

## Stellenwert der HIV-Resistenz

Fragen zum Thema Resistenz und Resistenztestung, die Sie schon immer mal stellen wollten

Patrick Braun und Eva Wolf

### Welchen Stellenwert ...

#### ... hat die Resistenztestung des Integrasegens vor Therapiebeginn?

Der Anteil sogenannter primärresistenter HI-Viren liegt in Deutschland bei ca. 10 %. Die ermittelte Prävalenz basiert meist auf der kombinierten Auswertung von resistenzrelevanten Mutationen im Reverse Transkriptase (RT)- und im Protease (PRO)-Gen. Basierend auf historischen Berechnungen gilt die Resistenztestung ab einer Prävalenz von Resistenz-assoziierten (RT und/oder PRO) Mutationen von ca. 10 % als kosteneffektiv.

Obwohl die Prävalenz von übertragenen HI-Viren mit resistenz-assoziierten Integrasemutationen mit <1 % niedrig ist, ist die genotypische Analyse des Integrasegens vor Therapiebeginn aus virologischer Sicht sinnvoll. Da Integrase-Strang-Transfer-Inhibitoren (INSTIs) häufig Bestandteil der Ersttherapien sind und Personen mit HIV nach aktuellem Stand weiterhin lebenslang antiviral behandelt werden müssen, ist es hilfreich, die relevanten Genbereiche der initialen Viruspopulation einschließlich Sequenz des Integrase-Gens zu charakterisieren. Liegen keine Baseline-Daten zur Resistenz vor, kann bei einem Therapieversagen nicht klar zwischen übertragenen und selektierten Resistenzmutationen unterschieden werden. Würden beispielsweise nach Umstellung auf ein INSTI-haltiges Regime, wie langwirksames (long-acting, LA) Cabotegravir (CAB) und Rilpivirin (RPV) LA, resistenz-assoziierte Sekundärmutationen nachgewiesen werden,

die vor Therapiestart nicht vorlagen, würde diese Selektion eher auf ein beginnendes Therapieversagen rückschließen. Zur Vermeidung der Akkumulation von weiteren Resistenzmutationen könnte die Therapie zeitnah adaptiert werden. Insbesondere bei HIV-1 non-B Subtypen sind häufig natürlich vorkommende Polymorphismen an resistenz-assoziierten Positionen nachweisbar, die es bei Interpretation der Resistenzdaten zu berücksichtigen gilt.

#### ... haben „archivierte“ Resistenzmutationen?

#### • Wie wird die Resistenzanalyse bei nicht nachweisbarer Viruslast durchgeführt?

Bei niedrigen Plasma-Viruslastwerten von <100 HIV-1 RNA Kopien/ml ist eine Resistenzanalyse aus EDTA-Plasma oftmals nicht erfolgreich. Deswegen wird vorrangig bei niedrigen und nicht nachweisbaren Viruslastwerten die provirale Resistenzanalyse durchgeführt. Dabei wird die im zellulären Genom integrierte provirale HIV-DNA auf Resistenzmutationen untersucht. Als Untersuchungsmaterial wird hierzu EDTA-Vollblut benötigt. Ziel ist es, etwaige resistente Virusvarianten, die in der Vergangenheit unter ART selektiert wurden, nachzuweisen.

#### • Wie aussagekräftig sind alte Resistenzbefunde und pro virale Resistenztestungen?

Die Übereinstimmung zwischen den kumulativ ermittelten

historischen Resistenzdaten aus viraler RNA und den Resistenzdaten einer proviralen DNA-Sequenzierung liegt bei ca. 50-60 %. Das bedeutet, dass mittels proviraler Resistenztestung im Mittel 40-50 % der archivierten Virusvarianten nicht detektiert werden und dies auch unabhängig von Dauer des historischen Therapieversagen oder Höhe der Viruslast. Die zugrundeliegenden Mechanismen der Veränderung des viralen Reservoirs wie z.B. die klonale Expansion sind derzeit noch nicht vollends verstanden. Die klinische Relevanz der Nicht-Detektion ist ebenfalls noch unklar.

Hinzu kommt, dass, anders als in RNA, nicht alle im Provirus nachgewiesenen Resistenzmutationen klinisch relevant sind. Ursache hierfür sind sogenannte APOBEC-induzierte Mutationen, welche u.a. zur Abwehr von Retrovirus-Infektionen dienen. Dazu wird das APOBEC3-Protein von der Wirtszelle in retrovirale Virionen verpackt; durch Desaminierung erfolgt auf RNA-Ebene eine Umwandlung der Nukleinbasen Cytosin zu Uracil, welche wiederum in einer G → A (Guanin zu Adenin) Hypermutationen auf DNA-Ebene im Provirus resultiert. Diese Schädigung des genetischen Materials macht das Virus vermehrungsunfähig, da häufig auch Stopp-Codons generiert werden. APOBEC Mutationen können auch an resistenzrelevanten Positionen, wie beispielsweise an der für 3TC und FTC Resistenz-relevanten Position 184 im Reverse Transkriptase-Gen entstehen. Damit es nicht zu einer falschen Resistenzinterpretation kommt, müssen APOBEC-Mutationen vorab herausgefiltert werden, zumindest aber als solche gekennzeichnet sein.

Die Auswertung von proviralen Testergebnissen sollte immer im Kontext der Therapiehistorie und, wenn vorhanden, historischer Resistenzbefunde erfolgen.

Mit der Verfügbarkeit von neuen antiviralen Substanzen und Substanzklassen wurden neue Resistenzmutationen an bekannten und neuen Positionen als klinisch relevant eingestuft. Deshalb empfiehlt es sich „alte“ Resistenzbefunde bzw. HIV-Sequenzen auf Überprüfung der Präsenz dieser neuen Mutationen zu reanalysieren.

Aktuell sind einige Kombinationstherapien, wie z.B. Juluca (Dolutegravir (DTG)/RPV) oder langwirksames CAB plus RPV ausschließlich im Switch-Setting bei Virussuppression zugelassen. Hier empfiehlt es sich, die ART-Historie auf virologisches Versagen zu prüfen und alle historischen Resistenzbefunde kumulativ auszuwerten. Falls es in der Historie Lücken gibt, ist eine provirale Resistenztestung hilfreich. Dies gilt auch für andere geplante Therapieumstellungen bei Personen unter suppressiver ART.

### ... hat die Mutation M184V auf die Wirksamkeit der einzelnen STRs (Single Tablet Regime)?

An dieser Stelle sei neben der klinischen Relevanz von M184V auch auf die Zulassungsbeschränkungen der einzelnen STRs hingewiesen.

- Laut Zulassung kann **Dovato (DTG/3TC)** bei HIV-infizierten Personen ab 12 Jahren ohne bekannte oder vermutete Resistenzen gegenüber INSTIs und/oder Lamivudin eingesetzt werden. Der virale oder provirale Nachweis von M184V ist somit ein Ausschlusskriterium für Dovato, formal jedoch nicht für die Gabe der Einzelsubstanzen Dolutegravir und Lamivudin oder Emtricitabin.

- Welchen Einfluss hat nun die Mutation M184V, die eine vollständige 3TC- und FTC-Resistenz bewirkt und somit de facto Dovato zu einer DTG-Monotherapie reduziert? Aus der Vergangenheit wissen wir, dass die alleinige Gabe von Dolutegravir – auch bei Umstellung im suppressiven Setting – gehäuft zu einem Therapieversagen mit einer INSTI-Resistenz führt und folglich nicht empfohlen wird. Es besteht jedoch ein grundlegender Unterschied zwischen einer DTG-Monotherapie und der Kombination bestehend aus DTG und 3TC in Gegenwart von M184V-resistenten Viren (die wiederum in ihrer Fitness eingeschränkt sein können). Das Risiko einer INSTI-Resistenz-Entwicklung ist trotz funktioneller Monotherapie reduziert. Dies konnte anhand klinischer Studiendaten und in Kohortenstudien gezeigt werden: hier wurden „Switch-Patienten\*Innen“, bei denen (proviral) die M184V nachgewiesen wurde, auf DTG plus 3TC eingestellt. Nach einem Beobachtungszeitraum von mindestens 2 Jahren wurde keine neue Resistenzentwicklung beobachtet. Das heißt jedoch nicht, dass Dovato bei langzeiterfolgreich therapierten Patienten\*Innen in Gegenwart einer proviral oder historisch nachgewiesenen M184V empfohlen wird. Jedoch kann dies in bestimmten Situationen, mit der Kenntnis, dass dies außerhalb der Zulassung liegt, eine zu diskutierende Option sein. Klar abzugrenzen ist hier die Situation, wenn replikative M184V-Viren vorliegen, dann sollten DTG und 3TC aus virologischer Sicht nicht alleine gegeben werden.

- Basierend auf den Ein-/Ausschlusskriterien in den Zulassungsstudien und der Datenlage zur Inzidenz von Resistenz-assoziierten Mutationen (RAMs) bei virologischem Versagen, sollten laut Fachinformationen beim Einsatz von **STRs**, wie **RPV/FTC/TAF (Odefsey)**, **RPV/FTC/TDF (Eviplera)**, **EVG/COBI/FTC/TAF (Genvoya)**, **EVG/COBI/FTC/TDF (Stribild)**, **DOR/TDF/3TC (Delstrigo)** und **BIC/FTC/TAF (Biktarvy)** keine Resistenzen gegen die eingesetzten NRTI und gegen die Substanzklasse der INSTIs bzw. NNRTIs vorliegen – d.h. bei einer M184V/I sollten diese Regime nicht eingesetzt werden.

- Weniger restriktiv lauten die Zulassungen für **DRV/COBI/FTC/TAF (Symtuza)** (ohne DRV-RAMs bei Vorbehandelten) und für **DTC/ABC/3TC (Triumeq)** (möglichst ohne Resistenzen gegen INSTI). NRTI-Mutationen wie M184V/I sind gemäß Zulassung kein Ausschlusskriterien.

- Bei Regimen mit geboosteten Protease-Inhibitoren (PIs) oder Zweit-Generations-INSTIs, wie **Dolutegravir** oder **Bictegravir**, wird das Risiko eines virologischen Versagens, bei historischer oder proviral nachgewiesener M184V, als gering eingestuft, wie aus Post-hoc Analysen von klinischen Studien hervorgeht. Der Einsatz sollte prinzipiell jedoch nur nach klinischer Notwendigkeit und gründlicher Prüfung erfolgen. RPV-, DOR- und

EVG/c- haltige STRs haben eine niedrigere Resistenzbarriere als die zuvor erwähnten Therapien. Folglich sollten diese Regime bei Nachweis der M184V/I nicht verordnet werden.

Bei der Mutation M184I sollten zwei Aspekte in Betracht gezogen werden. Zum einen bewirkt sie wie M184V eine 3TC- bzw. FTC-Resistenz, zum anderen kann sie auch APOBEC-induziert sein (s. Frage zur archivierten Resistenzmutationen) und bei proviralem Nachweis nicht unbedingt resistenz-relevant sein (Tabelle 1).

### ... hat die HIV-Subtypbestimmung im klinischen Alltag?

#### • Wie wird der HIV-1 Subtyp bestimmt?

HIV wird in HIV-1 und HIV-2 unterteilt, welche jeweils in Gruppen (M, N, O und P) und Subtypen differenziert werden. In Deutschland ist HIV-1 Subtyp B am weitesten verbreitet (laut Daten des Robert-Koch-Instituts bei ca. zwei Drittel aller HIV-Neudiagnosen).

Das Genom des HI-Virus besteht aus knapp 10.000 Nukleotiden. Zur Subtypermittlung werden meist nur einzelne „therapeutische“ Bereiche analysiert. Neben den bekannten HIV-1 Subtypen A bis K der Gruppe M, gibt es auch zahlreiche rekombinante Varianten, bestehend aus Genbereichen der einzelnen Subtypen (CRF, circulating recombinant forms). Der HIV-1 Subtyp kann sowohl anhand von Genbereichen der Protease, der Reversen Transkriptase oder Integrase mittels Sequenzierung ermittelt werden.

Je größer die zu analysierende Region ist, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit rekombinante Varianten korrekt zu klassifizieren.

Der HIV-1 Subtyp sollte als Begleitbefund bei der Resistenzanalyse immer mit angegeben werden.

#### • Welchen Einfluss hat der HIV-1 Subtyp auf die Wirksamkeit der antiviralen HIV-Substanzen?

Bislang wurde bei der Verordnung von antiviralen Medikamenten nur bedingt auf den HIV-Subtyp geachtet. Vor geplantem Einsatz von Fostemsavir oder Cabotegravir + Rilpivirin LA hat die Bestimmung des HIV-Subtyps durchaus eine klinische Relevanz.

**Fostemsavir** gehört zur Klasse der Entry- bzw. Attachment-Inhibitoren, wird im Dünndarm zum aktiven Metaboliten Temsavir verstoffwechselt, der an gp120 von HIV-1 bindet und somit die Bindung an den zellulären CD4-Rezeptoren verhindert.

Die Wirksamkeit von Fostemsavir ist auf HIV-1 Gruppe M beschränkt. Es soll somit nicht bei HIV-2, HIV-1 Gruppe N, O und P eingesetzt werden. Beim HIV-1 Subtyp CRF01\_AE der Gruppe

M, welcher in Südostasien dominant ist, sollte Fostemsavir, bedingt durch eine natürlich vorkommende Resistenz, auch nicht eingesetzt werden. Das Virus vom Subtyp AE weist Polymorphismen in der gp120-Domäne auf, die mit einer stark herabgesetzten Aktivität gegenüber Fostemsavir assoziiert sind.

**Cabotegravir:** Im Rahmen der Phase III Studien ATLAS, FLAIR und ATLAS-2M, bei denen langwirksames Cabotegravir und langwirksames Rilpivirin LA 4- oder 8-wöchentlich als i.m. Injektion verabreicht wurden, wurde bei ca. 1% der Studienteilnehmer ein virologisches Therapieversagen beobachtet, häufig assoziiert mit einer HIV-1 Subtyp A1/A6 Infektion. In der multivariablen Analyse wurden als Baseline-Risikofaktoren die HIV-1 Subtypen A6 und A1, archivierte Rilpivirin-Resistenzmutationen (im Provirus) und/oder ein BMI >30 kg/m<sup>2</sup> ermittelt. Bei Nachweis von mindestens 2 dieser Faktoren war das Risiko des Therapieversagens deutlich erhöht. Der HIV-1 Subtyp A6, der in Russland vorherrscht, unterscheidet sich vom Subtyp A1 an 12 polymorphen Positionen, u.a. an den Resistenz-assoziierten Positionen L74I und S119P, die bei Subtyp A6 häufiger auftreten.

Der „alleinige“ Nachweis vom HIV-1 Subtyp A1 oder A6 ist laut Zulassung kein Ausschlusskriterium für den Einsatz von Cabotegravir LA und Rilpivirin LA. Jedoch sollten bis zur Verfügbarkeit von weiteren Daten zur Relevanz von HIV-1 Subtyp A1 und A6 nur Patienten nach ausgiebiger Risikoabklärung auf dieses neue Regime eingestellt werden. Bei aktuellem oder historischem Nachweis von INSTI- oder NNRTI-Resistenz sollte Cabotegravir plus Rilpivirin nicht verordnet werden.

### ... hat die Methode NGS (Next Generation Sequencing) bei der HIV-Resistenztestung?

Die sensitive Sequenziermethode NGS, next generation sequencing oder auch ultra deep sequencing (UDS) genannt, mit denen minore Virusvarianten bis zu einem Anteil von 1% nachgewiesen werden können, löst zunehmend die gängige Sanger-Sequenzierung ab, die eine Detektionsgrenze von 10 bis 20% hat. Der klinische Stellenwert von minoren resistenten Viruspopulationen ist jedoch weiterhin nicht eindeutig geklärt. Die Detektion von Viruspopulationen, die zwischen 1 und 5% der Gesamtpopulation ausmachen und damit quantitativ in der Nähe der Nachweisgrenze des Assays liegen, sollten kritisch und im Kontext der antiretroviralen Therapie (-Historie) bewertet werden. Der prädiktive Wert dieser Minoritäten steigt, wenn die Resistenzmutationen im Einklang mit aktuellem oder historischem Therapieversagen sind. Auch bei Patienten\*Innen ohne Vorbefunde kann der sensitivere Assay wesentliche Erkenntnisse zur Resistenzlage liefern. Bei niedrigen Viruslastwerten von wenigen Hundert HIV-RNA Kopien/ml nimmt jedoch der Sensitivitätsvorteil in der Detektion minorer Viruspopulationen ab. Die Interpretation erfordert immer die Expertise des Virologen unter Berücksichtigung der Datenqualität und klinischer Information.

Tabelle 1. Relevanz von APOBEC-Mutationen im Provirus am Beispiel der Mutation M184V bzw. M184I

	Nachgewiesene Mutation	
	M184V	M184I
<b>Nachweis im Plasma (RNA)</b>		
3TC bzw. FTC Resistenzmutation	JA	JA
<b>Nachweis im Vollblut (provirale DNA)</b>		
Mögliche APOBEC Mutation	NEIN	JA
Archivierte 3TC bzw. FTC Resistenzmutation	JA	Differenzierung zw. Resistenz- und APOBEC-Mutation erforderlich

#### Autoren dieser Ausgabe



**Dr. phil. (HTA) Eva Wolf, MPH**

MUC Research GmbH/MVZ München am Goetheplatz  
Waltherstr. 32  
80337 München



**Patrick Braun, Dipl. Biol.**

Labor-/Projektleitung  
PZB Aachen/Labor Dr. Knechten  
Blondelstr. 9, 52062 Aachen



## Unsere Experten

**Chemsex-Beratung:** Dr. med. Martin Viehweger **Datenmanagement:** Dr. med. Stefan Preis **Dermatologie:** Dr. med. Robert Jablonka  
**Diabetologie/Endokrinologie:** Dr. med. Sebastian Noe **Genetik:** Dr. rer. nat. Dipl. Biol. Eckart Schnakenberg **Gynäkologie:** PD Dr. med. Andrea Gingelmaier **Hepatology:** Prof. Dr. med. Markus Cornberg, Dr. med. Patrick Ingiliz, PD Dr. med. Johannes Vermehren, PD Dr. med. Christian Wasmuth  
**Immunologie:** Dr. med. Hans Heiken **Infektiologie:** Dr. med. Silke Heldwein, Dr. med. Tim Kümmerle, Dr. med. Anja Meurer, Prof. Dr. med. Jürgen Rockstroh, PD Dr. med. Christoph Wyen, PD Dr. med. Christoph D. Spinner **Kardiologie:** Dr. med. Jost Stalke **Klinische Forschung:** Dr. Eva Wolf, MPH  
**Lipidologie:** Prof. Dr. med. Werner Richter **Nephrologie:** Dr. med. Ansgar Rieke **Neurologie:** Prof. Dr. med. Gabriele Arendt  
**Onkologie:** PD Dr. med. Christian Hoffmann, Dr. med. Jan Siehl **Pädiatrie:** Dr. med. Cornelia Feiterna-Sperling **Pharmazie:** Nikola Hanhoff – Pharm., Leonie Meemken – Pharm. **Pneumologie:** Dr. med. Meike Probst **Psychiatrie:** Dr. med. Christian Perro **Suchtmedizin:** Dr. med. Uwe Naumann, Dr. med. Nazifa Qurishi **Virologie:** Patrick Braun - Dipl. biol., PD Dr. med. Jens Verheyen **Arzt- und Medizinrecht:** Christoph Klein – Rechtsanwalt

Mit freundlicher Unterstützung von

abbvie



Die Inhalte dieses Newsletters wurden unabhängig erstellt und unterliegen keiner Beeinflussung von Seiten der Sponsoren. Durch die fortschreitende Forschung auf dem Gebiet HIV/Hepatitis kann keine Verantwortung und Haftung für die Vollständigkeit oder Richtigkeit der Newsletter-Inhalte von Seiten InXFo übernommen werden.

**Herausgeber:** InXFo GmbH, Lutterothstraße 73, 20255 Hamburg  
**Logistik-Team:** Patrick Braun, Leonie Meemken, Eva Wolf  
**Technischer Support:** Stefan Preis, Clinovate  
**Foto:** Ursula Karner

