

Verbesserte HIV-Resistenztestung mittels Next Generation Sequencing (NGS)

Neue Sequenziermethode – Next Generation Sequencing

Mit neuen Sequenziermethoden wie dem Next Generation Sequencing (NGS) können **deutlich sensitiver** resistente HI-Viren als in der Vergangenheit mit der Sanger-Methode erkannt werden. Dies ermöglicht bei einem Therapieversagen eine frühere Anpassung der Therapie.

Meist werden resistente HIV-Subpopulationen parallel zu sensiblen (Wildtyp-)Viren gefunden. Mit der neuen Sequenziermethode werden alle Virusvarianten klonal amplifiziert und parallel sequenziert. Mit NGS können Resistenzen identifiziert werden, auch wenn diese nur in einem Anteil von 10% der Gesamtpopulation existieren. Dagegen lassen sich mit der traditionellen Sanger-Sequenziermethode solche resistenten Viren erst detektieren, wenn mindestens 20% der gesamten Viruspopulation diese Resistenzmutationen tragen. Zudem werden mittels NGS erheblich mehr Sequenzierdaten generiert, womit die Datenqualität insgesamt verbessert wird. Es werden die HIV-Genomabschnitte der reversen Transkriptase, der Protease und der Integrase sequenziert.

Mechanismen der Resistenzentwicklung

Eine Viruspopulation ist durch das natürlich vorkommende Auftreten von Quasispezies genetisch nicht homogen. Werden (Wildtyp-)Viren spontan oder durch den Selektionsdruck einer antiretroviralen Therapie (ART) resistent, können sich diese erfolgreicher als sensible Varianten replizieren. Werden resistente Viren im Rahmen einer Neuinfektion übertragen, spricht man von „Primärresistenz“. In Deutschland sind bei rund 10–12% der Patienten vor der ersten Therapie resistente HIV-Varianten zu erwarten. Bei einer „Sekundärresistenz“ mutieren Viren während der Therapie.

Indikation

Eine Bestimmung der Resistenzsituation wird empfohlen [Deutsch-Österreichische Leitlinien (Stand: Mai 2014)]:

- bei primärer oder kürzlicher Infektion
- bei chronischer Infektion vor ART-Beginn
- bei erstem Therapieversagen und vor ART-Wechsel
- bei umfangreicher ART-Vorbehandlung vor ART-Wechsel

Vorteile der neuen Sequenziermethode

Kommt es trotz korrekter Medikamenteneinnahme zu einem erneuten Anstieg der HI-Viruslast, kann wie bisher durch die Resistenztestung diagnostiziert werden, ob sich unter dem Selektionsdruck der aktuellen ART resistente Viren gebildet haben und eine Anpassung der Medikation erfolgen muss.

Mit der traditionellen Sanger-Sequenziermethode lassen sich solche resistenten Viren erst detektieren, wenn mindestens 20% der gesamten Viruspopulation diese Mutationen tragen, mit NGS ist dies möglich, auch wenn nur 10% der Gesamtpopulation betroffen sind.

Durch Next Generation Sequencing (NGS) können solche resistenten Subpopulationen also mehr als doppelt so sensitiv und somit früher detektiert werden.

Labordiagnostik

Die meisten Daten zur Wirksamkeit antiretroviraler Medikamente beziehen sich auf den bei uns häufigsten Subtyp B. Resistenzvermittelnde Mutationen können für ein Medikament innerhalb verschiedener Subtypen variieren. Deshalb erfolgt mit der Resistenzbestimmung auch eine Subtypisierung des Virus.

Präanalytik

Die aktuelle Viruslast sollte nicht unter 500-1.000 cp/ml liegen. Eine niedrige Viruslast kann die Sensitivität des Mutationsnachweises senken.

Hinweise zu Präanalytik und Abrechnung

Probenmaterial	10 ml EDTA -Blut (ungeöffnet)				
Probentransport	Standardtransport				
Methode	Next Generation Sequencing, Roche/454 GS Junior				
	EBM		GOÄ	1-fach	1,15-fach
Genotypische HIV-Resistenztestung (Reverse Transkriptase und Protease)	32828*	€ 260,00	4780/4782/3x4783/2x4787	€ 402,16	€ 462,53
Genotypische HIV-Resistenztestung (Integrase)	32822*	€ 260,00	4780/4782/1x4783/1x4787	€ 227,31	€ 261,43

*Ausnahmekennziffer 32021: Therapiebedürftige HIV-Infektionen

Autoren:

Anja Seffner, Dr. Michael Weizenegger, Dr. Jan Bartel, Dr. Michael Glas, Limbach Gruppe

Literatur:

1. <http://www.hivleitfaden.de/cms/index.asp?inst=hivleitfaden&snr=2342> (12.02.2015).
2. Deutsch-Österreichische Leitlinien: http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/055-001I_Antiretrovirale_Therapie_der_HIV_Infektion__2014-05.pdf (12.02.2015).
3. M. Oette, S. Reuter, R. Kaiser et al. (2012): Epidemiology of Transmitted Drug Resistance in Chronically HIV-Infected Patients in Germany: The RESINA Study 2001-2009. *Intervirology* 2012; 55: 154-159.
4. B. Bartmeyer, C. Kuecherer, C. Houareau et al.: Prevalence of transmitted drug resistance and impact of transmitted resistance on treatment success in the German HIV-1 Seroconverter Cohort. *PLoS One* 2010; 5: e12718.
5. F. zu Knyphausen, R. Scheufele, C. Kücherer 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: e95956.

Stand: April/2018

Ihr Ansprechpartner:
Dr. med. Brigitte Müller-Bardorff
Fachbereich Infektionsserologie
 E-Mail: b.mueller-bardorff@mvz-clotten.de
 Telefon: +49 761 31905-189