Virologische evaluatie van behandeling van HIV-geïnfecteerden met (combinaties van) antiretrovirale middelen in het Academisch Medisch Centrum Amsterdam, 1996/'97

F.DE WOLF, J.J.DE JONG, K.HERTOGS*, S.A.DANNER, J.M.A.LANGE EN J.GOUDSMIT‡

SAMENVATTING

Doel. Eerste klinisch-virologische evaluatie van de behandeling van de HIV-infectie met HIV-'reverse'-transcriptase(RT)- en -proteaseremmers.

Opzet. Descriptief.

Plaats. Academisch Medisch Centrum bij de Universiteit van Amsterdam.

Methode. HIV-RNA-spiegels in serum of plasma van 384 patiënten die in de periode 1 januari 1996-30 april 1997 werden gevolgd, werden retrospectief over een periode van gemiddeld 3,1 jaar (uitersten: 0,5-10) geëvalueerd. Van deze patiënten werden er 318 gedurende een periode van tenminste 6 maanden ononderbroken behandeld met HIV-replicatieremmers; 94 (29,6%) patiënten waren daarvoor 'niet-voorbehandeld' met anti-HIV-middelen en 224 (70,4%) wel.

Resultaten. Van de niet-voorbehandelde patiënten werd 8,5% met een duplo-, 89,4% met een tripel- en 2,1% met een quadrupelregime behandeld. Voor hun laatste regime werden in de groep voorbehandelde patiënten gemiddeld meer dan 2 andere anti-HIV regimes ingezet en in de periode 1987-30 april 1997 werden in totaal 834 behandelingen geregistreerd: 202 mono-, 223 duplo-, 340 tripel-, 60 quadrupel- en 9 andere behandelingen. Tripelbehandeling in de niet-voorbehandelde groep was het effectiefst. Na 6 maanden werden in 84% van de niet-voorbehandelde patiënten HIV-RNA-spiegels $\leqslant$ 103 kopieën/ml gevonden tegenover 61% van de wel voorbehandelde patiënten ($p = 0{,}008$). Eerste resultaten van onderzoek naar resistentie bij 68 patiënten bij wie de behandeling onvoldoende virologisch resultaat had, toonden bij 36 (52,9%) patiënten resistentiemutaties in het HIV-RT-gen aan. Resistentiemutaties in het HIV-proteasegen werden bij 6/43 van deze patiënten (14%) aangetoond. Genotypische resistentie voor proteaseremmers kon fenotypisch niet altijd worden bevestigd.

Conclusie. Tripelcombinatiebehandeling, waarin tenminste één HIV-proteaseremmer was opgenomen, leidde in de eerste 6 maanden tot een aanzienlijke daling van de HIV-RNA-spiegels. Bij 16% van de niet-voorbehandelde en bij 39% van de voorbehandelde patiënten werd onvoldoende antiviraal effect bereikt.

Vanaf het eind van de jaren tachtig zijn verscheidene antiretrovirale middelen beschikbaar gekomen voor behandeling van de HIV-infectie. In de periode voor de reguliere verstrekking van deze middelen werden ze in Nederland sinds 1987, al of niet in combinatie, veelal in het kader van clinical trials toegediend. In eerste instantie was monobehandeling met het nucleoside-analogon zidovudine (een HIV-'reverse'-transcriptase(RT)-remmer) de standaardtherapie, vanaf 1987 bij HIV-geïnfecteerden met symptomen en vanaf 1989 ook bij geïnfecteerden zonder symptomen. Het falen van de zidovudine-monobehandeling en het beschikbaar komen van andere nucleoside-analoga-RT-remmers leidden tot het instellen van andere monobehandelingen en al snel ook tot het behandelen met combinaties van 2 RT-remmers. Het effect van monobehandeling met een RT-remmer op de virusproductie was een daling van de hoeveelheid HIV-RNA in bloed met 0,5-1,0 logeenheid. De vermindering van de productie van HIV hield evenwel niet lang aan. Vaak was, als gevolg van verminderde gevoeligheid van HIV voor de gebruikte middelen, de RNA-spiegel binnen 1 jaar na de aanvang van behandeling weer op de uitgangswaarde terug.

Het effect van de behandeling met 2 RT-remmers was beter,[1-4] maar pas met het beschikbaar komen van HIV-proteaseremmers en bij behandeling met een combinatie van RT- en proteaseremmers bleken reducties in HIV-RNA-spiegels van 1,0-2,0 logeenheden bij monoproteaseremmerbehandeling[5-9] en van 2,0-3,0 logeenheden bij combinatiebehandeling mogelijk.[10] Deze reducties werden bereikt in trials waarin veelal geïnfecteerden werden geïncludeerd die nog nooit therapie hadden gehad. Proteaseremmers werden in Nederland in trials verstrekt vanaf eind 1995 en de preparaten ritonavir, indinavir en saquinavir kwamen vanaf 1 juli 1996 voor reguliere behandeling beschikbaar. Combinatie van één van deze proteaseremmers met 2 RT-remmers werd vrijwel onmiddellijk de standaardbehandeling.[11]

In het Academisch Medisch Centrum (AMC) te Amsterdam werd monitoring van anti-HIV-behandeling ingevoerd om het effect van de behandeling met anti-HIV-middelen in de klinische situatie te kunnen bestuderen. Deze monitoring bestond uit geprotocolleerde

*Mede namens dr.R.Pauwels, research director (VIRCO, Central Virological Laboratory, Edegem, België).

‡Mede namens mw.dr.S.Jurriaans, medisch bioloog, L.Wang, biostatisticus, en dr.V.Lukashov, biofysicus (Academisch Medisch Centrum, afd. Humane Retrovirologie, Amsterdam).

Academisch Medisch Centrum, Meibergdreef 15, 1105 AZ Amsterdam.
Afd. Humane Retrovirologie, Anti-Viral Treatment Laboratory: dr.F. de Wolf en prof.dr.J.Goudsmit, medisch microbiologen; dr.J.J.de Jong, medisch bioloog.
Afd. Algemene Inwendige Geneeskunde: prof.dr.S.A.Danner en prof. dr.J.M.A.Lange, internisten.
VIRCO, Central Virological Laboratory, Edegem, België.
Dr.K.Hertogs, senior scientist.
Correspondentieadres: dr.F.de Wolf.

bepaling van HIV-RNA-serum- of -plasmaspiegels en geprotocolleerde bepaling van resistentie.[12 13] Tegelijkertijd werden virologische en klinische gegevens systematisch verzameld.

In dit artikel doen wij verslag van de resultaten van een eerste onderzoek naar het virologische effect van anti-HIV-behandeling bij een groep patiënten die in het AMC in de periode 1 januari 1996-30 april 1997 (veelal poliklinisch) werden gevolgd.

PATIËNTEN EN METHODEN

Patiënten en behandelingregimes. In de periode 1 januari 1996-30 april 1997 werden in het AMC 1296 HIV-geïnfecteerden gevolgd. Van 384 van dezen waren geautoriseerde gegevens voor analyse beschikbaar in combinatie met sequentiële gegevens over HIV-RNA-serum- of -plasmaspiegels. Deze 384 patiënten werden gemiddeld 3,1 jaar (uitersten: 0,5-10) gevolgd.

Patiënten werden onderverdeeld in 'niet-voorbehandelde' en 'voorbehandelde' patiënten: als 'niet-voorbehandeld' werden patiënten beschouwd die voor de behandeling die zij op 30 april 1997 hadden geen andere anti-HIV-behandeling hadden gekregen; als 'voorbehandeld' werden HIV-geïnfecteerden beschouwd die vooraf wel één of meer andere anti-HIV-behandelingregimes hadden ondergaan. Gegevens over de anti-HIV-behandeling in deze groep gingen terug tot 1987.

Bepaling van HIV-RNA in bloed. Kwantitatieve bepaling van HIV-RNA in serum of plasma werd uitgevoerd met behulp van de Amplicor RT-polymerasekettingreactie (RTR-PCR; Roche Molecular Systems, Branchburg, NJ, USA) bij 181 en met behulp van de NASBA HIV-1 RNA QT (NASBA-QT, Organon Teknika, Boxtel, Nederland) bij 203 van de 384 patiënten. De resultaten uit deze 2 tests verschillen nauwelijks,[13 14] met dien verstande dat de detectiegrens van de Amplicor variabel is en bij een monstergrootte van 200 µl in ons laboratorium varieert tussen 200 en 500 kopieën RNA/ml, terwijl de NASBA bij een monstergrootte van 100 µl een vaste ondergrens heeft van 10^3 kopieën RNA/ml. Daarom stelden wij de grens, waarbeneden geen betrouwbare kwantitatieve uitslag meer kon worden geproduceerd op 10^3 HIV-RNA kopieën/ml.

Bepaling van de resistentie (genotypisch/fenotypisch) van HIV voor anti-HIV-middelen.

– Genotypische resistentie. Uit 100 ml serum of plasma werd RNA geïsoleerd.[15] Met behulp van een RT-PCR werd uit het virale RNA zogenaamd 'copy'-DNA (cDNA) geproduceerd en vervolgens geamplificeerd, waarna met een tweede PCR DNA werd geproduceerd van het HIV-proteasegen en het RT-gen. Op deze manier was het mogelijk om de nucleïnezuursequentie van het proteasegen en de eerste 840 nucleotiden van het RT-gen te bepalen bij een serum- of plasma-HIV-RNA-spiegel van ten minste 10^3 kopieën/ml. Vanuit de nucleïnezuurvolgorde werd vervolgens de aminozuurvolgorde van het eiwit afgeleid, op basis waarvan kon worden bepaald of er mutaties waren die met resistentie verband hielden.[16]

– Fenotypische resistentie. Voor het bepalen van de gevoeligheid voor anti-HIV-middelen werd het uit het serum of plasma verkregen proteasegen en RT-gen na PCR-amplificatie via recombinatie geïntroduceerd in een protease-RT-deletiekloon van de laboratoriumstam HIV-1-LAI. De resulterende chimere virussen werden vervolgens in celcultuur gekweekt en de infectieuze titer werd bepaald. Vervolgens werden ze onder gestandaardiseerde condities gekweekt in aanwezigheid van verschillende concentraties van HIV-replicatieremmers; een titerafname duidde op gevoeligheid voor de remmer.

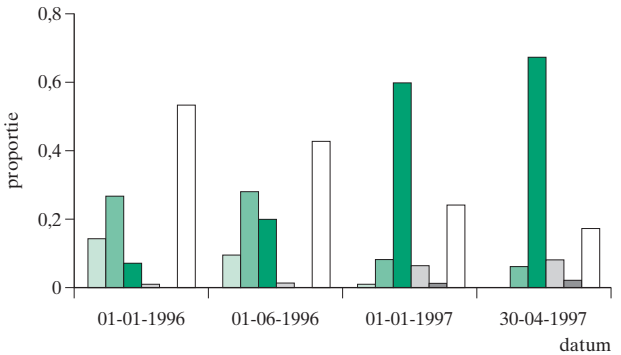
Statistische bewerking. HIV-RNA-serum- of -plasmaspiegels werden per tijdsmoment gecategoriseerd in HIV-RNA-spiegels $\leqslant 10^3$ versus $> 10^3$ RNA-kopieën/ml. Verschillen tussen behandelingen werden getest met behulp van de t-toets.

RESULTATEN

Mono-, duplo- en tripelbehandeling. Begin 1996 werden 202/384 (52,6%) patiënten niet behandeld met anti-HIV-middelen, maar het aantal onbehandelden daalde snel tot 66/384 (17,2%) per 30 april 1997 (figuur 1). Van de 182 personen die werden behandeld per 1 januari 1996, hadden 53 (29,1%) monobehandeling, 101 duplobehandeling (55,5%) en 26 (14,3%) tripelbehandeling. Twee personen (1,1%) werden behandeld met 4 middelen. Deze verhoudingen veranderden eveneens snel: per 30 april 1997 werd van de 318 patiënten er 1 (0,3%) met 1 anti-HIV-middel behandeld en werden 23 (7,2%) met 2 middelen behandeld, 257 (80,8%) met 3, 30 (9,4%) met 4 en 7 patiënten (2,2%) met meer dan 4 anti-HIV-middelen behandeld. Van de patiënten die werden behandeld met 2 middelen gebruikten 17/23 (73,9%) een combinatie van 2 RT-remmers en 6/23 (26,1%) een combinatie van een RT- plus een proteaseremmer. Bij patiënten met een tripelcombinatie bleken 2/257 (0,08%) 3 RT-remmers te gebruiken, 35/257 (13,6%) 1 RT-remmer plus 2 proteaseremmers en 220/257 (85,6%) 2 RT-remmers plus 1 proteaseremmer.

'Niet-voorbehandelde' en 'voorbehandelde' patiënten. Van de 318 patiënten die op 30 april 1997 tenminste 6 maanden ononderbroken met HIV-replicatieremmers werden behandeld, hadden 94 (29,6%) geen voorafgaande anti-HIV-behandeling gehad en 224 (70,4%) wel. Van de 94 niet-voorbehandelde patiënten werden er 8 (8,5%) gedurende gemiddeld 21 maanden (SD: 16,7) behandeld met 2 anti-HIV-middelen, 84 (89,4%) gedurende 11,7 maanden (SD: 5,5) behandeld met 3 en 2 (2,1%) gedurende 4,3 maanden (SD: 0,4) behandeld met 4 anti-HIV-middelen.

In de periode 1987-30 april 1997 werden in totaal 834 behandelingen in de groep van 224 voorbehandelde patiënten ingezet; gemiddeld dus meer dan 2 verschillende anti-HIV-regimes voor het laatste (op 30 april 1997 geregistreerde) regime. In deze groep bleken 138/224 (61,6%) monobehandeling als eerste anti-HIV-regime te hebben gehad. Duplobehandeling als eerste behandeling werd ingezet bij 56/224 (25,0%) en tripelbehandeling bij 30 (13,4%). De duur van deze eerste behande-



FIGUUR 1. Proportionele verdeling van behandeling met combinaties van antiretrovirale middelen bij 384 HIV-geïnfecteerde personen die in het Academisch Medisch Centrum onder controle waren (1 januari 1996-30 april 1997): mono- (■); duplo- (■); tripel- (■); quadrupelbehandeling (■); andere behandeling (■); geen behandeling (□).

lingen was 17 (SD: 14,7), 11,8 (SD: 7,8) en 5,3 (SD: 3,9) maanden bij respectievelijk mono-, duplo- en tripelbehandeling.

Op de eerste 224 behandelingen volgden 610 andere behandelingen: 64/610 (10,5%) mono-, 167/610 (27,4%) duplo-, 310/610 (50,8%) tripel- en 60/610 (9,8%) quadrupelbehandelingen gedurende respectievelijk 16,3 (SD: 16,4), 12,4 (SD: 10,8), 7,2 (SD: 4,1) en 5,4 (SD: 3,1) maanden. Aan duplobehandeling ging een mono-, een ander duplo- of een tripelregime vooraf en aan een tripelregime vaak een duplo- of een ander tripelregime. Dit wees erop dat in deze voorbehandelde groep een geleidelijke cumulatie in de tijd van het gebruik eerst van 1, vervolgens 2 en daarna 3 anti-HIV-middelen had plaatsgehad, maar ook dat vaak van combinatie binnen hetzelfde regime werd gewisseld.

Effect van behandeling op de hoeveelheid HIV-RNA. Het effect op de HIV-RNA-plasma- of -serumspiegels van de 202 mono-, 231 duplo- en 424 tripelbehandelingen op de HIV-RNA-plasma- of -serumspiegels werd vergeleken 3 en 6 maanden na de aanvang van de behandeling. HIV-RNA-spiegels werden onderverdeeld in $\leqslant 10^3$ versus $> 10^3$ RNA kopieën/ml. Bij het begin van de behandeling was er tussen de behandelregimes geen verschil (tabel 1) en was de gemiddelde HIV-RNA-spiegel voor alle regimes 4,24 logeenheden HIV-RNA-kopieën/ml. Op 3 maanden na de start waren de resultaten van tripelcombinatiebehandeling significant beter ($p < 0{,}0001$) dan die van duplo- of monobehandeling en waren de resultaten van duplobehandeling significant beter ($p < 0{,}0001$) dan die van monobehandeling. De verschillen na 6 maanden behandeling werden kleiner, maar bleven significant ($p < 0{,}0001$ voor mono-/duplo- versus tripel- en $p < 0{,}0001$ voor duplo- versus monobehandeling). Het percentage van de behandelregimes waarbij HIV-RNA-waarden $\leqslant 10^3$ kopieën/ml werden bereikt, steeg in de eerste 3 maanden van duplo- en triplebehandeling. Na 6 maanden behandeling werd echter het effect in beide groepen kleiner.

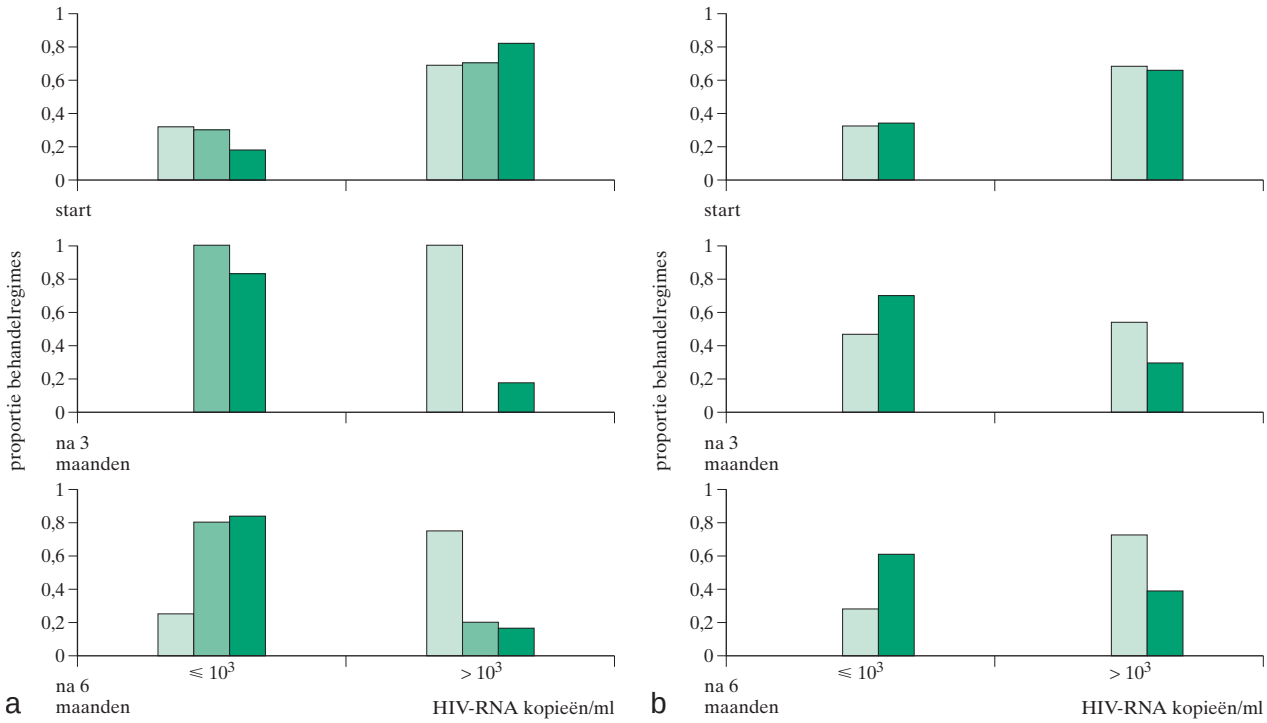
De gemiddelde HIV-RNA-spiegel bij aanvang van de behandeling was in de voorbehandelde groep 4,34 logeenheden kopieën/ml en in de niet-voorbehandelde groep 4,19 logeenheden. Wanneer eerste behandelingen (figuur 2a), van tweede en volgende behandelingen (figuur 2b) werden onderscheiden, was tripelcombinatiebehandeling in de niet-voorbehandelde groep het effectiefst. Een tripelcombinatieregime als eerste behandeling leverde 6 maanden na aanvang in 84% HIV-RNA-spiegels $\leqslant 10^3$ kopieën/ml op, terwijl een dergelijk regime als tweede of volgende behandeling in 61% tot spiegels $\leqslant 10^3$ kopieën/ml leidde ($p = 0{,}008$).

Ontwikkeling van resistentie. Bij 16 patiënten bij wie onder behandeling de HIV-RNA-spiegel $> 10^3$ kopieën/ml bleef of steeg tot waarden $> 10^3$, werd de gevoeligheid van HIV voor RT-remmers bepaald (fenotypische resistentie). Verminderde gevoeligheid werd aangetoond bij 15 patiënten, bij wie eveneens met de resistentie samenhangende mutaties in HIV-RT werden gevonden (tabel 2). Bij 11 patiënten werd tevens fenotypische resistentie tegen proteaseremmers bepaald en bij 6 werd verminderde gevoeligheid aangetoond. In HIV-protease van 2 van deze 6 patiënten werden echter geen met resistentie samenhangende mutaties gevonden.

Bij nog eens 52 patiënten bij wie de HIV-RNA-spiegel onder behandeling niet daalde of opnieuw steeg tot waarden $> 10^3$ kopieën/ml werd alleen de genotypische resistentie bepaald voor RT en bij 32 van dezen ook voor protease. De resultaten van deze genotypische resistentiebepalingen bij in totaal 68 patiënten zijn weergegeven in tabel 3. Voor aanvang van de behandeling bleek bij 2/12 voorbehandelde patiënten genotypische resistentie tegen RT-remmers aangetoond te kunnen worden. Bij alle 12 werden na start van behandeling met resistentie samenhangende mutaties in RT gevonden. Bij in totaal 56 niet-voorbehandelde patiënten werd genotypische re-

TABEL 1. Effect van 857 behandelingen met mono-, duplo- en tripelcombinaties van anti-HIV-middelen op de HIV-RNA-spiegels (verdeeld in een groep met $\leqslant 10^3$ en een met $> 10^3$ HIV-RNA kopieën/ml serum of plasma)

anti-HIV-regime	*aantal patiënten (%)*					
	start behandeling		*na 3 maanden*		*na 6 maanden*	
	$\leqslant 10^3$/ml	*$> 10^3$/ml*	*$\leqslant 10^3$/ml*	*$> 10^3$/ml*	*$\leqslant 10^3$/ml*	*$> 10^3$/ml*
monotherapie	69 (34)	133 (66)	0 (0)	202 (100)	36 (18)	166 (82)
duplotherapie	74 (32)	157 (68)	115 (50)	116 (50)	90 (39)	141 (61)
tripeltherapie	131 (31)	293 (69)	310 (73)	114 (27)	284 (67)	33 (33)



FIGUUR 2. Effect van eerste (a) en vervolgbehandelregimes (b) op de HIV-RNA-spiegels, bij met HIV geïnfecteerde patiënten bij de start en na 3 en 6 maanden mono- (□), duplo- (■) of tripelbehandeling (■) met antiretrovirale middelen.

sistentie voor RT-remmers bepaald. Voor de actuele behandeling werden bij geen van deze patiënten resistentiemutaties aangetoond, terwijl na aanvang van behandeling zich bij 24/56 genotypische resistentie tegen RT-remmers ontwikkelde. Bij 43 patiënten werden tevens resistentiemutaties in protease onderzocht. Voor behandeling bleken bij 1/12 voorbehandelde patiënten resistentiemutaties in het protease aanwezig te zijn; bij 5/12 ontwikkelde zich genotypische resistentie voor proteaseremmers. In de niet-voorbehandelde groep ontwikkelde zich bij 1/31 genotypische resistentie tegen proteaseremmers (zie tabel 3).

BESCHOUWING

Het aantal HIV-geïnfecteerde patiënten dat één of meer HIV-replicatieremmers kreeg, was vanaf 1 januari 1996 duidelijk gestegen. Bovendien was een verschuiving te zien naar behandeling met een combinatie van 2 of 3 middelen, meestal een combinatie van een RT- plus een proteaseremmer of van 2 RT-remmers plus 1 proteaseremmer. Opvallend was dat op 30 april 1997 met uitzondering van 1 patiënt geen monobehandeling meer werd gegeven. Gemeten over een periode van 6 maanden was bij de meeste patiënten sprake van een succesvolle tripelbehandeling van de infectie met 2 RT-remmers en 1 proteaseremmer. Desalniettemin werd bij 16% van de niet-voorbehandelde en bij 39% van de voorbehandelde patiënten onvoldoende antiviraal effect bereikt.

Dat onvoldoende remming van de replicatie van HIV wordt bereikt, kan het resultaat zijn van een beperkt effect van anti-HIV-middelen op cellulair niveau. Dit laatste kan het gevolg zijn van intrinsieke beperkingen van het anti-HIV-middel of de combinatie en (of) van te lage concentraties van de werkzame vorm van de middelen. Gevolg van een beperkt anti-HIV-effect is de uitgroei van HIV-stammen die minder gevoelig zijn voor de toegepaste middelen. Om er achter te komen welke factoren bij onvoldoende effect van de therapie een rol spelen, zijn bepaling van de concentratie van anti-HIV-middelen in bloed en bepaling van resistentie van HIV tegen de anti-HIV-middelen aangewezen.

Bepaling van de gevoeligheid van HIV van een patiënt voor replicatieremmende middelen in samenhang met de respons van de hoeveelheid HIV-RNA op (combinaties van) deze middelen kan van grote invloed zijn

TABEL 2. Genotypische en fenotypische resistentie van HIV-stammen aangetroffen bij 15 HIV-geïnfecteerde patiënten die met antiretrovirale middelen werden behandeld

genotypische resistentie: resistentiemutaties in	*fenotypische resistentie: verminderde gevoeligheid voor*			
	'reverse'-transcriptase-remmers		*proteaseremmers*	
	ja	*nee*	*ja*	*nee*
reverse-transcriptase				
ja	15	0		
nee	0	1		
protease				
ja			4	1
nee			2	4

op de keuze van te gebruiken middelen. Dit is al het geval bij de aanvang van behandeling bij een patiënt die nog niet eerder werd behandeld. Weliswaar is op dit moment preëxistente resistentie voor RT-remmers nog een beperkt fenomeen, het bestaat echter wel.[17-21] HIV-stammen met resistentiemutaties voor zidovudine worden overgedragen. Met het toenemen van het aantal HIV-geïnfecteerden dat wordt behandeld, zal het probleem van overdracht van resistente stammen toenemen.

Voor de bepaling van de gevoeligheid wordt een biologische test gebruikt, waarbij het RT- en het proteasegen van HIV uit een serum of plasma van een patiënt worden geïsoleerd, geamplificeerd en gerecombineerd in een laboratoriumstam van HIV. Deze chimere virussen worden onder gestandaardiseerde condities in een cellijn gekweekt in aanwezigheid van verschillende concentraties van een replicatieremmer. Uit onze eerste ervaringen bleek dat deze fenotypische resistentiebepaling normaal gesproken 3 weken vraagt, maar soms langer kan duren. Aangezien dit uiteraard een probleem is bij toepassing in de klinische praktijk wordt ook genotypische bepaling van resistentie uitgevoerd. Hierbij wordt gekeken naar met verminderde gevoeligheid samenhangende mutaties in het HIV-RT- en -proteasegen. Voor een aantal RT-remmers zijn deze mutaties inmiddels beschreven, inclusief de met de mutaties samenhangende mate van gevoeligheidsreductie.[16] Ook voor proteaseremmers is dat het geval,[16] maar het is aanmerkelijk moeilijker om veranderingen in de gevoeligheid voor proteaseremmers te correleren met mutaties in het proteasegen, vooral omdat het aantal en de frequentie van het optreden van mutaties in protease ook zonder proteaseremmers aanzienlijk zijn en aanmerkelijk groter dan in het RT-gen.

De preliminaire resultaten uit ons onderzoek omtrent genotypisch bepaalde resistentie voor en tijdens behandeling met anti-HIV-middelen laten zien dat in de niet-voorbehandelde groep, maar vooral in de voorbehandelde zich resistentie voordoet. Een eerste vergelijking van de bepaling van zowel geno- als fenotypische resistentie voor RT- en proteaseremmers in hetzelfde patiëntmonster laat zien dat voor RT-remmers een grote mate van overeenstemming bestaat tussen resistentiemutaties en biologische gevoeligheid (zie tabel 2). Dat gaat echter niet altijd op. Voor zidovudine bijvoorbeeld zijn er aanwijzingen dat ook andere dan de 5 bekende resistentiemutaties invloed hebben op de biologische gevoeligheid. De vergelijking tussen geno- en fenotypische resistentie is in het geval van de proteaseremmers ongunstig. Verminderde gevoeligheid voor proteaseremmers bleek in een aantal gevallen niet gepaard te gaan met bekende resistentiemutaties.

In de nabije toekomst zal een landelijk onderzoek moeten uitwijzen of bepaling van resistentie op geleide van veranderingen in de hoeveelheid HIV-RNA, naast de bepaling van bloedspiegels van de gebruikte middelen, zin heeft bij het maken van keuzen voor (verandering) van anti-HIV-behandeling. Vergelijking van de uitkomsten van de biologische bepaling van de gevoeligheid van HIV voor anti-HIV-middelen met die van de genotypische bepaling van met resistentie samenhangende mutaties leert ons dan welk van de twee klinisch en virologisch de bruikbaarste indicatie geeft van het uiteindelijke resistentieniveau.

Wij danken dr.P.Reiss, dr.J.K.M.Eeftinck Schattenkerk, dr. J.Prins en dr.J.van der Meer, internisten, voor hun bijdrage bij de verzameling van klinische gegevens van HIV-geïnfecteerden in het AMC en mw.E.de Rooij, mw.E.van Egmond, mw. A.van der Schoot, mw.J.Brouwer en mw.M.van Putten, analisten, voor hun bijdrage aan de kwantificering van HIV-RNA en mw.E.Baan en R.Huismans, analisten, voor hun bijdrage aan de bepaling van resistentie van HIV tegen antiretrovirale middelen. Dit onderzoek werd mede mogelijk gemaakt door een subsidie van het AMC, Amsterdam, (nummer 8384) voor de kwantitatieve HIV-RNA-bepalingen en het ministerie van Volksgezondheid, Welzijn en Sport (VEE-subsidie, nummer 94.6127).

TABEL 3. Met genotypische resistentie samenhangende mutaties in het HIV: mutaties in het protease (43 patiënten) en 'reverse'-transcriptase (68 patiënten) voor en tijdens behandeling met anti-HIV-middelen

patiënten	*genotypische resistentie (aantal gevallen/totaal aantal gemeten) in*	
	reverse-transcriptase (n = *68*)	*protease* (n = *43*)
*'niet-voorbehandeld'**		
voor behandeling	0/56	0/31
tijdens behandeling	24/56	1/31
*'voorbehandeld'**		
voor behandeling	2/12	1/12
tijdens behandeling	12/12	5/12

*'Niet-voorbehandeld' betekent dat de patiënt voor de actuele behandeling geen andere behandeling had ontvangen, 'voorbehandeld' dat de patiënt vroeger één of meer behandelregimes had ondergaan.

ABSTRACT

Virological evaluation of treatment of HIV-infected patients with (combinations of) antiretroviral drugs in the Amsterdam Academic Medical Centre, 1996/1997

Objective. First clinical virological evaluation of anti-HIV treatment with HIV reverse transcriptase (RT) and protease inhibitors.

Design. Descriptive.

Setting. Academic Medical Centre of the University of Amsterdam, the Netherlands.

Method. From January 1, 1996, until May 1, 1997, HIV-RNA levels were determined in sequential serum or plasma samples obtained sequentially of 384 patients over a period of 3.1 years on average (minimum 0.5, maximum 10 years). Of these patients 318 had sustained treatment for at least 6 months. The effect on HIV-RNA serum or plasma levels was evaluated in this particular group, of which 224 (70.4%) had been pretreated with antiretroviral drugs (experienced patients) and 94 (29.6%) had not (naive patients).

Results. Of the naive patients 8.5% were treated with a combination of two, 89.4% with three and 2.1% with four anti-HIV drugs. Preceding their current treatment, an average of more

than two other anti-HIV regimens had been administered to the experienced patients. From 1987 until May 1997 a total of 834 treatments were registered among the 224 patients: 202 mono, 223 double, 340 triple, 60 quadruple and 9 other combination treatments. After six months 84% of the triple combination treatments in the naive patients and 61% in the experienced patients resulted in RNA levels $\leqslant 10^3$ copies/ml ($p = 0.008$). Of 68 patients who failed on treatment 36 (52.9%) showed resistance associated mutations in HIV reverse transcriptase. In 6/43 (14%) of these patients resistance associated mutations in protease were found as well. Genotypic resistance could not always be confirmed phenotypically.

Conclusion. Our preliminary results indicate that in a majority of cases triple combination treatment including at least one HIV protease inhibitor was successful. Nevertheless, in 16% of the therapy-naive and 39% of the therapy-experienced patients the anti-HIV effect of treatment was insufficient.

LITERATUUR

1 Loveday C, Kaye S, Tenant-Flowers M, Semple M, Ayliffe U, Weller IVD, et al. HIV-1 RNA serum-load and resistant viral genotypes during early zidovudine therapy. Lancet 1995;345:820-4.

2 Eron JJ, Benoit SL, Jemsek J, MacArthur RD, Santara J, Quinn JB, et al. Treatment with lamivudine, zidovudine, or both in HIV-positive patients with 200 to 500 CD4+ cells per cubic millimeter. North American HIV Working Party. N Engl J Med 1995;333:1662-9.

3 Delta Coordinating Committee. Delta: a randomised double-blind controlled trial comparing combinations of zidovudine plus didanosine or zalcitabine with zidovudine alone in HIV-infected individuals. Lancet 1996;348:283-91.

4 Hammer SM, Katzenstein DA, Hughes MD, Gundacker H, Schooley RT, Haubrich RH. A trial comparing nucleoside monotherapy with combination therapy in HIV-infected adults with CD4 cell counts from 200 to 500 per cubic millimeter. AIDS Clinical Trials Group Study 175 Study Team. N Engl J Med 1996;335:1081-90.

5 Danner SA, Carr A, Leonard JM, Lehman LM, Gudiol F, Gonzales J, et al. A short-term study of the safety, pharmacokinetics, and efficacy of ritonavir, an inhibitor of HIV-1 protease. European-Australian Collaborative Ritonavir Study Group. N Engl J Med 1995;333:1528-33.

6 Markowitz M, Saag M, Powderly WG, Hurley AM, Hsu A, Valdes JM, et al. A preliminary study of ritonavir, an inhibitor of HIV-1 protease, to treat HIV-1 infection. N Engl J Med 1995;333:1534-9.

7 Vella S. Update on HIV protease inhibitors. AIDS Clinical Care 1995;7:79-88.

8 Lineberger DW, Kessler JA, Waterbury JA, Byrnes VW, Massari F, Staszewski S, et al. Turnover of circulating virion RNA and cell-associated viral DNA reflects active viral replication in human immunodeficiency virus type 1-infected individuals. J Virology 1995; 69:2637-9.

9 Kitchen VS, Skinner C, Ariyoshi K, Lane EA, Duncan IB, Burckhardt J, et al. Safety and activity of saquinavir in HIV infection. Lancet 1995;345:952-5.

10 Notermans DW, Wolf F de, Foudraine NA, Meenhorst PL, Kauffman RH, McDade H, et al. The effects of an antiretroviral combination with ritonavir, AZT and 3TC [abstract]. AIDS 1996;10:S17.

11 Borleffs JCC, Esseveld F, Hoepelman IM, Boucher CAB. AIDS; nieuwe ontwikkelingen. II. Behandeling van HIV-infectie. Ned Tijdschr Geneeskd 1997;141:1036-43.

12 Goudsmit J, Wolf F de, Miedema F, Schellekens PTA, Danner SA, Lange JMA. Richtlijnen anti-HIV behandeling en HIV-therapie monitoring protocol. Amsterdam: Academisch Medisch Centrum/Centraal Laboratorium van de Bloedtransfusiedienst, 1996:6-7.

13 Wolf F de, Goudsmit J. AIDS; nieuwe ontwikkelingen. III. Voorspellende waarde van de hoeveelheid HIV-RNA voor het beloop van de HIV-infectie en het effect van de behandeling. Ned Tijdschr Geneeskd 1997;141:1043-50.

14 Weverling GJ, Lange JMA, Jong MD de, Weerd H de, Goudsmit J, Wolf F de. A comparison of serum HIV-1 RNA levels are measured by two quantitative assays in zidovudine treated asymptomatic individuals. Antiviral Treatment 1996;1:255-63.

15 Boom R, Sol CJA, Salimans MMM, Jansen CL, Wertheim-van Dillen PME, Noordaa J van der. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. J Clin Microbiol 1990;28:495-503.

16 Shinazi RF, Larder BA, Mellors JW. Mutations in viral genes associated with drug resistance. International Antiviral News 1996;4:95-107.

17 Ronde A de, Rooij ER de, Coutinho RA, Goudsmit J. Zidovudine-resistente HIV-stammen bij intraveneuze-drugsgebruikers en homoseksuele mannen in Amsterdam. Ned Tijdschr Geneeskd 1996;140: 932-4.

18 Ronde A de, Schuurman R, Goudsmit J, Hoek AA van den, Boucher CAB. First case of new infection with zidovudine-resistant HIV-1 among prospectively studied intravenous drug users and homosexual men in Amsterdam, The Netherlands [letter]. AIDS 1996;10:231-2.

19 Erice A, Mayers DL, Strike DG, Sannerud KJ, McCutchan FE, Henry K, et al. Brief report: primary infection with zidovudine-resistant human immunodeficiency virus type 1. N Engl J Med 1993;328:1163-5.

20 Jong JJ de, Jurriaans S, Coutinho RA, Wolf F de, Goudsmit J. Zidovudine-resistente HIV-stammen bij onbehandelde intraveneuze-drugsgebruikers en homoseksuele mannen in Amsterdam, geïnfecteerd in 1996. Ned Tijdschr Geneeskd 1997;141:2030-1.

21 Wahlberg J, Fiore J, Angarano G, Uhlen M, Albert J. Apparent selection against transmission of zidovudine-resistant human immunodeficiency virus type 1 variants. J Infect Dis 1994;169:611-4.

Aanvaard op 26 november 1997

Bladvulling

De verantwoordelijkheid van den geneesheer

In Egypte was de geneesheer steeds gedekt, als hij zekere vaste regelen in de behandeling volgde, hoe het ook afliep, maar een afwijking van die regelen kostte hem het leven. De *lex Aquilia* der Romeinen bepaalde, dat de geneesheer, die den dood van een slaaf veroorzaakt had, de schade moest betalen; den dood van een vrije moest hij met het leven boeten. De Wet werd echter niet streng gehandhaafd. PLINIUS klaagt althans, dat alleen de medicus ongestraft kon dooden, wat wij ook bij de beroemde promotie door MOLIÈRE hooren zeggen: virtutem et puissanciam impune seignandi, taillandi, coupandi et occidendi impune per totam terram.

Tot de 15de eeuw was in Frankrijk in het algemeen de geneesheer alleen voor opzettelijke beschadiging strafbaar. Toch wordt van een schoone koningin verhaalt, die stervende verlangde dat haar twee dokters levend bij haar begraven zouden worden, omdat zij meende, niet goed behandeld te zijn. Een decreet van Henri II bepaalde, dat, zoo iemand door een fout van een geneesheer kwam te sterven, het geval als een gewone moord moest behandeld worden. Van boeten en berispingen in zulke gevallen wordt herhaaldelijk gewag gemaakt. Het parlement in Parijs bepaalde in 1696, dat een geneesheer *niet* verantwoordelijk is voor ongelukken, maar wel de patiënt zelve, die immers de 'vrije artsenkeus' had. Kort daarop werd door dit Parlement de bloedtransfusie en het gebruik van emetica strafbaar gesteld; later toen het bleek, dat Lodewijk XIV met zijn fabelachtigen eetlust nog al eens behoefte had aan een braakmiddel, kwam het Parlement op zijn schreden terug.

(Berichten Buitenland. Ned Tijdschr Geneeskd 1898;42I:471-2.)