

Original

Prevalencia de la resistencia genotípica a los fármacos antirretrovirales en pacientes VIH positivos en la provincia de Cuenca

M.J. Rodríguez-Escudero¹, E. Prada de Medio², C. Rosa Herranz³, M.C. Martínez Medina² y R. Franquelo Gutiérrez²

¹Unidad de Microbiología (Servicio de Análisis Clínicos), ²Servicio de Análisis Clínicos,
³Servicio de Medicina Interna-Unidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital Virgen de la Luz, Cuenca

RESUMEN

Los objetivos del estudio fueron determinar la prevalencia de la resistencia a los fármacos antirretrovirales en pacientes VIH positivos en la provincia de Cuenca y describir las resistencias primarias observadas con más frecuencia. Se analizaron en total 79 muestras remitidas desde abril de 2000 a julio de 2004. Las resistencias se detectaron utilizando la técnica genotípica VERSANTTM HIV1 (LiPA). Las mutaciones que más se detectaron fueron M184V para la región de la transcriptasa inversa y V82A para la región de la proteasa. La prevalencia de las resistencias primarias fue del 39,4%. Las mutaciones más observadas son similares a las detectadas por otros autores. El porcentaje de pacientes con resistencias primarias es superior a lo hallado por otros autores en España.

Palabras clave: VIH - Resistencia - Mutaciones

Prevalence of antiretroviral drug genotypic resistance among HIV patients in Cuenca, Spain

SUMMARY

The aims were to assess the prevalence of resistances to antiretroviral drugs in HIV patients in the province of Cuenca and to determine the most frequently detected primary resistances. A total of 79 samples collected from April 2000 to July 2004 were analyzed. Resistance was detected using the genotypic technique VERSANTTM HIV1 (LiPA). Mutations more frequently found were M184V in the reverse transcriptase gene and V82A in the protease gene. The prevalence of primary resistances was 39.4%. Mutations more frequently detected were similar to those reported by other authors. The rate of primary resistance was higher than those found by other authors in Spain.

Key words: HIV - Resistance - Mutations

INTRODUCCIÓN

El tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA), introducido para la infección por VIH en 1996, ha reducido la mortalidad en los pacientes infectados por este virus y la progresión a sida (1). La aparición de cepas con mutaciones que confieren resistencia a los fármacos anti-retrovirales, junto con la falta de cumplimiento del tratamiento, son causas frecuentes del fracaso terapéutico (2). La detección de estas variantes resistentes nos puede permitir correlacionar el fracaso terapéutico con los fármacos administrados y tratar de optimizar la terapia.

Los objetivos de este estudio fueron determinar la prevalencia de resistencias del VIH a los inhibidores de la proteasa y a los inhibidores de la transcriptasa inversa en nuestro medio, y describir las resistencias primarias en pacientes VIH *naïve*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudiaron muestras de 79 pacientes VIH positivos remitidas a la Unidad de Biología Molecular del Hospital Virgen de la Luz de Cuenca desde abril de 2000 a julio de 2004. Las muestras de plasma fueron separadas en un plazo menor de cuatro horas desde su extracción y se conservaron en alícuotas a -80°C . La carga viral se determinó mediante el sistema *Amplacor HIV Monitor* (Roche Molecular Systems, Branchburg, New Jersey, USA). El aislamiento del RNA viral del plasma se hizo por filtración en columna usando el sistema *SV Total RNA Isolation System* (Promega Corporation, Madison, Wisconsin, USA). La amplificación del RNA extraído y las pruebas de resistencia se realizaron con el sistema comercial *Line Probe Assay* (LiPA) (*VERSANTTM HIV1 RT* y *VERSANTTM HIV1 Protease*, Bayer Corporation, Tarrytown, New York, USA).

El LiPA se basa en una hibridación de la muestra post-PCR sobre tiras de nitrocelulosa que tienen fijadas sondas de oligonucleótidos específicos. Permite la detección de virus mutantes o *wild-type* para los codones 41, 69, 70, 74, 75, 103, 106, 151, 181, 184 y 215 del gen de la transcriptasa inversa (LiPA RT), y de los codones 30, 46, 48, 50, 54, 82, 84 y 90 del gen de la proteasa (LiPA P). Las mutaciones en estas posiciones se asocian con resistencia a los inhibidores de la transcriptasa inversa y a los inhibidores de la proteasa, respectivamente.

Se hizo un estudio descriptivo en términos de porcentaje con el programa estadístico SPSS para Windows, versión 12.0.

RESULTADOS

De los 79 pacientes estudiados, 56 eran hombres (70,9%) y 23 mujeres (29,1%). En términos de carga viral, 22 tenían ≥ 100.000 copias RNA/ml (27,8%) y 57 tenían valores < 100.000 (72,2%). En cuanto al recuento de CD4, en 21 pacientes era < 200 CD4/mm³ (26,6%), en 28 estaba entre 200 y 400 CD4/mm³ (35,4%), en 27 era > 400 CD4/mm³ (34,2%) y en tres no se había determinado (3,8%).

Del total de pacientes, 36 (45,56%) eran *wild type* para los codones estudiados de la transcriptasa inversa y de la proteasa, y 43 (54,44%) presentaron alguna mutación en alguna de las dos regiones. Las mutaciones detectadas en la región de la proteasa y en la región de la transcriptasa inversa se recogen en la Tabla 1.

De las 79 muestras estudiadas, 33 pertenecían a pacientes *naïve*. De ellos, 20 fueron *wild type* para los codones estudiados (60,6%) y 13 presentaron mutaciones en las regiones de la transcriptasa inversa o de la proteasa (39,4%) (Tabla 2).

Tabla 1

Mutaciones detectadas en la región de la transcriptasa inversa			Mutaciones detectadas en la región de la proteasa					
Mutación	Número	%	Mutaciones primarias			Mutaciones secundarias		
			Mutación	Número	%	Mutación	Número	%
M184V	17	36,17	V82A	17	29,31	I54V	9	15,52
T215Y	7	14,9	L90M	7	12,07	I54A	4	6,9
M41L	6	12,77	M46I	7	12,07			
K70R	6	12,77	I84V	6	10,34			
M184I	4	8,51	G48V	3	5,17			
K103N	3	6,38	I50V	2	3,45			
T69D	2	4,26	D30N	2	3,45			
Y181C	1	2,12	V82T	1	1,72			
T215F	1	2,12						

Tabla 2. Resistencias primarias a los antirretrovirales. Mutaciones encontradas.

Pacientes	Mutaciones	
	Región de la transcriptasa inversa	Región de la proteasa
1	K103N, T69D	
2	M184V	
3		V82A, I84V
4		I54V
5	M184V, M184I	
6		V82A, I84V
7		V82A, I84V
8		M46I, I50V, V82A
9	M184V	M46I, V82A, I54V
10		I54V, M46I, V82A, V82T
11		V82A
12		I54V
13	K103N	

DISCUSIÓN

En la región de la transcriptasa inversa, la mutación que apareció con más frecuencia fue M184V (36,17%), seguida de T215Y (14,89%). A continuación siguieron M41L (12,77%) y K70R (12,77%). M184V consiste en la sustitución de metionina por valina en la posición 184 de la transcriptasa inversa y es la principal mutación que confiere resistencia a la lamivudina, y de alto grado. Cuando se administra lamivudina en monoterapia la mutación se selecciona en pocas semanas (3), y cuando se usa como parte de un régimen de TARGA esta mutación es casi siempre la primera en aparecer (4). Las mutaciones T215Y, M41L y K70R forman parte del grupo conocido como TAM (*thymidine analogue mutations*). Las mutaciones de este grupo se seleccionan con más frecuencia cuando falla la terapia con combinaciones de fármacos que incluyen análogos de la timidina, como la zidovudina y la estavudina, pero pueden provocar resistencia a casi todos los análogos de nucleótidos y nucleósidos, incluyendo el tenofovir (5).

En cuanto a las mutaciones que aparecen en los enfermos tratados con inhibidores de la transcriptasa inversa no nucleósidos, la más frecuentemente observada fue K103N (6,38%), que produce una resistencia entre 20 y 50 veces a todos los inhibidores de la transcriptasa inversa no nucleósidos disponibles (6).

En la región de la proteasa, la mutación primaria que aparece más a menudo es V82A (29,31%). Esta mutación aparece predominantemente en aislamientos de VIH-1 de enfermos que han recibido tratamiento con indinavir y ritonavir (7). A continuación aparecieron las mutaciones I54V (15,52%), L90M (12,07%) y M46I (12,07%).

La prevalencia de las resistencias primarias en los pacientes VIH positivos no tratados en nuestro medio fue del 39,4%.

En conclusión, las mutaciones más observadas son similares a las detectadas por otros autores. En cuanto a las resistencias primarias, nos llama la atención que su tasa es más alta que la publicada recientemente por algunos autores españoles, que encuentran un 6,7% (8), y que la encontrada en otros estudios, también españoles, como el ERA-SE-1 y el ERA-SE-2, que utilizando la prueba LiPA encontraron un 11% a 17% de variantes resistentes (9). Probablemente la alta tasa de resistencias primarias se deba al escaso tamaño de nuestra muestra (sólo 33 pacientes), por lo que convendría confirmar este dato con estudios posteriores con mayor tamaño muestral.

Correspondencia: María José Rodríguez-Escudero, Unidad de Microbiología (Servicio de Análisis Clínicos), Hospital Virgen de la Luz, C/ Hermandad de Donantes de Sangre nº 1, 16002 Cuenca. Tel.: 969-179933, ext: 2063. E-mail: mjrodriguez@sescam.jccm.es

BIBLIOGRAFÍA

1. Palella, F.J. Jr, Delaney, K.M., Moorman, A.C. y cols. *Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection*. N Engl J Med 1998; 338: 853-860.
2. Yerly, S., Kaiser, L., Race, E., Bru, J.P., Clavel, F., Perrin, L. *Transmission of antiretroviral drug resistant HIV-1 variants*. Lancet 1999; 354: 729-733.
3. Schuurman, R., Nijhuis, M., Van Leeuwen, R. y cols. *Rapid changes in human immunodeficiency virus type 1 RNA load and appearance of drug-resistant virus populations in person treated with lamivudine (3TC)*. J Infect Dis 1995; 171: 1411-1419.
4. Clavel, F., Hance, A.J. *HIV drug resistance*. N Engl J Med 2004; 350: 1023-1035.
5. De Mendoza, C., Soriano, V., Briones, C. y cols. *Emergence of zidovudine associated mutations in patients treated with stavudine*. J Acquir Immun Defic Syndr 2000; 23: 279-280.
6. Young, S.D., Britcher, S.F., Tran, L.O. y cols. *L-743, 726 (DMP-266): A novel, highly potent nonnucleoside inhibitor of the human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase*. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39: 2602-2605.
7. Condra, J.H., Holder, D.J., Schleif, W.A. y cols. *Genetics correlates of in vivo viral resistance to indinavir, a human immunodeficiency virus type 1 protease inhibitor*. J Virol 1996; 70: 8270-8276.
8. Guerrero, A., Cañizares, A., Tomás, S., Velasco, D., Cartelle, M. y grupo de estudio para las resistencias primarias del VIH en España. *Prevalencia de resistencia a los fármacos antirretrovirales en pacientes españoles infectados por el VIH y sin tratamiento previo*. Enferm Infecc Microbiol Clin 2005; 23: 605-608.
9. Puig, T., Pérez Olmeda, M., Rubio, A. y cols. *Prevalence of genotypic resistance to nucleoside analogues and protease inhibitors in Spain. The ERA-SE-2 study group*. AIDS 2000; 14: 727-732.