

Posters
Antivirales

Poster AV-1

Adherencia a células bucales epiteliales de *Candida albicans* ATCC 10231 pretratada con ritonavir

L. Lucio, M.T. Blanco, J.J. Morales, C. Hurtado, C. Pérez-Giraldo y J. Blanco

Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina y Hospital Infanta Cristina, Badajoz

La adherencia de *Candida albicans* es un mecanismo patogénico condicionado por factores tales como filamentación y producción de aspartil proteinasas (Aps).

El objeto de este estudio es comprobar si la presencia de ritonavir, inhibidor de la proteasa del VIH, afecta a alguno de dichos parámetros y consecuentemente a la capacidad de adherencia. Para ello se valoró el efecto de la preincubación de *C. albicans* ATCC 10231 con ritonavir (24h) sobre la adherencia a células bucales epiteliales (CBE) por el método de Kimura y Pearsall.

Se realizó el estudio en tres medios diferentes, en los que se produce diferente grado de filamentación: RPMI-1640 suplementado con 2% de glucosa, el medio YCB-BSA (nitrógeno limitante que induce la producción de APs y en el medio YPD, a los que se añadió 8mg/L de ritonavir. Una suspensión de las levaduras en PBS (10^7) se incubó durante 1 hora a 37°C con una suspensión de CBE (10^5). Se valoró el número de unidades microbianas (UM) unidas a 100 CBE, así como el porcentaje de CBE que tenían UM adheridas. Se contaron sólo las CBE aisladas, y se consideró como unidad microbiana a la levadura y a la forma filamentosa.

Los resultados obtenidos se exponen en la siguiente Tabla

	Filament.	UM en 100 CBE		% CBE con UM adheridas	
		Control	+Ritonavir	Control	+Ritonavir
RPMI-1640	+++	405±51	223±91*	88±16	68±16*
YCB-BSA	++	132±67	88±49	50±10	42±13
YPD	+/-	48±28	55±50	27±13	32±24

* P<0.05; Experiencias realizadas por triplicado.

Se constató una disminución significativa ($p<0.05$) de la adherencia a CBE en presencia de ritonavir en el medio RPMI-1640. Ritonavir también inhibió la actividad de APs en el medio nitrógeno limitante, quedando en el control 80 mg/L de BSA, frente a 500 mg/L en presencia de ritonavir. Se observó que la presencia de filamentos, en base al medio utilizado, incrementa la capacidad de adherencia en mayor grado, dando resultados altamente significativos ($P<0,01$).

Poster AV-2

Evaluación de las resistencias genotípicas a antirretrovirales de VIH en enfermos con fracaso terapéutico

S. García-Bujalance¹, C. Ladrón de Guevara¹, J. González², J.R. Arribas² y A. Gutiérrez Altés¹

¹Servicio de Microbiología y Parasitología, ²Servicio de Medicina Interna, Hospital Universitario La Paz, Madrid

Objetivos: Analizar la frecuencia de mutaciones detectadas en el gen de la transcriptasa reversa (RT) y de la proteasa (PR) que confieren resistencia a los inhibidores de la transcriptasa inversa tanto análogos (ITIAN) como no análogos de los nucleósidos (ITINN), así como a los inhibidores de la proteasa (IP) y los patrones de resistencia genotípica y fármacos más afectados dentro de cada grupo.

Material y métodos: Se realiza el estudio de resistencias genotípicas del VIH a 97 enfermos tratados y con fracaso terapéutico-viroológico (CV >1000 cop/ml) procedentes de la Consulta de VIH. La detección de las mutaciones de resistencia se realizó mediante secuenciación de la PR y RT del VIH-1 empleando el sistema de TRUGENE™ HIV-1 Genotyping System (Visible Genetics, Canadá). En cuanto a la pauta de tratamiento, todos recibían al menos 2 fármacos ITIAN, el 26,8% recibía algún ITINN y el 79% algún IP.

Resultados: La prevalencia de mutaciones asociadas a R para los ITIAN fue 70,1% a 184V, 52,5% a 215Y/F, 36% a 41L, 31,9% a 67N, 28,8% a 70E/R, 27,8% a 210W, 23,7% a 118I, 22,6% a 219Q/E, 10,3% a 74V, 6,1% a 75T/M/S/A y 4,1% a 65R. En un caso se detectó el complejo de mutirresistencia Q151M. Ningún caso del complejo-inserción del 69SXX. La prevalencia a ITINN fue 24,7% a 103N, 10,3% a 181C, 11,3% a 190A y 22,6% a 101Q/E entre otras. La prevalencia a IP fue 46,3% 90M, 32% 46I/L, 27,8% 82T/F/A/S, 19,5% 30N y 10,3% la 84V. El 75% de los enfermos presentaban R a algún ITIAN y el 58% a algún IP. Cerca del 20% eran resistentes a todos los ITIAN y el 15% a todos los IP. El 88% de los que tomaban algún no análogo presentaba resistencia cruzada a todos los ITINN. El 92% de los que tomaban lamivudina eran resistentes a ella. Se detectaron 5 virus multirresistentes a todos los fármacos.

Por tanto la resistencia genotípica a 3TC, AZT, ddI, ABC, d4T y TNF fue del 72, 59, 44, 42, 35 y 28% respectivamente; a NVR, DLV y EFV del 32, 31 y 31% y situándose en 94, 91 y 88%, bajo presión farmacológica; para NLF, SAQ, RIT, IND, AMP y LOP/R del 72, 47, 42, 41, 32 y 13% respectivamente.

Conclusiones:

- 1) Encontramos una alta tasa de resistencia para lamivudina y AZT, fármacos utilizados históricamente, observándose un mejor comportamiento para estavudina y tenofovir.
- 2) En situación de fracaso terapéutico-viroológico y bajo una presión farmacológica se generan altos niveles de resistencia a lamivudina e ITINN por ser fármacos de barrera genética baja.
- 3) La alta frecuencia de las mutaciones 90M y 46I/L en relación con los IP, plantea problemas de resistencia cruzada ya conocidos. La prevalencia de 30N, mutación específica para nelfinavir, es más baja. El nelfinavir es el IP más empleado y frente al que encontramos la mayor tasa de resistencia (72%).
- 4) Se detectaron un 5% de VIH-1 resistente a todos los fármacos analizados. La transmisión y el tratamiento de variantes VIH-1 resistentes puede plantear una grave amenaza en la terapia antirretroviral.

Poster AV-3

Comparación en la práctica asistencial de dos regímenes clásicos de triple terapia antirretroviral

J.M. Eiros, M. Ortega, R. Ortiz de Lejarazu, M. Moreno, J. Castrodeza y A. Rodríguez Torres

Hospital Clínico Universitario y Facultad de Medicina, Valladolid

Introducción y objetivos: La implantación de la terapia antirretroviral de alta eficacia es una realidad consolidada que permite evaluar su implantación en la práctica clínica asistencial. El objetivo de la presente contribución es comparar la evolución temporal de los parámetros de carga viral (CV) y CD4 en dos cohortes de pacientes VIH tratados con dos regímenes clásicos de terapia antirretroviral.

Material y métodos: Estudio retrospectivo, observacional, y descriptivo del porcentaje de pacientes que alcanzaron cargas virales no detectables y el tiempo que tardaron en lograrlo. Las cohortes fueron: 91 pacientes tratados con zidovudina, lamivudina e indinavir (Cohorte A) versus 80 pacientes tratados con estavudina, didanosina e indinavir (Cohorte B).

Resultados: La evolución de los pacientes fue similar en cuanto al porcentaje de los mismos que alcanzaron CV “no detectables” (75,8% en la cohorte A y 73,8% en la cohorte B) a lo largo del tiempo de seguimiento (cuatro años). El tiempo medio transcurrido hasta alcanzar el referido “éxito” fue diferente, 209 días (IC95%: 175-243 días) en el caso del régimen A y 330 días (IC95%: 263-396 días) para el régimen B. El estado inmunológico en el momento de su primera CV “no detectable” de los pacientes que recibían zidovudina, lamivudina e indinavir se encontraba significativamente más conservado que en el otro grupo (83,1 frente a 65,4% para cifras de linfocitos CD4/mm³ superiores a 200, respectivamente; p = 0.032).

Conclusiones: En nuestro estudio si bien la eficiencia de ambas combinaciones terapéuticas resultó equiparable en cuanto a la similitud del porcentaje de individuos que alcanzaron viremias “no detectables” a lo largo del tiempo de seguimiento, aquéllos tratados con zidovudina, lamivudina e indinavir lo lograron antes.

Poster AV-4

Prevalencia de diferentes mutaciones en los genes de la transcriptasa inversa y proteasa del VIH-1 en pacientes multitratados en la región de Murcia

M.C. Martínez Toldos, G. Yagüe Guirao, A. Blanco Mollá, T. Rodríguez González y M. Segovia Hernández

Servicio de Microbiología, Hospital Morales Meseguer, Murcia

Objetivo: Conocer la prevalencia de diferentes mutaciones presentes en las regiones del genoma del VIH que codifican para la transcriptasa inversa (TI) y proteasa (P) en pacientes con infección del virus VIH con fracaso terapéutico a los antirretrovirales de uso más común.

Pacientes y métodos: Se han estudiado un total de 190 muestras de plasma correspondientes a 190 pacientes infectados por el VIH multitratados (inhibidores de la TI análogos de nucleosidos y no nucleosidos, e inhibidores de la P) y con fracaso terapéutico atendidos en distintos centros sanitarios de la región de Murcia. Se realizó la extracción del RNA vírico (Amplicor HIV Roche Diagnostic). Seguidamente se efectuó una RT PCR de amplificación y una PCR de secuenciación (*TruGene HIV-1 Genotyping System*[®], *Visible Genetics*).

Resultados: La distribución de las mutaciones detectadas en las regiones tanto de la transcriptasa inversa como en la proteasa del virus se muestran en la Tabla:

Mutaciones en TI	T215V	M184V	M41L	L210W	D67N	K103N	V118I	K70E	G190E
%	56,3	46,4	36,8	32,1	33,7	30	22,1	17,9	16,8
Mutaciones en P	L63P	L10I	A71V	M36I	L90M	V82A	M46I	D30N	G48V
%	59	36,8	36,3	34,7	27,3	22	20,5	10	1,05

Un 15,2% (29/190) de los pacientes presentaron mutaciones únicamente en uno de los genes, 18 en el gen de la TI (9,5%) y 11 en el gen de la P (5,8%). De los 18 pacientes con mutaciones en el gen de la RT 10 estaban en tratamiento con inhibidores de la proteasa.

Conclusiones: Las mutaciones más frecuentemente halladas fueron en los codones 215,184 y 41 de la transcriptasa inversa y en el 63,10 y 71 para la proteasa. Al igual que en otros trabajos se describen estos codones como los implicados en importantes grados de resistencia sobre todo al 215 para la zidovudina y al 184 para la lamivudina.