

FOREKOMST AV RESISTENT HIV BLANT NYDIAGNOSTISERTE I NORGE 2006- 2012

Stine Elisabeth Fiksdal



En retrospektiv observasjonsstudie ved Det medisinske fakultet

UNIVERSITETET I OSLO

03.10.14

Tusen takk for engasjerende veiledning og tålmodig gjennomlesing av oppgaven til:

Veileder ANNE- MARTE BAKKEN KRAN

Førsteamanuensis UiO, Medisinsk mikrobiologi (Virologi og molekylærbiologi)

Konst. overlege Mikrobiologisk avd OUS Ullevål

Leder for nasjonalt referanselaboratorium for HIV

Biveileder SUSANNE GJERULDSEN DUDMAN

Overlege Virologisk avd Nasjonalt folkehelseinstitutt

Ass. avdelingsdirektør Virologisk avd Nasjonalt folkehelseinstitutt

© Stine Elisabeth Fiksdal

2014

Forekomst av resistent HIV blant nydiagnostiserte i Norge 2006-2012

Stine Elisabeth Fiksdal

<http://www.duo.uio.no/>

Trykk: Reprosentralen, Universitetet i Oslo

ABSTRACT

BACKGROUND: The World Health Organization (WHO) recommends all countries offering antiretroviral therapy (ART) to HIV-1 infected patients to establish surveillance systems in order to monitor the prevalence of transmitted HIV-1 drug resistance (TDR) as this may reduce the chances of treatment success. In Norway surveillance of TDR among persons newly diagnosed with HIV-1 infection was started in January 2006 by The Norwegian Institute of Public Health (FHI). The aim of this study was to investigate the prevalence of TDR in patients diagnosed with HIV-1 in Norway in 2011-12, and to explore potential differences in the pattern of TDR according to gender, transmission route, mutations identified, resistance to ART, viral subtype and whether the patients were infected in Norway or abroad. Finally the significance of resistance mutations obtained through epidemiologic surveillance was evaluated with regard to clinical treatment options with ART.

METHODS: A retrospective observational study on data from the HIV- cohort database at Oslo University Hospital, Ullevål (OUS Ullevål) and from FHI was performed. Physicians diagnosing patients with a previously undiagnosed HIV-1 infection were asked to send plasma samples for genotypic resistance testing to OUS Ullevål, and the results of sequence analysis were sent anonymously to FHI. With WHO's list of mutations for surveillance of transmitted drug resistant HIV strains and "Calibrated Population Resistance" (CPR), a tool for analysis of HIV-1 sequence data sets from the Stanford HIV Drug Resistance Database, resistance mutations were identified. The WHO list is designed for epidemiologic surveillance, and does not give clinical guidelines on resistance against drugs, or consider the genetic barrier of a drug and the complex interactions of mutations. Therefore surveillance drug resistance mutations (SDRMs) identified by WHO's list do not automatically imply clinical relevance. Guidance for treating patients infected HIV-1 with antiretroviral therapy depends on clinical analysis carried out by a virologist and an infectious disease specialist based on the patient's medical history and recommendations from the International AIDS Society (IAS) and the Rega Institute for Medical research in addition to the Stanford HIV Drug Resistance Database.

RESULTS: Resistance sequence analysis from plasma samples were obtained from 246 (48%) of 509 patients newly diagnosed with HIV-1 in Norway in 2011-12. 15 (6,1%) of 246 patients were infected with virus with one or more mutations coding for resistance. 8 (3,3%) had resistance mutations for non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTI), 3 (1,2%) for nucleoside and nucleotide reverse transcriptase inhibitors (NRTI) and 1 (0,4%) for protease inhibitors (PI). Almost half of the 15 patients were infected abroad, mainly in Sub-Saharan Africa. Non-B subtypes of HIV-1 was found in 7(70%) of the 10 cases with high-level resistance. The prevalence of cases with TDR of clinical significance was 4% of 246 patients, and 1,6% if only patients infected in Norway were included.

DISCUSSION AND CONCLUSION: Results of epidemiologic surveillance of TDR in HIV-1 infected patients in Norway in 2011-12 are in agreement with previous reports on primary HIV-1 resistance with a low but increasing prevalence. Almost half of the cases diagnosed with primary resistant HIV-1 were infected abroad, mainly in Sub-Saharan Africa. Thus the results of TDR among HIV-1 infected probably do not represent the actual situation in Norway. Not all the identified mutations were of clinical impact as the WHO list is designed for epidemiologic surveillance. Numbers of cases with TDR with mutations of clinical significance were only 4%. If only patients with resistant HIV-1 infected in Norway were included the numbers were even lower.

FORKORTELSER

HIV humant immunsviktvirus

AIDS akkvirert immun- defekt syndrome, sykdomsbilde som følge av smitte med HIV- virus

TDR transmitted drug resistance, smitte med primærresistent virus

ART antiretroviral terapi

HAART høyaktiv antiretroviral terapi

cART kombinasjonsantiretroviral terapi

PEP post- eksponeringsprofylakse

NNRTI nonnukleosid RT- inhibitor, gruppe av anti- HIV medisiner som hemmer aktiviteten til RT uten å likne RTs naturlige substrat

NRTI nukleosid RT- inhibitor, gruppe av anti- HIV medisiner som hemmer aktiviteten til RT fordi de likner RTs naturlige substrat

RT revers transkriptase, et HIV- protein (enzym) som kopierer virusets arvestoff

PI protease- inhibitor, en gruppe anti- HIV medikamenter som hemmer aktiviteten til protease

ISTI integrase- inhibitor, en gruppe anti- HIV medikamenter som hemmer enzymet integrase

PCR polymerase kjedereaksjon

RNA ribonukleinsyre

DNA deoksyribonukleinsyre

CRF sirkulerende rekombinante former av hivpartikler

RAVN Resistensovervåking Av Virus i Norge

FHI Folkehelseinstituttet

EACS European AIDS Clinical Society

IAS International AIDS Society

CPR Calibrated Population Resistance Tool, et verktøy fra Stanford HIV medikamentdatabase brukt under til vurdering av HIV- resistensmutasjoner

INNHOOLD

BAKGRUNN.....	s. 8
Problemstilling.....	s. 9
Hva er HIV?	s. 9
<i>Utviklingen av HIV-1-epidemien i Norge</i>	s. 9
<i>HIV/AIDS i globalt perspektiv</i>	s. 10
<i>Virusets livssyklus</i>	s. 10
<i>Smittemåte ved HIV-1- infeksjon</i>	s. 11
<i>Genetiske subtyper av HIV-1</i>	s. 12
Behandling av HIV-1.....	s. 12
<i>Antivirale medikamenter brukt i behandlingen av HIV-1- infeksjon</i>	s. 13
<i>Nasjonale retningslinjer for behandling av HIV-1- infeksjon</i>	s. 13
Resistensutvikling.....	s. 14
<i>Mekanisme for resistensutvikling</i>	s. 14
<i>Arkivert resistens</i>	s. 14
Resistensovervåking i Norge.....	s. 15
<i>Epidemiologisk overvåking av resistens er ikke det samme som klinisk signifikant resistens</i>	s. 15
MATERIALE OG METODE	s. 16
Pasienter.....	s. 16
Metode.....	s. 16
<i>Genotypisk HIV-1 resistensanalyse</i>	s. 17
<i>Tolkning av klinisk resistens</i>	s. 17
<i>Litteratursøk</i>	s. 19
RESULTAT.....	s. 19
<i>Andel av nydiagnostiserte HIV-1 pasienter der sekvenser ble sendt til resistensanalyse</i>	s. 19
<i>Forekomst med nydiagnostiserte med resistent HIV-1 i Norge i 2011-12</i>	s. 19
<i>Generelle karakteristika ved pasientene med primærresistens</i>	s. 20
<i>Resistens mot ulike klasser av antiretrovirale medikamenter</i>	s. 22

DISKUSJON.....	s. 22
<i>Moderat prevalens av primærresistens.....</i>	s. 22
<i>Resistens mot de antivirale klassene brukt i HIV-1 behandling varierer over tid.....</i>	s. 24
<i>Virussubtype og smitteland.....</i>	s. 25
<i>Klinisk relevant resistens versus resistensmutasjoner i overvåkingsøyemed.....</i>	s. 26
Utfordringer ved prosjektoppgaven.....	s. 27
<i>Manglende sekvenser.....</i>	s. 27
<i>Feilaktige opplysninger angående pasientene.....</i>	s. 28
<i>Vurdering av resistensgivende mutasjoner.....</i>	s. 28
<i>Genotypisk resistensundersøkelse.....</i>	s. 28
KONKLUSJON.....	s. 29
LITTERATURHENVISNINGER.....	s. 30
VEDLEGG.....	s. 31
APPENDIX 1 Antivirale medikamenter brukt i behandling av HIV-1- infeksjon i Norge...s.31	
APPENDIX 2 Liste over resistensgivende mutasjoner WHO 2009.....s. 32	
APPENDIX 3 Eksempler på samspillet mellom resistensgivende mutasjoner hos primærsmittede pasienter i Norge 2011-12.....s. 33	
APPENDIX 4 Tilfeller nydiagnostisert med resistent HIV-1 i Norge 2011 og 2012.....s.34	
APPENDIX 5 Hivinfeksjon meldt MSIS 1984-2013 etter diagnoseår og smittemåte.....s.36	

BAKGRUNN

Infeksjon med humant immunsviktvirus (HIV) anses fortsatt som en av våre mest alvorlige smittsomme sykdommer med store konsekvenser for det enkelte individ og samfunnet. Innføringen av effektiv antiretroviral terapi (ART) har revolusjonert hivpasientenes livskvalitet og forventede levetid. Behandlingen er imidlertid krevende, med livslang terapi og bivirkninger. Den har òg ført til resistensproblematikk som for den enkelte pasient kan ha alvorlige behandlingsekvenser, og som for samfunnet kan gi spredning av resistente virus. Resistens utvikles i hovedsak gjennom suboptimal ART med seleksjon av resistente virus, og ved nysmitte med resistente virusstammer (transmitted drug resistance, TDR), også kalt primærresistens. Sistnevnte er blitt et økende problem internasjonalt, men har foreløpig vært av lav forekomst i Norge.

Verdens helseorganisasjon (WHO) anbefaler alle land der pasienter tilbys ART å etablere overvåkningssystemer for å følge utviklingen av smitte med resistent HIV-1. Metoden er ment som et grunnlag for å kunne klassifisere prevalens av TDR for hver medikamentklasse som lav (<5%), moderat (5-15%) og høy (>15%). Slik kan en holde øye med resistensutvikling i spesifikke geografiske områder i et land og varsle disse slik at myndighetene kan planlegge og iverksette målrettede og forebyggende tiltak. Overvåking er ikke bare et instrument for å predikere fremtidige hivmedikamenter brukt i førstelinjebehandling, men også for å optimalisere behandling for å forhindre mor- barn- smitte samt pre- og posteksponeringsprofylakse (PEP). Her vil medikamentregimet være bestemt av retningslinjer som er utformet på grunnlag av kunnskap vi har om medikamentresistens. For å øke sannsynligheten for en vellykket behandling av hivsmittede er det viktig at denne informasjonen er oppdatert (1, 2).

I 2006 ble Nasjonalt overvåkningssystem for hivresistens opprettet i regi av Folkehelseinstituttets (FHI) RAVN- register (Resistensovervåking Av Virus i Norge) for å overvåke smitte med resistent HIV- 1. Dette innebærer at alle nye HIV-1- tilfeller i tillegg til å meldes som meldepliktig sykdom til MSIS også skal resistenstestes. I Norge utføres resistensundersøkelse av alle nydiagnostiserte hivpasienter. Resistensundersøkelsen gjøres ved referanselaboratoriet for HIV-1 ved Oslo Universitetssykehus (OUS), Ullevål, og overvåkes i regi av RAVN. I praksis foreligger det dermed et resistenssvar for de fleste pasienter før oppstart med ART (3).

Problemstilling

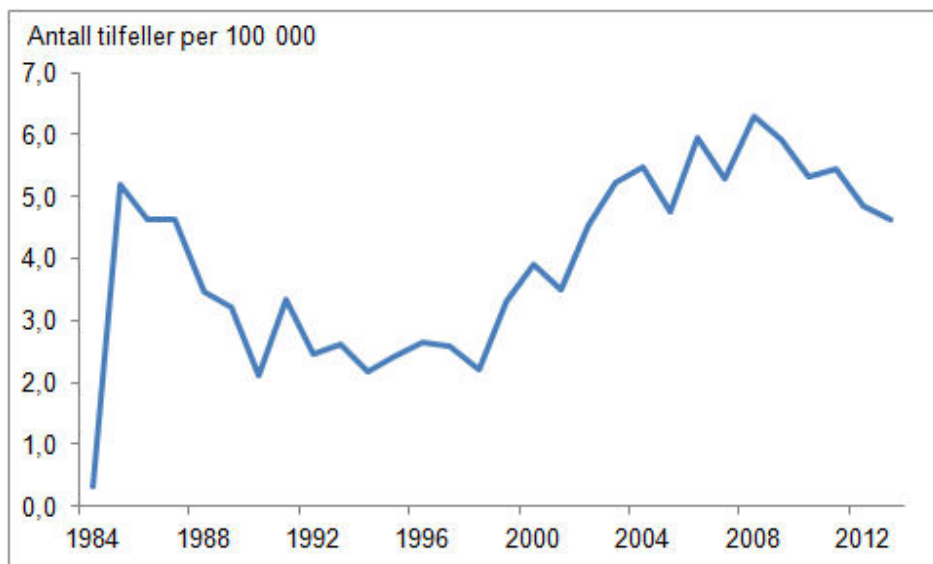
Bakgrunnen for studien min var antiretroviral resistens hos nydiagnostiserte hivpasienter i Norge. Jeg valgte å sammenstille de siste dataene fra årene 2011 og 2012 fra Meldingssystem for smittsomme sykdommer (MSIS) og referanselaboratoriet for HIV-1 på OUS Ullevål. Jeg undersøkte forekomst av smitte med resistent HIV-1 i Norge og hva som kjennetegnet disse pasientene med tanke på kjønn, alder, smitteland, smittevei, mutasjoner, medikamentresistens og virussubtype. Til slutt drøftet jeg forskjellen på resistensmutasjoner påvist i forbindelse med epidemiologisk overvåking og klinisk signifikant resistens, det vil si resistens mot hivmedikamenter med konsekvenser for behandling av hivpasienter.

Hva er HIV?

Ervervet immunsviktsyndrom (AIDS) ble for første gang beskrevet i 1981. De første rapportene var basert på en uvanlig økning i antall tilfeller av opportunistiske infeksjoner som Kaposi Sarkom og Pneumocystisk pneumoni. Disse var ansett å være sjeldne sykdommer og var aldri før blitt observert hos unge, friske individer. Tilstanden ble oftere registrert hos menn som har sex med menn (MSM) og blødere, og man trodde i begynnelsen den var assosiert med livsstil og oppførsel. I 1983 ble HIV identifisert som den egentlige årsaken til AIDS (4). Man vet i dag at mennesker i alle samfunnsgrupper kan bli smittet med HIV, selv om man har observert at sykdommen forekommer hyppigere blant for eksempel MSM, rusmisbrukere og innvandrere. Med isolering av HIV som det forårsakende agens fikk man muligheten til å utvikle serologiske tester for å påvise smitte, og å hindre videre smitte ved blodoverføring ved å teste blodgivere. Det finnes to typer av viruset, HIV-1 og HIV-2. HIV-1 er den første beskrevet, og er mer virulent og årsaken til flesteparten av HIV-tilfellene i verden (5).

Utviklingen av HIV-1-epidemien i Norge

I Norge ble AIDS for første gang diagnostisert i 1983, det samme året som man påviste HIV-1 som årsak til sykdommen (6). I ettertid har man imidlertid påvist HIV-1 i autopsimaterialet fra en familie i Norge med uforklarlig immunsvikt så tidlig som på 60-tallet (7). Utviklingen av antallet tilfeller diagnostisert HIV-1 infeksjon i Norge fra 1984 og fram til i dag ses i figur 1. De siste årene ses en jevn økning av tilfeller med HIV-1 i Norge, noe som trolig skyldes innvandrere smittet i eget hjemland som diagnostiseres i Norge og MSM.



Figur 1: Utviklingen av tilfeller med nydiagnostiserte HIV-1 per år i Norge 1984-2012 (8). De første årene så man et oppsving i antallet hivdiagnostiserte som skyldtes at man i etterkant diagnostiserte pasienter med kronisk hivinfeksjon og ikke bare tilfeller med nysmitte i starten av statistikkføringen. Det ses de siste årene en jevn økning av tilfeller med HIV-1, noe som trolig skyldes innvandrere smittet i eget hjemland og MSM. I 2008 ble det diagnostisert 299 personer med HIV-1 i Norge, det høyeste tallet noensinne (3). Det var en liten nedgang i 2011 med 268 tilfeller, i tro med trenden man tidligere har observert der høye hivtall ett år etterfølges av en nedgang året etter. Forklaringen kan være naturlige svingninger med år med høyere testaktivitet og av hivsmittede. Blant de nydiagnostiserte var antallet smittet i Norge det samme i årene 2008 og 2011, mens det var en økt forekomst av pasienter smittet før ankomst til Norge i 2008 (8).

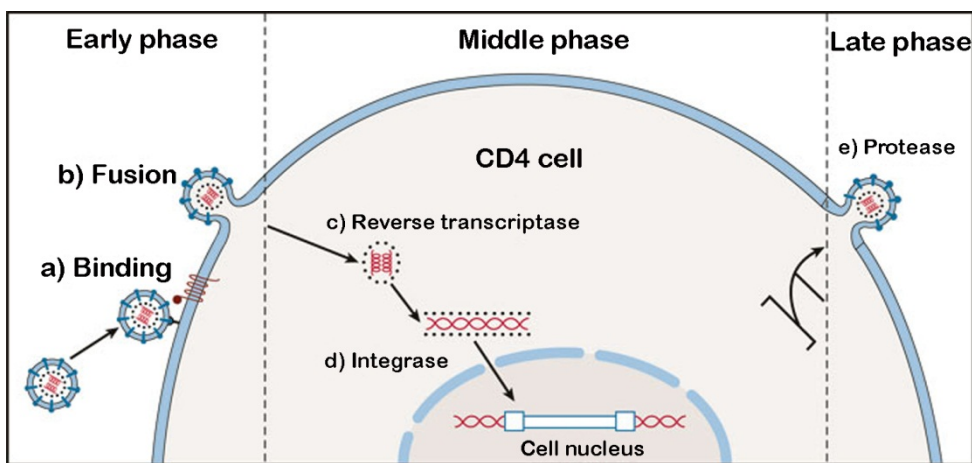
HIV/AIDS i globalt perspektiv

Siden begynnelsen av epidemien har nesten 75 millioner mennesker blitt infisert med HIV-1 og omtrent 36 millioner har dødd av HIV-1 på verdensbasis. Globalt var det 35,5 millioner mennesker som levde med HIV-1 i slutten av 2012, og 1,6 millioner døde av AIDS-relaterte sykdommer. Afrika sør for Sahara er hardest rammet der 1 av 20 lever med HIV-1, noe som utgjør 71% av den totale andelen smittet HIV-1 i verden (9).

Virusets livssyklus

HIV-1 er et lentivirus, kjennetegnet av lang inkubasjonstid (*lenti-* betyr sen). Det er medlem av retrovirusfamilien, som innebærer at det har RNA som arvemateriale. Viruset trenger inn i kroppens immunceller ved først å binde seg til overflatemolekylet CD4 og koreseptor CCR5/CXCR4 på vertscellens membran. Deretter skjer en fusjon av virus og celle ved hjelp av virusets glykoproteiner gp41 og g120. Det er særlig CD4+ T-celler, makrofager og

dendrittiske celler som infiseres. Videre replikerer viruset seg i vertscellen ved hjelp av revers transkripsjon, og har med seg et eget enzym for denne oppgaven, revers transkriptase (RT). Slik gjøres RNA om til DNA, som videre inkorporeres i vertscellens genom av enzymet integrase. Cellen behandler da virusgenomet som sitt eget og produserer proteiner fra virusgenene ved celleaktivering. Det kan imidlertid gå flere år fra cellens infiseres til virusgenomet aktiveres, det ligger latent. Ved aktivering produseres viruspartikler som vil knoppe av cellemembranen, og et proteaseenzym kløyver store viruspartikler til mindre, funksjonelle proteiner, se figur 2. Vertscellen dør og over tid vil virusinfeksjonen føre til en nedgang i CD4-tall som tegn på et redusert cellemediert immunforsvar, og pasienten vil til slutt vise tegn til AIDS(4). CD-4 tallet overvåkes derfor som prognostisk faktor og som et mål på når man skal sette i gang med antiviral behandling. I faglige retningslinjer brukt i Norge for behandling og oppfølging av HIV-1 foreligger det klar indikasjon for oppstart med ART ved kliniske situasjoner som ved hivinfeksjon med alvorlige opportunistiske sykdommer, hivassosiert nyresykdom, hivassosiert kognitiv svikt, Hodgkins lymfom, HPV- relatert kreftsykdom, graviditet, og uavhengig av klinisk situasjon ved et CD4- tall <350 celler/mikroL (10).



Figur 2 Hivvirusets livssyklus og mulige angrepspunkt for ART (11).

Smittemåte ved HIV-1- infeksjon

HIV-1 er et lite smittsomt virus som i praksis smitter fra blod, sæd og vaginalsekret. Spytt, tårevæske, urin og avføring kan inneholde virus, men i for lave konsentrasjoner til at det representerer noen reell smittefare. Overføring av virus kan skje via samleie, blod og blodprodukter, sprøyter og brukerstyr, mor- til- barn- smitte og stikkskade eller annen blodkontakt(12).

Genetiske subtyper av HIV-1

Det ses en høy grad av heterogenitet blant HIV-1 grunnet flere faktorer. Mangel på feilkorrigerende under replikasjon, rask omsetning av virusdannelse, seleksjonspress fra vertens immunsystem og naturlig rekombinasjon under replikasjonen. HIV-1 klassifiseres i tre hovedfylogenetiske grupper: gruppe M (main), O (outlier), og gruppe N (non-M/non-O). Gruppe M som er ansvarlig for hoveddelen av infeksjoner globalt sett kan videre deles inn i 10 fylogenetiske subtyper, fra A til K. De vanligste subtypene er A, B og C, hvor subtype C står for nesten 50% av alle HIV-1 infeksjoner i verden. Subtype A dominerer i sentral- og øst-Afrika (Kenya, Uganda, Tanzania og Rwanda), og i øst-Europa som tidligere dannet Sovjetunionen. Subtype B er hovedsubtypen i Europa, Amerika, Australia og i enkelte land i sørøst-Asia, nord-Afrika, Midtøsten, og blant MSM i sør-Afrika og Russland. Subtype C dominerer i landene der >80% av infeksjoner med HIV-1 forekommer, som i sørlige Afrika og India. Man ser økende forekomst av rekombinante former for subtyper (sirkulerende rekombinante former, CRF), som nå står for 18% av HIV-1 infeksjoner, hovedsakelig i sørøst-Afrika (CRF01- AE) og i vest- og vestsentral-Afrika (CRF02- AE) (13).

Behandling av HIV-1

I 1987 startet man den første antivirale behandlingen av AIDS-pasienter med Zidovudin, en nukleosid revers transkriptasehemmer (NRTI). Man opplevde imidlertid raskt behandlingssvikt grunnet nye resistente varianter av viruset. NRTI er medikamenter med lav genetisk barriere, det vil si at det skal få mutasjoner til før det utvikles resistens mot medikamentene. For NRTI kan kun én punktmutasjon resultere i høygradig resistens. Utviklingen og bruk av proteasehemmere (PI) fra midten av 1990-tallet innebar imidlertid et stort gjennombrudd for behandlingen av HIV-1, og ble brukt i kombinasjonsterapi med to nukleosidanaloger. Disse medikamentene har høy genetisk barriere, det vil si at det kreves flere mutasjoner før virusresistens utvikles ovenfor PI. De kliniske effektene var slående, og den immunologiske og virologiske responsen var så betydelig at virus ofte ikke kunne detekteres i pasientens plasma og CD4-tallene steg etter bare noen måneders behandling. Kombinasjonsbehandlingen ble kalt HAART (høyaktiv antiviral terapi) og man trodde en stund man hadde funnet en kur for HIV-1. Studier og beregning av virusets kinetikk gjorde det imidlertid klart at kombinasjonsbehandlingen ikke eliminerte HIV-1 ettersom viruset kan overleve i lang tid «sovende» i latent infiserte celler integrert i cellens DNA hvor HAART ikke når frem til. Konklusjonen ble dermed at behandlingen kun var suppresserende, måtte

være livslang og at pasientenes etterlevelse over år hadde størst betydning for resultatet. HAART er fortsatt gjeldende i dag og har revolusjonert hivpasientenes livsprognose og livskvalitet. HIV-1 infeksjon har gått fra å være en dødsdom til en kronisk, behandlingstrengende sykdom. Hivbehandling er under stadig utvikling og en rekke antiretrovirale medikamenter med nye angrepspunkter er under klinisk utprøving eller i ferd med å tas i bruk (14, 15).

Antivirale medikamenter brukt i behandlingen av HIV-1- infeksjon

Det finnes 6 ulike medikamentklasser innen ART som virker på ulike deler av virusets livssyklus, se figur 2 ovenfor (punkt a-e): Medikamenter som virker i tidlig fase blokkerer selve infeksjonsprosessen så virus ikke kan trenge gjennom cellemembranen. Her finner vi a) koreseptorblokkere som blokkerer koreseptorer CCR5 på vertscellens overflate viruset trenger for å binde seg, og b) fusjonshemmere som hindrer virus- og vertsellemembranen i å smelte sammen. I mellomfasen virker medikamenter intracellulært ved å blokkere de virale enzymene RT og integrase. d) Nukleosid-/ nukleotidanaloger (NRTI) konkurrerer med naturlig tilstedeværende byggesteiner om å inkorporeres slik at elongering av viralt DNA blokkeres i vertscellens kjerne. Non- nukleosidanaloger (NNRTI) er ikke- konkurrerende inhibitorer ved at de binder til et allosterisk sete nær det katalytiske domenet til RT. e) Integrasehemmere (ISTI) hemmer enzymet integrase som er ansvarlig for integreringen av virus- DNA inn i vertscellens DNA. I den sene fasen skjer en modningsprosess der virusets protease spalter store polyproteiner til funksjonelle enzymer, og viruset knopper av vertscellens membran. e) Proteasehemmere (PI) hemmer hivproteasen slik at det produseres umodne, ikke-infeksiøse viruspartikler (16).

Nasjonale retningslinjer for behandling av HIV-1

Nasjonale retningslinjer for behandling av HIV-1 i Norge bygger på europeiske retningslinjer fra European AIDS Clinical Society (EACS). Ved behandlingsoppstart og fravær av resistens anbefales 3 typer kombinasjoner ved initialterapi: 2NRTI + 1NNRTI, 2 NRTI + PI eller 2NRTI + integrasehemmer. Medikamenter fra vanligste de vanligste medikamentklassene sees i appendix 1, hvorav de som brukes hyppigst i Norge i dag er markert med en stjerne. Hvilket regime som velges avhenger av medikamentdosering og bivirkningsprofil.

Resistensutvikling

Resistens mot antivirale medikamenter kan defineres som når et virus erverver en genetisk endring som gjør det mulig for viruset å formere seg i nærvær av et medikament.

Mekanisme for resistensutvikling

Resistensutvikling oppstår under kopiering av arvematerialet. Etersom HIV-1 har en høy replikasjonsrate, med ca. 10 millioner viruspartikler per dag, kan resistens utvikles fort. Prosessen skjer ved feilavlesning av basesekvensen under replikasjonen slik at aminosyrerekkefølgen endres og fører til mutasjoner. HIV-1 har i tillegg en enda høyere feilrate enn mange andre virus fordi det bruker RT ved kopiering av genomet. Dette enzymet har ikke korrekturlesing for å korrigere feil ved konvertering av DNA til RNA. Mutasjoner i gener som koder for målproteinene til medikamenter vil kunne gi medikamentresistens. Resistensutvikling er en dynamisk prosess med samtidig nærvær av mange muterte virusarter med ulik følsomhet for medikamentet. Dette medfører at det kan finnes ulike resistente virusvarianter hos en pasient allerede før man har begynt med behandling. Villtypeviruset er den hyppigst forekommende virusvarianten hos en pasient uten tilstedeværelse av ART. Behandling med antivirale medikamenter påfører et seleksjonspress der virusstammer med resistensgivende mutasjoner vil ha en fordel sammenlignet med naturlige villtypestammer. I fravær av medikamentene vil de fleste muterte virus imidlertid ha en dårligere overlevelsessevne enn villvirustypen og dermed ikke replikeres like effektivt. Det betyr at når man slutter med medikamentbehandling vil som oftest den følsomme villvirustypen komme tilbake. Da har man muligheten til å bytte til en annen medikamentkombinasjon om vet hvilke resistensmutasjoner som er oppstått. En resistensundersøkelse kan vise om behandlingssvikten skyldes oppvekst av resistente virus, og hvilke medikamenter viruset er følsomt eller resistent mot. Et viktig poeng er i så fall å utføre resistenstesten mens pasienten er under behandling slik at det resistente viruset dominerer (16, 17).

Arkivert resistens

Arkivert resistens innebærer at resistente virusvarianter som har infisert nye celler kan gjenfinnes som arkiverte sekvenser lagret i proviralt DNA i hvilende celler. Dersom dette viruset ikke har en fordel under pågående behandling vil det kanskje ikke forekomme i høye nok mengder til at det kan påvises ved en resistensundersøkelse. Ved endret behandlingsregime kan slike virus få fortrinn og blomstre opp, og en uventet resistens kan

oppstå mot den nye behandlingen. Pasienten har da virus i blodet med påvisbare mutasjoner. Avbrytes behandlingen kommer pasientenes medikamentfølsomme virus tilbake i populasjonen, og man kan få kontroll med situasjonen med nye medikamenter. Det er derfor ønskelig ved medikamentbytte å bytte til *to* nye medikamenter slik at risikoen for at virus får formert seg reduseres. Ved smitte med primærresistente virus dominerer sannsynligvis det resistente viruset hos pasienten, og utgangspunktet for behandling blir dermed dårligere (16).

Resistensovervåking i Norge

For å ha et statlig tilsyn av hivresistens i Norge ble Nasjonalt overvåkningssystem for hivresistens igangsatt i 2006 i regi av Folkehelseinstituttet (FHI). Overvåkingen er en del av et resistensregister, RAVN- Resistensovervåking av Virus i Norge, som ble opprettet for å få en nasjonal resistensovervåking av en rekke klinisk viktige virus inkludert influensa fra 2005, HIV fra 2006 samt HBV og CMV fra 2011. Ordningen innebærer at nye tilfeller med HIV-1 resistenstestes i tillegg til å meldes til MSIS. Målet er å ha en oversikt over primærresistens av HIV-1 i Norge, og resistensdata oppbevares på FHI. Tidligere ble genotypisk resistensbestemmelse utført ved Haukeland, Ullevål og Rikshospitalet, men fra og med 2008 gjøres dette kun ved OUS Ullevål som også er referanselaboratorium for HIV-1 i Norge. Her tester man for resistensgivende mutasjoner mot NRTI, NNRTI og PI, og integrasehemmere på forespørsel (3, 11).

Resultater av resistensovervåkingen har vist en lav men økende trend med smitte med resistent HIV-1 i Norge. Andelen av nydiagnostiserte tilfeller med resistent HIV-1 var nede i 2,1 % i 2007 og har økt til det tredobbelte innen 2012. Ettersom resistensanalysen er basert på WHO sin liste over resistensmutasjoner laget i overvåkingsøyemed er det viktig å huske på at disse tallene ikke nødvendigvis representerer forekomst av klinisk hivresistens med konsekvenser for ART-behandling (11).

Epidemiologisk overvåking av resistens er ikke det samme som klinisk signifikant resistens

HIV-1 resistensovervåkningsprogrammer er under oppstart i mange land, og WHO har derfor utarbeidet en liste over mutasjoner som gir resistens og som man ønsker å overvåke for å ha et epidemiologisk tilsyn av smitte med resistente hivstammer. En slik standardisert liste gjør det mulig å sammenligne resistensforekomst fra ulike regioner og over tid, se WHO's siste versjon fra 2009 i appendix 2. Listen er kun ment i overvåkingsøyemed og tar ikke høyde for informasjon om enkeltmedikamenter, medikamentets genetiske barriere eller det komplekse

samspeilet mellom mutasjonene. De oppførte resistensmutasjonene betyr derfor ikke nødvendigvis at det er resistens av klinisk signifikans, det vil si resistens mot hivmedikamenter med konsekvenser for behandling av pasienter.

MATERIALE OG METODE

Pasienter

Ved gjennomgang av hivresistensdata av nydiagnostiserte hivpasienter i Norge for årene 2011 og 2012 er tilfeller med resistensgivende mutasjoner som ga resistens mot minst ett medikament identifisert. Pasienter som ble inkludert i studien var nydiagnostiserte med HIV-1 i Norge fom. januar 2011 tom. desember 2012. I oppgaven er ordet «nydiagnostiserte» brukt fremfor «nysmittede» (smittet < 1 år siden), ettersom det i mange tilfeller ville være vanskelig å vite akkurat når pasienten er smittet. Et inklusjonskrav til pasientene var dessuten at de måtte være ART-behandlingsnaive. Dersom pasientene allerede hadde mottatt slike medikamenter i forbindelse med PEP, forebygging av mor- til- barn-smitte eller tidligere behandling av deres HIV-1 ble de ekskludert fra studien.

Metode

Det er utført en retrospektiv observasjonsstudie der det er sammenfattet informasjon om nydiagnostiserte HIV-1 pasienter fra genotypisk HIV-1 resistenstesting på referanselaboratoriet på OUS Ullevål, og informasjon fra MSIS-meldeskjemaer sendt til FHI. Resistensanalyserapporter fra OUS Ullevål inneholder informasjon om hvilke resistensmutasjoner som foreligger, virussubtype, HIV-1 RNA kopier/ml, samt en klinisk vurdering med tanke på klinisk medikamentresistens og anbefalinger ved eventuell behandling. HIV-1 infeksjon er en meldepliktig sykdom og MSIS-meldeskjemaer inneholder blant annet informasjon om kjønn, alder, bosted, fødeland, smittested og smittevei.

På bakgrunn av de innsamlede dataene er det i oppgaven kalkulert forekomst av smitte med resistent HIV-1 blant nydiagnostiserte i Norge i årene 2011-12, og undersøkt hva som kjennetegnet disse pasientene. Det er gjort et skille mellom resistensgivende mutasjoner tellende ved epidemiologisk overvåking og de som vektlegges klinisk. Til slutt er det undersøkt om det foreligger noen forskjell i forekomst og resistensmønster ved primærresistens mellom pasienter smittet i Norge og pasienter smittet i utlandet.

Genotypisk HIV-1 resistensanalyse

Indikasjoner for resistenstesting er ved diagnosetidspunkt i forbindelse med overvåking av primærresistens, ved terapivikt, hos gravide kvinner, ved behandling med PEP, og eventuelt før oppstart med ART- behandling. *Genotypisk resistenstesting* går ut på at HIV-1-RNA isoleres fra pasientens plasma. Videre transkriberes store deler av virusets polymerasegen til DNA og amplifiseres ved hjelp av en polymerasekjedereaksjon (PCR). I virusets polregion ligger områder som koder for enzymene protease og revers transkriptase, og det er disse man ønsker å sekvensere, det vil si å finne rekkefølgen av nukleotidene som gir oppskriften til det aktuelle proteinet. Disse enzymene er angrepspunkter for antivirale medikamenter, og mutasjoner her vil kunne gi resistens. Man ser således på resistens mot NRTI, NNRTI og PI ved vanlig resistensundersøkelse, og om ønskelig kan man også undersøke integrasegenet. Aminosyresekvensen fra pasientens prøve sammenlignes med aminosyresekvensen til villtypevirus, og man leter etter mutasjoner som man vet er assosiert med resistens (5).

Hivgenomet består av gensekvenser der nukleotider tre og tre koder for bestemte aminosyrer som gir opphav til et protein. TCG og TGT koder for eksempel for aminosyren cystein (C). Ved resistensendring i nukleotidsekvensen beskrives dette ved å bruke et nummer som viser posisjonen til det relevante kodonet i genet, og to bokstaver der den første bokstaven angir aminosyren som normalt finnes i villtypen, mens bokstaven etter angir hvilken aminosyre mutasjonen har ført til. For eksempel betyr K103N at det er skjedd en mutasjon i kodonet på plass 103 i gensekvensen, og at aminosyren lysin (K) er endret til asparagin (N).

Tolkning av klinisk resistens

Betydningen av mutasjoner og samspillet mellom disse for virusets resistensprofil er kompleks. Bare ved *fenotypisk testing* kan en finne virusets egentlige følsomhet for et medikament og forutse best mulig den kliniske responsen. Dette er gullstandard ved resistensanalyse hvor en bedømmer hvor høy konsentrasjon av et medikament som må til for å hemme 50% og/ eller 90% av virusreplikasjonen i en cellekultur. Metoden ligner den som brukes ved bestemmelse av bakteriell resistens mot antibiotika. Fenotypisk testing av HIV-1 er imidlertid dyrt, komplisert og tidkrevende, og man bruker derfor genotypisk resistensundersøkelse ved testing av pasienter. For å vurdere tilstedeværelse av HIV-1 resistensmutasjoner anvender man i Norge en liste utarbeidet av WHO, se appendix 2. I et forsøk på å finne virusets egentlige resistensprofil analyseres svaret fra genotypisk testing ved hjelp av "Calibrated Population Resistance" (CPR). Dette er et verktøy ved Stanford HIV medikamentdatabase

(<http://hivdb.stanford.edu>) med algoritmer utviklet av ekspertpaneler basert på litteratur og kliniske resultater hvor man kartlegger resistensmutasjoner og interaksjoner med betydning for ART- resistens. Medikamentdatabasen oppdateres jevnlig ettersom nye forskningsresultater publiseres.

Ved analyse av genotypisk resistensundersøkelse vekter mutasjoner ulikt. For medikamenter med lav genetisk barriere trengs det bare én mutasjon i en spesiell posisjon for å gi klinisk resistens, og eksempler på slike medikamenter er NNRTI Efavirenz og Nevirapine. For andre medikamenter trengs mange mutasjoner for å opparbeide resistens, og tilstedeværelse av disse vekter mindre i resistensanalysen. PI er eksempler på slike med høy genetisk barriere. Det kan være stor kompleksitet i hvordan mutasjoner påvirker virusets resistens. Forekomsten av en mutasjon kan gi økt resistens for et medikament og svekket resistens for et annet, det vil si at mutasjonen kan ha en antagonistisk eller synergistisk effekt, eller begge deler for ulike medikamenter. Det kan oppstå resistens mot medikamenter i samme medikamentklasse som pasienten ikke er eller har vært eksponert for, kalt *kryssresistens*. Noen mutasjoner er også avhengige av tilstedeværelse eller fravær av andre spesifikke mutasjoner, kalt *naturlige polymorfismer*. Disse har ingen relasjon til medikamentell seleksjon, men vil ved tilstedeværelse av andre spesifikke mutasjoner i samme enzym kunne bidra til å øke resistensen for å gi resistensen (16) (18). Eksempler på samspillet mellom resistensgivende mutasjoner funnet hos pasientene i denne studien kan ses i appendix 3.

For konkrete anbefalinger til klinisk praksis tolkes resultatene fra Stanford videre av en virolog og en infeksjonsmedisiner på OUS Ullevål. Den kliniske tolkningen gjøres på bakgrunn av pasientens medikamentanamnese og en samlet vurdering av resistensmutasjoner basert på anbefalinger fra International AIDS Society (IAS) i USA, Stanford-databasen og Rega- instituttet i Belgia. Det lages en rapport hvor det konkluderes med virusets grad av resistens, det vil si hvor følsomt en kan anta at viruset vil være for de ulike medikamentene. I denne oppgaven er resistensgivende mutasjoner regnet som klinisk relevante dersom det konkluderes med lavgradig eller resistens av høyere grad i resistensrapporten fra OUS Ullevål. Nedsatt følsomhet for et medikament regnes ikke som klinisk signifikant resistens.

Litteratursøk

For å finne relevante forskningsartikler om emnet har jeg foretatt artikkelsøk i PubMed med søkeordene HIV-1, AIDS, surveillance, TDR, resistance, ARV, cART, HAART og SPREAD. Jeg har funnet artikler linket til disse artiklene under «Related citations in PubMed». Jeg fikk artikler av og vært i dialog med veileder. I tillegg har jeg besøkt referanselaboratoriet på OUS Ullevål og sett hvordan resistensanalyse foregår. Jeg har dessuten fått RAVN-rapporten utarbeidet av FHI i samarbeid med kliniske laboratorier, og har kontakt med fagpersonalet ansvarlige for å utarbeide rapporten.

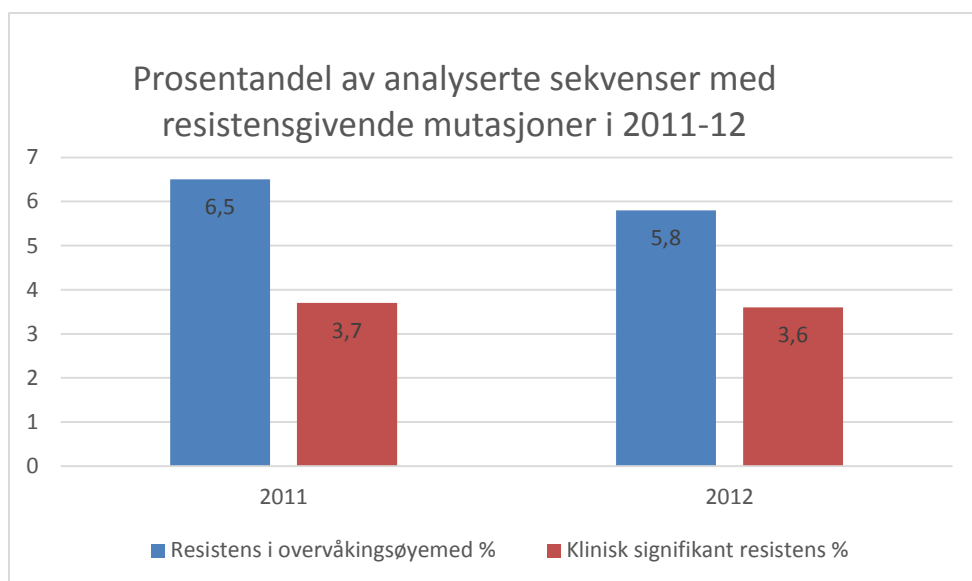
RESULTAT

Andel av nydiagnostiserte HIV-1 pasienter der sekvenser ble sendt til resistensanalyse

Ved en gjennomgang av hivresistensdata for årene 2011 og 2012 ble pasienter med resistensgivende mutasjoner identifisert. Det var i 2011 268 tilfeller med nydiagnostisert HIV-1 meldt til MSIS, og 241 tilfeller i 2012. Det ble sendt inn gensekvenser til resistenstesting ved OUS Ullevål i om lag halvparten av tilfellene, 108 (40%) sekvenser i 2011 og 140 (58%) sekvenser i 2012. Ved nærmere gjennomgang av pasientene meldt i 2012 viste det seg at to pasienter tidligere hadde mottatt behandling for sin hivinfeksjon, og dermed ikke var nydiagnostiserte i Norge i 2012 likevel. Disse ble luket ut av tallmaterialet slik at man hadde sekvenser fra resistenstesting på 108 nydiagnostiserte pasienter med HIV-1 i 2011 og 138 pasienter i 2012.

Forekomst av nydiagnostiserte med resistent HIV-1 i Norge i 2011-12

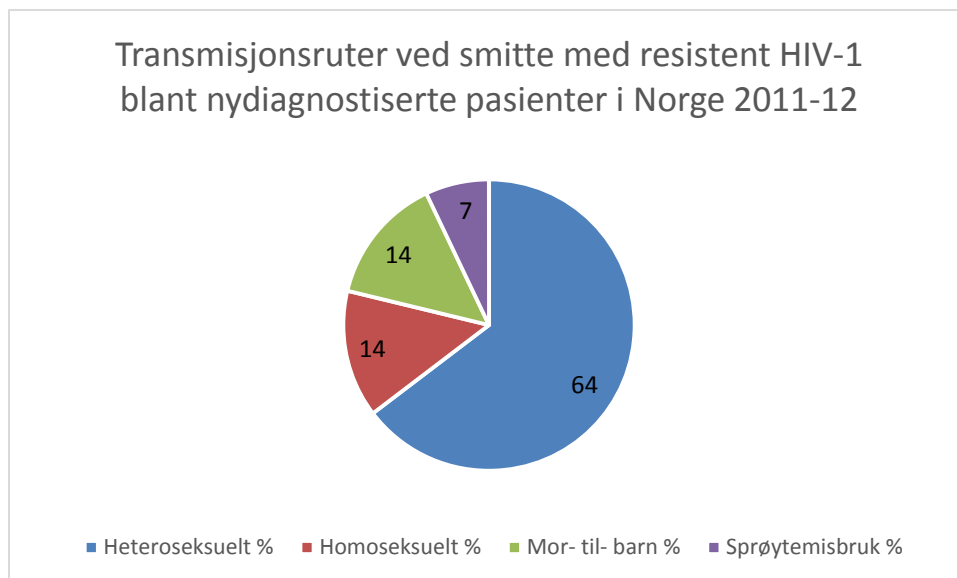
For en oversikt over tilfeller nydiagnostiserte med resistent HIV-1 i Norge i 2011-12 se appendix 4. Blant de nydiagnostiserte HIV-1 pasientene var det totalt 15 med resistent virus i løpet av de to årene (7 (6,5%) av 108 i 2011, og 8 (5,8%) av 138 i 2012). Andelen av sekvenser med resistensgivende mutasjoner som måtte anses å ha en faktisk klinisk konsekvens, det vil si med konsekvenser for valg av ART i behandlingsøyemed, var 3,7% i 2011 og 3,6% i 2012, se figur 3.



Figur 3 Prosentandel av analyserte sekvenser med resistensgivende mutasjoner i 2011-12

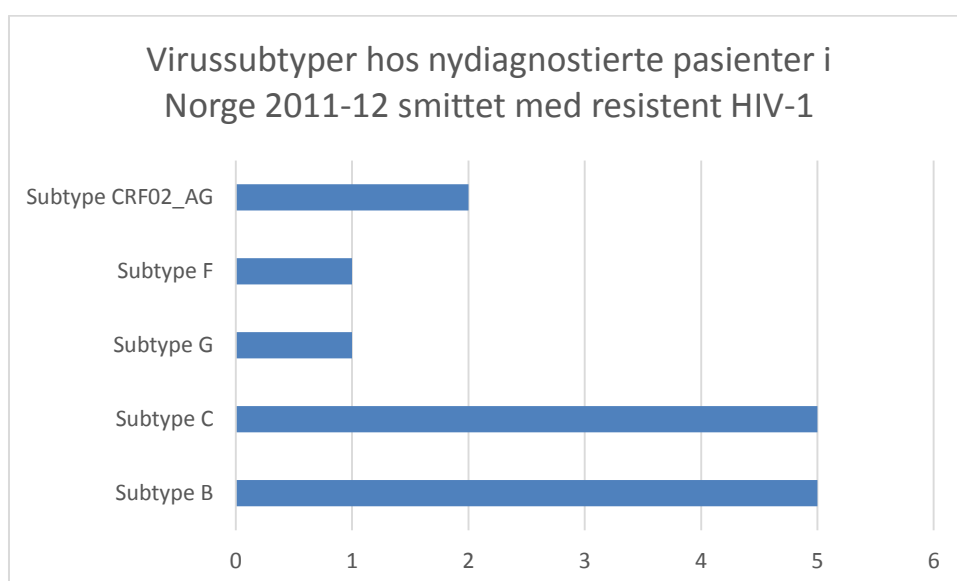
Generelle karakteristika ved pasientene med primærresistens

For én av pasientene i 2012 ble ikke MSIS-skjema med informasjon om alder, kjønn, smitteland og smittevei funnet, og pasienten ble ikke tatt med ved beregning av disse dataene. Blant pasientene nydiagnostiserte med resistent HIV-1 i årene 2011-12 det fantes fullstendige data på var 10 (71%) menn og 4 (29%) kvinner, og syv (50%) var i aldersgruppen 30-39 år. Totalt var kun 4 (29%) av 14 de tilfellene smittet i Norge, mens 10 (71%) var smittet utenfor Norge, herav hovedsakelig i afrikanske land sør for Sahara. Kun 4 (1,6%) av de 246 pasientene nydiagnostisert med HIV-1 var smittet i Norge med resistent virus. Forekomst av primærresistens i gruppen smittet i Norge var dermed lavere enn i den totale gruppen nydiagnostiserte pasienter med resistent HIV-1. 9 (64%) av 14 pasienter var heteroseksuelt infiserte, bare 2 (14%) homoseksuelt, 2 (14%) ved mor- barn- smitte og 1 (7%) ved sprøytemisbruk, se figur 4.



Figur 4 Transmisjonsruter ved smitte med resistent HIV-1 blant nydiagnostiserte pasienter i Norge i årene 2011-12

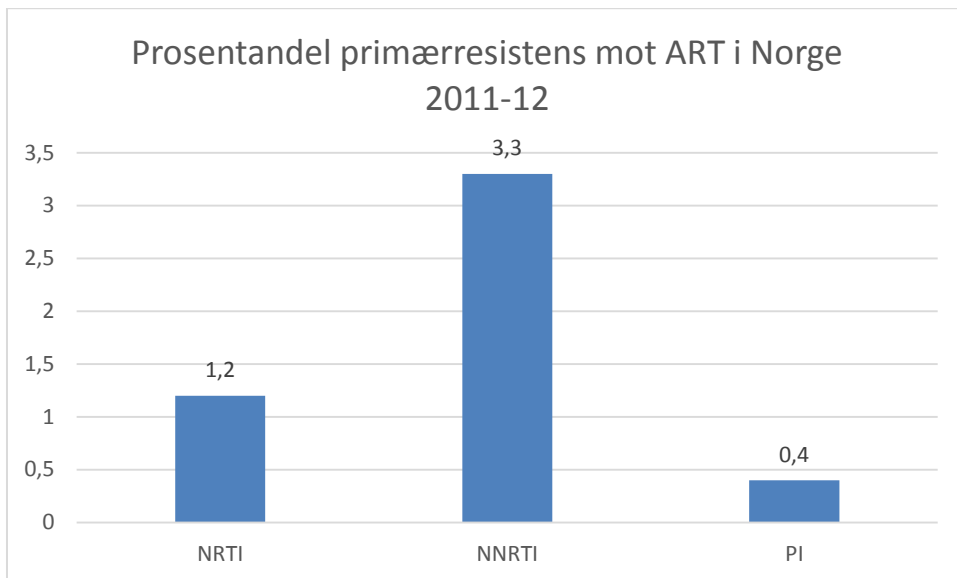
Det ses 5 (33%) tilfeller av 15 smittet med subtype B- virus, 5 (33%) med subtype C, 3 (20%) med subtype CRF02_AG, 1 (7%) med subtype G og 1 (7%) med F, se figur 5. Subtypen virus som dominerer de ulike stedene i verden var gjenspeilet i pasientenes smitteland. Som ventet var alle tilfellene med subtype B- virus, med unntak av én, smittet i Europa som er den vanligste subtypen her. Andelen smittede i afrikanske land sør for Sahara var i hovedsak smittet med virus av subtype C, F, G eller den rekombinante formen CRF02-AG.



Figur 5 Antall nydiagnostiserte smittet med resistent HIV-1 av ulike subtyper i Norge 2011-12

Resistens mot ulike klasser av antiretrovirale medikamenter

Blant de totalt 15 pasientene med primærresistens i 2011-12 var det 8 (3,3%) tilfeller med NNRTI-resistens, 3 (1,2%) med NRTI- resistens, og 1 (0,4%) tilfelle med PI-resistens, se figur 6. Moderat til høygradig NRTI-resistens ble sett hos totalt 3 (20%) pasienter. Det var moderat til høygradig resistens mot NNRTI i 8 (53%) av sekvensene, særlig mot Efavirenz og Nevirapin. Lavgradig PI- resistens ble sett ved 1 (7%) av 15 sekvenser, ellers var det ingen resistens mot denne medikamentgruppen. Betydelig eller høygradig resistens forekom hos 10 (67%) av 15 pasienter. 7 (70%) av disse 10 tilfellene var smittet med ikke- subtype B virus, mens 1 (20%) var smittet med subtype B- virus.



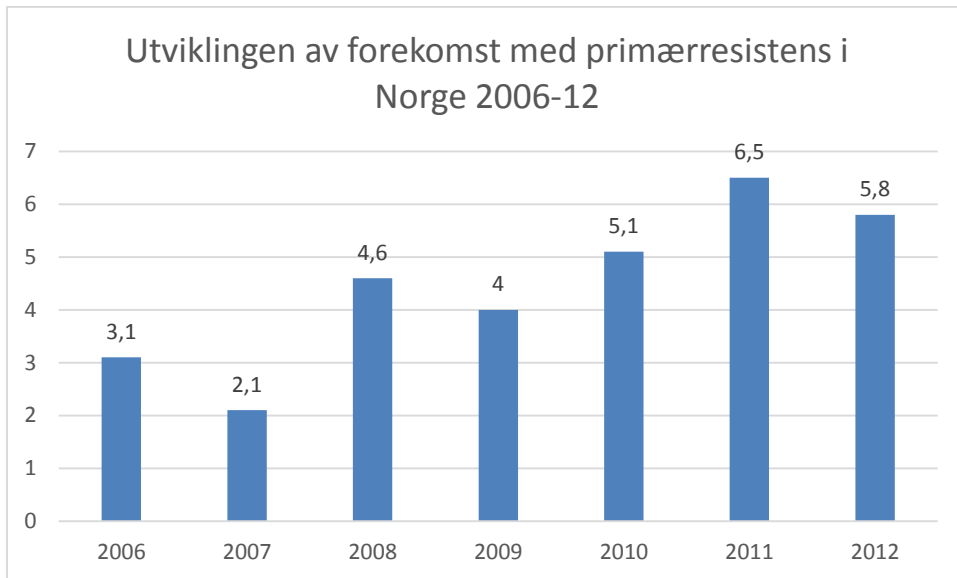
Figur 6 Primærresistens mot de ulike ART- medikamentgruppene funnet ved gjennomgang av data fra resistenstesting av nydiagnostiserte HIV-1 pasienter i Norge i 2011-12

DISKUSJON

Moderat prevalens av primærresistens

Med en gjennomsnittlig primærresistensprevalens i årene 2011-12 på 6,1% i Norge var forekomsten fortsatt lavere enn ellers i Europa. Utviklingen var i samsvar med tidligere rapporter fra resistensovervåking i Norge der forekomsten var forholdsvis lav sammenlignet med flere andre land i Europa men økende (19), se figur 7. Ifølge WHO's klassifiseringssystem har prevalensen av primærresistens i Norge gått fra å være lav (<5%) til moderat (5-10%) i løpet av de siste årene. Det er viktig å ikke undervurdere resistenstill og

viktigheten av overvåking ettersom forekomsten av smitte med resistent virus i Norge ser ut til å være økende, og kan føre med seg praktiske konsekvenser både på individ- og populasjonsnivå.



Figur 7 Utviklingen av forekomst med primærresistens funnet hos pasienter diagnostiserte med HIV-1 i Norge 2006-12

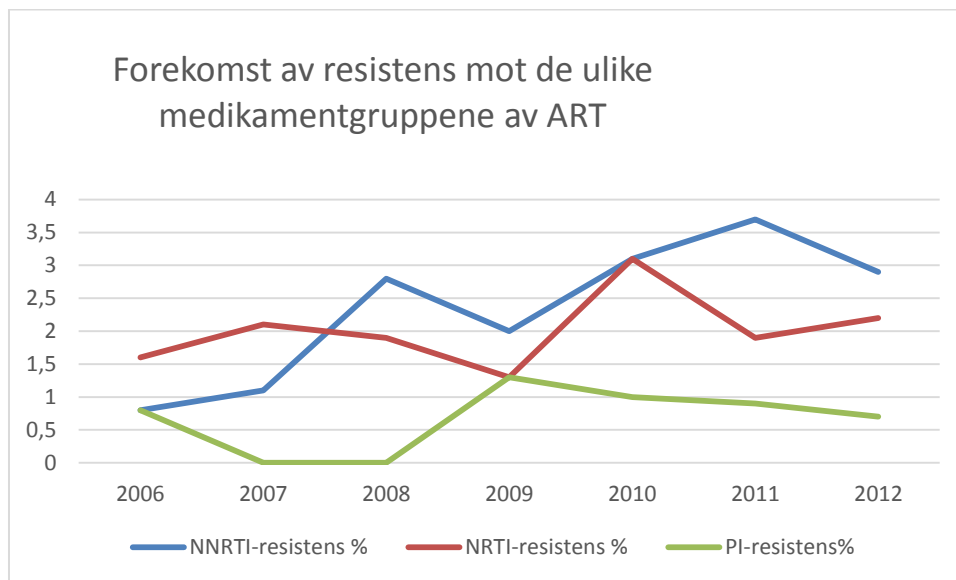
Til sammenligning fant en svensk studie lignende resultater med en TDR- prevalens på 5,6% (KI 4,5%-6,9%) i Sverige i årene 2003-2010 uten noen signifikant tidstrend eller forskjell mellom pasienter smittet i og utenfor Sverige (20). Studier fra SPREAD, det Europeiske overvåkingsprogrammet, med data fra HIV-1 infiserte pasienter i 20 europeiske land diagnostisert i årene 2002-2005 fant en TDR- prevalens på 8,4%. Konklusjonen i denne studien var at utviklingen i forekomst av smitte med resistent HIV-1 er i ferd med å stabilisere seg (3).

En nyere studie der man ved en litteraturgjennomgang gjennomgikk 75 studier i 2009, hovedsakelig fra vest- Europa, fant man imidlertid en økning i TDR til 10,9%. Videre omtales tidstrender der prevalensen av TDR varierer gjennom årene. Man fant for eksempel i 2003 en prevalens på ca. 11,5%, mens den året etter var redusert til 7,7% som er nærmere norske tall for primærresistens. Ifølge studien kan variasjon i prevalens av smitte med primærresistentvirus kan forklares av endringer i behandlingsregimer, varierende tilgjengelighet av behandling og inkludering av kronisk syke HIV-1 pasienter grunnet ulik

testaktivitet over årene. En kan òg tenke seg at økt innvandring fra høyendemiske områder samt endringer i rutiner for testing og rapportering spiller en rolle (21).

Resistens mot de antivirale klassene brukt i HIV-1 behandling varierer over tid

På medikamentgruppenivå var det i Norge i 2011-12 en forekomst med 3,3% NNRTI-resistens, 1,2% NRTI-resistens, og 0,4% PI-resistens. Ved en gjennomgang av Stanfordrapporter fra tidligere år så man at forekomsten av resistens mot de ulike antivirale midlene varierte fra år til år, se figur 8. Grovt sett var NRTI- og NNRTI-resistens et økende problem, mens forekomsten av PI-resistens var den samme som i 2006. Dette er ikke uventet ettersom PI har høy genetisk barriere og det skal mer til for resistensutvikling (16). Det var blant de analyserte sekvensene moderat til høygradig resistens mot NNRTI i over halvparten av sekvensene fra nydiagnostiserte HIV-1 pasienter med primærresistens, særlig mot Efavirenz og Nevirapin som er vanlige medikamenter i førstelinjebehandling. Resultatet er ikke uventet ettersom de har relativt lav genetisk barriere, og har vært anbefalte og brukt som en del av trippelregimet over lengre tid.



Figur 8 Forekomst av resistens mot de ulike medikamentgruppene brukt i behandling av HIV-1 hos nydiagnostiserte pasienter i Norge 2006-12

Resultatene av resistensmønstre i Norge samsvarer med funn ved resistensovervåking ellers i Europa der det ikke var noen klar utvikling over tid. Man snakket heller om tidstrender der

forekomst av TDR og medikamentgrupper det ses resistens mot varierer. Ved studien nevnt tidligere fra 2009 der man sammenfattet resistensdata i Europa fant man blant undersøkte sekvenser fra nydiagnostiserte pasienter med HIV-1 7,4% NRTI-resistens, 3,4% NNRTI-resistens og 2,9% PI-resistens. Sammenligner man disse tallene for TDR med figur 8 ser man at det i Norge var lavere forekomst av TDR innenfor alle medikamentgrupper, med unntak av i 2011 da man fant en forekomst av NNRTI-resistens på over 3,5%. Man så i studien en reduksjon i NRTI-resistens i Europa, Nord- Amerika og Latin- Amerika, som ble konkludert med å skyldes forbedrede behandlingsregimer i ressursrike settinger. På den andre siden så man en økning i NRTI- resistens over tid i Asia og Afrika. Dette kan forklares av at HAART er blitt mer tilgjengelige i disse områdene. Tidligere så man i afrikanske land en høy andel NNRTI-resistens grunnet profylaktisk bruk av en enkelt dose NNRTI- monoterapi med Nevirapin for å forhindre mor-til-barn- smitte under fødsel (21).

Virussubtype og smitteland

Det ble påvist betydelig til høygradig resistens blant 7 (70%) av 10 tilfeller smittet med resistent ikke- subtype B HIV-1 diagnostisert i Norge i 2011-12. De fleste av pasientene var smittet utenfor Norge og hovedsakelig i afrikanske land. Tidligere studier har vist at smitte med medikamentresistente virus hovedsakelig ses hos pasienter med subtype B, sannsynligvis grunnet at denne virussubtypen er vanligst i Europa og USA, og dermed har vært lenger eksponert for medikamenter. Observasjon av økt primærresistens hos tilfeller med ikke- subtype B er svært relevant i forhold til argumentasjonen om å resistentsteste alle behandlingsnaive pasienter før førstelinjebehandling eller posteksponeringsprofylakse (25). Sannsynligvis skyldtes den økte forekomsten av smitte med resistent ikke- subtype B virus at ART- medikamenter er blitt mer tilgjengelig i fattige deler av verden som tidligere ikke hadde tilgang på behandling med resistensutvikling som følge.

En viktig årsak til at ikke- subtype B virus forekom hyppig i primærresistenstallene for HIV-1 var at pasienter smittet før ankomst til Norge representerte opp mot halvparten av det totale antallet nydiagnostiserte pasienter med HIV-1 i årene 2011-12, se appendix 5. Pasienter med resistent virus smittet utenlands gjengir ikke de faktiske smitteforhold i Norge, og det er således viktig å differensiere mellom den reelle situasjonen i Norge og for eksempel asylsøkere som diagnostiseres med HIV-1 i Norge men som ikke blir boende i landet. Forekomst av primærresistens blant alle nydiagnostiserte HIV-1 pasienter i Norge i 2011-12 var på gjennomsnittlig 6,1%, men om en kun tar med pasienter smittet i Norge var den på

1,6%. Diskrepansen i tallene viser at smittested har en avgjørende betydning for å vurdere risikoen for om en ubehandlet pasient er smittet med resistent virus eller ikke. Videre reiser disse tallene spørsmålet om man bør diskutere hvorvidt pasienter som er smittet i utlandet bør inkluderes i norske tall for primærresistens eller ikke. Dersom overvåking av primærresistens skal være et godt verktøy for myndighetene til å vurdere behov for intervensjon vil det være problematisk om en betydelig andel av tallmaterialet ikke er smittet i Norge. Økt innvandring fra høyendemiske områder kan gi en økning i prevalens av primærsmitte som det nesten vil være umulig å påvirke. Et viktig tiltak for å redusere forekomsten av primærsmitte i Norge er imidlertid å gi HIV- positive innvandrere tilgang på ART dersom det foreligger indikasjon for dette slik at de ikke smitter andre.

Klinisk relevant resistens versus resistensmutasjoner i overvåkingsøyemed

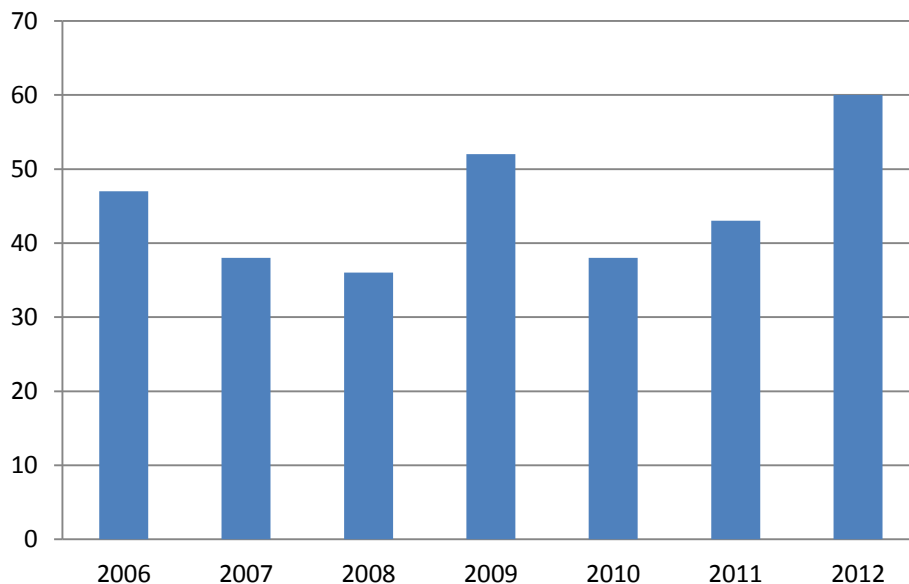
Epidemiologisk overvåking av smitte med resistent virus er nyttig for å følge utvikling over tid og sammenligne forekomst i ulike geografiske områder. Overvåkingen er basert på WHO's standardiserte liste over resistensgivende mutasjoner. Listen tar ikke høyde for informasjon om enkeltmedikamenter, som for eksempel deres genetiske barriere og det komplekse samspillet mellom de ulike mutasjonene påvist hos hver enkelt pasient. For eksempel kan en resistensmutasjon være tellende ved epidemiologisk overvåking, men i klinisk praksis kun gi medikamentresistens ved tilstedeværelse av en annen mutasjon. Tall fra epidemiologisk overvåking er dermed ikke direkte overførbare til forekomst av primærresistens med en praktisk klinisk betydning ved behandling av pasienter med HIV-1. Tall for klinisk signifikant resistens baseres på pasientens medikamentanamnese og en samlet vurdering av de påviste resistensmutasjonene. Den kliniske tolkningen angir virusets resistensprofil og legges til grunn for behandlerens valg av hivmedikamenter hos hver enkelt pasient.

Primærresistenstall fra Norge i 2011-12 viste en forskjell i forekomst av resistensmutasjoner i forbindelse med epidemiologisk overvåking (6,5% i 2011 og 5,8% i 2012) og klinisk signifikant resistens (3,7% i 2011 og 3,6% i 2012). Resistensgivende mutasjoner som må antas å ha en faktisk klinisk konsekvens for ART-behandling av den enkelte pasient forekom altså mindre hyppig enn tall fra epidemiologisk overvåking gir inntrykk av. Ser man på forekomst av primærresistens blant tilfeller som faktisk var smittet i Norge blir tallene enda lavere, ettersom nesten halvparten av tilfellene nydiagnostiserte med resistent HIV-1 i Norge i 2011-12 var smittet i utlandet.

Utfordringer ved prosjektoppgaven

Manglende sekvenser

En utfordring ved resistensovervåking er å samle inn prøver til resistenstesting fra alle nydiagnostiserte. I 2006 fikk man inn sekvenser fra under halvparten av hivpasientene, mens andelen økte til 60% i 2012, se figur 9. Et problem kan være at det innsendte materialet ikke er representativt for hele populasjonen av nydiagnostiserte, og at man går glipp av viktige resistensstammer som finnes. Dette kan for eksempel gjelde personer med risikoatferd og i miljøer med høy ART- resistens som unngår hivtesting og diagnostikk. Problemstillingen med manglende sekvenser ble belyst i RAVN- rapporten fra 2013 hvor det konkluderes med at det er viktig å jobbe for å samle inn en større prosentandel sekvenser til resistenstesting. Likevel vil det trolig være vanskelig å oppnå resistenstesting av alle nydiagnostiserte hivpasienter ettersom en betydelig andel ikke er bosatt og følges opp i Norge, som for eksempel turister, asylsøkere og besøkende. I tillegg skal personer som flytter til Norge med kjent hivinfeksjon under behandling fra sine hjemland meldes til MSIS, men bør naturlig nok ikke være med i tall for primærresistens.



Figur 9 Andelen sekvenser sendt inn til resistenstesting fra alle nydiagnostiserte pasienter med HIV-1 i Norge i 2006-2012

Feilaktige opplysninger angående pasientene

Manglende eller ukorrekt informasjon angående for eksempel smittevei, smitteland og eventuell tidligere behandlingsnaivitet vil være uheldig for konklusjon i studien. Ved gjennomgang av datamaterialet viste det seg at to av de nydiagnostiserte pasientene i 2012 ikke var ART-naive og ble ekskludert. Disse ble luket ut av tallmaterialet, og er hvorfor resistenstall i denne studien kan avvike noe fra tall publisert av FHI i RAVN-rapporten fra 2013.

Vurdering av resistensgivende mutasjoner

WHO's liste over resistensmutasjoner ligger til grunn for resistensanalyse, og for å føre en mest mulig nøyaktig oversikt med resistens er man avhengig av at denne er oppdatert. Svakheter ved analysen kan således oppstå under vurderingen av hvilke mutasjoner som skal inkluderes. Dette arbeides kontinuerlig med og listen ble sist revidert i mars 2013 (22).

Genotypisk resistensundersøkelse

Gullstandard for undersøkelse av resistens er som tidligere nevnt fenotypisk undersøkelse, men metoden er svært kostbar og tidkrevende slik at man i praksis utfører resistensanalysen ved hjelp av genotypisk metode. En svakhet ved denne undersøkelsen er sensitiviteten som kan være et problem ved for lavt nivå av virus i plasma eller når mutanten representerer en for lav andel av pasientens viruspopulasjon. Det er dessuten vanskelig å avgjøre om de identifiserte mutasjonene foreligger i én og samme viruspartikkel eller om de er spredt på forskjellige virus, slik at man ikke vet om man har med én eller flere virusstammer å gjøre. Det kan derfor være komplisert å analysere graden av resistens ettersom det kan være vanskelig å vite om de identifiserte mutasjonene tilhører ett virus eller er spredt på flere. En utfordring i forbindelse med dette er naturlig forekommende polymorfismer som kan bidra til å øke resistensen ved samtidig tilstedeværelse av andre mutasjoner *i samme enzym* (5).

KONKLUSJON

Med en gjennomsnittlig primærresistensprevalens i årene 2011-12 på 6,1% i Norge var forekomsten fortsatt lavere enn ellers i Europa. Utviklingen var i samsvar med tidligere rapporter fra resistensovervåking i Norge der forekomsten var forholdsvis lav sammenlignet med flere andre land i Europa men med økende tendens. På medikamentgruppenivå var det i Norge i 2011-12 en forekomst med 3,3% NNRTI-resistens, 1,2% NRTI-resistens, og 0,4% PI-resistens. Det var blant de analyserte sekvensene moderat til høygradig resistens mot NNRTI i over halvparten av sekvensene fra nydiagnostiserte HIV-1 pasienter, særlig mot Efavirenz og Nevirapin. Dette er medikamenter med relativt lav genetisk barriere som lenge har vært brukt og brukes fortsatt som en del av førstelinjebehandling. Betydelig til høygradig resistens var mest assosiert med ikke subtype- B virus, som forekom i 70% av tilfellene der betydelig eller høygradig resistens ble påvist. Et problem ved resistenstillene var at pasienter smittet utenfor Norge, hovedsakelig i afrikanske land sør for Sahara, utgjorde opp mot halvparten av tilfellene med primærresistens. Resultatene representerte dermed sannsynligvis ikke de faktiske smitteforholdene i Norge. Forekomsten av smitte med resistente hivstammer var på ca. 6% i Norge i 2011-12. Dette er resultater fra epidemiologisk overvåking som er nyttige til å følge utvikling av primærresistens over tid og sammenligne forekomsten i ulike geografiske områder. Tallene gjengir imidlertid ikke forekomst av resistensmutasjoner med en praktisk klinisk konsekvens for valg av hivmedikament i behandlingsøyemed, altså mutasjoner som kan sies å være klinisk relevante. Forekomsten av klinisk signifikant resistens var på ca. 4%, altså noe lavere. Ser man på forekomsten av primærresistens blant tilfeller som faktisk var smittet i Norge blir tallene enda lavere, ettersom nesten halvparten av tilfellene nydiagnostiserte med resistent HIV-1 i Norge i 2011-12 var smittet i utlandet.

KONKLUSJON: Det er fortsatt meget lav forekomst av smitte med resistent HIV-1 i Norge, og utviklingen er i samsvar med tidligere rapporter fra resistensovervåking. Det er imidlertid viktig å ikke undervurdere resistenstill og å overvåke kontinuerlig ettersom smitte med resistent virus i Norge viser en økning og kan føre med seg praktiske konsekvenser både på individ- og populasjonsnivå med spredning av resistente virus.

LITTERATURHENVISNINGER

1. Muñis HP. Hvorfor overvåke primær hivresistens? *Aids- info*. 2006;8(4):25.
2. WHO. WHO HIV drug resistance report 2012. In: WHO, editor. 2012.
3. Health NIOp. Utredning om nasjonalt overvåkingssystem for virusresistens Rapport fra arbeidsgruppe. 2010.
4. Rockstroh H. HIV 2009: Medizin Fokus Verlag; 2009.
5. Åsjø B, Ulvestad E. HIV-1-resistens mot antiretrovirale midler. *Tidsskr Nor Legeforen*. 2001;121(Nr. 29 – 30. november 2001):3421 – 4.
6. Frøland SS. 20 år med AIDS i Norge. *Tidsskr Nor Legeforen*. 2003;123(Nr. 22 – 20. november 2003):3178.
7. Jonassen TO, Stene-Johansen K, Berg ES, Hungnes O, Lindboe CF, Frøland SS, et al. Sequence analysis of HIV-1 group O from Norwegian patients infected in the 1960s. *Virology*. 1997;231(1):43-7.
8. Svendsen PK. Hivsituasjonen i Norge per 31. desember 2012 [http://www.fhi.no/artikler/?id=105228:Nasjonalt folkehelseinstitutt \(FHI\); 2012\[11.03.2013 \]](http://www.fhi.no/artikler/?id=105228:Nasjonalt_folkehelseinstitutt_(FHI);_2012[11.03.2013]).
9. WHO. Global Health Observatory (GHO) <http://www.who.int/gho/hiv/en/>; WHO; 2012 [03.10.2014].
10. Norsk forening for infeksjonsmedisin L. HIV- Faglige retningslinjer for oppfølging og behandling av hiv. In: Norsk forening for infeksjonsmedisin L, editor.: Norsk forening for infeksjonsmedisin, Legeforeningen 2014.
11. Health NIOp. RAVN 2011–12 Usage of Antivirals and the Occurrence of Antiviral Resistance in Norway. In: Health NIOp, editor.: RAVN Resistensovervåking av virus i Norge Resistance against Antivirals in Norway; 2013.
12. Blystad H. Hivinfeksjon/Aids - veileder for helsepersonell <http://www.fhi.no/artikler/?id=82756> Kapittel i Smittevernveilederen, Smittevernhåndboka: Norwegian Institute of Public Health; 2010 [updated 22.07.2014, 10:49; cited 2010 25.02.2010].
13. Buonaguro L, Tornesello ML, Buonaguro FM. Human immunodeficiency virus type 1 subtype distribution in the worldwide epidemic: pathogenetic and therapeutic implications. *Journal of virology*. 2007;81(19):10209-19.
14. Dudman SG, Stene-Johansen K, Vik ISS. Resistens ved virusinfeksjoner. *Tidsskr Nor Legeforen*. 2008;128(Nr. 22 – 20. november 2008):8597 – 600.
15. Frøland SS. Aids epidemien 25 år. *Tidsskr Nor Lægeforen* 2006;126:(Nr. 23 – 29. november 2006):3140 – 4.
16. Åsjø B, Langeland N. Medikamentell resistens ved HIV-infeksjon. *Tidsskr Nor Legeforen*. 2008;128(Nr. 22 – 20. november 2008):2593 – 6
17. Ormaasen V, Bruun JN. Antiviral behandling av kronisk HIV-infeksjon hos voksne *Tidsskr Nor Lægeforen* 2001;121(Nr. 29 – 30. november 2001):3414 – 20
18. Vercauteren J, Vandamme AM. Algorithms for the interpretation of HIV-1 genotypic drug resistance information. *Antivir Res*. 2006;71(2-3):335-42.
19. Vercauteren J, Wensing AM, van de Vijver DA, Albert J, Balotta C, Hamouda O, et al. Transmission of drug-resistant HIV-1 is stabilizing in Europe. *The Journal of infectious diseases*. 2009;200(10):1503-8.
20. Karlsson A, Bjorkman P, Bratt G, Ekvall H, Gisslen M, Sonnerborg A, et al. Low prevalence of transmitted drug resistance in patients newly diagnosed with HIV-1 infection in Sweden 2003-2010. *PLoS one*. 2012;7(3):e33484.
21. Frentz D, Boucher CA, van de Vijver DA. Temporal changes in the epidemiology of transmission of drug-resistant HIV-1 across the world. *AIDS reviews*. 2012;14(1):17-27.
22. Johnson VA, Calvez V, Gunthard HF, Paredes R, Pillay D, Shafer RW, et al. Update of the drug resistance mutations in HIV-1: March 2013. *Topics in antiviral medicine*. 2013;21(1):6-14.

VEDLEGG

APPENDIX 1 Antivirale medikamenter brukt i behandling av HIV-1- infeksjon i Norge

Proteaseinhibitorer (PI)	
	Atazanavir/r (ATV/r) *
	Darunavir/r (DRV/r) *
	Fosamprenavir/r (FPV/r)
	Indinavir/r (IDV/r)
	Lopinavir/r (LPV/r) *
	Nelfinavir (NFV)
	Saquinavir/r (SQV/r)
	Tipranavir/r (TPV/r)
	Ritonavir (RTV)
Nukleotid revers transkriptaseinhibitorer (NRTI)	
	Lamivudine (3TC) *
	Abacavir (ABC) *
	Zidovudin (AZT) *
	Stavudin (d4T)
	Didanosin (ddI)
	Emtricitabin (FTC) *
	Tenofovir (TDF) *
	Zalcitabin (ddC)
Non-nukleotid revers transkriptaseinhibitorer (NNRTI)	
	Delavirdin (DVL) *
	Efavirenz (EFV) *
	Etravirin (ETR) *
	Nevirapin (NVP) *
	Rilpivirin (RPV)
Integrasehemmere	
	Raltegravir (INT)
	Elvitegravir
	Dolutegravir
Fusjonshemmere	
	Enfuvirtid (FI)
CCR5- antagonister	
	Maravic (MVC)

Medikamenter som brukes hyppigst i Norge i dag er markert med en stjerne.

APPENDIX 2 Liste over resistensgivende mutasjoner WHO 2009

HIV-1 RT and Protease Mutations For Drug Resistance Surveillance					
NRTI		NNRTI		PI	
Position	Mutation	Position	Mutation	Position	Mutation
M41	L	L100	I	L23	I
K65	R	K101	E, P	L24	I
D67	N, G, E	K103	N,S	D30	N
T69	D, Ins	V106	M, A	V32	I
K70	R, E	V179	F	M46	I
L74	V, I	Y181	C, I, V	LI47	V, A
V75	M, T, A, S	Y188	L, H, C	G48	V, M
F77	L	G190	A, S, E	I50	V, L
Y115	F	P225	H	F53	L, Y
F116	Y	M230	L	I54	V, L, M, A, T, S
Q151	M			G73	S, T, C, A
M184	V, I			L76	V
L210	W			V82	A, T, F, S, C, M,L
T215	Y, F, I, S, C, D, V, E			N83	D
K219	Q, E, N, R			I84	V, A, C
				I85	V
				N88	D, S
				L90	M

APPENDIX 3 Eksempler på samspillet mellom resistensgivende mutasjoner hos primærsmittede pasienter i Norge 2011-12

Samspillet mellom de resistensgivende mutasjonene belyses her ved å se på noen av mutasjonene påvist hos pasienter i 2011 og 2012. En svært hyppig forekommende mutasjon blant tilfellene smittet med resistent HIV-1 er K103N. Denne er forbundet med betydelig resistens mot NNRTI Nevirapin, Delavirdin og Efavirenz, og ses hos pasient nr. 2, 4, 6, 10 og 11. T215D/E/I ses hos pasient nr. 1, 3, 9, 12 og 14, og vil ikke gi resistens i seg selv, men er overgangstyper mellom villtypen og de NRTI- resistensgivende mutasjonene Y og F. T215D/E/I kan dermed indikere at det finnes arkiverte mutasjoner i viruspopulasjonen i så lav frekvens at de ikke lar seg påvise. Ved oppstart av ART behandling anbefales andre midler enn Zidovudin for å unngå at resistente virus får et gunstig miljø og formerer seg til et detekterbart nivå. Mutasjonen Y181C er et godt eksempel på en mutasjon som kan gi sammensatt resistens og ses hos pasient nr. 5 og 13. Den gir høygradig resistens mot Nevirapin og Delavirdin, lavgradig resistens til Efavirenz, og nedsatt følsomhet og mulighet for videre resistensutvikling mot Etravirin. På den andre siden øker mutasjonen følsomheten for Zidovudin og Stavudin. L10I er en *minor resistensmutasjon* som i seg selv ikke gir restens, og som foreligger i 5-10% av ubehandlede personer. Den er imidlertid assosiert med resistens mot de fleste PI når det foreligger andre mutasjoner, som hos pasient nr. 2, 6 og 9.

Kilde: Stanfordrapporter

APPENDIX 4 Tilfeller nydiagnostisert med resistent HIV-1 i Norge 2011 og 2012

FORKORTELSER: M= mann, MSM= Menn som har sex med menn, AsS= Afrika sør for Sahara. Betydelige til høygradige mutasjoner er merket med rødt.

2011	Pasient nr.	Alder	Kjønn	Smitteland	Smittevei	Mutasjoner	Resistenstolkning	Subtype
	1	60-69	M	Norge	MSM	<u>T215E</u>	Sannsynligvis nedsatt følsomhet for NRTI	B
	2	40-49	M	Storbritannia	Heteroseksuelt	<u>K103N</u> , <u>L10I</u>	Høygradig NNRTI	B
	3	30-39	M	Norge	MSM	<u>T21D</u> , <u>L10V</u>	Arkivert NNRTI	B
	4	30-39	M	AsS	Heteroseksuelt	<u>K103N</u>	Høygradig NNRTI	CRF02_AG
	5	10-19	M	AsS	Mor-barn	<u>Y181C</u> , <u>G190</u> <u>AG</u>	Betydelig NNRTI	C
	6	30-39	M	AsS	Heteroseksuelt	<u>K103N</u> , <u>L10I</u>	Høygradig NNRTI	CRF02_AG
	7	30-39	K	AsS	Heteroseksuelt	I85V	Ikke polymorf mutasjon. Gir ikke klinisk resistens.	C

2012	Pasient nr.	Alder	Kjønn	Smitteland	Smittevei	Mutasjoner	Resistenstolkning	Subtype
	8	20-29	M	Skandinavia	Heteroseksuelt	<u>M41L</u>	Nedsatt følsomhet NRTI	B
	9	30-39	M	Norge	Sprøyter	<u>M41L</u> , <u>T215D</u> , <u>M46L</u> , <u>L101A</u> , <u>71V</u>	Lavgradig PI, moderat NRTI	B
	10	40-49	M	Sør-Amerika	Heteroseksuelt	<u>K103N</u>	Høygradig NNRTI	F
	11	10-19	M	AsS	Mor-barn	<u>K70E</u> , <u>M184V</u> , <u>K103N</u> , <u>V108I</u>	Høygradig flere NNRTI og NRTI	C
	12	20-29	K	Norge	Heteroseksuelt	<u>T215I</u>	Arkivert resistens	C
	13	30-39	K	AsS	Heteroseksuelt	<u>A62V</u> , <u>K65R</u> , <u>M184I</u> , <u>V106A</u> , <u>Y181C</u> , <u>G19</u>	Høygradig flere NRTI og NNRTI	C
	14	30-39	K	AsS	Heteroseksuelt	<u>T215I</u>	Arkivert resistens	CRF02_AG
	15	Ukjent	Ukjent	Ukjent	Ukjent	<u>Y188FL</u>	Betydelig NNRTI	G

APPENDIX 5: Hivinfeksjon meldt MSIS 1984-2013 etter diagnoseår og smittemåte

Smittemåte	Før 2008	2008	2009	2010	2011	2012	2013	Totalt	%
Heteroseksuell	1874	185	171	157	155	142	132	2806	52,2
- smittet mens bosatt i Norge	601	46	44	57	46	46	31	871	
- smittet før ankomst Norge	1273	139	127	100	109	96	92	1935	
Homoseksuell	1187	92	88	85	97	76	98	1724	31,7
Sprøytebruk	541	12	11	11	10	11	8	604	11,6
Via blod/blodprodukter	46	0	1	0	0	0	0	47	0,9
Fra mor til barn	55	4	4	1	4	7	1	76	1,5
Annen/ukjent	84	6	9	4	2	6	3	114	2,2
Totalt	3777	299	284	258	268	242	233	5371	100,0