



Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Original

Resistencias genotípicas en pacientes con VIH-1 y grados de viremia persistentemente bajos

Jorge Parra-Ruiz^a, Marta Álvarez^b, Natalia Chueca^b, Alejandro Peña^b, Juan Pasquau^c, Miguel Ángel López-Ruz^c, María del Carmen Maroto^b, José Hernández-Quero^a y Federico García^{b,*}

^a Unidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario San Cecilio, Granada, España

^b Servicio de Microbiología, Hospital Universitario San Cecilio, Granada, España

^c Unidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 16 de noviembre de 2007

Aceptado el 25 de febrero de 2008

On-line el 13 de febrero de 2009

Palabras clave:

Carga viral baja persistente

Resistencia genotípica

TARGA

RESUMEN

Introducción: se considera éxito terapéutico cuando un paciente con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) sometido a tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA) consigue una carga viral plasmática <50 copias/ml. Sin embargo, es frecuente encontrar a pacientes cuya carga viral se sitúa en 50–1.000 copias/ml, en estos casos las guías de tratamiento no recomiendan realizar un test genotípico de resistencias aduciendo una baja rentabilidad. El objetivo principal de este estudio fue examinar la utilidad de una técnica de concentración para la secuenciación de VIH-1 desde muestras que contienen menos de 1.000 copias/ml, y a partir de aquí determinar las consecuencias virológicas de los cambios guiados por el test de resistencia genotípica del TARGA de estos pacientes.

Métodos: se estudió a 51 pacientes con cargas virales de 50–1.000 copias/ml, de los que 27 presentaron estos valores de carga viral durante al menos 12 meses consecutivos. Antes de la extracción del ARN, se concentró una muestra de 3 ml de plasma y, a continuación, se genotipó siguiendo el procedimiento estándar.

Resultados: se pudo secuenciar 47 muestras de las 51, con una sensibilidad del 92%. De estos 47 pacientes, 27 mantienen carga viral de 50–1.000 copias/ml durante 12 meses, de ellos, 20 consiguen carga viral indetectable al cambiar el TARGA guiado por el genotipo (análisis por intención de tratar; no consta = fracaso; 20 de 27 [74,1%]) (análisis en tratamiento; 20 de 23 [86,9%]).

Conclusiones: mostramos una modificación sencilla de la secuenciación genotípica en pacientes con grados de viremia persistentemente bajos, que resulta en una modificación en el régimen del TARGA que consigue una viremia plasmática indetectable.

© 2007 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Genotypic resistance in HIV-1—infected patients with persistent low-level viremia

ABSTRACT

Keywords:

Persistent low-level viremia

Genotypic resistance

HAART

Introduction: Highly active antiretroviral therapy (HAART) in HIV patients is considered successful when plasma viral load (VL) reaches <50 copies/ml. However, many patients have a persistent VL of 50 to 1000 copies/ml, and treatment guidelines do not recommend genotypic resistance testing at these levels because of poor performance. The aim of this study was to evaluate the usefulness of a concentration technique for HIV-1 sequencing in samples with <1000 copies/ml, and determine the virological consequences of HAART treatment changes guided by resistance testing in this scenario.

Methods: Observational study performed in 51 patients with plasma VL between 50 and 1000 copies/ml; 27 patients had these levels for at least 12 consecutive months. Prior to RNA extraction, virions were concentrated from 3-ml plasma samples and then genotyped following standard procedures.

Results: Forty-seven of the 51 samples were successfully sequenced, resulting in a sensitivity of 92%. Among these 47 patients, 27 showed a persistent viral load of 50–1000 copies/ml for 12 months, and 20 patients achieved undetectable viral load following the genotype-guided HAART change (intention-to-treat analysis: NC = F; 20 of 27 [74.1%]; on-treatment analysis: 20 of 23 [86.9%]).

Conclusions: We report a simple method for genotype sequencing in patients with persistent low-level viremia that allowed a modification of the HAART regimen leading to undetectable plasma viremia.

© 2007 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: fegarcia@ugr.es (F. García).

Introducción

De acuerdo con las guías de tratamiento antirretroviral, se considera éxito terapéutico en pacientes con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) a la supresión de la carga viral por debajo de las 50 copias/ml. Sin embargo, la completa erradicación viral no es posible debido a la existencia de reservorios de larga vida, como los linfocitos T CD4+ memoria infectados, que poseen el genoma del VIH integrado.

Una de las principales causas del fracaso del tratamiento antirretroviral (TAR) es la aparición de resistencias a fármacos¹. Varios estudios han demostrado que los test de resistencia genotípica mejoran la respuesta virológica en pacientes cuyo TAR ha de ser modificado tras el fracaso^{2,3}. La evidencia obtenida de estos estudios apoya la recomendación actual del uso del test de resistencia para todos los pacientes que no responden al tratamiento, para los que se plantea un cambio de terapia^{4,5}.

Aunque la resistencia a los fármacos antirretrovirales puede desarrollarse con valores bajos de carga viral, las técnicas para su detección no están recomendadas cuando ésta es <1000 copias/ml por la alta frecuencia de fallo en la secuenciación⁶. Esto complica el correcto mantenimiento clínico de los pacientes con carga viral detectable, pero por debajo de este umbral. Sin embargo, se ha publicado recientemente que es posible detectar mutaciones relacionadas con resistencia a fármacos antirretrovirales de pacientes con carga viral baja⁷⁻¹⁰, aunque la relevancia clínica de estos hallazgos aún no ha sido establecida con claridad.

El objetivo principal de este estudio fue examinar la utilidad de una técnica de concentración para la secuenciación de VIH-1 desde muestras de plasma que contienen menos de 1.000 copias/ml, y a partir de aquí determinar las consecuencias virológicas de los cambios guiados por el test de resistencia genotípica del tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA) de estos pacientes.

Pacientes y métodos

Se realizó un estudio observacional con 51 pacientes con VIH-1, del subtipo B, con una carga viral baja, de dos centros que atienden a pacientes con VIH en Granada (Hospital Universitario San Cecilio y Hospital Universitario Virgen de las Nieves), con los siguientes criterios de inclusión: a) infección crónica por VIH-1 documentada; b) TARGA en régimen estable durante al menos 12 meses, y c) dos cargas virales detectables consecutivas pero por debajo de 1.000 copias/ml al mismo tiempo que reciben TARGA. El período de estudio comprendió los años 2002-2005. Para evaluar las consecuencias virológicas de los cambios guiados por el test genotípico, seleccionamos a pacientes con carga viral <1.000 copias/ml, pero detectable durante un período de, al menos, 12 meses. De este modo, descartamos los casos que desarrollaron un repunte transitorio de carga viral. De los 51 pacientes, sólo 27 cumplían dicho criterio. En estos pacientes, después de ese período, se realizó un cambio de tratamiento y se estudió la repercusión del cambio en la evolución virológica e inmunológica (cambios en carga viral y CD4 a los 3 y 6 meses).

Los análisis para la detección del ARN del VIH-1 se realizaron con el estudio Ultrasensitive de Roche Amplicor Monitor System v1.5 (Roche Diagnostics, Barcelona), cuyo límite inferior de detección es de 50 copias/ml. La técnica de genotipificación se realizó con el sistema TruGene HIV-1 Genotyping Kit (Siemens, Barcelona). Antes de la extracción de ARN, se procedió a la concentración de las muestras de plasma de acuerdo con el siguiente protocolo: las muestras fueron sometidas a tres ciclos de ultracentrifugación en Biofuge Stratos (Heraeus, Barcelona). Una

alícuota inicial de 1 ml de plasma se ultracentrifuga a 23.600 g durante 1 h a 4 °C; se desecha el sobrenadante y otro ml de plasma se añade al *pellet* en el mismo tubo y se repite la centrifugación; después se desecha el sobrenadante, se añade otro ml, y se somete a una tercera centrifugación; finalmente, se desechan 860 µl del sobrenadante y el *pellet* se resuspende intensamente con el remanente de 140 µl, que se somete a la extracción con QUIAMP Viral RNA mini-kit (Qiagen, Barcelona). El eluido de ARN se empleó directamente para el test con Trugene HIV-1 genotyping Kit (Siemens, Barcelona), con las precauciones estándar para evitar contaminaciones cruzadas por PCR. Además, para excluir la contaminación cruzada, todas las secuencias se analizaron con la herramienta *genetic fingerprinting* del *software* de Trugene (Siemens, Barcelona) para explorar las coincidencias entre secuencias de diferentes pacientes. Esta herramienta enfrenta la secuencia de estudio (con una longitud de unos 900 pares de bases) a todas las ya existentes en la base de datos, de modo que diferencias entre secuencias por debajo de 20 pares de bases permiten establecer una elevada homología entre ellas.

Las secuencias se analizan con TruGene HIV-1 Report Generator, con Guidelines 7.0 (Bayer, Barcelona) y Retrogram v 1.6 (www.retrogram.com), para conocer las mutaciones de resistencia y su interpretación.

La eficacia del cambio de TARGA guiado por genotipo, definido como la proporción de pacientes que consiguen carga viral indetectable, se midió con un análisis por intención de tratar (ITT; NC = F [no consta = fracaso]) y un análisis en tratamiento (OT).

Resultados

Para valorar la sensibilidad de nuestro método de concentración, se seleccionó a 51 pacientes con carga viral <1.000 copias/ml. Se pudo secuenciar 47 de las 51 muestras, con una sensibilidad del 92%. Las cuatro muestras que no se pudo secuenciar tenían una carga viral <200 copias/ml. De los 51 pacientes incluidos inicialmente, 27 (53%) mantuvieron una carga viral de 50-1.000 copias/ml durante 12 meses, y se seleccionaron para análisis posteriores (fig. 1).

De estos 27 pacientes, la mayoría eran varones (66,7%) con una media de edad de 42 años. La mediana de carga viral basal fue 264 (intervalo, 65-948) copias/ml, y la mediana de recuento de linfocitos CD4 fue 327 (intervalo, 72-844) células/µl. El 48,1% de estos pacientes recibían, al comienzo del estudio, tratamiento con un régimen con análogos de nucleósidos/nucleótidos y no análogos; el 18,5%, con análogos e inhibidores de la proteasa; otro 18,5% recibe tratamiento con los tres grupos antirretrovirales, y el 14,8% restante, sólo con análogos. Las mutaciones de resistencia en el gen de la transcriptasa inversa (RT) y/o proteasa se detectaron en 25 (93%) pacientes. Las mutaciones detectadas en la RT fueron: M41L (48,1%), E44D (22,2%), K65R (7,4%), D67N (55,5%), T69D (7,4%), K70R (22,2%), L74V (7,4%), V118I (18,5%), M184V (48,1%), L210W (37%), T215Y/F (59,2%), K219Q/E (22,2%), A98G (11,1%), L100I (3,7%), K101E/Q (11,1%), K103N (40,7%), V106A (7,4%), V108I (11,1%), Y181C (22,2%), G190A (11,1%), y en la proteasa: L101/V (44,4%), K20M/R (7,4%), D30N (7,4%), M36I (25,9%), M46I/L (33,3%), I54M/V (25,9%), A71V/T (40,7%), V82A (22,2%), I84V (7,4%), N88D/S (11,1%), L90M (29,6%). La genotipificación mostró sensibilidad a algunos de los fármacos antirretrovirales incluidos en el régimen terapéutico que recibían los pacientes en 10 (37%) de los 27 casos, actividad disminuida en 7 (26%) y resistencia a todos los fármacos del régimen en 8 (30%). El patrón de resistencias se muestra en la [tabla 1](#), junto con los regímenes previos, los cambios de tratamiento y la evolución virológica e inmunológica.

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/3402376>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/3402376>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)