

## Low-level Virämie bei HIV-Patienten unter antiretroviraler Therapie – Ihre Bedeutung aus virologischer Sicht

Patrick Braun & Eva Wolf

Das höchste Ziel einer antiviralen Therapie, nämlich die Eradikation, ist bei einer HIV-Infektion mit den derzeit verfügbaren Medikamenten und entsprechenden Strategien in naher Zukunft nicht erreichbar. Das primäre Therapieziel ist weiterhin, die HI-Viruslast maximal und langanhaltend zu supprimieren, um das Immunsystem zu stabilisieren.

Da das HI-Virus selbst unter hoch aktiven Kombinationstherapien in den meisten Fällen im Bereich von wenigen HIV-1 RNA Kopien/ml nachweisbar ist, wurden von nationalen und internationalen Fachgesellschaften klinische Schwellenwerte (Cut-Off-Werte) zur Beurteilung des Therapieerfolgs definiert (s. Tabelle 1).

### Definition der Low-level Virämie

Die Grenze zwischen virologischem Erfolg und Versagen verläuft derzeit bei 50 HIV-1 RNA Kopien/ml und basiert insbesondere auf klinischen Studien. In den Deutsch-Österreichischen Leitlinien zur antiviralen Therapie der HIV-Infektion gilt als Therapieerfolg das nachhaltige Absinken der Plasmavirämie unter 50 HIV-1 RNA Kopien pro Milliliter. Ein Wert von < 50 HIV-1 RNA Kopien/ml sollte nach 3 bis 4 Monaten, bei sehr hoher Virämie zu Therapiestart nach 6 Monaten, erreicht werden.

Der klinische Schwellenwert ist nicht

mit den spezifischen unteren Nachweisgrenzen der verwendeten Testsysteme zu verwechseln, die meist unterhalb dieser klinisch relevanten Grenze liegen. Ein erhöhtes Risiko für Therapieversagen oder Resistenzentwicklung unterhalb von 50 Kopien/ml konnte bisher nicht fundiert belegt werden.

Problematischer ist die Beurteilung von Viruslastwerten, die unter antiretroviraler Therapie zwischen 50 und 200 bzw. 500 HIV-1 RNA Kopien/ml liegen. Ein im Jahr 2014 veröffentlichter Review

zur Wertigkeit der Low-level Virämie belegt, dass 4–8% der zuvor erfolgreich therapierten Patienten (HIV-1 RNA < 50 Kopien/ml) eine persistierende niedrige Virämie im Bereich von 50–200 Kopien/ml entwickeln.<sup>[1]</sup> Eine niedrige Virämie wird zwar tendenziell häufiger bei Regimen mit geboosterten Proteaseinhibitoren (PI) als mit NNRTI beobachtet, ist bei PI-basierten Kombinationen meist jedoch nicht mit Therapieversagen im Sinne einer Resistenzentwicklung verbunden.<sup>[1]</sup> Das Risiko der Resistenzent-

**Tabelle 1: Definition des virologischen Therapieerfolgs und Therapieversagens in den nationalen und internationalen Leitlinien zur HIV-Therapie.**

| Fachgesellschaft (Jahr der Leitlinie)                | Therapieerfolg           | Low-level Virämie            | Virologisches Versagen   |
|--|--------------------------|------------------------------|--|
| DAIG, Deutsche AIDS-Gesellschaft (2015)              | < 50 K/ml                | 50 bis 200 K/ml (z. B. Blip) | < 2 log ↓ nach 4 Wochen oder > 50 K/ml nach 6 Monaten<br>2x > 50 K/ml nach Suppression |
| DHHS, Department of Health and Human Services (2016) | VL < LLOD (< 20–75 K/ml) | LLOD bis 200 K/ml            | 2x > 200 K/ml  |
| IAS-USA, International AIDS Society (2016)           | < 50 K/ml (Woche 24)     | 50 bis 200 K/ml              | 2x > 200 K/ml nach Suppression   |
| EACS, European AIDS Clinical Society (2015)          | < 50 K/ml                | 50 bis 1000 K/ml             | 2x > 50 K/ml (6 Monate nach ART-Beginn)  |

LLOD: Lower Limit Of Detection; K/ml: HIV-1 RNA Kopien/ml

wicklung ist auch innerhalb der Klasse der Integraseinhibitoren unterschiedlich – mit höheren Resistenzbarrieren für Dolutegravir im Vergleich zu Raltegravir oder Elvitegravir/Cobicistat. Messwerte im Low-level Bereich können jedoch verschiedene Ursachen haben und müssen nicht zwingend auf ein resistenzbedingtes Therapieversagen hindeuten.

### Ursachen der Low-level Virämie und deren Abklärung

Diverse Einflussfaktoren können zu einer kurzfristigen Erhöhung der Viruslast führen. Beispielsweise kann die Viruslast nach einer Influenza-Impfung oder bei einer interkurrierenden Infektion mit *Treponema pallidum* vorübergehend ansteigen. Des Weiteren können parallel eingenommene Pharmazeutika oder biologische Substanzen, wie z. B. Johanniskraut, aufgrund von Interaktionen zu einem Wirkverlust der antiretroviralen Therapie und damit einhergehend zu einem Anstieg der Viruslast führen. Ein Anstieg des HIV-1 RNA-Niveaus kann auch auf eine unregelmäßige Einnahme der Medikamente zurückzuführen sein.<sup>[2]</sup>

In jedem Fall ist es wichtig, Viruslastwerte von mehr als 50 Kopien/ml bei Patienten, deren Viruslast zuvor erfolgreich supprimiert war, in der Regel kurzfristig, d.h. nach ca. 4 Wochen zu kontrollieren. Häufig handelt es sich um ein einmaliges Ereignis, das als „Blip“ bezeichnet wird und bei einer zeitnahen wiederholten Messung nicht reproduzierbar ist.

Eine Erklärung für eine nachgewiesene transiente Virämie kann in der messbedingten Schwankungsbreite der eingesetzten Testsysteme liegen. Es ist bekannt, dass die Präzision am Ende des linearen Messbereichs eines quantitativen Viruslast-Assays abnimmt und, dass die Varianz in diesem niedrigen Bereich zunimmt. Im Vergleich zum RealTime-System der Fa. Abbott weisen die mit dem TaqMan-System der Fa. Roche ermittelten Viruslastergebnisse etwas höhere Messwerte und eine etwas höhere Streuung auf. Inter- und Intra-Assay-Vergleiche mit neuen Testsystemen laufen aktuell.<sup>[3,4]</sup> Ein Rückschluss, welches System anderen überlegen ist,

**Tabelle 2: Viruslastergebnisse von zwei klinischen Proben, die in 10 unabhängigen Läufen jeweils mit HIV-1 RNA (m2000) RealTime (Abbott) und Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan HIV-1 v.2.0 (Roche) gemessen wurden.<sup>[3]</sup>**

| Replikate       | Klinische Probe < 40 Kopien/ml<br>(Vorwert gemessen mit RealTime) |                          | Klinische Probe 80 Kopien/ml<br>(Vorwert gemessen mit RealTime) |                          |
|-----------------|---|--------------------------|---|--------------------------|
|                 | RealTime<br>Kopien/ml   | TaqMan v. 2<br>Kopien/ml | RealTime<br>Kopien/ml   | TaqMan v. 2<br>Kopien/ml |
| 1               | <40 (detektiert)  | 33                       | <40 (detektiert)  | 58                       |
| 2               | <40 (detektiert)  | 50                       | 66  | 110                      |
| 3               | <40 (detektiert)  | 57                       | 75  | 112                      |
| 4               | <40 (detektiert)  | 59                       | 78  | 125                      |
| 5               | <40 (detektiert)  | 63                       | 80  | 127                      |
| 6               | <40 (detektiert)  | 70                       | 85  | 177                      |
| 7               | 50  | 101                      | 91  | 209                      |
| 8               | 57  | 103                      | 102   | 214                      |
| 9               | 62  | 110                      | 113   | 241                      |
| 10              | 83  | 155                      | 137   | 295                      |
| Mittelwert ± SD | –   | 80,1                     | 85,6 ± 28,8   | 166,8 ± 72,61            |

lässt sich aus diesen und auch anderen Vergleichsstudien nicht ziehen. Wichtig ist, darauf zu achten, dass bei einem Wechsel des Messsystems die Werte nicht unbedingt vergleichbar sind.

Eine weitere Erklärung für eine niedrige Virämie kann in der Probenaufbereitung liegen. Zur Virusquantifizierung wird die RNA der HI-Virionen aus dem EDTA-Plasma verwendet. Wenn jedoch das Unter-

suchungsmaterial EDTA-Vollblut nicht innerhalb von wenigen Stunden oder spätestens am Tag der Blutentnahme zur Gewinnung des EDTA-Plasmas zentrifugiert wird, können Zellfraktionen mit proviraler DNA im Plasma nachgewiesen werden. Da bei manchen Quantifizierungssystemen nicht nur RNA sondern auch DNA isoliert wird, kann die provirale DNA als Matrix für die PCR-Reaktion dienen und somit falsch positive Virus-

### Mögliche Faktoren für eine niedrige Virämie



last-Ergebnisse liefern. Das Risiko von falsch positiven Viruslastwerten kann vermieden werden, wenn die Probenaufbereitung binnen vier Stunden nach der Blutentnahme oder spätestens am gleichen Tag erfolgt und die Vorschriften zur Probengewinnung eingehalten werden.<sup>[5]</sup>

Oftmals ist eine Low-level Virämie unter ART bei einer HIV-Infektion nicht – wie in der nachfolgenden Checkliste (s. Tabelle 3) aufgeführt – durch interkurrente Infekte, Vakzinierungen, inadäquate Therapietreue oder Messungenauigkeiten zu erklären. In diesen Fällen helfen für das weitere Vorgehen die Angaben zum Therapieverlauf. Denn es macht einen Unterschied, ob nach einem Therapiebeginn die Viruslast nicht unter 50 Kopien/ml gesenkt werden konnte

und im Bereich von wenigen Hundert Kopien/ml stagniert oder ob nach langanhaltender Virussuppression die Viruslast erneut im niedrig virämischen Bereich nachweisbar ist. Im ersten Fall könnte beispielsweise das Therapieregime nicht potent genug oder aber auch die Zeit nicht ausreichend lang für eine maximale Virussuppression gewesen sein. Eine Viruslastsenkung auf Werte unter 50 HIV-1 RNA Kopien/ml kann bei nicht optimal vermuteter Potenz des Regimes möglicherweise durch einen Therapiewechsel oder eine Therapieintensivierung erreicht werden. Eine Adhärenzabklärung und ein Drugmonitoring sind hier in jedem Fall hilfreich, um Medikamenteninteraktionen oder pharmakogenomische Aspekte, wie sie zum Beispiel bei „Rapid Metabolizern“

vorkommen, auszuschließen.

Im zweiten Fall, also bei einem bestätigten Wiederanstieg der Viruslast auf Werte über 50 HIV-1 RNA Kopien/ml nach vorausgegangener erfolgreicher Suppression, ist ein mögliches Therapieversagen zu prüfen.

In beiden genannten Fällen sollte eine genotypische Resistenzanalyse erfolgen. Das Risiko eines Resistenz-assoziierten virologischen Versagens bei Patienten mit Low-level Virämie ist nicht auszuschließen. Insbesondere eine andauernde, aktive Virusreplikation unter dem Selektionsdruck einer antiretroviralen Therapie führt in der Regel zu einer Evolution des HI-Virus im Sinne einer Resistenzentwicklung, wobei das Risiko mit der Höhe der Viruslast ansteigt und entsprechend bei 500

**Tabelle 3: Checkliste und Procedere bei Patienten mit niedrig nachweisbarer Viruslast**

| Nr.   | A) Charakteristika und mögliche Kofaktoren bei niedriger Virämie      | Hinweise zum Vorgehen   |
|---|---|---|
| 1   | <b>Blip</b>   | • Viruslastmessung mit Probe aus einer neuen Blutentnahme wiederholen   |
| 2   | <b>Verdacht auf Verwechslung</b>                                      | • Wiederholung mit neuem Untersuchungsmaterial  |
| 3   | <b>Präanalytik, Messungenauigkeit</b>                                 | • Wiederholung der Viruslastmessung unter Einhalten der Vorgaben zur Präanalytik (z. B. EDTA-Plasma-Separation innerhalb von 4 Std.)  |
| 4   | <b>Inadäquate Therapietreue</b>                                       | • Bestimmung der Medikamentenspiegel im Plasma  |
| 5   | <b>Resistenz</b>  | • Durchführung einer (genotypischen) Resistenztestung bei bestätigter Low-level Virämie<br>• Bei Resistenznachweis, sofortige Therapieoptimierung   |
| 6   | <b>Interkurrente Infekte</b>  | • Wiederholung der Viruslastmessung nach Infekt   |
| 7   | <b>Impfung</b>  | • Wiederholung der Viruslastmessung 4 bis 8 Wochen nach Impfung   |
| 8   | <b>Medikamenteninteraktionen</b>                                      | • Bestimmung der Medikamentenkonzentrationen (Talspiegel)   |
| 9   | <b>Pharmakogenomik (Bsp. Rapid Metabolizer)</b>                       | • Bestimmung der Medikamentenkonzentration; falls erniedrigt und Adhärenz bzw. Interaktionen nicht ursächlich: Pharmakogenomik (Bsp. MDR-1 Gen)   |
| 10  | <b>Abfall der CD4-Zellzahl</b>  | • Viruslast unterquantifiziert? Eventuell Wiederholung mit anderem Testsystem<br>• Ggf. HIV-2 ausschließen  |
| 11  | <b>Zellulärer Aktivierungsgrad erhöht (CD8+CD38+ positive Zellen)</b> | • Infekte ausschließen<br>• Engmaschige Kontrolle der HI-Viruslast  |
| 12  | <b>Viren entstammen einem zellulären Reservoir</b>                    | • Virale Evolution durch Abgleich von zeitlich versetzten Nukleotidsequenzen der Resistenzanalysen überprüfen   |
| B) Niedrige Viruslast im Kontext des Therapiestatus |   | Hinweise zum Vorgehen   |
| I   | <b>Ohne Therapie</b>  | • Wenn zuvor hohe Viruslastwerte: o. g. Hinweise zu Nr. 2, 10   |
| II  | <b>Ersttherapie ohne Virussuppression</b>                             | • Therapie intensivieren/umstellen, wenn die Therapiedauer bereits > 6 Monate ist<br>• Resistenz-Risiko erhöht bei Regimen mit niedriger Resistenz-Barriere<br>• Hinweise zu Nr. 4, 5, 6, 8 bis 11 beachten |
| III   | <b>Viruslastanstieg nach Suppression</b>                              | • Resistenz-Risiko erhöht bei Regimen mit niedriger Resistenz-Barriere<br>• Hinweise zu Nr. 1 bis 12 beachten   |
| IV  | <b>Salvage-Therapie</b>   | • Niedrige Viruslast in Abhängigkeit vom Immunstatus werten<br>• Hinweise zu Nr. 1 bis 12 beachten  |

HIV-1 RNA Kopien/ml höher ist als bei 100 HIV-1 RNA Kopien/ml. Weiterhin ist die Gefahr einer Resistenzentwicklung höher bei Regimen mit einer niedrigen Resistenzbarriere, wie sie beispielsweise bei NNRTI-Kombinationstherapien vorkommt. Da nach Herstellerangaben für eine valide Resistenztestung meist mehrere Hundert Viren pro ml Plasma benötigt werden, sollte bei niedrigen Viruslasten entsprechend ein größeres Probenvolumen abgenommen werden, um ein Ergebnis zu erhalten. Ein Abgleich der Nukleotidsequenzen von zeitlich versetzten Resistenzanalysen kann hier zumindest zum Ausschluss einer viralen Evolution hilfreich sein. Falls die Nukleotidsequenzen identisch sind, kann zunächst davon ausgegangen werden, dass das nachge-

wiesene Virus sich unter der Therapie nicht oder kaum verändert hat. Bei jedoch unterschiedlichen Nukleotidsequenzen und damit unterschiedlichen Viruspopulationen kann nicht differenziert werden, ob es sich um evolutionsbedingte Veränderungen handelt oder ob etwaige Viruspopulationen einem zellulären Reservoir entstammen.<sup>[6]</sup> Denn der Nachweis einer Low-level Virämie im Plasma muss nicht unbedingt Ausdruck einer aktiven Virusreplikation sein. Es können auch HIV-1 Partikel durch eine Aktivierung, z. B. durch eine (zufällige) Antigenstimulierung, aus den so genannten latenten Reservoiren freigesetzt werden und gegebenenfalls nicht replikationskompetent sein (nur ca. 12% der infizierten Zellen enthalten intaktes Virusgenom).<sup>[7]</sup>

Eine residuale Virämie unter ART scheint mit einer höheren Immunaktivierung, insbesondere mit einer höheren CD8+T-Zell-Aktivierung assoziiert zu sein. Bei Viruslasten zwischen 50 und 200 Kopien/ml oder viralen Blips wurde ein höherer Anteil an aktivierten CD8+Zellen (CD8+CD38+HLA-DR) beobachtet als bei Virussuppression unter 50 Kopien/ml.<sup>[8,9]</sup> Es gibt selbstverständlich auch Patienten mit multiresistenten HI-Viren, bei denen die Viruslast trotz neuer Therapieoptionen nicht mehr vollständig unterdrückt werden kann. Hier gilt es, entsprechend des Resistenzmusters, die Viruslast auf einem möglichst niedrigen Niveau zu halten.

## Literatur

- 1 Ryscavage P, Kelly S, Li JZ, Harrigan PR, Taiwo B. Significance and clinical management of persistent low-level viremia and very-low-level viremia in HIV-1-infected patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014; 58(7):3585–98.
- 2 Konstantopoulos C, Ribaudo H, Ragland K, Bangsberg DR, Li JZ. Antiretroviral regimen and suboptimal medication adherence are associated with low-level human immunodeficiency virus viremia. *Open Forum Infect Dis.* 2015; 2(1):ofu119.
- 3 Naeth G, Ehret R, Wiesmann F, Braun P, Knechten H, Berger A. Comparison of HIV-1 viral load assay performance in immunological stable patients with low or undetectable viremia. *Med Microbiol Immunol.* 2013; 202(1):67-75.
- 4 Ruelle J, Debaisieux L, Vancutsem E, De Bel A, Delforge ML, Piérard D, Goubau P. HIV-1 low-level viraemia assessed with 3 commercial real-time PCR assays show high variability. *BMC Infect Dis.* 2012; 12:100.
- 5 Portman MD1, Lacey CJ. Apparent low-level HIV RNA viraemia related to sample processing time. *HIV Med.* 2012; 13(9):578-9.
- 6 Anderson JA1, Archin NM, Ince W, Parker D, Wiegand A, Coffin JM, Kuruc J, Eron J, Swanstrom R, Margolis DM. Clonal sequences recovered from plasma from patients with residual HIV-1 viremia and on intensified antiretroviral therapy are identical to replicating viral RNAs recovered from circulating resting CD4+ T cells. *J Virol.* 2011; 85(10):5220–3.
- 7 Ho YC, Shan L, Hosmane NN, Wang J, Laskey SB, Rosenbloom DI, Lai J, Blankson JN, Siliciano JD, Siliciano RF. Replication-competent noninduced proviruses in the latent reservoir increase barrier to HIV-1 cure. *Cell* 2013;155(3):540–51.
- 8 Zheng L, Taiwo B, Gandhi RT, Hunt PW, Collier AC, Flexner C, Bosch RJ. Factors associated with CD8+ T-cell activation in HIV-1-infected patients on long-term antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2014; 67(2):153–60.
- 9 Zoufaly A, Kiepe JG, Hertling S, Hüfner A, Degen O, Feldt T, Schmiedel S, Kurowski M, van Lunzen J. Immune activation despite suppressive highly active antiretroviral therapy is associated with higher risk of viral blips in HIV-1-infected individuals. *HIV Med.* 2014; 15(8):449–57.

## Unsere Experten

**Chemsex-Beratung:** Dr. med. Martin Viehweger **Dermatologie:** Dr. med. Robert Jablonka **Endokrinologie:** PD Dr. med. Frank Ackermann  
**Genetik:** Dr. Dipl. Biol. Eckart Schnakenberg **Gynäkologie:** PD Dr. med. Andrea Gingelmaier **Hepatologie:** PD Dr. med. Christian Wasmuth,  
 Prof. Dr. med. Markus Cornberg, Dr. med. Patrick Ingiliz **Immunologie:** Dr. med. Hans Heiken **Infektiologie:** Dr. med. Tim Kümmerle,  
 Dr. med. Anja Meurer, Prof. Dr. med. Jürgen Rockstroh, PD Dr. med. Christoph Wyen, Dr. med. Christoph D. Spinner **Kardiologie:** Dr. med. Jost Stalke  
**Klinische Forschung:** Dr. Eva Wolf, MPH **Lipidologie:** Prof. Dr. med. Werner Richter **Datenmanagement:** Dr. med. Stefan Preis  
**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., Dipl. Pharm. Nico Kraft  
**Pneumologie:** Dr. med. Meike Probst **Psychiatrie:** Dr. med. Christian Perro **Virologie:** Dipl. Biol. Patrick Braun, PD Dr. med. Jens Verheyen  
**Arzt- und Medizinrecht:** Christoph Klein – Rechtsanwalt

Mit freundlicher Unterstützung von

abbvie



InXfo hat die Informationen nach bestem Wissen recherchiert. Durch die fortschreitende Forschung auf dem Gebiet HIV/Hepatitis kann keine Verantwortung und Haftung für die Vollständigkeit oder Richtigkeit der Newsletter-Inhalte übernommen werden.

**Herausgeber:** InXfo GmbH, Hirzstraße 17, 50937 Köln  
**Logistik-Team:** Patrick Braun, Leonie Meemken, Eva Wolf  
**Technischer Support:** Stefan Preis, Clinovate  
**Foto:** Gunther Willinger

