

Dr.med. W. Hitzler - Transfusionszentrale
Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Paul-Ehrlich-Institut
Herrn Dr.med. M. Funk
Referat Pharmakovigilanz II
Abt. Sicherheit von Arzneimitteln und Medizinprodukte
Paul-Ehrlich-Straße 51-59
63225 Langen



Ihre Zeichen

Ihr Schreiben vom

Unsere Zeichen
Dr.Hi./Wi

Datum
14.02.2011

Abwehr von Arzneimittelrisiken

Hier: Wissenschaftlicher Informationsaustausch zu möglichen Arzneimittelrisiken beim Einsatz von HIV-1 NAT-Testsystemen mit nur einer Zielregion für das Spenden-Screening

Sehr geehrte Damen und Herren,

zum oben genannten Schreiben nimmt die Arbeitsgemeinschaft der Ärzte staatlicher und kommunaler Bluttransfusionsdienste e.V. (StKB) wie folgt Stellung:

1. In ihrem Schreiben weisen Sie darauf hin, dass seit Einführung der NAT-Testung zwei HIV-1-Übertragungen (2007 und aktuell 2010) gemeldet wurden, seit Einführung der HIV-1 NAT-Testung wurden weiterhin insgesamt fünf Fälle aus dem Bereich des Blutspende-Screenings gemeldet, bei denen aufgrund einer eingeschränkten Bindungsfähigkeit („mismatch“) der Primer der verwendeten Testsysteme für die HIV-1-Zielregion die HIV-1-RNA nicht nachgewiesen werden konnte. Alle NAT-Verfahren waren vom Testdesign so ausgelegt, dass die Zielregion nur einen Bereich des HIV-1 Genoms beinhaltete. In Ihrem Schreiben informieren Sie, dass bei den bisher dokumentierten Fällen Testsysteme betroffen waren, die ihre Zielregionen im LTR-(long terminal repeat) und gag-(gruppenspezifisches Antigen) Bereich des HIV-1 Genoms hatten und gehen weiterhin davon aus, dass auch andere Regionen des viralen Genoms davon betroffen sein könnten.
2. Der Vorstand der StKB hält es in Bezug auf den vom PEI gewünschten wissenschaftlichen Informationsaustausch für sinnvoll und erforderlich, eine über den Fragebogen hinaus weitergehende wissenschaftliche Diskussion zu der von Ihnen angesprochenen Problematik zu führen, wie im Folgenden kurz begründet wird.
3. Im Hinblick auf eine wissenschaftlich fundierte Entscheidung, wie viele Zielregionen in HIV-1 NAT-Testsystemen (1, 2, 3 oder ein vielfaches) erforderlich sind, um das Risiko falsch negativer Ergebnisse bei HIV-positiven Spendern im Blutspende-Screening noch weiter zu minimieren, hält es der StKB Vorstand für notwendig, die bekannten HIV-1 NAT Testversager grundsätzlich zu diskutieren:

- a. welche Zielregion war bei den HIV-1 NAT Testversager betroffen (gag, LTR, pol, integrase),
- b. wie waren die vergleichenden Nachuntersuchungen mit den derzeit zur Verfügung stehenden kommerziellen HIV-1 NAT Testsystemen (z.B. Abbott RealTime HIV-1, Roche Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan HIV-1 Test, Novartis Procleix Ultrio Assay, Quiagen artus HI Virus-1 RT-PCR Kit, Bayer Versant HIV-1 RNA 3.0, bioMérieux NucliSens HIV-1 QT),
- c. wie waren die Details und Unterschiede zum Primer- und Sonden-Design (z.B. Quencher-Sonde) und
- d. wie waren die Details und Unterschiede zum PCR-Profil (z.B. Messsignal bei welcher Temperatur, Denaturation, Primer Annealing, Probe Hybridization).

Dieser über Ihren Fragebogen hinausgehenden wissenschaftliche Informationsaustausch ist notwendig, um eine Entscheidung treffen zu können, wie viele Zielregionen und in welcher Region (LTR, gag, pol, integrase) für das jeweilige HIV-1 NAT Testdesign erforderlich sind, um HIV-1 NAT-Testversager aufgrund von eingeschränkter Bindungsfähigkeit („mismatch“) weiter minimieren zu können.

4. Die HIV-1 Übertragung durch Blutprodukte aus 2007, die Sie in Ihren Schreiben vom 28. Dezember 2010 erwähnen, entspricht wahrscheinlich der Publikationen von Schmidt et al., Transfusion, Volume 49, September 2009.

Das hier eingesetzte HIV-1 NAT Testsystem Roche Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan HIV-1 test/Roche CAP/CTM HIV-1 Test benutzte einen Primer für die Zielregion gag. Vergleichende Untersuchungen aus den Rückstell- und folgenden Proben mit anderen HIV-1 NAT Testsystemen warfen in der Publikation die Frage auf, ob mit anderen NAT-Screeningtests (LTR, pol, integrase) diese Übertragung hätte vermieden werden können.

Die Problematik mit eingeschränkter Bindungsfähigkeit („mismatch“) mit der im Roche Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan HIV-1 Test eingesetzten und patentierten (SKCC1B und SK 145) Zielregion gag ist seit 1997 bekannt. Eine Publikation in Nucleic Acids Research, 1997, Vol. 25, No.3 von Christopherson et al. weist auf diese Problematik hin, kommt aber zu der Schlussfolgerung, dass diese nicht weiter von Bedeutung sei, wenn man die PCR Parameter entsprechend einrichtet.

Aus dem Jahr 2000 und 2004 sind weitere Fälle publiziert worden, die auf Probleme des Roche Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan HIV-1 Test mit der Zielregionen gag hinweisen (Bogh et al., Int Conf AIDS. 2000 Jul 9-14; 13; abstract no. TuPeA2997 und Bobkova et al., Int Conf AIDS. 2004 Jul 11-16; 15; abstract no. MoPeB3111).

5. Angesichts der bekannten wissenschaftlichen Datenlage zu den Problemen mit der Zielregion gag des Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan HIV-1 test drängt sich die Frage auf, warum dieser HIV-1 NAT Screening mit den bekannten „Schwächen“ überhaupt im Blutspender-Screening eingesetzt wurde und ob die o.g. publizierte HIV-Übertragung nicht durch andere HIV-1 NAT Testsysteme mit einer anderen Zielregion hätte vermieden werden können, wie Schmidt et al. in der o.g. Publikation in der Zusammenfassung formulieren.

Der StKB Vorstand hat bewusst auf eine eingehende wissenschaftliche Stellungnahme zu der oben angesprochenen Problematik verzichtet, da die wissenschaftliche Datenlage entsprechend vorliegender Publikationen ausreichend ist (siehe Literatur Anhang).

Angesichts der hier angesprochenen Problematik und der beim Paul-Ehrlich-Institut gemeldeten HIV-1 NAT-Testversager mit HIV-1-Übertragungen hält es der Vorstand der StKB für wünschenswert und notwendig, dass zu dieser Problematik eine wissenschaftliche Anhörung mit Einladung auch von Experten (Virologen, Molekularbiologen) und Herstellern von kommerziellen HIV-1 NAT Testsystemen, ggf. auch inhouse-Verfahren stattfindet.

In einem solchem wissenschaftlichen Hearing sollten nicht nur Grundlagen, sondern auch die Spezifika und Grenzen der zur Verfügung stehenden HIV-1 NAT Verfahren thematisiert sowie ggf. Lösungsvorschläge zur Minimierung des Risikos falsch negativer Ergebnisse bei HIV-positiven Spendern im Blutspende-Screening verbunden mit einem Timetable zur Entwicklung und Implementierung in den Blutspendeeinrichtungen erörtert werden.

Nach Einschätzung des Vorstands der StKB ist ein wissenschaftlicher Informationsaustausch auf Grundlage Ihres mitgeschickten Fragebogens mit Tabelle zwar wichtig, aber nicht ausreichend, um die hier skizzierte, wissenschaftlich bekannte Problematik der HIV-1 NAT Testsystemen mit den verschiedenen Zielregionen nach dem aktuellen Stand von Wissenschaft und Technik zu diskutieren und hieraus Entscheidungen über eine zweite (oder mehr) Zielregion(en) ableiten zu können.

Es könnte sich nach einem wissenschaftlichen Hearing beim Paul-Ehrlich-Institut herausstellen, dass je nach dem Testdesign und je nach der jeweiligen Zielregion von HIV-1 NAT Screeningtests eine Zielregion ausreichend ist oder zwei Zielregionen erforderlich sind oder 3 (und mehr) Zielregionen notwendig werden, um letztlich das höchstmögliche Maß an Sicherheit von HIV-1 NAT Testsystemen zu erreichen.

Nur mit einem solchen wissenschaftlichen Hearing kann Ihr Fragebogen mit der Frage 2 über die Angemessenheit und Verhältnismäßigkeit der vorgeschlagenen Maßnahme und die Frage 3 nach dem notwendigen Zeitraum zur Umsetzung nachhaltig beantwortet werden.

Der Vorstand der StKB hält es für notwendig und bittet das Paul-Ehrlich-Institut im Rahmen des begonnenen Stufenplanverfahrens, falls Maßnahmen geplant sind, zuvor ein wissenschaftliches Symposium oder Hearing zu dieser Thematik einzuplanen.

Mit freundlichen Grüßen



Dr.med. W. Hitzler
Vorsitzender

Anlage

Literatur (Auswahl)

Schmidt M., Korn K., Nübling C.M., et al. First transmission of human immunodeficiency virus Type 1 by a cellular blood product after mandatory nucleic acid screening in Germany. *Transfusion* 2009;49:1836-1844

Christopherson C., Sninsky J., Kwok S. The effects of internal primer-template mismatches on RT-PCR: HIV-1 model studies. *Nucleic Acids Research* 1997, Vol. 25, No. 3, 654-658

Einige NAT-Tests und im speziellen der Roche Test erkennen nicht alle Subtypen oder „Circulating Recombinant Forms“ des HIV-1 Virus

Barlow, K.L., Tosswill, J. H., Parry, J. V., Clewley, J. P., 1997. Performance of the Amplicor human immunodeficiency virus type 1 PCR and analysis of specimens with false-negative results. *J Clin Microbiol* 35, 2846-53.

Bobkova, M., Buravtsova, E., Sukhanova, A., Olkhovsky, I., Bobkov, A., Pokrovsky, V., 2004. Roche Amplicor HIV-1 failed to detect subtype A HIV-1 in Russia. 15th Int. Conf. AIDS, Bangkok, Thailand MoPeB3111.

Bogh, M., Machuca, R., Jorgensen, L.B., Gerstoft, J., Pedersen, C., Obel, N., Kvinesdahl, B., Nielsen, H., Nielsen, C., 2000. Subtype-specific problems with qualitative HIV-1 DNA test. *Int. Conf. AIDS Tu-PeA2997*.

Cunningham, P., Marriott, D., Harris, C., Hancock, S., Carr, A., Cooper, D., 2003. False negative HIV-1 proviral DNA polymerase chain reaction in a patient with primary infection acquired in Thailand. *J Clin Virol* 26, 163-9.

Gueudin, M., Damond, F., Braun, J., Taieb, A., Lemee, V., Plantier, J.C., Chene, G., Matheron, S., Brun-Vezinet, F., Simon, F., 2008. Differences in proviral DNA load between HIV-1- and HIV-2-infected patients. *Aids* 22, 211-5.

Moroney, S.M., Heller, L.C., Widen, R.H., 2006. Evaluation of two TaqMan PCR assays for the detection of HIV-1 proviral DNA in blood samples. *J Microbiol Methods* 65, 350-3.

Yun, Z., Fredriksson, E., Sonnerborg, A., 2002. Quantification of human immunodeficiency virus type 1 proviral DNA by the TaqMan real-time PCR assay. *J Clin Microbiol* 40, 3883-4.

Schon seit dem Jahr 2001 wurde darauf hingewiesen, dass die Region der Wahl zur Amplifikation des HIV-1 der 5' „Long Terminal Repeat“ (LTR) Bereich ist. Selbst hier ist es aber nicht einfach, auch die Subtypen O und N mit den gleichen Primersystemen zu erkennen. Gerade bei Real Time Amplifikationen steht man vor der schwierigen Aufgabe, nicht nur zwei sehr konservative Primer zu finden, sondern auch noch eine passende Sonde innerhalb des Amplifikations- Produktes.

Cleland, A., Davis, C., Adams, N., Lycett, C., Jarvis, L.M., Holmes, H., Simmonds, P., 2001. Development of multiplexed nucleic acid testing for human immunodeficiency virus type 1 and hepatitis C virus. *Vox Sang* 81, 93-101.

Holmes, H., Davis, C., Heath, A., Hewlett, I., Lelie, N., 2001. An international collaborative study to establish the 1st international standard for HIV-1 RNA for use in nucleic acid-based techniques. *J Virol Methods* 92, 141-50.

Somogyi, S., 2002. Divergente Transkriptionskontrolle von HIV-1: Strukturelle und funktionale Analyse des LTR-Promotors der Gruppen M, N und O. Dissertation FU Berlin.

Drosten, C., Panning, M., Drexler, J.F., Hansel, F., Pedroso, C., Yeats, J., de Souza Luna, L.K., Samuel, M., Liedigk, B., Lippert, U., Sturmer, M., Doerr, H.W., Brites, C., Preiser, W., 2006. Ultrasensitive monitoring of HIV-1 viral load by a low-cost real-time reverse transcription-PCR assay with internal control for the 5' long terminal repeat domain. *Clin Chem* 52, 1258-66.

Rouet, F., Chaix, M.L., Nerrienet, E., Ngo-Giang-Huong, N., Plantier, J.C., Burgard, M., Peeters, M., Damond, F., Ekouevi, D.K., Msellati, P., Ferradini, L., Rukobo, S., Marechal, V., Schwachsa, N., Wakrim, L., Rafalimanana, C., Rakotoambinina, B., Viard, J.P., Seigneurin, J.M., Rouzioux, C., 2007. Impact of HIV-1 genetic diversity on plasma HIV-1 RNA Quantification: usefulness of the Agence Nationale de Recherches sur le SIDA second-generation long terminal repeat-based realtime reverse transcriptase polymerase chain reaction test. *J Acquir Immune Defic Syndr* 45, 380-8.

Nicht detektierte Proben mit dem Dual Target Assay:

Tropan et al., Evaluation of the new VERSANT HIV-1 RNA 1.0 Assay (kPCR) for quantitative detection of human immunodeficiency virus type 1 RNA. *Journal of Clinical Virology* 46 (2009) 69–74. Die relevante Textstelle finden Sie am Ende von Seite 71 / Anfang von Seite 72:

Leistungsdaten und Quantifizierung auch von seltenen Subtypen durch den Abbott RealTime HIV-1 Assay sowie seinem Vorläufer, dem LCx-Assay:

Schutten et al, Evaluation of the analytical performance of the new Abbott RealTime RT-PCRs for the quantitative detection of HCV and HIV-1 RNA, *J Clin Virol.* 2007 Oct;40(2):99-104. Epub 2007 Sep 4.

Tang et al., A RealTime HIV-1 viral load assay for automated quantitation of HIV-1 RNA in genetically diverse group M subtypes A-H, group O and group N samples, *J Virol Methods.* 2007 Dec;146(1-2):236-45. Epub 2007 Aug 17.

Garcia-Diaz et al, Comparative evaluation of the performance of the Abbott real-time human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) assay for measurement of HIV-1 plasma viral load following automated specimen preparation, *J Clin Microbiol.* 2006 May;44(5):1788-91.

Swanson et al., Evaluation of performance across the dynamic range of the Abbott RealTime HIV-1 assay as compared to VERSANT HIV-1 RNA 3.0 and AMPLICOR HIV-1 MONITOR v1.5 using serial dilutions of 39 group M and O viruses, *J Virol Methods.* 2007 Apr;141(1):49-57. Epub 2006 Dec 20.

Spezielles Sondendesign für den Abbott HIV-Assay:

Luk et al, Partially double-stranded linear DNA probes: novel design for sensitive detection of genetically polymorphic targets, *J Virol Methods.* 2007 Sep;144(1-2):1-11. Epub 2007 Apr 16.

Huang et al, Thermodynamically modulated partially double-stranded linear DNA probe design for homogeneous real-time PCR, *Nucleic Acids Res.* 2007;35(16):e101. Epub 2007 Aug 9.

Identifizierung und Charakterisierung seltener und neu auftretender HIV-Subtypen im Rahmen des Abbott Global Surveillance Programms:

Brennan et al, HIV global surveillance: foundation for retroviral discovery and assay development, *J Med Virol.* 2006;78 Suppl 1:S24-9

Detektion der Gruppe P mit dem Abbott Assay, Vergleich mit anderen Assays:

Plantier et al., A new human immunodeficiency virus derived from gorillas *Nature Medicine* 15, 871 - 872 (2009)

Bestätigung der Existenz der Gruppe P im Rahmen des Abbott Global Surveillance Programms:

Vallari et al, Confirmation of Putative HIV-1 Group P in Cameroon, *J. Virol.* 2011 Feb;85(3):1403-7

Identifizierung und Charakterisierung seltener und neu auftretender HIV-Subtypen im Rahmen des Abbott Global Surveillance Programms:

Brennan et al, HIV global surveillance: foundation for retroviral discovery and assay development, *J Med Virol.* 2006;78 Suppl 1:S24-9