

FXREPORT

zu HIV und AIDS

Ausgabe Nr. 14-15/2003 vom 12.11.2003

Impressum

Redaktion: Bernd Vielhaber
Fon: 0 30 – 62 70 48 02/ Fax: 0 30 – 62 70 48 03
email: bernd.vielhaber@snaflu.de

Lektorat: Helmut Hartl, München

Herausgeber:
Deutsche AIDS-Hilfe e.V., Armin Schafberger
Dieffenbachstraße 33, 10967 Berlin
Fon: 0 30 – 69 00 87-0/ Fax: 0 30 – 69 00 87 42
www.aidshilfe.de/ email: faxreport@dah.aidshilfe.de

BESTELLUNG / RÜCKFRAGEN

Bei technischen Problemen, Abobestellung oder –
änderung wenden Sie sich bitte an Uli Sporleder
(email: uli.sporleder@dah.aidshilfe.de)

Spendenkonto der Deutschen AIDS-Hilfe e.V.
Kto.-Nr. 220 220 220, Berliner Sparkasse, BLZ 100 500
00

WICHTIGE HINWEISE!

Die hier genannten Verfahren, Medikamente, Inhalts-
stoffe und Generika werden ohne Rücksicht auf die
bestehende Patentlage mitgeteilt. Geschützte Waren-
namen (Warenzeichen) sind nicht als solche gekenn-
zeichnet; es darf daher nicht angenommen werden,
dass es sich bei den verwendeten Bezeichnungen um
freie Warennamen handelt. Redaktion und Heraus-
geber übernehmen keinerlei Gewähr für die Richtigkeit
der Angaben und haften nicht für Schäden durch et-
waige Irrtümer. Wir raten unseren Leserinnen und Le-
sern, auf die Originaltexte und die Beipackzettel der
Herstellerfirmen zurückzugreifen. Dies gilt insbesonde-
re dann, wenn eine Substanz verschrieben werden soll,
mit der weder der behandelnde Arzt/die behandelnde
Ärztin noch der Patient/die Patientin vertraut sind.

Wir danken für die Unterstützung von:

**Bundeszentrale für gesundheitliche Aufklärung,
Abbott GmbH, Boehringer Ingelheim, Bristol-Myers
Squibb GmbH, Gilead Science, GlaxoSmithKline,
Hoffmann La Roche AG, MSD Sharp & Dohme
GmbH**

INHALT

**FTC (Emtricitabin, Handelsname
Emtriva) zugelassen 2**

**Sex, Drugs, and viral Escape – Bericht
vom XII International HIV Drug
Resistance Workshop (10. – 14. Juni
2003, Los Cabos, Mexiko) – Teil 2 2**

Wie schwer ist es, primärresistente
HIV-Stämme zu behandeln? 2

Superinfizierendes Virus verdrängt
ursprüngliches Virus 4

Kommentar der Redaktion 6

„Versteckte“ Mutanten können ein
Salvageregime scheitern lassen 6

Schwierigkeiten bei dem Ergebnissen
phänotypischer Resistenztests 8

Literatur 10



Das höchste Risiko eines virologischen Therapieversagens scheinen die Patienten zu haben, die mit einem gegen alle drei gängigen Medikamentenklassen resistenten Virus infiziert sind – wie die beiden bereits vorgestellten Fallberichte von Constance Delaugerre [14].

Die Viruspopulation, die einen Menschen zuerst infiziert, scheint homogen zu sein. Beginnt sich das Virus im neuen Wirt zu vermehren, verändert sich das. Obwohl Susan Little und andere nur eine langsame Evolution primärresistenter HIV-Stämme in Abwesenheit medikamentöser Selektionsdrucks dokumentieren konnten [10 – 14], diversifizierte selbst eine resistente Viruspopulation ohne medikamentösen Selektionsdruck. Ist ein Patient gleichzeitig mit mutierten und Wild-Typ Viren infiziert, können sich diese beiden Spezies rekombinieren. Das konnte bei einem Patienten in einer Studie aus Montreal [11] beobachtet werden. Dieser Patient hatte bis etwa ein Jahr nach seiner Infektion eine stabile Viruslast von etwa 1.000 Kopien/ml. Dann schnellte die Viruslast hoch. Die Autoren führten diesen plötzlichen Anstieg auf ein „*de Novo* Auftreten einer PI-resistenten Variante durch eine Rekombination des ursprünglich mehrfachmedikamentenresistenten Virus“ zurück.

Superinfizierendes Virus verdrängt ursprüngliches Virus

Die Verbreitung resistenter Viren ist nicht die einzige mögliche Folge zunehmenden Risikoverhaltens. Wie mehrere Arbeitsgruppen im Laufe des letzten Jahres berichteten, kann sich ein bereits HIV-Infizierter mit einem zweiten HIV-Stamm anstecken [27 – 29]. Dieser superinfizierende Stamm kann unter Umständen pathogener sein, als der ursprünglich vorhandene. Zwei Berichte auf diesem Workshop legen nahe, dass der zweite Stamm die Tendenz zu haben scheint, die initiale Spezies zu verdrängen. Beide Studien bestätigten, dass die Infektion mit einem HIV-Stamm nicht vor einer Infektion mit einem anderen HIV-Stamm schützt.

Luc Perrin (Universität Genf) untersuchte die Viren von drei i.v.-Drogengebern, die mit verschiedenen HIV-1 Subtypen koinfiziert und von zwei i.v.-Drogengebern (IVDU), die mit verschiedenen Stämmen superinfiziert waren. Er stellte fest, dass im Plasma der koinfizierten Patienten beide Subtypen persistierten – nicht jedoch im Plasma der superinfizierten Patienten [30].

Perrin hatte diese Studie begonnen, nachdem festgestellt worden war, dass die zirkulierende Rekombinante 11 von HIV-1 (Circulating Recombinant Form (CRF)-11) sich in der Schweizer Population der i.v.-Drogengebern (IVDU) ausbreitet. Er sequenzierte Viren von IVDU mit primärer HIV-Infektion und fand 26 Patienten mit Subtyp B, 11 mit CRF-11, drei koinfiziert mit Subtyp B und CRF-11 und zwei mit anderen Stämmen. Bei den Koinfizierten persistierten beide Varianten im Plasma und der „archivierten“ proviralen DNA zu den Beobachtungszeitpunkten Monate 14, 20 und 24.

Als nächstes sequenzierte Perrin Viren von 256 IVDU, die einen unerklärlichen Anstieg der Viruslast um das zehnfache oder mehr hatten. Er verglich die Sequenzen der Viren vor und nach diesem Anstieg der Viruslast und fand zwei Patienten, die ursprünglich mit HIV-1 Subtyp B infiziert waren und offensichtlich mit CRF-11 superinfiziert waren. Obwohl keiner der beiden Patienten eine antiretrovirale Therapie einnahm, lag die Viruslast bei einem der beiden über drei Jahre unter 50 Kopien/ml. und beim anderen über fünf Jahre unter 500 Kopien/ml. Die Superinfektion mit CRF-11 verursachte bei beiden ein akutes retrovirales Syndrom – die VL schoss bei dem einen auf etwa 100.000 Kopien/ml. hoch, beim anderen auf etwa 1.000.000 Kopien/ml. Ihre CD4-Werte sackten ab. Plasmaproben, die während des akuten retroviralen Syndroms und zu späteren Zeitpunkten genommen worden waren, zeigten nur CRF-11 Viren. Der Subtyp B ließ sich nur noch als provirale DNA nachweisen.

Daraus lassen sich zwei ernüchternde Schlussfolgerungen ziehen:

1. Eine Superinfektion kann die Krankheitsprogression erheblich beschleunigen.
2. Die immunologische Langzeitkontrolle eines Stammes (ohne medikamentöse Intervention) bedeutet nicht, dass das Immunsystem in der Lage ist, ebenfalls einen superinfizierenden Stamm zu kontrollieren.



Ein Fallbericht von Sarah Palmer (National Cancer Institute) scheint die Ergebnisse Perrins, wonach ein superinfizierender HIV-Stamm den ursprünglichen Stamm verdrängen kann, zu bestätigen [31]. Sie sequenzierte Viren eines Patienten aus Proben, die zu folgenden Zeitpunkten entnommen worden waren:

- Probe 1: einen Monat nach dem akuten retroviralen Syndrom (Viruslast etwa 1.000 Kopien/ml.)
- Probe 2: fünf Monate später (Viruslast etwa 10.000 Kopien/ml.)
- Probe 3: 13 Monate später (Viruslast etwa 100.000 Kopien/ml.)
- Probe 4: 17 Monate später (Viruslast etwa 500.000 Kopien/ml.)

In der Zeit zwischen der ersten und der zweiten Probe hatte der Patient ungeschützten Sex. Die erste Probe zeigte einen Stamm mit 10 NRTI- und PI-Mutationen. Keine dieser Mutationen konnte in der zweiten Probe nachgewiesen werden. Es wurde nur ein Polymorphismus des Protease-Gens (L63P) gefunden. Auch in der dritten und vierten Probe konnte nur dieser Genotyp festgestellt werden. Mit einem modifizierten Assay, das in der Lage ist, Spezies zu identifizieren, die nur einen Anteil von 0,1 % der Gesamtpopulation ausmachen, fand Palmer heraus, dass in der ersten Probe 94 % der Population eine Mutation des RT-Gens am Codon 103 hatten. In der zweiten Probe zeigten nur noch 31 % der Population die K103N-Mutation. In der dritten und vierten Probe nur noch 0,1 % der Population.

Die virale Diversität in der ersten Probe betrug 0,026 %, in der zweiten Probe 0,019 % in der dritten Probe 0,9 % und in der vierten Probe 0,18 %. Da Palmer keinen Hinweis darauf fand, dass sich der Wild-Typ (mit dem Polymorphismus) mit der ursprünglichen resistenten Population rekombinierte, schlussfolgerte sie, dass sich die Wild-Typ-Population langsam alleine diversifiziert.

Mehrere Workshopteilnehmer merkten in der Diskussion an, dass Palmer keinesfalls notwendigerweise einen Fall von Superinfektion präsentiert habe. Die Wild-Typ-Population kann eine so geringe Minorität dargestellt haben, dass sie mit den heute verfügbaren Testverfahren schlicht nicht nachzuweisen gewesen sei und über die Zeit die weniger replikationskompetente resistente Population überwachsen habe. Palmer argumentierte, dass der ungeschützte Sexualkontakt mit dem plötzlichen Anstieg der Viruslast korreliere. Aber die Quelle der Superinfektion konnte nicht eruiert werden, so dass der HIV-Stamm des vermutlichen Index-Patienten nicht analysiert und die Superinfektion nicht verifiziert werden konnte.

Auf der anderen Seite war Mark Weinberg (McGill University, Montreal) der Überzeugung, dass Superinfektionen weitaus häufiger vorkommen, als derzeit angenommen. Allerdings die superinfizierenden Stämme – anders als in Perrins und Palmers Fällen – eben nicht die initialen Stämme überwachsen und deshalb von den Standardassays nicht entdeckt würden, die minore Populationen eben nicht entdecken können.

Douglas Richman (University of California, San Diego) schloss sich dieser Argumentation an und widersprach der Schlussfolgerung von Perrin und Palmer, dass ein superinfizierender Stamm den initialen Stamm überwächst. Die überlegen virale Fitness der superinfizierenden Stämme in diesen beiden Studien ist möglicherweise die Fehlerquelle, die zu dieser Schlussfolgerung geführt hat – so Richman. Manche Patienten infizieren sich möglicherweise mit einem weniger fitten zweiten Virus, was deshalb nicht nachgewiesen werden kann. Richman merkte an, dass viele der Teilnehmer in Susan Littles Kohorte Frischinfizierter, weiterhin Sex haben, bislang aber keine Superinfektion zu Tage getreten ist. Charles Boucher (University Hospital Utrecht) bot eine weitere Erklärung an: Möglicherweise müssen die beiden Stämme im selben Wirt überhaupt nicht miteinander konkurrieren, sondern nisten sich exklusiv in Nischen ein.

Die lebhafte Auseinandersetzung nach der Präsentation dieser beiden Superinfektions-Präsentationen hat die Kontroverse nicht auflösen können – hat aber eine Sache überdeutlich werden lassen: Ob die Folgen einer Superinfektion nun schwerwiegend sind oder völlig



zu vernachlässigen – die Studien zu diesem Thema stecken noch in den Kinderschuhen und von voreiligen Schlussfolgerungen sollte Abstand genommen werden.

Kommentar der Redaktion

Einiges ist und bleibt bei den ganzen – mehr oder weniger harte nachgewiesenen – Fällen von Super- und Reinfektionen auffällig:

- Alle unstrittigen Fälle betreffen Patienten, die in der primären HIV-Infektion (teilweise noch vor der Serokonversion) diagnostiziert worden sind und anschließend antiretroviral behandelt wurden. Da aber nachweislich das Immunsystem eines so früh behandelten HIV-Infizierten sich von dem eines chronisch Infizierten (im allgemeinen definiert als länger als drei bis sechs Monate HIV-infiziert) unterscheidet, ist nicht abschätzbar, inwieweit diese Ergebnisse auf chronisch Infizierte übertragbar sind.
- Alle diese unstrittigen Fälle haben sich in der Phase einer STI superinfiziert.
- Bisher ist es nicht gelungen, eine Superinfektion bei einem chronisch HIV-Infizierten unstrittig nachzuweisen.
- Bisher ist es nicht gelungen, bei einem HIV-Infizierten, der erfolgreich eine HAART einnimmt, eine Superinfektion nachzuweisen.
- Bisher ist es nicht gelungen, im Rahmen des Nachweises einer Superinfektion die Übertragung eines medikamentenresistenten Stamms zu dokumentieren.

„Versteckte“ Mutanten können ein Salvageregime scheitern lassen

Eine nicht unerhebliche Zahl von Studien beschäftigt sich mit einer Angelegenheit, die auf den Resistenzworkshops immer und immer wieder für Diskussionen sorgt. So gut wie sie auch sein mögen, die derzeitigen Resistenztests sind nicht perfekt. Sie sind nicht in der Lage, minore Viruspopulationen, die sehr wohl eine Rolle beim Ansprechen auf die Therapie spielen können, zu detektieren oder missinterpretieren diese Populationen.

Eine nähere Betrachtung der Studie ACTG 398 ist hierfür ein gutes Beispiel [32]. John Mellors (University of Pittsburgh) beschäftigte sich mit den Ergebnissen dieser randomisierten Studie und stellte fest, dass NNRTI in der Lage sind, Resistenzmutationen zu selektieren, die von den genotypischen Standardassays nicht dargestellt werden. Diese Mutationen sind allerdings sehr wohl in der Lage, den Therapieerfolg eines späteren NNRTI-haltigen Regimes zu beeinträchtigen.

Seine Analyse umfasste 452 Patienten der ACTG 398, die Patienten mit und ohne NNRTI-Vorbehandlung randomisierte, entweder Efavirenz oder Amprenavir mit bzw. ohne einen zweiten PI einzunehmen. Mellors untersuchte, in welche Gruppen die Viruslasten anhaltend bestätigt über dem Wert von 200 Kopien/ml. lagen und kam zu überraschenden Ergebnisse:

- Patienten, die bereits mit NNRTIs vorbehandelt waren, jedoch im genotypischen Resistenztest keinerlei NNRTI-Mutationen zeigten, sprachen virologisch auf die Therapie nicht besser an, als Patienten, die *mit* NNRTI-Mutationen in die Studie eingeschleust wurden.
- Aber: von den Patienten, die bei Studienbeginn (Genotyp wurde am Tag 1 bestimmt) keine NNRTI-Mutationen zeigten, hatten die *nicht* mit NNRTIs vorbehandelten Patienten einen signifikant besseren virologischen Therapieerfolg zu den Auswertungszeitpunkten Woche 24 ($p = 0,015$) und Woche 48 ($p = 0,02$), als die bereits mit NNRTI vorbehandelten Patienten bei denen *keine* NNRTI-Mutationen festgestellt werden konnten.

Diese irritierenden Ergebnisse veranlassten Mellors zu dem Verdacht, dass die genotypischen Assays nicht in der Lage gewesen sind, bei den Patienten mit NNRTI-Vorbehandlung alle NNRTI-Mutationen zu entdecken. Wenn die Sequenzierung „versteckte“ Mutationen nicht entdeckt hat, kann davon ausgegangen werden, dass unter dem Selektionsdruck von Efavirenz diese Mutationen anfangen durchzuwachsen – was die Chance auf eine erfolgreiche Therapie zunichte macht.



Das Team der ACTG setzte zwei ultrasensitive Assays ein, um die Hypothese von Mellors zu testen. Sie verwendeten Blutproben, die vor dem Studienbeginn von zufällig ausgewählten Studienteilnehmern mit und ohne NNRTI-Vorbehandlung genommen worden sind. Das erste Verfahren (Single Genome RT-PCR and Sequencing – SGS) stellte bei 6 der 10 NNRTI-vorbehandelten aber nur bei 2 der 12 NNRTI-naiven Patienten NNRTI-Mutationen dar. Das zweite Verfahren (ein auf Hefe basierendes chimärisches Ty1/HIV-1RT Retrotransposon-System) detektierte bei 7 von 11 NNRTI-vorbehandelten aber nur bei 2 von 12 NNRTI-naiven Patienten NNRTI-Mutationen. Mittels eine Analyse der genetischen Sequenzen der neu identifizierten Mutationen bei Studienbeginn und dem Vergleich mit den genetischen Sequenzen zum Zeitpunkt des virologischen Therapieversagens, konnte Mellors bestätigen, dass bei 5 von 6 Patienten mit NNRTI-Vorbehandlung die genetischen Sequenzen identisch waren.

„Was man nicht sehen kann, kann einem schaden“, schlussfolgerte Mellors. Ein Überbewertung des Genotyps vor Beginn einer Salvage-Therapie in Kombination mit einer Unterbewertung der Therapiegeschichte scheinen kein gutes Rezept für eine erfolgreiche Salvage-Therapie zu sein, so Mellors. Ob vergleichbare Dinge auch in den anderen antiretroviralen Medikamentenklassen auftreten, fügte Mellors hinzu, ist eine wichtige aber ungeklärte Frage.

Um eine Bestätigung für Mellors Ergebnisse zu bekommen, musste man sich nur die Poster ansehen. Dort wurde eine Studie vorgestellt, die mit Hilfe eines Standardtestverfahrens bei 16 Patienten unter versagendem Nevirapin-Regime, die NNRTI-Mutation Y181C nachweisen konnte [33]. Allerdings konnte bei niemandem die NNRTI-Kreuzresistenz-Mutation K103N nachgewiesen werden. Alan Hance (Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris) stellte dar, dass Spezies mit der Y181C-Mutation üblicherweise in Zellkultur-Studien empfindlich gegenüber Efavirenz bleiben. Allerdings zeigte sich in der klinischen Praxis, dass ein überraschend hoher Anteil der mit Nevirapin vorbehandelten Patienten mit Y181C-Mutationen, nicht auf Efavirenz ansprachen. Ist es möglich, dass diese Patienten klandestine Viruspopulationen mit der K103N-Mutation haben? Offensichtlich. Untersuchungen mit einem Real-Time PCR- und einem klonalen Sequenzierungs-Assay ergaben bei 5 dieser 16 Patienten minore Viruspopulationen mit der K103N-Mutation.

Single Genome Sequencing (SGS) wurde auch bei einer Studie mit Population-based Sequencing verglichen. Hier wurden 20 Patienten mit versagender Therapie oder mit mehrfachmedikamentenresistenten Viren untersucht. Mary Kearney (National Cancer Institute) konnte zeigen, dass SGS in der Lage war, eine oder mehr Mutationen darzustellen, die die Standard-Sequenzierungsmethode bei allen 20 Patienten nicht darstellen konnte. Bei der Standardmethode werden regelmäßig Populationen „übersehen“, die nur einen Anteil von bis zu 10 – 35 % an der gesamten Viruspopulation haben. Diese Methode ist so gut wie nie in der Lage, Populationen, die einen geringeren Anteil als 10 % an der Gesamtpopulation ausmachen, nachzuweisen. Bei einem Patienten zeigte SGS 10 Mutationen die Medikamentenresistenz gegen alle Substanzklassen bedingen – die klassische Sequenzierung hat keine einzige dieser Mutationen entdeckt.

Neben der effektiven Detektion von minoren Mutanten, ist SGS exzellent in der Lage, Verbindungen zwischen Mutationen darzustellen, die eine hochgradige Resistenz bedingen. „Solche Verbindungen“, erklärte Kearney, „können von normalen Komposit-Genotyp-Assays nicht entdeckt werden.“

Wohin „verschwinden“ die minoren Mutanten, wenn sie im Plasma nicht mehr nachweisbar sind? Laut Lisa Frenkel (University of Washington, Seattle) in PBMCs – dem primären Reservoir. Sie war mit Hilfe eines Oligonucleotid Ligations Assays, oder OLA, in der Lage, dieses Reservoir genauer zu untersuchen [35]. Sie verglich – auf der Suche nach 91 „verschwundene“ Medikamentenresistenzmutationen, die im Plasma nicht mehr nachweisbar waren – OLA mit den Konsensussequenzen der Dideoxynukleotidketten-Terminatoren. OLA konnte 53,8 % davon in PBMCs entdecken – im Vergleich zu nur 23,1 %, die von der klassischen Sequenzierung entdeckt wurden.



Frenkel schlussfolgerte, dass „die Konzentrationen von medikamentenresistenten Mutanten in PBMCs höher ist, als im Plasma“, nachdem durch Umstellen der antiretroviralen Therapie der Selektionsdruck auf diese Mutanten aufgehoben wurde.

Schwierigkeiten bei dem Ergebnissen phänotypischer Resistenztests

Die Gensequenzierung war nicht das einzige Resistenztestverfahren, das in das Kreuzfeuer des Workshops geriet. Auch die phänotypischen Testverfahren hatten einige bange Momente zu durchleben, als zwei Arbeitsgruppen sich näher mit ihnen beschäftigten.

Hongmei Mo und Kollegen von Abbott untersuchten die Auswirkungen von Wild-Typ-Viren auf die FC (fold change) und die RC (replication capacity) mutierter Viren in Single-Cycle HIV phänotypischen Resistenzassays – mit anderen Worten: auf die Veränderung der Suszeptibilität des mutierten Virus auf Medikamente (FC) und die Replikationskapazität des mutierten Virus (RC) [36]. Diese phänotypischen Standardassays messen die FC, indem sie aus Plasma von Patienten gewonnene virale DNA auf Zielzellen auftragen. Werden verschiedene Virusvarianten zusammen aufgetragen – oder ko-transfiziert – können sie sich in einer Art und Weise vermischen, die die Testergebnisse beeinflusst, so Mo.

Was würde geschehen, fragte sich Mo, wenn minore Populationen von Wild-Typ-Viren zusammen mit einer majoren mutierten Population Zellkulturen ko-transfizieren? Das würde passieren, wenn ein Patient seine Therapie lange genug abgesetzt hat, so dass sich Wild-Typ-Viren gegen mutierte Varianten durchsetzen können. Ein ähnliches Phänomen würde man bei einer unzureichenden Adhärenz erwarten. Um den Effekt verschiedener Mutanten/Wild-Typ-Viren-Mischungen zu überprüfen, markierte Mo mutierte Klone mit dem Luziferase-Gen des Leuchtkäfers und Wild-Typ-Klone mit dem Luziferase-Gen der Renilla.

Mo konstruierte 11 Mutanten aus Virusisolaten von mit PIs vorbehandelten Patienten, die eine oder zwei primäre PI-Mutationen und zahlreiche sekundäre Mutationen hatten. Das erste, das sie herausfand, war, dass die Mischung dieser Klone eine eindeutige Auswirkung auf die Replikationskapazität der Mutanten hatte. Vier dieser konstruierten Mutanten vermischten sich nicht mit dem Wild-Typ und hatten eine Replikationskapazität, die im Vergleich zum Wild-Typ bei 5 % lag. Als sie eine Mischung aus 91 % Mutanten und 9 % Wild-Typ herstellte, stieg die Replikationskapazität der Mutanten um den Faktor 18 – 33. Erhöhte sie den Anteil der Wild-Typ-Viren in der Mischung auf 33 %, lag die Replikationskapazität um das 564-fache höher, als in einer Mischung, die ausschließlich aus Mutanten bestand. Bestand die Mischung zu gleichen Teilen aus Mutanten und Wild-Typ (50 : 50), lag die Replikationskapazität um das 690-fache über der des Ausgangsexperiments.

Mo verwendete die anderen sieben konstruierten Mutanten, um die Auswirkungen des Wild-Typs auf die Veränderung der Suszeptibilität zu untersuchen. Das Transfizieren von Zellkulturen ausschließlich mit mutierten Viren erhöhte – im Vergleich zum Wild-Typ – die inhibitorische Konzentration (IC_{50}) von Lopinavir um den Faktor 21,2 bis 276,9. Die Suszeptibilität erhöhte sich kontinuierlich, wenn Mo Mischungen mit einem Anteil von 9 %, 33 % und 50 % Wild-Typ-Viren untersuchte. Beispielsweise zeigte ein Klon in einer 100 %ig reinen mutierten Population eine Erhöhung der FC um das 54,5-fache. Sie sank auf das 24,4-fache ab, stieg der Anteil von Wild-Typ-Viren in der Population auf 9 %, auf das 5,0-fache bei einem Anteil von 33 % Wild-Typ und auf das 3,0-fache bei einem Anteil von 50 % Wild-Typ in der Gesamtpopulation. Mit anderen Worten: Sind Wild-Typ-Viren in der Population, sehen gegen Lopinavir resistente Viren suszeptibel aus. Ein behandelnder Arzt, der auf der Basis solcher phänotypischen Resistenztestergebnisse Lopinavir verschreibt, wird unter Umständen wenig zufrieden stellende Ergebnisse erzielen.

„Auf Grund der einzigartigen Ko-Transfektion in phänotypischen Assays“, schlussfolgerte Mo, „können selbst geringe Anteile an Wild-Typ-Viren in der viralen Gesamtpopulation die Replikationskapazität und die Veränderung der Suszeptibilität der mutierten Viren signifikant beeinflussen.“