

Aus der Klinik für Kinder-Onkologie, -Hämatologie und Klinische  
Immunologie der Heinrich Heine Universität Düsseldorf

Direktor: Prof. Dr. Arndt Borkhardt

Titel der Dissertation:

HIV-1 Subtypenverteilung und Prävalenz von Primärresistenzen  
in einer pädiatrischen Kohorte der Kinderklinik Düsseldorf

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Nadja Maria Michalsky

2021

Als Inauguraldissertation gedruckt mit der Genehmigung der  
Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachterin: PD Dr. med. Jennifer Neubert

Zweitgutachter: Prof. Dr. med. Colin R. MacKenzie

Diese Arbeit widme ich meiner Familie und vor allem meinem geschätzten  
Wegbegleiter, Freddy.

Danke für Eure Liebe und geduldige Unterstützung.

Danke auch an alle meine engen und langjährigen Freundinnen, die ich  
niemals missen möchte.

## **Auflistung der Publikationen**

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Neubert, J., Michalsky, N., Laws, H. J., Borkhardt, A., Jensen, B., & Lübke, N. (2016). HIV-1 subtype diversity and prevalence of primary drug resistance in a single-center pediatric cohort in Germany. *Intervirology*, 59(5-6), 301-306.

## Zusammenfassung

Der Ausbau der antiretroviralen Therapie in den letzten Jahren hat zu einer erheblichen Verringerung der HIV-1 Mortalität geführt und die Lebenserwartung der HIV-Infizierten stark verbessert. Die Schattenseite dieser positiven Entwicklung ist jedoch ein Anstieg der Resistenzrate gegenüber der antiretroviralen Medikation und vor allem der übertragenen Resistenzmutationen. Diese Primärresistenzen können bei fehlender Resistenztestung zu einem Therapieversagen der Erstlinientherapie führen und bedeuten besonders für Kinder, mit bereits eingeschränkten Therapieoptionen, ein erhöhtes Risiko für ein Therapieversagen.

Das Vorkommen von Primärresistenzen ist nach Einführung der ART deutlich angestiegen und erst in den letzten Jahren ist eine Stagnation in ressourcenreichen Regionen zu verzeichnen. Aufgrund dessen ist eine Resistenztestung vor Beginn einer ART essentiell. Nur so kann eine resistenz-orientierte und somit optimale HIV-Therapie erfolgen. Zusätzlich dazu liefert der globale Einsatz von Resistenztestungen epidemiologische Daten, die zur Beurteilung der weltweiten Resistenzentwicklung der HIV-1 Infizierten wichtig sind.

Aus diesem Grund haben wir diese Studie durchgeführt. Dazu haben wir Daten von HIV-infizierten Kindern ausgewertet, die sich im Zeitraum von 2005 bis 2015 in der Kinderklinik der Heinrich-Heine Universität Düsseldorf vorgestellt haben. Unsere Studie erfasst die Prävalenz von HIV-1 Subtypen und Primärresistenzen dieser pädiatrischen Kohorte.

Mit Hilfe der HIV-Datenbank der Stanford Universität (HIVDB) haben wir die Resistenzmutationen unserer Kohorte ausgewertet ([www.hivdb.stanford.edu](http://www.hivdb.stanford.edu)). Der dominierende Subtyp unserer Kohorte waren *non-B* Subtypen mit 76%. Der Anteil der Patienten mit Primärresistenzen erreichte in unserer Kohorte einen Wert von 30%.

Vergleicht man unsere Primärresistenzrate mit den Daten anderer Industrienationen, ist unsere Prävalenz relativ hoch. Andere pädiatrische Kohorten aus Europa (Großbritannien, Frankreich, Spanien) zeigten Raten von ca. 7, 8 bzw. 14% und bei zwei amerikanischen Kohorten lag die Primärresistenzrate bei 19 bzw. 24%.

Die Primärresistenzrate einer erwachsenen Kohorte aus Deutschland (RESINA) ist ebenfalls geringer und liegt bei 9,2%. Des Weiteren zeigen sich im Vergleich mit der erwachsenen Kohorte Unterschiede in der Subtypenverteilung, der Herkunft und dem vorliegenden Transmissionsmodus.

Darüber hinaus haben wir einen Vergleich zwischen der Resistenzentwicklung in Industrienationen und ressourcenarmen Regionen, wie beispielsweise Subsahara Afrika, angestellt, wo die Resistenzentwicklung in den letzten Jahren eine drastische Progression gezeigt hat. Aus diesem Grund sollte in diesen Ländern zusätzlich zum Ausbau der ART eine Verbesserung der Zugangsmöglichkeiten zu Resistenztestungen erfolgen.

Insgesamt unterstreicht diese Arbeit die Relevanz eines Ausbaus der Datenlage zur Erfassung der Entwicklung von Resistenzmutationen, vor allem von Primärresistenzmutationen. In diesem Rahmen wollen wir den Stellenwert einer Resistenztestung vor Therapiebeginn betonen, um einen Therapieerfolg für den HIV-Patienten im Einzelnen gewährleisten zu können und durch dieses Mittel die Resistenzlage und deren globale Auswirkungen zukünftig beurteilen zu können.

## Abstract

The result of the roll-out of ART is a decreasing HIV-1 mortality and an improving life expectancy of HIV-1 infected people. The disadvantages of this positive development is an increase in the prevalence of drug resistance mutations (DRM). Especially transmitted drug resistance mutations (TDRM) have increased rapidly in the first years of ART and only during the last few years there can be observed a stagnation of TDRMs in resource-rich regions.

If resistance testing is missed out TDRMs may compromise first-line therapy regimes. Most notably children suffer from this reduction of therapeutic options, because the prognosis of an HIV-infection is already endangered through hindered conditions of therapy for children.

TDRMs can either be the cause or the result of a treatment failure and for this reason resistance testing is an essential element in resistance-adapted HIV-therapy. In addition the global use of resistance testing provides epidemiological information on the further development of HIV-1 DRMs. Therefore we decided to contribute to this matter of importance through analyzing data of a pediatric cohort from the „*Kinderklinik of the Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf*“.

The observation period extends from the year 2005 to 2015 and our study includes the prevalence of the HIV-1 subtypes and TDRMs of this pediatric cohort. Consequently this study should make a contribution to the data regarding these topics, because especially studies on pediatric patients in this field are scarce.

The evaluation of our patient's HIV-1 DRMs was carried out with assistance of the HIV-database (HIVDB) of the Stanford University ([www.hivdb.stanford.edu](http://www.hivdb.stanford.edu)).

The predominant subtypes in our cohort were non-B subtypes, which were present in 76% of our patients. Furthermore the proportion of patients with TDRMs reached a value of 30%.

To estimate the data of our study we compared them to other pediatric cohorts in industrial nations and one adult study from Germany (RESINA). The result was that our ratio of TDRMs was relatively high in comparison to these pediatric studies of European countries (Great Britain, France and Spain) where the prevalence of TDRMs yielded values of 7%, 8% and accordingly 14%. Two pediatric cohorts in the USA showed rates of TDRMs of 19% and accordingly 24%.

A study performed in HIV-infected adults in Germany (RESINA) also showed a lower TDRM-prevalence (9,2%). Additionally we revealed several differences between our pediatric cohort and the adult cohort, such as the distribution of HIV-1 subtypes, the patient's origin and the transmission mode.

Over and above we contrasted the progression of TDRMs in industrial nations to resource-limited settings, for example subsaharan Africa, where TDRMs are emerging dramatically over the last years. Hence next to the improvement of ART-availability, also access to resistance testing needs to be enhanced in the next years.

Finally our study underlines the significance to extent the acquisition of data concerning the development of DRMs, especially TDRMs. In this regard we want to emphasize the importance of resistance testing before initiating ART in order to ensure a successful first-line therapy for HIV-1 infected patients and also for extending the global data acquisition concerning TDRMs through this measure.

## Abkürzungsverzeichnis

ABC	Abacavir
ART	Antiretrovirale Therapie
ATV/r	Atazanavir/Ritonavir
AZT	Zidovudin
cART	antiretrovirale Kombinationstherapie
CCR-5	C-C-Motiv-Chemokin-Rezeptor 5
CDC-Stadium	<i>Centers for Disease Control and Prevention-Stadium</i>
CD4-Zellzahl	<i>Cluster of differentiation 4-Zellzahl</i>
CHER	<i>Children with HIV Early Antiretroviral Therapy</i>
COBI	Cobicistat
Cpx	<i>complex</i>
CRFs	<i>circulating recombinant forms</i>
ddl	Didanosin
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DRM	<i>Drug resistance mutation</i>
DRV/r	Darunavir/Ritonavir
DTG	Dolutegravir
d4T	Stavudin
EFV	Efavirenz
EVG	Elvitegravir
FTC	Emtricitabin
gp120	Glykoprotein 120
HIV-1	<i>Human Immunodeficiency Virus type 1</i>
HIVDB	<i>HIV Drug Resistance Database</i>
INI	Integrase-Inhibitor
LMICs	<i>Low and middle income countries</i>
LPV/r	Lopinavir mit Ritonavir
MTCT	<i>Mother-to-child transmission</i>
NNRTI	Nicht-Nukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren
NRTI	Nukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren
NVP	Nevirapin
PI	Protease-Inhibitoren
PMTCT	<i>Prevent mother-to-child transmission</i>
RAL	Raltegravir
RNA	Ribonukleinsäure
RPV	Rilpivirine
SDRM list	<i>Surveillance of transmitted drug mutations list</i>
SPREAD	<i>Strategy to control spread of HIV drug resistance</i>
Stanford HIVDB	Stanford HIV-Datenbank

TAM	Thymidinanaloga-Mutationen
TDF	Tenofovir
<i>TDRM</i>	<i>Transmitted drug resistance mutation</i>
<i>WHO</i>	<i>World Health Organization</i>
3TC	Lamivudin
ZDV	Zidovudin

# Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung .....	7
1.1	Die HIV-Infektion bei Kindern und primäre Resistenzmutationen .....	7
1.1.1	HIV-Übertragung auf Kinder .....	8
1.1.2	Prävention einer HIV-Übertragung von der Mutter auf das Kind .....	9
1.1.3	Diagnosestellung bei HIV-1-infizierten Kindern .....	10
1.2	Antiretrovirale Therapie bei Kindern .....	10
1.2.1	Therapiebeginn bei HIV-1-infizierten Kindern im Vergleich zu Erwachsenen .....	13
1.2.2	Therapieüberwachung bei pädiatrischen HIV-Patienten .....	14
1.3	HIV-1 Subtypen .....	14
1.4	Entwicklung von HIV-Resistenzen gegen antiretrovirale Medikamente .....	15
1.4.1	Definitionen und der Resistenzbegriff .....	15
1.4.2	Resistenzen und deren Bedeutung .....	15
1.4.3	Entstehung von Resistenzen .....	16
1.4.4	Resistenzmechanismen .....	17
1.4.5	Persistenz von Resistenzmutationen .....	19
1.5	Methoden der Resistenztestung .....	20
1.6	Aufbau und Funktionsweise der HIV-Datenbank der Universität Stanford .....	20
1.7	Zielsetzung dieser Arbeit .....	22
2	Methoden .....	23
2.1	Datengrundlage .....	23
2.2	Auswertung der Resistenzen .....	23
2.3	Datenbank für HIV-Resistenzmutationen der Universität Stanford .....	24
2.4	Auswertung von Resistenzmutationen mittels der Stanford HIV-Datenbank .....	24
2.5	Anwendung der beschriebenen Methoden in der vorliegenden Dissertation .....	26
3	Ergebnisse .....	28
3.1	Charakteristika der Patientenkohorte .....	28
3.2	Prävalenz der HIV-Subtypen .....	32
3.3	Prävalenz von Resistenzmutationen bei therapienaiven Kindern .....	35
3.4	Auswirkungen der Resistenzmutationen .....	41
4	Diskussion .....	47
4.1	Beschreibung und Auswertung der Resistenzmutationen in unserer Kohorte und Vergleich zu Studien aus Europa und den USA .....	47
4.2	Vergleich von pädiatrischen Resistenz-Daten aus Industrienationen zu ressourcenarmen Ländern .....	51
4.3	Die globale Subtypenverteilung und ein Vergleich der Subtypenverteilung unserer Kohorte mit ähnlichen Studien aus Industrienationen .....	54
4.4	Auswertung von Resistenzmutationen im Zusammenhang mit dem HIV-Subtyp .....	55

4.5	Entwicklung der Primärresistenzrate in Deutschland und Vergleich zu Europa.....	56
4.6	Vergleich Subtypenverteilung und Primärresistenzen unserer pädiatrischen Kohorte zu einer Kohorte Erwachsener aus Deutschland (RESINA) .....	58
4.7	Schlussfolgerungen: Auswirkungen der Resistenzentwicklung .....	59
4.8	Fazit .....	60
5	Literatur- und Quellenverzeichnis .....	62
6	Abbildungsverzeichnis .....	73
7	Danksagung.....	74

# 1 Einleitung

## 1.1 Die HIV-Infektion bei Kindern und primäre Resistenzmutationen

Durch den leichteren Zugang zur antiretroviralen Therapie (ART) und die zunehmende Effektivität hat sich die Prognose der Patienten mit einer Infektion mit dem *Human Immunodeficiency Virus type 1 (HIV-1)* in den letzten Jahren deutlich gewandelt (1). Die Mortalität ist stark gesunken und die meisten perinatal infizierten Kinder erreichen heute das Erwachsenenalter (2, 3).

Die HIV-1 Infektion ist in den letzten Jahren zu einer chronischen Erkrankung geworden, die eine lebenslange Therapie erfordert (4). Diese lebenslange Behandlung ist bei HIV-infizierten Kindern aus verschiedenen Gründen deutlich komplexer (siehe Kapitel: ART bei Kindern) und unterscheidet sich in vielen Punkten von der HIV-Therapie im Erwachsenenalter (1, 5).

Des Weiteren ist das Risiko eines virologischen Versagens bei Kindern doppelt so hoch wie bei Erwachsenen (5) und in Entwicklungsländern mit limitierten medizinischen Ressourcen, wie beispielsweise Afrika, kommt es sogar bei bis zu 40% der pädiatrischen HIV-Patienten zu einem Therapieversagen (6). Zu diesen Therapieerschwerenden Faktoren für HIV-infizierte Kinder addiert sich in den letzten Jahren zunehmend das Problem einer voranschreitenden Übertragung von resistenten HIV-Stämmen (1, 5).

Sowohl primäre durch die Mutter übertragene, als auch sekundäre durch ART erworbene Resistenzmutationen stellen eine Gefahr für den Therapieerfolg dar. Insbesondere Primärresistenzen sind in Ländern mit mittlerem und niedrigem Einkommen in den letzten Jahren immer häufiger zu finden und können zu einer verringerten Wirksamkeit oder sogar zu einem Versagen der Erstlinientherapie führen (7). Die Entstehung dieser primären Resistenzmutationen bei Kindern kann durch die antiretrovirale Vorbehandlung der Mutter und die Prophylaxe des Neugeborenen begünstigt werden (1, 8).

Zwar konnte die vertikale Übertragung der HIV-Infektion durch eine effektive Transmissionsprophylaxe drastisch gesenkt werden (9, 10), jedoch zeigt sich bei erfolgloser Prophylaxe ein vermehrtes Auftreten von Primärresistenzen (1, 8). Die ohnehin erschwerte Auswahl eines wirksamen Therapieregimes für HIV-infizierte Kinder gestaltet sich durch übertragene und erworbene Resistenzmutationen zunehmend komplizierter (1, 5). Resistenzmutationen sind also ein wichtiger therapielimitierender Faktor in der pädiatrischen HIV-Therapie (1). In Entwicklungsländern bedeuten diese Medikamentenresistenzen oftmals, dass die bereits begrenzt vorhandenen Therapieoptionen noch weiter eingeschränkt werden (5).

Um die Patienten trotzdem optimal behandeln zu können, wird eine stetige Anpassung empfohlener Medikamentenregime der Erstlinientherapie, sowie eine Resistenztestung vor Einleitung einer ART immer bedeutsamer (1, 7).

Als Reaktion auf die Resistenzlage wird in den deutschen Leitlinien seit 2006 und in den Leitlinien für Europa (PENTA) seit 2009 eine Resistenztestung nicht nur bei Therapieversagen, sondern bereits vor Einleitung einer antiretroviralen Therapie (ART) im Kindesalter empfohlen (1, 11, 12).

In Ländern mit limitierten Ressourcen sind Resistenztests jedoch bisher keine Routine-Maßnahme, was bei Vorhandensein von übertragenen Resistenzmutationen (*transmitted drug resistance mutations (TDRM)*) den Erfolg der Erstlinientherapie gefährden kann. Meist werden Resistenztestungen in diesen Entwicklungsländern lediglich bei Therapieversagen durchgeführt und nicht bei therapienaiven Patienten. Gründe hierfür sind das Ausmaß der Kosten und der hohe Aufwand, den eine regelmäßige Testung mit sich bringt (5).

Neben der beschriebenen Bedeutung von übertragenen Resistenzmutationen für neu-infizierte Patienten und vor allem für Kinder, ist außerdem die Bedeutung dieser Primärresistenzen für die HIV-Infektion als globale Epidemie zu beachten. Letztendlich könnte ein unbeobachtetes Fortschreiten der Resistenzentwicklung Auswirkungen auf die gesamte Welt haben (13). Eine deutlichen Zunahme der AIDS-Mortalität und der Neuinfektionen sind, im Falle einer unkontrollierten Expansion der Primärresistenzrate, vor allem in Subsahara-Gebieten Afrikas zu erwarten (7).

Auch die WHO erkennt die Gefahren, welche von der ansteigenden Rate an übertragenen Resistenzmutationen ausgeht und reagiert auf die aktuelle Resistenzlage mit Anpassungen der Leitlinien (14).

Die Datenlage zu HIV-1-Resistenzmutationen ist sehr spärlich und besonders im Kindesalter gibt es nur wenige Studien. Diese Arbeit erfasst zum ersten Mal Resistenzmutationen von HIV-1-infizierten Kindern in Deutschland. Ein Ausbau der bisherigen Datenlage soll zur Beobachtung und zum besseren Verständnis der HIV-1-Resistenz-Problematik beitragen, damit weitere Maßnahmen ergriffen werden können (1, 15).

### **1.1.1 HIV-Übertragung auf Kinder**

Die Zahl von HIV-infizierten Kindern unter 15 Jahren weltweit beläuft sich auf ca. 1,8 Millionen, wovon der überwiegende Teil in Ländern mit mittlerem und niedrigem Einkommen leben (16). Die geschätzte Anzahl an pädiatrischen Neuinfektionen weltweit beträgt ca. 240.000 jährlich (17).

Der häufigste Transmissionsweg des HI-Virus auf Kinder ist der vertikale Weg, also eine Übertragung von der Mutter auf das Kind (*mother-to-child transmission (MTCT)*). Die Virusübertragung kann intrauterin, intrapartal oder postpartal, durch den Stillvorgang, erfolgen (18). Nur in Ausnahmefällen (ca. 5% der HIV-infizierten Kinder)

kommt es zu einer horizontalen HIV-Transmission auf Kinder, beispielsweise durch sexuellen Missbrauch oder Transfusionen (19).

Dank guter therapeutischer Möglichkeiten ist eine Transmission des HI-Virus heute sehr gut vermeidbar (20).

### **1.1.2 Prävention einer HIV-Übertragung von der Mutter auf das Kind**

Verschiedene Maßnahmen werden zur Verhinderung einer HIV-Übertragung von der Mutter auf das Kind (sog. *Prevent mother-to-child transmission (PMTCT)*) empfohlen. Hierzu zählen sowohl eine medikamentöse Therapie der Mutter vor und während der Geburt, sowie eine postpartale Postexpositionsprophylaxe des Neugeborenen. Zusätzlich können weitere Maßnahmen, wie ein Stillverzicht oder der Verzicht auf eine vaginale Entbindung, zur Verringerung des Transmissionsrisikos beitragen (10).

Ein wichtiger Faktor für die HIV-Übertragung ist die Viruslast der Mutter. Je höher die mütterliche Viruslast, desto höher ist das Transmissionsrisiko (21, 22). Aus diesem Grund soll die Viruslast während der Schwangerschaft und vor allem vor der Geburt durch den Einsatz von ART, im Rahmen einer Transmissionsprophylaxe, gesenkt werden (22). Insgesamt sollen aus den genannten Gründen in Deutschland alle HIV-infizierten Schwangeren einer ART zugeführt werden (23).

Die Deutsch-Österreichischen Leitlinien empfehlen eine risikoadaptierte Postexpositionsprophylaxe. Eine Zidovudin-Gabe für vier Wochen wird als Transmissionsprophylaxe für Neugeborene empfohlen, deren Mutter während der Geburt eine Viruslast von unter 1000 Kopien/ml aufweist. Liegt die Viruslast sogar unterhalb von 50 Kopien/ml ist eine Einnahmedauer von zwei Wochen ausreichend (23).

Hingegen kann auch eine erweiterte postnatale Prophylaxe notwendig werden, wenn beispielsweise die Mutter vor der Entbindung keine ART eingenommen hat oder vor der Geburt eine erhöhte maternale Viruslast nachgewiesen wird. In dieser Situation wird eine Kombination aus beispielsweise aus Zidovudin (AZT), Lamivudin (3TC) und/oder Nevirapin (NVP) empfohlen (23).

Neben einer medikamentösen Prophylaxe spielen auch andere Maßnahmen, wie ein Stillverzicht, eine wichtige Rolle bei der Verhinderung einer HIV-Übertragung. Das Risiko einer HIV-Übertragung wird durch den Stillvorgang erhöht, sodass in Deutschland vom Stillen eher abgeraten wird (23).

Für ressourcenarme Länder empfiehlt die *WHO*, dass das Stillen bis zum 6. Lebensmonat durchgeführt werden soll, da alternative Säuglingsnahrung meist nur schlecht verfügbar ist (13, 23). Gestillte Kinder, bei denen das Risiko einer HIV-Transmission besteht, sollten eine verlängerte Prophylaxe mit Zidovudin (AZT bzw. ZVD) und NVP oder NVP alleine, für weitere sechs Wochen erhalten (13). Diese verlängerte ART-Einnahme birgt jedoch ein hohes Risiko für eine Resistenzentstehung (23).

Darüber hinaus ergibt sich aus dem in der Muttermilch enthaltenen subtherapeutischen Medikamentenspiegel ein weiterer begünstigender Faktor für die Entstehung von Resistenzmutationen (24).

Trotz der heutzutage vorhandenen Möglichkeit einer sehr effektiven Transmissionsprophylaxe gibt es verschiedene Szenarien, in denen eine Virusübertragung von der Mutter auf das Kind möglich ist. Dazu gehören zum Beispiel ein fehlender Zugang zur Transmissionsprophylaxe, eine unbekannte HIV-Infektion der Mutter oder eine unvollständige Einnahme der Prophylaxe (25).

Das Risiko einer vertikalen HIV-Übertragung wurde in ressourcenreichen Regionen durch die Anwendung einer Transmissionsprophylaxe auf unter ein Prozent gesenkt (10, 26). Wenn keine Transmissionsprophylaxe erfolgt, liegt das Risiko einer vertikalen HIV-Übertragung bei über 25% (9, 18). Durch den verbreiteten Einsatz von ART als Transmissionsprophylaxe konnte weltweit im Zeitraum von 2010 bis 2017 eine Neuinfektion von insgesamt 1,4 Millionen Kindern verhindert werden (27).

Kommt es trotz einer Transmissionsprophylaxe zu einer Virusübertragung, liegt dies häufig in einer suboptimalen Suppression der Viruslast begründet, welche entweder das Resultat einer mangelnden Therapieadhärenz oder einer unzureichenden Therapiedauer sein kann (10). In diesen Fällen lassen sich häufiger resistente HIV-Stämme, sogar bei therapienaiven Kindern, nachweisen (8). Der verbesserte Zugang zur ART und Transmissionsprophylaxe birgt also das Risiko einer fortschreitenden Entwicklung von primären und sekundären Resistenzmutationen (8).

### **1.1.3 Diagnosestellung bei HIV-1-infizierten Kindern**

In Deutschland werden zum Ausschluss einer HIV-Infektion in den ersten zwei Lebensjahren zwei negative HIV-PCR Ergebnisse gefordert. Um Diagnose einer HIV-Infektion stellen zu können, soll entweder HIV-spezifische DNA aus Lymphozyten oder HIV-spezifische RNA aus EDTA Plasma mit Hilfe einer PCR gewonnen werden. Da die HIV-1-PCR in den ersten drei Monaten keine 100%-ige Sensitivität aufweist, sollte das Kind beim zweiten Test mindestens drei Monate alt sein (28).

Zur Diagnosestellung einer vertikal übertragenen HIV-Erkrankung ist ein Antikörper-Nachweis nicht ausreichend, da Kinder einer HIV-positiven Mutter in den ersten ein bis zwei Jahren HIV-Antikörper aufweisen (29).

## **1.2 Antiretrovirale Therapie bei Kindern**

Durch die Möglichkeit einer antiretroviralen Kombinationstherapie (cART) ist HIV zumindest in Industrieländern oftmals keine tödliche Erkrankung mehr und die Krankheitsprogression kann durch eine lebenslange Therapie unterdrückt werden (5).

Die HIV-1-Therapie konnte innerhalb der letzten Jahre in erheblichem Umfang weiterentwickelt werden (13, 30). Hierbei ist insbesondere die Entwicklung neuer antiretroviraler (ARV) Substanzen mit verbesserter Wirksamkeit und Sicherheit zu nennen (13).

Ein weiterer Fortschritt ist die zunehmend bessere Versorgung mit antiretroviralen Substanzen, sodass auch in Entwicklungsländern eine adäquate ART in zunehmendem Maße möglich ist (13). Darüber hinaus sind neuere Medikamentenklassen, wie die Integrase-Inhibitoren, nun auch für Entwicklungsländer finanziell erschwinglich geworden (13).

Mit Hilfe stetig optimierter Therapiemöglichkeiten kann man auch HIV-infizierten Kindern heute eine gute Lebensqualität und eine annähernd normale Lebenserwartung ermöglichen (29, 31).

Die ART bei Kindern gestaltet sich aus verschiedenen Gründen erheblich schwieriger, als bei erwachsenen Patienten und ein Therapieerfolg, im Sinne einer Viruslastsuppression unter die Nachweisgrenze, ist deutlich schwieriger zu erreichen als bei erwachsenen HIV-Patienten (5, 15).

Ein Faktor, der die HIV-Therapie bei Kindern erschwert ist beispielsweise, dass nicht alle vorhandenen antiretroviralen Substanzen für den pädiatrischen Gebrauch genehmigt oder in pädiatrischen Kompositionen erhältlich sind. Nur 25% der für erwachsene HIV-Patienten zugänglichen antiretroviralen Medikamente haben eine Zulassung für die Anwendung im pädiatrischen Bereich (16).

Das Problem der eingeschränkten Therapiemöglichkeiten für Kinder wird durch die fortschreitende Resistenzentwicklung verschärft. Sowohl primäre, also übertragene Resistenzmutationen, als auch sekundär erworbene Resistenzen stellen eine Gefahr für den Therapieerfolg dar. Für beide Resistenzformen haben pädiatrische Patienten ein erhöhtes Risiko (5). Primärresistenzen können durch eine ART der Mutter oder eine Prophylaxe von Mutter oder Kind begünstigt werden (8).

Sekundärresistenzen hingegen werden beispielsweise durch die lange Therapiedauer pädiatrischer Patienten begünstigt (5). Andere Faktoren, welche die Entstehung von sekundären Resistenzmutationen im Therapieverlauf pädiatrischer Patienten fördern können sind eine schlechte Therapieadhärenz, Unterdosierung der Medikamente und dadurch zu niedrige Wirkstoffspiegel im Plasma oder suboptimale Therapiekombinationen (5).

Ein weiterer erschwerender Faktor in der pädiatrischen HIV-Therapie ergibt sich aus dem weitaus aggressiveren Krankheitsverlauf der Infektion. Ohne ART wird die Mortalität der pädiatrischen HIV-Patienten im ersten Lebensjahr auf bis zu ein Drittel geschätzt (29), sodass eine Therapie unumgänglich ist und in allen aktuellen Leitlinien für Kinder direkt nach Diagnosestellung empfohlen wird (11, 16, 29).

Des Weiteren ist bei der Medikamentenwahl vor allem in der Pädiatrie vermehrt auf Verträglichkeit und Nebenwirkungsprofil zu achten. Auch Faktoren, wie eine

erleichterte Einnahme von Kombinationspräparaten, sollten zu Gunsten der Therapieadhärenz und damit zur Sicherung eines Therapieerfolgs miteinbezogen werden (5, 11).

Ähnlich wie bei erwachsenen HIV-Patienten wird die ART auch bei Kindern als Kombinationstherapie durchgeführt, was zur Sicherung des Therapieerfolgs und zur Reduktion der Resistenzentwicklung dient (32).

Es werden verschiedene antiretrovirale Medikamente kombiniert, wobei diese ihre Wirkung durch den Angriff unterschiedlicher Virusbestandteile entfalten (4, 33, 34). Insgesamt führen alle antiretroviralen Substanzen zu einer Unterbrechung der Virusvermehrung und senken dadurch letztendlich die Viruslast (34, 35).

Es gibt sechs Medikamentenklassen mit verschiedenen Wirkmechanismen, welche für die ART in unterschiedlicher Weise miteinander kombiniert werden (34). Zu diesen sechs Klassen zählen die folgenden Medikamente: Nukleosidischen Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (NRTIs), Nicht-nukleosidischen Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (NNRTIs), Proteaseinhibitoren (PIs), Integraseinhibitoren (INIs) bzw. Integrase-Strang-Transfer-Inhibitoren (INSTIs) und zuletzt die Eintritts-Inhibitoren mit den Korezeptor-Antagonisten (bestehend aus Attachment-Inhibitoren (AIs) und CCR5-Antagonisten) und den Fusionsinhibitoren (T20= Enfuvirtide).

Die in der ART gebräuchliche Kombinationstherapie besteht, laut den Deutsch-Österreichischen Leitlinien, den europäischen Leitlinien sowie den *WHO*-Leitlinien, zunächst aus zwei NRTI, die einen sog. *Backbone* bilden. Dieser *NRTI-Backbone* wird dann mit einem NNRTI, einem PI oder einem INI kombiniert (13, 26, 28).

Im Rahmen der sogenannten *PENPACT1* Studie konnte kein signifikanter Unterschied zwischen einem NNRTI-basierten Regime im Vergleich zu einer PI-basierten ART dokumentiert werden. Jedoch sollte eine peripartale NVP-Exposition mit der Gefahr einer Resistenzentwicklung bei der Therapieauswahl beachtet werden (28).

Die Auswahl der eingesetzten antiretroviralen Substanzen ist abhängig von verschiedenen Faktoren, wie zum Beispiel Altersklasse, Resistenzprofil, Koinfektionen und Nebenwirkungsprofil (28). Laut den aktuellen Deutsch-Österreichischen Leitlinien zur antiretroviralen Therapie der HIV-Infektion bei Kindern und Jugendlichen Stand März 2019 sollen nach Möglichkeit Abacavir (ABC) und Lamivudin (3TC) als *Backbone* eingesetzt werden, da sie sich im Vergleich zu einem *Backbone* bestehend aus Zidovudin (AZT, ZDV) und 3TC in der PENTA-5-Studie, als vorteilhaftere Kombination herausstellten (28). Andere Kombinationen können abhängig vom Lebensalter eingesetzt werden (z.B. bei Säuglingen unterhalb der vierten Lebenswoche ZVD und 3TC oder bei den über drei Jährigen Tenofovir (TDF) mit FTC) (28).

Auch die Auswahlmöglichkeiten der dritten antiretroviralen Substanz, welche gemeinsam mit einer der oben aufgeführten NRTI-Kombinationen verabreicht wird, sind je nach Alterklassen unterschiedlich. In Frage kommen hierbei folgende Substanzen: NVP, LPV/r, Raltegravir (RAL) bis zum dritten Lebensjahr und Atazanavir

mit Ritonavir (ATV/r), Darunavir/Ritonavir (DRV/r) oder RAL bei drei bis sechs Jährigen. Bei über sechs Jährigen zählt zusätzlich noch Dolutegravir (DTG) zu den einsetzbaren Substanzen einer Erstlinientherapie (28).

Die Empfehlungen bezüglich der Erstlinien-Medikamente unterliegen einem ständigen Wandel, was beispielsweise in der Entstehung von Resistenzen oder der Entwicklung neuartiger Substanzen oder auch Substanzklassen begründet liegt.

### **1.2.1 Therapiebeginn bei HIV-1-infizierten Kindern im Vergleich zu Erwachsenen**

Der optimale Zeitpunkt für den Beginn einer ART bietet viel Diskussionspotential, sodass die Empfehlungen in den letzten Jahren mehrmals überarbeitet wurden. Im Rahmen der sog. START Studie (*Strategic Timing of AntiRetroviral Treatment (START) study*) wurde festgestellt, dass durch einen früheren Therapiebeginn die Prognose der Erkrankung deutlich verbessert werden kann (32, 36). Basierend auf Studien wie dieser vertritt die WHO aktuell eine sog. „Treat all“-Empfehlung, entsprechend derer alle HIV-Patienten eine ART erhalten sollen, ohne Beachtung der CD4-Zellzahl oder dem klinischen WHO-Stadium (*WHO clinical stage*) (13).

Obwohl die START Studie auf Daten von erwachsenen HIV-Patienten basiert, wird aktuell diskutiert, diese Studie auch als Grundlage für die Empfehlungen für Kinder und Jugendliche einzusetzen (37). Auch das pädiatrische europäische Netzwerk für HIV-Therapie (PENTA) empfiehlt aktuell, dass alle HIV-infizierten Kinder und Jugendlichen einer ART zugeführt werden sollen (28, 37).

Die Deutsch-Österreichischen Leitlinien weichen aktuell leicht von den genannten Empfehlungen der WHO sowie des pädiatrischen europäischen Netzwerkes (PENTA) ab. Gründe hierfür sind vor allem die fehlenden Studiendaten für Kinder und Jugendliche sowie die zu erwartenden, negativen Auswirkungen einer frühen Therapie-Einleitung, wie zunehmenden Nebenwirkungen und Toxizität der antiretroviralen Medikamente oder ein erhöhtes Risiko einer Resistenzentwicklung durch schlechtere Therapieadhärenz (28).

Während aufgrund dieser insuffizienten Datenlage bei Kindern und Jugendlichen noch Unsicherheiten bestehen, ist die Meinung hinsichtlich des empfohlenen Therapiebeginns bei Neugeborenen unumstritten und in Studien eindeutig nachgewiesen (28, 37). Besonders im Säuglingsalter ist eine rasche Progression der Krankheit zu verzeichnen, sodass durch die sog. *CHER-Studie (Children with HIV Early Antiretroviral Therapy)* ein deutlicher Benefit eines unmittelbaren ART-Beginns belegt werden konnte (11, 28, 29, 38).

## 1.2.2 Therapieüberwachung bei pädiatrischen HIV-Patienten

Die Zeitabstände der klinischen Therapieüberwachung eines HIV-infizierten Kindes, nach Einleitung einer ART, sind davon abhängig, ob insgesamt ein Therapieansprechen zu verzeichnen ist. Zusätzlich dazu wird nach Altersklassen unterschieden (29).

Als laborchemischer Parameter zur Verlaufsbeurteilung einer ART wird weitestgehend die Viruslast verwendet. Zusätzlich wird häufig die CD4-Zellzahl bestimmt, jedoch ist sie eher zur Beurteilung des immunologischen Status des Patienten geeignet (13). Ein virologischer Erfolg einer ART ist durch die längerfristige Suppression der Viruslast auf Werte unterhalb der Nachweisgrenze von 50 Kopien pro Milliliter definiert (13, 32). Wenn die Viruslast nach vorherigem Absinken wieder über 50 Kopien ansteigt, muss ein Therapieversagen ausgeschlossen werden (32).

Die Ursache eines Therapieversagens liegt meist in einer mangelnden Therapieadhärenz des Patienten begründet, da diese mit einem erhöhten Risiko für Resistenzmutationen behaftet ist. Mögliche weitere Gründe eines Therapieversagens sind zum Beispiel eine unzureichende Dosierung, eine verminderte Absorption oder beschleunigte Metabolisierung der Medikamente (32).

Da 70 bis 90% der erfolglosen HIV-Therapien auf Resistenzmutationen zurückgeführt werden können (7), sollte bei einem Therapieversagen unweigerlich eine Resistenztestung durchgeführt werden (32).

## 1.3 HIV-1 Subtypen

HIV-1 wird in verschiedene Gruppen unterteilt, welche mit den Buchstaben M (*main*), O (*outlier*) und N (*non-M/non-O*) benannt werden. Die meisten HIV-Infektionen werden durch Viren der Gruppe M verursacht. Diese Gruppe wird in verschiedene Subtypen mit den Buchstaben A bis K unterteilt. Zusätzlich dazu gibt es rekombinante Subtypen, sog. *circulating recombinant forms (CRFs)*, welche durch die Infektion eines Individuums mit zwei verschiedenen Subtypen entstehen (39). Die Abkürzung *cpx (complex)* kommt zur Anwendung, wenn mehr als drei Subtypen im viralen Genom vorhanden sind (40).

Weltweit zeigen die verschiedenen Subtypen unterschiedliche Verteilungsmuster (39). In den letzten Jahren ist der in der westlichen Welt hauptsächlich HIV-1 Subtyp B zu finden, obwohl weltweit nur 10% der HIV-Infektionen durch diesen Subtyp verursacht werden (39, 41). Weltweit am häufigsten vertreten sind die sogenannten *non-B* Subtypen, welche vor allem in Afrika und Indien, also Regionen mit den höchsten HIV-Prävalenzen, vorkommen. In diesen Gebieten macht der Subtyp C einen Großteil der HIV-Infektionen aus (42, 43).

Je nach vorliegendem Subtyp können sich Unterschiede in der Resistenzentwicklung ergeben. Für das Verstehen von Resistenzmechanismen können die verschiedenen Subtypen somit von großer Bedeutung sein (42-44).

## **1.4 Entwicklung von HIV-Resistenzen gegen antiretrovirale Medikamente**

### **1.4.1 Definitionen und der Resistenzbegriff**

Eine HIV-Resistenzmutation wird durch Veränderungen der genetischen Struktur des Virus verursacht. Diese Mutation kann dann dazu führen, dass das eingesetzte Medikament in seiner Funktion behindert wird und dadurch die Virusreplikation nicht mehr länger unterdrücken kann (14). Das Risiko, dass eine Medikamentenwirkung durch Resistenzmutationen zumindest teilweise außer Kraft gesetzt wird, besteht für alle bisherigen antiretroviralen Medikamente, auch für neuere Substanzklassen (14).

Die HIV-Medikamentenresistenzen lassen sich in verschiedene Kategorien einteilen. Eine Unterteilung ist die in Primär- und Sekundärresistenzen. Hierbei resultieren Sekundärresistenzen aus einer fortgesetzten Virusreplikation, trotz antiretroviraler Behandlung, wohingegen übertragene HIV-Resistenzmutationen (*TDRM*) bei therapienaiven Patienten, ohne eine ART-Vorgeschichte, auftreten. Diese übertragenen oder primären Resistenzmutationen entstehen durch die Übertragung eines bereits resistenten HI-Virusstammes auf einen zuvor nicht infizierten Patienten (14).

Resistenzmutationen können also entweder der Übertragung eines resistenten Virusstammes sein, oder durch ART-Behandlung erworben werden. Ein Beispiel für Letzteres sind Mütter und Kinder, die im Rahmen einer Prophylaxe einer ART ausgesetzt waren oder Patienten, bei denen eine ART nach vorheriger Therapiepause wieder aufgenommen wurde (14).

### **1.4.2 Resistenzen und deren Bedeutung**

Wie bereits erwähnt, ist der Anteil der sich in Therapie befindlichen HIV-Patienten ansteigend. Als negativer Nebeneffekt dieser Entwicklung zeigte sich zunächst ein Zuwachs an Resistenzmutationen (1, 7).

Durch den Fortschritt auf dem Gebiet der Versorgung von Entwicklungsländern mit ART, wächst die Zahl der Patienten mit Kontakt zu antiretroviralen Substanzen vor eigentlichem Beginn einer ART. Zu dieser Patientengruppe zählen beispielsweise Mütter bei denen eine Prophylaxe durchgeführt wurde oder Patienten, mit einem erneuten Beginn einer ART nach vorheriger Therapiepause (7). Dieser Umstand ist

problematisch, da der Kontakt mit antiretroviralen Substanzen vor dem eigentlichen Beginn einer ART das Risiko für Resistenzmutationen immens erhöht (1, 7, 14).

Eine Verschärfung des Problems ergibt sich aus der Transmission von HIV-1-Virusstämmen, die bereits Resistenzen aufweisen. Für diese therapienaiven, HIV-infizierten Patienten stehen von Anfang an weniger wirksame Medikamente zur Verfügung. Weiterhin besteht bei pädiatrischen HIV-Patienten durch den frühen Beginn der lebenslangen HIV-Therapie ein hohes Risiko, dass im Verlauf weitere Resistenzen dazukommen. Das Repertoire antiretroviraler Substanzen ist nicht unbegrenzt und eine Therapieumstellung auf Grund eines Therapieversagens kann sich im Krankheitsverlauf zunehmend schwieriger gestalten. Dieser Aspekt der erschöpflichen Therapieoptionen könnte eines der Hauptprobleme in der HIV-Therapie darstellen, die in Zukunft zu bewältigen sein werden (5, 7).

Zur Zeit lässt sich eine positive Tendenz, im Sinne einer Stagnation der Prävalenz von übertragenen Resistenzmutationen, in ressourcenreichen Ländern verzeichnen (45). Wohingegen die Rate der Primärresistenzen in ressourcenarmen Regionen weiterhin hoch ist (7, 46).

Zukünftig könnte die stetige Entwicklung neuer Medikamente für das Therapieoutcome vieler Patienten ausschlaggebend sein, denn nur dadurch kann das Angebot an wirksamen Therapie-Optionen aufrecht erhalten werden (7).

### **1.4.3 Entstehung von Resistenzen**

Tritt während der Therapie ein erneuter Anstieg der Viruslast auf, kann dies ein Hinweis auf eine Resistenzentwicklung im Virusgenom sein. Handelt es sich dabei lediglich um vorübergehende Ereignisse, so nennt man dies virale Blips, die hinsichtlich einer Resistenzentwicklung nur in geringem Maße risikobehaftet sind (47). Im Gegensatz dazu können sog. *Low-level-Virämien* (LLV), also wiederholte oder kontinuierliche Viruslasten im Bereich von 50 bis 500 Kopien pro Milliliter, das Ergebnis einer fehlenden Therapieadhärenz und Ausdruck einer unzureichend unterdrückten Virusreplikation sein (48). Im schlimmsten Fall können diese LLV auf Resistenzmutationen zurückzuführen sein (47, 48).

Wichtige Faktoren in der Entstehung resistenter Virusvarianten ist die Entstehung einer großen Anzahl neuer Viruspartikel innerhalb eines kurzen Zeitraumes, sowie eine hohe Fehlerrate bei dem Vorgang der reversen Transkription (49). In einem unbehandelten Patienten entstehen täglich ca. zehn Milliarden neue Viruspartikel (35, 49).

Ohne den zusätzlichen Selektionsdruck einer ART kommt es ebenfalls zur Entstehung neuer Virusvarianten, der sogenannten Quasispezies (50). Sie entstehen durch den hohen Umsatz an Viruspartikeln und durch Mechanismen wie natürliche Selektion und Neumutationen. Resistenzmutationen entwickeln sich jedoch nur unter dem Einfluss von ART (50). Dabei führt der medikamentöse Selektionsdruck dazu, dass sich

resistente Virusvarianten durch ihren Selektionsvorteil besser vermehren können und Überhand gewinnen. Auf diesem Weg kann eine Resistenz gegenüber dem verwendeten Medikament entstehen, wobei meist das Vorhandensein von mehreren Mutationen nötig ist, um eine ausgeprägte Resistenz hervorzurufen (49-51).

Allerdings kann in manchen Fällen das Vorliegen einiger weniger oder sogar einer einzigen Mutation ausreichen, um eine Medikamentenresistenz zu bewirken. Diese Substanzen weisen dann eine geringe genetische Barriere auf (52).

Um die Selektion von Resistenzmutationen zu verhindern, ist die Senkung der Viruslast und damit die Unterdrückung der Virusvermehrung von essentieller Bedeutung (52). Dafür ist eine möglichst hohe antivirale Effektivität des Medikaments und eine optimale Medikamenteneinnahme, zusätzlich zu einer möglichst hohen genetischen Barriere der ART unerlässlich (52). Aus diesem Grund ist das Risikopotential subtherapeutischer Wirkstoffspiegel sehr groß. Ursachen dieser unzureichenden Medikamenten-Plasmaspiegel sind beispielsweise Unterdosierung, fehlende Therapieadhärenz, schwache Resorption oder hohe Metabolisierung (5).

Der in den aktuellen Leitlinien der *WHO* empfohlene, frühzeitige Beginn einer antiretroviralen HIV-Therapie kann auch Vorteile hinsichtlich der Verhinderung der Entwicklung von Medikamentenresistenzen aufweisen (13). Durch einen frühen Beginn einer ART kann die fortschreitende Entstehung der Quasiespezies unterdrückt und zusätzlich das Risiko einer Resistenzentstehung verringert werden.

#### **1.4.4 Resistenzmechanismen**

Mutationen sind Veränderungen der Erbinformation und können verschiedene Konsequenzen nach sich ziehen. Bei einer Punktmutation werden einzelne Basenpaare gegen andere ausgetauscht. Drei dieser Basenpaare kodieren gemeinsam für eine Aminosäure (Triplet-Code) (53). Für die Beschreibung einer Resistenzmutation werden eine Zahl und zwei Buchstaben angegeben. Die Zahl beschreibt die Position, an der die Mutation innerhalb des Gens sitzt und die beiden Buchstaben stehen für die Aminosäuren für die das Codon vor (erster Buchstabe) und nach der Mutation (zweiter Buchstabe) kodiert (53).

Die Unterscheidung in polymorphe und nicht-polymorphe Mutationen gibt einen ersten Hinweis auf die Ursache der Resistenzmutation. Die Bezeichnung nicht-polymorph bedeutet, dass diese Mutation nur in der Gegenwart eines medikamentösen Selektionsdruckes entsteht. Im Gegensatz dazu tritt ein Polymorphismus oder eine polymorphe Mutation ohne den Einfluss von Medikamenten auf (54).

Im Bereich der NRTIs gibt es zwei verschiedene Resistenzmechanismen, die sterische Inhibition und die Phosphorolyse (55). Bei der sterischen Inhibition wird durch eine Mutation der Einbau von NRTIs verhindert, da das Reverse Transkriptase (RT) -Enzym

nun NRTI von den richtigen Bausteinen, den Nucleosidtriphosphaten unterscheiden kann. Dadurch können sie ihre Wirkung nicht mehr entfalten. Dieser Mechanismus greift bei folgenden Mutationen: M184V, Q151M, L74V und K65R (55-57).

Bei dem zweiten Resistenzmechanismus, der Phosphorolyse, kommt es zu einem Herauslösen von bereits eingebauten NRTI, was ebenfalls deren Wirkung verhindert. Dazu gehören die Mutationen M41L, D67N, K70R, L210W, T215Y und K219Q (55, 58).

Die Mutation K65R verhindert zwar einerseits, dass bereits eingebaute NRTI wieder herausgeschnitten werden, aber führt auf der anderen Seite zu einem verringerten Einbau von NRTI. Als Konsequenz dieser beiden gegensätzlichen Mechanismen ergibt sich, dass die Wirkung von NRTI durch diese Mutation in den meisten Fällen verringert wird. Bei AZT jedoch kommt es zu einer Resensitivierung gegenüber diesem Medikament (59).

Resistenzmechanismen gegen Thymidinanaloga sind nicht-polymorphe, also durch Medikamente hervorgerufene Mutationen (54), die vor allem durch AZT und Stavudin (d4T) entstehen (60, 61). Die klassischen Thymidinanaloga-Mutationen (TAM) sind die Mutationen M41L, D67N, K70R, L210W, T215Y/F und K219Q/E. Sie wurden erstmalig bei Patienten mit einer AZT-Monotherapie entdeckt (62). Sie können in zwei verschiedene Pfade eingeteilt werden, welche jedoch teilweise Überlappungen zeigen (63, 64). Zum TAM-1 Pfad gehören die Aminosäureaustausche M41L, L210W und T215Y und zum TAM-2 Pfad gehören die Austausch D67N, K70R, T215F und K219Q/E (63-65).

Unvorteilhaftere Auswirkungen auf die Sensibilität gegenüber der Medikamente ABC, Didanosin (ddI) oder TDF haben die Mutationen des ersten TAM-Pfades (63, 66).

NNRTIs hingegen wirken direkt gegen die RT, indem sie das aktive Zentrum blockieren. Mutationen im aktiven Zentrum können so die Bindung der NNRTIs verhindern, wodurch sie ihre Wirksamkeit verlieren (67).

Mutationen gegen PIs lassen sich in Haupt- (sog. *major mutations*) und Nebenmutationen (sog. *minor mutations*) unterteilen. Die Hauptmutationen können für Medikamentenresistenzen verantwortlich sein, wohingegen Nebenmutationen den Verlust der viralen Widerstandsfähigkeit kompensieren und zeitlich nach den Hauptmutationen auftreten (55).

Resistenzen gegenüber INIs sind das Ergebnis von bestimmten Mutationen im Integrase-Gen, wodurch die Medikamentenwirkung verringert wird (68). Die Zahl der Resistenzmutationen gegenüber INI nimmt zu, da immer mehr Patienten mit dieser Medikamentengruppe behandelt werden. Eine Übertragung von HI-Virusstämmen mit INI-Resistenzmutationen ist zur Zeit noch selten (69). Da auch in unserem

Patientenkollektiv kein Patient eine INI-Mutation aufweist, werden sie in dieser Arbeit nicht näher beschrieben.

Resistenzmutationen gegen C-C-Motiv-Chemokin-Rezeptor 5 (CCR5)-Antagonisten können die Affinität vom Oberflächenprotein Glykoprotein 120 (gp120) gegenüber dem CCR5-Molekül steigern, sodass das Medikament daraufhin nicht mehr an dieses Molekül binden kann. Dadurch kann die Interaktion mit gp120 und damit der Eintritt in die Wirtszelle nicht mehr verhindert werden (70).

Bei den Fusionsinhibitoren kann der Austausch einer Aminosäure durch eine Punktmutation zu einem erheblichen Wirkverlust führen, sodass die Fusion von Virus mit der Zellmembran nicht mehr verhindert werden kann. Auch gegen diese Medikamentenklassen finden sich keine Resistenzmutationen in unserem Patientenkollektiv. Aufgrund dessen wird darauf in dieser Arbeit nicht weiter eingegangen.

#### **1.4.5 Persistenz von Resistenzmutationen**

Fünf Jahre nach Einführung der ART wurde das erste Mal eine Transmission von resistenten Virusstämmen beschrieben (71). Vor allem in Entwicklungsländern, aber auch im Rest der Welt war durch die zunehmende Verfügbarkeit von antiretroviralen Medikamenten zunächst ein Anstieg von Primärresistenzen zu verzeichnen (27). Die aktuellen Daten zeigen, dass die Prävalenz von übertragenen Resistenzmutationen in entwickelten Ländern aktuell auf einem stabilen Niveau bleibt (45).

In Studien bezüglich primärer und sekundärer Resistenzmutationen zeigen sich erhebliche Unterschiede bezüglich der Dauer der Persistenz (45). Aufgrund der Tatsache, dass das Wildtyp-Virus in den Primärresistenzmutationen nicht vorkommt, unterscheiden sich übertragene Resistenzmutationen stark von sekundären Resistenzmutationen (72). Dies spiegelt sich in der Beobachtung wieder, dass sich bei primären Resistenzmutationen eine deutlich längere Persistenz nachweisen lässt, als bei Sekundärresistenzen (73). Diese Beobachtung zeigt sich auch ohne einen bestehenden Selektionsdruck durch ART (74).

Häufig können vorhandene Mutationen auch noch Jahre später festgestellt werden. Jedoch gibt es auch bestimmte Mutationen, die nach einiger Zeit verschwinden, sodass es zur Umwandlung in den Wildtyp kommt (45, 75).

Insgesamt sind Langzeit-Daten bezüglich der Persistenz von Primärresistenzen jedoch sehr dürftig, da die meisten HIV-Patienten früher oder später einer ART zugeführt werden (45).

## 1.5 Methoden der Resistenztestung

Es gibt zwei Arten der Resistenzbestimmung: genotypisch oder phänotypisch. Die genotypische Resistenzbestimmung dient dem Nachweis von resistenzassoziierten Mutationen im HIV-Genom. Da sie viele Vorteile bietet, wie zum Beispiel schnelle Durchführbarkeit und geringere Kosten, wird sie im klinischen Alltag als Routinediagnostik verwendet. Auch die Daten unserer Studie wurden anhand von genotypischen Resistenztests ermittelt (76). Im Vergleich dazu ist die phänotypische Resistenzbestimmung deutlich aufwändiger und kostspieliger, daher wird sie eher in klinischen Studien oder für die Medikamentenentwicklung verwendet (76).

Bei der genotypischen Resistenzbestimmung gibt es verschiedene Vorgehensweisen, die zum Nachweis von Mutationen dienen. Dabei hat sich die sogenannten Sanger Sequenzierung als Routineverfahren der Resistenztestung für die Therapieüberwachung von HIV-Patienten etabliert (77).

Um die genotypische Resistenzbestimmung durchführen zu können, wird zunächst die HIV-1 RNA von den EDTA-Proben getrennt. Im Anschluss wird die HIV-1 RNA hinsichtlich Resistenzen in den Protease- (PR) oder Reverse Transkriptase- (RT) Genen analysiert (1, 78). Bei der Sanger Sequenzierung handelt es sich um eine Direktsequenzierung (79). Diese enzymatische Methode besteht aus drei verschiedenen Schritten (Denaturierung, Hybridisierung der Primer und Polymerisierung), die immer wieder in der gleichen Reihenfolge wiederholt werden. Die Auswertung erfolgt am Ende mittels Elektrophorese (79). Auch bei unserer Patientenkohorte wurde diese Sanger Sequenzierung zur genotypischen Resistenzbestimmung angewendet.

Zur Bestimmung der HIV-1 Subtypen diente eine Sequenzanalyse der PR und RT Sequenzen. Dafür wurden bestimmte Programme (*tools*) verwendet, beispielsweise das *NCBI genotyping tool* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/genotyping>) oder das *COMET HIV-1 tool* (<https://comet.lih.lu>) (1, 80, 81). Diese Internetprogramme dienen als Hilfe bei der Bestimmung des HIV-Subtyps (80, 81).

## 1.6 Aufbau und Funktionsweise der HIV-Datenbank der Universität Stanford

Die Datenbank für Resistenzmutationen der Stanford Universität wurde 1998 gegründet und ist seit dem Jahr 2000 ein öffentlich zugängliches Interpretationssystem für genotypische Resistenztests (82, 83). In den darauffolgenden Jahren wurde die Stanford Datenbank (Stanford HIVDB) stetig weiterentwickelt (82).

Heute bedient sich das HIVDB-System insgesamt dreier Hauptkriterien, welche dann Rückschlüsse auf die Auswirkungen einer bestimmten Resistenzmutation zulassen. Zu

diesen drei Kriterien zählen die Genotyp-Behandlungs-Korrelation, die Genotyp-Phänotyp-Korrelation und die *Genotype-Outcome*-Korrelation (84).

Zuerst wurden Proben von Patienten mit nachvollziehbarer, antiretroviraler Behandlung genutzt, um daraus einen Zusammenhang zwischen dem HIV-Genotyp, also der genetischen Information des vorliegenden HI-Virus, und der erfolgten antiretroviralen Therapie abzuleiten. Daraus resultierte das erste Hauptkriterium: die sog. Genotyp-Behandlungs-Korrelation (82).

Im Jahr 2001 wurden den zuvor genannten Informationen Zusammenhänge zwischen Genotypen und Testergebnissen des *in vitro* Ansprechens auf ein bestimmtes Medikament hinzugefügt. Mit Hilfe dieser Informationen konnte die sog. Genotyp-Phänotyp-Korrelation abgeleitet werden. Diese Korrelation quantifiziert die Auswirkungen einer Mutation auf die Sensibilität des Virus gegenüber einem Medikament (85). So kann bewertet werden, inwiefern die Mutation die Wirkung eines Medikaments verringert.

Meist reicht diese Korrelation jedoch nicht aus, um eine Mutation vollständig interpretieren zu können. Dafür gibt es mehrere Ursachen (85). Ein Grund ist, dass nicht alle Mutationen eine Medikamentenresistenz nach sich ziehen. Jedoch können sie Marker für andere Resistenzmutationen sein, sog. Sentinel-Mutationen. Ein weiterer Grund ist, dass manche Mutationen die Kapazität der Virusreplikation verringern, wodurch sich trotz einer Resistenz ein Vorteil für die fortgeführte Therapie ergibt. Als letzter Grund ist zu nennen, dass Medikamente unterschiedlich starke antivirale Wirksamkeiten aufweisen. Somit kann eine ausgeprägte Resistenz gegen ein Medikament, die selbe klinische Relevanz haben, wie eine geringe Resistenz gegen ein anderes Medikament (85).

Um die klinische Relevanz der Mutationen aber dennoch herausfinden zu können, fügte man der Stanford-Datenbank im Jahr 2004 die sogenannte *Genotype-outcome*-Korrelation hinzu (82). Diese Korrelation beschreibt die virologische Antwort auf ein neues Therapieregime (82, 85). Zusammengenommen ermöglicht die Aufstellung dieser drei Korrelationen letztendlich die Interpretation der klinischen Auswirkungen einer Resistenzmutation (82, 85).

Um Resistenzmutationen anhand dieser Korrelationen der Stanford-Datenbank auswerten zu können, stellt die Universität Stanford im Internet kostenlos ein Interpretationsportal zur Verfügung. Hier kann man die zu untersuchenden Resistenzmutationen eingeben und bekommt umgehend eine Auswertung zur Verfügung gestellt. Im klinischen Anwendungsbereich soll dadurch die Suche nach optimal wirksamen Therapieregimen für HIV-Patienten erleichtert werden und in der Forschung kann diese Datenbank zur Entwicklung neuer antiretroviraler Substanzen beitragen (84). Ein weiterer Punkt ist, dass durch diese Datenbank die globale Ausbreitung von Resistenzmutationen aufgezeichnet wird. Folglich liefert diese Datenbank auch epidemiologisch wichtige Daten (84).

## 1.7 Zielsetzung dieser Arbeit

Das Ziel der vorliegenden Arbeit liegt darin, die Prävalenz von Primärresistenzen und die Verteilung von HIV-1-Subtypen in einer Kohorte der Kinderklinik der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf darzustellen, um zum Ausbau der Datenlage bezüglich Resistenzmutationen bei HIV-infizierten Kindern beizutragen (1).

Es gibt bisher nur wenige Studien zum Thema HIV-1-Resistenzmutationen im Kindesalter. Auch in Europa wurde dieses Thema bisher nur in wenigen Studien erfasst, sodass bezüglich des Umfangs der auf diesem Gebiet vorliegenden Informationen noch Optimierungspotential besteht. In Deutschland liegen bisher noch gar keine Studien zu diesem Thema vor. Die vorliegende Doktorarbeit erfasst somit erstmalig Daten einer pädiatrischen Kohorte aus Deutschland bezüglich primärer HIV1-Resistenzmutationen und soll auf die Notwendigkeit einer Resistenzbestimmung vor Beginn einer ART hinweisen (1).

Zur vermehrten Erfassung der Entwicklung von Resistenzmutationen und zur Gewährleistung eines Therapieerfolgs, soll die HIV-Therapie nicht nur bei Umstellungen aufgrund eines Therapieversagens, sondern zusätzlich regelhaft bei Therapiebeginn auf das Resistenzprofil abgestimmt werden (1). Grundsätzlich soll eine vermehrte Testung therapienaiver Patienten zum individuellen Therapieerfolg und damit letztendlich auch zur Eindämmung der Gesundheitsbedrohung durch die HIV1-Infektion beitragen (5, 13). Ein Ausbau der Datenlage bezüglich der HIV-1-Resistenzmutationen kann bei der Sicherung des globalen Erfolgs der HIV-1-Therapie mitwirken (5, 13).

Diese Arbeit soll die Bedeutung einer Expansion der Datenaquirierung bezüglich Resistenzmutationen hervorheben und in diesem Zusammenhang auf die Relevanz einer zunehmenden Resistenztestung vor Therapiebeginn hinweisen (1). Denn nur durch eine Erfassung der aktuellen Resistenzlage, ist eine adäquate Reaktion auf ebendiese möglich.

Zusätzlich möchten wir in unserer Arbeit den Vergleich unserer pädiatrischen Kohorte zu anderen Studien ziehen. Hier ziehen wir einerseits die Ergebnisse einer Kohorte mit erwachsenen HIV-Patienten aus Deutschland (RESINA-Studie) heran und andererseits beschäftigen wir uns mit weiteren pädiatrischen Kohorten aus anderen Industrienationen sowie pädiatrischen Studien aus ressourcenarmen Regionen.

## 2 Methoden

### 2.1 Datengrundlage

Diese Arbeit erfasst die Prävalenz von HIV-1-Subtypen und HIV-1-Primärresistenzmutationen einer pädiatrischen Kohorte im Zeitraum von 2005 bis 2015 aus Deutschland. Als Datengrundlage dieser retrospektiven Studie wurden die Krankenakten von 81 pädiatrischen Patienten der Ambulanz der Kinderklinik Düsseldorf ausgewertet (1).

Die Studie wurde im Dezember 2014 durch die Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf genehmigt (1) (Studiennummer: 4858). Im Anschluss daran erfassten wir unseren Datensatz aus den Krankenakten des beschriebenen Zeitraumes. Nachfolgend wurden die erfassten Informationen aufgearbeitet.

Unsere Daten umfassen einerseits demographische Aspekte der Patienten, wie beispielsweise ethnische Herkunft, Geburtsland und Geschlecht. Andererseits wurden Informationen bezüglich des Transmissionsmodus sowie dem Erhalt einer HIV-Prophylaxe, dem Zeitpunkt einer Therapie-Einleitung, dem Alter bei Diagnosestellung und dem Jahr der HIV-Diagnose erfasst. Außerdem wurden spezifische Informationen, wie das Vorliegen eines Resistenztests vor Therapiebeginn, die Anzahl der *CD4*-Zellen, die Viruslast und das *CDC*-Stadium der HIV-Erkrankung, erfasst (1).

Mit Hilfe der Krankenakten konnten wir retrospektiv die HIV1-Subtypen der Probanden und die Mutationen aus den vorliegenden Resistenztestungen katalogisieren. Anhand dieser Daten konnten wir letztendlich die Verteilung der HIV1-Subtypen und die Prävalenz von Primärresistenzen in dieser Kohorte aus der Düsseldorfer Kinderklinik darstellen (1). Die virologischen Daten stammen zum Einen aus der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf und zum Anderen aus der Uniklinik Köln.

### 2.2 Auswertung der Resistenzen

Die Auswertung der Ergebnisse eines genotypischen Resistenztests ist sehr komplex. Zunächst gibt es viele verschiedene Resistenzmutationen, welche in unterschiedlicher und komplexer Weise zu Resistenzen gegenüber Medikamenten führen können. Außerdem können Mutationen untereinander Interaktionen zeigen und auf diesem Weg eine Medikamentenresistenz zur Folge haben.

Aus diesen Gründen werden Auswertungssysteme zur Interpretation der vorliegenden Mutationen benötigt. Mit Hilfe dieser Interpretationssysteme können Mutationen erkannt werden und die klinische Relevanz der im Patientenplasma gefundenen Mutationen kann ausgewertet werden (85). Dazu werden verschiedene Algorithmen verwendet und die dafür nötigen aktuellen resistenz-assoziierten Mutationen sind in

der HIV-Datenbank und der Mutationsliste der Internationalen AIDS-Gesellschaft (*IAS-USA drug resistance mutations list*) aufgeführt (86).

### **2.3 Datenbank für HIV-Resistenzmutationen der Universität Stanford**

Es gibt verschiedene Systeme zur Interpretation von Resistenzmutationen. In dieser Arbeit wurde mit der Stanford Datenbank gearbeitet, welche zusätzlich ausführliche Erklärungen und Auswertungen von Resistenz-assoziierten Mutationen liefert (84).

Die Stanford Datenbank für HIV-Resistenzmutationen (*HIV Drug Resistance Database, HIVDB*) ermöglicht eine Interpretation von HIV-Resistenzmutationen, sodass sie ein wichtiges Hilfsmittel in den Bereichen Klinik, Naturwissenschaft und für Gesundheitsorganisationen darstellt (84).

### **2.4 Auswertung von Resistenzmutationen mittels der Stanford HIV-Datenbank**

Zunächst wurden alle Resistenzmutationen aus den vorliegenden Resistenztestungen der einzelnen Patienten gesammelt und dokumentiert. Die Resistenzmutationen wurden hierbei den folgenden HIV-Medikamentengruppen zugeteilt: NRTI, NNRTI, und PI. Letztere wurden in PI-Haupt- und PI-Nebenmutationen unterteilt.

In Zusammenarbeit mit dem Virologischen Institut der Uniklinik Düsseldorf erfolgte die Aufarbeitung der vorliegenden HIV-Resistenzmutationen anhand der HIV-Datenbank der Universität Stanford (1, 84). Das Auswertungsverfahren mittels der HIV-Datenbank der Universität Stanford soll zur internationalen Vergleichbarkeit unserer Daten beitragen.

Das HIVDB-System der Universität Stanford wird regelmäßig aktualisiert. Dazu werden Publikationen bezüglich neuer Resistenzmutationen und Informationen über neu entwickelte Therapieregime verwendet und zusätzlich werden Expertenräte bezüglich HIV-Therapie und Resistenzmutationen einberufen (84).

Das HIVDB-System der Universität Stanford ist ein Regel-basiertes System, welches eine Liste an Punktwerten für die jeweilige Sensibilitätseinbuße gegenüber einem Medikament beinhaltet. Zur Einordnung der Auswirkungen im Einzelnen bietet die Universität Stanford auf ihrer Internetseite kostenlosen Zugang zu den sogenannten *NRTI-, NNRTI-, PI- und INI Resistance Mutation Scores*, den *Resistance Comments* und den *HIV Resistance Notes*, welche jeweils Informationen zu den Resistenzmutationen liefern und im Folgenden erläutert werden (87).

Die *Resistance Mutation Scores* umfassen eine tabellarische Darstellung und Zuordnung von Punktwerten zur Quantifizierung der Wirkung der Mutationen gegenüber den einzelnen antiretroviralen Medikamenten der vier Substanzklassen.

Die Empfindlichkeit des Virus gegenüber einem Medikament ergibt sich aus der Addition der Werte aller Mutationen, die mit einer Resistenz gegenüber eben diesem Medikament assoziiert sind (85). Das Ergebnis sind die sogenannten *penalty scores*, welche in den *Resistance Mutation Scores* tabellarisch aufgeführt werden. Jede Mutation hat in dieser Tabelle Punktwerte zugeordnet, welche die Wirkung der jeweiligen Mutation gegenüber den einzelnen Medikamenten der vier Substanzklassen (NRTI, NNRTI, PI und INI) erfasst (87).

Die Punktwerte (*penalty scores*) umfassen Werte von minus 15 bis 60, wobei ein Wert von minus 15 eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber der antiretroviralen Substanz beschreibt. Die Bezeichnung *susceptible* wird einem Medikament zugeordnet, wenn der *penalty score* unter zehn liegt. Der Punktwert für eine geringgradige Resistenz beträgt 15 bis 29 und Werte zwischen 10 und 15 werden als *potential low-level resistance* deklariert. Eine mittelgradige Resistenz wird einem Wert zwischen 30 und 59 zugeordnet und ab einem Wert von 60 liegt eine hochgradige Resistenz vor (87). Daraus resultiert dann eine Resistenzbewertung, die von Level eins bis fünf reichen kann (85). Es gibt also fünf Resistenzgrade, welche die Auswirkungen der Resistenzmutationen gegenüber den jeweiligen Medikamenten quantifizieren. Es wird unterschieden zwischen *susceptible*, *potential low-level resistance*, *low-level resistance*, *intermediate resistance* und *high-level resistance* (84).

Ist eine Mutation, als *susceptible* deklariert, bedeutet dies, dass das Virus sensibel gegenüber diesem Medikament ist. Es liegt hier also keine Resistenz vor. Bei dem Resistenzgrad *intermediate resistance*, ist das Ansprechen des Virus auf ein bestimmtes Medikament, aufgrund der vorliegenden Mutation(en), verringert. Der höchste Resistenzgrad liegt bei der Klassifikation als *high-level resistance* vor. In diesem Fall ist das Virus gegen ein bestimmtes Medikament vollständig resistent (85).

Die Auswertung mittels der Stanford HIV-Datenbank liefert neben der Interpretation von Resistenzmutationen gegenüber den vier wichtigsten antiretroviralen (ARV) Medikamentengruppen (NRTI, NNRTI, PI und INI), auch weitere Zusatzinformationen. Dazu gehören beispielsweise Aussagen über die Qualität der Probe, eine HIV-Subtypen-Klassifikation und eine Liste mit Kommentaren bezüglich der gefundenen HIV-Resistenzmutationen (84). Diese Liste, die sogenannten *Resistance Comments*, enthält Informationen zu den einzelnen Resistenzmutationen, auch solchen, denen kein *penalty score* zugeordnet ist (87).

Als zusätzliche Ergänzung stellt die Universität Stanford die sogenannten *HIV Resistance Notes* zur Verfügung, welche zusammengefasste Informationen über Resistenzmutationen und deren Auswirkungen aus der aktuellen Fachliteratur beinhalten (87).

Als Ergebnis des Auswertungsvorganges mittels der Stanford HIV-DB wurde uns eine Einteilung der Resistenzmutationen in die genannten fünf Resistenzgrade aufgezeigt und mit Hilfe der *Resistance Comments* und den *HIV Resistance Notes* konnten wir die einzelnen Resistenzmutationen bezüglich ihrer klinischen Auswirkungen auf die Wirksamkeit der einzelnen HIV-Medikamente beurteilen. Auf der Grundlage dieser Daten der Universität Stanford konnten wir die Resistenzmutationen aus Gründen der Übersichtlichkeit in zwei Gruppen einteilen: hoch- bis mittelgradige Resistenzen und geringgradige Resistenzen (87-90).

Schließlich wurde durch diese Auswertung eine Darstellung der Medikamentenresistenzen in unserer pädiatrischen Kohorte aus der Heinrich-Heine Universität Düsseldorf möglich und die Resistenzmutationen konnten letztendlich, wie oben beschrieben, bezüglich ihrer Relevanz und Auswirkungen kategorisiert werden. In Zusammenschau mit den durch uns ebenfalls erfassten Daten zu einer erfolgten oder nicht erfolgten medikamentösen Vorbehandlung, konnten diese Resistenzen dann eindeutig als Primärresistenzen eingestuft werden.

## **2.5 Anwendung der beschriebenen Methoden in der vorliegenden Dissertation**

Nach erfolgter Aquirierung und Sortierung der für die vorliegende Dissertation gesammelten Daten haben wir die in unserer Kohorte vorkommenden Resistenzmutationen mit Hilfe der HIV-Datenbank der Universität Stanford ausgewertet. Wie bereits beschrieben liefern die verschiedenen Auswertungssysteme unterschiedliche Ergebnisse. Hierbei kann eine Unterteilung in mehrere Resistenzgrade, wie es beim HIVDB-System erfolgt, vor allem im klinischen Setting von Vorteil sein (85). Um möglichst genaue Ergebnisse zu erhalten und für unsere Daten eine gute Vergleichbarkeit herzustellen, entschieden wir uns also für eine Auswertung mittels der Stanford HIVDB.

Diese Auswertung mittels der Stanford HIVDB ergab eine Unterteilung der Resistenzmutationen in die erwähnten fünf verschiedenen Resistenzgrade. Mit Hilfe der zuvor beschriebenen aufgestellten Korrelationen lieferte uns der Auswertungsvorgang mittels der Stanford-Datenbank Ergebnisse über die klinischen Auswirkungen einer Resistenzmutation (82, 85).

Dadurch, dass die Stanford HIVDB ausführliche Erklärungen und Interpretationen von Resistenz-assoziierten Mutationen liefert, wurde uns eine klinische Einordnung der erfassten Resistenzmutationen in den aktuellen Stand der Wissenschaft ermöglicht (84, 85). Letztendlich konnten wir so die Auswirkungen bestimmter Mutationen auf die Wirksamkeit eines antiretroviralen Medikaments beschreiben (82, 85) und anhand unserer gesammelten Daten bezüglich einer erfolgten Transmissionsprophylaxe bewerten.

Aufgrund der Tatsache, dass Resistenzmutations-Muster abhängig vom Subtyp variieren können (42, 43), erweist sich eine gemeinsame Beurteilung von Resistenzmutationen in Zusammenhang mit dem Subtyp als sinnvoll (42). Aufgründessen haben auch wir sowohl die Resistenzmutationen, als auch die Subtypen unserer Kohorte erfasst und die Subtypenverteilung in die Interpretation mit einbezogen.

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Charakteristika der Patientenkohorte

Unsere Kohorte besteht aus 81 HIV-infizierten Kindern, die sich im Beobachtungszeitraum, von Januar 2005 bis Ende 2015, in der pädiatrischen Ambulanz der Uniklinik Düsseldorf vorstellten (1). Diese Patientendaten wurden retrospektiv erfasst.

Mehr als die Hälfte der Kinder war weiblichen Geschlechts (n=44, 54%). Der Anteil der männlichen Studienteilnehmer beläuft sich auf 46% (n=37). Die Mehrheit der Patienten wurde in Deutschland geboren (57%, n=46) (1). Insgesamt sind nur 23% der Eltern kaukasischer Herkunft (n=18) (siehe Tabelle 1 und Abb. 1). Der überwiegende Teil der Kinder unserer Kohorte wies mindestens ein Elternteil auf, das aus Afrika stammt (n=54, 67%). Nur 6% der Kinder hatten Eltern mit asiatischer Herkunft (n=5) (siehe Tabelle 1 und Abb. 1).

Mit 94% war der am häufigsten vertretene Transmissionsmodus vertikal (n=76) und nur ein Patient wurde horizontal infiziert (1%). Bei vier Patienten konnte der Transmissionsmodus nicht geklärt werden (5%) (1) (siehe Tabelle 1 und Abb. 2).

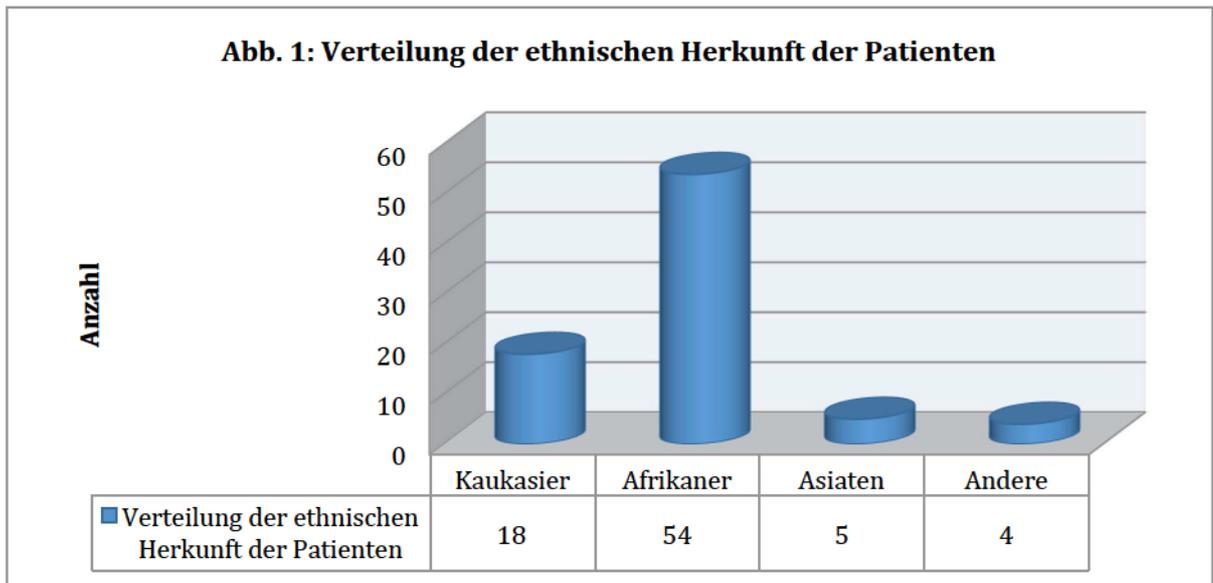
Eine vollständige Transmissionsprophylaxe zur Prävention einer Mutter-zu-Kind-Übertragung (Antepartum, Intrapartum oder neonatal) wurde insgesamt nur bei 13 von 81 Patienten durchgeführt (16%) (1) (siehe Tabelle 1).

**Tabelle 1: Charakteristika der Studienkohorte und Verteilung der HIV-1 Subtypen**

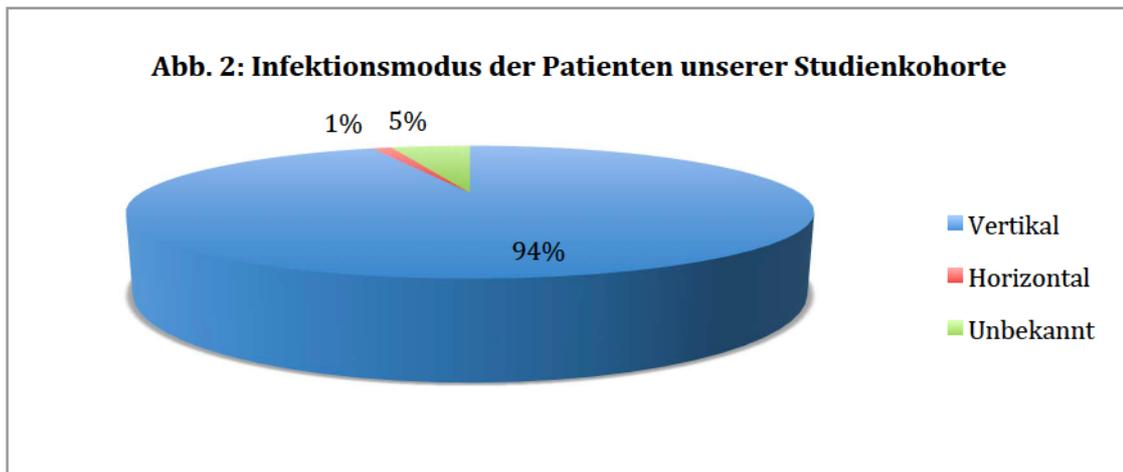
<b>Geschlecht</b>	Weiblich	44
	Männlich	37
<b>Ethnische Herkunft</b>	Kaukasier	18
	Afrikaner	54
	Asiaten	5
	Andere	4
<b>Geburtsland</b>	Deutschland	46
	Andere	28
	Unbekannt	7
<b>HIV-Transmissionsmodus</b>	Vertikal	76
	Horizontal	1
	Unbekannt	4
<b>Transmissions-Prophylaxe</b>	Erhalten	13
	Nicht erhalten	68

HIV-1 Subtyp	B	14
	A1	3
	CRF02_AG	11
	CRF06_CPX	5
	CRF01_AE	2
	CRF13_CPX	2
	CRF11_CPX	1
	A (01-AE)	4
	C	8
	G	4
	D	2
	F1	1
	F2	2
	Unbekannt	22
<b>Gesamte Patientenzahl</b>		<b>81</b>

**Tabelle 1: Charakteristika der Studienkohorte und Verteilung der HIV-1 Subtypen**  
 Demographische Verteilung (Geschlecht, ethnische Herkunft, Geburtsland) sowie Informationen zum Transmissionsmodus, Transmissionsprophylaxe und HIV-1 Subtyp. Diese Tabelle basiert auf einer anderen Tabelle aus einer Veröffentlichung, welche auf den selben Daten basiert, wie diese Dissertation (1).



**Abb. 1: Verteilung der ethnischen Herkunft der Patienten (Kaukasier, Afrikaner, Asiaten und Andere).** In diesem Diagramm wird die Verteilung der ethnischen Herkunft in der Patientenkohorte dargestellt.



**Abb. 2: Infektionsmodus der Patienten unserer Studienkohorte (vertikal, horizontal oder unbekannt).** In diesem Diagramm wird die Häufigkeitsverteilung der verschiedenen Infektionsmodi in der Patientenkohorte dargestellt.

## 3.2 Prävalenz der HIV-Subtypen

Der HIV1-Subtyp wurde insgesamt bei 59 von 81 Patienten bestimmt (73%), wobei mit 76% die große Mehrheit dieser Patienten einen *non-B-Subtypen* aufwies (n=45/59). Insgesamt zeigten 24% der Patienten den Subtyp B (n=14/59) (1) (siehe Tabelle 1 und Abb. 3).

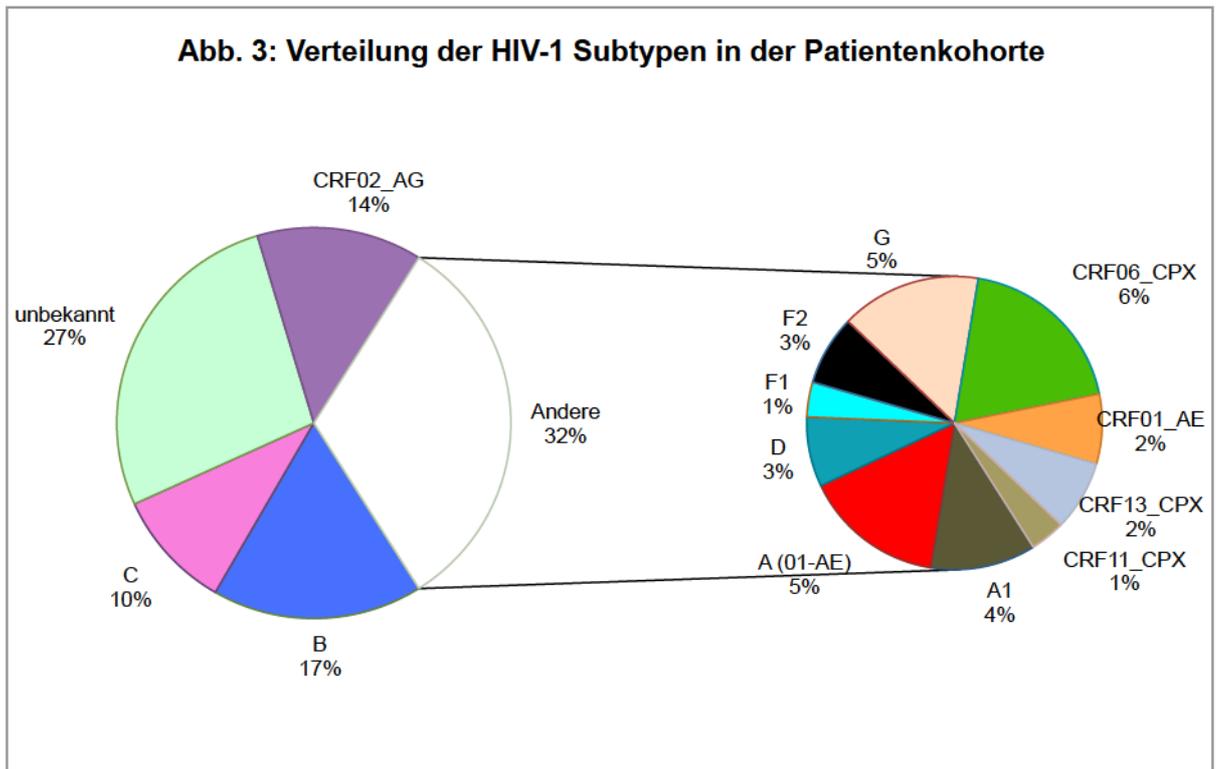
Zirkulierende rekombinante Formen waren in dieser Patientengruppe, mit insgesamt 36% vorherrschend (n=21/59) (1). Der Subtyp C zeigte sich bei 10% unseres Patientenkollektivs (siehe Tabelle 1 und Abb. 3).

Von den insgesamt 81 Patienten unserer Studienpopulation wurde bei 28% im therapienaiven Zustand, also vor Einleitung einer ART, ein Resistenztest durchgeführt. Unter diesen 23 Patienten hatten 52% einen rekombinanten Subtyp (n=12/23). Zwei Patienten dieser Untergruppe zeigten den Subtyp B (9%, n=2/23) (1) (siehe Tabelle 2).

**Tabelle 2: Prävalenz von Resistenzmutationen in den 23 therapie-naiven HIV-1-infizierten Kindern unserer Kohorte**

Pat.	Geschlecht	CD4-Zellzahl (CD4/ul) bei Diagnose	Viruslast (ep/ml) bei Diagnose	HIV-1 Subtyp	NRTI-Mutationen	NNRTI-Mutationen	PI-Hauptmutationen	PI-Nebenmutationen	Kontakt zu einer Transmissionsprophylaxe
1	W	637	999000	CRF13_CPX	Keine	Keine	Keine	L10I, K20I	nein
2	W	363	9934	G	keine	keine	keine	L10I, K20I	nein
3	M	1946	4089367	CRF06_CPX	keine	keine	keine	L10I	nein
4	M	1032	3600000	C	keine	keine	keine	T74S	nein
5	W	3058	906490	CRF02_AG	keine	keine	keine	K20I	ja
6	M	1150	2500000	CRF01_AE	M41L, D67N, K70R, V75M, M184V, L210W, T215Y	K101E, V106M, E138A, G190A	keine	L10I, K20I	ja
7	W	2889	3197440	B	D67D/G	keine	keine	keine	ja
8	W	363	>10.000000 0	CRF02_AG	keine	keine	keine	K20I	nein
9	M	2545	1069635	A1	A62V	keine	keine	keine	ja
10	M	564	>17.000000 0	CRF02_AG	keine	keine	M46I/L	K20I	ja
11	W	unbekannt	unbekannt	CRF11_CPX	keine	E138A	keine	keine	nein
12	W	852	158447	C	keine	keine	keine	keine	nein
13	W	3732	> 500.000	CRF02_AG	keine	keine	keine	L10I, K20I	ja
14	M	378	10000	A1	keine	keine	keine	keine	nein
15	M	6	409445	CRF01_AE	keine	keine	keine	L10I	nein
16	M	1235	15305	CRF06_CPX	keine	keine	keine	L10I, K20I	nein
17	M	354	8513	C	K70E/G/K/R, M184V	K103N	keine	L24I/V	nein
18	M	510	91920	CRF02_AG	keine	keine	unbekannt	unbekannt	nein
19	W	unbekannt	unbekannt	C	keine	keine	keine	keine	nein
20	M	828	17261	F1	keine	keine	keine	L10I/V	nein
21	M	258	41446	C	keine	keine	keine	keine	nein
22	W	1101	123385	CRF06_CPX	keine	keine	keine	L10I, K20I	nein
23	M	351	264792	B	K219K/R	keine	keine	keine	nein

**Tabelle 2: Prävalenz von Resistenzmutationen in den 23 therapie-naiven HIV-1-infizierten Kindern unserer Kohorte.** Zusätzlich enthält die Tabelle Informationen zu Geschlecht, HIV-1-Subtyp sowie CD4-Zellzahl und Viruslast zum Zeitpunkt der Diagnosestellung. Diese Tabelle basiert auf einer anderen Tabelle aus einer Veröffentlichung, welche auf den selben Daten basiert, wie diese Dissertation (1).



**Abb. 3: Verteilung der HIV-1 Subtypen in der Patientenkohorte.** In diesem Diagramm ist die Verteilung der verschiedenen HIV-1 Subtypen farblich markiert und differenziert, wie viel Prozent der Patienten in unserer Kohorte den jeweiligen Subtyp aufweisen.

### 3.3 Prävalenz von Resistenzmutationen bei therapienaiven Kindern

Die Prävalenz von übertragenen Resistenzmutationen (*TDRMs*) beläuft sich unter den 23 therapienaiv auf Resistenzmutationen getesteten Kindern auf insgesamt 30% (7/23) (siehe Tabelle 3 und Abb. 6). Hierbei waren 22% NRTI-Resistenzmutationen (5/23) und 13% NNRTI (3/23). PI-Hauptmutationen machten insgesamt 4% aus (n=1/23) (Siehe Tabelle 2 und Abb. 7). Neben den genannten Hauptmutationen, ließen sich bei 61% dieser Patientengruppe PI-Nebenmutationen feststellen (14/23) (siehe Tabelle 2). Des Weiteren konnte unter diesen Patienten bei insgesamt zwei von 23 Patienten, eine Zweiklassenresistenz für NRTI und NNRTI nachgewiesen werden (9%, 2/23) (Patient #6 und Patient #17) (siehe Tabelle 2 und 3, Abb. 7). Wohingegen keiner der Patienten Resistenzen gegen drei Medikamentengruppen aufwies (1) (Abb. 7).

Von insgesamt sechs Patienten die einer neonatalen oder maternalen ART ausgesetzt waren, konnten bei 17% relevante Resistenzmutationen gefunden werden (n=4/23, 17%). Dies entspricht einer Anzahl von 4 Patienten (#6, #7, #9, #10) innerhalb der 23 Patienten mit initialer Resistenztestung (1) (siehe Tabelle 2 und Abb. 8). Außerdem wiesen drei andere Patienten (#11, #17, #23) Resistenzmutationen auf, ohne dokumentierten Kontakt zu einer ART (antepartal, intrapartal oder neonatal) (n= 3/23= 13%) (1).

Ohne jeglichen Kontakt zu ART zeigte ein vertikal infizierter und im Alter von 15 Jahren diagnostizierter Junge (#17) unserer Kohorte einen HI-Virus mit NRTI- (K70E/G/K/R, M184V) und NNRTI-Mutationen (K103N) (1) (siehe Tabelle 2). Auch ein anderer Patient (#10) zeigte eine PI-Mutation (M46I/L) ohne vorherige Therapie (1) (siehe Tabelle 2).

Wie beschrieben, sind nicht alle Kinder unserer Studienkohorte vor Beginn einer ART einer Resistenztestung unterzogen worden. Insgesamt war ein solcher Resistenztest vor Therapiebeginn, vor allem wegen fehlender Empfehlungen in den HIV-Leitlinien vor dem Jahr 2006, lediglich bei 23 von 81 Patienten (28%) vorhanden. Somit wurde bei 72% der Patienten unserer Kohorte kein Resistenztest vor Beginn der Therapie durchgeführt, mit dem man Primärresistenzen hätte entdecken können (n=58) (1) (siehe Tabelle 1 und Abb.4) Bei fast der Hälfte von den insgesamt 81 Patienten wurde eine ART eingeleitet, bevor ein initialer Resistenztest in den Leitlinien empfohlen wurde (49%, 40/81) (1) (siehe Tabelle 3).

Mit 69% ist die am häufigsten vertretene Ursache eines fehlenden Resistenztests vor Einleitung einer ART, dass vor dem Jahr 2006 noch keine Leitlinien-Empfehlung diesbezüglich bestand (siehe Tabelle 3 und Abb. 5). Ein weiterer Grund für das Fehlen eines initialen Resistenztests sind beispielsweise der Beginn einer ART vor Vorstellung des Patienten bzw. der Patientin in unserer Kinderklinik mit einer Viruslast unterhalb der Nachweisgrenze (16%, 13/81). Bei anderen Kindern unserer Studienkohorte war im Labor keine Amplifikation der eingesendeten Probe möglich (2,5%, n=2/81). Drei andere Patienten hingegen lassen sich in keine der genannten Kategorien einordnen.

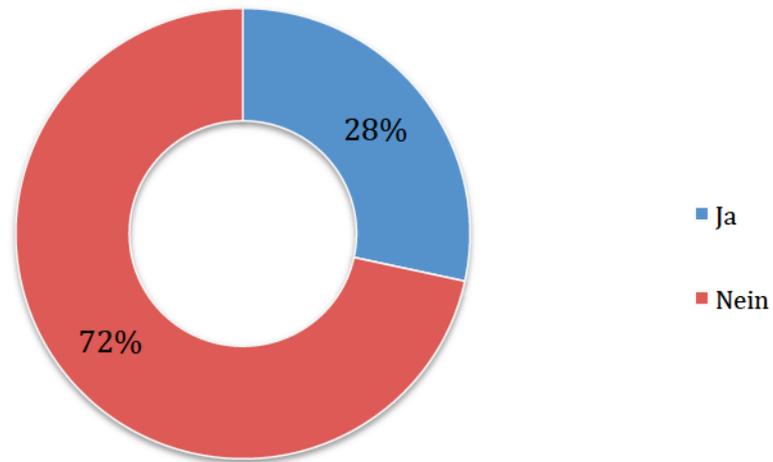
In diesen drei Fällen ist auch kein anderer Grund ersichtlich (4%, 3/81) (1) (siehe Tabelle 3 und Abb.5).

**Tabelle 3: Anzahl der Patienten mit Resistenztest vor Therapiebeginn und Begründung für das fehlende Vorhandensein sowie Prävalenz von Primärresistenzen und Unterteilung dieser**

Gesamtzahl		81 Patienten
<b>Resistenztest vor Therapiebeginn</b>	Ja	23
	Nein	58
<b>Begründung für das Fehlen eines Tests</b>	Resistenztest vor Therapie noch nicht in den Leitlinien empfohlen (vor 2006)	40
	Laufende ART mit Viruslast unterhalb der Nachweisgrenze	13
	Fehlgeschlagener Resistenztest (es konnte kein Amplifikat gewonnen werden)	2
	Kein Grund bekannt	3
<b>Nachweis von Primärresistenzen</b>	Ja	7
	Nein	16
<b>Betroffene Substanzklassen</b>	NRTI-Resistenzen	3
	NNRTI-Resistenzen	1
	PI-Hauptresistenzmutationen	1
	Zweiklassenresistenz (NRTI und NNRTI)	2
	Dreiklassenresistenz (NRTI, NNRTI und PI)	0

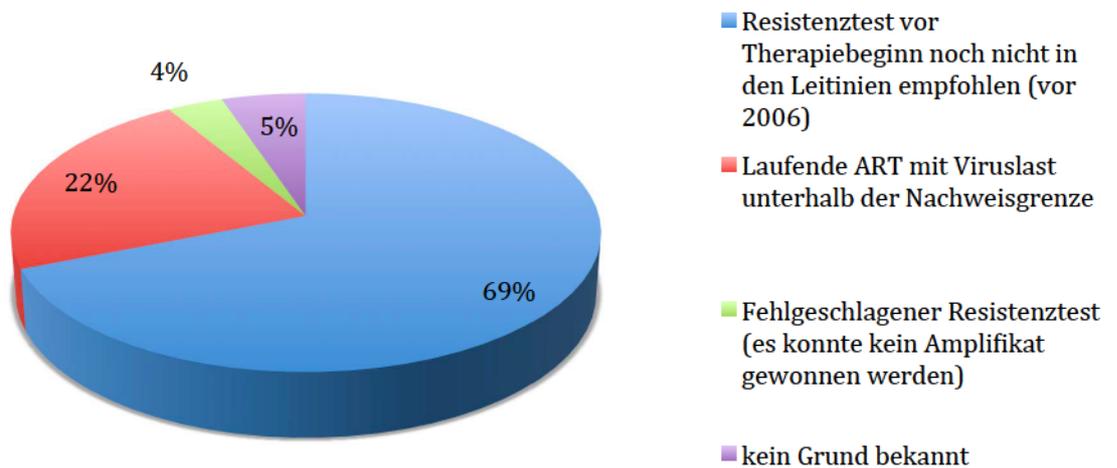
**Tabelle 3: Anzahl der Patienten mit Resistenztest vor Therapiebeginn und Begründung für das fehlende Vorhandensein sowie Prävalenz von Primärresistenzen.** Diese Tabelle basiert auf einer anderen Tabelle aus einer Veröffentlichung, welche auf den selben Daten basiert, wie diese Dissertation (1).

**Abb. 4: Prävalenz von Patienten mit vorhandenem Resistenztest vor Therapiebeginn**



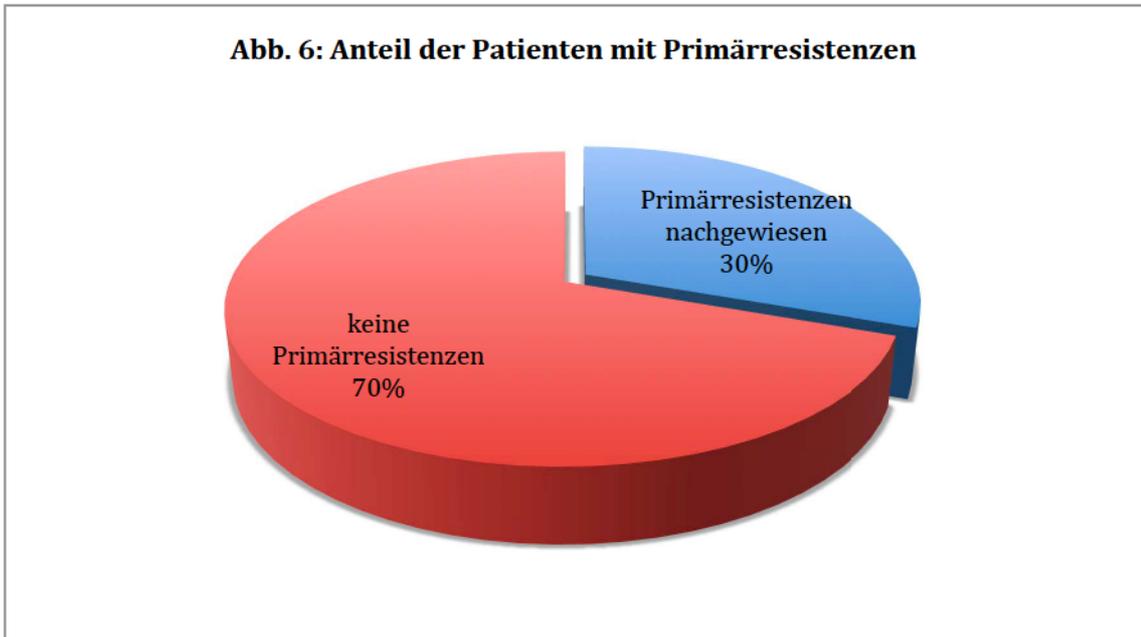
**Abb. 4: Prävalenz von Patienten mit vorhandenem Resistenztest vor Therapiebeginn.** Das Diagramm zeigt die Häufigkeitsverteilung des Vorliegens eines initialen Resistenztests vor Einleitung einer Therapie in unserer Patientenkohorte.

**Abb. 5: Gründe für das Fehlen des Resistenztests vor Therapiebeginn**



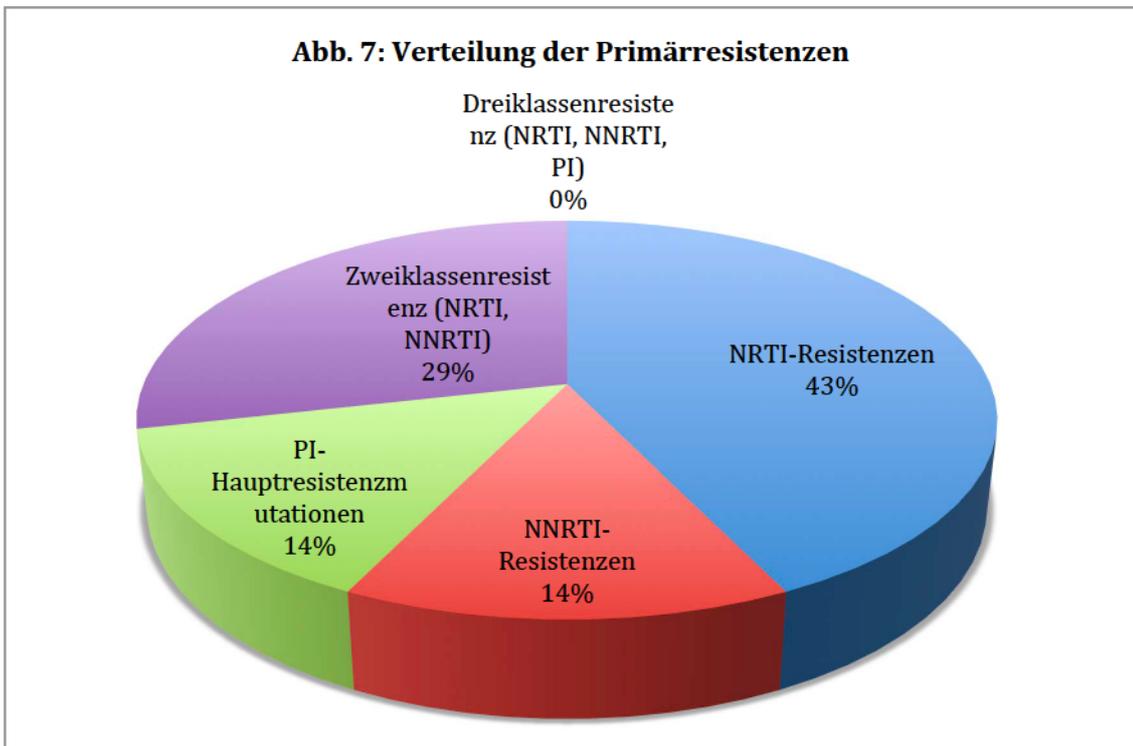
**Abb. 5: Gründe für das Fehlen eines Resistenztests vor Therapiebeginn.** Das Diagramm zeigt die verschiedenen Gründe für das Fehlen eines Resistenztestes vor dem initialen Therapiebeginn und die Häufigkeitsverteilung in unserer Patientenkohorte.

**Abb. 6: Anteil der Patienten mit Primärresistenzen**



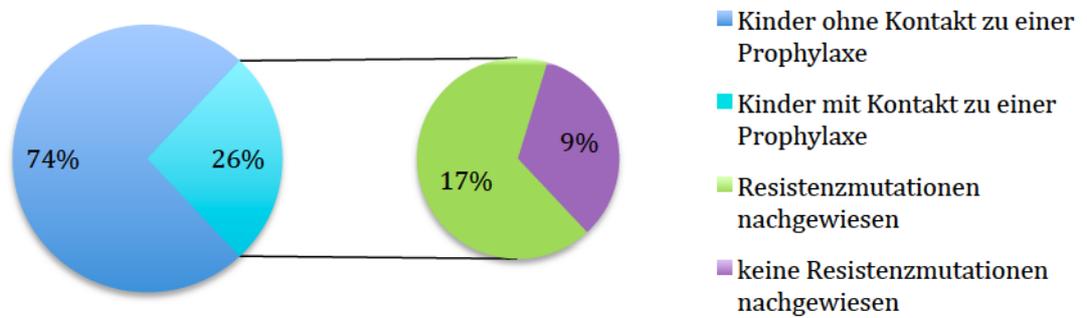
**Abb. 6: Anteil der Patienten mit Primärresistenzen.** Das Diagramm zeigt die Prävalenz von Primärresistenzen in der Patientenkohorte.

**Abb. 7: Verteilung der Primärresistenzen**



**Abb. 7: Verteilung der Primärresistenzen.** Das Diagramm stellt die Verteilung der Primärresistenzen in unserer Studienkohorte dar. Die Primärresistenzen werden unterteilt in NRTI-Resistenzen, NNRTI-Resistenzen, PI-Hauptresistenzmutationen, Zweiklassenresistenz gegen NRTI und NNRTI und Dreiklassenresistenz gegen NRTI, NNRTI und PI.

**Abb. 8: Anteil der Patienten mit Primärresistenzen und Kontakt zu einer Transmissionsprophylaxe**



**Abb. 8: Anteil der Patienten mit Primärresistenzen und Kontakt zu einer Transmissionsprophylaxe.** Das Diagramm zeigt die Prävalenz von primären Resistenzmutationen innerhalb des Patientenkollektivs, das Kontakt zu einer Transmissionsprophylaxe aufweist.

### 3.4 Auswirkungen der Resistenzmutationen

Die zuvor tabellarisch dargestellten Mutationen haben unterschiedliche Medikamentenresistenzen zur Folge, welche in diesem Kapitel näher beschrieben werden. In der Tabelle 4 werden diese Primärresistenzmutationen und deren Auswirkungen tabellarisch festgehalten. Wie bereits zuvor im Methodenteil beschrieben erfolgte die Auswertung und Einteilung der Resistenzgrade auf der Grundlage der *NRTI*-, *NNRTI*- und *PI Resistance Mutation Scores*, der *Resistance Comments* und der *HIV Resistance Notes* der Universität Stanford. Mit Hilfe dieser Daten erfolgte eine Klassifikation in hoch- bis mittelgradige- und geringgradige Resistenzen (siehe Tabelle 4) (87-90).

Insgesamt wurden in unserem pädiatrischen Patientenkollektiv am häufigsten Mutationen in der Substanzklasse der NRTIs festgestellt (n=5/23, 22%) (siehe Tabelle 2 und Abb.7). Wir konnten elf verschiedene NRTI-Resistenzmutationen bei insgesamt fünf unserer Patienten nachweisen (siehe Tabelle 2), die wichtigsten davon werden in diesem Kapitel erfasst.

Die NRTI-Mutation M184V wurde in zwei von unseren Probanden festgestellt (#6, #17) (1) (siehe Tabelle 2). Ebenso wie die Mutation M184I, verursacht auch M184V eine hochgradige Resistenz gegenüber 3TC und FTC. Die Empfindlichkeit des Virus gegenüber diesen beiden Substanzen wird durch die Mutationen um mehr als den Faktor 100 verringert. Zusätzlich bewirken M184V und M184I eine geringe Resistenz gegenüber ABC (61, 88, 91-94) und eine *potential low-level resistance* gegenüber ddI (siehe Tabelle 4). Beide Mutationen können durch die vier genannten Medikamente hervorgerufen werden (61, 88, 91-94). Neben diesen Auswirkungen von M184V/I, führen sie außerdem zu einer Steigerung der viralen Fitness und der Sensibilität gegenüber TDF, d4T und AZT (61).

Die Mutationen M41L, D67N, K70R, L210W und T215Y sind klassische Thymidin-Analogon-Mutationen (TAM) und waren in einem unserer Studienteilnehmer (#6) zu finden (siehe Tabelle 2). Diese sogenannten TAM sind nicht-polymorphe Mutationen, was bedeutet, dass sie in Zusammenhang mit einer Medikamenteneinnahme stehen (84).

D67N ist eine dieser TAM, welche die Sensibilität gegenüber AZT und Stavudin (d4T) verringert, im Sinne einer geringgradigen Resistenz. Hingegen tritt die Mutation M41L normalerweise in Kombination mit der Mutation T215Y auf und führt dann zu einer *high-level* Resistenz gegenüber den beiden genannten Medikamenten, AZT und d4T. Außerdem bewirken sie eine gering- bis mittelgradige Resistenz gegenüber ABC, ddI und TDF (61, 88) (siehe Tabelle 4). Diese Kombination von M41L und T215Y ließ sich bei einem unserer Patienten (#6) nachweisen (siehe Tabelle 2).

Eine weitere TAM ist die Mutation K70R. Sie bewirkt neben einer *intermediate-level* Resistenz gegenüber AZT, noch weitere Resistenzen, wie zum Beispiel eine niedrige

Resistenz gegenüber d4T und *potential low-level resistance* gegenüber TDF, ddl und ABC (61, 88) (siehe Tabelle 4).

Der bereits erwähnte Studienteilnehmer (#6) wies multiple Resistenzmutationen auf (siehe Tabelle 2). In Folge dessen beherbergte er, nach Auswertung mit der Stanford-Datenbank, hoch- bis mittelgradige Resistenzen gegenüber den folgenden NRTIs: 3TC, ABC, AZT, d4T, ddl, FTC und TDF (61) (siehe Tabelle 2 und 4).

Einige der vielen Resistenzmutationen, welche bei unserem Patienten #6 nachgewiesen werden konnten waren: L210W, M41L und T215Y (siehe Tabelle 2). Diese Mutationen treten zumeist gemeinsam auf und führen in dieser Kombination zu einer *high-level* Resistenz gegenüber AZT und d4T sowie zu einer mittel- bis hochgradigen Resistenz gegenüber ABC, ddl und TDF (61) (siehe Tabelle 4).

Die Mutation V75M bei dem gleichen Patienten (#6) verursacht laut der Auswertung mit den *NRTI Resistance Mutation Scores* der Universität Stanford eine Verringerung der Empfindlichkeit gegenüber verschiedener NRTIs. Hierbei kommt es zu einer mittelgradigen Resistenz gegenüber d4T, einer geringgradigen Resistenz gegenüber ddl und einer *potential low-level resistance* ggü. AZT (88) (siehe Tabelle 4).

Ein anderer Patient (#17) zeigte die Mutationen K70E/G/K/R, welche seltene, nicht-polymorphe Mutationen sind. Sie können durch die Therapie mit d4T, TDF und ABC hervorgerufen werden (63, 95, 96). Die Mutationen K70E/G reduzieren die Sensibilität gegenüber mehreren NRTIs. In der Folge führen sie zu einer geringgradigen Resistenz gegenüber d4T, TDF, ABC und ddl sowie zu einer *potential low-level resistance* gegenüber 3TC und FTC (88). Im Gegensatz zu diesen negativen Auswirkungen können diese beiden Mutationen zusätzlich die Empfindlichkeit gegenüber dem Medikament AZT erhöhen (88, 97, 98).

Im Gegensatz zu den bisher aufgeführten NRTI-Resistenzmutationen gibt es auch solche, die keine Resistenzwirkung erzielen. Hierzu gehört zum Beispiel die Zusatzmutation A62V, welche isoliert bei unserem Patienten #9 vorlag (siehe Tabelle 2). Nur in Kombination mit K65R oder Q151M kann die genannte Mutation eine Medikamentenresistenz bewirken (61).

Neben den zuvor beschriebenen NRTI-Mutationen wurden in unserer Patientenkohorte insgesamt fünf verschiedene primäre NNRTI-Mutationen in drei verschiedenen Patienten detektiert (siehe Tabelle 2). Auch in dieser Substanzklasse wies der Patient #6 in unserem Studienkollektiv die größte Anzahl von Mutationen auf. Dazu gehören die Mutationen K101E, V106M, E138A und G190A (99-102) (siehe Tabelle 2).

Die NNRTI-Mutation K101E ist eine nicht-polymorphe Mutation, welche eine mittlere Resistenz gegenüber NVP und RPV verursacht und eine geringe Resistenz gegenüber EFV und ETR (89, 99-102) (siehe Tabelle 4).

Wie auch bei diesem Patienten (#6), kann die Mutation K101E in Kombination mit der NRTI-Mutation M184I auftreten und in der Folge zu einer geringgradigen Resistenz gegenüber RPV führen (89, 101, 102) (siehe Tabelle 4).

Die ebenfalls nicht-polymorphe Mutation V106M wird durch eine Therapie mit NVP und EFV verursacht und bewirkt eine starke Resistenz gegen eben diese Medikamente (103). Dabei ist die Sensibilität gegenüber diesen beiden Medikamenten um mehr als den Faktor 30 verringert (102, 104).

Eine hochgradige Resistenz gegenüber NVP wird durch die Mutation G190A hervorgerufen. Außerdem bewirkt sie eine Resistenz mittlerer Stärke gegenüber EFV, geringere Stärke gegenüber RPV (89, 102, 105) sowie eine *potential low-level resistance* gegenüber ETR (89). G190A wird meist durch NVP und EFV hervorgerufen (99, 102).

Die polymorphe, Subtyp-abhängige NNRTI-Mutation E138A wurde in unseren Patienten #6 und #11 detektiert (1) (siehe Tabelle 2). Im Vergleich zum Subtyp B, ist diese Mutation deutlich häufiger beim Subtyp C zu finden (106).

Das Vorkommen von E138A bei therapie-naiven Patienten kann die Wirksamkeit von ETR und Rilpivirine (RPV), einem NNRTI aus der zweiten Generation, verringern und dadurch zu einer geringgradigen Resistenz führen (1, 89, 106, 107) (siehe Tabelle 4).

Die nicht-polymorphe NNRTI-Mutation K103N wurde bei Patient #17 ermittelt (siehe Tabelle 2). Sie wird durch die Einnahme von NVP und EFV hervorgerufen und bewirkt eine hochgradige Resistenz gegenüber diesen beiden Substanzen (89, 99, 105) (siehe Tabelle 4).

In der Substanzklasse der PIs konnten wir in unserer Kohorte nur einen Patienten (#10) mit einer PI-Hauptmutation (M46I/L) ermitteln (n=1/23, 4%) (siehe Tabelle 2 und Abb. 7). Diese Mutation M46I/L führt zu einer geringgradigen Resistenz oder einer *potential low-level resistance* gegenüber verschiedenen PIs. Dazu gehören Indinavir (IDV), Saquinavir (SQV), NFV, Fosamprenavir (FPV), LPV, Atazanavir (ATV) und Tipranavir (TPV) (90, 108).

Auch PI-Nebenmutationen wurden in einer relevanten Patientenzahl identifiziert. Vor allem die Mutationen L10I und K20I waren häufig in unserer Patientenkohorte vertreten. Diese beiden Mutationen sind Veränderungen im Protease-Gen. Die Mutation L10I ist eine polymorphe akzessorische Mutation, welche mit einer verringerten Wirksamkeit von PIs assoziiert sein kann (1, 109-111). Dies gilt vor allem für den Subtyp B, denn in Bezug auf *non-B* Subtypen stellt diese Mutation einen häufig vorkommenden Polymorphismus, also eine zufällig aufgetretene Mutation, dar (1, 112). L10I kann entweder die Empfindlichkeit gegenüber PIs verringern, oder die Replikationskapazität von Virusstämmen erhöhen, welche PI-Resistenzmutationen

enthalten (109, 110). Sie wurde bei neun von unseren insgesamt 23 therapie-naiv getesteten Patienten ermittelt.

Die Mutation K20I ist eine Konsensus-Aminosäure, also eine Abweichung von der in den meisten Fällen an dieser Stelle des Virusgenoms vorliegenden Aminosäure, welche in Virusstämmen des Subtypes G und CRF02\_AG zu finden ist. In den meisten anderen Subtypen ist diese Mutation eine PI-selektierte Mutation, welche mit einer reduzierten Empfindlichkeit gegenüber Nelfinavir (NFV) assoziiert ist (1, 113, 114). Diese *minore* PI-Mutation konnte im Resistenzprofil von insgesamt neun von unseren Patienten (#1, #2, #5, #6, #8, #10, #13, #16, #22) beobachtet werden.

Eine weitere PI-Nebenmutation ist die Mutation L24IV, welche bei unserem Patient #17 registriert werden konnte. Die Mutation L24I kann eine geringgradige Resistenz gegenüber FPV, IDV, LPV, SQV, ATV und NFV erwirken (90, 108, 115). Außerdem erhöht sie die Sensibilität gegenüber TPV (116). Sie wird durch IDV oder seltener auch durch LPV selektiert (117).

Auch die PI-Nebenmutation L10I/V zeigt einer unserer Patienten (#20). Diese polymorphe Mutation ist eine akzessorische Mutation, die durch den Einsatz von PIs hervorgerufen wird und sowohl eine Verringerung der PI-Sensibilität, als auch eine erhöhte Replikationskapazität von Viren mit anderen PI-Resistenzmutationen bewirken kann (109).

**Tabelle 4: Auswirkungen der beschriebenen Primärresistenzmutationen unserer Kohorte auf die Wirkung verschiedener antiretroviraler Medikamente der drei Substanzklassen: NRTIs, NNRTIs und PIs.**

Art der primären Resistenzmutation	Primäre Resistenzmutation	Hoch- bis mittelgradige Resistenz ggü. Folgenden Medikamenten	Geringgradige Resistenz ggü. folgenden Medikamenten	Andere Auswirkungen
<b>NRTI-Mutationen</b>	M184V	3TC, FTC (61, 91-94)	ABC (61, 91-94)	<i>Potential low-level resistance</i> ggü. ddl (88), Steigerung der viralen Fitness und der Sensibilität ggü. TDF, d4T, AZT (61, 88)
	D67N		AZT, d4T (61, 88)	<i>Potential low-level resistance</i> ggü. ddl, ABC (88)
	M41L gemeinsam mit T215Y	AZT, d4T (61)	ABC, ddl, TDF (gering- bis mittelgradig) (61)	
	K70R	AZT (61)	d4T (61, 88)	<i>Potential low-level resistance</i> ggü. ABC, ddl, TDF (88)
	L210W gemeinsam mit M41L und T215Y	AZT, d4T, ABC, ddl, TDF (61)		
	V75M	d4T (88)	ddl (88)	<i>Potential low-level resistance</i> ggü. AZT (88)
	K70E/G		d4T, TDF, ABC, ddl (88, 97, 98)	<i>Potential low-level resistance</i> ggü. 3TC, FTC (88), Steigerung der Sensibilität ggü. AZT (88, 97, 98)
<b>NNRTI-Mutationen</b>	K101E	NVP und RPV (89, 99-102)	EFV und ETR (89, 99-102)	
	K101E gemeinsam mit M184I		RPV (89, 101, 102)	
	V106M	NVP, EFV (89, 103)		
	G190A	NVP, EFV (89, 102, 105)	RPV (89, 102, 105)	<i>Potential low-level resistance</i> ggü. ETR (89)

<b>PI- Hauptmutat ionen</b>  <b>PI- Nebenmutat ionen</b>	E138A	ETR, RPV (1, 89, 106, 107)	
	K103N	NVP, EFV (89, 99, 105)	
	M46I/L	NFV (90, 108)	<i>Potential low-level resistance</i> ggü. IDV, FPV, LPV, ATV, SQV, TPV (90)
	L10I		Mögliche Verringerung der Wirksamkeit von PIs (1, 109-111)
	L10I/V		Mögliche Verringerung der PI-Sensibilität, mögliche Steigerung der Replikationskapazität von Viren mit anderen PI-Resistenzmutationen (109)
	K20I		Assoziation zu einer reduzierten Empfindlichkeit gegenüber NFV (1, 113, 114)
	L24I/V	FPV, IDV, LPV, SQV, ATV, NFV (90, 108, 115)	Mögliche Steigerung der Sensibilität ggü. TPV (90, 116)

**Tabelle 4: Auswirkungen der beschriebenen Primärresistenzmutationen unserer Kohorte auf die Wirkung verschiedener antiretroviraler Medikamente der drei Substanzklassen: NRTIs, NNRTIs und PIs.** Die Auswirkungen werden unterteilt in drei verschiedene Kategorien: hoch- bis mittelgradige Resistenz, geringgradige Resistenz und andere Auswirkungen gegenüber (ggü.) den genannten antiretroviralen Substanzen. Die dritte Kategorie umfasst jene Auswirkungen, die nicht in die ersten beiden Kategorien fallen. In der Kategorie der PIs wird zwischen Haupt- und Nebenmutationen unterschieden.

Die Einteilung der Resistenzmutationen in die Kategorien wurde auf der Grundlage der *Resistance Mutation Scores* der *HIV Drugresistance Database* der Universität Stanford (88) (Stand 10/2020) und der NRTI bzw. NNRTI Notes der Universität Stanford (61, 102) durchgeführt.

Resistenzen gegenüber dem Medikamen Doravirin (DOR) werden in dieser Tabelle nicht erfasst, da es erst ab 2019 zugelassen ist und somit keine Relevanz diese Arbeit und unsere Studienkohorte hat.

## 4 Diskussion

### 4.1 Beschreibung und Auswertung der Resistenzmutationen in unserer Kohorte und Vergleich zu Studien aus Europa und den USA

In unserer Kohorte lag die Prävalenz von übertragenen Resistenzmutationen insgesamt bei 30% (7/23), was verglichen mit anderen Kohorten eine hohe Prävalenz ist (1). Im Vergleich dazu ergab die Rate an primären Resistenzmutationen in einer Studie aus Großbritannien im Zeitraum von 1998 bis 2004 lediglich 6,8% (1, 118). Bei nur drei von insgesamt 44 Patienten konnte in Letzterer eine Primärresistenz gegen NRTI oder NNRTI festgestellt werden (118). In einer französischen Kohorte zeigte die Primärresistenzrate mit 8,3% einen ähnlich niedrigen Wert, wie in der Studie aus Großbritannien (119).

In einer spanischen Kohorte war die Rate an Primärresistenzen zwar über den Werten der Studienpopulationen aus dem Vereinigten Königreich und Frankreich angesiedelt, aber damit immer noch deutlich unterhalb der Primärresistenzrate unseres Patientenkollektivs. In dieser Studie aus Spanien betrug die Rate von primären Resistenzen 13,6%. Bei sechs von insgesamt 44 therapienaiven Kindern ließen sich übertragene Resistenzmutationen nachweisen. Der Zeitraum der Studie erstreckte sich von 1993 bis 2010 (120).

In unserer Studie waren Resistenzmutationen im Reverse Transkriptase-Gen dominierend. Bei insgesamt fünf unserer Patienten konnten NRTI-Mutationen festgestellt werden und bei drei Patienten erfolgte der Nachweis von NNRTI-Mutationen (1).

Im Gegensatz zu den bei unserer Kohorte vorherrschenden NRTI-Resistenzen (22%, n=5), waren in der spanischen und der französischen Studienpopulation die NNRTI-Resistenzen führend (119, 120). Unter den spanischen, therapienaiven Studienteilnehmern lag die Rate der übertragenen NNRTI-Resistenzmutationen bei 11,6%. Hingegen waren die NRTI-Resistenzen dort mit 9,3% lediglich am zweithäufigsten. Der Anteil der PI-Resistenzen machte nur 4,8% aus, was sehr ähnlich zu unserer Studie ist (4%, n=1) (120). Der Anteil der übertragenen NRTI-Resistenzen betrug in der französischen Kohorte 3,6%, sodass der Anteil der primären NNRTI-Resistenzen mit ungefähr 18% deutlich höher angesiedelt war. PI-Resistenzen konnten in dieser Studie bei therapienaiven Patienten nicht nachgewiesen werden (119).

Auch bei Betrachtung pädiatrischer Studienpopulationen aus den USA, ist die Rate von Primärresistenzen in unserer Kohorte deutlich höher. Zwei amerikanische Kohorten zeigten eine Primärresistenzrate von 19 bzw. 24% (1, 121, 122). Vorrangig ließen sich in beiden amerikanischen Studienpopulationen NNRTI-Primärresistenzen detektieren.

Eine der amerikanischen Studien konnte bei fünf von 21 therapienaiven Kindern primäre Resistenzmutationen nachweisen, wovon 80% Resistenzen gegenüber der Substanzklasse der NNRTIs waren (122). In der anderen amerikanischen Studie konnte unter therapienaiven Probanden eine NNRTI-Resistenzrate von ungefähr 12% und eine NRTI-Rate von ungefähr 7% ermittelt werden (121). Ebenso wie in unserer Kohorte und den zuvor genannten europäischen Studien, waren auch in den beiden amerikanischen Patientengruppen die PI-Resistenzmutationen mit 2,4% bzw. 0% am geringsten vertreten (121, 122).

Wichtig zu erwähnen ist, dass in den genannten Studien unterschiedliche Mutationslisten und Auswertungssysteme verwendet wurden (International Antiviral Society-USA (IAS-USA), France Recherche Nord&Sud Sida-hiv Hépatites (ANRS) oder Stanford-HIVDB). Ein Vergleich der Primärresistenzraten dieser verschiedenen Kohorten wird also durch diesen Unterschied in der Resistenzauswertung erschwert (1).

Zum jetzigen Zeitpunkt liegen keine vergleichbaren Daten von anderen pädiatrischen Kohorten aus Deutschland vor (1).

Die Mutationen M184V und M184I sind weltweit die häufigsten Resistenzmutationen gegenüber der Medikamentengruppe der NRTI (61), eine davon (M184V) konnte in zwei von unseren Probanden gefunden werden (#6, #17) (1, 123). Zur Entstehung dieser Mutation ist lediglich ein Nukleotidaustausch erforderlich (52, 124), was ihr häufiges Auftreten erklärt. Dieses Phänomen, wobei die Resistenzentwicklung gegen ein Medikament nur einen einzigen Aminosäureaustausch, also eine einzige Mutation, erfordert, wird mit dem Begriff einer geringen genetischen Barriere beschrieben (52).

Auch die Mutation K70R entsteht durch einen einzigen Aminosäureaustausch. Sobald die Aminosäure Lysin durch Arginin in einem einzelnen Codon des RT-Gens ersetzt wird (124, 125) entsteht eine mittelgradige Resistenz gegenüber AZT und eine geringgradige Resistenz gegenüber d4T und TDF (61, 124, 126).

Ein weiteres Beispiel für eine geringe genetische Barriere ist das Medikament NVP. Bereits eine einzelne Mutation ist ausreichend, um eine Resistenz gegen NVP zu bewirken (105). Durch Punktmutationen kann es zum Austausch von Aminosäuren kommen, welche eine NVP-Resistenz und sogar Kreuzresistenzen gegen andere NNRTIs zur Folge haben können (105). Durch Vorteile, wie die Herstellung einer geschmacksneutralen NVP-Suspension und eine gute Verfügbarkeit von NVP in ressourcenarmen Ländern, fand die Substanz weitverbreiteten Einsatz im Rahmen einer ART oder als Bestandteil einer Transmissionsprophylaxe (14). Dieser häufige Einsatz des Medikamentes in Kombination mit der beschriebenen geringen genetischen Barriere hatte in den letzten Jahren einen erheblichen Anstieg der NNRTI-Resistenzmutationen zur Folge (14). Vor allem die Verwendung von einer NVP-Einzeldosis als Transmissionsprophylaxe birgt ein hohes Risiko einer Resistenzentwicklung, sodass dieses Konzept keine Anwendung mehr findet (127).

Die beschriebenen Ursachen für ansteigende NNRTI-Resistenzraten könnten auch die hohe Prävalenz von primären NNRTI-Resistenzmutationen in den oben genannten Studien aus Frankreich, Spanien und den USA erklären.

In bestimmten Altersklassen ist NVP nach den aktuellen Deutsch-Österreichischen Leitlinien auch heute noch Bestandteil der pädiatrischen Erstlinientherapie, was die Bedeutung von Resistenztestungen vor einem Therapiebeginn unterstreicht (28).

Hingegen zeigen unsere Patienten vorwiegend TAMs, welche NRTI-Resistenzmutationen sind. Dabei konnten mehrere der klassischen TAM (M41L, D67N, K70R, L210W und T215Y) in einem unserer Studienteilnehmer (#6) festgestellt werden. TAM sind nicht-polymorphe, also Medikamenten-assoziierte Mutationen (128), welche primär durch AZT und d4T induziert werden (60, 61).

Das häufige Vorkommen dieser Resistenzmutationen in unserer Kohorte belegt, dass diese beiden antiretroviralen Substanzen ein häufiger Bestandteil der in unserer Kohorte angewendeten ART, beziehungsweise der maternalen Therapie, waren.

Nicht nur in unserer Studienpopulation sind diese Medikamente häufig zu finden. Der häufige Einsatz von AZT liegt vor allem darin begründet, dass es die erste zugelassene antiretrovirale Substanz war (129). AZT kann gemeinsam mit 3TC als NRTI-*Backbone* zur Anwendung kommen. Auf Grundlage der PENTA-5-Studie wird in Deutschland jedoch aktuell ein NRTI-*Backbone* aus ABC und 3TC bevorzugt eingesetzt (28). Im Verlauf ist der Einsatz dieser Substanz in Europa somit deutlich gesunken, wohingegen es in Afrika weiterhin wichtiger Bestandteil einer ART ist (130). Diese Tatsache könnte mit dazu beigetragen haben, dass in unserer Patientenkohorte die primären NRTI-Resistenzmutationen überwiegen, da ein Großteil unserer Kohorte mindestens ein Elternteil mit afrikanischer Herkunft hat.

Ein erhebliches Problem stellen die sogenannten Kreuzresistenzen dar, welche bei TAMs häufig zu finden sind. In diesem Fall scheiden neben dem Mutationsverursachenden Medikament auch viele weitere Medikamente für eine zukünftige Therapie aus. Diese Kreuzresistenzen schränken die Therapieoptionen somit deutlich ein (91). Beispielsweise zieht das Auftreten der Mutation T215Y neben einer Resistenz gegenüber AZT und d4T, zusätzlich eine Resistenz geringerer Stärke gegenüber ABC, ddI und TDF nach sich, sodass gleich mehrere Medikamente für die Wahl der folgenden Therapie ausscheiden (61).

Patient #6 aus unserer Patientenkohorte beherbergt multiple Resistenzmutationen, wovon einige Mutationen zusätzlich Kreuzresistenzen aufweisen. Als Resultat dessen können bei diesem pädiatrischen Patienten ungefähr sieben NRTIs und drei NNRTIs nicht mehr oder nur unter Vorbehalt eingesetzt werden, was unweigerlich zu einer massiven Verringerung der wirksamen Therapieregime führt. Dieser Fall unterstreicht die Gefahr, welche sich hinter der Anhäufung von Resistenzmutationen sowie hinter dem zusätzlichen Problem der Kreuzresistenzen verbirgt.

Nicht nur die Anhäufung mehrerer Resistenzmutationen, sondern auch das gleichzeitige Vorliegen von Resistenzen gegenüber mehrerer Medikamentengruppen stellt einen großen Nachteil für die Patienten dar.

Eine Zweiklassenresistenz gegenüber NRTIs und NNRTIs wurde bei zwei unserer Patienten detektiert (#6, #17). Die Mutter von Patient #6 wurde prä- und perinatal mittels ART behandelt. Trotz dieser Therapie hatte die Mutter während der Schwangerschaft und unter der Geburt eine hohe Viruslast, was auf bereits bestehende Resistenzmutationen des mütterlichen Virusstammes hindeutet und zusätzlich eine Übertragung dieses resistenten Virusstammes auf das Kind begünstigen kann (1).

Im Gegensatz zu Patient #6 konnte bei Patient #17 jedoch keine Hinweise auf eine ART-Exposition von Mutter oder Kind in der Vergangenheit gefunden werden. Es ist möglich, dass der Patient zu irgendeinem Zeitpunkt einer ART ausgesetzt war. Letztendlich bleibt die Ursache der Resistenzmutationen in diesem Fall unbekannt (1). Die Bedeutung von Resistenztestungen vor Einleitung einer Therapie wird durch diesen Fall erneut hervorgehoben, da bestehende *TDRMs* oder falsche Angaben bei der Anamnese erhebliche Konsequenzen, wie im schlimmsten Fall ein Therapieversagen der Erstlinientherapie, zur Folge haben können (1).

Jede Exposition gegenüber einer antiretroviralen Therapie, beispielsweise im Rahmen einer maternalen ART oder einer Transmissionsprophylaxe, birgt das Risiko für die Entstehung von Resistenzmutationen, vor allem wenn diese insuffizient ist oder eine mangelnde Therapieadhärenz vorliegt (131).

Entsprechend der uns vorliegenden Aufzeichnungen, erhielt die Mutter eines unserer Patienten (#10) vor der Schwangerschaft eine ART, sodass in diesem Fall die ART-Exposition der Mutter als Ursache der Resistenzmutation in Betracht gezogen werden muss (1).

Die Entstehung von Resistenzmutationen ist sehr komplex und sie ist unzweifelhaft von einer Menge Faktoren abhängig. Die weitreichenden Auswirkungen der zunehmenden Resistenzentwicklung schränkt die Auswahl von wirksamen Therapieoptionen ein und drängt uns dazu, auf andere Therapieregime auszuweichen. Vor allem für pädiatrische HIV-Patienten könnten sich zukünftig Schwierigkeiten in der Auswahl eines optimal wirksamen Therapieregimes ergeben. Die Lösung dieses Problems liegt zum Einen in der Vermeidung und dem Nachweis von Resistenzmutationen und zum Anderen in der Förderung von Fortschritten im Bereich der Pharmazie. So können neue Therapieoptionen zur Problemlösung beitragen. Aufgrund dieses Progresses sowie Veränderungen der Resistenzlage werden ständige Änderungen der Erstlinientherapie unvermeidbar bleiben. Daraus ergeben sich stetig Neuerungen in den Therapie-Empfehlungen, welche beispielsweise anhand der *WHO*-Leitlinien der letzten Jahre nachvollzogen werden können.

In den *WHO*-Leitlinien aus 2015 wurde als Therapie erster Wahl für Kinder unter drei Jahren noch ein NNRTI-basiertes Regime empfohlen (132). Durch die steigende Rate

von NNRTI-Resistenzen wurde diese Empfehlung im Verlauf überarbeitet und die WHO präferiert seit 2016 andere antiretrovirale Substanzklassen gegenüber den NNRTI als Bestandteil der Erstlinientherapie bei Kindern vor dem dritten Lebensjahr (13). Sollte ein alternatives Regime nicht erhältlich sein, sollte ein NNRTI nur nach vorheriger Resistenztestung eingesetzt werden (14).

Auch die Einbindung neuer Substanzen ist ein wichtiger Schritt in der Optimierung der Leitlinien. Seit 2018 wird beispielsweise für manche Altersgruppen Dolutegravir als Bestandteil einer pädiatrischen Erstlinientherapie empfohlen, da es sich in Studien gegenüber einem LPV/r-basierten Regime als überlegen erwies (28, 133).

Insgesamt sollte eine Therapieentscheidung individuell und vor allem auf der Grundlage des vorliegenden Resistenzprofils getroffen werden. Die Notwendigkeit von Resistenztestungen soll durch die Ergebnisse unserer Arbeit hervorgehoben werden, da sie eine wichtige Maßnahme zur Bekämpfung von HIV darstellen.

## **4.2 Vergleich von pädiatrischen Resistenz-Daten aus Industrienationen zu ressourcenarmen Ländern**

Wenn man die Daten bezüglich der Resistenzentwicklung pädiatrischer Kohorten in Europa Daten aus ressourcenarmen Gegenden wie Afrika gegenüberstellt, so zeigt sich bei Letzteren ein drastischer Anstieg der Rate an Primärresistenzen innerhalb der letzten Jahre (7, 134).

Global hat sich die Anzahl von pädiatrischen HIV-Patienten, die eine ART erhalten, seit 2010 mehr als verdoppelt (135) und auch in Entwicklungsländern haben sich in den letzten Jahren das Angebot und der Zugang zu einer ART deutlich verbessert. Während im Jahr 2010 nur ca. 18% der HIV-infizierten Kinder in Subsahara-Ländern Afrikas mittels ART behandelt wurden, waren es im Jahr 2018 bereits 53%. Diese Daten basieren auf UNICEF Berechnungen, welche den *Global AIDS Monitoring Report* und die *UNAIDS 2019 estimates* als Grundlage nutzen (136-138).

Dieser starke Anstieg der Patienten unter ART hat zwar die Überlebensraten und die Lebensqualität der HIV-infizierten Patienten stark verbessert, jedoch kommt es dadurch auch zu einem Fortschreiten der Entwicklung von Resistenzmutationen. Sowohl erworbene, als auch übertragene Resistenzmutationen ließen einen starken Anstieg verzeichnen (131). Zwar konnte initial auch in der westlichen Welt ein Zuwachs von Primärresistenzen beobachtet werden, jedoch sind die Resistenzraten in ressourcenreichen Ländern in den letzten Jahren relativ stabil (45).

Im Unterschied dazu steigt die Primärresistenzrate in Afrika und anderen ressourcenarmen Regionen weiter an und liegt deutlich höher als in westlichen Ländern (7, 134). Gründe für diesen Anstieg sind beispielsweise der zunehmende Ausbau der antiretroviralen HIV-Therapie mit teilweise unbeständiger Medikamentenversorgung oder schlechter Therapieadhärenz (131).

Insgesamt lag die Prävalenz von primären und sekundären Resistenzmutationen in Afrika im Beobachtungszeitraum von 2001 bis 2011 bei 10,6%, wobei die höchste Prävalenz von fast 55% in Zentralafrika gefunden wurde (131). Vor allem die hohe Zahl von übertragenen Resistenzmutationen in Afrika ist besorgniserregend. Bei bis zu einem Drittel der nicht vortherafierten Kinder in Afrika liegen Primärresistenzen vor (134). Diese hohe Zahl von Primärresistenzen bei therapienaiven Kindern in Afrika spiegelt sich auch in unserer pädiatrischen Kohorte der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf wieder. Wie bereits erwähnt, sind zwei Drittel unserer Studienkohorte afrikanischer Abstammung, sodass die hohe Primärresistenrate damit begründet werden kann.

Viele Studien unterstreichen diese beobachtete Entwicklung der Primärresistenzen in Afrika. In einer Studie aus Togo beispielsweise wurden Kinder mit neuer HIV-Diagnose aus den Jahren 2012 und 2013 hinsichtlich der Prävalenz von übertragenen Resistenzmutationen untersucht (139). Dabei lag der Anteil der Kinder mit primären Resistenzmutationen bei über 60%. Am häufigsten waren Resistenzen gegenüber Erstlinien-NNRTIs (59,7%) zu finden. Insgesamt wurden die meisten Resistenzen bei Kindern gefunden, die selber oder deren Mütter eine antiretrovirale Prophylaxe erhielten (75,6%) (139). In einer Studie in Südafrika wurde ebenfalls eine sehr hohe Rate an Primärresistenzen gefunden. Auch hier waren diese übertragenen Resistenzmutationen vor allem bei Kindern, welche eine HIV-Prophylaxe erhalten haben, zu finden. So hatten hier fast 57% der Kinder, die einer Prophylaxe ausgesetzt waren, NNRTI-Resistenzen (8).

Hingegen war in unserer Kohorte der Anteil der NRTI-Resistenzen (22%) deutlich größer, als der Anteil von NNRTI-Resistenzen (13%). Dies kann durch den geringen Einsatz einer Transmissionsprophylaxe bei unseren Probanden erklärt werden. Von 23 Patienten haben nur sechs eine Transmissionsprophylaxe erhalten (26%). Nur einer dieser sechs Patienten weist NNRTI-Resistenzen auf, sodass in unserer Studie kein direkter Zusammenhang zwischen einer Transmissionsprophylaxe und NNRTI-Resistenzmutationen festgestellt werden kann.

Fazit der Studie aus Togo ist, dass die Zahl an HIV-Neuinfektionen bei Kindern durch Verbesserung der Prophylaxe-Strategien zwar gesenkt werden konnten, wenn die Prophylaxe jedoch nicht erfolgreich war zeigten sich hohe Raten an Primärresistenzen (139). Gründe für das Scheitern der Transmissionsprophylaxe liegen vor allem in der schlechten Implementierung von Programmen zur HIV-Prophylaxe. Probleme sind zum Beispiel eine zu späte Diagnosestellung, eine schlechte Therapieadhärenz oder eine unzureichende Medikamentenversorgung (139).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass in Entwicklungsländern durch mangelhafte medizinische Versorgung und schlechtem Zugang zu Therapieüberwachungsmaßnahmen (Viruslastmessungen und Resistenztestungen) ein Anstieg der Resistenzentwicklung zu verzeichnen ist (131), wohingegen die

Primärresistenzrate in ressourcenreichen Regionen in den letzten Jahren auf einem stabilen Level stagniert (45). Die fehlende medizinische Versorgung von HIV-infizierten Müttern ist die Ursache von 24% der pädiatrischen HIV-Neuinfektionen im Jahr 2019, was das Verbesserungspotential unterstreicht (135).

Um den Auswirkungen der Resistenzentwicklung entgegenzuwirken, sind Gegenmaßnahmen notwendig. Beispielsweise wurde der Gebrauch von NNRTIs im Rahmen einer Erstlinien-Therapie für Kinder, aufgrund der hohen Prävalenz von NNRTI-Primärresistenzen, stark angezweifelt (7). Der Anstieg der primären NNRTI-Resistenzen lässt sich global beobachten, wobei der stärkste jährliche Anstieg in Westafrika zu sehen ist (14).

Als Reaktion auf dieses Problem hat die WHO im Juli 2017 Leitlinien veröffentlicht, die sich mit der steigenden Prävalenz von NNRTI-Resistenzen bei vorbehandelten und therapienaiven Patienten beschäftigen. Die WHO-Zielsetzung, die HIV-Infektion global einzudämmen, wird durch die ansteigende Zahl an Primärresistenzen gegen NNRTI gefährdet (14).

Ohne Unterscheidung zwischen therapienaiven und vorbehandelten Patienten wird in vielen Entwicklungsländern ein NNRTI-basiertes Regime als Therapie der ersten Wahl eingesetzt (13, 14). Im Falle von NNRTI-Primärresistenzen kann ein Therapieversagen die Folge dieser Erstlinientherapie sein, sodass die WHO ihre Leitlinien diesbezüglich überarbeitet hat (14). Somit lautet die aktuellere Empfehlung der WHO, dass für Kinder unter drei Jahren kein NNRTI-basiertes Regime gewählt werden sollte, sondern stattdessen ein Regime mit einem *geboosterten* PI (14) oder ein Dolutegravir-basiertes Regime (133). Einschränkungen für diese Empfehlung ergeben sich aus der fehlenden Zulassung des Medikamentes für manche Altersklassen (133). Hier kann alternativ Raltegravir angewendet werden, da dieser INI sogar bereits für Säuglingen zugelassen ist (133).

Auch die Deutsch-Österreichischen-Leitlinien empfehlen den beschriebenen Empfehlungen entsprechend, ein NNRTI-basiertes Regime nur für wenige Altersgruppen und nach erfolgtem Resistenztest (28).

Resistenztestungen sind ein sehr kostspieliges Mittel und stehen in Entwicklungsländern oftmals nicht zur Verfügung. Gemäß der WHO-Leitlinien sollen Daten zur Prävalenz von NNRTI-Primärresistenzen zur Therapieentscheidung herangezogen werden. Ab einer Prävalenzrate von 10% kann dann ein NNRTI-freies Therapieregime als Therapie der ersten Wahl bevorzugt werden, unabhängig davon, ob bereits Kontakt zu antiretroviralen Medikamenten bestanden hat (14).

Die zunehmende Entwicklung von Primärresistenzen wird zukünftig ähnliche Gegenmaßnahmen und Anpassungen der Therapie-Leitlinien erfordern. Denn obwohl der Zugang zu ART in Entwicklungsländern zunehmend ausgebaut wird, kann die fortschreitende Resistenzentwicklung diese Länder erneut vor ein Problem stellen. Während in Industrienationen meist noch wirksame alternative (*second-line* oder *third-line*) Medikamentenkombinationen zur Verfügung stehen, sieht die Lage in

Entwicklungsländern etwas anders aus. In Entwicklungsländern gefährdet die Entwicklung von Resistenzen und die dadurch unumgängliche Therapieumstellung zukünftig zunehmend den Therapieerfolg, da im Falle dessen alternative Medikamentenkombinationen verfügbar sein müssen (140).

Weiterhin wird in ressourcenarmen Ländern eine Optimierung der medizinischen Ressourcen, wie ein erleichterter Zugang zu herkömmlichen und modernen antiretroviralen Substanzen sowie zu Resistenztestungen notwendig sein, um die Versorgung von HIV-Patienten zu verbessern (131). Probleme wie mangelnde Medikamentenlieferungen, unzulängliche Therapieadhärenz oder insuffiziente Patientenbetreuung gefährden den Therapieerfolg von Patienten in Entwicklungsländern und führen zu einem Zuwachs von Resistenzen (131).

Neben der Verbesserung der medizinischen Versorgungssituation in Entwicklungsländern, ist ein zunehmender Einsatz von Resistenztestungen, insbesondere bei therapienaiven Patienten, eine wichtige Maßnahme. Hier besteht der Bedarf eines weiteren Ausbaus der Zugangsmöglichkeiten. Einerseits kann dadurch eine resistenz-angepasste Erstlinientherapie gewährleistet werden und andererseits dient der vermehrte Einsatz von Resistenztestungen zur Datenerfassung und damit zur Beurteilung der Resistenzentwicklung (7).

### **4.3 Die globale Subtypenverteilung und ein Vergleich der Subtypenverteilung unserer Kohorte mit ähnlichen Studien aus Industrienationen**

Viele Studien haben gezeigt, dass bei der Verbreitung von HIV-1 Subtypen bestimmte geografische Verteilungen zu erkennen sind (141). Demnach spielten in den letzten Jahrzehnten viele Faktoren, wie beispielsweise Migration, Tourismus und Handel eine große Rolle in der Ausbreitung von HIV-1. Das Muster der Subtypenverteilung ist jedoch sehr kompliziert und bisher keinesfalls vollständig nachvollziehbar (41).

Obwohl der HIV-1 Subtyp B global gesehen insgesamt nur 10% der HIV-Infektionen ausmacht, ist er während der letzten Jahrzehnte in der westlichen Welt am häufigsten zu finden (39, 41, 142). Auch in Europa und den USA ist Subtyp B derzeit vorherrschend, wie auch die oben erwähnten Studienpopulationen zeigen (41, 42). In Afrika und Indien, welche den Großteil der HIV-Erkrankten beherbergen, sind *non-B* Subtypen am häufigsten zu finden. In diesen Regionen ist der Subtyp C mehrheitlich vertreten, und insgesamt verursacht der Subtyp C weltweit fast 50% der HIV-Infektionen (42, 142).

Insgesamt scheint der Anteil der *non-B* Subtypen in Europa anzusteigen. Es zeigt sich hier bereits eine deutlich höhere Prävalenz dieser Subtypen als in den USA (143). Die Catch-Studie führt eine allgemeine Prävalenz von *non-B* Subtypen in Europa von 30% auf (144). Im Allgemeinen kommen *non-B* Subtypen jedoch gehäuft in Afrika vor, wohingegen in Deutschland immer noch der Subtyp B führend ist (39, 145).

Unsere Kohorte unterscheidet sich von der zuvor beschriebenen Subtypenverteilung und zeigt nicht das für Europa typische Subtypen-Verteilungsmuster. In unserer retrospektiven Studie an der Kinderklinik in Düsseldorf weisen 76% der HIV-infizierten Kinder *non-B* Subtypen auf. Hierunter waren am häufigsten rekombinante zirkulierende Formen (36%) und der Subtyp C (10%) vertreten (1).

Ein Großteil der Kinder unserer Kohorte (67%) haben mindestens einen afrikanischen Elternteil, wo HIV-Varianten mit *non-B* Subtypen vorherrschend sind (142, 145). Damit unterscheidet sich unsere Kohorte von vergleichbaren pädiatrischen Kohorten anderer Industrieländer, was vor allem in der Herkunft der Eltern (Afrika) begründet zu sein scheint (1).

Insgesamt sind zirkulierende rekombinante Formen mit 36% in unserer Kohorte am häufigsten vertreten. Diese Subtypen kommen vor allem in Westafrika vor, wobei vor allem die Subtypen CRF06\_cpx und CRF02\_AG häufig zu finden sind (142, 145). Auch einige unserer Probanden mit den genannten Subtypen weisen als Herkunftsland westafrikanische Staaten, wie Nigeria, Ghana oder Togo auf.

CRF01\_AE zeigt sich gehäuft in Ost-asiatischen Ländern sowie Südostasien (142, 145). Auch unter unseren Probanden ließ sich diese Assoziation bestätigen.

Der Subtyp C findet sich vor allem in Südafrika, Ätiopien und Indien (142, 145). Er ist bei 10% unserer Patienten zu finden, welche beispielsweise Mosambik oder Simbabwe als Herkunftsländer aufweisen.

Im Vergleich dazu wiesen in einer amerikanischen Kohorte nur 17% *non-B* Subtypen auf. In einer spanischen Kohorte waren es lediglich 11% (1, 120, 121). Damit entsprechen diese Studien dem typischen globalen Subtypenverteilungsmuster, da in diesen Regionen der Subtyp B der dominierende ist (41).

Eine Studie pädiatrischer HIV-Patienten aus Frankreich zeigte jedoch eine ähnliche Subtypenverteilung wie unserer Kohorte. Auch hier waren mit 90,5% *non-B* Subtypen am häufigsten vertreten, was auch in diesem Fall auf die überwiegend afrikanische Herkunft (80,9%) der Mütter zurückzuführen ist (119).

#### **4.4 Auswertung von Resistenzmutationen im Zusammenhang mit dem HIV-Subtyp**

Ein wichtiger Aspekt bei der Auswertung von Resistenzmutationen ist der HIV-1 Subtyp. Medikamente können in Verbindung mit unterschiedlichen Subtypen, verschiedene Mutationen zur Folge haben (42).

Die Resistenzmutations-Muster sind unterschiedlich bei verschiedenen Subtypen und so können in unterschiedlicher Weise Kreuzresistenzen, also Resistenzen gegen mehrere oder alle Medikamente einer Substanzklasse, hervorgerufen werden (42, 43).

Ein anderes Beispiel für den Einfluss des Subtyps auf die Resistenzentwicklung sind Fälle in denen bestimmte Subtypen Prädispositionen zur Entstehung von Resistenzen aufweisen (42). Dabei können Unterschiede in bestimmten Mutations-assoziierten Aminosäuresequenzen in *non-B* Subtypen zu einem erhöhten Auftreten von Resistenzmutationen führen (42).

Zwar sind ein Großteil der durch NRTI und NNRTI erzeugten Mutationen bei den verschiedenen Subtypen sehr ähnlich (42), jedoch gibt es für manche Medikamente unterschiedliche Mutationsmuster (146). Beispielsweise tritt die PI-Mutation M89I/V nur in *non-B* Subtypen auf und ist dort mit einem Therapieversagen von PIs assoziiert (146).

Ein weiteres Beispiel für Subtypen-abhängige Mutationsentwicklung ist die Mutation V106M, welche gehäuft bei Subtyp C vorkommt, da dort nur der Austausch eines einzigen Basenpaares zur Resistenzentstehung notwendig ist. Hingegen muss in allen anderen Subtypen der Austausch von zwei Basenpaaren stattfinden, damit diese Mutation entstehen kann (131).

Der größte Anteil der Daten zu HIV-1 Medikamentenresistenzen wurde lange Zeit in Ländern gesammelt, in denen der Subtyp B vorherrschend ist. Dazu zählen Regionen, wie Nordamerika, Zentraleuropa und Australien (42). Außerdem wurden Auswirkungen neu entwickelter Medikamente vor allem Patienten mit dem in westlichen Ländern vorherrschenden Subtyp B dokumentiert, da diese Regionen zuerst Medikamentenzugang erhielten. Die Auswirkungen auf *non-B* Subtypen war also zunächst weniger bekannt, obwohl diese insgesamt die Mehrheit aller weltweiten HIV-Infektionen ausmacht (42).

Somit ist zu beachten, dass lange Zeit eine Datenlücke bezüglich der Resistenzentwicklung der *non-B* Subtypen bestand, welche durch die Schaffung von vermehrtem Zugang zu Resistenztestungen in Entwicklungsländern gefüllt werden kann. Die Verbreitung von *non-B* Subtypen in der westlichen Welt nimmt zu, sodass sich die Unterschiede der Resistenzentstehung der verschiedenen Subtypen auch hier vermehrt zeigen werden (42).

Letztendlich ist also eine gemeinsame Beurteilung von Resistenzmutationen in Zusammenhang mit dem Subtyp sinnvoll. Aus diesem Grund ist die Bestimmung des HIV-Subtyps zumeist fester Bestandteil der Auswertung von Resistenzen (42).

#### **4.5 Entwicklung der Primärresistenzrate in Deutschland und Vergleich zu Europa**

Möchte man sich insgesamt die Resistenzentwicklung in Deutschland in den letzten Jahren vor Augen führen, ist dies mit Hilfe der Serokonverterstudie des Robert-Koch-Instituts (RKI) sehr gut möglich. Diese Studie liefert Daten zur Resistenzentwicklung einer Kohorte HIV-infizierter Patienten in Deutschland innerhalb der letzten Jahre

(147). Hierbei ergab der Anteil an Patienten mit Primärresistenzen 17,2% für einen Beobachtungszeitraum von 1996 bis 2017 nach Auswertung mit der Stanford HIV Datenbank (45, 148). Nach der *Surveillance of transmitted drug mutations (SDRM) list* der WHO beträgt die Rate 10,6% im besagten Zeitraum. In den letzten zehn Jahren (2008 bis 2017) liegt dieser Wert mit 8,9% sogar unterhalb von 10% (45).

Im Vergleich dazu liegt die Primärresistenzrate in unserer pädiatrischen Kohorte mit 30% also deutlich höher. Dieser Unterschied kann unter anderem auf die Herkunft unserer Studienteilnehmer zurückzuführen sein, da bei zwei Drittel der Kinder (67%) mindestens ein Elternteil aus Afrika stammt.

Den größten Anteil der Primärresistenzen machen in der Serokonverterstudie mit 7,8% die NNRTI-Resistenzen aus, gefolgt von den NRTI-Resistenzen (5%) und den PI-Resistenzen (2,8%). Eine Zweiklassenresistenz konnte bei 1,3% der Patienten gefunden werden und eine Dreiklassenresistenz lediglich bei 0,2% (45, 148). Im Zeitraum von 1996 bis 2010 lag die Primärresistenzrate der Serokonverterstudie bei 11,9% (nach der *WHO SDRM list*), wobei die NRTI-Resistenzen mit 6% am häufigsten vertreten waren (147). Betrachtet man einen noch früheren Zeitraum, beispielsweise die Jahre zwischen 1996 und 2007, lag die Primärresistenzrate sogar bei 12,4%. Auch hier waren die NRTI-Resistenzen mit 7,5% vorherrschend (149).

Insgesamt hat sich Prävalenz von Primärresistenzmutationen in der Serokonverterstudie im Zeitraum von 1996 und 2017 verringert, ebenso die Rate der NRTI-Resistenzen (45). Wohingegen die Rate von NNRTI- und PI-Resistenzen über den genannten Zeitraum keine signifikanten Veränderungen zeigten (45). Die sinkende NRTI-Resistenzrate kann auf verschiedene Faktoren, wie beispielsweise die Einführung neuer antiretroviraler Substanzen sowie den zunehmenden Einsatz von Resistenztests vor einem Therapiebeginn zurückgeführt werden (149). In den frühen Jahren der antiretroviralen Therapie kamen vor allem NRTIs, wie 3TC, AZT und d4T, also Mono- oder Zweifach-Therapieregime zum Einsatz, weshalb Mutationen gegen ebendiese Substanzen in den Resistenzprofilen zu finden sind (149).

Gegen ebendiese NRTIs zeigen auch die Kinder unserer Kohorte Resistenzmutationen, was an einem weit verbreiteten Einsatz dieser Substanzen in den letzten Jahrzehnten begründet liegt. Auch in unserer Studie waren insgesamt die NRTI-Resistenzmutationen mit 22% am häufigsten vertreten.

Mit der Einführung anderer Substanzklassen und neuer Medikamente, wurden beispielsweise AZT und d4T aus der Erstlinientherapie von erwachsenen- sowie pädiatrischen HIV-Patienten verdrängt (28, 45, 150).

Innerhalb der letzten zehn Jahre (2008 bis 2017) lässt sich eine relativ stabile Primärresistenzrate verzeichnen (45), was laut dem Robert-Koch-Institut vor allem in der langen Persistenz mancher Primärresistenzen und der fortgesetzten Übertragung dieser begründet liegt (45, 148).

Im Vergleich zur Serokonverterstudie lässt sich eine ähnlich hohe Prävalenz von Primärresistenzen in weiteren nicht-pädiatrischen Kohortenstudien aus europäischen

Ländern, wie beispielsweise der Schweiz (9,1% zwischen 1998 und 2012) (151), Belgien (9,6% zwischen 1998 und 2012) (152), Spanien (9% zwischen 1997 und 2012) (153) und Frankreich (10,8% 2015/2016) (154) feststellen. Zur Auswertung wurde jeweils die *WHO SDRM list* verwendet. Auch in den genannten Studien zeigte sich über den Beobachtungszeitraum eine relativ stabile Primärresistenzrate (151-154). Das *SPREAD*- Programm (*Strategy to control spread of HIV drug resistance*), welches Daten aus 26 verschiedenen europäischen Ländern umfasst, lieferte eine Primärresistenzrate von 8,3% im Zeitraum von 2002 bis 2005 (155).

#### **4.6 Vergleich Subtypenverteilung und Primärresistenzen unserer pädiatrischen Kohorte zu einer Kohorte Erwachsener aus Deutschland (RESINA)**

Die RESINA-Studie (*primary drug RESistance in treatment NAive HIV-infected patients*) liefert Daten zur Subtypenverteilung und Resistenzentwicklung in einer Kohorte bestehend aus erwachsenen HIV-Patienten in Nordrhein-Westfalen seit dem Jahr 2001 bis heute. In unserer Arbeit konzentrieren wir uns auf die Ergebnisse im Zeitraum zwischen 2001 und 2009 (1, 156).

Im Gegensatz zu unserer Studienpopulation, war der überwiegende Anteil der Studienpopulation mit Subtyp B infiziert (72%) (156). Wohingegen in unserer Kohorte die Mehrheit *non-B* Subtypen aufwies (76%) (1). Dieser Unterschied in der Subtypenverteilung ergibt sich wahrscheinlich aus den unterschiedlichen Ethnien der Patienten, bzw. der Eltern der Patienten und dem vorliegenden Transmissionsmodus (1). Während unsere Patienten zum Großteil (67%) mindestens einen Elternteil mit afrikanischer Herkunft hatten, waren in der RESINA-Studie 81% der Patienten kaukasischer, meist deutscher Herkunft (1, 156).

Der Transmissionsmodus in der RESINA-Studienkohorte war zum Großteil horizontal (1, 156). Im Unterschied dazu lag bei fast allen Patienten unserer pädiatrischen Kohorte (94%) ein vertikaler Transmissionsmodus vor (1).

Der Anteil der Primärresistenzen unter den therapienaiven Erwachsenen der RESINA-Studie ergab 9,2% (156). Die Prävalenz ist in der RESINA-Kohorte also deutlich geringer als in unserer pädiatrischen Kohorte an der Kinderklinik der Uniklinik Düsseldorf (1). Auch bei den RESINA-Probanden waren die NRTI-Resistenzen mit 5,8% führend. NNRTI-Resistenzen und PI-Resistenzen machten hier jeweils 2,7% aus (156).

Der Vergleich unserer pädiatrischen Studienpopulation mit der RESINA-Kohorte ermöglicht einen Einblick in die Unterschiede zwischen erwachsenen- und pädiatrischen HIV-Patienten hinsichtlich der Subtypenverteilung und der Prävalenz von Primärresistenzen (1). Hierbei wird deutlich, dass die beiden Kohorten vermutlich durch die Herkunft und den Transmissionsmodus eine unterschiedliche Subtypenverteilung aufwiesen. Auch in der Prävalenz der Primärresistenzen ließen

sich deutliche Unterschiede feststellen. In unserer pädiatrischen Kohorte war die Primärresistenzrate deutlich höher (1).

#### **4.7 Schlussfolgerungen: Auswirkungen der Resistenzentwicklung**

In den letzten Jahren zeigen sich zunehmend die negativen Auswirkungen einer grundsätzlich positiven Entwicklung im Kampf gegen die HIV-Epidemie. Die globale Expansion des Zugangs zu ART und die steigende Anzahl an HIV-Patienten unter antiretroviraler Behandlung hat zunächst zu einem erheblichen Zuwachs übertragener Resistenzmutationen geführt (5), welcher sich in den letzten Jahren in ressourcenreichen Ländern auf einem stabilen Level hält (45). In ressourcenarmen Regionen hingegen zeigte sich in den letzten Jahrzehnten ein deutlicher Anstieg der primären Resistenzmutationen, sodass in diesen Regionen weiterhin hohe Primärresistenzraten zu verzeichnen sind (46, 134).

Wie bereits beschrieben, ist das Problem der Resistenzmutationen besonders für Kinder relevant, da ihre Therapiemöglichkeiten aus multiplen Gründen eingeschränkt sind (5).

Verschiedene Maßnahmen sind notwendig, um die fortschreitende Entwicklung von Resistenzen verhindern zu können. Zunächst sollte eine vertikale HIV-Transmission durch eine effektive maternale antiretrovirale Therapie abgewendet werden. Darüberhinaus können beispielsweise eine Förderung der Therapieadhärenz und ein globaler Ausbau der Zugangsmöglichkeiten zu Methoden der Therapieüberwachung, wie Viruslastmessungen und Resistenztestungen, zur Verringerung der Resistenzentwicklung beitragen (5, 6).

Die Datenlage zu Resistenzmutationen, insbesondere zu Primärresistenzen, ist weiterhin ausbaufähig und besonders im Kindesalter gibt es bisher nur wenige Studien (1, 5). Dieser Mangel an Daten gefährdet den Erfolg antiretroviraler Therapieprogramme und kann den Krankheitsverlauf behandelter Kinder negativ beeinträchtigen (15). Auf Grund dieser Tatsachen sollten Resistenztestungen vor Beginn einer ART auch in Entwicklungsländern zum Standard gehören (1, 157). Ein umfassender Einsatz von Resistenztestungen soll außerdem dazu beitragen, das Ausmaß der weltweiten Resistenzentwicklung beobachten und einschätzen zu können (157). Ohne Durchführung eines Resistenztests vor Einleitung einer ART, kann es durch das erhöhte Vorkommen von resistenten Virusstämmen vermehrt zum Therapieversagen kommen (157). Primärresistenzen bedrohen den Erfolg einer ART, sodass eine flächendeckende, routinemäßige Resistenztestung therapienaiver HIV-Patienten notwendig ist (1, 5, 15).

Insgesamt könnte ein weiterer Anstieg der Resistenzrate globale Auswirkungen haben. Ein Anstieg der Primärresistenzrate auf über 10% könnte zu ansteigenden Zahlen von Neuinfektionen und AIDS-assoziierten Todesfällen führen (7). Ebendiese 10%-Marke

wird aktuellen Studien zu Folge bereits in vielen ressourcen-armen Regionen überschritten (7, 46).

Da das Resultat der zunehmenden Resistenzentwicklung zukünftig das Fehlen wirksamer ART-Regime sein könnte, besteht unweigerlich der Bedarf für eine stetige Entwicklung neuer antiretroviraler Substanzen, welche auch für den Einsatz bei Kindern zugelassen werden können (15). Die Prognose der HIV-1-infizierten Patienten könnte zunehmend von Faktoren abhängig sein, wie dem Zugang zu Resistenztestungen sowie anderen Maßnahmen zur Therapieüberwachung und modernen HIV-Medikamenten (15).

Hinter dem Problem der Resistenzentwicklung stehen viele weitere Probleme, die es zu lösen gilt. Hierzu gehört beispielsweise die unzureichende medizinische Versorgung in ressourcenarmen Ländern. Durch schlechte Erreichbarkeit von antiretroviralen Medikamenten sowie fehlende, regelmäßige Therapieüberwachung und Resistenztestungen wird die Entstehung von Resistenzmutationen weiter vorangetrieben.

Zur Beeinflussung der Resistenzentwicklung bedarf es also mehr als ein umfangreicher Einsatz von Resistenztestungen in westlichen Ländern. Zur Verringerung der Resistenzentwicklung auf globaler Ebene ist ein Ausbau der medizinischen Versorgung in ressourcenarmen Regionen unerlässlich.

## **4.8 Fazit**

In Zukunft könnte die Anzahl der Resistenzmutationen in der Kinderklinik der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf ansteigen. Diese Hypothese basiert auf der Beobachtung, dass die meisten neu infizierten Patienten, die unsere Klinik konsultieren, aus Subsahara-Ländern Afrikas stammen, wo eine bessere Zugänglichkeit von ART zu einem Anstieg der Resistenzmutationen geführt hat (1, 5). Auch in den letzten Jahren wird eine Zunahme von übertragenen Primärresistenzen in Afrika und anderen ressourcenarmen Ländern registriert (7).

Die Aussagekraft der vorliegenden Arbeit wird durch folgende Faktoren eingeschränkt. Zum Einen handelt es sich um eine retrospektive Analyse mit eher geringer Kohortengröße und zum Anderen erfasst die Studie wenig Informationen zur maternalen Medikamentenhistorie und zum maternalen Resistenzprofil (1). Allerdings liefert die vorliegende Arbeit erstmalig Informationen zur HIV-1-Subtypenverteilung und zur Prävalenz von Resistenzmutationen bei therapienaiven, HIV-1-infizierten Kindern an einem Institut in Deutschland (1).

Durch diese Arbeit wird das erhöhte Vorkommen einer Übertragung von resistenten HIV-1-Stämmen auf Kinder hervorgehoben. Zusätzlich veranschaulichen wir die

Unterschiede bezüglich der HIV-1-Subtypen-Verteilung bei erwachsenen Patienten und pädiatrischen Patienten in Deutschland. (1).

Letztendlich verdeutlichen unsere Studienergebnisse, dass die Erfassung von Daten bezüglich der Resistenzmutationsrate, sowie die Durchführung eines Resistenztests vor Beginn einer HIV-1-Therapie entscheidende Maßnahmen im Kampf gegen HIV-1 darstellen (1). Nur durch einen vermehrten Einsatz von Resistenztestungen kann einseits die Subtypenverteilung und andererseits die Entwicklung von Primärresistenzen verfolgt werden. Dies soll helfen, die Muster der Resistenzentwicklung beurteilen zu können, um eine wirksame Erstlinientherapie bei den pädiatrischen Patienten zu gewährleisten. Folglich ist die umfassende Resistenztestung ein wichtiger Schritt, um dem Problem einer zunehmenden Übertragung von Primärresistenzen, insbesondere in afrikanischen Ländern, entgegenzutreten.

Darüber hinaus untrestreicht unsere Arbeit, dass die bessere Verfügbarkeit von ART nicht uneingeschränkt positive Folgen hat. Ein vermehrter und unkontrollierter Einsatz von antiretroviralen Medikamenten führt zu einer fortschreitenden Entstehung von Primärresistenzen. Diese Problematik betrifft nicht nur Entwicklungsländer, sondern birgt Risiken für die HIV-Therapie weltweit.

## 5 Literatur- und Quellenverzeichnis

1. Neubert J, Michalsky N, Laws H-J, Borkhardt A, Jensen B, Lübke N. HIV-1 subtype diversity and prevalence of primary drug resistance in a single-center pediatric cohort in Germany. *Intervirology*. 2016;59(5-6):301-6.
2. Foster C, Judd A, Tookey P, Tudor-Williams G, Dunn D, Shingadia D, et al. Young people in the United Kingdom and Ireland with perinatally acquired HIV: the pediatric legacy for adult services. *AIDS Patient Care STDS*. 2009;23(3):159-66.
3. Gibb D, Duong T, Tookey P, Sharland M, Tudor-Williams G, Novelli V, et al. Decline in mortality, AIDS, and hospital admissions in perinatally HIV-1 infected children in the United Kingdom and Ireland. *Bmj*. 2003;327(7422):1019.
4. Palmisano L, Vella S. A brief history of antiretroviral therapy of HIV infection: success and challenges. *Ann Ist Super Sanita*. 2011;47:44-8.
5. Rojas Sánchez P, Holguín A. Drug resistance in the HIV-1-infected paediatric population worldwide: a systematic review. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2014.
6. Sigaloff KC, Calis JC, Geelen SP, van Vugt M, de Wit TFR. HIV-1-resistance-associated mutations after failure of first-line antiretroviral treatment among children in resource-poor regions: a systematic review. *The Lancet infectious diseases*. 2011;11(10):769-79.
7. Gupta RK, Gregson J, Parkin N, Haile-Selassie H, Tanuri A, Forero LA, et al. HIV-1 drug resistance before initiation or re-initiation of first-line antiretroviral therapy in low-income and middle-income countries: a systematic review and meta-regression analysis. *The Lancet infectious diseases*. 2018;18(3):346-55.
8. Kuhn L, Hunt G, Technau K-G, Coovadia A, Ledwaba J, Pickerill S, et al. Drug resistance among newly-diagnosed HIV-infected children in the era of more efficacious antiretroviral prophylaxis. *AIDS (London, England)*. 2014;28(11):1673.
9. Connor EM, Sperling RS, Gelber R, Kiselev P, Scott G, O'sullivan MJ, et al. Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. *N Engl J Med*. 1994;331(18):1173-80.
10. Townsend CL, Cortina-Borja M, Peckham CS, de Ruiter A, Lyall H, Tookey PA. Low rates of mother-to-child transmission of HIV following effective pregnancy interventions in the United Kingdom and Ireland, 2000–2006. *Aids*. 2008;22(8):973-81.
11. Committee PS. PENTA 2009 guidelines for the use of antiretroviral therapy in paediatric HIV - 1 infection. *HIV Med*. 2009;10(10):591-613.
12. Neubert J, Niehues T, Baumann U, Buchholz B, Notheis G, Wintergerst U, et al. Guideline for antiretroviral therapy of HIV-infected children and adolescents. *Klinische Paediatric*. 2012;224(2):98.
13. Organization WH. Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection: recommendations for a public health approach: World Health Organization; 2016.
14. Organization WH. Guidelines on the public health response to pretreatment HIV drug resistance: July 2017. 2017.
15. Gamell A, Muri L, Ntamatungiro A, Nyogea D, Luwanda LB, Hatz C, et al. A Case Series of Acquired Drug Resistance-Associated Mutations in Human

Immunodeficiency Virus-Infected Children: An Emerging Public Health Concern in Rural Africa. *Open forum infectious diseases*. 2016;3(1):ofv199.

16. Waalewijn H, Turkova A, Rakhmanina N, Cressey TR, Penazzato M, Colbers A, et al. Optimizing Pediatric Dosing Recommendations and Treatment Management of Antiretroviral Drugs Using Therapeutic Drug Monitoring Data in Children Living With HIV. *Ther Drug Monit*. 2019;41(4):431.

17. Cohn J, Whitehouse K, Tuttle J, Lueck K, Tran T. Paediatric HIV testing beyond the context of prevention of mother-to-child transmission: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet HIV*. 2016;3(10):e473-e81.

18. De Cock KM, Fowler MG, Mercier E, De Vincenzi I, Saba J, Hoff E, et al. Prevention of mother-to-child HIV transmission in resource-poor countries: translating research into policy and practice. *JAMA*. 2000;283(9):1175-82.

19. Drake AL, Wagner A, Richardson B, John-Stewart G. Incident HIV during pregnancy and postpartum and risk of mother-to-child HIV transmission: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Med*. 2014;11(2):e1001608.

20. Blanche S. Mini review: Prevention of mother-child transmission of HIV: 25 years of continuous progress toward the eradication of pediatric AIDS? *Virulence*. 2020;11(1):14-22.

21. Sperling RS, Shapiro DE, Coombs RW, Todd JA, Herman SA, McSherry GD, et al. Maternal viral load, zidovudine treatment, and the risk of transmission of human immunodeficiency virus type 1 from mother to infant. *N Engl J Med*. 1996;335(22):1621-9.

22. Cooper ER, Charurat M, Mofenson L, Hanson IC, Pitt J, Diaz C, et al. Combination antiretroviral strategies for the treatment of pregnant HIV-1-infected women and prevention of perinatal HIV-1 transmission. *JAIDS-HAGERSTOWN MD*. 2002;29(5):484-94.

23. (DAIG) DA-G, Fachgesellschaften: uBdf, (ÖAIG) OsA-G, AIDS-Patienten (DAGNÄ) DGfrGkuGDDGfrKuJDDAnAridVvH-u, (DAH) DA-H, (RKI) PdAADPR-K-I. *Deutsch-Österreichische Leitlinien zur HIV-Therapie in der Schwangerschaft und bei HIV-exponierten Neugeborenen 2017* [cited 2020 15.06.2020]. Available from: <https://daignet.de/site-content/hiv-leitlinien/hiv-leitlinien>.

24. Krawinkel M, Chavez-Zander U. Stillen bei HIV-Infektion der Mutter. *Monatsschrift Kinderheilkunde*. 2006;154(3):237-42.

25. Stringer JS, Sinkala M, Maclean CC, Levy J, Kankasa C, DeGroot A, et al. Effectiveness of a city-wide program to prevent mother-to-child HIV transmission in Lusaka, Zambia. *AIDS (London, England)*. 2005;19(12):1309.

26. Wintergerst U, Baumann U, Both Uv, Buchholz B, Feiterna-Sperling C, Förster-Waldl E, et al. HIV-Infektion im Kindesalter-Update. *Pädiatrie & Pädologie*. 2019;54(1):18-27.

27. UNAIDS. *Miles to go*. 2018 [Available from: [http://www.unaids.org/sites/default/files/media\\_asset/miles-to-go\\_en.pdf](http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/miles-to-go_en.pdf)]

28. (DAIG) DA-G, (DGPI) DGfrpdI, Fachgesellschaften: uBdf, (PAAD) PdAA, (DGKJ) DGfrK-uJ, (DGI) DGfrI, et al. *Deutsch Österreichische Leitlinien zur antiretroviralen Therapie der HIV-Infektion bei Kindern und Jugendlichen 2019* [updated 03/2020; cited 2020 15.06.2020]. Available from: <https://daignet.de/site-content/hiv-leitlinien/hiv-leitlinien>.

29. Organization WH. *Antiretroviral therapy of HIV infection in infants and children: towards universal access: recommendations for a public health approach-2010 revision*: World Health Organization; 2010.

30. Mocroft A, Vella S, Benfield T, Chiesi A, Miller V, Gargalianos P, et al. Changing patterns of mortality across Europe in patients infected with HIV-1. *The Lancet*. 1998;352(9142):1725-30.
31. Hazra R, Siberry GK, Mofenson LM. Growing up with HIV: children, adolescents, and young adults with perinatally acquired HIV infection. *Annu Rev Med*. 2010;61:169-85.
32. Gesellschaft DA-. Deutsch- Österreichische Leitlinien zur antiretroviralen Therapie der HIV-1-Infektion: Deutsche AIDS- Gesellschaft; 2017 [updated 29.11.2017].
33. Frankel AD, Young JAT. HIV-1: Fifteen Proteins and an RNA. *Annu Rev Biochem*. 1998;67(1):1-25.
34. Arts EJ, Hazuda DJ. HIV-1 antiretroviral drug therapy. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012:a007161.
35. Rockstroh JK. Antiretrovirale Therapie der HIV - Infektion. *Pharm Unserer Zeit*. 2000;29(5):284-96.
36. Group ISS. Initiation of antiretroviral therapy in early asymptomatic HIV infection. *N Engl J Med*. 2015;373(9):795-807.
37. Foster C, Bamford A, Turkova A, Welch S, Klein N, Group PGW, et al. Paediatric European Network for Treatment of AIDS Treatment Guideline 2016 update: antiretroviral therapy recommended for all children living with HIV. *HIV Med*. 2017;18(2):133-4.
38. Violari A, Cotton MF, Gibb DM, Babiker AG, Steyn J, Madhi SA, et al. Early antiretroviral therapy and mortality among HIV-infected infants. *N Engl J Med*. 2008;359(21):2233-44.
39. Buonaguro L, Tornesello M, Buonaguro F. Human immunodeficiency virus type 1 subtype distribution in the worldwide epidemic: pathogenetic and therapeutic implications. *J Virol*. 2007;81(19):10209-19.
40. McCutchan FE. Global epidemiology of HIV. *J Med Virol*. 2006;78(S1):S7-S12.
41. Magiorkinis G, Angelis K, Mamais I, Katzourakis A, Hatzakis A, Albert J, et al. The global spread of HIV-1 subtype B epidemic. *Infect Genet Evol*. 2016;46:169-79.
42. Martínez-Cajas JL, Pai NP, Klein MB, Wainberg MA. Differences in resistance mutations among HIV-1 non-subtype B infections: a systematic review of evidence (1996–2008). *J Int AIDS Soc*. 2009;12(1):11.
43. Huang A, Hogan JW, Luo X, DeLong A, Saravanan S, Wu Y, et al., editors. Global comparison of drug resistance mutations after first-line antiretroviral therapy across human immunodeficiency virus-1 subtypes. *Open forum infectious diseases*; 2016: Oxford University Press.
44. Martínez-Cajas JL, Pant-Pai N, Klein MB, Wainberg MA. Role of genetic diversity amongst HIV-1 non-B subtypes in drug resistance: a systematic review of virologic and biochemical evidence. *AIDS Rev*. 2008;10(4):212-23.
45. Machnowska P, Meixenberger K, Schmidt D, Jessen H, Hillenbrand H, Gunsenheimer-Bartmeyer B, et al. Prevalence and persistence of transmitted drug resistance mutations in the German HIV-1 Seroconverter Study Cohort. *PLoS One*. 2019;14(1).
46. Ngo-Giang-Huong N, Huynh TH, Dagnra AY, Toni T-dA, Maiga AI, Kania D, et al. Prevalence of pretreatment HIV drug resistance in West African and Southeast Asian countries. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2019;74(2):462-7.

47. Hofstra LM, Mudrikova T, Stam AJ, Otto S, Tesselaar K, Nijhuis M, et al. Residual viremia is preceding viral blips and persistent low-level viremia in treated HIV-1 patients. *PLoS One*. 2014;9(10):e110749.
48. Maggiolo F, Callegaro A, Cologni G, Bernardini C, Velenti D, Gregis G, et al. Ultrasensitive assessment of residual low-level HIV viremia in HAART-treated patients and risk of virological failure. *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*. 2012;60(5):473-82.
49. Coffin JM. HIV population dynamics in vivo: implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy. *Science*. 1995;267(5197):483-9.
50. Drake JW. Rates of spontaneous mutation among RNA viruses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1993;90(9):4171-5.
51. Metzner KJ, Giulieri SG, Knoepfel SA, Rauch P, Burgisser P, Yerly S, et al. Minority quasispecies of drug-resistant HIV-1 that lead to early therapy failure in treatment-naive and-adherent patients. *Clin Infect Dis*. 2009;48(2):239-47.
52. Beerenwinkel N, Däumer M, Sing T, Rahnenführer J, Lengauer T, Selbig J, et al. Estimating HIV evolutionary pathways and the genetic barrier to drug resistance. *The Journal of infectious diseases*. 2005;191(11):1953-60.
53. Murken J. *Humangenetik*: Georg Thieme Verlag; 2006.
54. Shafer RW, Rhee S-Y, Pillay D, Miller V, Sandstrom P, Schapiro JM, et al. HIV-1 protease and reverse transcriptase mutations for drug resistance surveillance. *Aids*. 2007;21(2):215-23.
55. Gallego O, Soriano V. Mechanisms of resistance to antiretroviral drugs--clinical implications. *AIDS Rev*. 2002;4(2):64-82.
56. Naeger LK, Margot NA, Miller MD. Increased drug susceptibility of HIV-1 reverse transcriptase mutants containing M184V and zidovudine-associated mutations: analysis of enzyme processivity, chain-terminator removal and viral replication. *Antivir Ther*. 2001;6(2):115-26.
57. Clavel F, Hance AJ. HIV drug resistance. *N Engl J Med*. 2004;350(10):1023-35.
58. Meyer PR, Matsuura SE, Schinazi RF, So AG, Scott WA. Differential removal of thymidine nucleotide analogues from blocked DNA chains by human immunodeficiency virus reverse transcriptase in the presence of physiological concentrations of 2'-deoxynucleoside triphosphates. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000;44(12):3465-72.
59. White KL, Margot NA, Ly JK, Chen JM, Ray AS, Pavelko M, et al. A combination of decreased NRTI incorporation and decreased excision determines the resistance profile of HIV-1 K65R RT. *Aids*. 2005;19(16):1751-60.
60. Larder BA, Kemp SD. Multiple mutations in HIV-1 reverse transcriptase confer high-level resistance to zidovudine (AZT). *Science*. 1989;246(4934):1155-8.
61. Stanford HIVDB NRTI-Notes 2018 [updated 31.05.2016. Available from: <https://hivdb.stanford.edu/dr-summary/resistance-notes/NRTI/>.
62. Hooker DJ, Tachedjian G, Solomon AE, Gurusinge AD, Land S, Birch C, et al. An in vivo mutation from leucine to tryptophan at position 210 in human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase contributes to high-level resistance to 3'-azido-3'-deoxythymidine. *J Virol*. 1996;70(11):8010-8.
63. Miller MD, Margot N, Lu B, Zhong L, Chen S-S, Cheng A, et al. Genotypic and phenotypic predictors of the magnitude of response to tenofovir disoproxil fumarate treatment in antiretroviral-experienced patients. *J Infect Dis*. 2004;189(5):837-46.

64. Cozzi-Lepri A, Ruiz L, Loveday C, Phillips AN, Clotet B, Reiss P, et al. Thymidine analogue mutation profiles: factors associated with acquiring specific profiles and their impact on the virological response to therapy. *Antivir Ther.* 2005;10(7):791.
65. De Luca A, Di Giambenedetto S, Romano L, Gonnelli A, Corsi P, Baldari M, et al. Frequency and treatment-related predictors of thymidine-analogue mutation patterns in HIV-1 isolates after unsuccessful antiretroviral therapy. *The Journal of infectious diseases.* 2006;193(9):1219-22.
66. Lanier ER, Ait-Khaled M, Scott J, Stone C, Melby T, Sturge G, et al. Antiviral efficacy of abacavir in antiretroviral therapy-experienced adults harbouring HIV-1 with specific patterns of resistance to nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Antivir Ther.* 2004;9(1):37-46.
67. Vingerhoets J, Tambuyzer L, Azijn H, Hoogstoel A, Nijs S, Peeters M, et al. Resistance profile of etravirine: combined analysis of baseline genotypic and phenotypic data from the randomized, controlled Phase III clinical studies. *Aids.* 2010;24(4):503-14.
68. Mesplède T, Wainberg M. Resistance against integrase strand transfer inhibitors and relevance to HIV persistence. *Viruses.* 2015;7(7):3703-18.
69. Bradley-Stewart A, Urcia C, MacLean A, Aitken C, Gunson R. HIV-1 integrase inhibitor resistance among treatment naïve patients in the West of Scotland. *J Clin Virol.* 2017;92:7-10.
70. Woollard SM, Kanmogne GD. Maraviroc: a review of its use in HIV infection and beyond. *Drug Des Devel Ther.* 2015;9:5447.
71. Erice A, Mayers DL, Strike DG, Sannerud KJ, McCutchan FE, Henry K, et al. Primary infection with zidovudine-resistant human immunodeficiency virus type 1. *N Engl J Med.* 1993;328(16):1163-5.
72. Pinggen M, Nijhuis M, de Bruijn JA, Boucher CA, Wensing AM. Evolutionary pathways of transmitted drug-resistant HIV-1. *Journal of antimicrobial chemotherapy.* 2011;66(7):1467-80.
73. Taiwo B. Understanding transmitted HIV resistance through the experience in the USA. *Int J Infect Dis.* 2009;13(5):552-9.
74. Little SJ, Frost SD, Wong JK, Smith DM, Pond SLK, Ignacio CC, et al. Persistence of transmitted drug resistance among subjects with primary human immunodeficiency virus infection. *J Virol.* 2008;82(11):5510-8.
75. Pao D, Andrady U, Clarke J, Dean G, Drake S, Fisher M, et al. Long-term persistence of primary genotypic resistance after HIV-1 seroconversion. *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes.* 2004;37(5):1570-3.
76. Mayer KH, Hanna GJ, D'Aquila RT. Clinical use of genotypic and phenotypic drug resistance testing to monitor antiretroviral chemotherapy. *Clin Infect Dis.* 2001;32(5):774-82.
77. Vandamme A-M, Camacho RJ, Ceccherini-Silberstein F, De Luca A, Palmisano L, Paraskevis D, et al. European recommendations for the clinical use of HIV drug resistance testing: 2011 update. *AIDS Rev.* 2011;13(2):77-108.
78. Lubke N, Di Cristanziano V, Sierra S, Knops E, Schuler E, Jensen B, et al. Proviral DNA as a Target for HIV-1 Resistance Analysis. *Intervirology.* 2015;58(3):184-9.
79. Sanger F, Coulson AR. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *J Mol Biol.* 1975;94(3):441-8.

80. Rozanov M, Plikat U, Chappey C, Kochergin A, Tatusova T. A web-based genotyping resource for viral sequences. *Nucleic Acids Res.* 2004;32(suppl\_2):W654-W9.
81. Struck D, Lawyer G, Ternes A-M, Schmit J-C, Bercoff DP. COMET: adaptive context-based modeling for ultrafast HIV-1 subtype identification. *Nucleic Acids Res.* 2014;42(18):e144-e.
82. Rhee S-Y, Gonzales MJ, Kantor R, Betts BJ, Ravela J, Shafer RW. Human immunodeficiency virus reverse transcriptase and protease sequence database. *Nucleic Acids Res.* 2003;31(1):298-303.
83. Shafer RW. Rationale and uses of a public HIV drug - resistance database. *The Journal of infectious diseases.* 2006;194(Supplement\_1):S51-S8.
84. Stanford HIV Database HIVDB 2018 [Available from: <https://hivdb.stanford.edu>].
85. Liu TF, Shafer RW. Web resources for HIV type 1 genotypic-resistance test interpretation. *Clin Infect Dis.* 2006;42(11):1608-18.
86. Wensing AM, Calvez V, Günthard HF, Johnson VA, Paredes R, Pillay D, et al. 2017 Update of the Drug Resistance Mutations in HIV-1. *Top Antivir Med.* 2017;24(4):132-3.
87. University S. HIVDB Genotypic Resistance Test (GRT) Interpretation System [webpage]. Stanford University; 2019 [updated 10/2019; cited 2020 22.10.2020]. Available from: <https://hivdb.stanford.edu/about/>.
88. University S. NRTI Resistance Comments and NRTI Resistance Mutation Scores <https://hivdb.stanford.edu/dr-summary/comments/NRTI/2019> [updated 25.10.2019; cited 2020 22.10.2020]. Available from: <https://hivdb.stanford.edu/dr-summary/comments/NRTI/>.
89. University S. NNRTI Resistance Comments and NNRTI Resistance Mutation Scores [webpage]. <https://hivdb.stanford.edu/dr-summary/mut-scores/NNRTI/>; Stanford University; 2019 [updated 10/2019; cited 2020 22.10.2020]. Available from: <https://hivdb.stanford.edu/dr-summary/mut-scores/NNRTI/>.
90. University S. PI Resistance Comments and PI Resistance Mutation Scores [webpage]. <https://hivdb.stanford.edu/dr-summary/mut-scores/PI/2019> [updated 10/2019; cited 2020 22.10.2020]. Available from: <https://hivdb.stanford.edu/dr-summary/mut-scores/PI/>.
91. Whitcomb JM, Parkin NT, Chappey C, Hellmann NS, Petropoulos CJ. Broad nucleoside reverse-transcriptase inhibitor cross-resistance in human immunodeficiency virus type 1 clinical isolates. *The Journal of infectious diseases.* 2003;188(7):992-1000.
92. Rhee S-Y, Taylor J, Wadhera G, Ben-Hur A, Brutlag DL, Shafer RW. Genotypic predictors of human immunodeficiency virus type 1 drug resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2006;103(46):17355-60.
93. Kulkarni R, Babaoglu K, Lansdon EB, Rimsky L, Van Eygen V, Picchio G, et al. The HIV-1 reverse transcriptase M184I mutation enhances the E138K-associated resistance to rilpivirine and decreases viral fitness. *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes.* 2012;59(1):47-54.
94. Melikian GL, Rhee S-Y, Taylor J, Fessel WJ, Kaufman D, Towner W, et al. Standardized comparison of the relative impacts of HIV-1 reverse transcriptase (RT) mutations on nucleoside RT inhibitor susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(5):2305-13.

95. Sluis-Cremer N, Sheen C-W, Zelina S, Torres PSA, Parikh UM, Mellors JW. Molecular mechanism by which the K70E mutation in human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase confers resistance to nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51(1):48-53.
96. Shahriar R, Rhee S-Y, Liu TF, Fessel WJ, Scarsella A, Towner W, et al. Nonpolymorphic human immunodeficiency virus type 1 protease and reverse transcriptase treatment-selected mutations. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(11):4869-78.
97. Bradshaw D, Malik S, Booth C, Van Houtte M, Pattery T, Waters A, et al. Novel drug resistance pattern associated with the mutations K70G and M184V in human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51(12):4489-91.
98. Hachiya A, Kodama EN, Schuckmann MM, Kirby KA, Michailidis E, Sakagami Y, et al. K70Q adds high-level tenofovir resistance to "Q151M complex" HIV reverse transcriptase through the enhanced discrimination mechanism. *PLoS One.* 2011;6(1):e16242.
99. Bachelier LT, Anton ED, Kudish P, Baker D, Bunville J, Krakowski K, et al. Human immunodeficiency virus type 1 mutations selected in patients failing efavirenz combination therapy. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44(9):2475-84.
100. Reuman EC, Rhee S-Y, Holmes SP, Shafer RW. Constrained patterns of covariation and clustering of HIV-1 non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor resistance mutations. *Journal of antimicrobial chemotherapy.* 2010;65(7):1477-85.
101. Xu H-T, Colby-Germinario SP, Huang W, Oliveira M, Han Y, Quan Y, et al. Roles of the K101E Substitution in HIV-1 Reverse Transcriptase in Resistance to Rilpivirine and other Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;AAC. 01536-13.
102. Stanford HIVDB NNRTI-Notes 2018  
[Available from: <https://hivdb.stanford.edu/dr-summary/resistance-notes/NNRTI/>.
103. Brenner B, Turner D, Oliveira M, Moisi D, Detorio M, Carobene M, et al. A V106M mutation in HIV-1 clade C viruses exposed to efavirenz confers cross-resistance to non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Aids.* 2003;17(1):F1-F5.
104. Melikian GL, Rhee S-Y, Varghese V, Porter D, White K, Taylor J, et al. Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI) cross-resistance: implications for preclinical evaluation of novel NNRTIs and clinical genotypic resistance testing. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 2013;69(1):12-20.
105. Zhang Z, Xu W, Koh Y-H, Shim JH, Girardet J-L, Yeh L-T, et al. A novel nonnucleoside analogue that inhibits human immunodeficiency virus type 1 isolates resistant to current nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51(2):429-37.
106. Sluis-Cremer N, Jordan MR, Huber K, Wallis CL, Bertagnolio S, Mellors JW, et al. E138A in HIV-1 reverse transcriptase is more common in subtype C than B: implications for rilpivirine use in resource-limited settings. *Antiviral Res.* 2014;107:31-4.
107. Theys K, Van Laethem K, Gomes P, Baele G, Pineda-Pena A-C, Vandamme A-M, et al. Sub-epidemics explain localized high prevalence of reduced susceptibility to rilpivirine in treatment-naive HIV-1-infected patients: Subtype and geographic

compartmentalization of baseline resistance mutations. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2016;32(5):427-33.

108. Kempf DJ, Isaacson JD, King MS, Brun SC, Xu Y, Real K, et al. Identification of genotypic changes in human immunodeficiency virus protease that correlate with reduced susceptibility to the protease inhibitor lopinavir among viral isolates from protease inhibitor-experienced patients. *J Virol*. 2001;75(16):7462-9.

109. Mammano F, Trouplin V, Zennou V, Clavel F. Retracing the evolutionary pathways of human immunodeficiency virus type 1 resistance to protease inhibitors: virus fitness in the absence and in the presence of drug. *J Virol*. 2000;74(18):8524-31.

110. Chang MW, Torbett BE. Accessory mutations maintain stability in drug-resistant HIV-1 protease. *J Mol Biol*. 2011;410(4):756-60.

111. Vahabpour R, Bokharaei-Salim F, Kalantari S, Garshasbi S, Monavari SH, Esghaei M, et al. HIV-1 genetic diversity and transmitted drug resistance frequency among Iranian treatment-naive, sexually infected individuals. *Arch Virol*. 2017;162(6):1477-85.

112. Turner D, Brenner B, Moisi D, Detorio M, Cesaire R, Kurimura T, et al. Nucleotide and amino acid polymorphisms at drug resistance sites in non-B-subtype variants of human immunodeficiency virus type 1. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48(8):2993-8.

113. Henderson GJ, Lee S-K, Irlbeck DM, Harris J, Kline M, Pollom E, et al. Interplay between single resistance-associated mutations in the HIV-1 protease and viral infectivity, protease activity, and inhibitor sensitivity. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56(2):623-33.

114. van Westen GJ, Hendriks A, Wegner JK, IJzerman AP, van Vlijmen HW, Bender A. Significantly improved HIV inhibitor efficacy prediction employing proteochemometric models generated from antivirogram data. *PLoS Comput Biol*. 2013;9(2):e1002899.

115. Vermeiren H, Van Craenenbroeck E, Alen P, Bacheler L, Picchio G, Lecocq P, et al. Prediction of HIV-1 drug susceptibility phenotype from the viral genotype using linear regression modeling. *J Virol Methods*. 2007;145(1):47-55.

116. Bethell R, Scherer J, Witvrouw M, Paquet A, Coakley E, Hall D. Phenotypic protease inhibitor resistance and cross-resistance in the clinic from 2006 to 2008 and mutational prevalences in HIV from patients with discordant tipranavir and darunavir susceptibility phenotypes. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2012;28(9):1019-24.

117. Condra JH, Holder DJ, Schleif WA, Blahy OM, Danovich RM, Gabryelski LJ, et al. Genetic correlates of in vivo viral resistance to indinavir, a human immunodeficiency virus type 1 protease inhibitor. *J Virol*. 1996;70(12):8270-6.

118. Chakraborty R, Smith CJ, Dunn D, Green H, Duong T, Doerholt K, et al. HIV-1 drug resistance in HIV-1-infected children in the United Kingdom from 1998 to 2004. *The Pediatric infectious disease journal*. 2008;27(5):457-9.

119. Frange P, Avettand-Fenoel V, Veber F, Blanche S, Chaix M-L. Prevalence of drug resistance in children recently diagnosed with HIV-1 infection in France (2006–17): impact on susceptibility to first-line strategies. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2018.

120. de Mulder M, Yebra G, Navas A, Martin L, de Jose MI, Navarro ML, et al. Trends in drug resistance prevalence in HIV-1-infected children in Madrid: 1993 to 2010 analysis. *The Pediatric infectious disease journal*. 2012;31(11):e213-e21.

121. Karchava M, Pulver W, Smith L, Philpott S, Sullivan TJ, Wethers J, et al. Prevalence of drug-resistance mutations and non-subtype B strains among HIV-infected infants from New York state. *Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)*. 2006;42(5):614.
122. Persaud D, Palumbo P, Ziemniak C, Chen J, Ray SC, Hughes M, et al. Early archiving and predominance of nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor—resistant HIV-1 among recently infected infants born in the United States. *The Journal of infectious diseases*. 2007;195(10):1402-10.
123. World Health O. HIV drug resistance report 2019. Geneva: World Health Organization; 2019 2019. Contract No.: WHO/CDS/HIV/19.21.
124. De Jong MD, Veenstra J, Stilianakis NI, Schuurman R, Lange J, De Boer RJ, et al. Host-parasite dynamics and outgrowth of virus containing a single K70R amino acid change in reverse transcriptase are responsible for the loss of human immunodeficiency virus type 1 RNA load suppression by zidovudine. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1996;93(11):5501-6.
125. Kellam P, Boucher CA, Tijnagel JM, Larder BA. Zidovudine treatment results in the selection of human immunodeficiency virus type 1 variants whose genotypes confer increasing levels of drug resistance. *J Gen Virol*. 1994;75(2):341-51.
126. Boucher CA, O'Sullivan E, Mulder JW, Ramautarsing C, Kellam P, Darby G, et al. Ordered appearance of zidovudine resistance mutations during treatment of 18 human immunodeficiency virus-positive subjects. *J Infect Dis*. 1992;165(1):105-10.
127. Pennings PS. HIV drug resistance: problems and perspectives. *Infect Dis Rep*. 2013;5(Suppl 1).
128. Menéndez-Arias L. A structural frame for understanding the role of thymidine analogue resistance mutations in resistance to zidovudine and other nucleoside analogues. *Antivir Ther*. 2011;16:943-6.
129. Lipsky JJ. Antiretroviral drugs for AIDS. *The Lancet*. 1996;348(9030):800-3.
130. Rougemont M, Nchotu Ngang P, Stoll B, Delhumeau C, Hill A, Ciaffi L, et al. Safety of zidovudine dose reduction in treatment - naïve HIV infected patients. A randomized controlled study (MiniZID). *HIV Med*. 2016;17(3):206-15.
131. Ssemwanga D, Lihana RW, Ugoji C, Abimiku Al, Nkengasong J, Dakum P, et al. Update on HIV-1 acquired and transmitted drug resistance in Africa. 2015.
132. Lazarus E, Nicol S, Frigati L, Penazzato M, Cotton MF, Centeno-Tablante E, et al. Second-and third-line antiretroviral therapy for children and adolescents: A scoping review. *The Pediatric infectious disease journal*. 2017;36(5):492-9.
133. Organization WH. Updated recommendations on first-line and second-line antiretroviral regimens and post-exposure prophylaxis and recommendations on early infant diagnosis of HIV: interim guidelines: supplement to the 2016 consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection. World Health Organization; 2018.
134. Boerma RS, Sigaloff KC, Akanmu AS, Inzaule S, Boele van Hensbroek M, Rinke de Wit T, et al. Alarming increase in pretreatment HIV drug resistance in children living in sub-Saharan Africa: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2016;72(2):365-71.
135. UNAIDS. 2020 Global AIDS Update - Seizing the moment - Tackling entrenched inequalities to end epidemics [Report]. <https://aids2020.unaids.org2020>

[updated 06.07.2020; cited 2020 22.10.2020]. AIDS Report 2020]. Available from: <https://aids2020.unaids.org>.

136. UNICEF. Children, HIV and AIDS - Regional snapshot: Sub-Saharan Africa [https://data.unicef.org/resources/children-hiv-and-aids-global-and-regional-snapshots-2019/ - Sub-Saharan-Africa](https://data.unicef.org/resources/children-hiv-and-aids-global-and-regional-snapshots-2019/-Sub-Saharan-Africa); UNICEF; 2019 [updated 12/2019; cited 2020 22.10.2020]. Available from: [https://data.unicef.org/resources/children-hiv-and-aids-global-and-regional-snapshots-2019/ - Sub-Saharan-Africa](https://data.unicef.org/resources/children-hiv-and-aids-global-and-regional-snapshots-2019/-Sub-Saharan-Africa).

137. HIV/AIDS JUNPo. Global AIDS Monitoring 2019. Geneva, Switzerland: UNAIDS. 2019.

138. UNAIDS. UNAIDS 2019 estimates [webpage]. <http://aidsinfo.unaids.org/>; UNAIDS; 2019 [updated 2019; cited 2020 22.10.2020]. UNAIDS website]. Available from: <http://aidsinfo.unaids.org/>.

139. Salou M, Butel C, Konou AA, Ekouevi DK, Vidal N, Dossim S, et al. High rates of drug resistance among newly diagnosed HIV-infected children in the national prevention of mother-to-child transmission program in Togo. *The Pediatric infectious disease journal*. 2016;35(8):879-85.

140. Hamers RL, Wallis CL, Kityo C, Siwale M, Mandaliya K, Conradie F, et al. HIV-1 drug resistance in antiretroviral-naïve individuals in sub-Saharan Africa after rollout of antiretroviral therapy: a multicentre observational study. *The Lancet infectious diseases*. 2011;11(10):750-9.

141. Lihana RW, Ssemwanga D, Abimiku Al, Ndembu N. Update on HIV-1 diversity in Africa: a decade in review. *AIDS Rev*. 2012;14(2):83-100.

142. Bbosa N, Kaleebu P, Ssemwanga D. HIV subtype diversity worldwide. *Curr Opin HIV AIDS*. 2019;14(3):153-60.

143. Vandamme A-M, Sönnnerborg A, Ait-Khaled M, Albert J, Asjo B, Bachelier L, et al. Updated European recommendations for the clinical use of HIV drug resistance testing. *Antivir Ther*. 2004;9(6):829-48.

144. Van de Vijver D, Wensing A, de Coul EO, Angarano G, Åsjö B, Balotta C, et al. Increasing prevalence of Hiv-1 non-b subtypes across Europe from 1996–1999 to 2000–2002; results from the Catch-study. *HIV Med*. 2004;5(3):188-9.

145. Hemelaar J, Gouws E, Ghys PD, Osmanov S. Global trends in molecular epidemiology of HIV-1 during 2000–2007. *AIDS (London, England)*. 2011;25(5):679.

146. Abecasis AB, Deforche K, Snoeck J, Bachelier LT, McKenna P, Carvalho AP, et al. Protease mutation M89I/V is linked to therapy failure in patients infected with the HIV-1 non-B subtypes C, F or G. *Aids*. 2005;19(16):1799-806.

147. zu Knyphausen F, Scheufele R, Kücherer C, Jansen K, Somogyi S, Dupke S, 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(5):e95956.

148. Koppe U, Hanke K, Fiebig U, Schmidt D, Meixenberger K, Pantke A, et al. HIV-Studien und HIV-Projekte am Robert Koch-Institut. *Epidemiologisches Bulletin*. 2019(49):527--39.

149. Bartmeyer B, Kuecherer C, Houareau C, Werning J, Keeren K, Somogyi S, 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(10):e12718.

150. Ryom L, Boesecke C, Bracchi M, Ambrosioni J, Pozniak A, Arribas J, et al. Highlights of the 2017 European AIDS Clinical Society (EACS) Guidelines for the

- treatment of adult HIV - positive persons version 9.0. *HIV Med.* 2018;19(5):309-15.
151. Yang W-L, Kouyos R, Scherrer AU, Böni J, Shah C, Yerly S, et al. Assessing the paradox between transmitted and acquired HIV type 1 drug resistance mutations in the Swiss HIV Cohort Study from 1998 to 2012. *The Journal of infectious diseases.* 2015;212(1):28-38.
152. Pineda-Peña A-C, Schrooten Y, Vinken L, Ferreira F, Li G, Trovão NS, et al. Trends and predictors of transmitted drug resistance (TDR) and clusters with TDR in a local Belgian HIV-1 epidemic. *PLoS One.* 2014;9(7):e101738.
153. Ambrosioni J, Sued O, Nicolas D, Parera M, López-Diéguez M, Romero A, et al. Trends in transmission of drug resistance and prevalence of non-B subtypes in patients with acute or recent HIV-1 infection in Barcelona in the last 16 years (1997-2012). *PLoS One.* 2015;10(6):e0125837.
154. Assoumou L, Bocket L, Pallier C, Grude M, Ait-Namane R, Izopet J, et al. Stable prevalence of transmitted drug resistance mutations and increased circulation of non-B subtypes in antiretroviral-naive chronically HIV-infected patients in 2015/2016 in France. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 2019;74(5):1417-24.
155. Hofstra LM, Sauvageot N, Albert J, Alexiev I, Garcia F, Struck D, et al. Transmission of HIV Drug Resistance and the Predicted Effect on Current First-line Regimens in Europe. *Clin Infect Dis.* 2016;62(5):655-63.
156. Oette M, Reuter S, Kaiser R, Lengauer T, Fätkenheuer G, Knechten H, et al. Epidemiology of transmitted drug resistance in chronically HIV-infected patients in Germany: The RESINA study 2001–2009. *Intervirology.* 2012;55(2):154-9.
157. Wittkop L, Günthard HF, De Wolf F, Dunn D, Cozzi-Lepri A, De Luca A, et al. Effect of transmitted drug resistance on virological and immunological response to initial combination antiretroviral therapy for HIV (EuroCoord-CHAIN joint project): a European multicohort study. *The Lancet infectious diseases.* 2011;11(5):363-71.

## 6 Abbildungsverzeichnis

Tabelle 1:	Charakteristika der Studienkohorte und Verteilung der HIV-1 Subtypen.....	29
Abb. 1:	Verteilung der ethnischen Herkunft der Patienten (Kaukasier, Afrikaner, Asiaten und Andere).....	31
Abb. 2:	Infektionsmodus der Patienten unserer Studienkohorte (vertikal, horizontal oder unbekannt).....	31
Tabelle 2:	Prävalenz von Resistenzmutationen in den 23 therapienaiven HIV-1-infizierten Kindern unserer Kohorte.....	33
Abb. 3:	Verteilung der HIV-1 Subtypen in der Patientenkohorte.....	34
Tabelle 3:	Anzahl der Patienten mit Resistenztest vor Therapiebeginn und Begründung für das fehlende Vorhandensein.....	37
Abb. 4:	Prävalenz von Patienten mit vorhandenem Resistenztest vor Therapiebeginn.....	38
Abb. 5:	Gründe für das Fehlen eines Resistenztests vor Therapiebeginn.....	38
Abb. 6:	Anteil der Patienten mit Primärresistenzen.....	39
Abb. 7:	Verteilung der Primärresistenzen.....	39
Abb. 8:	Anteil der Patienten mit Primärresistenzen und Kontakt zu einer Transmissionsprophylaxe.....	40
Tabelle 4:	Auswirkungen der beschriebenen Primärresistenzmutationen unserer Kohorte auf die Wirkung verschiedener antiretroviraler Medikamente der drei Substanzklassen: NRTI, NNRTI und PI.....	45

## 7 Danksagung

Besonders bedanken möchte ich mich bei meiner Betreuerin und Doktormutter, *PD Dr. med. Jennifer Neubert*, für Ihre umfassende Betreuung und Begutachtung meiner Arbeit. Ihre Anregungen und Hilfsbereitschaft haben sehr zum guten Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Meiner *Familie* danke ich für den bedingungslosen Zusammenhalt. Ganz besonders bei meinen *Eltern* möchte ich mich in diesem Rahmen für das zu Hause bedanken, das sie mir geben und in das ich immer wieder gerne zurückkehre.

Meinem *Partner Freddy* danke ich für alle schönen Erlebnisse und ganz besonders für seine Unterstützung in weniger schönen Zeiten. Mit seiner Leichtigkeit und Lebensfreude bereichert er mein Leben in einer unvergleichbaren Art und Weise.

Meinen langjährigen *Freundinnen* danke ich für eine tolle Schul- und Studienzeit. Ich freue mich auf die nächsten gemeinsamen Jahrzehnte.