Mock PA, Young NL, Dobbs T, Byers RH Jr, et al. HIV type 1 incidence estimates by detection of recent infection from a cross-sectional sampling of injection drug users in Bangkok: use of the IgG capture BED enzyme immunoassay. *AIDS Res Hum Retrovir*. 2003;19(9):727–30.
22. Kim AA, McDougall JS, Hargrove J, Rehle T, Pillay-Van Wyk V, Puren A, et al. Evaluating the BED capture enzyme immunoassay to estimate HIV incidence among adults in three countries in sub-Saharan Africa. *AIDS Res Hum Retrovir*. 2010;26(10):1051–61.
23. Scheer S, Nakelsky S, Bingham T, Damesyn M, Sun D, Chin CS, et al. Estimated HIV incidence in California, 2006–2009. *PLoS One*. 2013;8(2):e55002.
24. Batzing-Feigenbaum J, Loschen S, Gohlke-Micknis S, Hintsche B, Rausch M, Hillenbrand H, et al. Implications of and perspectives on HIV surveillance using a serological method to measure recent HIV infections in newly diagnosed individuals: results from a pilot study in Berlin, Germany, in 2005&2007. *HIV Medicine*. 2009;10(4):209–18.
25. Batzing-Feigenbaum J, Loschen S, Gohlke-Micknis S, Zimmermann R, Herrmann A, Kamga Wambo O, et al. Country-wide HIV incidence study complementing HIV surveillance in Germany. *Euro Surveill*. 2008;13(36).
26. Santos-Hovener C, Zimmermann R, Kucherer C, Batzing-Feigenbaum J, Wildner S, Hamouda O, et al. Conversation about Serostatus decreases risk of acquiring HIV: results from a case control study comparing MSM with recent HIV infection and HIV negative controls. *BMC Public Health*. 2014;14:453.
27. Calypte. Aware™ BED™ EIA HIV-1 Incidence Test (IgG-Capture HIV-EIA). Enzyme Immunoassay for Population Estimates of HIV-1 Incidence. Portland, USA: Calypte Biomedical Corporation; 2008.
28. Sedia Biosciences Corporation. Sedia™ BED HIV-1 Incidence EIA. Enzyme Immunoassay for Population Estimates of HIV-1 Incidence. Portland, USA: Sedia Biosciences Corporation; 2014.
29. Loschen S, Batzing-Feigenbaum J, Poggensee G, Cordes C, Hintsche B, Rausch M, et al. Comparison of the human immunodeficiency virus (HIV) type 1-specific immunoglobulin G capture enzyme-linked immunosorbent assay and the avidity index method for identification of recent HIV infections. *J Clin Microbiol*. 2008;46(1):341–5.

30. European Centre for Disease Prevention and Control. Monitoring recently acquired HIV infections in the European context. Stockholm: ECDC; 2013 [cited 2016 Jan 25]. Available from: <http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/monitoring-recently-acquired-HIV-infections-european-context.pdf>.
31. Robert Koch-Institut. HIV-Diagnosen und AIDS-Erkrankungen in Deutschland: Bericht zur Entwicklung im Jahr 2014 aus dem Robert Koch-Institut. *Epidemiologisches Bulletin*. 2015;27(2015).
32. Romero A, Gonzalez V, Esteve A, Martro E, Matas L, Tural C, et al. Identification of recent HIV-1 infection among newly diagnosed cases in Catalonia, Spain (2006-08). *Eur J Pub Health*. 2012;22(6):802–8.
33. Widgren K, Skar H, Berglund T, Kling AM, Tegnell A, Albert J. Delayed HIV diagnosis common in Sweden, 2003-2010. *Scand J Infect Dis*. 2014;46(12):862–7.
34. Aghaizu A, Murphy G, Tosswill J, DeAngelis D, Charlett A, Gill ON, et al. Recent infection testing algorithm (RITA) applied to new HIV diagnoses in England, Wales and Northern Ireland, 2009 to 2011. *Euro Surveill*. 2014;19(2).
35. Le Vu S, Le Strat Y, Barin F, Pillonel J, Cazein F, Bousquet V, et al. Population-based HIV-1 incidence in France, 2003-08: a modelling analysis. *Lancet Infect Dis*. 2010;10(10):682–7.
36. De Cock KM, Jaffe HW, Curran JW. The evolving epidemiology of HIV/AIDS. *AIDS (London, England)*. 2012;26(10):1205–13.
37. Semaille C, Cazein F, Pillonel J, Lot F, Le Vu S, Pinget R, et al. Four years of surveillance of recent HIV infections at country level, France, mid 2003–2006: experience and perspectives. *Euro Surveill*. 2008;13(36).
38. Gokengin D, Geretti AM, Begovac J, Palfreeman A, Stevanovic M, Tarasenko O, et al. 2014 European guideline on HIV testing. *Int J STD AIDS*. 2014; 25(10):695–704.
39. Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften, Deutsche STI-Gesellschaft, Robert Koch-Institut, Bundeszentrale für gesundheitliche Aufklärung, Landeszentrum Gesundheit Nordrhein-Westfalen. [S1 Guideline: STI/STD- Counselling, Diagnostic and Therapy] 2015 [cited 2016 Jan 25]. Available from: [http://www.awmf.org/uploads/tx\\_szleitlinien/059-006L\\_S1\\_STI\\_STD-Beratung\\_2015-07.pdf](http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/059-006L_S1_STI_STD-Beratung_2015-07.pdf).
40. Marcus U, Gassowski M, Kruspe M, Drewes J. Recency and frequency of HIV testing among men who have sex with men in Germany and socio-demographic factors associated with testing behaviour. *BMC Public Health*. 2015;15:727.
41. Romero A, Gonzalez V, Granell M, Matas L, Esteve A, Martro E, et al. Recently acquired HIV infection in Spain (2003-2005): introduction of the serological testing algorithm for recent HIV seroconversion. *Sex Transm Infect*. 2009; 85(2):106–10.
42. Robert Koch-Institut. [Knowledge Attitude Behavior Study about HIV and STI Testing in Germany for migrants from Sub-Saharan-Africa (MISSA)] Berlin: Robert Koch-Institut; 2015 [cited 2016 Feb 25]. Available from: [http://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/H/HIVAIDS/Studien/MISSA/MISSA\\_node.html](http://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/H/HIVAIDS/Studien/MISSA/MISSA_node.html).
43. Robert Koch-Institut. HIV-Nennerstudie: Online Laborbefragung zur Bestandsaufnahme der HIV-Diagnostik in Deutschland 2011. *Epidemiologisches Bulletin*. 2015;07(15):47–50.
44. Kassanjee R, Pilcher CD, Keating SM, Facente SN, McKinney E, Price MA, et al. Independent assessment of candidate HIV incidence assays on specimens in the CEPHIA repository. *AIDS (London, England)*. 2014;28(16): 2439–49.
45. Hauser A, Hofmann A, Meixenberger K, Somogyi S, Bartmeyer B, Jansen K, et al., editors. Comparing a 'Multi Assay Algorithm' with the BED Capture Enzyme Immunoassay for the testing of recent HIV-1 infections in Germany. 15th European AIDS Conference; 2015 21.10–24.10.2015; Barcelona, Spain.

Submit your next manuscript to BioMed Central and we will help you at every step:

- We accept pre-submission inquiries
- Our selector tool helps you to find the most relevant journal
- We provide round the clock customer support
- Convenient online submission
- Thorough peer review
- Inclusion in PubMed and all major indexing services
- Maximum visibility for your research

Submit your manuscript at  
[www.biomedcentral.com/submit](http://www.biomedcentral.com/submit)



## **Publikation 2**

Hauser A, **Hofmann A**, Hanke K, Bremer V, Bartmeyer B, Kuecherer C, Bannert N.: National molecular surveillance of recently acquired HIV infections in Germany, 2013 to 2014. Euro Surveill. 2017;22(2). DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2017.22.2.30436. Impact factor: 7,127 für 2017 (Quelle: Journal Citation Reports)



# National molecular surveillance of recently acquired HIV infections in Germany, 2013 to 2014

A Hauser<sup>1</sup>, A Hofmann<sup>2,3</sup>, K Hanke<sup>1</sup>, V Bremer<sup>2</sup>, B Bartmeyer<sup>2</sup>, C Kuecherer<sup>1</sup>, N Bannert<sup>1</sup>

1. Division of HIV and Other Retroviruses, Robert Koch Institute, Berlin, Germany

2. Division of HIV/AIDS, STI and Blood-borne Infections, Robert Koch Institute, Berlin, Germany

3. Charité – Universitätsmedizin, Berlin, Germany

Correspondence: Norbert Bannert (BannertN@rki.de)

## Citation style for this article:

Hauser A, Hofmann A, Hanke K, Bremer V, Bartmeyer B, Kuecherer C, Bannert N. National molecular surveillance of recently acquired HIV infections in Germany, 2013 to 2014. *Euro Surveill.* 2017;22(2):pii=30436. DOI: <http://dx.doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2017.22.2.30436>

Article submitted on 01 February 2016 / accepted on 23 August 2016 / published on 12 January 2017

To enable an up-to-date molecular analysis of human immunodeficiency virus (HIV) genotypes circulating in Germany we have established a surveillance system based on recently acquired HIV infections. New HIV infections are reported to the Robert Koch Institute as a statutory duty for anonymous notification. In 2013 and 2014, a dried serum spot (DSS) sample was received from 6,371 newly diagnosed HIV-cases; their analysis suggested that 1,797 samples originated from a recent infection. Of these, 809 were successfully genotyped in the *pol* region to identify transmitted drug resistance (TDR) mutations and to determine the HIV-1 subtype. Total TDR was 10.8%, comprising 4.3% with mono-resistance to nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs), 2.6% to non-NRTIs, 3.0% to protease inhibitors and 0.6% and 0.2%, respectively, with dual- and triple-class resistances. HIV-1 subtype B was most prevalent with 77.0%. Non-B infections were identified more often in men and women with heterosexual transmission compared with intravenous drug users or men who have sex with men (79% and 76%, 33%, 12%; all  $p < 0.05$ ). Non-B subtypes were also more frequently found in patients originating from countries other than Germany (46% vs 14%;  $p < 0.05$ ) and in patients infected outside of Germany (63% vs 14%;  $p < 0.05$ ).

## Introduction

Continuous molecular HIV surveillance provides valuable public health information concerning the transmission of drug-resistant viruses and the dynamics of currently circulating variants. Transmitted drug resistance (TDR) has significant clinical consequences as it is associated with an increase in the failure rate of antiretroviral therapy (ART) [1]. With prevalence of TDR (at least one resistance mutation) ranging between 10% and 15% in several European countries and in North America [2-6], the problem is of substantial concern. Genotypic resistance testing is therefore recommended before commencing first-line treatment [7].

The prevalence of TDR in a country is determined by the history of clinical therapy regimens and the failures resulting from resistance. TDR can vary depending on transmission route, country of origin of the patient and country of infection [6]. From a virological perspective, TDR is largely determined by the persistence of the associated mutation(s). Persistence of those mutations depends mainly on the fitness costs to the virus and on the viral genetic background (e.g. chance of compensatory mutations) [8].

Knowledge of currently circulating HIV subtypes in a country and the dynamics of their spread is of epidemiological and clinical relevance. This information affects the safety and accuracy of HIV diagnostics and is valuable for HIV prevention and vaccine development.

The objective of this study was to determine TDR and HIV-1 subtypes in a substantial subset of new HIV-1 infections diagnosed in 2013 and 2014 in Germany. We intended to examine transmissions from a restricted period of time and therefore, only recently acquired infections among the newly diagnosed cases were included. We aimed to analyse TDR and transmitted HIV-1 subtypes in the main transmission groups: men who have sex with men (MSM), persons with heterosexual contact (HET) and people who inject drugs (PWID), considering sex and origin of the infected individual and place of infection.

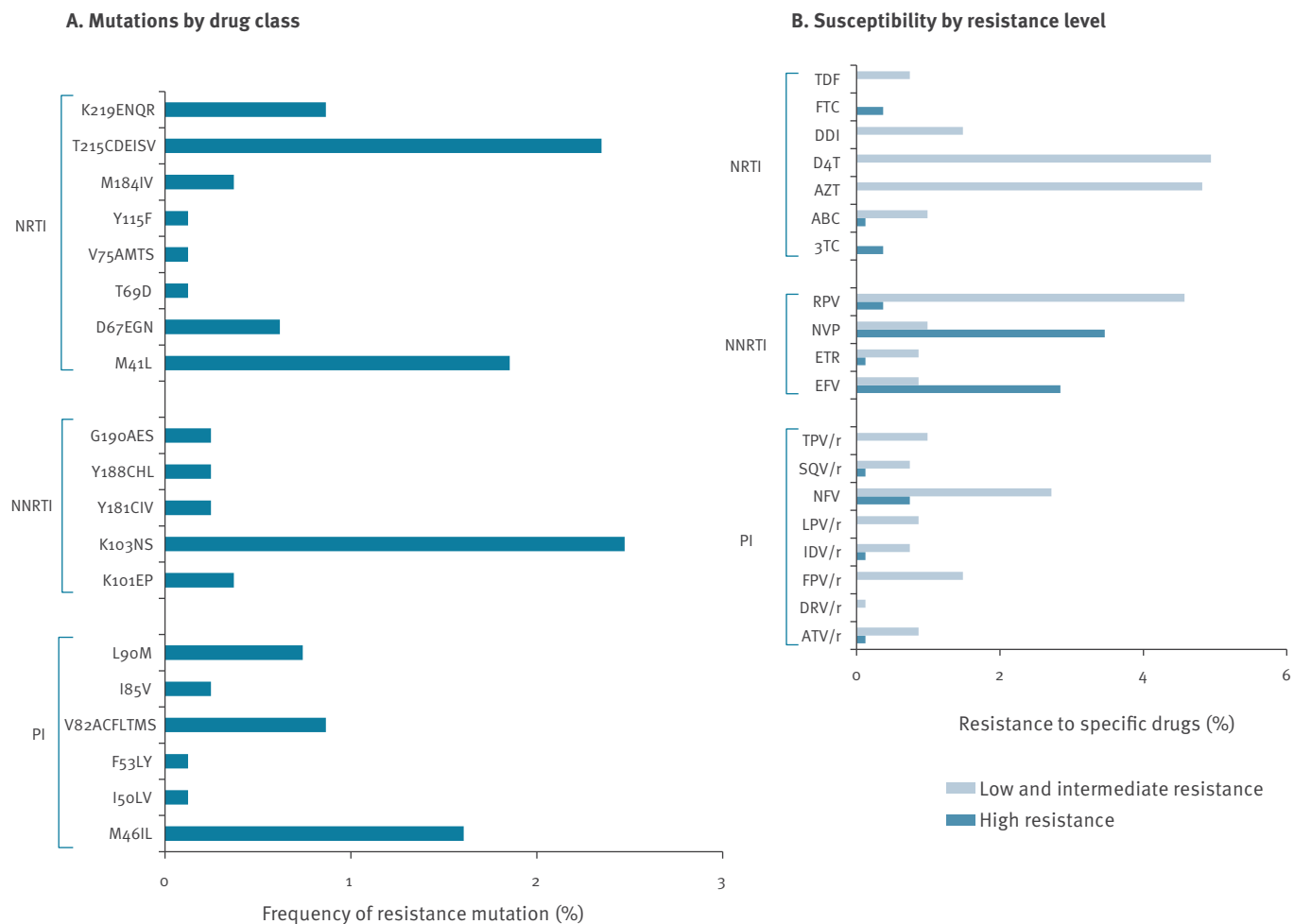
## Methods

### Clinical samples

The data protection officer of the RKI and the German Federal Commissioner for Data Protection and Freedom of Information approved the study protocol (III-401/008#0016).

**FIGURE 1**

Prevalence of transmitted drug resistance mutations by drug class (A) and predicted susceptibility to antiretroviral drugs by level of resistance (B) in the study population, Germany, 2013–14 (n = 809)



NRTI: nucleoside reverse transcriptase inhibitors; NNRTI: non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors; PI: protease inhibitor.

Panel B: Prediction according to Stanford SIR algorithm: intermediate levels of resistance (light colours) and high levels of resistance (dark colours); low and potentially low levels are not indicated.

### RNA isolation and HIV sequencing

HIV RNA from 4 x 100 µL DSS was extracted according to the manufacturer's instructions with the manual NucliSense Magnetic Extraction method for samples collected in 2013 or the automated Biomerieux EasyMag platform for samples collected in 2014 (both bioMerieux, Capronne, France). Viral RNA was quantified using an in house LTR RT-TaqMan PCR according to a modified protocol [9]. As concentration controls, serial dilutions of the IIIB strain of HIV-1 in human HIV-negative plasma was dropped onto filter cards (DPS standard). Samples were analysed using a newly designed HIV-1 group M generic RT-PCR system (in house *pol* RT-PCR) covering the genomic region of HIV-1 protease (AS9–99) and reverse transcriptase (AS1–252) including all resistance-associated positions. The in house *pol* RT-PCR assay consists of two *pol* RT-PCRs yielding two overlapping amplicons: a fragment 1 of

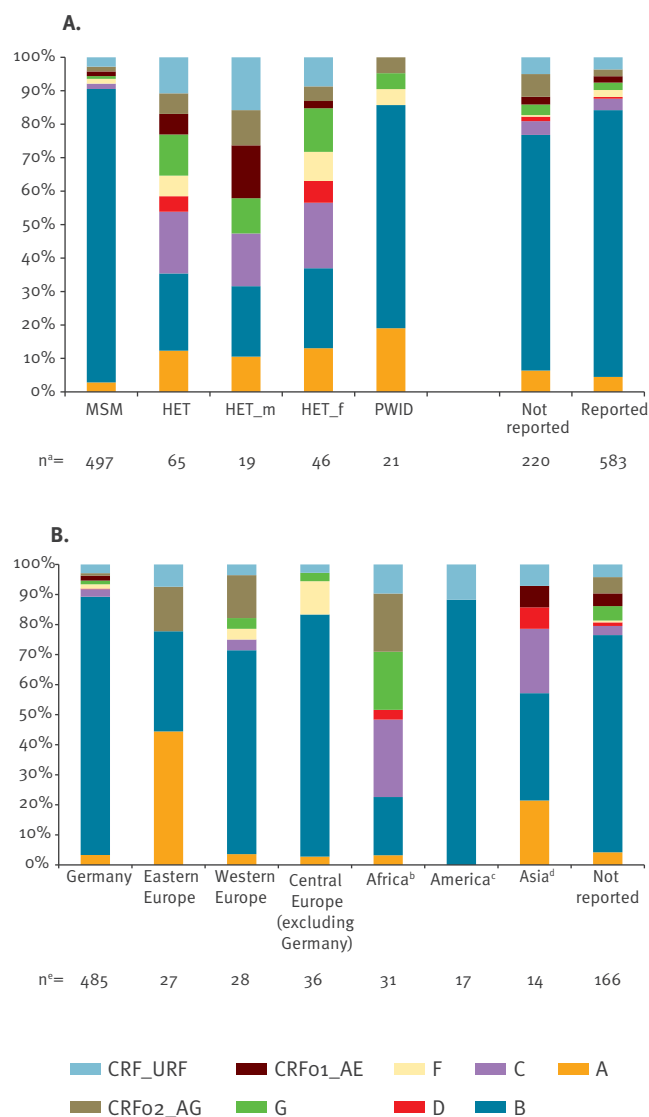
576 bp (primer\_A: CCCTCARATCACTCTTTggCARCgA, position 2,252–2,276; Primer\_B: CCTAATTgAACYTCCCARAARTCYTgAgT, position 2,799–2,827) and a second fragment 2 of 718 bp (Primer\_C: AAACAATggCCATTRACAgARgA, position 2,613–2,636; primer\_D: CTAAYTTYTgTATRRCATTgACAgTCCA, position 3,303–3,330). All nucleotide positions refer to sequence of the HXB2 genome (accession number K03455). The detection limit of the in house *pol* RT-PCR was shown to be equivalent to 1,000 copies/mL DPS standard (highest dilution resulting in 100% positive PCR outcome). Population-based sequencing was performed and a consensus sequence from both fragments was obtained.

### HIV-1 subtyping

The HIV-1 subtype was assigned by applying the REGA HIV-1 subtyping tool (REGA HIV Subtyping Tool Version

**FIGURE 2**

Subtype distribution (A) in the main transmission groups and (B) by country of origin, Germany, 2013–14 (n=809)



HET: persons with heterosexual contact; HET\_f: female persons with heterosexual contact; HET\_m: male persons with heterosexual contact; MSM: men who have sex with men; PWID: people who inject drugs.

<sup>a</sup> Transmission group 'other' (n=6, see Table 1) was excluded from the data set.

<sup>b</sup> Patients from the Middle East, North and sub-Saharan Africa.

<sup>c</sup> Patients from North and Latin America.

<sup>d</sup> Patients from South and South-east Asia.

<sup>e</sup> Two patients from the Caribbean, one patient from Oceania and two patients with unknown non-German origin were excluded.

3.0) and COMET HIV-1 (Version 1.0) [10] to the *pol* sequence. Only subtype classifications based on bootstrap values of >70% in the tree topology were taken into account. In cases where a subtype or circulating recombinant form (CRF) was not assigned by either subtyping tool, the strain was classified as unique recombinant form (URF). In addition, a distance-based neighbour-joining method and bootstrap (PHYMLIP version 3.6) was calculated using an extended panel of subtype reference sequences from the Los Alamos HIV sequence database.

### HIV drug resistance interpretation and calculation of the prevalence of transmitted drug resistance

The World Health Organization (WHO)'s surveillance drug resistance mutations (SDRM) list was used to interpret TDR [11]. Levels of expected resistance to each of the three drug classes nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTI), non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTI) and protease inhibitors (PI) as mono, dual or triple class resistance were predicted using the Stanford algorithm (version 7.0). Three levels of resistance were scored: high (R), intermediate (I, intermediate and low), sensitive (S, potentially resistant and sensitive).

### Statistical analysis

Descriptive statistics for continuous variables were calculated as medians and interquartile ranges (IQR). Differences in proportions, odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CI) were assessed by two-sided Fisher's exact test using EPICALC 2000 software (version 1.02; Gilman and Myatt 1997). A two-sided p value ≤ 0.05 was considered significant.

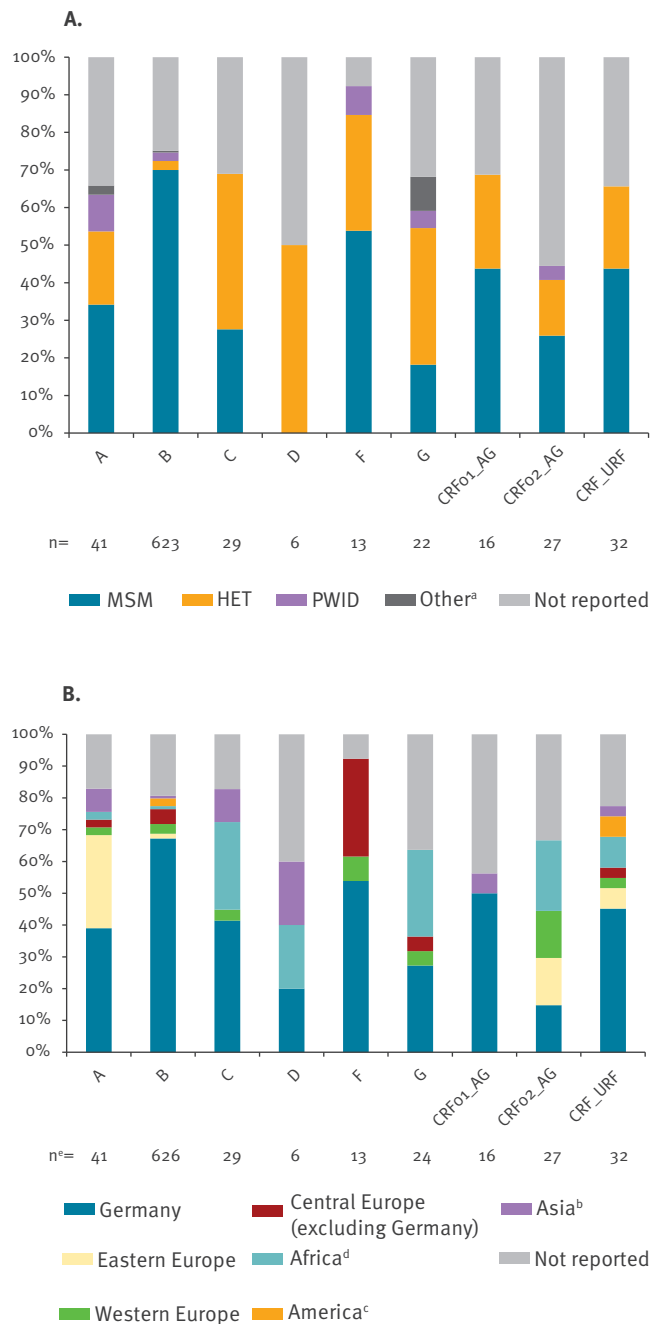
## Results

### Characterisation of the study population

In 2013 and 2014, a total of 6,371 DSS prepared from residual serum of newly HIV-diagnosed cases were submitted to the RKI along with the anonymous report. Of these, 2,034 (32%) were serologically classified as recent HIV infections using the BED-CEIA. The viral load was reported for 700 and a CD4+ T-cell count for 543 of the 2,034 specimens. Specimens with CD4+ T-cell counts < 200 cells/μL (n=108) or viral loads < 400 copies/mL (n=50) or both (n=8) were reclassified as 'long-standing infections' and, together with repeatedly reported cases (n=71), excluded, resulting in 1,797 DSS. Sufficient material (four serum spots à 100 μL) was available for 1,387 of those specimens. The *pol* RT-PCR amplification and sequencing was successful in 809 samples; these represented the final study panel of recent HIV infections. A viral load was reported for 298 of 809 cases, with a median of 184,481 copies/mL (IQR: 45,405–983,158). Among these 298 cases, CD4+ T-cell counts were available for 214, with a median of 357 cells/μL (IQR: 278–487). The proportional distribution of recently infected cases analysed by sex, transmission routes, country of origin and country of

**FIGURE 3**

Prevalence of HIV-1 subtypes stratified by (A) main transmission groups and (B) origin of patient, Germany 2013–14 (n = 809)



HET: persons with heterosexual contact; MSM: men who have sex with men; PWID: people who inject drugs.

<sup>a</sup> Transmission group 'other' (n=6), see Table 1.

<sup>b</sup> Patients from South and South-east Asia.

<sup>c</sup> Patients from North and Latin America.

<sup>d</sup> Patients from Middle East, North and sub-Saharan Africa.

<sup>e</sup> Two patients from the Caribbean, one patient from Oceania and two patients with unknown non-German origin were excluded.

infection extracted from sociodemographic data submitted with the notification form are shown in Table 1.

### Prevalence of transmitted drug resistance

The overall prevalence of TDR in patients with recently acquired HIV infection diagnosed in 2013 and 2014 was 10.8% (n = 87/809; 95% CI: 8.8–13.1). This comprised mono-resistance to NRTIs in 4.3% (35/809; 95% CI: 3.1–6.0) of the patients, to NNRTIs in 2.6% (21/809; 95% CI: 1.7–4.0) and to PIs in 3.0% (24/809; 95% CI: 2.0–4.5) of cases. Dual and triple class resistance was identified in 0.6% (n=4 NRTI/NNRTI; n=1 NNRTI/PI) and 0.2% (n=2 NRTI/NNRTI/PI) of the patients, respectively (Table 2).

Of all 52 NRTI-associated mutations identified, 46 were thymidine analogue mutations (TAM), namely: the revertants of T215Y (T215CDEISV; 2.3%; 19/809), M41L (2.2%; 15/809), K219ENQR (0.9%; 7/809) and D67EGN (0.6%; 5/809). TAM were selected by the thymidine analogues and conferred intermediate resistance to azidothymidine (AZT) and stavudine (D4T). The most prevalent NNRTI resistance mutations were K103N and K103S (2.5%; 20/809), selected by first generation NNRTIs. The PI-selected resistance mutations M46I and M46L were present at a level of 1.6% (13/809) associated with resistance to a broad spectrum of PIs: atazanavir/ritonavir (ATV/r), fosamprenavir (FPV/r), indinavir (IDV/r), lopinavir (LPV/r), nelfinavir (NFV) and tripranavir (TPV/r). The PI-selected resistance mutations L90M (resistance to LPV/r, ATV/r, saquinavir (SQV)/r, IDV/r, NFV) and V82ACFLTMS (resistance to FPV/r, TPV/r, IDV/r, LPV/r, ATV/r) were present at levels of 0.7% (6/809) and 0.9% (7/809), respectively (Figure 1A and B).

Drug resistance mutations observed in transmitted HIV strains mainly induced intermediate levels of resistance to NRTI and PI (mainly resistance-associated singleton mutations). High levels of resistance were frequently observed to the NNRTIs efavirenz (EFV) and nevirapine (NVP) and were caused primarily by the prevalent resistance mutation K103N (Figure 1B).

We found no correlation between TDR and sex, transmission group, origin of patient or country of infection in general or for any resistance class (all p values > 0.05) (Table 2).

### Prevalence of HIV-1 subtypes

The most prevalent HIV-1 subtype in the total study population (n=809) was subtype B with 77.0% (623/809; 95% CI: 73.9–79.8), while 23.0% of HIV-1 infections (186/809; 95% CI: 20.2–26.1) were caused by non-B subtypes including A (5.1%, 41/809), C (3.6%, 29/809), D (0.7%, 6/809), F (1.6%, 13/809), G (2.7%, 22/809), CRF01\_AE (2.0%, 16/809) and CRF02\_AG (3.3%, 27/809) as well as 4.0% (32/809) other rare CRFs (06\_cpx, 07\_BC, 12\_BF, 18\_cpx, 19\_cpx, 34\_01B, 35\_AD, 44\_BF, 49\_cpx) and URFs. These rare CRFs

**TABLE 1**

Characteristics of patients with recent infection included in molecular HIV surveillance, Germany, 2013–14 (n = 809)

| Study population                   | n   | %    |
|------------------------------------|-----|------|
| <b>Sex</b>                         |     |      |
| Male                               | 718 | 88.8 |
| Female                             | 86  | 10.6 |
| Not reported                       | 5   | 0.6  |
| <b>Transmission group</b>          |     |      |
| Men who have sex with men          | 497 | 61.4 |
| Persons with heterosexual contacts | 65  | 8.0  |
| Persons with intravenous drug use  | 21  | 2.6  |
| Other                              | 6   | 0.7  |
| Not reported                       | 220 | 27.2 |
| <b>Country of origin</b>           |     |      |
| Germany                            | 485 | 60.0 |
| Other                              | 158 | 19.5 |
| Not reported                       | 166 | 20.5 |
| <b>Country of infection</b>        |     |      |
| Germany                            | 523 | 64.6 |
| Other                              | 91  | 11.2 |
| Not reported                       | 195 | 24.1 |

were grouped together with the URFs into the rare CRF/URF subgroup.

The subtype distribution in the subset of recent infections with available CD4+ T-cell counts and viral loads (n = 214) was very similar to the overall study population, with 77.1% (165/214) subtype B and 22.9% (49/214) non-B infections including A (4.2%, 9/214), C (5.1%, 11/214), D (0.9%, 2/214), F (0.9%, 3/214), G (2.8%, 6/214), CRF01\_AE (1.9%, 4/214) and CRF02\_AG (1.9%, 4/214) as well as 4.7% (10/214) rare CRF/URFs (all p values of pairwise comparisons > 0.2).

HIV-1 subtype B was associated with a significantly higher proportion of TDR (12.0%, 75/623) than the non-B subtypes (6.4%; 12/186; OR: 0.50; 95% CI: 0.27–0.95; p = 0.04), particularly with regard to the NRTI mutations (5.3% in B, 1.1% in non-B, p = 0.01) (Table 2).

With regard to the main transmission groups, MSM were predominantly infected by subtype B, with 87.7% (436/497) which is significantly higher than in PWID (14/21) or in HET (15/65; male HET: 4/19 and female HET 11/46; all p values MSM-PWID-HET < 0.05). In HET, subtype diversity was high and particularly non-B subtypes A (8/65), C (12/65) and G (8/65) were frequent. In PWID, subtype A (4/21) was the second most prevalent subtype (after B with 14/21), while subtypes C, D, CRF01\_AE and the group of rare CRF/URF were not identified in PWID. Subtype distribution in the group that did not report transmission type mirrored the group that did report transmission type (MSM+HET+PWID), with a

slightly lower proportion of subtype B (70.5%, 155/220 vs 79.8%, 465/583) (Figure 2A). The proportion of subtype non-B infections in Germans (14.0%, 68/485) was significantly lower than in individuals from other countries (45.6%, 72/158; p < 0.0001). Subtype B was predominant in Germans and in migrants originating from America and western and central Europe (417/485, 15/17, 19/28 and 29/36, respectively). Subtype A was the most frequently subtype identified in eastern Europeans (12/27), while migrants from Africa and Asia were infected with a greater variety of subtypes (Figure 2B).

For the subtypes A, B, F, CRF01\_AE and the rare CRF/URF, the main transmission route was MSM (14/41, 436/623, 7/13, 7/16 and 14/32, respectively) while the subtypes C, D and G were mainly transmitted by heterosexual contacts (12/29, 3/6 and 8/22, respectively) (Figure 3A).

HIV subtype A was mostly identified in Germans (16/41) and eastern European patients (12/41), subtype C and G in Germans (12/29 and 6/22) and Africans (8/29 and 6/22), while for Subtype D and CRF02\_AG, no main origin of patients could be identified. The rare CRF/URFs were mainly identified in Germans (14/31) but also in patients originating from other continents (Europe (4/31), Africa (3/31), America (2/31) and Asia (1/31)) (Figure 3B).

A stratification according to the geographical region of acquisition revealed that in Germany (86.2%; 451/523), America (3/5) and in western (14/21) and central Europe (7/12), subtype B infections were mainly acquired. Non-B subtypes were acquired more frequently abroad (62.6%; 57/91) than in Germany (13.8%; 72/523; p < 0.05).

## Discussion

We have established a molecular HIV-1 surveillance strategy based on samples collected in association with the mandatory notification system of new HIV diagnoses in Germany. Analysis of samples was restricted to recent HIV-transmissions with a defined duration of less than 302 days since HIV infection. This approach permitted us to focus on the viruses circulating during any given period of time and to estimate current trends in the HIV epidemic, because late presenters who acquired an infection before that period were excluded.

The overall TDR prevalence among the 2013 and 2014 study samples was 10.8%. This is largely comparable to previously published cohort studies from Germany and several other western European countries with a long history of combination ART (cART) [3–5] and indicates in many respects that the rate of TDR is essentially stable: Patients included in the German HIV-1 seroconverter cohort between 1996 and 2010 revealed TDR in 11.9% [5]. Two recent comprehensive epidemiological studies involving 26 European countries carried

**TABLE 2**

Prevalence of transmitted drug resistance to the major antiretroviral drug classes in the study population stratified by relevant subgroups, Germany, 2013–14 (n = 809)

|                             | TDR |      | NRTI |     | NNRTI |     | PI |     | Dual |     | Multi |     |
|-----------------------------|-----|------|------|-----|-------|-----|----|-----|------|-----|-------|-----|
|                             | n   | %    | n    | %   | n     | %   | n  | %   | n    | %   | n     | %   |
| <b>Total</b>                | 87  | 10.8 | 35   | 4.3 | 21    | 2.6 | 24 | 3.0 | 5    | 0.6 | 2     | 0.2 |
| <b>Sex</b>                  |     |      |      |     |       |     |    |     |      |     |       |     |
| Male (n = 718)              | 78  | 10.9 | 32   | 4.5 | 18    | 2.5 | 21 | 2.9 | 5    | 0.7 | 2     | 0.3 |
| Female (n = 68)             | 9   | 10.5 | 3    | 3.5 | 3     | 3.5 | 3  | 3.5 | 0    |     | 0     |     |
| Not reported (n = 5)        | 0   |      | 0    |     | 0     |     | 0  |     | 0    |     | 0     |     |
| <b>Transmission group</b>   |     |      |      |     |       |     |    |     |      |     |       |     |
| MSM (n = 497)               | 59  | 11.9 | 22   | 4.4 | 14    | 2.8 | 17 | 3.4 | 4    | 0.8 | 2     | 0.4 |
| HET (n = 65)                | 4   | 6.2  | 3    | 4.6 | 1     | 1.5 | 0  |     | 0    |     | 0     |     |
| PWID (n = 21)               | 2   | 9.5  | 1    | 4.8 | 0     |     | 1  | 4.8 | 0    |     | 0     |     |
| Other (n = 6)               | 0   |      | 0    |     | 0     |     | 0  |     | 0    |     | 0     |     |
| Not reported (n = 220)      | 22  | 10.0 | 9    | 4.1 | 6     | 2.7 | 6  | 2.7 | 1    | 0.5 | 0     |     |
| <b>Country of origin</b>    |     |      |      |     |       |     |    |     |      |     |       |     |
| Germany (n = 485)           | 56  | 11.5 | 24   | 4.9 | 12    | 2.5 | 16 | 3.3 | 3    | 0.6 | 1     | 0.2 |
| Other (n = 158)             | 12  | 7.6  | 2    | 1.3 | 5     | 3.2 | 3  | 1.9 | 1    | 0.6 | 1     | 0.6 |
| Not reported (n = 166)      | 19  | 11.4 | 9    | 5.4 | 4     | 2.4 | 5  | 3.0 | 1    | 0.6 | 0     |     |
| <b>Country of infection</b> |     |      |      |     |       |     |    |     |      |     |       |     |
| Germany (n = 523)           | 63  | 12.0 | 23   | 4.4 | 15    | 2.9 | 18 | 3.4 | 5    | 1.0 | 2     | 0.4 |
| Other (n = 91)              | 5   | 5.5  | 3    | 3.3 | 1     | 1.1 | 1  | 1.1 | 0    |     | 0     |     |
| Not reported (n = 195)      | 19  | 9.7  | 9    | 4.6 | 5     | 2.6 | 5  | 2.6 | 0    |     | 0     |     |
| <b>HIV-1 Subtypes</b>       |     |      |      |     |       |     |    |     |      |     |       |     |
| B (n = 623)                 | 75  | 12.0 | 33   | 5.3 | 16    | 2.6 | 19 | 3.0 | 5    | 0.8 | 2     | 0.3 |
| Non-B (n = 186)             | 12  | 6.5  | 2    | 1.1 | 5     | 2.7 | 5  | 2.7 | 0    |     | 0     |     |

HET: persons with heterosexual contact; HIV: human immunodeficiency virus; MSM: men who have sex with men; NRTI: nucleotide reverse transcriptase inhibitors; NNRTI: non-nucleotide reverse transcriptase inhibitors; PI: protease inhibitor; PWID: people who inject drugs; TDR: transmitted drug resistance.

‘Not reported’ data were excluded from the pairwise comparisons. All p values of pairwise comparison were > 0.05.

out on behalf of the SPREAD-programme reported levels of 8.9% (95% CI: 8.1–9.8) and 8.3% (95% CI: 7.7–9.5) for the period from 2002 to 2007 [6] and from 2008 to 2010, respectively [12]. Proportions of patients with mono-NRTI, mono-NNRTI, mono-PI, dual- and multi-class resistance (5.0%, 2.9%, 2.5%, 0.8% and 0.4%, respectively) [6] were very similar to our findings (4.3%, 2.6%, 3.0%, 0.6% and 0.2%). In both the SPREAD studies and in ours, the detected NRTI resistance mutations belonged to the TAM (mainly revertants of T215Y, followed by M41L) selected by AZT and D4T. The most prevalent NNRTI SDRMs were K103NS, and resistance to PIs was mainly due to the mutations L90M and M46I [6,12]. TAM are very frequent and long-term persisting resistance mutations [8]. De novo selection by current therapies is unlikely because the use of AZT and D4T is declining [13]. We therefore suggest that these have become circulating strains by onward transmission from untreated, and probably undiagnosed, individuals. While TAM may not have any particular impact on the success of current first-line treatments, K103N and K103S may still be associated with their failure [7].

Sex was not associated with TDR in our study. However, the prevalence of TDR was slightly but not significantly higher among MSM, in Germans or in individuals infected in Germany. In studies carried out in some other European countries, the associations between TDR and MSM or subtype B (exhibiting higher TDR levels) were significant [6,12,14].

HIV-1 epidemiology is characterised by compartmentalised subepidemics of subtypes with a dynamic nature. The most prevalent subtype in western European countries is subtype B, mainly as a consequence of multiple introductions via migration, tourism and trade from different geographical areas [15]. The lowest proportion of subtype B was reported for Portugal with 48.3% for patients diagnosed between 2006 and 2012 [16] while the highest proportion was observed in Poland with 96.2% for patients diagnosed between 2002 and 2005 [17].

Determinants of subtype distribution are the transmission group, country of origin and country of infection. Subtype B is highly prevalent in MSM, most probably as a result of a founder effect rather than an increased

transmission potential of subtype B [18]. Non-B subtypes were significantly more frequently diagnosed in sub-populations originating from and often acquired in countries other than Germany. Most migrants with recent HIV infections carried subtypes dominating in their country of origin [19], suggesting that they may have acquired the infection during a visit to their home countries or within their community in Germany.

Interestingly, a considerable proportion of rare CRF/URFs are present in patients originating from all continents. However, the high proportion of Germans in the non-B clade group, in particular those with subtype A, F and rare CRF/URFs, indicates that non-B strains have become endemic in the German population. Although the number of PWID analysed was low, HIV-1 subtype A was strikingly more common in PWID than in other transmission groups.

One limitation of our study was that the restriction to recently acquired infections over-estimates patient groups that are tested more frequently due to their awareness of transmission risks. This might explain the slightly higher prevalence of MSM among recent infections in our study (61.4%) compared with the notification data for all (recent and prevalent) newly diagnosed HIV infections in 2013 and 2014 (57.7%) [20]. A second limitation was the overall genotyping success rate of 58% in samples from recent infections. This was mainly due to a lack of serum spots for RNA extraction or to RNA degradation after inappropriate handling or shipment. A technical limitation was the expected misclassification of long-standing as recent infections due to a false recent rate (FRR) of ca 4.7% for subtype B or even higher for the non-B subtypes, in particular A and D (FRR 18.9 and 18.2%, respectively), using the BED CEIA assay [21]. This may have led to an over-representation of non-B subtypes in the study. Taking into account CD4+ T-cell counts and viral load data as parameters for recency estimation is expected to diminish this bias [22]. Consideration of these clinical parameters that were available for about one third of the samples only marginally reduced the prevalence for the recent non-B infections from 23.0% to 22.9% but, more significantly, from 5.1% to 4.2% for subtype A, which is generally the most strongly affected by BED misclassification. An ancillary analysis of specimens that were reclassified as long-standing infections based on CD4+ T-cell counts < 200 cells/ $\mu$ L and viral loads < 400 copies/mL (n=72) revealed 33.3% non-B and 11.1% subtype A (data not shown), confirming the anticipated over-representation introduced by the BED ELISA. Based on these data, the lack of CD4+ T-cell counts and viral loads for two thirds of the sample set is estimated to result in an over-representation of non-B subtypes of less than 2.5%. Being one of two commercially available recency tests, the BED CEIA is used worldwide for epidemiological surveillance studies [23-28], although efforts to evaluate and improve serological recency tests are ongoing [21].

## Conclusion

The TDR prevalence in recent HIV infections among notified newly diagnosed HIV patients in Germany was still high (>10%) in 2013 and 2014 and was within the range of other European countries, including the proportions of resistance classes. Although the selection for resistant HIV was dramatically reduced by the introduction of cART and new drugs [29], levels of TDR remain stable in all European countries and are still dominated by resistance to NRTI. This is most likely caused by a continued onward transmission of persisting NRTI-resistant strains that emerged as a result of failed treatment regimens during the pre-cART era (1987-96) and not by transmission of resistant viruses from patients failing cART. Therefore, genotypic resistance testing of HIV before first-line treatment needs to be continued. Since therapy-naïve and probably also undiagnosed patients are the predominant source of TDR, early detection of HIV infection followed by early treatment, as recommended in the current guidelines [7], could reduce the transmission of resistant virus [13,30]. Our data also demonstrate that subtype B remains the most frequently transmitted subtype in Germany because of its high prevalence in MSM.

## Acknowledgements

The authors thank the laboratories participating in the InzSurv and MASTER HIV/HEP projects. We also thank the sequencing facility of the RKI. Many thanks to Steve Norley for proofreading of the manuscript. The study was funded by the German Federal Ministry of Health.

## Conflict of interest

None declared.

## Authors' contributions

Andrea Hauser: designed and performed the experiments, collected data, analysed the data, wrote the manuscript. Alexandra Hofmann: collected and analysed data; contributed to the writing of the manuscript. Kirsten Hanke: analysed the data. Viviane Bremer: analysed the data, contributed to the writing of the manuscript. Barbara Bartmeyer: collected and analysed data, contributed to the writing of the manuscript. Claudia Kuecherer: contributed significantly to the design of the study, contributed reagents/materials/analysis tools; analysed the data, contributed to the writing of the manuscript. Norbert Bannert: was mainly responsible for the design and supervision of the study, analysed the data, contributed to the writing of the manuscript.

## References

1. Wittkop L, Günthard HF, de Wolf F, Dunn D, Cozzi-Lepri A, de Luca A, et al. Effect of transmitted drug resistance on virological and immunological response to initial combination antiretroviral therapy for HIV (EuroCoord-CHAIN joint project): a European multicohort study. *Lancet Infect Dis.* 2011;11(5):363-71. DOI: 10.1016/S1473-3099(11)70032-9 PMID: 21354861
2. Wheeler WH, Ziebell RA, Zabina H, Pieniazek D, Prejean J, Bodnar UR, et al. Prevalence of transmitted drug resistance associated mutations and HIV-1 subtypes in new HIV-1 diagnoses, U.S.-2006. *AIDS.* 2010;24(8):1203-12. DOI: 10.1097/QAD.0b013e3283388742 PMID: 20395786

3. Colafigli M, Torti C, Treccarichi EM, Albini L, Rosi A, Micheli V, et al. Evolution of transmitted HIV-1 drug resistance in HIV-1-infected patients in Italy from 2000 to 2010. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(8):E299-304. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2012.03847.x PMID: 22536753
4. Baxter JD, Dunn D, White E, Sharma S, Geretti AM, Kozal MJ, et al. Global HIV-1 transmitted drug resistance in the INSIGHT Strategic Timing of AntiRetroviral Treatment (START) trial. *HIV Med.* 2015;16(Suppl 1):77-87. DOI: 10.1111/hiv.12236 PMID: 25711326
5. Zu Knyphausen F, Scheufele R, Kücherer C, Jansen K, Somogyi S, Dupke S, et al. First line treatment response in patients with transmitted HIV drug resistance and well defined time point of HIV infection: updated results from the German HIV-1 seroconverter study. *PLoS One.* 2014;9(5):e95956. DOI: 10.1371/journal.pone.0095956 PMID: 24788613
6. Frenzt D, Van de Vijver DA, Abecasis AB, Albert J, Hamouda O, Jørgensen LB, et al. Increase in transmitted resistance to non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors among newly diagnosed HIV-1 infections in Europe. *BMC Infect Dis.* 2014;14(1):407. DOI: 10.1186/1471-2334-14-407 PMID: 25047543
7. European AIDS Clinical Society (EACS). Guidelines. Version 8.0. European Guidelines for treatment of HIV-infected adults in Europe 2015. Brussels: EACS; October 2015. Available from: <http://www.eacsociety.org/guidelines/eacs-guidelines/eacs-guidelines.html>
8. Yang WL, Kouyos RD, Böni J, Yerly S, Klimkait T, Aubert V, et al. Swiss HIV Cohort Study (SHCS). Persistence of transmitted HIV-1 drug resistance mutations associated with fitness costs and viral genetic backgrounds. *PLoS Pathog.* 2015;11(3):e1004722. DOI: 10.1371/journal.ppat.1004722 PMID: 25798934
9. Cleland A, Davis C, Adams N, Lycett C, Jarvis LM, Holmes H, et al. Development of multiplexed nucleic acid testing for human immunodeficiency virus type 1 and hepatitis C virus. *Vox Sang.* 2001;81(2):93-101. DOI: 10.1046/j.1423-0410.2001.00093.x PMID: 11554668
10. Struck D, Lawyer G, Ternes AM, Schmit JC, Bercoff DP. COMET: adaptive context-based modeling for ultrafast HIV-1 subtype identification. *Nucleic Acids Res.* 2014;42(18):e144. DOI: 10.1093/nar/gku739 PMID: 25120265
11. Bennett DE, Camacho RJ, Otelea D, Kuritzkes DR, Fleury H, Kiuchi M, et al. Drug resistance mutations for surveillance of transmitted HIV-1 drug-resistance: 2009 update. *PLoS One.* 2009;4(3):e4724. DOI: 10.1371/journal.pone.0004724 PMID: 19266092
12. Hofstra LM, Sauvageot N, Albert J, Alexiev I, Garcia F, Struck D, et al. Transmission of HIV drug resistance and the predicted effect on current first-line regimens in Europe. *Clin Infect Dis.* 2016;62(5):655-63. DOI: 10.1093/cid/civ963 PMID: 26620652
13. Mbisa JL, Fearnhill E, Dunn DT, Pillay D, Asboe D, Cane PA, UK HIV Drug Resistance Database. Evidence of self-sustaining drug resistant HIV-1 lineages among untreated patients in the United Kingdom. *Clin Infect Dis.* 2015;61(5):829-36. DOI: 10.1093/cid/civ393 PMID: 25991470
14. Karlsson A, Björkman P, Bratt G, Ekvall H, Gisslén M, Sönnberg A, et al. Low prevalence of transmitted drug resistance in patients newly diagnosed with HIV-1 infection in Sweden 2003-2010. *PLoS One.* 2012;7(3):e33484. DOI: 10.1371/journal.pone.0033484 PMID: 22448246
15. Magiorkinis G, Angelis K, Mamais I, Katzourakis A, Hatzakis A, Albert J, et al. The global spread of HIV-1 subtype B epidemic. *Infect Genet Evol.* 2016;46:169-79.
16. Pereira NR, Duro R, Piñero C, Malheiro L, Soares J, Serrão R, et al. Characterization of HIV-1 subtypes in a Portuguese cohort. *J Int AIDS Soc.* 2014;17(4) Suppl 3:19683. PMID: 25397433
17. Abecasis AB, Wensing AM, Paraskevis D, Vercauteren J, Theys K, Van de Vijver DA, et al. HIV-1 subtype distribution and its demographic determinants in newly diagnosed patients in Europe suggest highly compartmentalized epidemics. *Retrovirology.* 2013;10(1):7. DOI: 10.1186/1742-4690-10-7 PMID: 23317093
18. Foley B, Pan H, Buchbinder S, Delwart EL. Apparent founder effect during the early years of the San Francisco HIV type 1 epidemic (1978-1979). *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2000;16(15):1463-9. DOI: 10.1089/08892200750005985 PMID: 11054259
19. Hemelaar J, Gouws E, Ghys PD, Osmanov S. Global and regional distribution of HIV-1 genetic subtypes and recombinants in 2004. *AIDS.* 2006;20(16):W13-23. DOI: 10.1097/01.aids.0000247564.73009.bc PMID: 17053344
20. Robert Koch Institute (RKI). Regional distribution of new HIV diagnoses within Germany. [Regionale Verteilung der HIV-Neudiagnosen innerhalb Deutschlands]. *Epidemiologisches Bulletin.* 2015;27/2015. German. Available from: [http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2015/Ausgaben/27\\_15.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2015/Ausgaben/27_15.pdf?__blob=publicationFile).
21. Kassinjee R, Pilcher CD, Keating SM, Facente SN, McKinney E, Price MA, et al. Independent assessment of candidate HIV incidence assays on specimens in the CEPHIA repository. *AIDS.* 2014;28(16):2439-49. DOI: 10.1097/QAD.0000000000000429 PMID: 25144218
22. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Monitoring recently acquired HIV infections in the European context. Stockholm: ECDC; 2013. Available from: <http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/monitoring-recently-acquired-HIV-infections-european-context.pdf>
23. Kim AA, McDougal JS, Hargrove J, Rehle T, Pillay-Van Wyk V, Puren A, et al. Evaluating the BED capture enzyme immunoassay to estimate HIV incidence among adults in three countries in sub-Saharan Africa. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2010;26(10):1051-61. DOI: 10.1089/aid.2009.0218 PMID: 20849299
24. Scheer S, Nakelsky S, Bingham T, Damesyn M, Sun D, Chin CS, et al. Estimated HIV Incidence in California, 2006-2009. *PLoS One.* 2013;8(2):e55002. DOI: 10.1371/journal.pone.0055002 PMID: 23405106
25. Grinberg G, Giron LB, Knoll RK, Galinskas J, Camargo M, Arif MS, et al. High prevalence and incidence of HIV-1 in a counseling and testing center in the city of Itajaí, Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2015;19(6):631-5. DOI: 10.1016/j.bjid.2015.08.001 PMID: 26361837
26. Zhang J, Guo Z, Yang J, Pan X, Jiang J, Ding X, et al. Genetic diversity of HIV-1 and transmitted drug resistance among newly diagnosed individuals with HIV infection in Hangzhou, China. *J Med Virol.* 2015;87(10):1668-76. DOI: 10.1002/jmv.24223 PMID: 25899877
27. Lunar MM, Matković I, Tomažič J, Vovko TD, Pečavar B, Poljak M. Longitudinal trends of recent HIV-1 infections in Slovenia (1986-2012) determined using an incidence algorithm. *J Med Virol.* 2015;87(9):1510-6. DOI: 10.1002/jmv.24209 PMID: 25970253
28. Santos-Hövenner C, Zimmermann R, Kücherer C, Bätzing-Feigenbaum J, Wildner S, Hamouda O, et al. Conversation about Serostatus decreases risk of acquiring HIV: results from a case control study comparing MSM with recent HIV infection and HIV negative controls. *BMC Public Health.* 2014;14(1):453. DOI: 10.1186/1471-2458-14-453 PMID: 24885694
29. Gill VS, Lima VD, Zhang W, Wynhoven B, Yip B, Hogg RS, et al. Improved virological outcomes in British Columbia concomitant with decreasing incidence of HIV type 1 drug resistance detection. *Clin Infect Dis.* 2010;50(1):98-105. DOI: 10.1086/648729 PMID: 19951169
30. Drescher SM, von Wyl V, Yang WL, Böni J, Yerly S, Shah C, et al. Treatment-naïve individuals are the major source of transmitted HIV-1 drug resistance in men who have sex with men in the Swiss HIV Cohort Study. *Clin Infect Dis.* 2014;58(2):285-94. DOI: 10.1093/cid/cit694 PMID: 24145874

## License and copyright

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution (CC BY 4.0) Licence. You may share and adapt the material, but must give appropriate credit to the source, provide a link to the licence, and indicate if changes were made.

This article is copyright of the authors, 2017.



### **Publikation 3**

Hauser A, **Hofmann A**, Meixenberger K, Altmann B, Hanke K, Bremer V, Bartmeyer B, Bannert N.: Increasing proportions of HIV-1 non-B subtypes and of NNRTI resistance between 2013 and 2016 in Germany: Results from the national molecular surveillance of new HIV-diagnoses. PLoS One. 2018;13(11): e0206234. DOI: 10.1371/journal.pone.0206234. Impact factor: 2,776 für 2018 (Quelle: Journal Citation Reports)

RESEARCH ARTICLE

# Increasing proportions of HIV-1 non-B subtypes and of NNRTI resistance between 2013 and 2016 in Germany: Results from the national molecular surveillance of new HIV-diagnoses

Andrea Hauser<sup>1,2\*</sup>, Alexandra Hofmann<sup>3,4</sup>, Karolin Meixenberger<sup>1</sup>, Britta Altmann<sup>1</sup>, Kirsten Hanke<sup>1</sup>, Viviane Bremer<sup>3</sup>, Barbara Bartmeyer<sup>3</sup>, Norbert Bannert<sup>1,2</sup>

**1** Division of HIV and Other Retroviruses, Robert Koch Institute, Berlin, Germany, **2** Institute of Medical Virology, Charité Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany, **3** Division of HIV/AIDS, STI and Blood-borne Infections, Robert Koch-Institute, Berlin, Germany, **4** Charité, Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany

\* [hausera@rki.de](mailto:hausera@rki.de)



**OPEN ACCESS**

**Citation:** Hauser A, Hofmann A, Meixenberger K, Altmann B, Hanke K, Bremer V, et al. (2018) Increasing proportions of HIV-1 non-B subtypes and of NNRTI resistance between 2013 and 2016 in Germany: Results from the national molecular surveillance of new HIV-diagnoses. PLoS ONE 13 (11): e0206234. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206234>

**Editor:** Chiyu Zhang, Institut Pasteur of Shanghai Chinese Academy of Sciences, CHINA

**Received:** June 1, 2018

**Accepted:** October 9, 2018

**Published:** November 8, 2018

**Copyright:** © 2018 Hauser et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Data Availability Statement:** All relevant sequence data have been deposited in the NCBI database. All 251 accession numbers are provided within the Supporting Information file, [S2 Text](#).

**Funding:** The study was funded by the German Federal Ministry of Health, Grant number: FKZ 2513AUK375. (NB, VB). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

## Abstract

### Background

Molecular surveillance of newly diagnosed HIV-infections is important for tracking trends in circulating HIV-variants, including those with transmitted drug resistances (TDR) to sustain ART efficacy.

### Methods

Dried serum spots (DSS) are received together with the statutory notification of a new diagnosis. 'Recent infections' (<155 days) classified by a 'recent infection test algorithm' (BED-CEIA and clinical data) are genotyped in HIV-protease (PR), reverse transcriptase (RT) and integrase (INT) to determine the HIV-1 subtype, to calculate prevalence and trends of TDR, to predict baseline susceptibility and to identify potential transmission clusters for resistant variants.

### Results

Between January 2013 and December 2016, 1,885 recent infections were analysed regarding the PR/RT genomic region, with 43.5% of these also being subjected to the analysis of INT. The proportion of HIV-1 non-B viruses (31.3%; 591/1,885) increased from 21.6% to 36.0%, particularly the subtypes A (5.0% to 8.3%) and C (3.2% to 7.7%; all  $p_{trends} < 0.01$ ). The subtype A increment is mainly due to transmissions within men who have sex with men (MSM) while subtype C transmissions are associated with heterosexuals and people who inject drugs. The prevalence of TDR was stable at 11.0% (208/1,885) over the study period. Resistances to nucleotide RT inhibitors (NRTI) and PR inhibitors (PI) were 4.5% and 3.2%, respectively, without identifiable trends. In contrast, resistances to non-NRTIs (NNRTI,

**Competing interests:** The authors have declared that no competing interests exist.

4.7%) doubled between 2014 and 2016 from 3.2% to 6.4% ( $p_{\text{trend}} = 0.02$ ) mainly due to the K103N mutation (from 1.7% to 4.1%;  $p_{\text{trend}} = 0.03$ ) predominantly detected in recently infected German MSM not linked to transmission clusters. Transmitted INSTI mutations were present in only one case (T66I) and resistance to dolutegravir was not identified at all. Reduced susceptibility to recommended first-line therapies was low with 1.0% for PIs, 1.3% for NRTIs and 0.7% for INSTIs, but high for the NNRTIs efavirenz (4.9%) and rilpivirine (6.0%) due to the K103N mutation and the polymorphic mutation E138A. These trends in therapy-naïve individuals impact current first-line regimens and require awareness and vigilant surveillance.

## Introduction

HIV infection is still a major public health concern in EU/EEA countries with approximately 30,000 new cases reported each year [1]. Prevention by pre-exposure prophylaxis (PrEP), frequent (self-) testing of persons at risk with rapid diagnostic assays and immediate initiation of highly effective combination antiretroviral therapy (cART) following a confirmed infection are among the most promising new measures introduced in recent years to curb the number of HIV-transmissions in this region of the world [2]. However, further transmission of drug resistant viral variants that can limit the success of first-line therapy regimens remains a substantial issue [3]. Genotypic resistance testing prior to treatment initiation is therefore recommended by national and European guidelines in order to predict clinical resistance and guide the choice of individual treatments [4, 5]. The prevalence of transmitted drug resistance (TDR) is primarily linked to the cART prescription pattern in a country, the proportion of individuals treated with cART, the extent of acquired drug resistance relating to the common therapy adherence, resistance barriers of the administered antiretroviral regimens and the frequency of virus load monitoring. As the access to cART is increasing worldwide [6], TDR requires more attention and its surveillance is gaining momentum at national and international levels [7–9].

To predict TDR in cART-naïve patients, the World Health Organization (WHO) defined relevant resistance mutations selected by protease inhibitors (PIs), nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs) and non-NRTIs (NNRTIs). These are summarized in the WHO surveillance drug resistance mutations (WHO SDRM) list from 2009 [10]. Based on this list, the overall prevalence of TDR in Europe is reported to have been largely stable for more than a decade, affecting approximately one in ten new infections [11, 12]. This is somewhat surprising since the introduction of new drugs with higher potency and reduced tendency to induce resistance resulted in a decrease in therapy failures during this period [13]. The explanation for this apparent paradox is the high prevalence of resistance associated mutations with low impact on viral fitness that persist in transmission chains for years without selective pressure by the drug [14–16].

The surveillance of transmitted resistances of integrase strand transfer inhibitors (INSTI) is of particular interest. Raltegravir was approved in Europe in 2007, followed by elvitegravir (2012) and dolutegravir (2014). The general tolerance and the low likelihood of resistance selection due to a high genetic barrier [17] led to their widespread use and recommendation as first-line option in European guidelines [5, 18]. Since the WHO SDRM list does not include INSTI selected mutations in the last updated version of 2009, the Stanford HIV drug resistance database SDRM Worksheet for INSTI may be used instead.

In 2013 a molecular surveillance program was initiated in Germany that is based on the examination of viral sequences from recently infected among newly diagnosed HIV cases [7, 19]. The aim of the present study was to analyse the distribution of HIV-1 subtypes, the prevalence of TDR, the potential phylogenetic relationship of TDR and its impact on the baseline susceptibility in newly diagnosed patients between 2013 and 2016.

## Materials and methods

### Clinical samples

According to the “Protection Against Infection Act” (IfSG; §7) of 2001, diagnostic laboratories in Germany are obligated to report newly diagnosed HIV infections anonymously to the German public health institute (Robert Koch Institute, RKI). For surveillance programs a network of approximately eighty diagnostic laboratories ([https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/H/HIVAIDS/Studien/InzSurv\\_HIV/beteiligte\\_Labore.html](https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/H/HIVAIDS/Studien/InzSurv_HIV/beteiligte_Labore.html)) was established that send along with the report form, residual serum from newly diagnosed HIV cases spotted onto a filter card (Whatman 903 filter paper) as dried serum spots (DSS). According to §13 of IfSG the RKI is authorized to receive blood residuals from diagnostics for surveillance purposes.

By this sampling strategy, specimens from approximately 60% of all reported newly diagnosed HIV infections are send to the RKI laboratory. Here, DSS are classified into recently acquired and long term HIV-infections according to the ECDC recommended ‘recent infection test algorithm’ (RITA) including results from the BED IgG Capture EIA (Sedia Biosciences Corporation, Portland, OR, USA) and clinical data from the HIV-notification database (CDC classification, CD4 cell count and viral load) [19]. Only recent infections are subsequently processed for HIV-genotyping. Sequence data are finally merged with the provided anonymous socio-demographic data from the HIV-notification form (gender; transmission routes: men who have sex with men (MSM), persons with heterosexual contact (HET), people who inject drugs (PWID); regions of patient origin) for analysis. The data protection officer of the Robert Koch Institute and the Federal Commissioner for Data Protection and Freedom of Information approved the study protocol (III-401/008#0016).

### HIV-1 subtyping, drug resistance interpretation and phylogenetic analysis

HIV-1 genotypes from the protease (PR) and reverse transcriptase (RT) genomic region (2013–2016) and the integrase (INT) genomic region (2014–2016) were generated according to the previously published protocols [20, 21]. Since 2015, Sanger sequencing has been substituted by next generation sequencing (NGS) using the Illumina MiSeq platform as described previously [22]. After extensive evaluations, a 20% threshold for defining ambiguities was applied to the NGS generated sequences to maintain consistency (S1 Text). The HIV-1 subtype was assigned by applying the REGA HIV Subtyping Tool (3.0) [23] and COMET HIV-1 (1.0) [24] to the *pol*-sequence. In cases where a subtype or circulating recombinant form (CRF) could not be assigned, a maximum-likelihood tree with bootstrap (IQ-TREE 1.5.5) was calculated using the HIV-1 subtype reference panel from the Los Alamos HIV sequence data base. Only subtype classifications based on bootstrap values of >70% in the tree topology were taken into account, otherwise they were classified as unique recombinant form (URF).

The prevalence of TDR was calculated from the number of persons infected with viral variants carrying at least one mutation included in the WHO SDRM list [10]. Transmitted INSTI mutations were defined as the detection of mutations listed in the Stanford HIV drug resistance database SDRM Worksheet for INSTI ([https://hivdb.stanford.edu/pages/SDRM\\_worksheet.INI.html](https://hivdb.stanford.edu/pages/SDRM_worksheet.INI.html); updated in June 2016). Phenotypic resistance was predicted using the Stanford HIV Drug Resistance Database 8.4 algorithm (Stanford HIVbd) [25]. Three levels of

resistance were scored: (i) S = susceptible (including susceptible and potential resistant levels) (ii) I = intermediate (including low and intermediate levels) and (iii) R = resistant (high level resistance). Predictions of primary resistance to recommended and alternative first-line therapy options are based on the EACS treatment guidelines 9.0 [5] which include the NNRTIs efavirenz and rilpivirine, the NRTIs abacavir, lamivudine, tenofovir and emtricitabine, the PIs atazanavir, darunavir and lopinavir and the INSTIs raltegravir, elvitegravir and dolutegravir.

Drug resistance mutations present in a proportion of  $\geq 0.5\%$  in the dataset were defined to be 'frequent mutations' and were used for trend analysis. In addition, sequences carrying one of the 'frequent mutations' were applied to phylogenetic analysis to allow the spread of resistance mutations within transmission networks to be mapped. For this purpose sequences were aligned with 33 reference sequences from the Los Alamos database and trimmed to 1026 base pairs. To select the optimal tree model, Maximum Likelihood (ML) phylogenies were reconstructed using the Ultrafast Bootstrap approximation in IQ-TREE with 10,000 replicates with the integrated model selection algorithm [26, 27]. A group O sequence was used as outgroup for the ML tree reconstruction. The tool 'Transmic' (<https://github.com/kavehyousef/code>) [28] was used to identify clusters of closely related sequences, possibly linked by direct transmission or very short transmission chains (putative transmission clusters). Therefore, a 99% bootstrap cut-off and a 4.5% mean pairwise patristic distance were used as a cluster threshold as reported by other groups [29, 30]. The tree was visualized in Figtree (version 1.4.0).

## Statistics

Statistical analyses were performed using STATA (version 14.2). Continuous variables were analyzed using median and interquartile range (IQR). The  $\chi^2$  test was used for bivariate comparison and logistic regression to assess the odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CI). Changes in the prevalence over time were analyzed using the  $\chi^2$  test for trend of odds.

## Results

### Characterisation of the study population

Between 2013 and 2016, a total of 10,643 DSS of newly diagnosed HIV-cases were submitted to the RKI along with the anonymous report and 3,380 (31.8%) were classified as recent infections. From these we were able to obtain 1,885 (55.8%) HIV-1 genotypes of the PR and RT genomic regions. The median plasma viral load was 140,500 copies/ml (IQR 32,269–991,106), the median CD4 cell count was 454 cells/ $\mu$ l (IQR 304–612) and the median age of the newly diagnosed individuals was 36.3 years. Baseline patient characteristics are shown in [Table 1](#). During the study period the most remarkable change was an increase in the proportion of HET (7.6% to 13.1%) and persons with African origin (3.2% to 7.5%) between 2013 and 2015 followed by a slight decline in 2016 (to 11.4% and 6.0%, respectively).

HIV-1 genotypes of the INT genomic region were available for 820 of the 1,885 DSS (43.5%) from newly diagnosed cases in 2014 (70/466, 16%), 2015 (348/624, 57%) and 2016 (402/517, 79%). The proportional distribution in subgroups was congruent between the total study population ( $n = 1,885$ ) and the subset ( $n = 820$ ) ([Table 1](#)).

### Prevalence and trends of HIV-1 subtypes

Subtype B infections were predominant in the total study population with 68.6% (CI95% 66.5–70.7; 1,294/1,885) and primarily affected MSM and persons of German origin ([Fig 1](#), [Table 2](#)). The proportion of subtype B infections was significantly decreasing from 78.4% in 2013 to

Table 1. Baseline characteristics of the study population.

|                             | n     | Protease/Reverse Transcriptase |                     |                  |                  |                     | Integrase                |
|-----------------------------|-------|--------------------------------|---------------------|------------------|------------------|---------------------|--------------------------|
|                             |       | 2013–2016 (n = 1,885)<br>%     | 2013 (n = 278)<br>% | 2014 (n = 466) % | 2015 (n = 624) % | 2016 (n = 517)<br>% | 2014–2016 (n = 820)<br>% |
| <b>Gender</b>               |       |                                |                     |                  |                  |                     |                          |
| Male                        | 1,638 | 86.9                           | 87.8                | 88.6             | 87.0             | 84.7                | 87.2                     |
| Female                      | 228   | 12.1                           | 11.5                | 10.7             | 12.3             | 13.4                | 11.8                     |
| Not reported                | 19    | 1.0                            | 0.7                 | 0.6              | 0.6              | 1.9                 | 1.0                      |
| <b>Mode of transmission</b> |       |                                |                     |                  |                  |                     |                          |
| MSM                         | 1,091 | 57.9                           | 60.8                | 62.5             | 55.6             | 54.9                | 55.5                     |
| HET                         | 207   | 11.0                           | 7.6                 | 9.7              | 13.1             | 11.4                | 10.7                     |
| PWID                        | 71    | 3.8                            | 4.0                 | 2.2              | 4.3              | 4.5                 | 5.2                      |
| Other                       | 7     | 0.4                            | 0.7                 | 0.4              | 0.3              | 0.2                 | 0.4                      |
| Not reported                | 509   | 27.0                           | 27.0                | 25.3             | 26.6             | 29.0                | 28.2                     |
| <b>Region of origin</b>     |       |                                |                     |                  |                  |                     |                          |
| Germany                     | 1,147 | 60.9                           | 59.4                | 60.7             | 56.6             | 66.9                | 61.3                     |
| Eastern Europe              | 59    | 3.1                            | 2.5                 | 4.1              | 3.2              | 2.5                 | 2.9                      |
| Western Europe              | 60    | 3.2                            | 4.7                 | 2.6              | 4.2              | 1.7                 | 3.3                      |
| Central Europe              | 77    | 4.1                            | 3.2                 | 4.7              | 3.7              | 4.5                 | 4.8                      |
| Asia/Oceania                | 36    | 1.9                            | 1.4                 | 2.4              | 2.9              | 0.6                 | 1.7                      |
| America/Caribbean           | 46    | 2.4                            | 2.5                 | 2.2              | 3.2              | 1.7                 | 2.4                      |
| Africa                      | 111   | 5.9                            | 3.2                 | 5.2              | 7.5              | 6.0                 | 6.1                      |
| Other                       | 8     | 0.4                            | 0.4                 | 0.2              | 0.5              | 0.6                 | 0.5                      |
| Not reported                | 341   | 18.1                           | 22.7                | 18.0             | 18.3             | 15.5*               | 17.0                     |

MSM: men who have sex with men; HET: persons with heterosexual mode of transmission; PWID: people who inject drugs

\*  $p < 0.05$ .

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206234.t001>

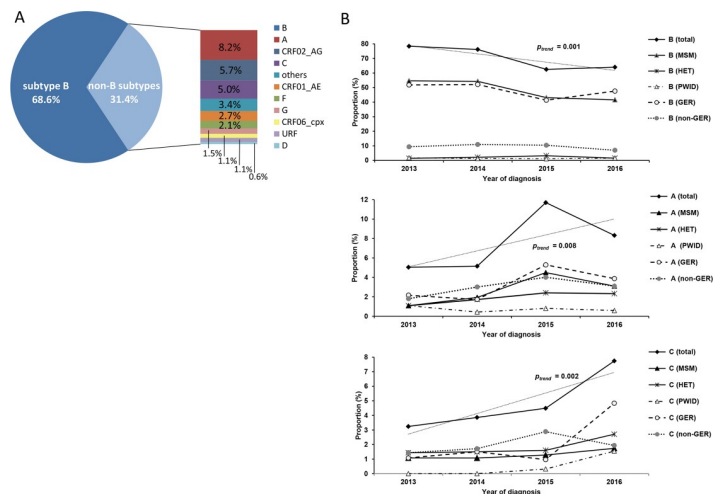


Fig 1. Analysis of HIV-1 subtypes. (A) Proportion of HIV-1 subtypes in the study population. (B) Trend analysis for major subtypes that show a significant increase or decrease ( $p < 0.05$ ) between 2013 and 2016. Trend lines and  $p$ -values are indicated for the total proportions of subtypes. MSM: men who have sex with men; HET: persons with heterosexual mode of transmission, PWID: people who inject drugs, GER: German.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206234.g001>

**Table 2. Analysis of infections with major HIV-1 subtypes regarding transmission groups and regional origin.**

|                     | Subtype B<br>(n = 1,294)<br>% | Subtype A(n = 154)<br>% | CRF02_AG(n = 108)<br>% | Subtype C (n = 95)<br>% |
|---------------------|-------------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|
| MSM                 | 68.7                          | 36.4                    | 22.2                   | 26.3                    |
| PWID                | 2.0                           | 8.4                     | 7.4                    | 10.5                    |
| HET                 | 3.3                           | 24.7                    | 32.4                   | 36.9                    |
| Not reported/ other | 26.0                          | 30.5                    | 38.0                   | 26.3                    |
| Germany             | 68.9                          | 43.5                    | 32.4                   | 43.2                    |
| Not Germany         | 13.7                          | 39.0                    | 44.4                   | 42.1                    |
| Not reported        | 17.4                          | 17.5                    | 23.2                   | 14.7                    |

MSM: men who have sex with men; HET: persons with heterosexual mode of transmission, PWID: people who inject drugs

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206234.t002>

64.0% in 2016 ( $p_{trend} = 0.001$ ). This trend is primarily based on the two above mentioned subgroups and can also be observed in non-Germans (all  $p_{trend} > 0.05$ ) (Fig 1B).

Among the non-B infections (31.4%, CI95% 29.3–33.5, 591/1,885) the most prevalent were subtype A (8.2%), CRF02\_AG (5.7%) and subtype C (5.0%) (Fig 1A). Almost half of the infected individuals were of German origin, while the other half was of foreign origin (Table 2). Subtype A infected persons of foreign origin (n = 60) mostly originated from Central/East Europe (n = 31) or Sub-Saharan Africa (n = 13) and subtype C or CRF02\_AG infected persons of foreign origin (n<sub>C</sub> = 40 and n<sub>AG</sub> = 48) largely originated from Sub-Saharan Africa (n<sub>C</sub> = 26 and n<sub>AG</sub> = 21) (Table 2). The increment in the proportion of non-B infections is mostly due to a significant increase of subtype A ( $p_{trend} = 0.008$ ) and C ( $p_{trend} = 0.002$ ) (Fig 1B). While subtype A peaked in 2015 and declined somewhat in the following year, subtype C proportions increased steadily and reached a maximum in 2016. These developments are also evident in most of the analysed subgroups except for subtype C in non-Germans, which peaked in 2015 (Fig 1B).

### Prevalence and trends of TDR

The overall prevalence of TDR according to the WHO SDRM list was 11.0% (CI95% 9.7–12.5) (Table 3). There was little variation in the four year period between 2013 and 2016 ( $p_{trend} = 0.68$ )

**Table 3. Prevalence of TDR within subgroups between 2013 and 2016.**

|       | Over all<br>% (n) | Mode of transmission |              |               |                             | Region of Origin |              |             |              |             |                             | Subtypes     |               |            |                       |
|-------|-------------------|----------------------|--------------|---------------|-----------------------------|------------------|--------------|-------------|--------------|-------------|-----------------------------|--------------|---------------|------------|-----------------------|
|       |                   | MSM<br>% (n)         | HET<br>% (n) | PWID<br>% (n) | Not rep.<br>/other<br>% (n) | GER<br>% (n)     | EUR<br>% (n) | AM<br>% (n) | AFR<br>% (n) | AS<br>% (n) | Not rep.<br>/other<br>% (n) | A<br>% (n)   | B<br>% (n)    | C<br>% (n) | CRF<br>02_AG<br>% (n) |
| TDR   | 11.0<br>(208)     | 11.4<br>(124)        | 6.8<br>(14)  | 5.6<br>(4)    | 12.8<br>(66)                | 11.2<br>(128)    | 5.6<br>(11)  | 13.0<br>(6) | 12.6<br>(14) | 5.6<br>(2)  | 13.5<br>(47)                | 14.9<br>(23) | 12.4<br>(160) | 8.4<br>(8) | 6.5<br>(7)            |
| NRTI  | 4.5 (84)          | 4.4 (48)             | 3.4 (7)      | 2.8 (2)       | 5.2 (27)                    | 4.4 (51)         | 2.6 (5)      | 4.3 (2)     | 6.3 (7)      | 2.8<br>(1)  | 5.2 (18)                    | 1.9 (3)      | 5.7 (74)      | 3.2<br>(3) | 1.9 (2)               |
| NNRTI | 4.7 (89)          | 4.9 (53)             | 4.3 (9)      | 1.4 (1)       | 5.0 (26)                    | 4.4 (51)         | 3.1 (6)      | 13.0<br>(6) | 5.4 (6)      | 5.6<br>(2)  | 5.2 (18)                    | 5.2 (8)      | 4.9 (63)      | 5.3<br>(5) | 5.6 (6)               |
| PI    | 3.2 (60)          | 3.7 (40)             | 0.5 (1)      | 1.4 (1)       | 3.5 (18)                    | 3.5 (40)         | 1.0 (2)      | 0.0 (0)     | 2.7 (3)      | 2.8<br>(1)  | 4.0 (14)                    | 9.1 (14)     | 3.2 (41)      | 2.1<br>(2) | 0.9 (1)               |

MSM: men who have sex with men; HET: persons with heterosexual mode of transmission; TM: mode of transmission; rep.: reported; GER: Germany; EUR: Europe; AM: America; AFR: Africa; AS: Asia

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206234.t003>

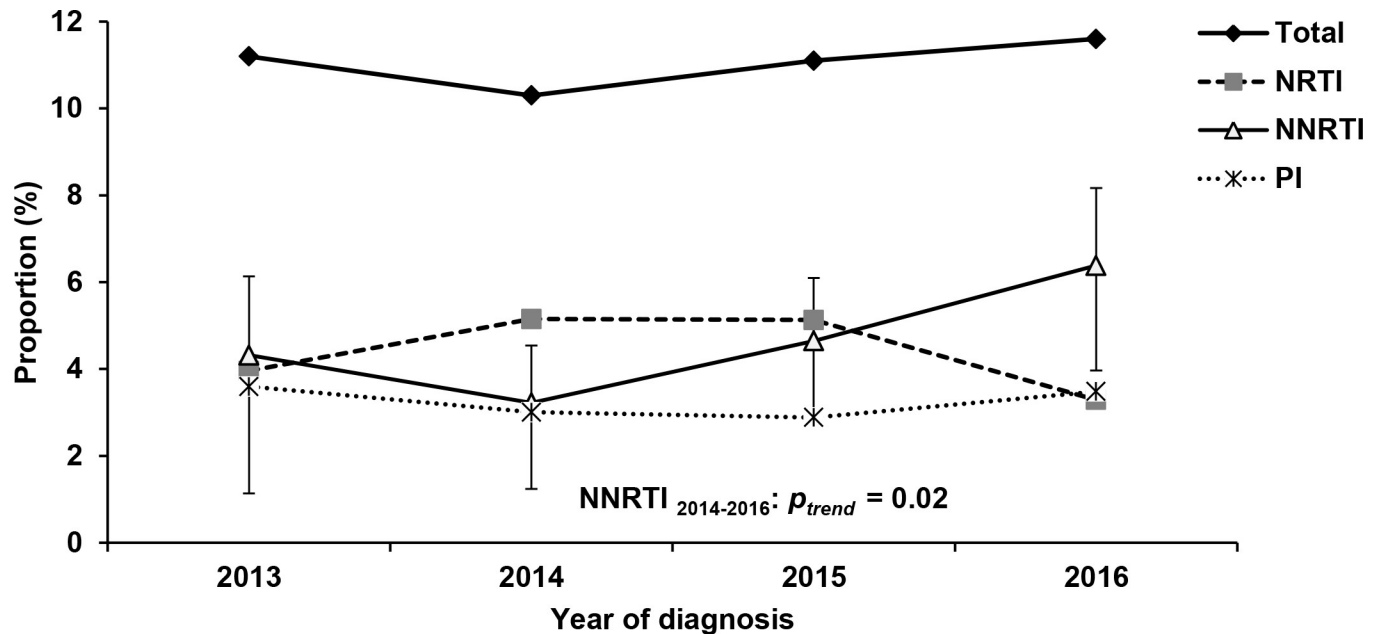


Fig 2. Trends of transmitted drug resistance among newly diagnosed HIV cases with recent HIV infections in total and according to drug classes. The confidence interval for NNRTI resistance is indicated.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206234.g002>

(Fig 2). Mono resistance was present in 9.9% of the patients (NNRTI: 3.6%, NRTI: 3.4%, PI: 2.8%), dual and triple class resistance in 1.0% and 0.2%, respectively. Taking mono and multiclass TDR together (cumulative counts), NNRTI resistance was most frequently found with 4.7% (CI95% 3.9–5.8), followed by NRTI resistance (4.5%, CI95% 3.6–5.5), and PI resistance (3.2%, CI95% 2.5–4.1) (Table 3). A trend analysis revealed that NRTI resistance decreased to its lowest levels in 2016 ( $p_{trend} = 0.47$ ), while NNRTI resistance increased within the study period ( $p_{trend} = 0.06$ ). This increase was significant between 2014 and 2016 ( $p_{trend} = 0.02$ ). PI resistance did not show any tendency to increase or decrease between 2013 and 2016 ( $p_{trend} = 0.99$ ) (Fig 2).

Significantly higher proportions of TDR were found in MSM compared to HET ( $p = 0.03$ ) and in Germans compared to non-Germans (33/397, 8.3%;  $p < 0.13$ ). However, the prevalence was also high in persons with American and African origin, but the total number of cases with this origin was low ( $n = 6$  and  $14$ , respectively) (Table 3). Moreover, in subtype B the prevalence of TDR (160/1,294; 12.4%) was significantly higher than in non-B subtypes (48/591; 8.1%;  $p < 0.01$ ). However, the highest level of TDR (14.9%) was identified in subtype A (Table 3).

### Prevalence of TDR mutations and their impact on drug susceptibility according to the Stanford HIVdb

The thymidine analogue mutations (TAMs) M41L, K219Q and T215 revertants as well as the non-TAM M184V were among the most frequently transmitted NRTI-resistance mutations ( $\geq 0.5\%$ ) (Table 4). These TAMs were responsible for the high proportions of resistance to zidovudine and stavudine (both 4%) (Fig 3A) at low/intermediate level (Fig 3B). Less frequently observed were the mutations D67N ( $n = 8$ ), K65R ( $n = 2$ ) and K70R ( $n = 2$ ). The M184V, K70R and K65R mutations induce high level resistance to NRTIs in recommended first-line regimen according to EACS (9.0). However, their abundance was low with 1.3% (abacavir 1.3%, lamivudine 0.7%, tenofovir 0.9% and emtricitabine 0.7%) (Fig 3A).



**Table 4. Most frequently identified TDR mutations ( $\geq 0.5\%$ ) within the year of diagnosis and indoors HIV-1 subtypes.**

|              | n  | 2013-2016(n = 1,885)<br>% | 2013(n = 278)<br>% | 2014(n = 466)% | 2015(n = 624)% | 2016(n = 517)% | A(n = 154) % | B(n = 1,294)% | C<br>(n = 95)% | CRF02_AG<br>(n = 108)<br>% |
|--------------|----|---------------------------|--------------------|----------------|----------------|----------------|--------------|---------------|----------------|----------------------------|
| <b>NRTI</b>  |    |                           |                    |                |                |                |              |               |                |                            |
| M41L         | 21 | 1.1                       | 1.4                | 1.5            | 1.0            | 0.8            | 0.6          | 1.5           | -              | -                          |
| M184V        | 9  | 0.5                       | 0.7                | 0.2            | 0.8            | 0.2            | 0.6          | 0.3           | 2.1            | 0.9                        |
| T215rev      | 49 | 2.6                       | 1.4                | 3.0            | 2.9            | 2.5            | 0.6          | 3.7           | -              | -                          |
| K219Q        | 12 | 0.6                       | 0.7                | 0.6            | 1.0            | 0.2            | 1.3          | 0.6           | 1.1            | 0.9                        |
| <b>NNRTI</b> |    |                           |                    |                |                |                |              |               |                |                            |
| K103N        | 57 | 3.0                       | 3.2                | 1.7            | 3.0            | 4.1            | 3.2          | 3.4           | 3.2            | 2.8                        |
| *V108I       | 9  | 0.5                       | 1.4                | 0.2            | 0.2            | 0.6            | 0.6          | 0.5           | -              | -                          |
| *E138A       | 75 | 4.0                       | 4.7                | 4.3            | 3.8            | 3.5            | 6.5          | 3.5           | 3.2            | 5.6                        |
| <b>PI</b>    |    |                           |                    |                |                |                |              |               |                |                            |
| M46I/L       | 28 | 1.5                       | 2.2                | 1.3            | 1.0            | 1.9            | 7.8          | 1.1           | 1.1            | 0.9                        |
| Q58E         | 10 | 0.5                       | 1.4                | -              | 0.3            | 0.8            | -            | 0.8           | -              | -                          |
| V82L         | 15 | 0.8                       | 0.7                | 0.6            | 0.8            | 1.0            | -            | 1.2           | -              | -                          |
| L90M         | 9  | 0.5                       | 0.7                | 0.6            | 0.5            | 0.2            | -            | 0.6           | -              | -                          |

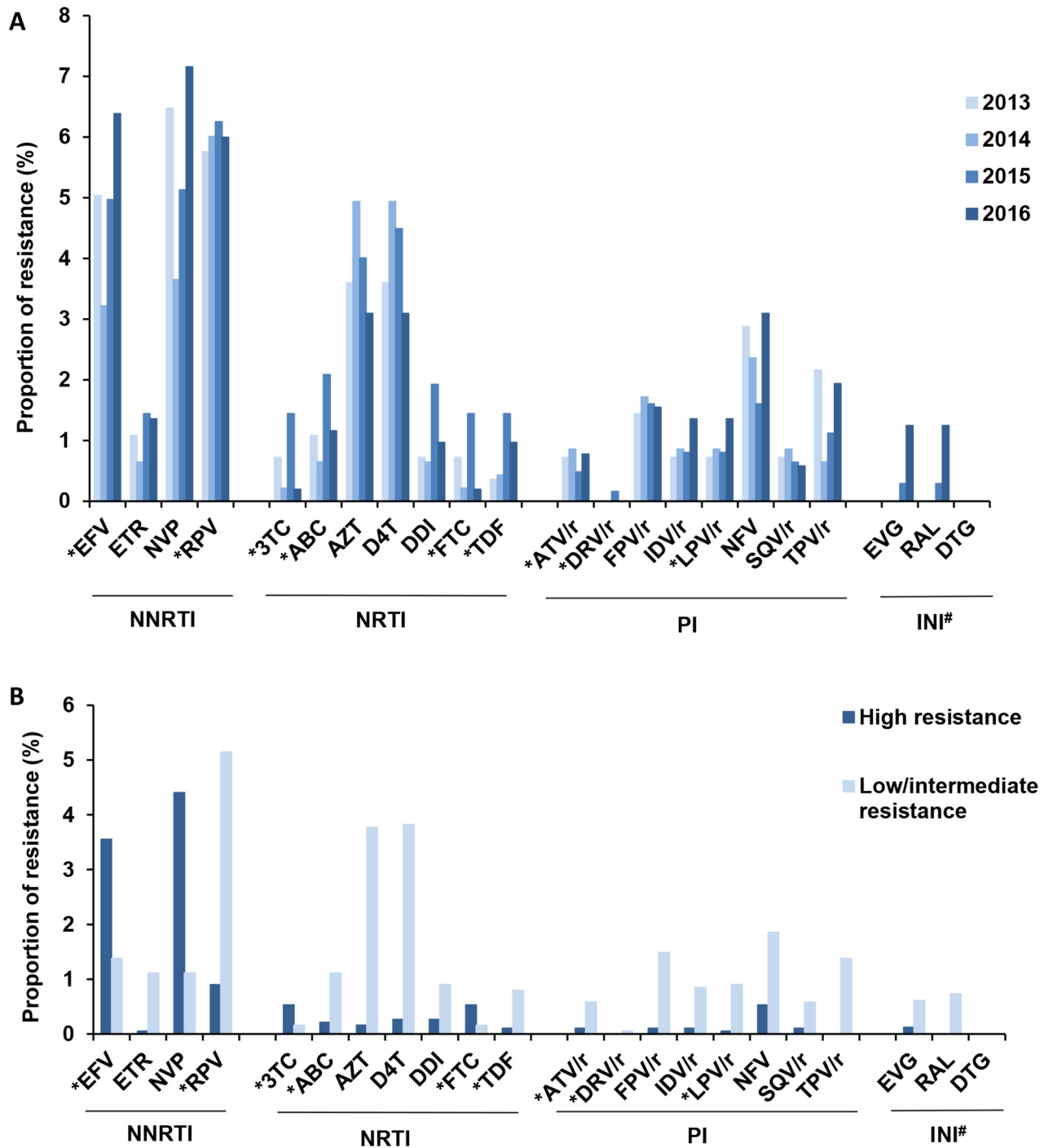
\* mutations according to Stanford HIVdb, not listed in the SDRM-list

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206234.t004>

The most frequently detected NNRTI-mutation was K103N. Its proportion was increasing between 2013 and 2016 ( $p_{trend} = 0.07$ ) with this increase being significant between 2014 and 2016 ( $p_{trend} = 0.03$ ). The steep slope of the 'total K103N' between 2014 and 2016 was quite congruent in the subgroups of MSM, persons of German origin and subtype B infections (Fig 4A). However, slightly increasing tendencies with a peak in 2015 could also be observed for persons with non-German origin and subtype non-B infections (Fig 4B). Consequently, resistance to first generation NNRTIs (efavirenz and nevirapine) doubled between 2014 and 2016 (Fig 3A). The polymorphic NNRTI-mutation E138A not recorded in the SDRM list but associated with low level resistance to the second generation NNRTI rilpivirine according to Stanford HIVdb was found even more frequently during the whole study period (Table 4 and Fig 3B). Therefore, phenotypic resistance to the first-line recommended or alternative NNRTIs (efavirenz 4.9% and rilpivirine 6%) (Fig 3A) was relatively high with 9.1% (172/1,885).

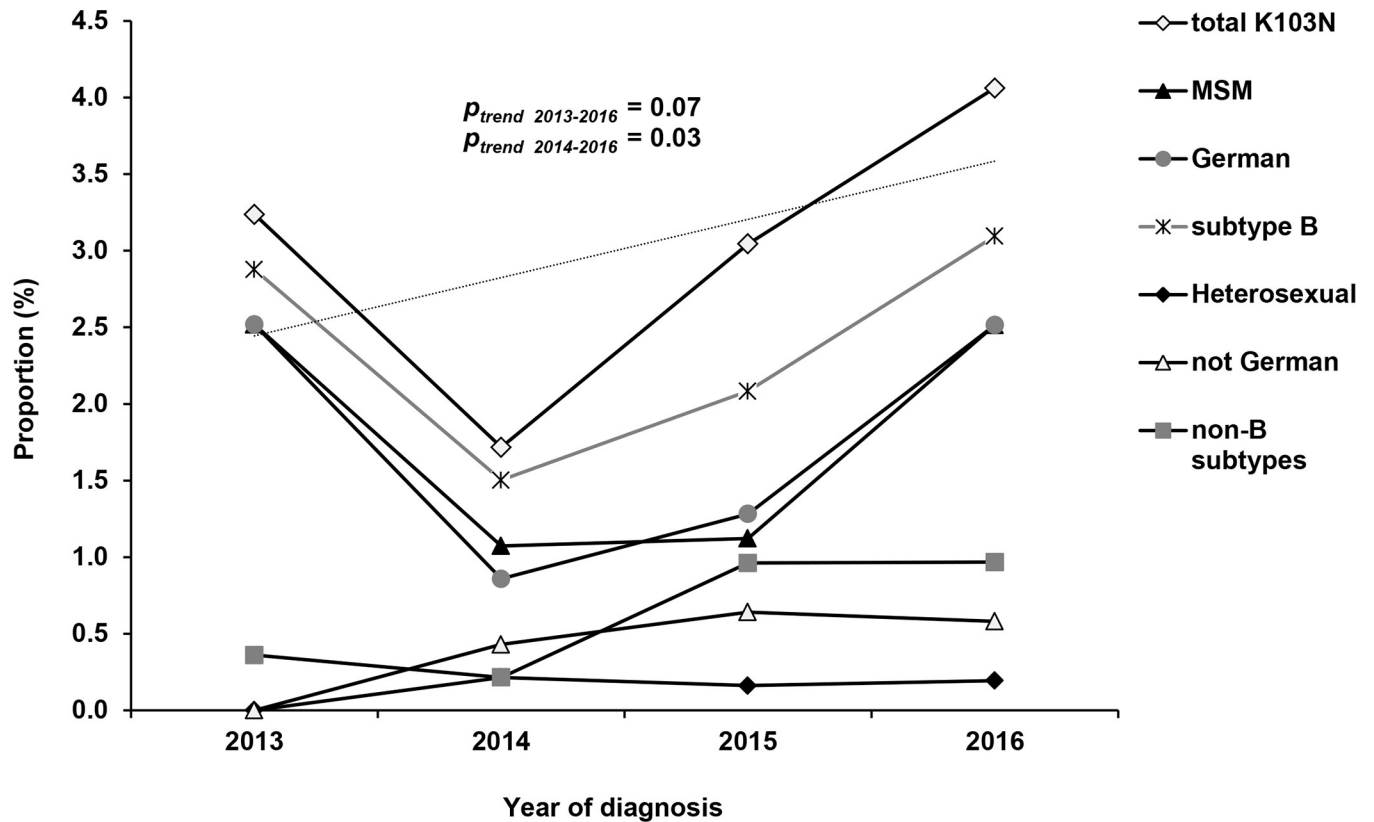
PI-mutations M46I/L and V82L that are responsible for low or intermediate resistance levels to tipranavir, nelfinavir and fosamprenavir (Fig 3B) were also frequently present (Table 4) but without identifiable tendency during the study period (Fig 3A). However, for the first-line recommended or alternative PIs predicted phenotypic resistance was very low with 1% (atazanavir 0.7% and lopinavir 1.0%).

Transmitted INSTI mutations according to Stanford SDRM Worksheet for INSTI were identified in a single sequence among 820 analysed cases (0.12%), namely the major primary mutation T66I resulting in high level resistance to elvitegravir and low level resistance to raltegravir. According to predictions from the Stanford HIVdb, phenotypic INSTI resistance (excluding potential low level) was identified in 0.7% (6/820) of cases (Fig 3B) due to the presence of the T66I (n = 1), the G163R or K (n = 4) or the combination of T97A and E157Q (n = 1) resulting in low level resistance to elvitegravir and raltegravir. These cases were absent in 2014, but exhibited an increase to 0.3% (1/624) in 2015 and to 1.2% (5/517) in 2016 (Fig 3A). None of the sequences showed evidence for resistance to dolutegravir (Fig 3). Taken together, primary resistance to recommended drugs for first-line therapy according to EACS 9.0 was 10.9% (205/1,885).



**Fig 3. Prevalence of predicted resistance to approved HIV therapeutics according to the Stanford HIVdb.** (A) Resistance (low/intermediate/high level) stratified according to the year of diagnosis. (B) Resistance level; # calculated from 820 cases; \* drugs included in recommended and alternative first-line treatment option according to EACS 9.0 guidelines; EFV efavirenz, ETR etravirine, NVP nevirapine, RPV rilpivirine, 3TC lamivudine, ABC abacavir, AZT zidovudine, D4T stavudine, DDI didanosine, FTC emtricitabine, TDF tenofovir, ATV atazanavir, DRV darunavir, FPV fosamprenavir, IDV indinavir, LPV lopinavir, NFV nelfinavir, SQV saquinavir, TPV tipranavir, EVG elvitegravir, RAL raltegravir, DTG dolutegravir.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206234.g003>



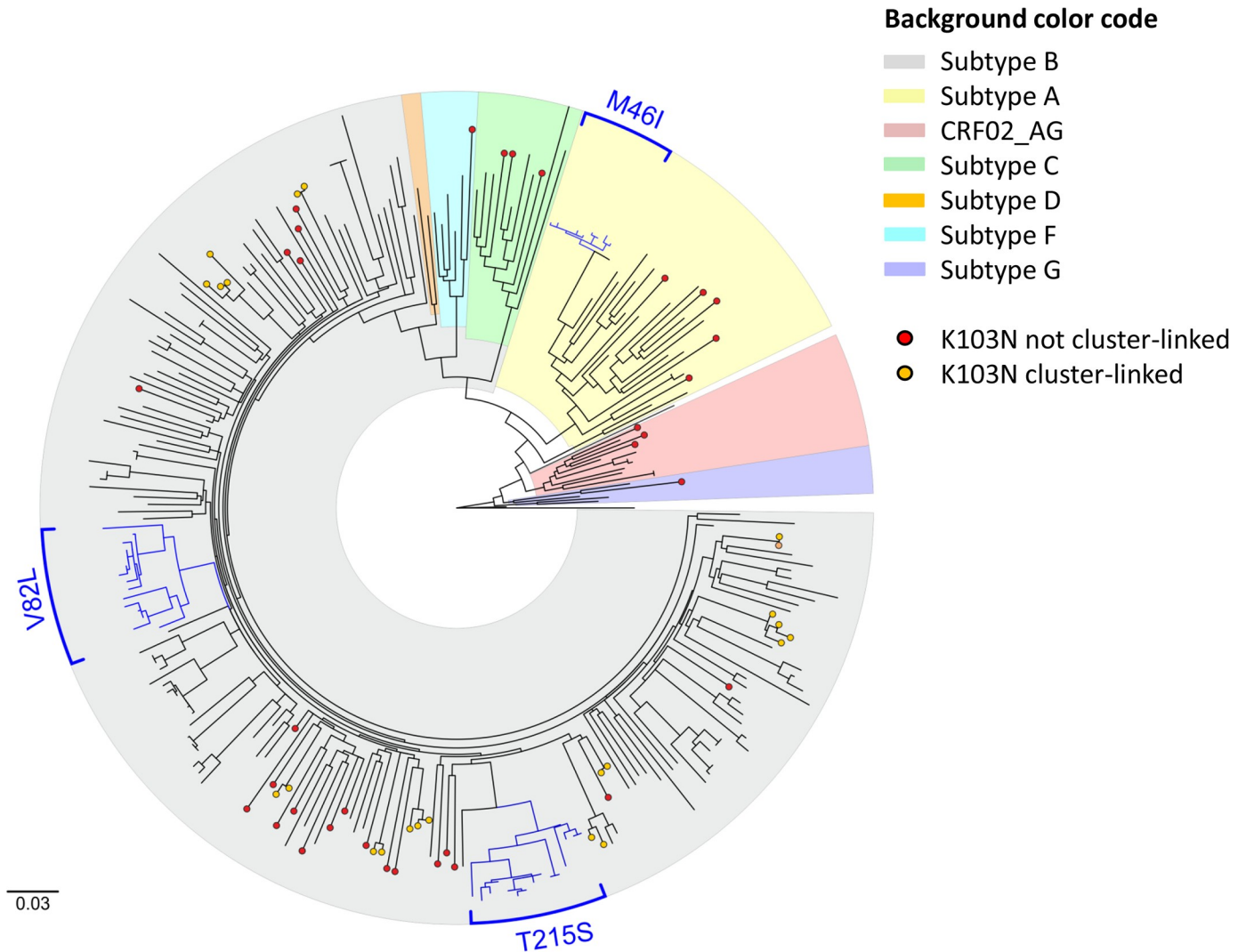
**Fig 4. Trends for the K103N mutation between 2013 and 2016 in total and in subgroups.** (A) in MSM, persons with German Origin or subtype B infection (B) in persons with heterosexual transmission route, with non-German origin and with subtype non-B infection. Trend line and *p*-value are indicated for proportions of total K103N. MSM: men who have sex with men.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206234.g004>

### Transmission cluster analysis of TDR mutations

Sequences that had one or more of the most frequent NRTI, NNRTI and PI resistance mutations or the polymorphic E138A (listed in Table 4) were selected for phylogenetic analysis ( $n = 251$ ). All relevant sequence data have been deposited in the NCBI database. All 251 accession numbers are provided within the Supporting Information file, S2 Text. Among them, half were found in one of 32 clusters identified (49.4%, 124/251). The average was 3.9 (min 2 –max 16) sequences per cluster. Three large clusters consisting exclusively of male individuals and mainly MSM and Germans were recognized. Cluster 1 consists of 11 subtype A sequences with the M46I mutation. 15 subtype B sequences with the V82L mutation form cluster 2 and 16 subtype B sequences with the revertant T215S form the third large cluster (Fig 5). The proportion of these major TDR mutations transmitted in clusters and the respective cluster sizes are given in Table 5.

Special attention was paid to the clustering of the K103N mutation in order to analyse whether the previously described increase in 2015/2016 was the result of a recent spread within one or few active transmission networks and/or within a specific transmission group. Around 40% of the sequences carrying the K103N mutation were found within nine different clusters (all subtype B, cluster size of 2–4 sequences per cluster) (Table 5, Fig 5). Persons in this ‘cluster-linked’ group were all male, MSM and German or their transmission group and/or origin was not reported. The proportion of individuals within ‘cluster-linked’ subgroups was quite similar in the years 2013/2014 and 2015/2016 ( $p = 0.67$ ). Among the ‘not cluster-linked’ sequences carrying the K103N mutation the diversity of HIV-1 subtypes (A, B, C, G,



**Fig 5. Phylogenetic analysis of 251 HIV-1 sequences carrying drug resistance mutations.** Three large clusters with M46I, V82L or T215S mutations are shown with blue branches and all sequences carrying the K103N mutation are depicted with dots at the tips.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206234.g005>

CRF02\_AG) as well as the origin of infected persons (Germany, East Europe, West Europe, Latin America, Sub Saharan Africa and not reported) was much higher. The proportion of individuals not linked to K103N-clusters was generally higher in 2015/2016 than in 2013/2014 ( $p = 0.01$ ), although the sampling was more dense in 2015/2016 ( $n = 1,141$  compared to 744 in 2013/2014). Especially the group of ‘male persons’ and here particularly those for which the transmission route was not reported was significantly higher in 2015/2016 ( $p = 0.008$ ) (Fig 6). However, insignificantly higher proportions were also present in MSM, Germans, non-Germans, persons with unknown origin, infected with subtype B as well as non-B infected but without reaching significance (all  $p > 0.05$ ) (Fig 6).

## Discussion

In this study we analysed 1,885 recent HIV-1 infections newly diagnosed between 2013 and 2016. The proportions of HIV-1 subtypes and primary resistances in the total population and

Table 5. Prevalence of mutations identified in clusters by phylogenetic analysis of 251 sequences with drug resistance mutations.

| Mutation (n) | Proportion in clusters (%) | Cluster with 2 individuals | Cluster with 3-4 individuals | Cluster with 5-7 individuals | Cluster with >7 individuals |
|--------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| M46I (20)    | 75.0                       | 2                          | -                            | -                            | 1 (n = 11)                  |
| M46L (8)     | 37.5                       | -                          | 1                            | -                            | -                           |
| V82L (15)    | 100.0                      | -                          | -                            | -                            | 1 (n = 15)                  |
| L90M (9)     | 33.3                       | -                          | 1                            | -                            | -                           |
| Q58E (10)    | 20.0                       | 1                          | -                            | -                            | -                           |
| K103N (57)   | 40.4                       | 6                          | 3                            | -                            | -                           |
| V108I (9)    | 0.0                        | -                          | -                            | -                            | -                           |
| E138A (75)   | 37.3                       | 2                          | 3                            | 2                            | -                           |
| M41L (21)    | 42.9                       | -                          | 1                            | 1                            | -                           |
| M184V (9)    | 0.0                        | -                          | -                            | -                            | -                           |
| T215E (10)   | 40.0                       | 2                          | -                            | -                            | -                           |
| T215S (31)   | 80.6                       | 3                          | 1                            | -                            | 1 (n = 16)                  |
| K219Q (12)   | 58.3                       | 2                          | 1                            | -                            | -                           |

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206234.t005>

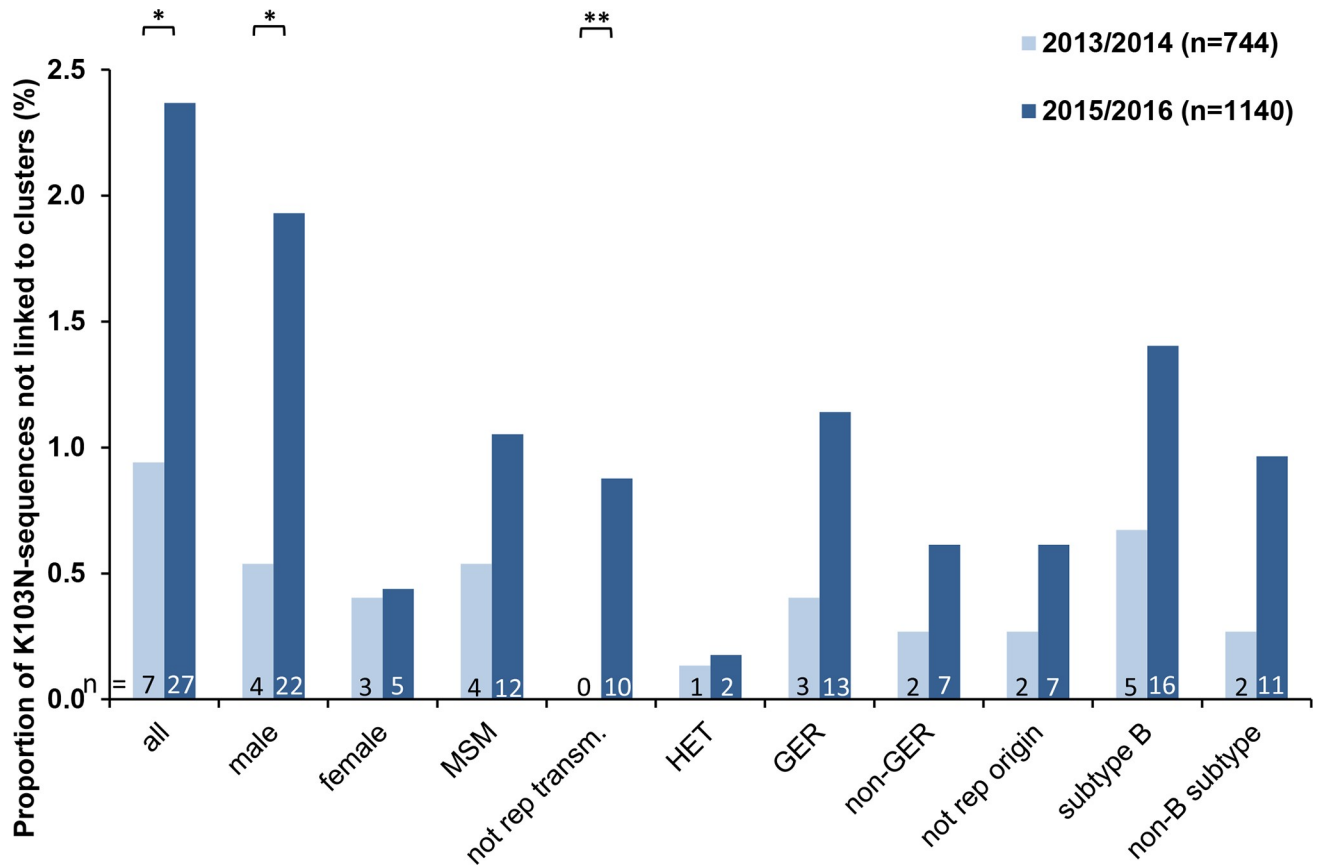


Fig 6. Proportion of not-clusters-linked sequences with K103N mutation according to sub-groups of HIV-infected individuals in 2013/2014 compared to 2015/2016. K103N sequences are grouped according to gender, transmission route, origin and HIV-subtype of the infected person. The proportion is calculated from the total number of sequences of two respective 2-year periods (2013/2014: 744 sequences; 2015/2016: 1140 sequences). Between the two year periods a significant increase of the K103N mutation in males who are not linked to transmission clusters is evident. MSM: men who have sex with men; HET: persons with heterosexual mode of transmission, GER: German, not rep. transm.: not reported transmission, \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ .

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206234.g006>

within subgroups (mode of transmission, region of origin) were stratified according to the year of diagnosis to allow analysing changes over time to be.

In Germany, subtype B continues to be the predominant subtype (68.9%), although the proportion of non-B subtypes significantly increased between 2013 and 2016, particularly for subtypes A and CRF02\_AG which peaked in 2015 (11.7% and 7.1%) and subtype C which doubled from 3.6% in 2013/2014 [7] to 7.7% in 2016. This increase is partly attributed to persons immigrating from countries where these subtypes are highly prevalent [31] (Sub-Saharan Africa and Central/East Europe) as a result of the flow of refugees into Europe, including Germany with its highest peak in 2015. However, the increase of infections with subtypes A and C was attributed even more to the spread within the German population: high proportions were found in German MSM (subtype A) and German HET and PWID (subtype C). A general increase of non-B subtypes as well as a subtype diversification is a phenomenon that was also observed for many other European countries [32–34].

TDR in Germany analysed by using the WHO surveillance drug resistance list [10] was stable at ~11% between 2013 and 2016, which is in agreement with the data from the German HIV-1 Seroconverter Cohort (11.9% overall TDR in 1996–2010) [35]. TDR at a lower level (8.3%) has also been calculated across 26 European countries for patients diagnosed between 2008 and 2010. TDR in Germany continues to be more frequent among MSM, as reported for other European countries [12, 36] and continues to be significantly more frequent in subtype B than in non-B subtypes. However, the difference appears to be narrowing [37] due to the increase of TDR in non-B subtypes from 6.4% in a previous study [7] to 8.1% in this study. A high proportion of TDR was found in subtype A as a result of one German MSM transmission network spreading the PI resistance mutation M46I. While proportions of NRTI and PI resistance are similar in the present study compared to those reported for Europe [12], the prevalence of NNRTI resistance is about two times higher than previously described for Germany [7] and compared to other countries [12]. This increase was mainly driven by the K103N mutation selected by the first generation NNRTIs nevirapine and efavirenz. While nevirapine was removed from the European treatment guidelines several years ago, efavirenz is still listed as alternative regimen for first-line therapy [5] but is very rarely used in Germany [38]. Therefore, 'de novo' selection of K103N mutations in Germany followed by transmission to newly diagnosed persons seems to be unlikely in times of highly suppressive cART and pre-treatment resistance testing. In contrast, selection of resistance followed by an alarmingly increasing trend of TDR—especially for NNRTI resistances—from regions where first generation NNRTIs are commonly administered due to cost issues (e.g. Sub-Saharan Africa) is reported [39]. Therefore, we assume that the increase of the K103N mutation in our study population is the result of two developments: firstly, the import of the K103N mutation with non-B subtypes from abroad appears to have occurred at quite low levels (Fig 4B). However, the majority of such imported infections with phylogenetically unrelated viruses, even if reported in Germany as a "new diagnosis" in the study period, might not have been analysed here because the vast majority is likely long standing which were excluded from the study.

Secondly, the increasing trend of K103N infections in MSM, individuals of German origin and with subtype B infection (Fig 4A) might be explained by the fact that German MSM are known to have the highest rates of recent infections because they test more frequently than other transmission groups [19]. Although phylogenetic analysis revealed that there was no significant spread of K103N within one or more active transmission networks (as shown for the PI mutations among MSM) we assume that these phylogenetic unrelated K103N carrying strains are a result of continuous onwards transmission of the persisting K103N mutation among long term as well as recent infected individuals and therefore, are not appearing as a coherent transmission network in our phylogenetic analysis. Comprehensive transmission

network analysis that includes recent as well as long standing infections might therefore provide some clarification for Germany. Along these lines, increasing proportions of NNRTI resistance and particularly of the K103N mutation were also reported from MSM networks in Greece and in San Diego [40, 41].

Large transmission networks of German MSM were observed for the most frequently transmitted NRTI mutation T215S (revertant of T215Y/F), and the PI resistance mutations M46I and V82L. Nevertheless, the proportions of transmitted NRTI and PI resistance remained stable during the study period. NRTI resistance resulted mainly from the high prevalence of persisting TAMs. Many studies have shown by phylogenetic analysis that onward transmission among drug-naïve patients is the major reason for the maintenance of stable NRTI resistance levels [41–45]. However, as the TAM selecting drugs zidovudine and stavudine have been replaced by tenofovir in current treatment guidelines, TAMs are no longer of direct clinical relevance. The proportion of transmitted PI resistance was higher in Germany (3.2%) than in other European countries (2.0%) [12], presumably due to large clusters of the M46I and V82L mutations. However, their impact on PIs recommended in current first-line therapies remains low.

Therefore, the predicted resistance to the currently recommended first-line regimens [5] consisting of two NRTI plus one PI or one INSTI is very low at the population level (<2.3%) while primary resistance to NNRTI is frequent with 9.1%: 4.9% to efavirenz (due to the K103N mutation) and 6.0% to rilpivirine (due to the frequent E138A polymorphism). Similar proportions were reported recently from the UK Drug Resistance Database with 8.2% NNRTI resistance including 6.2% resistance to rilpivirine and 3.4% to efavirenz [36]. Resistance testing is therefore particularly recommended for patients starting with or switching to an NNRTI-containing regimen.

In 2017, tenofovir-containing pre-exposure prophylaxis (PrEP, e.g. tenofovir in combination with emtricitabine) was introduced in Germany. HIV-infection despite PrEP, due to subclinical drug levels or infection with resistant variants, might occur and fuel the emergence of TDR. So far, resistance mutations selected by tenofovir and emtricitabine (K65R, K70R and M184V) have been rare (below 1%). However, as MSM transmission networks have been identified to be a major source for the spread of HIV resistance by others [46] and by us, frequent HIV-screening for PrEP users and the monitoring of PrEP-selected mutations is recommended.

For the first time, we analysed, to which extent INSTI resistance was transmitted following the introduction of the first generation INSTI raltegravir in Germany in 2007. So far, the proportion of transmitted INSTI mutations is low with only one case identified. Phenotypic resistance to raltegravir and elvitegravir according to Stanford HIVdb is predicted to be 0.7% and resistance to the second generation INSTI dolutegravir was not detected at all. Primary drug resistance to INSTIs was also described to be rare in studies of European patients diagnosed in 2013 [36] or 2015 [47]. However, since transmission of INSTI resistance in Germany might occur with a delay the need for follow-up in the future remains.

One limitation of the present study is the relatively short study period. Changes over time should therefore be interpreted carefully. Furthermore, integrase genotyping only started in 2014, resulting in lower PCR success rates due to RNA degradation on DSS. A combined prediction including all drug classes was only possible for 43.0% of cases therefore, resistance to integrase was analysed separately in this dataset. Another limitation is that the SDRM list has not been updated since 2009 and resistance mutations to the newest drugs or drug classes (e.g. integrase inhibitors) had to be analysed with different mutation lists. Some of the SDRMs are only relevant to older drugs rarely used in today's first-line regimens in EU/EEA countries [4, 5]. If the SDRM list is used, the weighting for TAMs is disproportionately high since they no

longer have clinical relevance. On the other hand, NNRTI resistance is underestimated due to the lack of the E138A mutation. The relevance of TDR for the outcome of first-line therapy in EU/EEA countries as calculated from the SDMR list should therefore be interpreted by taking this underestimation into consideration.

## Conclusion

Despite effective cART, TDR is present at an overall stable proportion in Germany (11%). In particular, viruses carrying resistance mutations with low fitness cost are spread continuously by onwards transmission, and German MSM are generally driving the spread in Germany, both within transmission networks and outside of networks as shown for the K103N mutation. Intensified HIV-screening in these groups followed by early treatment with cART including the pre-treatment resistance testing as recommended in the current guidelines should help reduce the spread of resistant viruses in the ART naïve population. Due to the increasing use of INSTIs in first-line regimens and tenofovir/emtricitabin for PrEP, it is important to monitor TDR for public health efforts and in order to maintain the effectiveness of cART.

## Supporting information

### S1 Text. Validation of the NGS ambiguity threshold.

(DOCX)

### S2 Text. Accession numbers for NCBI database.

(DOCX)

## Acknowledgments

The authors would like to thank all participating laboratories for sending us dried filter spots for the laboratory analysis and the continuous exchange of ideas and suggestions. All participating laboratories are listed at [www.rki.de](http://www.rki.de). ([http://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/H/HIVAIDS/Studien/InzSurv\\_HIV/beteiligte\\_Labore.html](http://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/H/HIVAIDS/Studien/InzSurv_HIV/beteiligte_Labore.html)). We also thank our technicians and the sequencing facility of the RKI. Many thanks to Stephen Norley and Michelle Jäschke for proofreading the manuscript. The study was funded by the German Federal Ministry of Health, Grant number: FKZ: 2513AUK375.

## Author Contributions

**Conceptualization:** Viviane Bremer, Barbara Bartmeyer, Norbert Bannert.

**Data curation:** Andrea Hauser, Alexandra Hofmann, Karolin Meixenberger, Britta Altmann, Kirsten Hanke, Barbara Bartmeyer, Norbert Bannert.

**Formal analysis:** Andrea Hauser, Karolin Meixenberger, Britta Altmann, Kirsten Hanke.

**Funding acquisition:** Viviane Bremer, Barbara Bartmeyer, Norbert Bannert.

**Investigation:** Andrea Hauser, Alexandra Hofmann, Britta Altmann.

**Methodology:** Andrea Hauser, Karolin Meixenberger, Britta Altmann, Kirsten Hanke.

**Project administration:** Andrea Hauser, Barbara Bartmeyer, Norbert Bannert.

**Resources:** Alexandra Hofmann, Viviane Bremer, Barbara Bartmeyer, Norbert Bannert.

**Software:** Andrea Hauser, Kirsten Hanke.

**Supervision:** Viviane Bremer, Barbara Bartmeyer, Norbert Bannert.



**Validation:** Andrea Hauser.

**Visualization:** Andrea Hauser.

**Writing – original draft:** Andrea Hauser.

**Writing – review & editing:** Alexandra Hofmann, Karolin Meixenberger, Britta Altmann, Kirsten Hanke, Viviane Bremer, Barbara Bartmeyer, Norbert Bannert.

## References

1. ECDC ECfDPaC. HIV/AIDS surveillance in Europe 2017–2016 data. Stockholm: ECDC, 2017.
2. Hill A, Pozniak A. HIV treatment cascades: how can all countries reach the UNAIDS 90-90-90 target? *AIDS*. 2015; 29(18):2523–5. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000000864> PMID: 26558548.
3. Wittkop L, Gunthard HF, de Wolf F, Dunn D, Cozzi-Lepri A, de Luca A, et al. Effect of transmitted drug resistance on virological and immunological response to initial combination antiretroviral therapy for HIV (EuroCoord-CHAIN joint project): a European multicohort study. *Lancet Infect Dis*. 2011; 11(5):363–71. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(11\)70032-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(11)70032-9) PMID: 21354861.
4. Deutsche AIDS-Gesellschaft (DAIG), Österreichische AIDS-Gesellschaft (ÖAIG), Deutsche Gesellschaft für Innere Medizin (DGIM), Deutsche STI-Gesellschaft (DSTIG), Deutsche Gesellschaft für Infektiologie (DGI), Gesellschaft für Virologie (GfV), et al. Deutsch-Österreichische Leitlinien zur antiretroviralen Therapie der HIV-Infektion. 2015. p. 50.
5. European AIDS Clinical Society (EACS). Guidelines Version 9.0 October 2017. European Guidelines for treatment of HIV-infected adults in Europe 2017.
6. WHO. Towards universal access: Scaling up priority HIV/AIDS interventions in the health sector Progress report 2010. 2010.
7. Hauser A, Hofmann A, Hanke K, Bremer V, Bartmeyer B, Kuecherer C, et al. National molecular surveillance of recently acquired HIV infections in Germany, 2013 to 2014. *Euro Surveill*. 2017; 22(2). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2017.22.2.30436> PMID: 28105988.
8. Keating P, Pharris A, Leitmeyer K, De Angelis S, Wensing A, Amato-Gauci AJ, et al. Assessment of HIV molecular surveillance capacity in the European Union, 2016. *Euro Surveill*. 2017; 22(49). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2017.22.49.17-00269> PMID: 29233253; PubMed Central PMCID: PMC5727594.
9. WHO. WHO HIV drug resistance laboratory strategy. 2010.
10. Bennett D, Camacho R, Otelea D, Kuritzkes D, Fleury H, Kiuchi M, et al. Drug resistance mutations for surveillance of transmitted HIV-1 drug-resistance: 2009 update. *PLoS One*. 2009; 4(3):e4724. Epub 2009/03/07. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004724> PMID: 19266092; PubMed Central PMCID: PMC2648874.
11. Rhee SY, Blanco JL, Jordan MR, Taylor J, Lemey P, Varghese V, et al. Geographic and temporal trends in the molecular epidemiology and genetic mechanisms of transmitted HIV-1 drug resistance: an individual-patient- and sequence-level meta-analysis. *PLoS Med*. 2015; 12(4):e1001810. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001810> PMID: 25849352; PubMed Central PMCID: PMC4388826.
12. Hofstra LM, Sauvageot N, Albert J, Alexiev I, Garcia F, Struck D, et al. Transmission of HIV Drug Resistance and the Predicted Effect on Current First-line Regimens in Europe. *Clin Infect Dis*. 2015. <https://doi.org/10.1093/cid/civ963> PMID: 26620652.
13. Pursuing Later Treatment Option IIpt, Observational HIVREG, Costagliola D, Lodwick R, Ledergerber B, Torti C, et al. Trends in virological and clinical outcomes in individuals with HIV-1 infection and virological failure of drugs from three antiretroviral drug classes: a cohort study. *Lancet Infect Dis*. 2012; 12(2):119–27. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(11\)70248-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(11)70248-1) PMID: 21988895.
14. Little SJ, Frost SD, Wong JK, Smith DM, Pond SL, Ignacio CC, et al. Persistence of transmitted drug resistance among subjects with primary human immunodeficiency virus infection. *J Virol*. 2008; 82(11):5510–8. <https://doi.org/10.1128/JVI.02579-07> PMID: 18353964; PubMed Central PMCID: PMC2395184.
15. Yang WL, Kouyos RD, Boni J, Yerly S, Klimkait T, Aubert V, et al. Persistence of transmitted HIV-1 drug resistance mutations associated with fitness costs and viral genetic backgrounds. *PLoS Pathog*. 2015; 11(3):e1004722. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004722> PMID: 25798934; PubMed Central PMCID: PMC4370492.
16. Yerly S, Rakik A, De Loes SK, Hirschel B, Descamps D, Brun-Vezinet F, et al. Switch to unusual amino acids at codon 215 of the human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase gene in

- seroconvertors infected with zidovudine-resistant variants. *J Virol.* 1998; 72(5):3520–3. PMID: [9557630](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9557630/); PubMed Central PMCID: PMCPMC109570.
17. Brenner BG, Thomas R, Blanco JL, Ibanescu RI, Oliveira M, Mesplede T, et al. Development of a G118R mutation in HIV-1 integrase following a switch to dolutegravir monotherapy leading to cross-resistance to integrase inhibitors. *J Antimicrob Chemother.* 2016; 71(7):1948–53. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw071> PMID: [27029845](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27029845/); PubMed Central PMCID: PMCPMC4896408.
  18. Clinical EA, EACS S. EACS Treatment Guidelines updated: Version 7.1—November 2014 2014.
  19. Hofmann A, Hauser A, Zimmermann R, Santos-Hovener C, Batzing-Feigenbaum J, Wildner S, et al. Surveillance of recent HIV infections among newly diagnosed HIV cases in Germany between 2008 and 2014. *BMC Infect Dis.* 2017; 17(1):484. <https://doi.org/10.1186/s12879-017-2585-4> PMID: [28693564](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28693564/).
  20. Meixenberger K, Yousef KP, Smith MR, Somogyi S, Fiedler S, Bartmeyer B, et al. Molecular evolution of HIV-1 integrase during the 20 years prior to the first approval of integrase inhibitors. *Virology.* 2017; 14(1):223. <https://doi.org/10.1186/s12985-017-0887-1> PMID: [29137637](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29137637/); PubMed Central PMCID: PMCPMC5686839.
  21. Hauser A, Meixenberger K, Machnowska P, Fiedler S, Hanke K, Hofmann A, et al. Robust and sensitive subtype-generic HIV-1 pol genotyping for use with dried serum spots in epidemiological studies. *J Virol Methods.* 2018; 259:32–8. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2018.05.013> PMID: [29859195](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29859195/).
  22. Machnowska P, Hauser A, Meixenberger K, Altmann B, Bannert N, Rempis E, et al. Decreased emergence of HIV-1 drug resistance mutations in a cohort of Ugandan women initiating option B+ for PMTCT. *PLoS One.* 2017; 12(5):e0178297. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178297> PMID: [28562612](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28562612/); PubMed Central PMCID: PMCPMC5451067.
  23. Pineda-Pena AC, Faria NR, Imbrechts S, Libin P, Abecasis AB, Deforche K, et al. Automated subtyping of HIV-1 genetic sequences for clinical and surveillance purposes: performance evaluation of the new REGA version 3 and seven other tools. *Infect Genet Evol.* 2013; 19:337–48. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.04.032> PMID: [23660484](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23660484/).
  24. Struck D, Lawyer G, Ternes AM, Schmit JC, Bercoff DP. COMET: adaptive context-based modeling for ultrafast HIV-1 subtype identification. *Nucleic Acids Res.* 2014; 42(18):e144. <https://doi.org/10.1093/nar/gku739> PMID: [25120265](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25120265/); PubMed Central PMCID: PMCPMC4191385.
  25. Liu TF, Shafer RW. Web resources for HIV type 1 genotypic-resistance test interpretation. *Clin Infect Dis.* 2006; 42(11):1608–18. <https://doi.org/10.1086/503914> PMID: [16652319](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16652319/); PubMed Central PMCID: PMCPMC2547473.
  26. Nguyen LT, Schmidt HA, von Haeseler A, Minh BQ. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Mol Biol Evol.* 2015; 32(1):268–74. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu300> PMID: [25371430](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25371430/); PubMed Central PMCID: PMCPMC4271533.
  27. Minh BQ, Nguyen MA, von Haeseler A. Ultrafast approximation for phylogenetic bootstrap. *Mol Biol Evol.* 2013; 30(5):1188–95. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst024> PMID: [23418397](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23418397/); PubMed Central PMCID: PMCPMC3670741.
  28. Pouran Yousef K, Meixenberger K, Smith MR, Somogyi S, Gromoller S, Schmidt D, et al. Inferring HIV-1 Transmission Dynamics in Germany From Recently Transmitted Viruses. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2016; 73(3):356–63. <https://doi.org/10.1097/QAI.0000000000001122> PMID: [27400403](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27400403/).
  29. Ragonnet-Cronin M, Lycett SJ, Hodcroft EB, Hue S, Fearnhill E, Brown AE, et al. Transmission of Non-B HIV Subtypes in the United Kingdom Is Increasingly Driven by Large Non-Heterosexual Transmission Clusters. *J Infect Dis.* 2016; 213(9):1410–8. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv758> PMID: [26704616](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26704616/); PubMed Central PMCID: PMCPMC4813743.
  30. Ragonnet-Cronin M, Hodcroft E, Hue S, Fearnhill E, Delpech V, Brown AJ, et al. Automated analysis of phylogenetic clusters. *BMC Bioinformatics.* 2013; 14:317. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-14-317> PMID: [24191891](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24191891/); PubMed Central PMCID: PMCPMC4228337.
  31. Hemelaar J, Gouws E, Ghys PD, Osmanov S. Global and regional distribution of HIV-1 genetic subtypes and recombinants in 2004. *AIDS.* 2006; 20(16):W13–23. <https://doi.org/10.1097/01.aids.0000247564.73009.bc> PMID: [17053344](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17053344/).
  32. Esbjornsson J, Mild M, Audelin A, Fonager J, Skar H, Bruun Jorgensen L, et al. HIV-1 transmission between MSM and heterosexuals, and increasing proportions of circulating recombinant forms in the Nordic Countries. *Virus Evol.* 2016; 2(1):vew010. <https://doi.org/10.1093/ve/vew010> PMID: [27774303](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27774303/); PubMed Central PMCID: PMCPMC4989887.
  33. Beloukas A, Psarris A, Giannelou P, Kostaki E, Hatzakis A, Paraskevis D. Molecular epidemiology of HIV-1 infection in Europe: An overview. *Infect Genet Evol.* 2016; 46:180–9. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.06.033> PMID: [27321440](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27321440/).
  34. Neogi U, Haggblom A, Santacatterina M, Bratt G, Gisslen M, Albert J, et al. Temporal trends in the Swedish HIV-1 epidemic: increase in non-B subtypes and recombinant forms over three decades.

- PLoS One. 2014; 9(6):e99390. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099390> PMID: 24922326; PubMed Central PMCID: PMC4055746.
35. Zu Knyphausen F, Scheufele R, Kucherer C, Jansen K, Somogyi S, Dupke S, et al. First line treatment response in patients with transmitted HIV drug resistance and well defined time point of HIV infection: updated results from the German HIV-1 seroconverter study. *PLoS One*. 2014; 9(5):e95956. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095956> PMID: 24788613; PubMed Central PMCID: PMC4006817.
  36. Tostevin A, White E, Dunn D, Croxford S, Delpech V, Williams I, et al. Recent trends and patterns in HIV-1 transmitted drug resistance in the United Kingdom. *HIV Med*. 2017; 18(3):204–13. <https://doi.org/10.1111/hiv.12414> PMID: 27476929; PubMed Central PMCID: PMC4529794.
  37. Fabeni L, Alteri C, Di Carlo D, Orchi N, Carioti L, Bertoli A, et al. Dynamics and phylogenetic relationships of HIV-1 transmitted drug resistance according to subtype in Italy over the years 2000–14. *J Antimicrob Chemother*. 2017; 72(10):2837–45. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx231> PMID: 29091206.
  38. Institute RK. Klinische Aspekte der HIV-Versorgung Die ClinSurv-HIV-Kohorte *Epidemiologisches Bulletin*. 2016; 28. <https://doi.org/10.17886/EpiBull-2016-045>
  39. Gupta RK, Gregson J, Parkin N, Haile-Selassie H, Tanuri A, Andrade Forero L, et al. HIV-1 drug resistance before initiation or re-initiation of first-line antiretroviral therapy in low-income and middle-income countries: a systematic review and meta-regression analysis. *Lancet Infect Dis*. 2017. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30702-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30702-8) PMID: 29198909.
  40. Paraskevis D, Kostaki E, Magiorkinis G, Gargalianos P, Xylomenos G, Magiorkinis E, et al. Prevalence of drug resistance among HIV-1 treatment-naive patients in Greece during 2003–2015: Transmitted drug resistance is due to onward transmissions. *Infect Genet Evol*. 2017; 54:183–91. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2017.07.003> PMID: 28688977.
  41. Panichsillapakit T, Smith DM, Wertheim JO, Richman DD, Little SJ, Mehta SR. Prevalence of Transmitted HIV Drug Resistance Among Recently Infected Persons in San Diego, CA 1996–2013. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2016; 71(2):228–36. <https://doi.org/10.1097/QAI.0000000000000831> PMID: 26413846; PubMed Central PMCID: PMC4712087.
  42. Drescher SM, von Wyl V, Yang WL, Boni J, Yerly S, Shah C, et al. Treatment-naive individuals are the major source of transmitted HIV-1 drug resistance in men who have sex with men in the Swiss HIV Cohort Study. *Clin Infect Dis*. 2014; 58(2):285–94. <https://doi.org/10.1093/cid/cit694> PMID: 24145874.
  43. Mbisa JL, Fearnhill E, Dunn DT, Pillay D, Asboe D, Cane PA, et al. Evidence of Self-Sustaining Drug Resistant HIV-1 Lineages Among Untreated Patients in the United Kingdom. *Clin Infect Dis*. 2015; 61(5):829–36. <https://doi.org/10.1093/cid/civ393> PMID: 25991470.
  44. Paraskevis D, Kostaki E, Gargalianos P, Xylomenos G, Lazanas M, Chini M, et al. Transmission Dynamics of HIV-1 Drug Resistance among Treatment-Naive Individuals in Greece: The Added Value of Molecular Epidemiology to Public Health. *Genes (Basel)*. 2017; 8(11). <https://doi.org/10.3390/genes8110322> PMID: 29137167; PubMed Central PMCID: PMC5704235.
  45. Parczewski M, Leszczyszyn-Pynka M, Witak-Jedra M, Szetela B, Gasiorowski J, Knysz B, et al. Expanding HIV-1 subtype B transmission networks among men who have sex with men in Poland. *PLoS One*. 2017; 12(2):e0172473. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172473> PMID: 28234955; PubMed Central PMCID: PMC5325290.
  46. Frange P, Assoumou L, Descamps D, Cheret A, Goujard C, Tran L, et al. HIV-1 subtype B-infected MSM may have driven the spread of transmitted resistant strains in France in 2007–12: impact on susceptibility to first-line strategies. *J Antimicrob Chemother*. 2015; 70(7):2084–9. <https://doi.org/10.1093/jac/dkv049> PMID: 25885327.
  47. Sayan M, Gunduz A, Ersoz G, Inan A, Deveci A, Ozgur G, et al. Integrase Strand Transfer Inhibitors (INSTIs) Resistance Mutations in HIV-1 Infected Turkish Patients. *HIV Clin Trials*. 2016; 17(3):109–13. <https://doi.org/10.1080/15284336.2016.1153303> PMID: 27125365.

#### **Publikation 4**

**Hofmann, A**, Bätzing, J, Marcus, U, Bremer, V, Bartmeyer, B: Wie viele Personen lassen sich in Deutschland im niedergelassenen Bereich auf HIV testen?. Bundesgesundheitsbl 63, 1262–1270 (2020).

DOI: 10.1007/s00103-020-03210-y. Impact factor: 1,059 für 2019 (Quelle: Journal Citation Reports)



# Wie viele Personen lassen sich in Deutschland im niedergelassenen Bereich auf HIV testen?

## Hintergrund

Ziele des gemeinsamen Programms der Vereinten Nationen für HIV/AIDS (UNAIDS) sind bis zum Jahr 2020, dass 90 % der HIV-Infizierten von ihrer Infektion wissen, 90 % davon eine antiretrovirale Therapie (ART) erhalten und 90 % unter Therapie eine Viruslast unter der Nachweisgrenze aufweisen [1]. Im Jahr 2015 ging man in Deutschland von etwa 84.700 (78.300–91.100) Menschen mit einer HIV-Infektion aus. Etwa 15 % (12.600; 11.300–14.100) war ihre Infektion nicht bekannt. Diese Menschen müssen mit Testangeboten erreicht werden [2].

Das Ziel, dass möglichst allen HIV-Infizierten ihr Status so früh wie möglich bekannt wird, kann durch intensiviertes Testen von Personen mit HIV-Infektionsrisiko erreicht werden. Zu den unterschiedlichen Testmöglichkeiten in Deutschland zählen z. B. niedrighschwellige anonyme Angebote der Aidshilfen oder der Gesundheitsämter. Im Bereich der ambulanten vertragsärztlichen Versorgung kann z. B. bei Erkrankungsverdacht oder im Rahmen des Schwangerschaftsscreenings auf HIV getestet werden. Aber auch die Testung auf eigene Kosten ist möglich. Diese unterschiedlichen Testmöglichkeiten machen es nahezu unmöglich zu ermitteln, wie viele Personen bundesweit insgesamt auf HIV getestet wurden und somit ihren

HIV-Status kennen. Dieser Indikator ist jedoch unverzichtbar zur Evaluierung von Präventionsmaßnahmen oder auch zur Überprüfung, ob zunehmende HIV-Neudiagnosen auf mehr durchgeführte HIV-Tests zurückzuführen sind.

Das Robert Koch-Institut (RKI) hat mehrfach Befragungen bei Laboren durchgeführt, um zu ermitteln, wie viele HIV-Tests durchgeführt wurden [3–5]. In diesen Befragungen wurde die Anzahl durchgeführter Tests und nicht der getesteten Personen ermittelt. Hinzu kommt, dass aufgrund einer Stufen-diagnostik oft mehrere Labore an der Diagnose einer HIV-Infektion beteiligt sind [6, 7]. Zudem soll ein positiver HIV-Bestätigungstest anhand einer weiteren Probe derselben Person bestätigt werden. Bei Laborerhebungen können daher Personen mit HIV-Tests mehrmals gezählt werden, wodurch die Anzahl der Getesteten überschätzt wird.

Seit 2015 werden in einem Projekt der Deutschen Aidshilfe und des RKI die in niedrighschwelligem Testeinrichtungen durchgeführten HIV-Tests ermittelt. Auch Gesundheitsämter wurden in der Vergangenheit zu diesem Thema befragt [8]. Die HIV-Testhäufigkeit im ambulanten, vertragsärztlichen Bereich ist bisher nicht bekannt. Für die Abschätzung der Anzahl der auf HIV getesteten Personen stehen hier vertragsärztliche Abrechnungsdaten als Routedaten der ambulanten Versorgung zur Verfügung. An-

hand dieser Datenquelle soll mit dieser Analyse ermittelt werden, wie viele Versicherte sich im Rahmen des ambulanten Leistungsangebots der gesetzlichen Krankenversicherung (GKV) innerhalb eines Jahres auf HIV haben testen lassen. Ziel ist es, damit die HIV-Testhäufigkeit in Deutschland besser beschreiben zu können und einen Indikator für die Umsetzung der UNAIDS-90–90–90-Strategie zu erhalten.

## Methoden

### Datenquelle und Datenbereitstellung

Datengrundlage sind bundesweite, pseudonymisierte, kassenkassenübergreifende, vertragsärztliche Abrechnungsdaten gemäß § 295 SGB V der Jahre 2010 bis 2015 (VDX-Daten; [9]). Die Generierung des Datenaggregats erfolgte schrittweise durch das Zentralinstitut für die kassenärztlichen Vereinigungen in Deutschland (Zi). Zunächst wurden GKV-Versicherte im Altersbereich 15–74 Jahre mit mindestens einem Arztkontakt im vertragsärztlichen Versorgungssektor zwischen 2010 und 2015 ermittelt, bei denen HIV-Suchtests (Nachweis von HIV-1- und HIV-2-spezifischen Antikörpern) durchgeführt worden waren. Anschließend wurden die Fälle mit HIV-Bestätigungstests (HIV-

**Tab. 1** Gebührenordnungspositionen (GOP) nach einheitlichem Bewertungsmaßstab (EBM) für den Nachweis einer HIV-Infektion, Stand 4. Quartal 2015 [10]

| GOP   | Leistungsname                              | Beschreibung  | Zusammengefasst als  |
|-------|--|---|----------------------|
| 01811 | HIV-Immunoassay                            | Untersuchung auf HIV-Antikörper bei einer Schwangeren mittels Immunoassay im Rahmen der Mutterschaftsvorsorge   | HIV-Suchtest         |
| 32575 | HIV-1- oder HIV-1/2-Antikörper-Immunoassay | HIV-1- und/oder HIV-1/2-Antikörper-Nachweis mittels Immunoassay, ggf. einschl. HIV-Antigen-Nachweis mittels HIV-Antigen-Antikörper-Kombinationstest   | HIV-Suchtest         |
| 32576 | HIV-2-Antikörper-Immunoassay               | HIV-2-Antikörper-Nachweis mittels Immunoassay, ggf. einschl. HIV-Antigen-Nachweis mittels HIV-Antigen-Antikörper-Kombinationstest   | HIV-Suchtest         |
| 32783 | Nachweis von HIV                           | Nachweis von Virus-Antigenen aus einem Körpermaterial (Direktnachweis) mittels Immunfluoreszenz und/oder mittels Immunoassay mit photometrischer oder gleichwertiger Messung  | HIV-Suchtest         |
| 32660 | HIV-1-, HIV-2-Antikörper-Westernblot       | Untersuchungen auf Antikörper gegen Krankheitserreger mittels Immunreaktion mit elektro-phoretisch aufgetrennten und/oder diagnostisch gleichwertigen rekombinanten mikrobiellen/viralen Antigenen (Immunoblot) als Bestätigungs- oder Abklärungstest nach positivem oder fraglich positivem Antikörpernachweis | HIV-Bestätigungstest |

1-, HIV-2-Antikörper-Westernblot) ermittelt.

Vertragsärztliche Leistungen werden über Gebührenordnungspositionen (GOP) auf Basis des einheitlichen Bewertungsmaßstabes (EBM) quartalsweise abgerechnet [10]. Die im EBM enthaltenen GOP für die Labordiagnostik (HIV-Suchtests und HIV-Bestätigungstests) sind in **Tab. 1** zusammengefasst.

Die HIV-Diagnostik erfolgt in Stufen [6], sodass auch Personen mit einem auf den Suchtest zeitnah im selben Quartal bzw. im Folgequartal folgenden HIV-Bestätigungstest (im Folgenden Such- und Bestätigungstest) ermittelt werden konnten. Die aggregierten Datentabellen umfassten 5-Jahres-Altersgruppen, Geschlecht und Quartal der abgerechneten Leistung. Zellenbesetzungen mit Werten unter 30 konnten aus Datenschutzgründen nicht ausgegeben werden, sodass teilweise Aggregationsebenen mit größeren Altersgruppen gewählt wurden. Abgerechnete Leistungen mit widersprüchlichen oder fehlenden Informationen zum Alter oder Geschlecht wurden ausgeschlossen. HIV-Tests im Rahmen der Mutterschaftsvorsorge (GOP 01811) wurden nur für den Altersbereich der 15- bis 49-jährigen Frauen eingeschlossen. Um die Anzahl der schwangeren Frauen unter den weiblichen Versicherten zu ermitteln, wurden Daten des Statistischen Bundesamtes genutzt. Die Anzahl der Lebendgeborenen, Totgeborenen und der durchgeführten Schwangerschaftsabbrüche eines Jahres bei Frauen

im Alter von 15–49 Jahren wurden als Gesamtanzahl von Schwangerschaften zusammengefasst [11, 12].<sup>1</sup> Anschließend wurde der Anteil der GKV-versicherten Frauen [13] des Altersbereichs 15–49 Jahre unter allen Einwohnerinnen Deutschlands [14] bestimmt und bei den Schwangerschaften berücksichtigt.

### Vergleich mit HIV-Neudiagnosen gem. Infektionsschutzgesetz (§7.3 IfSG)

Im Rahmen des Infektionsschutzgesetzes erfolgt eine nichtnamentliche Meldung (IfSG §7, Absatz 3) aller labordiagnostisch bestätigten HIV-Infektionen in Deutschland direkt an das Robert Koch-Institut; daraus ergibt sich die Anzahl der jährlichen HIV-Neudiagnosen. Um die Übereinstimmung der Verteilung der getesteten Personen nach Alter und Geschlecht mit den neudiagnostizierten HIV-Infektionen abzuschätzen, wurden die Personen mit HIV-Such- und Bestätigungstest mit den gemäß Infektionsschutzgesetz gemeldeten HIV-Neudiagnosen (IfSG §7.3) verglichen [15].

<sup>1</sup> Quelle: Statistisches Bundesamt (Destatis); Tabelle zur Anzahl der Totgeborenen nach dem Alter der Mutter und Familienstand der Eltern 2010–2015, persönliche Kommunikation.

### Statistische Auswertung

Die Analyse der Daten erfolgte am RKI. Die Ergebnisse wurden deskriptiv dargestellt. HIV-Bestätigungstests sind nur dann abrechnungsfähig, wenn diese zur Abklärung positiver oder fraglich positiver Antikörpernachweise durchgeführt werden [10]. Indirekt ergibt sich somit der Anteil reaktiver Suchtests (Reaktivrate). Um zeitliche Trends zu erkennen, wurden lineare Regressionen durchgeführt, wobei das Jahr des Tests die unabhängige Variable und Alter oder Geschlecht jeweils die abhängige Variable darstellten. Bei einem  $p$ -Wert  $\leq 0,05$  wurde ein signifikant steigender bzw. sinkender linearer Trend angenommen. Die Anzahl der getesteten Personen je 100.000 GKV-Versicherte wurde nach Alter und Geschlecht stratifiziert ermittelt [13]. Die Auswertung erfolgte mit Excel und Stata Version 14.2.

### Ergebnisse

#### Personen mit abgerechneten HIV-Suchtests

Für insgesamt 5.487.703 Personen mit abgerechneten HIV-Suchtests zwischen 2010 und 2015 konnten weitere Analysen durchgeführt werden (**Abb. 1**). In **Abb. 1** und in **Tab. 2** ist die Anzahl der jährlich getesteten Personen zu finden, diese schwankte zwischen 864.065 und 999.465 jährlich getesteten Personen

(getestete Männer: 150.073–176.215; getestete Frauen: 713.992–823.250).

Für die Analyse der HIV-Suchtests, die im Rahmen der Mutterschaftsvorsorge (GOP 01811) durchgeführt wurden, wurden insgesamt 3134 abgerechnete Leistungen mit fehlenden, unplausiblen oder widersprüchlichen Informationen (Frauen über 50 Jahren  $n = 1161$ , unbekanntes Geschlecht und Alter  $n = 1291$ , Männer  $n = 682$ ) von den weiteren Analysen ausgeschlossen. Weitere 12.211 abgerechnete Leistungen von Personen, bei denen eine Angabe zum Geschlecht oder zum Alter fehlte, wurden ebenfalls ausgeschlossen.

Jährlich wurden im Durchschnitt 1,7% der GKV-Versicherten (2,7% Frauen und 0,6% Männer) auf HIV getestet (Abb. 1). Die Anzahl der getesteten Personen stieg im Zeitverlauf um 15% ( $p = 0,003$ ) an, für Frauen um 15,2% ( $p = 0,002$ ) und für Männer um 16,6% ( $p = 0,003$ ; Tab. 2). Im Durchschnitt entfielen 82,5% der jährlichen HIV-Suchtests auf Frauen und davon 81,2% auf HIV-Suchtests im Rahmen der Mutterschaftsvorsorge (Tab. 2). Vergleicht man die Anzahl der Schwangerschaften mit der Anzahl der durchgeführten HIV-Tests im Rahmen der Mutterschaftsvorsorge, ist zu erkennen, dass sowohl die Anzahl der Schwangerschaften bei gesetzlich versicherten Frauen als auch der Anteil der schwangeren Frauen mit einem HIV-Suchtest im Rahmen der Mutterschaftsvorsorge (Anstieg um 7,2% bzw. 15,5%;  $p = 0,017$  bzw.  $p = 0,004$ ) angestiegen ist (Tab. 3).

Die Anzahl der HIV-Suchtests je 100.000 gesetzlich Versicherte stieg bei Männern und Frauen in den meisten Altersgruppen an. Ausnahmen bildeten bei Männern die Altersgruppen 15–24 Jahre ( $p = 0,077$ ) und 25–29 Jahre ( $p = 0,363$ ) und bei Frauen die Altersgruppe der 15- bis 24-Jährigen, in der die Anzahl der Suchtests im Zeitverlauf sogar signifikant abnahm (Abb. 2a,b).

## HIV-Bestätigungstests

Zwischen 2010 und 2015 wurde bei 17.405 Personen mindestens ein HIV-Bestätigungstest abgerechnet. Davon hatten 7,9% ( $n = 1371$  Personen) einen

Bundesgesundheitsbl <https://doi.org/10.1007/s00103-020-03210-y>  
© Der/die Autor(en) 2020

A. Hofmann · J. Bätzing · U. Marcus · V. Bremer · B. Bartmeyer

## Wie viele Personen lassen sich in Deutschland im niedergelassenen Bereich auf HIV testen?

### Zusammenfassung

**Hintergrund.** Die Anzahl der in Deutschland auf HIV getesteten Personen ist schwer zu ermitteln. Unter bestimmten Voraussetzungen sind HIV-Tests Leistung der gesetzlichen Krankenversicherung (GKV). Ziel dieser Analyse war die Untersuchung des Testumfangs in der vertragsärztlichen Versorgung.

**Methoden.** Vertragsärztliche Abrechnungsdaten des Zentralinstituts für die kassenärztliche Versorgung (Zi) wurden hinsichtlich HIV-Such- und -Bestätigungstests der Jahre 2010–2015 analysiert. Die Auswertung erfolgte deskriptiv; zeitliche Trends wurden mit linearen Regressionen überprüft. Die Anzahl der Bestätigungstests wurde mit den an das Robert Koch-Institut (RKI) gemeldeten HIV-Neudiagnosen verglichen.

**Ergebnisse.** Im Jahresdurchschnitt wurden 1,7% der GKV-Versicherten auf HIV getestet. Der Suchtestumfang stieg im Zeitverlauf an. Durchschnittlich 82,5% der Untersuchten waren Frauen, von denen 81,2% während der Schwangerschaft getestet wurden.

Bestätigungstests wurden im Gesamtzeitraum bei 16.034 Versicherten durchgeführt (durchschnittlich 0,3% der Versicherten mit Suchtest), darunter im Durchschnitt 51,2% Männer. Im selben Zeitraum wurden 18.446 HIV-Neudiagnosen (davon 82,8% Männer) ans RKI gemeldet.

**Schlussfolgerung.** Erstmalig wurde die Personenzahl mit HIV-Test im Bereich der GKV bestimmt. Die hohe Suchtestzahl bei Frauen ist auf Tests in der Schwangerschaft zurückzuführen. Aus der im Vergleich zu den gemeldeten HIV-Neudiagnosen geringeren Zahl von abgerechneten Bestätigungstests kann geschlossen werden, dass in unbekanntem Umfang in anderen Testeinrichtungen und nicht über die GKV auf HIV getestet und diagnostiziert wurde.

### Schlüsselwörter

Sekundärdatenanalyse · Versorgungsforschung · HIV-Tests · Ambulante Abrechnungsleistungen · Vertragsärzte

## How many people have been tested for HIV in the outpatient sector in Germany?

### Abstract

**Background.** Estimating the number of persons tested for HIV in Germany is challenging. HIV testing can be reimbursed by statutory health insurance (SHI) under certain circumstances. This study aimed to use SHI physician claims data to determine the number of persons tested in the outpatient sector.

**Methods.** The Central Research Institute for Ambulatory Health Care in Germany (Zi) aggregated a dataset of persons tested for HIV among all SHI insurees. Descriptive analysis differentiated between screening and confirmatory HIV tests. Time trends were explored using linear regression. Insurees with confirmatory tests were compared to newly diagnosed HIV (ndHIV) cases.

**Results.** Between 2010 and 2015, 1.7% of insurees were annually screened by SHI physicians. Screening tests increased

significantly between 2010 and 2015. Among persons screened, 82.5% were women and of those 81.2% had a screening test during pregnancy. Confirmatory tests were performed on 16,034 insurees (0.3% with screening test; 51.2% men). A total of 18,446 (82.8% men) ndHIV cases were notified between 2010 and 2015.

**Conclusions.** For the first time, the number of persons with HIV tests in the SHI sector was estimated. The high number of screened women is due to tests during pregnancy. The higher number of ndHIV cases indicates an unknown number of persons tested at other testing sites.

### Keywords

Secondary data analysis · Health services research · HIV tests · Ambulatory medical care · SHI physicians

**Tab. 2** Anzahl der Personen mit abgerechneten HIV-Leistungen und HIV-Neudiagnosen nach Infektionsschutzgesetz §7.3 nach Geschlecht, Jahr sowie Darstellung nach 100.000 gesetzlich krankenversicherten (GKV) Personen bzw. Einwohnern Deutschlands, 2010–2015

|  | 2010        | 2011        | 2012        | 2013        | 2014        | 2015        |
|--|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| <b>Personen mit mindestens einem HIV-Suchtest</b>  |             |             |             |             |             |             |
| <i>Gesamt</i>  | 865.918     | 864.065     | 878.297     | 919.429     | 960.529     | 999.465     |
| <i>Je 100.000 GKV-Personen</i>   | 1623,2      | 1628,0      | 1656,2      | 1736,1      | 1810,4      | 1880,2      |
| <b>Männer</b>  | 151.131     | 150.073     | 153.753     | 161.966     | 169.057     | 176.215     |
| <i>Je 100.000 GKV-Männer</i>   | 592,8       | 591,3       | 605,3       | 637,4       | 661,6       | 686,2       |
| <b>Frauen</b>  | 714.787     | 713.992     | 724.544     | 757.463     | 791.472     | 823.250     |
| Davon Tests im Rahmen der Mutterschaftsvorsorge <sup>a</sup>   | 580.896     | 579.241     | 586.933     | 614.233     | 641.439     | 670.968     |
| <i>Je 100.000 GKV-Frauen (inkl. Schwangere)</i>  | 2566,5      | 2577,9      | 2622,4      | 2749,4      | 2877,4      | 2996,0      |
| <b>Personen mit mindestens einem HIV-Suchtest und anschließendem HIV-Bestätigungstests (% Reaktivrate)</b> |             |             |             |             |             |             |
| <i>Gesamt (%)</i>  | 3062 (0,35) | 2864 (0,33) | 2536 (0,29) | 2410 (0,26) | 2557 (0,27) | 2605 (0,26) |
| <i>Je 100.000 GKV-Personen</i>   | 5,74        | 5,40        | 4,78        | 4,55        | 4,82        | 4,90        |
| <b>Männer (%)</b>  | 1660 (1,10) | 1485 (0,99) | 1338 (0,87) | 1261 (0,78) | 1261 (0,75) | 1210 (0,69) |
| <i>Je 100.000 GKV-Männer</i>   | 6,51        | 5,85        | 5,27        | 4,96        | 4,94        | 4,71        |
| <b>Frauen (%)</b>  | 1402 (0,20) | 1379 (0,19) | 1198 (0,17) | 1149 (0,15) | 1296 (0,16) | 1395 (0,17) |
| <i>Je 100.000 GKV-Frauen</i>   | 5,03        | 4,98        | 4,34        | 4,17        | 4,71        | 5,08        |
| <b>Personen mit HIV-Bestätigungstests ohne vorherigen HIV-Suchtest</b>                                     |             |             |             |             |             |             |
| <i>Gesamt</i>  | 219         | 243         | 188         | 246         | 231         | 244         |
| <b>Männer</b>  | 141         | 154         | 125         | 162         | 142         | 134         |
| <b>Frauen</b>  | 78          | 89          | 63          | 84          | 89          | 110         |
| <b>HIV-Neudiagnosen nach IfSG §7.3<sup>b</sup></b>   |             |             |             |             |             |             |
| <i>Gesamt</i>  | 2644        | 2612        | 2903        | 3194        | 3449        | 3645        |
| <i>Je 100.000 Einwohner</i>  | 4,18        | 4,13        | 4,69        | 5,16        | 5,58        | 5,85        |
| <b>Männer</b>  | 2260        | 2207        | 2467        | 2625        | 2807        | 2907        |
| <i>Je 100.000 männliche Einwohner</i>  | 7,13        | 6,97        | 7,99        | 8,49        | 9,07        | 9,27        |
| <b>Frauen</b>  | 383         | 405         | 436         | 569         | 642         | 738         |
| <i>Je 100.000 weibliche Einwohner</i>  | 1,21        | 1,29        | 1,4         | 1,84        | 2,08        | 2,38        |

<sup>a</sup>Entspricht der Anzahl der abgerechneten Leistungen bei 15- bis 49-jährigen schwangeren gesetzlich versicherten Frauen nach der Abrechnungsziffer GOP 01811

<sup>b</sup>HIV-Neudiagnosen zwischen 2010 und 2015 nach Geschlecht in den Altersgruppen zwischen 15–74 Jahren [15]

HIV-Bestätigungstest ohne vorherigen Suchtest (■ Tab. 2). Insgesamt 16.034 Personen hatten sowohl einen HIV-Such- als auch einen Bestätigungstest. Diese werden nun weiter betrachtet. HIV-Bestätigungstests wurden häufiger bei Männern durchgeführt, im jährlichen Durchschnitt lag der Anteil bei 51,2%.

Die Anzahl der Personen mit Such- und Bestätigungstest sank zwischen 2010 und 2015 um 14,9% (■ Tab. 2). Bei den Männern sank er um 27,9% ( $p=0,007$ ). Männer mit einem Such- und Bestätigungstest waren am häufigsten zwischen 30 und 34 Jahre alt. In 4 Altersgruppen sank die Anzahl der Such- und Bestätigungstests pro 100.000 gesetzlich versicherter Män-

ner signifikant (15–24 Jahre  $p=0,002$ ; 25–29 Jahre  $p=0,015$ ; 30–34 Jahre  $p=0,027$ ; 40–44 Jahre  $p=0,039$ ). Bei den Frauen sank die Anzahl der Such- und Bestätigungstests in der Altersgruppe der 55- bis 74-Jährigen ( $p=0,038$ ) signifikant (■ Abb. 2c,d).

### Ermittlung der reaktiven Suchtests

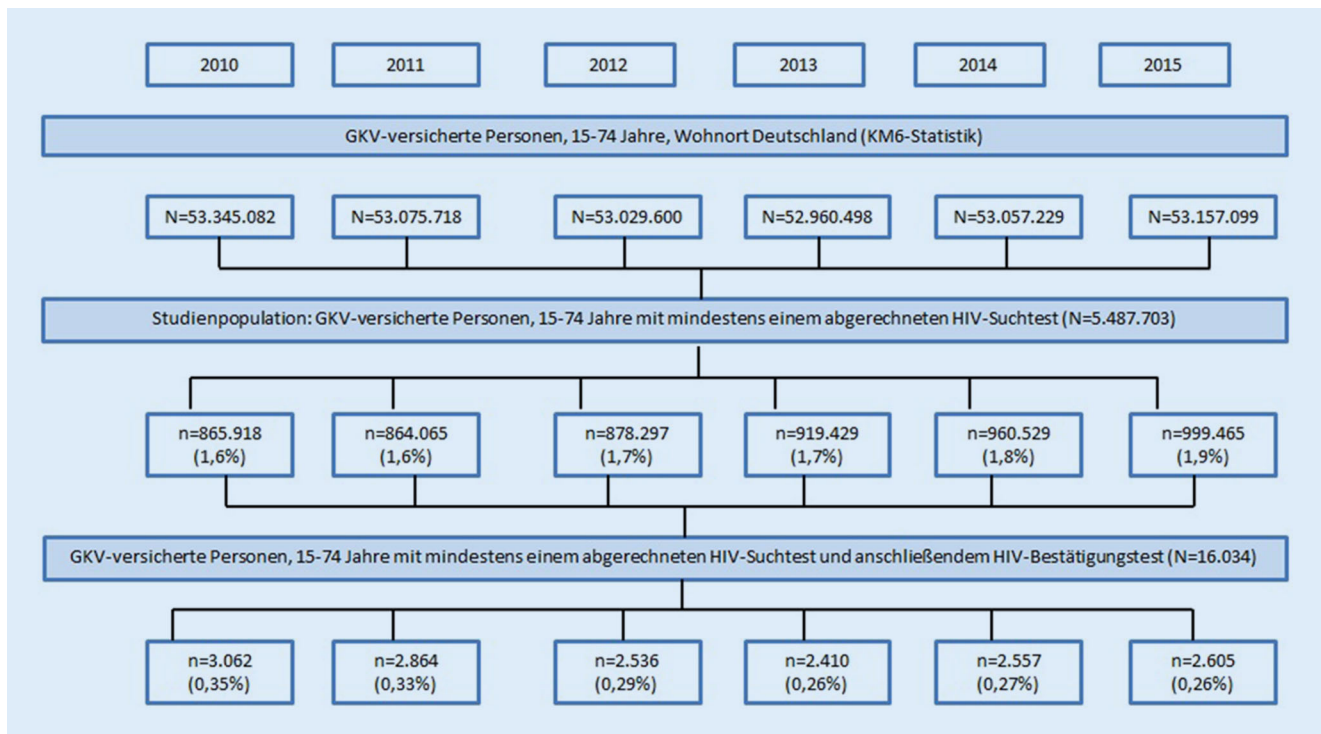
Im Durchschnitt wurde zwischen 2010 und 2015 bei 0,3% der Versicherten mit einem HIV-Suchtest auch ein HIV-Bestätigungstest durchgeführt, die Reaktivrate schwankte dabei zwischen 0,26% und 0,35% (■ Tab. 2). Der Anteil der reaktiven HIV-Suchtests lag bei den Frauen bei 0,2% und blieb im Zeitverlauf stabil. Der Anteil der reaktiven Suchtests bei

Männern sank von 1,1% in 2010 auf 0,7% in 2015 (■ Abb. 2; ■ Tab. 2).

### Vergleich mit HIV-Neudiagnosen, die an das RKI gemäß Infektionsschutzgesetz (IfSG §7.3) gemeldet wurden

Zwischen 2010 und 2015 wurden insgesamt 18.446 HIV-Neudiagnosen gemäß IfSG ans RKI gemeldet. 15.273 (82,8%) der HIV-Neudiagnosen wurden für Männer und 3173 (17,2%) für Frauen übermittelt. Die Anzahl der GKV-versicherten Frauen mit abgerechneten Such- und Bestätigungstests ist zweibis dreimal höher als die Gesamtzahl aller gemeldeten HIV-Neudiagnosen bei Frauen (■ Tab. 2). Unter den HIV-





**Abb. 1** ▲ Darstellung der Studienpopulation von gesetzlich krankenversicherten (GKV) Personen zwischen 15 und 74 Jahren mit mindestens einem abgerechneten HIV-Test zwischen 2010 und 2015. (Quellen: VDX-Daten, 2010–2015 [9]; KM-6-Statistik, 2010–2015 [13])

Neudiagnosen lag 2010 der Anteil der Frauen bei 14,5% und 2015 bei 20,2%. Bei den Such- und Bestätigungstests lag der Anteil der Frauen bei 45,8% in 2010 und bei 53,6% in 2015.

Die Anzahl der abgerechneten Such- und Bestätigungstests bei GKV-versicherten Männern ist niedriger als die Anzahl der an das RKI übermittelten HIV-Neudiagnosen bei Männern (Tab. 2). Im zeitlichen Verlauf sank die Anzahl der abgerechneten Such- und Bestätigungstests bei Männern ( $p = 0,007$ ), im selben Zeitraum stieg die Anzahl der HIV-Neudiagnosen ( $p = 0,001$ ; Tab. 2).

## Diskussion

Mit der vorliegenden Untersuchung konnte erstmalig im Bereich der GKV der ambulant auf HIV getestete Versichertenanteil im Zeitverlauf ermittelt werden. Am häufigsten wurden Frauen im Rahmen der Mutterschaftsvorsorge getestet. Im Vergleich zu den an das RKI gemeldeten HIV-Neudiagnosen bei Männern fiel auf, dass die Anzahl der Männer mit einem Such- und Bestäti-

gungstests niedriger ist als die Anzahl der ans RKI übermittelten HIV-Neudiagnosen.

## HIV-Suchtests

Von 2010 bis 2015 wurden im Durchschnitt 1,7% Versicherte (2,7% Frauen und 0,6% Männer), also zwischen 864.065 und 960.529 Personen jährlich ambulant auf HIV getestet. Es wurden mehr Frauen als Männer auf HIV getestet, was wahrscheinlich auf das Angebot der HIV-Testung im Rahmen der Schwangerschaftsvorsorge zurückzuführen ist. Das RKI schätzte, dass 2015 etwa 69.500 (64.500–74.600) Männer in Deutschland mit einer HIV-Infektion leben, davon wissen 58.800 (54.800–63.500) Männer von ihrer HIV-Infektion und etwa 15% (10.500; 9400–11.900) der Männer sind infiziert, aber nicht diagnostiziert [2]. Vor diesem Hintergrund sind die Anzahl und der Anteil der gesetzlich versicherten Männer, bei denen sowohl ein HIV-Suchtest als auch ein Bestätigungstest durchgeführt wurde, sehr gering, da weniger als 1% der gesetzlich versicherten

Männer im ambulanten Bereich auf HIV getestet wurde.

Der signifikante Anstieg der abgerechneten Suchtests bei Frauen ist auf die Testungen im Rahmen der Mutterschaftsvorsorge zurückzuführen, da gleichzeitig ein Anstieg der Schwangerschaften und der Inanspruchnahme des HIV-Schwangerschaftscreenings beobachtet wurde. Der Anteil schwangerer Frauen in der GKV mit einem HIV-Suchtest ist von 84,0% im Jahr 2010 auf 90,5% in 2015 angestiegen, erscheint im Vergleich zu anderen Ländern aber noch immer zu niedrig. So lag der Anteil der schwangeren Frauen mit HIV-Tests in London im Jahr 2007 bei 95,1% [16], in den Niederlanden 2006–2008 bei 99,8% [17] und in Ontario (Kanada) 2010 bei 96% [18].

Seit September 2007 soll jeder schwangeren Frau vom niedergelassenen Arzt ein HIV-Test angeboten und im Mutterpass als „Beratung der Schwangeren zum HIV-Antikörpertest“ dokumentiert werden [19]. Ob tatsächlich jeder schwangeren Frau ein HIV-Test angeboten wurde, ist jedoch unklar. Eine 10-prozentige Ablehnungsrate erscheint angesichts

**Tab. 3** Ermittlung der schwangeren Frauen unter den gesetzlich versicherten (GKV) Frauen sowie Anteil der Schwangeren mit einem HIV-Suchtest im Rahmen der Mutterschaftsvorsorge bei Frauen zwischen 15 und 49 Jahren, 2010–2015

|  | 2010       | 2011       | 2012       | 2013       | 2014       | 2015       |
|--|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Anzahl lebendgeborene Kinder von Müttern in der Altersgruppe 15–49 Jahre <sup>a</sup>      | 677.801    | 662.526    | 673.399    | 681.906    | 714.743    | 737.371    |
| Anzahl Schwangerschaftsabbrüche in der Altersgruppe 15–49 Jahre <sup>a</sup>               | 109.984    | 108.471    | 106.425    | 102.465    | 99.332     | 98.876     |
| Anzahl Totgeburten von Frauen in der Altersgruppe der 15- bis 49-Jährigen <sup>a</sup>     | 2465       | 2383       | 2398       | 2556       | 2595       | 2787       |
| Gesamtanzahl (entspricht der Anzahl von Schwangerschaften in der Altersgruppe 15–49 Jahre) | 790.250    | 773.380    | 782.222    | 786.927    | 816.670    | 839.034    |
| Weibliche Einwohner Deutschlands im Alter zwischen 15–49 Jahren <sup>a</sup>               | 18.458.137 | 17.934.712 | 17.780.227 | 17.612.453 | 17.463.924 | 17.436.464 |
| Gesetzlich krankenversicherte (GKV) Frauen zwischen 15–49 Jahren <sup>b</sup>              | 16.150.789 | 15.922.458 | 15.763.147 | 15.601.346 | 15.491.477 | 15.402.456 |
| Schwangere GKV-Frauen zwischen 15–49 Jahren <sup>c</sup>                                   | 691.465    | 686.608    | 693.483    | 697.070    | 724.432    | 741.159    |
| GKV-Frauen mit HIV-Test im Rahmen der Mutterschaftsvorsorge                                | 580.896    | 579.241    | 586.933    | 614.233    | 641.439    | 670.968    |
| Anteil GKV-schwangere Frauen mit HIV-Suchtest  | 84,0%      | 84,4%      | 84,6%      | 88,1%      | 88,5%      | 90,5%      |

<sup>a</sup>Quelle: Statistisches Bundesamt [11, 12]; Statistisches Bundesamt (Destatis); Tabelle zur Anzahl der Totgeborenen nach dem Alter der Mutter und Familienstand der Eltern 2010–2015, persönliche Kommunikation

<sup>b</sup>Quelle: KM-6-Statistik der GKV-Personen [13]

<sup>c</sup>Quelle: eigene Berechnung der Anzahl der GKV-Frauen unter der weiblichen Bevölkerung Deutschlands multipliziert mit der Anzahl der Schwangeren eines Jahres

der hochwirksamen Interventionsmöglichkeiten zur Verhinderung einer HIV-Übertragung auf das Kind schwer vorstellbar. Es ist jedoch somit nicht auszuschließen, dass schwangere Frauen andere HIV-Testangebote außerhalb der Versorgung im GKV-Sektor wahrnehmen. 2015 wurde vom Gemeinsamen Bundesausschuss (G-BA) beschlossen, dass die Durchführung des HIV-Antikörpertests im Mutterpass dokumentiert werden soll. Es bleibt abzuwarten, ob sich der Anteil der getesteten Schwangeren dadurch weiter erhöht [20].

### HIV-Bestätigungstest

Nicht hinter jedem abgerechneten Such- und Bestätigungstest steht eine positive Diagnose, die an das RKI gemeldet wird. Insbesondere bei der Testung von Schwangeren, einer Bevölkerungsgruppe mit sehr niedriger HIV-Prävalenz, gelangt man mit den zur Verfügung stehenden HIV-Suchtests selbst bei einer sehr hohen Spezifität in einen Bereich, in dem der positive Vorhersagewert eines reaktiven Suchtestergebnisses wahrscheinlich kleiner als 50 % ist.

Bei Männern ist die HIV-Prävalenz in Deutschland deutlich höher als bei Frau-

en. Daher ist auch der positive Vorhersagewert eines reaktiven Suchtestergebnisses deutlich besser. Dabei ist zu berücksichtigen, dass es bei Männern kein Routinescreening wie bei Schwangeren gibt, sodass sich überwiegend Männer testen lassen, die für sich auch ein Infektionsrisiko vermuten. Auch dies erhöht den positiven Vorhersagewert eines reaktiven Suchtestergebnisses. Trotzdem bleibt die Zahl der reaktiven Suchtests bei gesetzlich Versicherten deutlich unter der Zahl der gemeldeten HIV-Neudiagnosen von Männern.

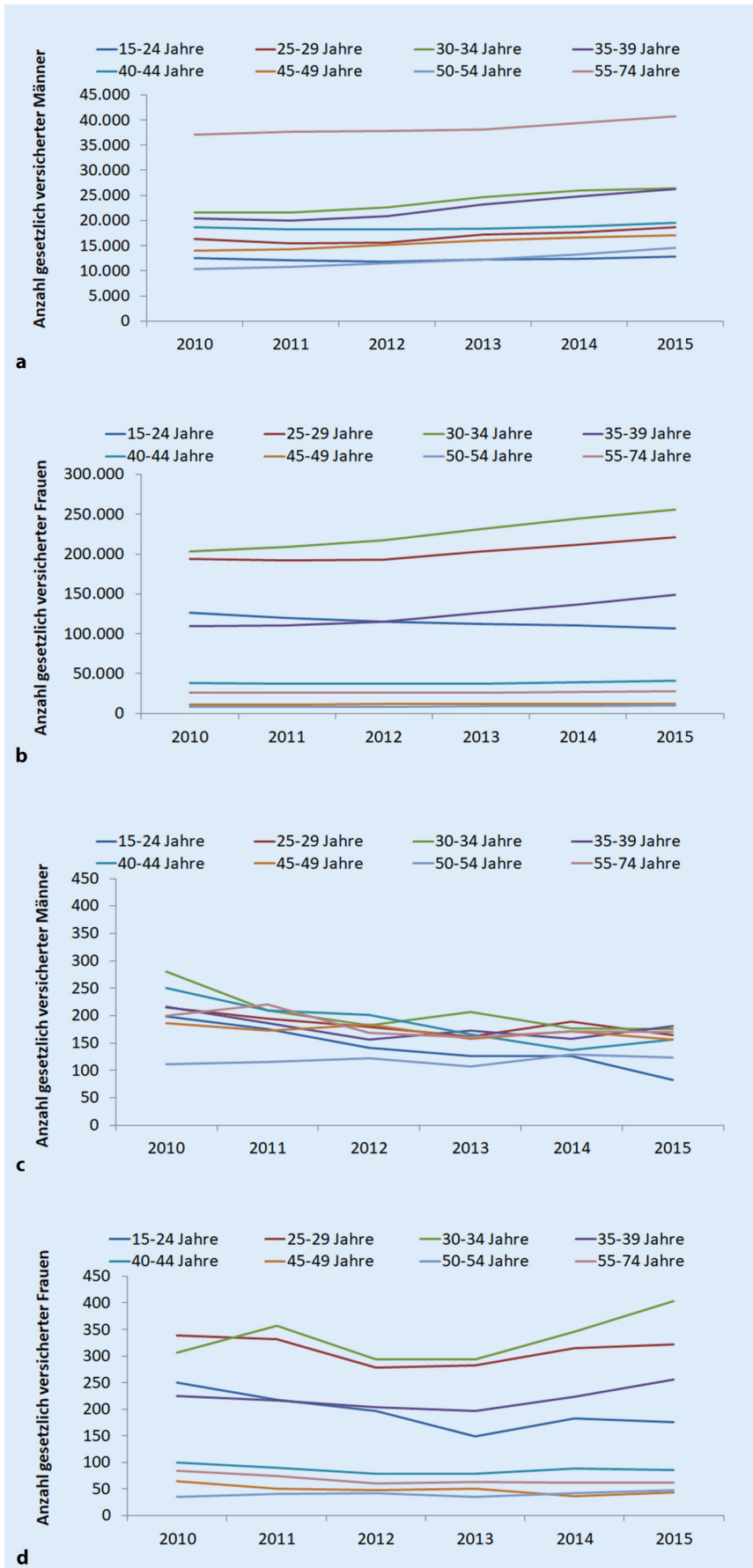
Dem RKI werden alle bestätigten HIV-Neudiagnosen gemeldet, auch wenn diese in anderen Testsettings (z. B. öffentlicher Gesundheitsdienst, Krankenhäuser) diagnostiziert wurden, sodass HIV-Neudiagnosen aus dem niedergelassenen Bereich nur einen Teil aller Neudiagnosen darstellen.

Zudem sind etwa 15 % der Bevölkerung nicht in der GKV, sondern in der privaten Krankenversicherung (PKV) versichert. HIV-Neudiagnosen aus diesem Personenkreis tauchen somit nicht in den Abrechnungsdaten des GKV-Sektors auf. So hat das Wissenschaftliche Institut der PKV 2013 festgestellt, dass unter privat versicherten Personen der Anteil der

HIV-Infizierten höher ist als in der Gesamtbevölkerung [21].

Am häufigsten wurden schwangere Frauen im niedergelassenen Bereich getestet, wohingegen sich die meisten HIV-Neudiagnosen bei Männern, vor allem bei Männern, die Sex mit Männern haben (MSM), finden [22]. Der Anteil von HIV-Infektionen unter schwangeren Frauen ist sehr niedrig [17, 18], daher entspricht die geringe Anzahl reaktiver Suchtests den Erwartungen.

Im Jahr 2015 befanden sich unter den HIV-Neudiagnosen 79,6 % Männer und davon waren 63,3 % MSM [22]. Bei einer Befragung von MSM gaben 44 % der Befragten an, dass sie ihren letzten HIV-Test bei einem niedergelassenen Arzt hatten [23]. Dies ist mit den Ergebnissen dieser Studie durchaus vereinbar und würde bedeuten, dass ein großer Teil der HIV-Tests bei MSM, aber auch bei Männern mit anderen Transmissionsrisiken andernorts erfolgt, z. B. in Krankenhäusern, Gesundheitsämtern und HIV-Testeinrichtungen, die sich speziell an MSM richten. Die abnehmende Reaktivrate bei Männern könnte darauf hindeuten, dass HIV-Tests zunehmend in solchen Einrichtungen erfolgen. Dafür spricht auch, dass beispielsweise



**Abb. 2** ◀ Zeittrends der abgerechneten HIV-Suchtest und HIV-Such- und Bestätigungstests bei gesetzlich krankenversicherten Männern und Frauen zwischen 2010 und 2015. **a** Männer mit HIV-Suchtests, **b** Frauen mit HIV-Suchtests, **c** Männer mit HIV-Such- und Bestätigungstests, **d** Frauen mit HIV-Such- und Bestätigungstests

in einer niedrigschwelligen Testeinrichtung für MSM eine HIV-Positivrate von 2,9% gefunden wurde [24], und das Landeszentrum Gesundheit Nordrhein-Westfalen (NRW) berichtet von einer HIV-Positivrate von 1,0% in 2011 und 1,2% in 2014 für Gesundheitsämter in NRW [25].

### Limitationen

Die Daten beinhalten nur ambulant abgerechnete Leistungen aus dem Bereich der GKV. HIV-Tests für privat versicherte Personen oder die HIV-Tests, die von Personen in Arztpraxen selbst bezahlt oder in anderen Testsettings durchgeführt wurden, sind in dieser Analyse nicht enthalten. Um die Gesamtanzahl der getesteten Personen in Deutschland zu erhalten, muss zu den vertragsärztlich veranlassenen HIV-Tests noch eine unbekannte Anzahl von HIV-Tests aus anderen Sektoren hinzugerechnet werden. Daten zu HIV-Diagnosen im Anschluss an die HIV-Stufendiagnostik konnten aufgrund des am Zi verfügbaren Datenbestands nicht mit ausreichender Sicherheit zugeordnet werden, sodass ein abschließender Vergleich von Personen mit Such- und Bestätigungstests und anschließender HIV-Diagnose im niedergelassenen Bereich mit den HIV-Neudiagnosen nicht möglich war. Weiterhin liegen am Zi ausschließlich pseudonymisierte Daten (nach Vorname, Nachname, Geburtsdatum) vor, sodass beispielsweise bei der Änderung des Nachnamens ein neues Pseudonym entstehen kann und Personen mehrmals gezählt werden können. Der HIV-Test in der Schwangerschaft soll zu einem möglichst frühen Zeitpunkt in der Schwangerschaft durchgeführt werden [26]. Daher sind HIV-Tests bei Schwangeren auch im Jahr vor der Geburt möglich, was in dieser Untersuchung über einen 6-Jahres-Zeitraum

jedoch mit großer Wahrscheinlichkeit ausgeglichen wird.

## Schlussfolgerung und Empfehlung

Auch wenn die Anzahl durchgeführter Such- und Bestätigungstests in Arztpraxen niedrig erscheint, spielt die Arztpraxis dennoch eine zentrale Rolle bei der Identifikation und Versorgung von HIV-infizierten Personen, denn fast 90 % der erwachsenen Bevölkerung Deutschlands besuchen mindestens einmal im Jahr einen niedergelassenen Arzt [27]. Da etwa 50 % der HIV-Neudiagnosen spät erfolgen [28, 29], könnte die intensive Propagierung von HIV-Tests im ambulanten vertragsärztlichen Bereich dazu beitragen, Infektionen frühzeitig zu erkennen, zu behandeln und Übertragungen zu verhindern [30].

## Korrespondenzadresse

### Alexandra Hofmann

Abteilung für Infektionsepidemiologie, Fachgebiet HIV/AIDS und andere sexuell oder durch Blut übertragbare Infektionen, Robert Koch-Institut  
Seestr. 10, 13353 Berlin, Deutschland  
hofmanna@rki.de

**Funding.** Open Access funding provided by Projekt DEAL.

## Einhaltung ethischer Richtlinien

**Interessenkonflikt.** A. Hofmann, J. Bätzing, U. Marcus und B. Bartmeyer geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht. V. Bremer wurden Reise- und Übernachtungskosten sowie Teilnehmergebühren von der Deutschen STI-Gesellschaft erstattet und sie erhielt ein Vortragshonorar von der Ärztekammer Westfalen-Lippe. Sie erhielt außerdem Drittmittel des Bundesministeriums für Gesundheit.

Für diesen Beitrag wurden von den Autoren keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

**Open Access.** Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen.

Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

## Literatur

- UNAIDS (2014) 90–90–90 An ambitious treatment target to help end the AIDS epidemic. [http://www.unaids.org/sites/default/files/media\\_asset/90-90-90\\_en\\_0.pdf](http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/90-90-90_en_0.pdf). Zugegriffen: 16. Mai 2019
- Robert Koch-Institut (2016) Schätzung der Prävalenz und Inzidenz von HIV-Infektionen in Deutschland, Stand Ende 2015. *Epidemiol Bull* 45:497–509
- Robert Koch-Institut (2006) Zu in Deutschland durchgeführten HIV-Such- und -Bestätigungstests im Jahr 2004. *Epidemiol Bull* 2006:2–5
- Robert Koch-Institut (2010) Webbasierte Erhebung zur HIV-Diagnostik in Deutschland 2009. *Epidemiol Bull* 2010:391–395
- Robert Koch-Institut (2015) „HIV-Neuerstudie“: Online Laborbefragung zur Bestandsaufnahme der HIV-Diagnostik in Deutschland 2011. *Epidemiol Bull* 07:47–50
- Rabenau HF, Bannert N, Berger A et al (2015) Nachweis einer Infektion mit Humenem Immundefizienzvirus (HIV): Serologisches Screening mit nachfolgender Bestätigungsdiagnostik durch Antikörper-basierte Testsysteme und/oder durch HIV-Nukleinsäure-Nachweis. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 58:877–886
- Robert Koch-Institut (2001) Anmerkungen zur Erfassung von HIV-Infektionen auf der Grundlage des neuen Infektionsschutzgesetzes. *Epidemiol Bull* A:1
- Altmann M, Nielsen S, Hamouda O, Bremer V (2013) Angebote der Beratungsstellen zu sexuell übertragbaren Infektionen und HIV und diesbezügliche Datenerhebung in deutschen Gesundheitsämtern im Jahr 2012. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 56:922–929
- Nimptsch U, Bestmann A, Erhart M et al (2015) Zugang zu Routinedaten. In: Swart E, Ihle P, Gothe H, Matusiewicz D (Hrsg) Routinedaten im Gesundheitswesen. *Handbuch Sekundärdatenanalyse: Grundlagen, Methoden und Perspektiven*. Huber, Bern, S 270–290
- Kassenärztliche Bundesvereinigung (2015) Einheitlicher Bewertungsmaßstab (EBM) Stand: 4. Quartal 2015. [https://www.kbv.de/media/EBM-2009-Archiv\\_2.zip](https://www.kbv.de/media/EBM-2009-Archiv_2.zip). Zugegriffen: 18. Okt. 2017
- Statistisches Bundesamt (Destatis) (2017) Statistik der Geburten nach Alter der Mutter, Geschlecht der Lebendgeborenen und Familienstand der Eltern 2010–2015 – TabelleNr: 12612-0007. <https://www-genesis.destatis.de/genesis/online>. Zugegriffen: 2. Febr. 2017
- Statistisches Bundesamt (Destatis) (2017) Statistik der Schwangerschaftsabbrüche 2010–2015 – TabelleNr: 23311-0001. <https://www-genesis.destatis.de/genesis/online>. Zugegriffen: 12. Juli 2017
- Bundesministerium für Gesundheit (2016) Mitglieder und Versicherte der Gesetzlichen Krankenversicherung (GKV): Statistik über Versicherung, gegliedert nach Status, Alter, Wohnort und Kassenart (KM6) – Stichtag: 1. Juli 2015. <https://www.bundesgesundheitsministerium.de/themen/krankenversicherung/zahlen-und-fakten-zur-krankenversicherung/mitglieder-und-versicherte.html>. Zugegriffen: 24. Nov. 2016
- Statistisches Bundesamt (Destatis) (2017) Statistik der Bevölkerung nach Alter und Geschlecht, 2010–2015 – TabelleNr: 12411-0006. <https://www-genesis.destatis.de/genesis/online>. Zugegriffen: 25. Okt. 2017
- Robert Koch-Institut (2017) *SurvStat@RKI: HIV Neudiagnosen nach Altersgruppen und Geschlecht zwischen 2010 und 2015 in Deutschland* Datenstand: *Epidemiologisches Jahrbuch* 2016 (1.3.2017). <https://survstat.rki.de/>. Zugegriffen: 1. Apr. 2017
- Giraudon I, Forde J, Maguire H, Arnold J, Permalloo N (2009) Antenatal screening and prevalence of infection: surveillance in London, 2000–2007. *Euro Surveill* 14:8–12
- Op de Coul EL, Hahne S, van Weert YW et al (2011) Antenatal screening for HIV, hepatitis B and syphilis in the Netherlands is effective. *BMC Infect Dis* 11:185
- Remis RS, Merid MF, Palmer RW et al (2012) High uptake of HIV testing in pregnant women in Ontario, Canada. *PLoS One* 7:e48077
- Gemeinsame Bundesausschuss (G-BA) (2007) Bekanntmachung eines Beschlusses des Gemeinsamen Bundesausschusses über eine Änderung der Mutterschafts-Richtlinien: Merkblatt HIV-Screening vom 13.09.2007. *Bundesanzeiger, Bd. 1301 A 239*
- Gemeinsame Bundesausschuss (G-BA) (2015) Beschluss des Gemeinsamen Bundesausschusses über eine Änderung der Richtlinien über die ärztliche Betreuung während der Schwangerschaft und nach der Entbindung („Mutterschafts-Richtlinien“). *Bundesanzeiger, Bd. AT 9.11.2015 B1* (Anpassung der Anlage 3 (Mutterpass) – Eintrag zur Durchführung eines HIV Tests vom 20.08.2015)
- Wissenschaftliches Institut der PKV (WIP), Finkenstädt V, Wild F (2013) WIP-Diskussionspapier 2/13: HIV-Infektionen in der PKV – Prävalenz, Inzidenz und Arzneimittelversorgung. <http://www.wip-pkv.de/forschungsbereiche/detail/hiv-infektion-in-der-pkv-praevalenz-inzidenz-und-arzneimittelversorgung.html>. Zugegriffen: 23. Mai 2019
- Robert Koch-Institut (2016) HIV-Jahresbericht 2015. *Epidemiol Bull* 38/2016:407–430
- Marcus U, Gassowski M, Kruspe M, Drewes J (2015) Recency and frequency of HIV testing among men who have sex with men in Germany and socio-demographic factors associated with testing behaviour. *BMC Public Health* 15:727
- Marcus U, Ort J, Grenz M, Eckstein K, Wirtz K, Wille A (2015) Risk factors for HIV and STI diagnosis in a community-based HIV/STI testing and counselling site for men having sex with men (MSM) in a large German city in 2011–2012. *BMC Infect Dis* 15:14
- Kuttner-May S, Krönke S, Münstermann D, Lucht A (2015) Anonymes, kostenloses HIV- und Syphilis-Beratungs- und Untersuchungsprogramm im öffentlichen Gesundheitsdienst in Nordrhein-Westfalen (NRW). In: *Deutsch-Österreichischer*

- 
- AIDS Kongress (DÖAK). K.I.T. Group, Düsseldorf, S 65–66
26. Gemeinsame Bundesausschuss (G-BA) (2016) Richtlinien des Gemeinsamen Bundesausschusses über die ärztliche Betreuung während der Schwangerschaft und nach der Entbindung („Mutterschafts-Richtlinien“). Version vom 21.04.2016. Bundesanzeiger, Bd. AT 19.07.2016
  27. Prütz F, Rommel A (2017) Inanspruchnahme ambulanter ärztlicher Versorgung in Deutschland. J Health Monit. <https://doi.org/10.17886/RKI-GBE-2017-116>
  28. European Centre for Disease Prevention and Control (2017) HIV testing. Monitoring implementation of the Dublin Declaration on partnership to fight HIV/AIDS in Europe and Central Asia: 2017 progress report <https://doi.org/10.2900/964345>
  29. Zoufaly A, an der Heiden M, Marcus U et al (2012) Late presentation for HIV diagnosis and care in Germany. HIV Med 13:172–181
  30. Bundesministerium für Gesundheit, Bundesministerium für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung (2016) BIS 2030 – Strategie zur Eindämmung von HIV, Hepatitis B und C und anderen sexuell übertragbaren Infektionen. [http://www.bundesgesundheitsministerium.de/fileadmin/Dateien/Publikationen/Praevention/Broschueren/Strategie\\_BIS\\_2030\\_HIV\\_HEP\\_STI.pdf](http://www.bundesgesundheitsministerium.de/fileadmin/Dateien/Publikationen/Praevention/Broschueren/Strategie_BIS_2030_HIV_HEP_STI.pdf). Zugegriffen: 9. Mai 2019

## **5. Lebenslauf**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

## 6. Publikationsliste

### 6.1. Publikationen in wissenschaftlichen Zeitschriften im Peer-Review Verfahren

#### 2021

Halm, A., Grote, U., an der Heiden, M., Hamouda O., Schaade L., Rexroth U., & **RKI-Lagezentrums-Gruppe (... Hofmann, A. ...)**. Das Lagemanagement des Robert Koch-Instituts während der COVID-19-Pandemie und der Austausch zwischen Bund und Ländern. Bundesgesundheitsbl (2021). DOI: 10.1007/s00103-021-03294-0. Impact factor: 1,059 für 2019 (Quelle: Journal Citation Reports)

Zimmermann, R., Külper-Schiek, W., Steffen, G., Gillesberg Lassen, S., Bremer, V., Dudareva, S. & die **Hepatitis-Monitoring-Arbeitsgruppe (... Hofmann, A. ...)**. Wie lässt sich die Eliminierung von Hepatitis B, C und D in Deutschland messen? Ergebnisse eines interdisziplinären Arbeitstreffens. Bundesgesundheitsbl 64, 77–90 (2021). DOI: 10.1007/s00103-020-03260-2. Impact factor: 1,059 für 2019 (Quelle: Journal Citation Reports)

#### 2020

**Hofmann, A.**, Bätzing, J., Marcus, U., Bremer V., Bartmeyer B. Wie viele Personen lassen sich in Deutschland im niedergelassenen Bereich auf HIV testen?. Bundesgesundheitsbl 63, 1262–1270 (2020). DOI: 10.1007/s00103-020-03210-y. Impact factor: 1,059 für 2019 (Quelle: Journal Citation Reports)

#### 2019

Hanke K, Rodrigues Faria N, Kühnert D, Yousef KP, Hauser A, Meixenberger K, **Hofmann A**, Bremer V, Bartmeyer B, Pybus O, Kücherer C, von Kleist M, Bannert N: Reconstruction of the genetic history and the current spread of HIV-1 subtype A in Germany. J Virol. 2019 May 29;93(12). pii: e02238-18. DOI: 10.1128/JVI.02238-18. Print 2019 Jun 15. Impact factor: 4,501 für 2019 (Quelle: Journal Citation Reports)

Hauser A, Heiden MA, Meixenberger K, Han O, Fiedler S, Hanke K, Koppe U, **Hofmann A**, Bremer V, Bartmeyer B, Kuecherer C, Bannert N: Evaluation of a BioRad Avidity assay for identification of recent HIV-1 infections using dried serum or plasma spots. J Virol Methods. 2019 Apr; 266:114-120. DOI: 10.1016/j.jviromet.2019.02.002. Impact factor: 1,786 für 2019 (Quelle: Journal Citation Reports)



## 2018

Hauser A, **Hofmann A**, Meixenberger K, Altmann B, Hanke K, Bremer V, Bartmeyer B, Bannert N: Increasing proportions of HIV-1 non-B subtypes and of NNRTI resistance between 2013 and 2016 in Germany: Results from the national molecular surveillance of new HIV-diagnoses. PLoS One. 2018 Nov 8;13(11):e0206234. DOI: 10.1371/journal.pone.0206234. Impact factor: 2,776 für 2018 (Quelle: Journal Citation Reports)

Hauser A, Meixenberger K, Machnowska P, Fiedler S, Hanke K, **Hofmann A**, Bartmeyer B, Bremer V, Bannert N, Kuecherer C.: Robust and sensitive subtype-generic HIV-1 pol genotyping for use with dried serum spots in epidemiological studies. J Virol Methods. 2018 Sep; 259:32-38. DOI: 10.1016/j.jviromet.2018.05.013. Impact factor: 1,746 für 2018 (Quelle: Journal Citation Reports)

## 2017

**Hofmann A**, Hauser A, Zimmermann R, Santos-Hövenner C, Bätzing-Feigenbaum J, Wildner S, Kuecherer C, Bannert N, Hamouda O, Bremer V, Bartmeyer B.: Surveillance of recent HIV infections among newly diagnosed HIV cases in Germany between 2008 and 2014. BMC Infect Dis. 2017 Jul 11;17(1):484. DOI: 10.1186/s12879-017-2585-4. Impact factor: 2,620 für 2017 (Quelle: Journal Citation Reports)

Hauser A, **Hofmann A**, Hanke K, Bremer V, Bartmeyer B, Kuecherer C, Bannert N (2017): National molecular surveillance of recently acquired HIV infections in Germany, 2013 to 2014. Euro Surveill. 2017 Jan 12;22(2). pii: 30436. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2017.22.2.30436. Impact factor: 7,127 für 2017 (Quelle: Journal Citation Reports)

## 2014

Hauser A, Santos-Hövenner C, Meixenberger K, Zimmermann R, Somogyi S, Fiedler S, **Hofmann A**, Bartmeyer B, Jansen K, Hamouda O, Bannert N, Kuecherer C (2014): Improved testing of recent HIV-1 infections with the BioRad Avidity Assay compared to the Limiting Antigen Avidity Assay and BED Capture Enzyme Immunoassay: Evaluation using reference sample panels from the German Seroconverter Cohort. PLoS ONE June 3. DOI: 10.1371/journal.pone.0098038. Impact factor: 3,234 für 2014 (Quelle: Journal Citation Reports)

## 2010

Gilsdorf A, **Hofmann A**, Hamouda O, Bremer V: Highly variable use of diagnostic methods for sexually transmitted infections - results of a nationwide survey, Germany 2005. BMC Infect Dis. 2010 Apr 19;10(1):98. DOI: 10.1186/1471-2334-10-98. Impact factor: 2,825 für 2010 (Quelle: Journal Citation Reports)

Süss T, Buchholz U, Dupke S, Grunow R, an der Heiden M, Heider A, Biere B, Schweiger B, Haas W, Krause G; **Robert Koch Institut Shedding Investigation Group (... Hofmann, A. ...)**. Shedding and transmission of novel influenza virus A/H1N1 infection in households - Germany, 2009. Am J Epidemiol. 2010 Jun; 171(11):1157-64. DOI: 10.1093/aje/kwq071. Impact factor: 5,745 für 2010 (Quelle: Journal Citation Reports)

## 2007

Bremer V, **Hofmann A**, Hamouda O: Epidemiologie der Chlamydia-trachomatis-Infektionen. Hautarzt 2007 58:18-23. DOI: 10.1007/s00105-006-1267-8. Impact factor: 0,333 für 2007 (Quelle: Journal Citation Reports)

## 2005

Bremer V, Marcus U, **Hofmann A**, Hamouda O (2005): Building a sentinel surveillance system for sexually transmitted infections in Germany, 2003. Sex Transm Inf 81:173-179. Impact factor: 2,668 für 2005 (Quelle: Journal Citation Reports)

## 6.2. Weitere Publikationen

### 2015

Schink SB, **Hofmann A**: HIV-Nennerstudie - eine Befragung von Laboren zur aktuellen HIV-Diagnostik in Deutschland. Epidemiologisches Bulletin S. 47-50 7/2015

### 2014

**Hofmann A**, Dudareva-Vizule S, Sailer A, Hamouda O, Bremer V (2014): Chlamydia trachomatis in Deutschland - Ergebnisse des Laborsentinel. HIV+More. September, 3/2014: 32-35

## 2011

**Hofmann A**, Dreesman J, Wagner D: Umfrage zur Durchführung von Tuberkulose-Umgebungsuntersuchungen in Niedersachsen. Deutsches Zentralkomitee zur Bekämpfung der Tuberkulose. 34. Informationsbericht, S.38-48, 2011. Berlin

### 6.3. Zitierfähige wissenschaftliche Beiträge (Veranstaltungen mit Tagungsband)

## 2018

**Hofmann A**, J. Bätzing, K. Jansen, B. Bartmeyer, V. Bremer (2018): Wie viele HIV- / STI-Tests werden in deutschen Arztpraxen durchgeführt?. 63. Deutscher STI-Kongress. 06.-09. Juni 2018. Bochum, Deutschland Erschienen in JDDG: Journal of the German Society of Dermatology: Volume16, IssueS3:S. 8-9: Abstracts zum 63. Deutschen STI-Kongress 2018 mit Leopoldina-Symposium und Interdisziplinärem Networking für die Millennials, 06.-09. Juni 2018, Bochum, im Stadtpark; June 2018; Pages 6-35. DOI: 10.1111/ddg.13552 - **Vortrag**

Hauser A, Hanke A, **Hofmann A**, Markus U, Zimmermann R, Bremer V, Bannert N (2018): Nachweis und Analyse eines HIV-1 Ausbruchs unter Drogengebrauchenden im Raum München mit Hilfe der molekularen Surveillance. 17. Münchner AIDS- und Hepatitis-Tage - zu Gast in Berlin 23.-25.3.2018 - HIV/AIDS Hepatitis Infektiologie 2018 (Hoffmann / Jäger (Hrsg.)) ISBN: 978-3-9817252-2-3 S.27 - **Vortrag**

Hauser A, Hanke A, **Hofmann A**, Meixenberger K, Altmann B, Bremer V, Bartmeyer B, Bannert N (2018): Trends bei übertragenen Resistenzen und zirkulierenden HIV-1 Subtypen - Ergebnisse der nationalen molekularen Surveillance in Deutschland 2013-2016. Gemeinsame Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Infektiologie (DGI) und des Deutschen Zentrums für Infektionsforschung (DZIF), 28.-30. September 2017, Hamburg - Tagungsband S. 17 - ISBN 978-3-00-057615-7 - **Vortrag**

## 2017

Hanke K, Hauser A, **Hofmann A**, Bartmeyer B, Bremer V, Bannert N (2017): Molecular surveillance reveals a recent outbreak of HIV-1 subtype C infections among people who inject drugs (PWID) in Munich, Germany 16th European AIDS Conference, 25.-27.10.2017. Milan, Italy: <http://www.abstractserver.com/eacsabstractarchive/absabstract.php?abid=6017> - **BPD3/1 Poster/ Best Poster Discussion**

Hauser A, **Hofmann A**, Hanke K, Meixenberger K, Bremer V, Bartmeyer B, Bannert N (2017): Trends for transmitted drug resistance and prevalence of non-B subtypes in recent HIV infections? results from the national molecular surveillance, Germany 2013-2016 16th European AIDS Conference, 25.-27.10.2017. Milan, Italy PE6/20

<http://www.abstractserver.com/eacsabstractarchive/absabstract.php?abid=6020> - **Poster**

**Hofmann A**, Bätzing J, Bremer V, Bartmeyer B (2017): The problem of the denominator - or how many people have been tested for HIV in Germany between 2010 and 2015: 16th European AIDS Conference, 25.-27.10.2017. Milan, Italy PE23/41

<http://www.abstractserver.com/eacsabstractarchive/absabstract.php?abid=6046> - **Poster**

**Hofmann A**, Hauser A, Bannert N, Hamouda O, Bremer V, Bartmeyer B (2017): Factors associated with recent HIV infections in Germany (2011-2016): 16th European AIDS Conference, 25.-27.10.2017. Milan, Italy PE23/41

<http://www.abstractserver.com/eacsabstractarchive/absabstract.php?abid=6036> - **Poster**

**Hofmann A**, Hauser A, Bannert N, Bartmeyer B, Bremer V (2017): Kürzlich erworbene HIV-Infektionen bei MSM in Deutschland (2011-2016) 8. Deutsch-Österreichischer Aids-Kongress 14.07.-17.07.2017, Salzburg Tagungsband S. 45 - **Vortrag**

**Hofmann A**, Bätzing-Feigenbaum J, Bremer V, Bartmeyer B (2017): Auf der Suche nach dem Nenner oder wie viele Personen lassen sich bei niedergelassenen Ärzten auf HIV testen? 8. Deutsch-Österreichischer Aids-Kongress 14.07.-17.07.2017, Salzburg –Tagungsband S. 29 - **Vortrag**

## **2016**

**Hofmann A**, Hauser A, Bannert N, Bartmeyer B, Bremer V (2016): Kürzlich erworbene HIV-Infektionen bei MSM in Deutschland (2011-2015): Was wissen wir? STI-Kongress 2016 der Deutschen STI-Gesellschaft 07.07.-09.07.2016, Berlin. Tagungsband S. 34-35 - **Poster und Vortrag**

Hauser A, **Hofmann A**, Hanke K, Bremer V, Bartmeyer B, Kücher C, Bannert N (2016): Prevalence and impact of transmitted drug resistance in recent HIV-1 infections, Germany 2013 to 2015 International Congress of Drug Therapy in HIV Infection 23-26 October 2016, Glasgow, UK Abstract erschienen im Journal of the International AIDS Society 19 (Suppl 8S7). DOI:

10.7448/IAS.19.8.21487 - P353 - **Poster**; Impact factor: 6,296 für 2016 (Quelle: Journal Citation Reports)

## **2015**

**Hofmann A**, Hauser A, Santos-Hövenner C, Zimmermann R, Bannert N, Bartmeyer B, Kücherer C, Bremer V (2015): Kürzlich erworbene HIV-Infektionen in Deutschland (2011-2014): Was wissen wir? 10. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Epidemiologie 30.09.-02.10.2015, Potsdam Tagungsband S. 30-31 - **Vortrag**

**Hofmann A**, Hauser A, Bannert N, Hamouda O, Bremer V, Kücherer C, Bartmeyer B (2015): Recent HIV-infections in Germany 2008-2014: What do we know? 15th European AIDS Conference, October 21 - 24, 2015 PE21/22

<https://www.abstractserver.com/eacsabstractarchive/absabstract.php?abid=5316> - **Poster**

**Hofmann A**, Hauser A, Santos-Hövenner C, Zimmermann R, Bannert N, Bartmeyer B, Kücherer C, Hamouda O (2015): Kürzlich erworbene HIV-Infektionen in Deutschland (2011-2014): Was wissen wir? Deutsch- Österreichischer Aids-Kongress, 24.-27.06.2015, Düsseldorf, PW 23 Tagungsband S. 64 - **Poster**

**Hofmann A**, Hauser A, Santos-Hövenner C, Zimmermann R, Bannert N, Bartmeyer B, Kücherer C, Hamouda O (2015): Recent HIV infections in Germany (2011-2014): Which groups among the newly diagnosed HIV cases are infected recently?. 25th Annual Meeting of the Society for Virology; 2015; 18–21 March 2015; Bochum/Germany - Poster ID: 114 Tagungsband S. 158 - **Poster**

Hofmann A, Hauser A, Schönerstedt-Zastrau K, Santos-Hövenner C, Zimmermann R, Bannert N, Bremer V, Kücherer C, Bartmeyer B (2015): Comparison of two approaches for recent infections among newly diagnosed MSM using a recency test and the date of the reported last negative test in German (2011-2014). 29<sup>th</sup> European Conference on sexually transmitted Infections; 24.-26. September 2015; Sitges, Spain Tagungsband S. 56 - **Poster**

Bartmeyer B, Schönerstedt-Zastrau K, **Hofmann A**, Kollan C, Voss L, Hamouda O, Bremer V (2015): High proportion of newly diagnosed HIV-positive MSM had previous HIV-test in Germany - Is testing used as prevention strategy?. 29<sup>th</sup> European Conference on Sexually Transmitted Infections; 24.-26. September 2015; Sitges, Spain - Tagungsband S. 56 - **Poster**

Dudareva-Vizule S, Alt K, **Hofmann A**, Jansen K, Sailer A, Haar K, Bremer V (2015): Chlamydia trachomatis infection in men in Germany, 2008-2014. 29<sup>th</sup> European Conference on Sexually Transmitted Infections; 24.-26. September 2015; Sitges, Spain - Tagungsband S. 57 - **Poster**

Hauser A, **Hofmann A**, Meixenberger K, Somogyi S, Bartmeyer B, Jansen K, Bremer V, Bannert N, Kuecherer C (2015): Comparing a 'Multi Assay Algorithm' with the BED Capture Enzyme Immunoassay for the testing of recent HIV-1 infections in Germany; PosterID: PE21/16: 15th European AIDS Conference, October 21–24, 2015, Barcelona, Spain:

<http://www.abstractserver.com/eacsabstractarchive/absabstract.php?abid=5210> - **Poster**

Hauser A, Hanke K, **Hofmann A**, Santos-Hövenner C, Bartmeyer B, Hamouda O, Kuecherer C, Bannert N (2015): Molecular surveillance of recently acquired HIV infections in Germany using dried serum spots reveals an increase in HIV-1 subtype non-B infections and a decrease in transmission of drug resistance: 25th Annual Meeting of the Society for Virology, 18–21 March 2015 Bochum, Germany- Tagungsband S.145 - **Vortrag**

## **2014**

Alt K, Dudareva-Vizule S, Sailer A, Haar K, **Hofmann A**, Bremer V (2014): Chlamydia trachomatis-Laborsentinel - Ergebnisse zu Untersuchungen bei Männern. STI-Kongress der DSTIG - Sexuelle Gesundheit Gemeinsam gestalten - 19.-21. Juni 2014, Berlin, Germany. - Tagungsband S.73 - **Poster**

**Hofmann A**, Dudareva-Vizule S, Sailer A, Hamouda O, Bremer V (2014): Ergebnisse aus dem Chlamydia trachomatis Laborsentinel in Deutschland (2008-2013). STI-Kongress der DSTIG - Sexuelle Gesundheit Gemeinsam gestalten - 19.-21. Juni 2014, Berlin, Germany P06 - Tagungsband S. 76-77 - **Poster**

Kücherer C, Hauser A, Santos-Hövenner, **Hofmann A**, Zimmermann R, Hamouda O, BannerN (2014): Molecular surveillance of recently acquired HIV infections in Germany using dried serum spots: 24th Annual Meeting of the Society for Virology March 26th - 29th 2014, Alpbach, Tyrol, Austria Tagungsband S. 159 - **Vortrag**

Hauser A, Meixenberger K; **Hofmann A**, Bannert N, Orjin H, Zimmermann R, Bartmeyer B, Santos-Hoevenner C, Somogyi S, Jansen K, Kuecherer C (2014): Performance of a Multi-Assay Algorithm in Comparison with Two Serological Tests for Recent HIV-Infections: 24th Annual

Meeting of the Society for Virology March 26th - 29th 2014, Alpbach, Tyrol, Austria.

Tagungsband S. 162 - **Poster**

Hauser A, **Hofmann A**, Hanke K, Santos-Hoeverer C, Zimmermann R, Hamouda O, Bannert N, Kuecherer C (2014): Analysis of transmitted drug resistance and HIV-1 subtypes using dried serum spots of recently HIV-infected individuals in 2013 in Germany: International Congress of Drug Therapy in HIV Infection 2-6 November 2014, Glasgow, UK Abstract erschienen im Journal of the International AIDS Society 17(Suppl 3):1. DOI: 10.7448/IAS.17.4.19670 - **Poster**. Impact factor: 5,090 für 2014 (Quelle: Journal Citation Reports)

Hauser A, Han O, **Hofmann A**, Meixenberger K, Zimmermann R, Somogyi S (2014): Anwendung eines Algorithmus mit multiplen Analyten zur Ermittlung der Anzahl neuer HIV-Infektionen in Deutschland 2014. 15. Münchner AIDS- und Hepatitis-Tage 21-23. März 2014. - Tagungsband S. 17 - **Vortrag**

## **2013**

Hauser A, Santos-Hoeverer C, **Hofmann A**, Zimmermann R, Hamouda O, Bannert N, Kuecherer C (2013): Analysis of Transmitted Drug Resistance and HIV-Subtypes from Dried Serum Spots of Newly Diagnosed Patients in Germany: Results from the Study "Surveillance of Incident HIV Infections" in 2012: 14th European AIDS Conference - EACS 16-19.10.2013 Brussels, Belgium <http://www.abstractserver.com/eacsabstractarchive/absabstract.php?abid=4610> - **Poster**

**Hofmann A**, Gallowitz C, Tenckhoff B (2013): Regionalisierte Analyse ambulant durchgeführter Polypektomien im Rahmen von Koloskopien in 2011, Agens Workshop 7./8. März 2013, Berlin <https://www.zi.de/veranstaltungen/workshops/agens-methodenworkshop/>;  
[https://www.zi.de/fileadmin/images/content/PDFs\\_alle/P5\\_AGENS\\_Hofmann\\_Poster.pdf](https://www.zi.de/fileadmin/images/content/PDFs_alle/P5_AGENS_Hofmann_Poster.pdf) -

**Poster**

## **2010**

**Hofmann A**, Dreesman J, Alpers K, Hauer B, Wagner D (2010): Tuberculosis contact tracing varies among local public health departments in Lower Saxony, Germany European Scientific Conference on Applied Infectious Disease Epidemiology (ESCAIDE) 11.-13. November 2010, Stockholm. Tagungsband S. 29 - **Vortrag**

**Hofmann A**, Dreesman J (2010): Das räumliche Scan-Verfahren mit SaTScan®, ein nützliches Tool um Salmonellose-Ausbrüche in Niedersachsen zu erkennen? Gemeinsamer Kongress der

Deutschen Gesellschaft für Sozialmedizin und Prävention, der Deutschen Gesellschaft für Epidemiologie und der European Union of Medicine in Assurance and Social Security (EUMASS) 21.-25. September 2010, Berlin. Abstract erschienen in: Das Gesundheitswesen, Ausgabe 8/9 2010 S. 552 Impact factor: 0,660 für 2010 (Quelle: Journal Citation Reports) - **Vortrag**

**Hofmann A**, Dreesman J (2010): Spatial cluster detection - a useful tool to detect Salmonella Outbreaks in Lower Saxony, Germany: Conference on Applied Infectious Disease Epidemiology (ESCAIDE) 11.-13. November 2010, Stockholm. Tagungsband S. 126 - **Poster**

## **2009**

**Hofmann A**, Ruebsamen C, Wagner D, Dreesman J (2009): A high attack rate of tuberculosis infections in a school outbreak, Wilhelmshaven, Germany, 2008 European Scientific Conference on Applied Infectious Disease Epidemiology (ESCAIDE) 26.-28. October 2009, Stockholm. Tagungsband S. 45 - **Vortrag**

## **2008**

**Hofmann A**, Bremer V, Marcus U, Hamouda O (2008): Results of STI Sentinel Surveillance in Germany: Comparison of Data from local health offices and private practitioners European Scientific Conference on Applied Infectious Disease Epidemiology (ESCAIDE) 19.-21. November 2008, Berlin - Tagungsband S. 53 - **Vortrag**

**Hofmann A**, Bremer V, Marcus U, Hamouda O (2008): Fünf Jahre STD-Sentinel Surveillance in Deutschland 3. Jahrestagung DGEpi (Deutsche Gesellschaft für Epidemiologie) 24.-27. September 2008, Bielefeld - Tagungsband S.76 - **Vortrag**

**Hofmann A**, Bremer V, Marcus U, Hamouda O (2008): Anogenitale Warzen und Genitalherpes in Deutschland - Erkenntnisse aus dem STD-Sentinel Netzwerk des RKI 3. Jahrestagung DGEpi (Deutsche Gesellschaft für Epidemiologie) 24.-27. September 2008, Bielefeld- Tagungsband S.176 - **Poster**

## **2006**

**Hofmann A**, Bremer V, Marcus U, Hamouda O (2006): Kann die Veränderung von Fragebögen im Verlauf einer epidemiologischen Studie die Datenqualität verbessern? 9. DVMD-Fachtagung 30. - 31.3.2006, Erlangen. Reichenbach: Alius Verlag, 2006, ISBN: 3-938792-99-X S.189-191 - **Poster**



Bremer V, Marcus U, **Hofmann A**, Hamouda O (2006): Sexually Transmitted Infections in Female Sex Workers in Germany - Results of the STI Sentinel Surveillance. 22nd IUSTI Europe, Conference on sexually transmitted infections, Versailles 19.-21.10.2006. Erschienen in: Int J STD AIDS 2006;17 Suppl 1:1-81. Impact factor: 1,274 für 2006 (Quelle: Journal Citation Reports) - **Poster**

Bremer V, Marcus U, **Hofmann A**, Hamouda O (2006): Three years of STI sentinel surveillance in Germany: What is the outcome? 22nd IUSTI Europe, Conference on sexually transmitted infections, Versailles 19.-21.10.2006. Erschienen in: Int J STD AIDS 2006;17 Suppl 1:1-81. Impact factor: 1,274 für 2006 (Quelle: Journal Citation Reports) - **Poster**

## **2005**

**Hofmann A**, Bremer V, Marcus U, Hamouda O (2005): Datenqualität im Sentinel-Netzwerk für Sexuell übertragbare Erkrankungen: Gemeinsame Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Medizinische Informatik, Biometrie und Epidemiologie (gmds) und der Deutschen Arbeitsgemeinschaft für Epidemiologie (dae) 11. - 15.September 2005, Freiburg. <http://www.egms.de/static/en/meetings/gmds2005/05gmds308.shtml> - **Poster**

Bremer V, Marcus U, **Hofmann A**, Hamouda O (2005): HIV and STI co-infections in Germany: results of the sentinel surveillance system, 2004. 10. Deutscher und 16. Österreichischer AIDS-Kongress, Wien, 01.- 04.06.2005. Erschienen im European Journal of Medical Research (Eur J Med Res) 10 (Suppl II) June 2005 S.39-40. Impact factor: 0,944 für 2005 (Quelle: Journal Citation Reports: <https://jcr.clarivate.com>) - **Vortrag**

Bremer V, Marcus U, **Hofmann A**, Hamouda O (2005): HIV and STI Co-Infections in Germany: Results of the Sentinel Surveillance System, 2004. 16th Biannual Meeting of the International Society of STD Research (ISSTD), Amsterdam, 10.-13.7.2005, Poster TP-134; Tagungsband S.242 - **Poster**

Bremer V, Marcus U, **Hofmann A**, Hamouda O (2005): Two years of STI sentinel surveillance in Germany: What is the outcome? 16th Biannual Meeting of the International Society of STD Research (ISSTD), Amsterdam, 10.-13.07.2005, Poster TP-135; Tagungsband S. 243 - **Poster**

Bremer V, Marcus U, **Hofmann A**, Hamouda O (2005): Genital warts and genital herpes in Germany - what do we know? 16th Biannual Meeting of the International Society of STD Research (ISSTD), Amsterdam, 10.-13.07.2005, Poster TP-137, Tagungsband S. 243 - **Poster**

## 2004

Bremer V, Marcus U, **Hofmann A**, Hamouda O (2004): Sentinel Surveillance System for sexually transmitted infections in Germany: first results Abstract erschienen im Biometrical Journal 46(Suppl S1) March 2004 p. 137 Abstracts of the Joint Meeting of the IBS-DR and the DAE, Heidelberg, 16–19 March 2004. DOI: 10.1002/bimj.200490197. Impact factor: 0,599 für 2004 (Quelle: Journal Citation Reports)- P2.32- **Poster**

### 6.4. Weitere wissenschaftliche Beiträge

**Hofmann, A** (2019): Statuary (Infectious Disease) Surveillance: Workshop Surveillance and Outbreak des Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung (HZI) in Kooperation mit dem Deutschen Zentrum für Infektionsforschung (DZIF), 24. - 28.06.2019, Braunschweig

**Hofmann, A** (2019): Software tools for outbreak investigations: RKI Linelist-Tool: Workshop Surveillance and Outbreak des Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung (HZI) in Kooperation mit dem Deutschen Zentrum für Infektionsforschung (DZIF), 24. - 28.06.2019, Braunschweig

**Hofmann, A** (2018): HIV- & STI-Tests in Arztpraxen 2010-2015: Deutsche STI-Gesellschaft: Sitzung der Arbeitsgruppe Sexuelle Gesundheit 26.1.2018, Berlin - **Vortrag**

**Hofmann, A** (2017): HIV- & STI-Tests in Arztpraxen 2010-2015: 21. Dresdner AIDS-Symposium, 18.11.2017, Dresden - **eingeladener Vortrag**

**Hofmann, A** (2017): Wie viele Personen lassen sich bei niedergelassenen Ärzten auf HIV testen? - Ergebnisse einer Sekundärdatenanalyse. Abteilung 3 Kolloquium 6.11.2017, Berlin - **Vortrag**

**Hofmann, A** (2017): Surveillance von rezenter HIV Infektionen in Deutschland (2011-2016): HIV & Hepatitis: Neues aus der molekularen und epidemiologischen Forschung: 12-13.10.2017 Berlin - **Vortrag**

**Hofmann A** (2017): HIV und andere sexuell übertragbare Infektionen (STI) - Auszubildenden Tag der Berliner Tierpfleger im RKI am 07.04.2017 - **Vortrag**

**Hofmann, A** (2015): Surveillance der rezenter HIV-Infektionen - Projekttreffen der Studien Serokonverter und InzSurv-HIV: HIV Surveillance in Deutschland - Wo stehen wir und wo gehen wir hin? 27.11.2015, Berlin:

[https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/H/HIVAIDS/Studien/InzSurv\\_HIV/Berichte/Projekttreffen\\_HIV-Surveillance\\_in\\_Deutschland.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/H/HIVAIDS/Studien/InzSurv_HIV/Berichte/Projekttreffen_HIV-Surveillance_in_Deutschland.pdf?__blob=publicationFile) - **Vortrag**

**Hofmann A**, Hauser A, Santos-Hövenner C, Zimmermann R, Bannert N, Bremer V, Kücherer C (2014): Inzidente HIV Infektionen (InzSurv-HIV) in Deutschland (2011-2014): Sex, Blut und Infektionen - aktuelle Forschung zu HIV, STI und Hepatitis am RKI, 11. -12. Dezember 2014 Berlin, Germany - **Poster**

**Hofmann A**, Dudareva-Vizule S, Sailer A, Hamouda O, Bremer V (2014) : Results of Chlamydia trachomatis Laboratory sentinel in Germany. 12. Chlamydien Workshop 2.-4. April 2014, Berlin- **Vortrag**

**Hofmann A** (2013): Serologische Inzidenztestung bei HIV-Neudiagnosen - Ergebnisse der InzSurvHIV-Studie von 2011-2013, Epidemiologische und molekularbiologische Surveillance von HIV in Deutschland - Aktuelle Studienergebnisse des RKI - 5.12.2013, Berlin - **Vortrag**

**Hofmann A (2013)**: Die HIV-Nennerstudien - Studienstruktur und Ergebnisse von vorherigen Befragungen, Epidemiologische und molekularbiologische Surveillance von HIV in Deutschland - Aktuelle Studienergebnisse des RKI - 5.12.2013, Berlin - **Vortrag**

**Hofmann A**, Dreesman J, Wagner D (2010): Durchführung von Tuberkulose-Umgebungsuntersuchungen in Niedersachsen - Ergebnisse einer Erhebung im niedersächsischen ÖGD, Fortbildungsveranstaltung für Gesundheitsaufseher, Gesundheitsassistenten und Gesundheitsingenieure 26.10.2010, Hannover - **Vortrag**

Bremer V, Marcus U, **Hofmann A**, Hamouda O (2004): Sentinel surveillance system in Germany: The first year. IUSTI Conference on sexually transmitted infections, Mykonos, 07.-09.10.2004. - **Vortrag**

## **7. Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich mich bei all den Menschen bedanken, die mich bei der Durchführung dieser Arbeit unterstützt haben.

Zunächst gilt mein Dank PD Dr. Dirk Werber, Dr. Barbara Gunsenheimer-Bartmeyer sowie Dr. Viviane Bremer für die Betreuung meiner Dissertation, die kritische Diskussion und die Unterstützung bei der Erstellung der Arbeit.

Weiterhin gilt mein Dank all meinen Koautoren für die gute, konstruktive Zusammenarbeit in den Projekten und beim Erstellen der Publikationen. Ferner gilt mein Dank den teilnehmenden Laboren der Studie InzSurv-HIV, ohne deren Unterstützung die Studie und der Aufbau der molekularen Surveillance nicht erfolgreich gewesen wäre.

Des Weiteren möchte ich mich bei der Leitung des Zentralinstitut für die Kassenärztliche Versorgung in Deutschland (Zi) für die Genehmigung der Studie zur Ermittlung der auf HIV getesteten Personen im niedergelassenen Bereich bedanken. Mein besonderer Dank gilt dabei auch Dr. Jörg Bätzing der die Abfrage der Daten im Zi durchgeführt hat.