

# Resistencias a los antirretrovirales

**Carlos Briones,  
Oscar Gallego,  
Vicente Soriano**

Servicio de  
Enfermedades  
Infecciosas,  
Hospital Carlos III,  
Instituto de Salud  
Carlos III, Madrid

El concepto de *resistencia* engloba todo el conjunto de mecanismos que un microorganismo patógeno (virus, bacteria o parásito) puede desarrollar con el fin de evadir la presión ejercida por los fármacos suministrados al paciente infectado. El resultado es una pérdida total o parcial de la actividad del medicamento. A continuación se revisan los mecanismos de resistencia del VIH a los fármacos antirretrovirales.

Al igual que otros virus con genoma de RNA, el VIH presenta una gran variabilidad genética debido fundamentalmente a que la transcriptasa inversa (RT), enzima clave en la replicación del material genético viral, carece de actividad exonucleasa 3'→5' correctora de errores, a diferencia de las ADN-polimerasas-ADN-dependientes que existen en las células<sup>1</sup>. Por otra parte, la tasa de replicación del VIH es extraordinaria, del orden de 10<sup>10</sup> partículas nuevas cada día<sup>2</sup>. El resultado de ambos fenómenos es que en un determinado momento pueden existir en cada sujeto infectado todas y cada una de las posibles variantes del virus, lo que se conoce como estructura genética de *cuasiespecie*. Entre el espectro de mutantes presentes de manera natural en un sujeto infectado se encuentran aquéllos que causan resistencia a los fármacos antivirales, y su proporción respecto al total de la población viral (del orden de 10<sup>12</sup> partículas víricas en cada sujeto infectado) dependerá del grado relativo de eficiencia biológica (*"fitness"*) que cada variante tenga en ese ambiente y momento concretos. Cuando se administra un fármaco tiene lugar la selección de la variante con una menor susceptibilidad al mismo, que podrá llegar a constituirse como población mayoritaria en el hospedador si se mantiene la misma pauta terapéutica. Se estima que genomas de VIH con mutaciones de resistencia a un solo fármaco están representados en un 0,1-1% de la población viral en cada sujeto infectado que no recibe tratamiento, mientras que los genomas con mutaciones de resistencia a 2 fármacos son, lógicamente, mucho menos frecuentes<sup>3</sup>. La presencia de genomas virales con mutaciones de resistencia a 3 ó más fármacos es aún más improbable, y por ello la terapia triple es la que logra una supresión más completa y prolongada de la replicación viral. La evasión a su efectividad sólo ocurre cuando la inhibición de la replicación viral no es total y se permite que el virus tenga ocasión de multiplicarse activamente en presencia de la combinación de fármacos, con lo que podrá seleccionar y acumular en un único genoma las mutaciones que le permiten ser viable y, a la vez, resistente a todas las drogas administradas.

## Terapia antirretroviral

A lo largo de los últimos 4 años, el arsenal terapéutico frente al VIH se ha ampliado considerablemente. Además de estar disponibles nuevas moléculas, pertenecientes a distintas familias y con una mayor potencia intrínseca, su efectividad cuando se utilizan en combinación ha mejorado sustancialmente el pronóstico de las personas infectadas por el VIH. En la tabla 1 se muestra las características principales de los fármacos antirretrovirales utilizados en la actualidad, que son activos frente a la RT o la proteasa viral. Las pautas terapéuticas empleadas generalmente consisten en la combinación de al menos tres fármacos, de los cuales dos son inhibidores de la RT análogos de nucleósido (NRTI) y el tercero es un nucleósido (NNRTI) o bien un inhibidor de la proteasa (IP). Las distintas combinaciones posibles de estos regímenes terapéuticos se engloban dentro de la denominación HAART (*highly active antiretroviral therapy*) y han demostrado producir un beneficio virológico e inmunológico profundo y mantenido en aproximadamente dos tercios de los pacientes<sup>4,5</sup>.

A pesar del arsenal terapéutico disponible, la infección por VIH no es erradicable por el momento en los portadores y el fracaso terapéutico ocurre más o menos tardíamente en la mayoría de pacientes. Entre las causas que pueden conducir al fracaso terapéutico se encuentran:

1. Mal cumplimiento del tratamiento por parte del paciente (p.e., olvido de tomas, dosis incorrectas, horario inadecuado)<sup>6</sup>
2. Insuficiente potencia antiviral intrínseca de la combinación de drogas<sup>4</sup>
3. Absorción insuficiente del fármaco o combinación (p. e., por malabsorción, diarrea, toma de ddl con las comidas o de RTV en ayunas, etc)<sup>7</sup>

Correspondencia:  
Dr. Vicenç Soriano  
Calle Rafael Calvo 7, 2º A  
28010 Madrid  
Tel. 914532500  
Fax. 917336614  
Email:vsoriano@dragonet.es

INHIDORES DE LA TRANSCRIPTASA INVERSA				INHIBIDORES DE LA PROTEASA
NUCLEÓSIDOS		NO NUCLEÓSIDOS	NUCLEÓTIDOS	
Análogos de timidina	Otros			
AZT D4T	DDI DDC 3TC ABC	NVP EFV	Adefovir Tenofovir	SQV IDV RTV NFV APV

**AZT:** Zidovudina  
**D4T:** Estavudina  
**DDI:** Didanosina  
**DDC:** Zalcitabina

**3TC:** Lamivudina  
**ABC:** Abacavir  
**NVP:** Nevirapina  
**EFV:** Efavirenz

**SQV:** Saquinavir  
**IDV:** Indinavir  
**RTV:** Ritonavir  
**NFV:** Nelfinavir  
**APV:** Amprenavir

Tabla 1.  
Clasificación de los fármacos antirretrovirales.

- Interacciones farmacocinéticas (p. e., por la toma de rifampicina con la mayoría de IP)<sup>7</sup>
- Activación farmacológica inadecuada (p. e., en la fosforilación intracelular de los análogos de nucleósido)
- Replicación viral en compartimentos “santuario”<sup>8</sup>
- Resistencias<sup>9,10</sup>.

En este contexto, una vez excluidas las demás causas de fracaso se precisan parámetros que permitan reconocer precozmente cuándo empieza a fallar la medicación en uso debido a la selección de virus resistentes. Las pruebas de detección de resistencias han sido utilizadas en algunos estudios clínicos y han demostrado la correlación que existe entre la presencia de mutaciones de resistencia y la pérdida de la eficacia antiviral. Sin embargo, sólo recientemente se ha subrayado su valor predictivo de respuesta a la medicación antiviral y su papel como marcador precoz de fracaso terapéutico, aún antes de que ocurra una elevación de la carga viral<sup>10-12</sup>.

## Tipos de resistencias

Las resistencias a los fármacos antirretrovirales pueden clasificarse en:

### Resistencias fenotípicas

Se reconocen *in vitro* por la necesidad de una mayor concentración del fármaco para inhibir a la mi-

tad (IC<sub>50</sub>) o en un 90% (IC<sub>90</sub>) el grado de crecimiento del virus en un cultivo celular. Son el resultado directo de la adquisición de resistencias genotípicas en la población viral predominante.

### Resistencias genotípicas

Son mutaciones (u otros cambios genéticos como inserciones o deleciones) en regiones del genoma del virus que codifican proteínas clave (RT o proteasa), de modo que modifican el lugar de unión del fármaco. La pérdida de sensibilidad de alto grado al antirretroviral puede requerir una mutación (p.e., M184V para 3TC o Y181C para NVP) o varias (p.e., I82V+V32I+E34K+M36I+A71V para IDV) en su molécula diana. Los fármacos pueden clasificarse así en dos tipos: de “*barrera genética baja*” o “*barrera genética alta*”, en función de que pertenezcan al primero o segundo de los grupos anteriores. Generalmente, el tiempo que tarda en desarrollarse la resistencia es proporcional al número de mutaciones requeridas para ello. En cualquier caso, la aparición de resistencias genotípicas siempre precede a las fenotípicas.

### Resistencias celulares

Engloban los mecanismos desencadenados en la célula hospedadora (linfocitos CD4+ o macrófagos) como respuesta a la exposición a fármacos antirretrovirales. Por ejemplo, se ha detectado que tras la administración de AZT se produce un fenómeno de contrarregulación (“down-regulation”) de la timidín-quinasa celular responsable de su acti-

vación a la forma trifosfato, lo que condiciona que el d4T sea menos efectivo en pacientes pretratados con AZT. También se ha descrito que tras la exposición prolongada a fármacos se inducen transportadores de membrana (como la glicoproteína P) que actúan extrayendo los IP de la célula<sup>13,14</sup>.

### Resistencias naturales

Son las resistencias genotípicas presentes en cepas virales de sujetos que no han estado nunca expuestos a los antivirales. Por ejemplo, el VIH-1 grupo O y el VIH-2 son naturalmente resistentes a no nucleósidos (p.e., nevirapina o efavirenz).

### Resistencias primarias

Son las presentes en un paciente no tratado, probablemente por adquisición de la infección por VIH a partir de cepas víricas resistentes. La transmisión de virus resistentes parece haber aumentado en los últimos años<sup>15,16</sup>.

### Resistencias secundarias

Son las que aparecen en la población viral de un paciente como consecuencia de la exposición a fármacos antirretrovirales, generalmente en situación de fracaso virológico.

## Tipos de mutaciones de resistencia

Los cambios genéticos que dan lugar a las resistencias genotípicas pueden clasificarse en:

### Mutaciones primarias

Son las que se seleccionan inicialmente como respuesta a la administración de un fármaco y son responsables directas de la pérdida de sensibilidad al mismo. Generalmente son específicas de cada antirretroviral (tabla 2) y suelen aparecer pronto tras la presión selectiva ejercida por el mismo. Habitualmente condicionan una desventaja cinética a la enzima viral, por lo que el VIH pierde eficiencia biológica o *fitness* al fijar las mutaciones primarias.

### Mutaciones secundarias (o compensatorias)

Son las que selecciona el virus para recuperar parte del *fitness* perdido como consecuencia de la adquisición de mutaciones primarias. De esta forma, tras un fracaso virológico prolongado con un fármaco, algunas cepas virales acumulan nuevas mutaciones que restauran la capacidad replicativa del virus mutante.

### Mutaciones de resistencia cruzada

En ocasiones, las mutaciones generadas como respuesta al tratamiento con un fármaco confieren pérdida de sensibilidad a otros de la misma familia. En algunos casos, la resistencia cruzada se debe a que las mutaciones primarias son las mismas; por ejemplo, la mutación en la posición 82 de la proteasa condiciona resistencia a IDV y RTV, o la mutación M184V en la RT confiere resistencia de alto grado al 3TC y de bajo grado al ddI y ddC. Otras veces, la inespecificidad de las mutaciones secundarias (fundamentalmente para los IP) es responsable de que se superponga cierto grado de resistencia entre los fármacos de la misma familia. Una situación especial es la del d4T, ya que en un 10-15% de ocasiones produce mutaciones clásicamente vinculadas a AZT (p.e., en los codones 215, 41, 70) que producen resistencia a zidovudina pero que apenas comprometen la eficacia del d4T<sup>17</sup>.

Inhibidores de la RT	Mutaciones primarias
Nucleósidos:	
AZT	M41L,T215Y
DDI	L74V
DDC	T69D/N
3TC	M184V
D4T	V75T ?
ABC	M184V
Nucleótidos:	
Adefovir	K70E, K65R, T69D
Tenofovir	
No Nucleósidos:	
NVP	Y181C, K103N/R
EFV	
Inhibidores de la proteasa	
SQV	G48V,L90M
RTV	V82F/A/S/T
IDV	M46I,V82A/F/T/I
NFV	D30N,L90M
APV	I50V

Tabla 2.  
Mutaciones primarias de resistencia a los antirretrovirales.

**Análogos de nucleósidos (NRTI)**

Mutación	Pérdida de sensibilidad (aumento del valor de IC <sub>50</sub> )						
	AZT	ddl	ddC	d4T	3TC	ABC	ADV
M41L	ATG→ <b>ITG</b>	4	< 2	-	< 2	-	-
K65R	AAA→ <b>AGA</b>	-	7	7	-	-	16
T69D	ACT→ <b>GAT</b>	-	3	5	-	-	-
K70R	AAA→ <b>AGA</b>	-*	-	-	-	-	-
K70E	AAA→ <b>GAA</b>	-	-	-	-	-	9
L74V**	TTA→ <b>GTA</b>	-	8	8	-	4	-
V75T	GTA→ <b>ACA</b>	-	4	5	7	-	-
Q151M	CAG→ <b>ATG</b>	10	5	5	-	-	-
P157S	CCG→ <b>ICG</b>	-3	-	-	-	5	↑3
M184V **	ATG→ <b>GTG</b>	-2	4	4	-	>100	↑3
M184I **	ATG→ <b>ATA</b>	-	-	-	-	X	-
T215Y	ACC→ <b>TAC</b>	-*	-	-	< 2	-	-
T215F	ACC→ <b>TTC</b>	-*	-	-	-	2	-
<b>M41L+T215Y</b>		60-70	-	-	-	-	-
M41L+K67N+K70R+T215Y		180	-	-	-	-	-
E44D±V118I		-	-	-	-	5-15	-
A62V+V75I+F77L+F116Y+Q151M		190	50	20	>10	6	-
K67N+K70R+T215Y+K219Q		120	-	-	-	-	-
T69SSX+T215Y		140	11	17	3	20	-
M184V+R211K, con F214		X	-	-	-	X	-
G333E + otras mutaciones		30-600	-	-	-	>100	-

**No nucleósidos (NNRTI)**

Mutación	Pérdida de sensibilidad (aumento del valor de IC <sub>50</sub> )		
	NVP	EFV	DLV
A98G	<b>GCA→GGA</b>	X	-
L100I **	<b>TTA→ATA</b>	X	10-20
K101E	<b>AAA→GAA</b>	-	10
K103N	<b>AAA→AAC</b>	20	17-67
K103T	<b>AAA→ACA</b>	-	-
V106A	<b>GTA→GCA</b>	100	-
<b>V108I</b>	<b>GTA→ATA</b>	X	2
Y181C **	<b>TAT→TGT</b>	100-1000	4
Y181I	<b>TAT→AIT</b>	100	-
Y188C	<b>TAT→TGT</b>	X	-
Y188L	<b>TAT→TTA</b>	-	1000
G190A	<b>GGA→GCA</b>	X	-
<b>G190S</b>	<b>GGA→AGC</b>	-	100
<b>P225H</b>	<b>CCT→CAT</b>	-	X
<b>P236L</b>	<b>CCT→CIT</b>	10	-
<b>L100I+K103N</b>		-	4000
<b>L100I+V108I</b>		-	1000
L100I+V179D+Y181C		-	1000
<b>K103N+V108I</b>		-	100
<b>I135T/V±L283V</b>		2,5-7	-

Tabla 3.  
Pérdida de sensibilidad a los antirretrovirales en pacientes con diferentes genotipos resistentes (continúa)

Inhibidores de la proteasa (IP)		Pérdida de sensibilidad (aumento del valor de IC <sub>50</sub> )			
Mutación		SQV	RTV	IDV	NFV
R8Q	<b>CGA→CAA</b>	4	-	-	-
<b>D30N</b>	<b>GAT→AAT</b>	-	-	-	9*
M46I	<b>ATG→ATA</b>	-	-	.*	-
<b>M46L</b>	<b>ATG→ITG</b>	-	-	.*	-
<b>G48V</b>	<b>GGG→GIG</b>	3-8*	-	-	3
V82F	<b>GTC→ITC</b>	-	5*	3*	2
V82A	<b>GTC→GCC</b>	-	2*	.*	2
V82S	<b>GTC→ICC</b>	-	6*	-	-
V82T	<b>GTC→ACC</b>	-	3*	.*	3
V82I	<b>GTC→ATC</b>	-	-	.*	-
I84V	<b>ATA→GTA</b>	-	10	5	5
L90M	<b>TTG→ATG</b>	3*	-	-	5
<b>L10I+M46I+I54V+L63P+A71V+V82A+I84V</b>		3	294	34	-
L10R+M46I+L63P+V82T+I84V		8	-	8	-
K20R+M36I+I54V+V82A		-	41	-	-
K20R+M36I+I54V+A71V+V82T		-	28	-	-
D30N+A71V		-	-	-	7
V32I+E34K+M36I+A71V+I82V		9	260	76	-
V32I+M46L+A71V+V82A		-	-	14	-
L33F+I54V+L63P+V82F		-	56	19	-
E35D+M36I+I54V+A71V+V82T		-	17	8	3
M46L+I54V+V82A		-	-	10	-
M46I+L63P+A71V+I84V		-	-	-	30
M46I+L63P+A71V+V82F+I84V		-	27	-	-
<b>M46I+I84V</b>		-	9	-	5
G48V+L90M		>100	-	-	-
G48V+I54V+L90M		>50	-	-	-
G48V+I84V+L90M		>30	-	30	-
G48V+I54V+A71T+V82A		18	-	13	-
G48V+A71T+V82A		9	-	12	-
I54V+M46I		-	9	-	-
I54V+V82T		-	9	5	3
V82F+I84V		-	10	-	-

Tabla 3.  
Pérdida de sensibilidad a los antirretrovirales en pacientes con diferentes genotipos resistentes (continuación)

- Mutación no descrita para ese inhibidor  
X Mutación descrita para ese inhibidor, pero grado de resistencia no medido  
- \* Mutación primaria que nunca aparece aisladamente  
\*\* Puede suprimir el efecto de las mutaciones de resistencia a AZT  
- Aumento de sensibilidad a ese inhibidor

### Mutaciones antagónicas

Son las que revierten la pérdida de sensibilidad que produce otra mutación; por ejemplo, la mutación L74V de resistencia al ddI revierte parcialmente la sensibilidad fenotípica a zidovudina, perdida por la adquisición previa de la mutación T215Y.

### Mutaciones de resistencia a terapias combinadas

Son las que disminuyen simultáneamente la sensibilidad a varios de los fármacos administrados en una combinación, y que son diferentes de las mutaciones específicas para cada uno de ellos. Es el caso de la mutación G333E en el gen de la RT, que confiere resistencia simultánea a AZT y 3TC.

### Mutaciones de multiresistencia

Son las alteraciones genéticas que por sí mismas confieren pérdida de sensibilidad a todos los fármacos de una misma familia. Hasta el momento se han descrito tres mecanismos de multiresistencia a NRTI:

1. Mutación Q151M junto con otras en las posiciones 62, 75, 77 y 116 de la RT: presenta una prevalencia de aproximadamente un 2%

en sujetos pretratados, y confiere resistencia a AZT, ddI, ddC, d4T y en menor grado a 3TC<sup>18,19</sup>;

2. Inserción de dos aminoácidos (generalmente serinas) entre las posiciones 69 y 70 de la RT: muestra una prevalencia del 1% y en combinación con la mutación T215Y confiere resistencia a todos los NRTI<sup>20,21</sup>;
3. Fijación gradual en la cepa viral predominante de mutaciones individuales de resistencia a los distintos fármacos utilizados<sup>22</sup>.

En la tabla 3 se muestra un listado de las mutaciones individuales o combinadas que confieren resistencia a los inhibidores del VIH, junto con el grado de resistencia fenotípica producida por cada una de ellas.

### Pruebas de resistencias

Los métodos disponibles en la actualidad para el diagnóstico de resistencias a los antirretrovirales son de dos tipos: genotípicos y fenotípicos. Los primeros examinan en la población viral la presencia de las mutaciones que han demostrado producir resistencia (p.e., L74V para ddI, Y181C/I para NVP, D30N para NFV), mientras que las pruebas fenotípicas analizan el grado de sensibilidad a un fármaco en un cultivo celular. En la tabla 4 se

Tipo de Técnica	Base Metodológica	Nombre Comercial	Distribuidor
<b>Análisis Genotípicos</b>			
Genotipo PR y RT	Secuenciación	HIV Genotyping Systems Kit TruGene HIV-1 Resistance Kit VircoGen GeneSeq HIV	P.E. BIOSYSTEMS VISIBLE GENETICS VIRCO VIROLOGIC Inc.
Secuencia en posiciones concretas PR y RT	Sondas de Hibridación	Inno-LIPA HIV key nucleosides Inno-LIPA HIV Key NNRTIs Inno-LIPA HIV Key multidrug resistance Inno-LIPA HIV Key PIs	INNOGENETICS
<b>Análisis Fenotípicos</b>			
Fenotipo PR y/o RT	Recombinant Virus Assay	Antivirogram	VIRCO
	Recombinant Virus Assay	Pheno Sense HIV	VIROLOGIC Inc
	Determinación IC <sub>50</sub> o IC <sub>90</sub>	Sensibilidad en cultivo	( no comercial )
	Medida actividad RT en plasma	Amp-RT	( no comercial )

Tabla 4.  
Pruebas de detección de resistencias.

Tabla 5.  
Respuesta virológica  
en terapias  
de rescate diseñadas  
en función de los resultados  
de los tests de resistencias.

Estudio	Diseño	Primer fracaso con IPs	Carga viral (logs) semana 16	Carga viral <400 cop/ml, semana 16
VIRADAPT	Genotipo vs Estándar	40%	-1.04 vs -0.46	29% vs 14%
GART	Genotipo vs Estándar + Consejo de expertos	50%	-1.19 vs -0.61	34% vs 22%
VIRA 3001	Fenotipo vs Estándar	100%	-1.27 vs -0.75	38% vs 23%

muestra un listado de las principales técnicas genotípicas y fenotípicas disponibles en la actualidad.

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se utiliza en todas las técnicas genotípicas, aunque a partir del producto amplificado existen varias estrategias diferentes para identificar la población mutante:

1. La hibridación con sondas específicas que discriminan los virus *wild type* de los que presentan mutaciones de resistencia primarias (p.e. la técnica de LiPA, Innogene-tics®);
2. La utilización de *chips* de hibridación múltiple, que pueden cubrir únicamente las posiciones implicadas en resistencia o bien la totalidad de los genes bajo estudio (p.e. la prueba de Affimetrix®);
3. La secuenciación automática (p.e. mediante los kits y equipos de Perkin-Elmer® o de Visible Genetics®)
4. El empleo de cebadores alternativos en la PCR interna, de forma que la hibridación específica de uno u otro permita discriminar genomas *wild type* o con diferentes mutaciones puntuales (técnica denominada *PMA, point mutation assay*)<sup>19</sup>.

En cualquier caso, salvo que se analicen clones por separado, no es posible saber si la presencia de varias mutaciones coexiste en un mismo genoma o si éstas aparecen en el material genético de virus distintos. Por otra parte, una limitación común a todas las técnicas genotípicas es su baja sensibilidad, ya que mediante “nested PCR” no es posible obtener una cantidad de material genético suficiente si la carga viral plasmática de partida es inferior a 500-2000 copias RNA-VIH/ml<sup>23</sup>. Por tanto, para el reconocimiento de resistencias en fracasos virológicos tempranos se hace necesario el desa-

rollo de métodos más eficientes de extracción y amplificación del material genético viral, que permitan el análisis de resistencias en sujetos con cargas virales reducidas<sup>12,13,24</sup>. Una última limitación de las pruebas genotípicas es que el número de las posiciones implicadas en resistencia a cada fármaco puede incrementarse a lo largo del tiempo, a medida que nuevos estudios generan información adicional<sup>25</sup>.

La determinación de resistencias fenotípicas puede hacerse a partir del aislamiento de virus del paciente en un co-cultivo con linfocitos de donante o en una línea linfóide de laboratorio (se emplean generalmente las líneas de linfocitos T MT2 o MT4). Estas técnicas presentan los inconvenientes derivados de la necesidad de realizar un cultivo viral: el tiempo requerido para la obtención de resultados (6-8 semanas), su elevado coste económico y la importante variabilidad de los resultados en función de la línea celular empleada. Para resolver estas limitaciones, se ha desarrollado una prueba que utiliza virus recombinantes (*RVA, recombinant virus assay*)<sup>26</sup>, obtenidos tras extraer del plasma del paciente el fragmento genético de la RT y/o de la PR, e integrarlo en un genoma viral defectivo en esas regiones del gen *pol*. El resultado es un virus estándar excepto en la región *pol*, que procede del paciente estudiado. Esto permite obtener resultados más rápidamente (en torno a 3 semanas) y obvia los problemas de las técnicas de cultivo celular. Actualmente están disponibles dos pruebas comerciales: Antivirogram™ (Virco) y PhenoSense™ (ViroLogic®), que utilizan el principio del RVA para examinar resistencias fenotípicas a los antirretrovirales.

Dado que la aparición de resistencias genotípicas a un fármaco generalmente precede a las fenotípicas y que, además, los métodos genotípicos son más baratos y rápidos (1 sema-

na frente a 4-6 semanas) que los fenotípicos, en la actualidad resulta más adecuado el empleo del primer grupo de técnicas. No obstante, hasta la fecha no se ha llevado a cabo ningún estudio que haya concluido qué tipo de método de determinación de resistencias es el más adecuado en cada caso. Es más, de los 3 estudios prospectivos<sup>27-29</sup> que han demostrado el beneficio clínico de las pruebas de resistencia en el diseño de las terapias de rescate, la respuesta virológica fue similar utilizando técnicas genotípicas o fenotípicas (tabla 5).

En cuanto a la capacidad para detectar poblaciones resistentes minoritarias dentro de la cuasi-especie viral, la técnica más sensible es PMA, con la que es posible detectar mutantes incluso si aparecen en una proporción de tan sólo el 10%. A continuación figuran las técnicas de LiPA (sensibilidad del 10-20%), secuenciación (20-30%) y las técnicas fenotípicas (10-50%). En cualquier caso, los métodos genotípicos y fenotípicos ofrecen información complementaria sobre la resistencia de un aislado viral, y mediante el análisis comparativo de secuencias y fenotipos se está construyendo una base de datos muy exhaustiva con la que ya es posible inferir el "fenotipo virtual" a partir del genotipo (VircoGEN, Virco®).

## Examen de resistencias en la práctica clínica

En el momento actual, las pruebas de detección de resistencias han alcanzado un desarrollo tecnológico suficiente como para ser introducidas en la práctica clínica. Diversos estudios retrospectivos han correlacionado una mejor evolución virológica e inmunológica con la ausencia de variantes resistentes<sup>10,11</sup>. Además, tres estudios prospectivos han servido para confirmar el valor adicional que la determinación de resistencias proporciona en el mejor manejo de los pacientes VIH+: el estudio VIRADAPT, el CPCRA 046 y el VIRA 3001. En el primero<sup>27</sup>, un grupo de médicos franceses que diseñaron la pauta terapéutica en función del conocimiento previo del perfil de resistencias genotípicas de sus pacientes obtuvieron una mejor tasa de respuesta virológica que aquéllos que sólo se guiaron por su experiencia, la carga viral y la cifra de linfocitos CD4+. En el estudio CPCRA 046<sup>28</sup>, la proporción de sujetos VIH+ que alcanzó carga viral indetectable fue el doble en el grupo atendido por médicos que tuvieron conocimiento del

perfil de resistencias genotípicas respecto al tratado con una terapia de rescate basada únicamente en criterios clínicos. En el único estudio prospectivo basado en el fenotipo, el VIRA 3001, la respuesta virológica a la terapia de rescate fue también superior en los sujetos tratados en función del fenotipo de resistencias (tabla 5)<sup>29</sup>.

El empleo generalizado de medicación antirretroviral en los países desarrollados ha producido un aumento de la prevalencia de resistencias primarias durante los últimos años, oscilando en la actualidad entre el 5% y el 20% para NRTI, y el 2%-5% para NNRTI y/o IP<sup>9,10,24,30-33</sup>.

A pesar de que aún no se han establecido unas recomendaciones internacionales, cada vez parece más evidente que existen ciertas situaciones en las que la determinación de resistencias puede ser particularmente útil. En una reunión de consenso española<sup>24</sup> se han establecido algunas indicaciones. En primer lugar, en sujetos "naive" sería recomendable en los siguientes casos

1. En la infección primaria por VIH
2. En casos de seroconversión reciente, es decir, ocurrida dentro de los dos últimos años
3. En mujeres cuya seropositividad se conoce durante el embarazo
4. Tras una exposición de alto riesgo, ya sea en forma de accidente laboral en el ámbito sanitario con sangre de pacientes infectados, o tras un contacto sexual con una persona seropositiva.

En pacientes pretratados, la detección de resistencias puede ser útil fundamentalmente en las siguientes situaciones<sup>24</sup>

1. Selección de una pauta alternativa, tras uno o dos fracasos terapéuticos
2. Diseño de combinaciones de rescate en pacientes multitratados
3. Investigación de la existencia de cepas multiresistentes
4. En mujeres gestantes VIH+ con carga viral detectable, con el fin de seleccionar la mejor pauta para prevenir la transmisión vertical
5. Para los casos en que la respuesta virológica inicial no es satisfactoria, en sujetos con buen cumplimiento
6. Como marcador precoz de fracaso virológico, antes de que se produzca un rebrote de la carga viral. En sujetos pretratados sin evidencia de fracaso terapéutico, es decir, con viremia

indetectable o aumento sostenido de linfocitos CD4+, por el momento no está justificada la investigación de resistencias, aunque la detección de mutaciones rápidamente emergentes (p.e., la M184V característica del 3TC) podría ser utilizada para realizar una sustitución selectiva y precoz de estas moléculas, manteniendo el resto de los fármacos de la combinación<sup>34</sup>.

En cualquier caso, la introducción del análisis de resistencias en la práctica clínica debe ir acompañado de algunas medidas, entre las que destacan

1. Se precisan estudios de coste-efectividad de los análisis de resistencias
2. Se requiere una mayor formación de los médicos en el campo de la genética y las resistencias, y una mayor colaboración entre clínicos y básicos
3. Los resultados que el virólogo ofrece al clínico han de ser inteligibles para éste, señalando los fármacos que, en función del patrón de resistencias, no son recomendables
4. Deben existir laboratorios de referencia sometidos a los debidos controles de calidad, que puedan confirmar los resultados o asesorar sobre los casos más complejos
5. Se precisan estudios periódicos de vigilancia epidemiológica, que examinen la prevalencia de resistencias primarias en las distintas poblaciones de sujetos VIH+.

## Bibliografía

1. Soriano V, Domingo E. Importancia clínica de la variabilidad genética del VIH. *Med Clin (Barc)* 1996;107:460-3.
2. Coffin JM. HIV population dynamics in vivo: implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy. *Science* 1995;267:483-9.
3. Nájera I, Holguín A, Quiñones-Mateu M, et al. Pol gene sequences quasispecies of HIV: mutations associated with drug resistance in virus from patients undergoing no drug therapy. *J Virol* 1995;69:23-31.
4. Carpenter c, Cooper D, Fischl M, et al. Antiretroviral therapy in adults. *JAMA* 2000;283:381-90.
5. Telenti A, Muñoz M, Bleiber G, Ledergerber B, Kaufmann D. Heterogeneity in the response to antiretroviral therapy. *AIDS Reviews* 1999;1:147-55.
6. Rodríguez-Rosado R, Jiménez-Nácher I, Soriano V, Antón P, González-Lahoz J. Virological failure and adherence to antiretroviral therapy in HIV-infected patients. *AIDS* 1998; 12:1112-3.
7. Jiménez-Nacher I, Soriano V. Interactions of antiretroviral drugs. *AIDS Reviews* 1999;1:116-23.
8. Pialoux G, Fournier S, Moulignier J, Poveda J, Clavel F, Dupont B. Central nervous system as a sanctuary for HIV-1 infection despite treatment with zidovudine, lamivudine and indinavir. *AIDS* 1997; 11:1302-3.
9. Hirsch M, Conway B, D'Aquila R. Antiretroviral drug resistance testing in adults with HIV infection. *JAMA* 1998;279:1984-91.
10. Rodríguez-Rosado R, Briones C, Soriano V. Introduction of HIV drug resistance testing in clinical practice. *AIDS* 1999;13:1007-14.
11. Lorenzi P, Opravil M, Hirschel B. Impact of drug resistance mutations on virologic response to salvage therapy. *AIDS* 1999;13:F17-F21.
12. Parkin NT, Lie YS, Hellmann H. Phenotypic changes in drug susceptibility with failure of HIV-1 triple combination therapy. *J Infect Dis* 1999;180:865-70.
13. Friedland A, Paibir S, Srinivas M. Involvement of an active efflux pump in the cellular resistance of antiretroviral nucleoside analogs. *Antiviral Res* 1998;37:40-3.
14. Lee C, Gottesman M, Cardarellir C. HIV-1 protease inhibitors are substrates for the MDR1 multidrug transporter. *Biochemistry* 1998;37:3594-601.
15. Hecht F, Grant R, Petropoulos C, et al. Sexual transmission of an HIV-1 variant resistant to multiple RT and protease inhibitors. *N Engl J Med* 1998;339:341-3.
16. Pérez-Olmeda M, Rubio A, Puig T, et al. Primary resistance to antiretroviral drugs in Spain. *J Med Virol* (en prensa)
17. De Mendoza C, Soriano V, Briones C. Emergence of zidovudine-associated mutations in patients treated with stavudine. *J AIDS*, (en prensa).
18. Schmit J, Cogniaux J, Hermans P. Multiple drug resistance to nucleoside analogues and nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors in an efficiently replicating HIV-1 patient strain. *J Infect Dis* 1996;174:962-8.
19. Villalba N, Gómez-Cano M, Holguín A, Soriano V. Multiple drug resistance genotype causing failure of antiretroviral treatment in an HIV-infected patient heavily exposed to nucleoside analogues. *Eur J Clin Microbiol* 1999;18:372-375.
20. Winters M, Coolley K, Girard Y. A 6-basepair insert in the RT gene of HIV-1 confers resistance to multiple nucleoside inhibitors. *J Clin Invest* 1998;102:1769-75.
21. Briones C, Mas A, Pérez-Olmeda M, Altisent C, Domingo E, Soriano V. Prevalence and genetic heterogeneity of the RT T69SSX insertion in pretreated HIV-infected patients. *AIDS* (en prensa).

22. Shafer R, Winters M, Palmer S, Merigan T. Multiple concurrent reverse transcriptase and protease mutations and multidrug resistance of HIV-1 isolates from heavily treated patients, *Ann Intern Med* 1998;128:906-11.
23. Gómez-Cano M, Rubio A, Ruiz L, Leal, Clotet B, Soriano V. Efficiency of drug resistance genotypic tests in specimens with low viral load. *Antiviral Therapy* 1999;4:123-4.
24. Ledesma E, Soriano V, on behalf of the HIV Drug Resistance Spanish Panel. Spanish consensus conference on drug resistance testing in clinical practice. *AIDS* 1999;13:1998-2001
25. Schinazi R, Larder B, Mellors J. Mutations in retroviral genes associated with drug resistance: 1999-2000 update. *Int Antiviral News* 1999;7:46-69.
26. Hertogs K, de Bethune M, Miller V. A rapid method for the simultaneous detection of phenotypic resistance to inhibitors of protease and RT in recombinant HIV-1 isolates from patients treated with antiretroviral drugs. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:269-76.
27. Durant J, Clevenbergh P, Halfon P. Drug-resistance genotyping in HIV-1 therapy: the VIRADAPT randomised trial. *Lancet* 1999;353:2195-9.
28. Baxter J, Mayers D, Wentworth D. Final results of CPCRA 046: a pilot study of antiretroviral management based on plasma genotypic antiretroviral resistance testing (GART) in patients failing antiretroviral therapy. 3<sup>rd</sup> Workshop on HIV Drug Resistance, San Diego 1999 [Abstract 61].
29. Cohen C, Hunt S, Sension M, *et al.* Phenotypic resistance testing significantly improves response to therapy: a randomized trial (VIRA 3001). 7<sup>th</sup> CROI, San Francisco 2000 [Abstract 237].
30. Gómez-Cano M, Rubio A, Puig T, *et al.* Prevalence of genotypic resistance to nucleoside analogues in antiretroviral-naive and antiretroviral-experienced HIV-infected patients in Spain. *AIDS* 1998;12: 1015-20.
31. Yerly S, Kaiser L, Race E, *et al.* Transmission of antiretroviral drug resistance HIV-1 variants. *Lancet* 1999;354:729-33.
32. Little S, Daar E, D'Aquila R, *et al.* Reduced antiretroviral drug susceptibility among patients with primary HIV infection. *JAMA* 1999;282:1142-9.
33. Boden D, Hurley A, Zhang L, *et al.* HIV-1 drug resistance in newly infected individuals. *JAMA* 1999;282:1135-41.
34. Havlir D, Hellmann N, Petropoulos C, *et al.* Drug susceptibility in HIV infection after viral rebound in patients receiving indinavir-containing regimens. *JAMA* 2000; 283:229-234.

## **XIV Jornadas Estatales sobre Drogodependencia. Cruz Roja Española**

**Barcelona, 6 - 8 Noviembre 2000**

Se celebrará en el Centre de Cultura Contemporània de Barcelona.

Para más información pueden contactar con la Secretaría de Organización:

RCT, Reuniones y Congresos Técnicos, s.l.

Aulèstia i Pijoan, 12 baixos - 08012 Barcelona

Tel.: 93 415 69 38 - Fax: 93 415 69 04

E-mail: [rct@rct-congresos.com](mailto:rct@rct-congresos.com)