HIV direnç testlerinin klinikte kullanımı

Prof. Dr. Volkan Korten

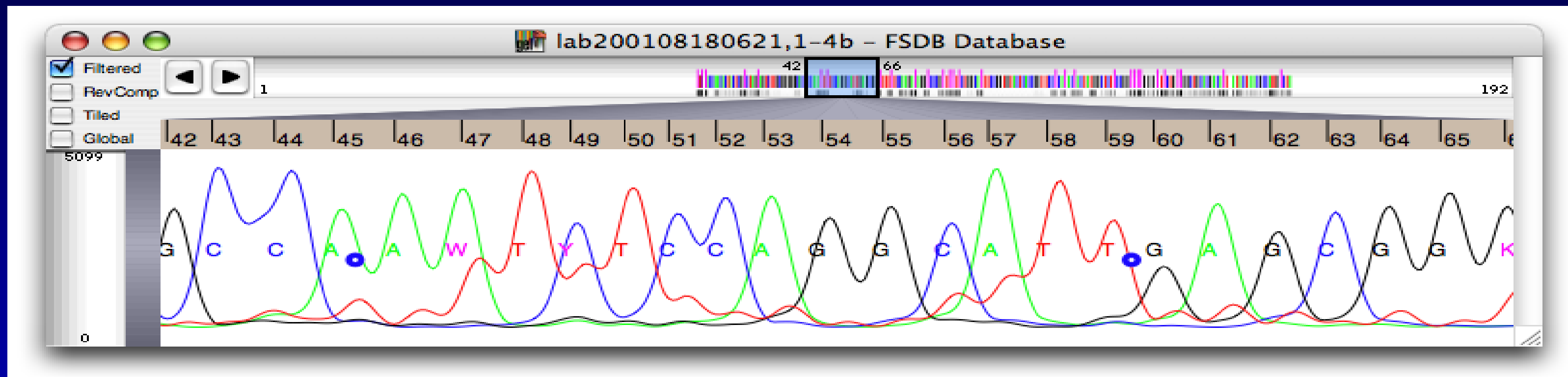
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi
İnfeksiyon Hast. ve Klin. Mikrobiyoloji AD

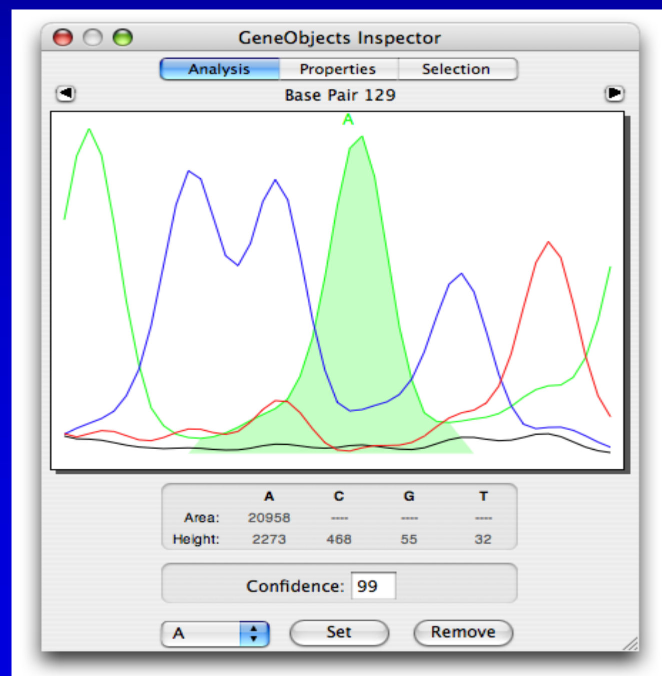
Direnç testleri

- Genotipik
  - In house
  - Ticari kitler (Trugene, ViroSeq)
  - Masif parelel sekanslama – (Next generation sequencing)
- Fenotipik (Antivirogram, Phenosense)
- Sanal fenotip – Virtual phenotype (genotipden fenotipin kestirilmesi)

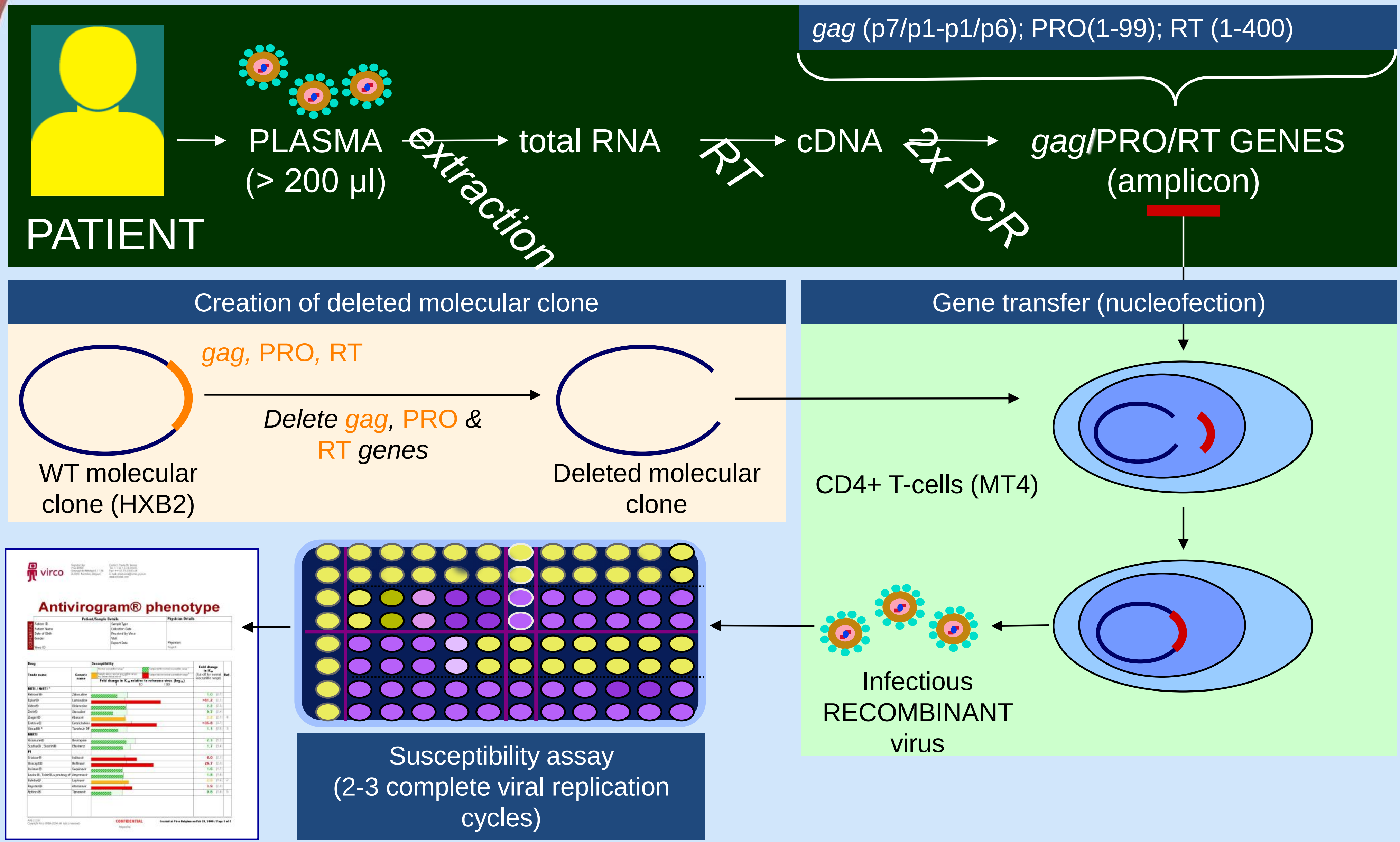
Sanger

Data Analysis (TruGene)





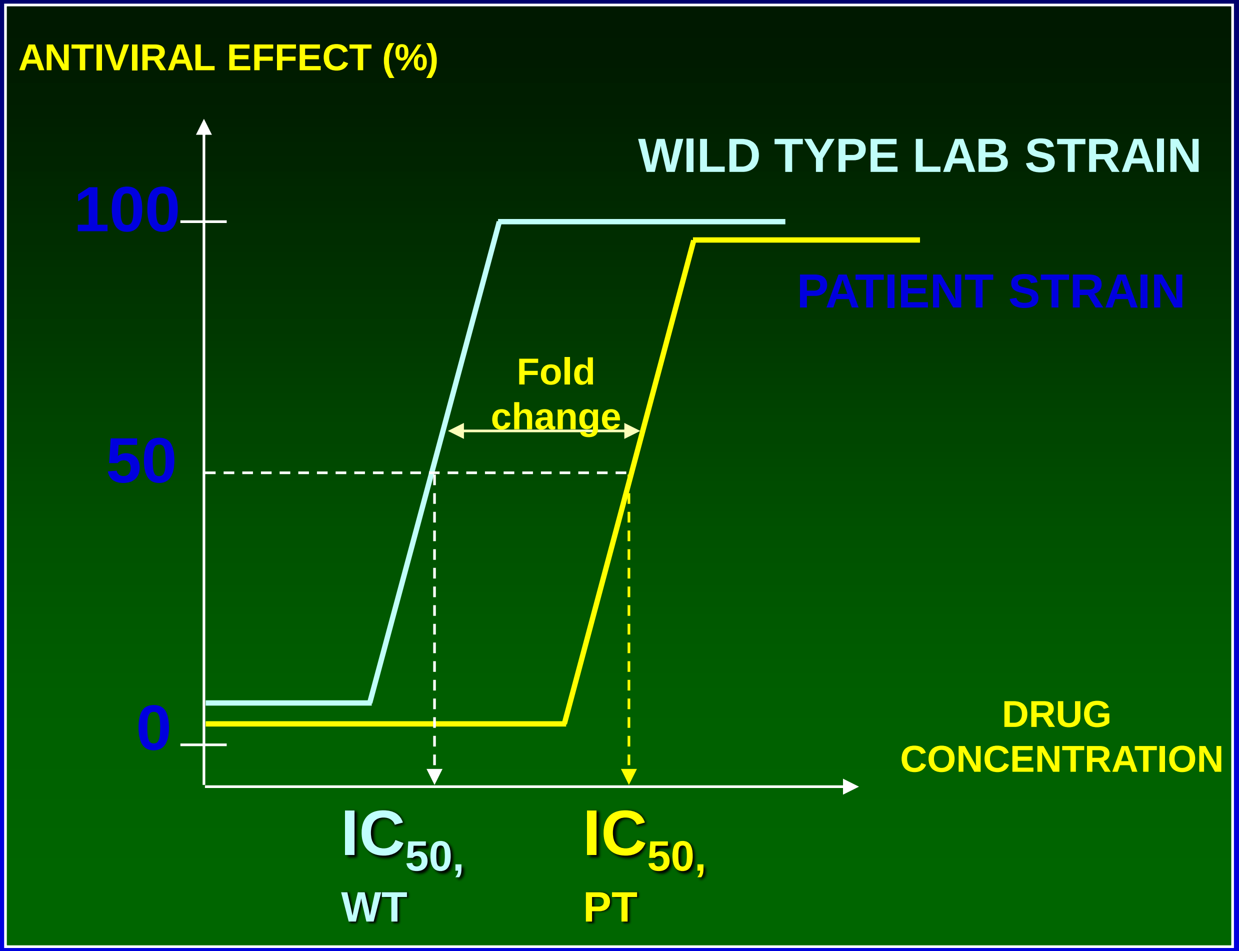
The Antivirogram® Assay Step by Step



Fenotipik testler

- değişik konsantrasyonlarda in-vitro çoğalma kapasitesini ölçer (IC50)

PhenoSense (ViroLogic, CA, USA), Phenoscript (VIR*alliance*, France), Antivirogram (Virco, Belgium)



Phenotype Report (Virco)

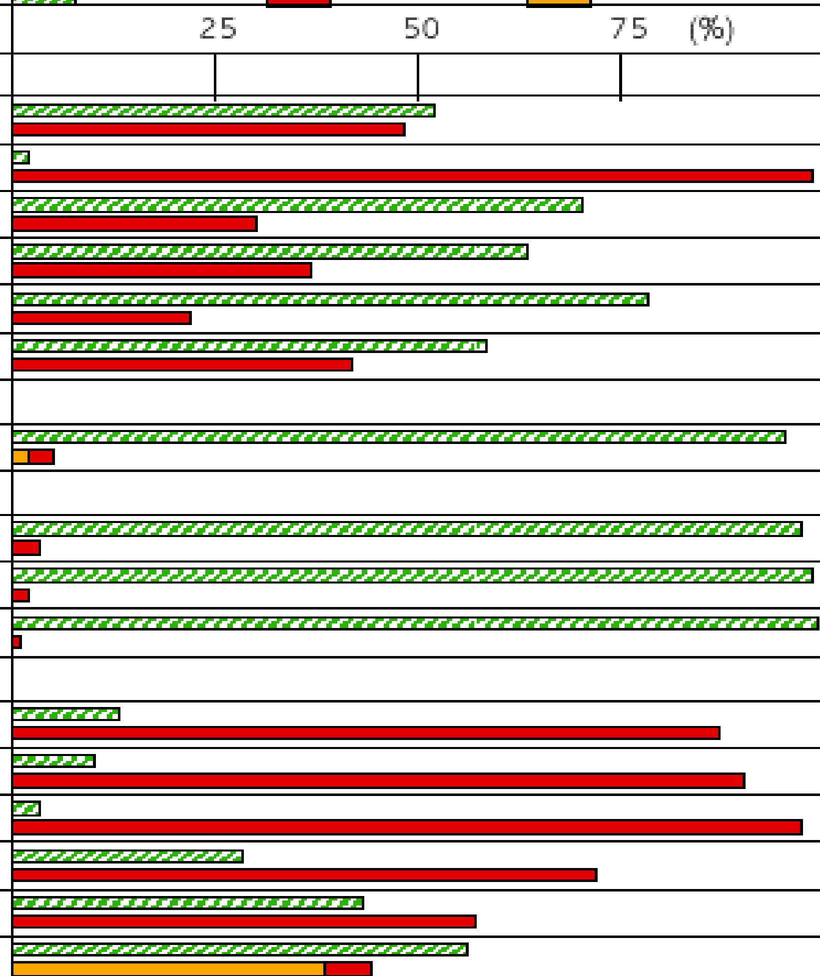
DRUGS		0.3 1 10 100 200 (>200)	FC	(95 % confidence limits)	CCO 1	CCO 2	BCO
NRTI / NtRTI mutations: 41L, 43Q, 68G, 184V, 210W, 211K, 214F, 215Y							
Zidovudine	AZT		7.2	(6.7-7.7)	1.2	9.6	
Lamivudine	3TC		45.2	(42.6-48.0)	1.0	3.4	
Didanosine	ddI		1.3	(1.2-1.4)	0.9	2.6	
Stavudine	d4T		1.0	(0.9-1.0)	0.9	2.0	
Abacavir	ABC		2.9	(2.8-3.1)	0.8	1.9	
Emtricitabine	FTC		44.8	(43.0-46.7)			3.5
Tenofovir DF	TDF		1.9	(1.8-2.0)	0.9	2.1	
NNRTI mutations: 179I, 188L							
Nevirapine	NVP		95.4	(86.3-105.5)			5.5
Efavirenz	EFV		118.4	(99.9-140.4)			3.4
PI mutations: 10V, 24I, 33F, 46L, 54V, 58E, 60E, 62V, 63P, 71V, 73S, 82A							
Indinavir	IDV		46.7	(40.4-53.9)	0.9	4.5	
Indinavir/r	IDV/r		46.7	(40.4-53.9)	10.6	40.1	
Nelfinavir	NFV		40.5	(35.6-46.0)	1.3	7.3	
Saquinavir/r	SQV/r		13.1	(11.0-15.6)	7.1	26.5	
Fosamprenavir/r	FPV/r		13.5	(12.2-15.0)	1.3	11.4	
Lopinavir/r	LPV/r		93.0	(83.1-104.0)	9.7	56.1	
Atazanavir/r	ATV/r		83.4	(70.6-98.6)	2.7	32.9	
Tipranavir/r	TPV/r		1.5	(1.3-1.8)	1.2	5.4	
Darunavir/r	DRV/r		2.3	(2.1-2.6)	3.4	96.9	

1. Resistance-associated mutations
2. Graphical representation of the Resistance Continuum
3. Predicted Fold change in IC_{50}, and 95% confidence limits
4. Cut-Off values

*Virtual*Phenotype™

Raporun alt kısmı

Drug: Trade name	Generic name	Matches in database	Proportion of matched samples: within normal susceptible range[2] / above normal susceptible range[2] / above normal susceptible range but below clinical cut-off[2, 3, 4] (25, 50, 75 (%))	Fold change in IC_{50} (Cut-off for normal susceptible range)	Ref.
NRTI					
Retrovir®	Zidovudine	2,600		**4.0** *(4.0)*	
Epivir®	Lamivudine	3,396		**48.1** *(4.5)*	
Videx®	Didanosine	2,092		**1.4** *(2.0)*	
Hivid®	Zalcitabine	1,524		**1.7** *(2.0)*	
Zerit®	Stavudine	3,220		**1.0** *(1.75)*	
Ziagen®	Abacavir	1,083		**2.6** *(3.0)*	
NtRTI					
Viread™	Tenofovir DF	1,094		**1.3** *(3.0)*	4
NNRTI					
Viramune®	Nevirapine	12,574		**1.4** *(8.0)*	
Rescriptor®	Delavirdine	11,723		**1.6** *(10.0)*	
Sustiva®, Stocrin®	Efavirenz	11,517		**1.1** *(6.0)*	
PI					
Crixivan®	Indinavir	1,671		**9.3** *(3.0)*	
Norvir®	Ritonavir	1,783		**10.8** *(3.5)*	
Viracept®	Nelfinavir	2,050		**24.1** *(4.0)*	
Invirase®, Fortovase®	Saquinavir	1,975		**4.9** *(2.5)*	
Agenerase®	Amprenavir	1,689		**2.3** *(2.0)*	
A component of Kaletra®	Lopinavir	1,026		**2.5** *(2.5)*	3



Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1-Infected Adults and Adolescents

http://aidsinfo.nih.gov/guidelines

Developed by the HHS Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents – A Working Group of the Office of AIDS Research Advisory Council (OARAC)

Antiretroviral Treatment of Adult HIV Infection

2012 Recommendations of the International Antiviral Society–USA Panel

JAMA, July 25, 2012—Vol 308, No. 4 387

DOI: 10.1111/j.1468-1293.2012.01029_1.x
HIV Medicine (2012), 13 (Suppl. 2), 1–85

British HIV Association guidelines for the treatment of HIV-1-positive adults with antiretroviral therapy 2012

World Health Organization

GUIDELINES

CONSOLIDATED GUIDELINES ON
THE USE OF
ANTIRETROVIRAL DRUGS
FOR TREATING AND
PREVENTING HIV INFECTION
RECOMMENDATIONS FOR A PUBLIC HEALTH APPROACH
JUNE 2013

EACS
European
AIDS
Clinical
Society

7

GUIDELINES
Version 7.0
October 2013

Genotipik HIV direnç testleri için öneriler

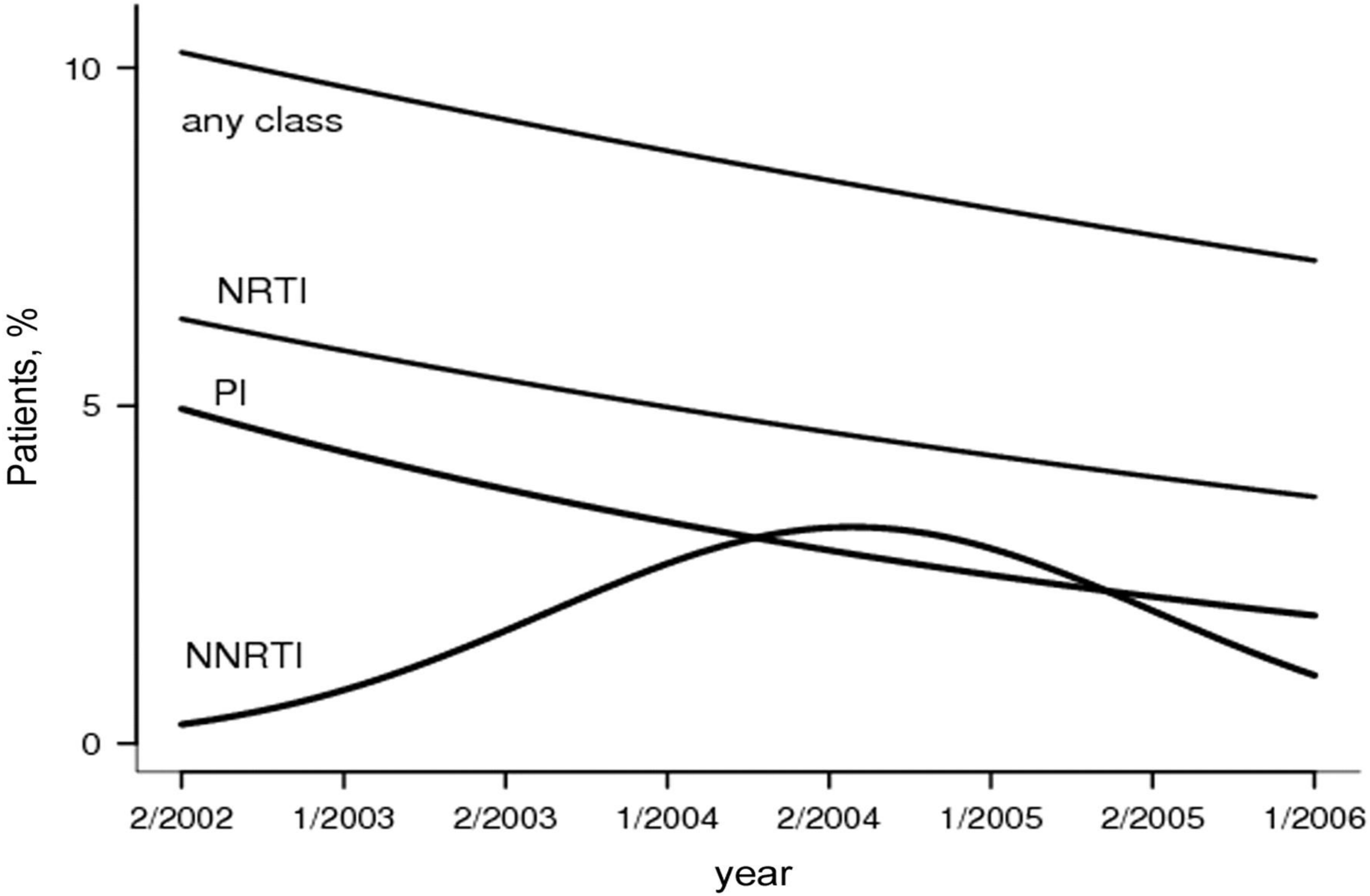
- Tedavi öncesi (Primer veya yerleşmiş infeksiyon) : *TDR ?*
- İlk başarısızlık: *Başarısızlık nedeni ?*
- Birden çok rejim sonrası başarısızlık: *Kurtarma rejimini belirlemeye yardım*
- HAART sonrası yetersiz baskılanma (dene)
- Gebelik: *Geçişi engellemek için uygun ilaç seçimi*
- Temas sonrası profilaksi

HIV ilaç direnci

- Transmitted resistance (Aktarılan direnç – dirençli virus alımı)

- Acquired resistance (kazanılan direnç – ilaç baskısı altında gelişen)

Time trends of transmitted drug resistance among patients with newly diagnosed human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection in Europe.



Türkiye

7.6

4.2%

1.7%

1.7%

Vercauteren J et al. J Infect Dis. 2009;200:1503-1508

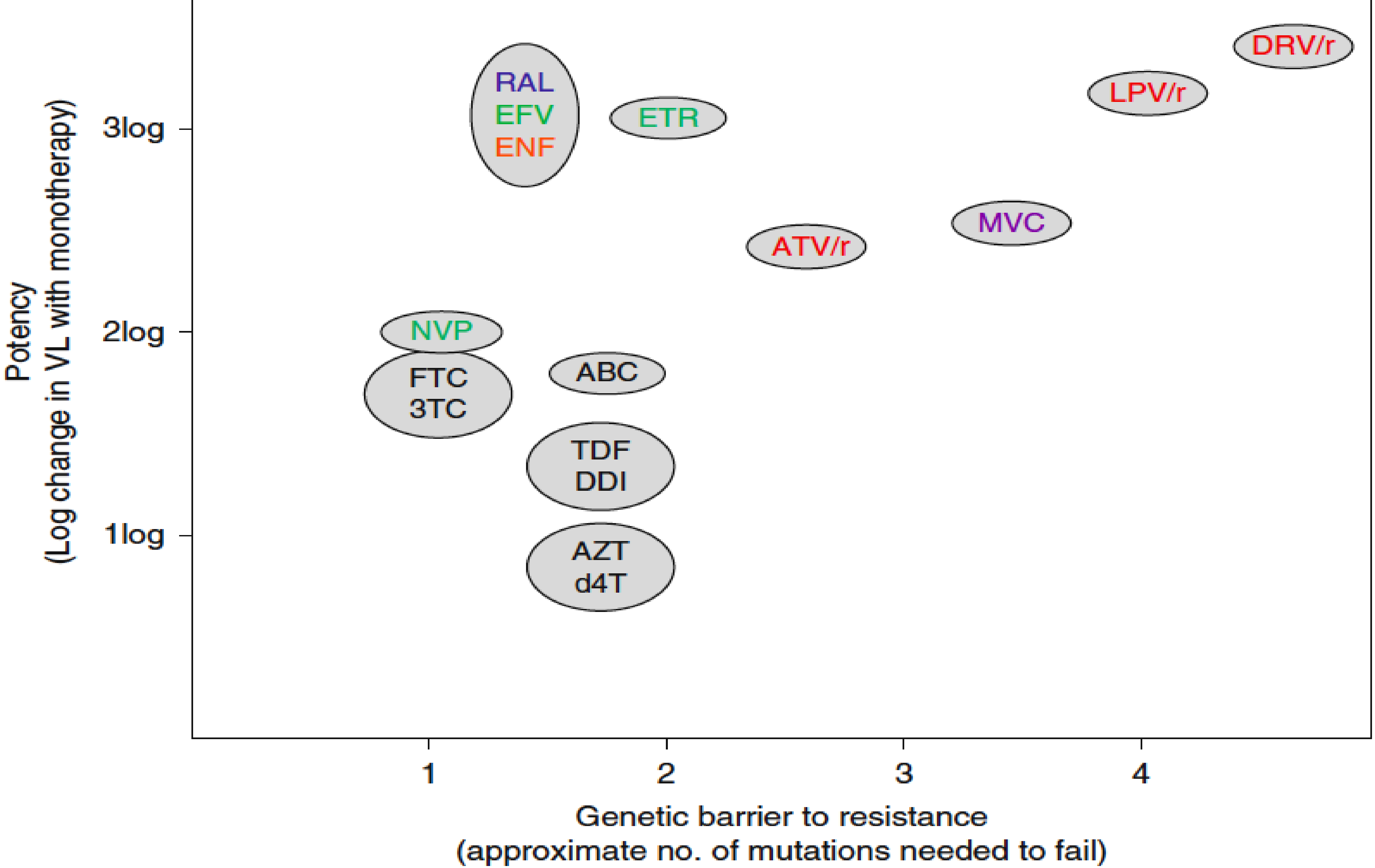
Sayan M. Jpn J Infect Dis. 2013;66(4):306-11.

The Journal of Infectious Diseases

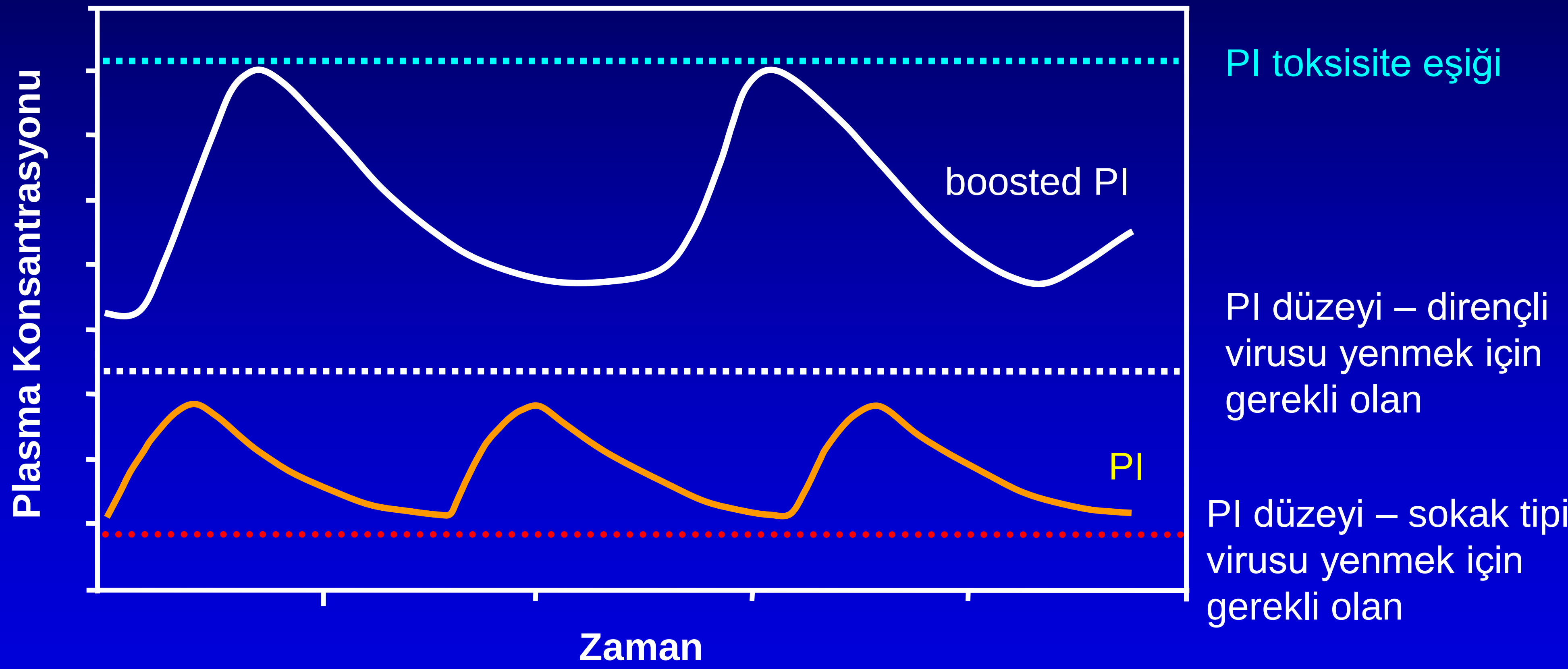
Aktarılan direncin önemi

- Standard genotipik yöntemlerle tespit edilen direnceye bakılarak seçilen rejimlerin başarısı – sokak tipi virusa benzer
- Ancak bu şekilde direnç tespit edilen vakalarda dirençli minör varyant olasılığı daha fazla – genetik bariyeri yüksek ilaçlar verilmeli (PI/r)
- NGS – Minör varyant direncinin NNRTI dışında henüz önemi kesin değil

Direnç gelişimi için genetik bariyer



RTV ile arttırılmış PI düzeyleri



Moyle G, et al. Drugs. 1996;51:701-712.

Zidovudine/lamivudine	⇒ M184V	→	TAMs
Stavudine/lamivudine	⇒ M184V	→	TAMs
Zidovudine/lamivudine/ abacavir	⇒ M184V	→	TAMs
Tenofovir/emtricitabine	⇒ M184V	→	K65R
Abacavir/lamivudine	⇒ M184V	→	L74V or K65R

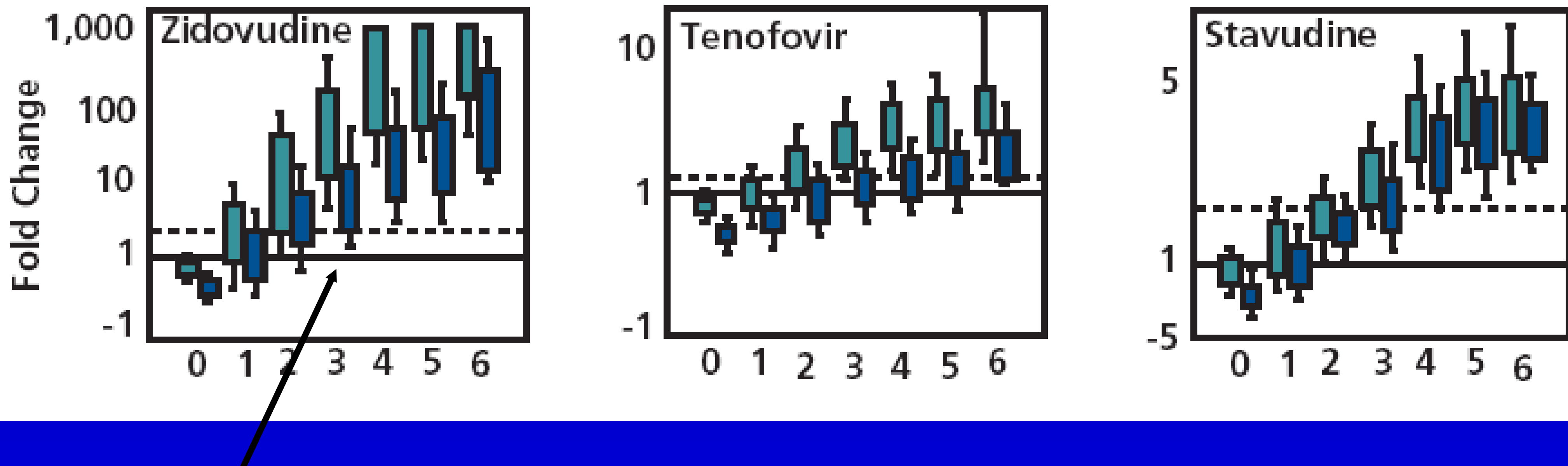
TAM mutasyonları: pirofosforoliz ile nükleotid eksizyonu

M184V → M41L, L210W, T215Y

(daha sık, ZDV-R↑, çapraz direnç↑, M184V ile direnç azalması daha az)

M184V → D67N, K70R, K219Q/E/N/R

TAM mutasyonları sayısı



M184V TAM etkisini azaltır.
ZDV, d4T, Tenofovir etkisini arttırır.

NRTI mutasyonları

	Discriminatory mutations				Thymidine analogue mutations (TAMs)						MDR mutations	
Cons	184 M	65 K	74 L	115 Y	41 M	67 D	70 K	210 L	215 T	219 K	69 T	151 Q
3TC	VI	R									Ins	M
FTC	VI	R									Ins	M
ABC	VI	R	V	F	L			W	YF		Ins	M
ddI	VI	R	V		L			W	YF		Ins	M
TDF	***	R	*	F	L		R	W	YF		Ins	M
d4T	***	R			L	N	R	W	YF	QE	Ins	M
ZDV	***	***	*		L	N	R	W	YF	QE	Ins	M

NNRTI’larla seçilen mutasyonlar

Cons	100 L	101 K	103 K	106 V	138 E	181 Y	188 Y	190 G	230 M
NVP	I	EP	NS	AM		CIV	LHC	ASE	L
EFV	I	EP	NS	AM		C	LHC	ASE	L
ETR	I	EP			K	CIV	L	ASE	L
RPV	I	EP			K	CIV	L	ASE	L

NNRTI-temelli başlangıç tedavisi başarızlığında direncin sonuçları

(> 30%) (10% - 30%) Nadir (< 10%) veya yok

DHHS Preferred Regimens	HIV-1 RNA < 50 copies/mL at Wk 48, %	Detectable Resistance at VF*		
		NRTI		NNRTI
		M184V/I	Other	
EFV, TDF, FTC	80 (n = 244)[1]			
	82 (n = 230)[2]			
	90† (n = 464)[3]			
EFV, TDF, 3TC	76 (n = 299)[4]			

*For patients with available baseline and postfailure genotypes.
†96 wks.

1. Gallant JE, et al. N Engl J Med. 2006;354:251-260. 2. Lennox J, et al. Lancet. 2009; 5;374:796-806.
3. Daar E, et al. CROI 2010. Abstract 59LB. 4. Gallant JE, et al. JAMA. 2004;292:191-201.

Başlangıçtaki direncin Etravirine cevabına etkisi

Number of Baseline NNRTI Mutations	Viral Load Reduction, $\log_{10}$ copies/mL
0	-1.82
1	-1.65
2	-1.00
≥ 3	-0.66

181IV (3.0);

100I, 101P, 181C, 230L (2.5);

90I, 138A, 179F, 190S (1.5);

98G, 101EH, 179DT, 190A (1.0)

Skor: < 2.5 duyarlı

2.5 - 3.0 orta direnç

> 3.0 yüksek düzey

1. Vingerhoets J, et al. J Virol. 2005;79:12773-12782.
2. Vingerhoets J, et al. CROI 2006. Abstract 154.

Major PI mutasyonları

	23	24	30	32	33	46	47	48	50†	53	54	73	76†	82	84	88†	90
	L	**L**	**D**	**V**	**L**	**M**	**I**	**G**	**I**	**F**	**I**	**G**	**L**	**V**	**I**	**N**	**L**
ATVr		I			F	IL	V	**VM**	**L**	L	VTALM	**ST**		ATFS	**VAC**	D**S**	**M**
DRVr‡				**I**	F		VA		V		**LM**	ST	**V**		VAC		M
FPVr				**I**	F	**IL**	**VA**		**V**		VTA**LM**	ST	**V**	ATFS	**VAC**		**M**
IDVr		**I**		V		**IL**	V			L	**VTA**LM	ST	V	**AFTS**	**VAC**	S	**M**
LPVr		I		I	F	IL	V**A**	VM	**V**		**VTALM**		**V**	**AFTS**	VAC		M
NFV	**I**	**I**	**N**		F	**IL**	V	**VM**		L	**VTALM**	**ST**		**AFTS**	**VAC**	**DS**	**M**
SQVr		I						**VM**		L	**VTA**LM	**ST**		AT	**VAC**	S	**M**
TPVr§				I	F	IL	**V**				**VAM**			ATFS**L**	**VAC**		M

PI-temelli başlangıç rejimi başarısızlığında – direnç sonuçları

Likely (> 30%)   Less likely (10% to 30%)   Rare (< 10%) or none

DHHS “Preferred” and/or IAS-USA “Recommended” Regimens	HIV-1 RNA < 50 copies/mL at Wk 48, %	Detectable Resistance at VF*		
		NRTI		PI
		M184V/I	Other	
ATV/RTV, TDF/FTC	78 (n = 440)[1]			
	89 (n = 465)[2]†			
DRV/RTV, TDF/FTC	84 (n = 340)[3]			
LPV/RTV, TDF/FTC	76 (n = 443)[1]			
	78 (n = 346)[3]			
	67 (n = 345)[4]			
	64 (n = 170)[5]			
	77 (n = 664)[6]			
SQV/RTV, TDF/FTC	65 (n = 167)[5]			

*For patients with available baseline and postfailure genotypes. †96 weeks

1. Molina JM, et al. Lancet. 2008;372:646-655 2. Daar E, et al. CROI 2010 59 LB. 3. Ortiz R, et al. AIDS. 2008;22:1389-1397. 4. Smith K, et al. AIDS. 2009;23:1547-1556. 5. Walmsley SL, et al. J Acquir Immune Defic Syndr. 2009;50:367-374. 6. Gathe J, et al. J Acquir Immune Defic Syndr. 2009;50:474-481.

İntegraz inhibitörü (raltegravir) direnci

- Düşük direnç bariyeri var – mutlaka etkin başka bir ilaçla kullanılmalı
- 3 direnç yolu
  - N155H
  - Q148K/R/H
  - Y143C/R

Cons	66 T	92 E	143 Y	147 S	148 Q	155 N
RAL	A	Q	RCH	G	HRK	H
EVG	IAK	Q		G	HRK	H
DTG		Q			HRK	

- Eğer integraz direnci nedeni ile başarısızlık olursa, gelecekteki seçenekleri etkiler
  - Geniş çapraz direnç: RAL ve EVG/r
  - Dolutegravir, bazı RAL- ve EVG-dirençli suşlara etkin

RAL - temelli başlangıç rejimi başarısızlığında – direnç sonuçları

Likely (> 30%) Less likely (10% to 30%) Rare (< 10%) or none

DHHS “Preferred” Regimens	HIV-1 RNA < 50 copies/mL at Wk 48, %	Detectable Resistance at VF*		
		NRTI		IN
		M184V/I	Other	
RAL, TDF/FTC*	78 (n = 440)[1]			

*For patients with available baseline and postfailure genotypes.

1. Lennox J, et al. Lancet. 2009; 374:796-806.

Devam eden viremi – direnç testine göre değiştirme

- Direnç testi hasta ilaçları alırken veya kestikten sonra 4 hf içinde alınmalı
- Rejimi devam ettirmek, düşük genetik bariyeri olan ilaçlara direnci arttırır (NNRTIs, lamivudine, emtricitabine, enfuvirtide ve raltegravir).
- M184V varlığında TAM yavaş gelişir, virus replikasyon kapasitesi de azalır
- NNRTI mutasyonları (K103N, Y181C) viral replikasyonu yavaşlatmaz, ilacı devam etmenin anlamı yok. İleride etravirine cevabını da bozar.
- Direnç testi hemen çıkmayacak ise yüksek genetik bariyerli ilaçlara geçmek önerilir

İkinci basamak rejimleri: Kaç ilaç ? Hangi ilaçlar ?

- En az 2, tercihan 3 aktif ilaç yeni rejimde yer almalı
- Şu anda, hemen hemen tüm bilgi ve klinik tecrübe NRTI-içeren ikincil rejimleri kapsıyor
- 5 onaylı ARV sınıfı potansiyel olarak 2 tam yeni sınıfın ikincil rejimde olmasını sağlayabiliyor
- Ancak bilgiler yetersiz

NRTI + 3TC/FTC + PI/r M184V'li hastada etkin ikincil rejim

- British Columbia HIV Drug Treatment Program, 2000-2006
- Pts with M184V ± NNRTI RAMs but no PI or other NRTI RAMs (N = 117)

Hastaya ek bir ilaç vermenin veya 3TC/FTC vermemenin bir farkı yok

Second-Line Regimen	**HR, Time to Virologic Suppression (95% CI)**
3TC/FTC + NRTI + boosted PI	Ref
3TC/FTC + NRTI + boosted PI + additional active agent(s)	1.09 (0.60-1.96)
3TC/FTC-sparing NRTIs + boosted PI ± additional active agent(s)	0.61 (0.37-1.03)

Hull M, et al. ICAAC 2009. Abstract H-916.

Yoğun tedavi görmüş hastalarda HEDEF

Daha önceki tedavilere bakmaksızın

- **US-DHHS**
- **IAS-USA**

HIV-1 RNA < 50 kopya/mL

DHHS. http://www.aidsinfo.nih.gov/Guidelines.
Hammer SM, et al. JAMA. 2008;300:555-570.

Yoğun tedavi görmüş hasta
Kurtarma tedavisi

- 2. başarısızlık sonrasındaki ilaç seçiminde fenotipik testler yararlı olabilir, ancak direnç testleri sıklıkla yeterli değil
- İlaç hikayesi ve önceki direnç testleri göz önüne alınmalı
- CD4 sayısı iyi ise en az 2 tam etkin ilaç olana kadar bekle
  - NNRTI: Etravirine
  - PI: tipranavir ve darunavir
  - Integraz inh: Raltegravir, dolutegravir
  - Giriş inhibitörleri
    - CCR5: Maraviroc
    - Füzyon: Enfuvirtide (T20)

Kurtarma tedavisinde hiyerarşi

- Daha önce kullanılmamış olan ilaç sınıfı
- Kullanılmış olanlardan önemli düzeyde antiviral aktivitesi kalmış olanlar
- NRTI kombinasyonları (in-vitro dirence rağmen, in-vivo aktivite kalabilmekte)
- Daha önce dirençli olup – sokak tipine geri dönmüş gözükenler

Supresif olmayan rejime devam etme

- CD4 azalması ve klinik ilerlemeyi önlemek üzere viral yükü mümkün olduğu kadar baskılamak (CD4 – viral yük ayrımı)
- Viral çoğalma kapasitesini azaltan rejimler ile
  - (NNRTI devam edilmemeli)
  - (PI ve NRTI direnç paternine bağlı)
- Lamivudine – tutma rejimi

Genotipik direnç yorumları

- Fransa (ANRS)
- Belçika (REGA)
- Almanya (geno2pheno ve HIV-GRADE)
- ABD (Stanford)
- Ticari algoritmalar

TDF/ETC + EFV altında başarısızlık

Drug Resistance Interpretation: RT

NRTI Resistance Mutations:	K65R, M184I
NNRTI Resistance Mutations:	K103N, M230L
Other Mutations:	T69S

Nucleoside RTI		Non-Nucleoside RTI	
lamivudine (3TC)	High-level resistance	efavirenz (EFV)	High-level resistance
abacavir (ABC)	High-level resistance	etravirine (ETR)	Intermediate resistance
zidovudine (AZT)	Susceptible	nevirapine (NVP)	High-level resistance
stavudine (D4T)	Intermediate resistance	rilpivirine (RPV)	Intermediate resistance
didanosine (DDI)	High-level resistance		
emtricitabine (FTC)	High-level resistance		
tenofovir (TDF)	High-level resistance		

Drug Resistance Interpretation: PR

PI Major Resistance Mutations:	None
PI Minor Resistance Mutations:	None
Other Mutations:	I13V, L63Q

Protease Inhibitors	
atazanavir/r (ATV/r)	Susceptible
darunavir/r (DRV/r)	Susceptible
fosamprenavir/r (FPV/r)	Susceptible
indinavir/r (IDV/r)	Susceptible
lopinavir/r (LPV/r)	Susceptible
nelfinavir (NFV)	Susceptible
saquinavir/r (SQV/r)	Susceptible
tipranavir/r (TPV/r)	Susceptible

Mutation Scoring

PR	ATV/r	DRV/r	FPV/r	IDV/r	LPV/r	NFV	SQV/r	TPV/r
Total:	0	0	0	0	0	0	0	0

RT	3TC	ABC	AZT	D4T	DDI	FTC	TDF	EFV	ETR	NVP	RPV
K65R	30	60	-15	45	60	30	60	-	-	-	-
M184I	60	15	-10	-10	10	60	-10	-	-	-	-
K103N	-	-	-	-	-	-	-	60	0	60	0
M230L	-	-	-	-	-	-	-	30	30	60	30
K65R+M184I	-	-	-	10	-	-	10	-	-	-	-
Total:	90	75	-25	45	70	90	60	90	30	120	30

HIVdb skorları

0-9	Duyarlı
10-14	Potansiyel düşük - düzey direnç
15-30	Düşük - düzey direnç
30-59	Orta direnç
> 60	Yüksek - düzey direnç