

ORIGINALES

Resistencias genotípicas en pacientes con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana. Correlación con las pautas terapéuticas empleadas en su tratamiento



José M. Eiros, Raquel Blanco, Cristina Labayru, Beatriz Hernández, Agustín Mayo y Raúl Ortiz de Lejarazu

Servicio de Microbiología. Hospital Clínico Universitario. Facultad de Medicina. Valladolid. España.

FUNDAMENTO Y OBJETIVO: Describir las pautas de tratamiento empleadas en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) de nuestro entorno asistencial y determinar la prevalencia de resistencias en pacientes en tratamiento antirretroviral, analizando la relación entre la aparición de mutaciones con los regímenes terapéuticos junto con otras variables de interés.

MATERIAL Y MÉTODO: Se analizaron 191 muestras de pacientes en fracaso virológico que estaban recibiendo tratamiento antirretroviral, mediante la técnica de genotipificación LiPA para determinar la presencia de mutaciones en el gen de la retrotranscriptasa (RT) y de la proteasa (P). Se analizaron las pautas de tratamiento recibido, así como las variables relevantes en la infección por el VIH.

RESULTADOS: La prevalencia global de resistencias fue del 72,32%. Mediante LiPA se detectaron mutaciones en RT en el 71,43%, y las más frecuentes fueron M184V, T215Y y L41M. La prevalencia de mutaciones en P fue del 53,38%, siendo las V82A, L90M e I84V más frecuentes respecto a las mutaciones frente a los fármacos incluidos en la pauta de tratamiento de los pacientes. El 61,02% presentaba una o varias frente a los inhibidores de la transcriptasa inversa, el 28,81% para los inhibidores de la proteasa y el 23,73% tanto frente a los primeros como a los segundos.

Se constataron 72 combinaciones terapéuticas diferentes; el tratamiento triple fue la modalidad prescrita en el 73,46% de los casos.

CONCLUSIONES: Aun con las limitaciones inherentes a la técnica de LiPA, la prevalencia de resistencias en nuestro estudio fue diferente de la comunicada por otros autores, siendo menor en el gen P y mayor en TI. Una alta proporción de pacientes mostraron mutaciones frente a los fármacos incluidos en su tratamiento.

Palabras clave: VIH. Resistencias genotípicas. Tratamiento antirretroviral.

Genotypic resistance in patients infected with HIV and its correlation with therapy

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Our goal was to establish the different therapeutic regimens used in our clinical setting, and to determine the prevalence of genotypic resistances in patients under antiretroviral therapy, analyzing the relationship between the appearance of mutations and treatments along with other HIV related variables.

MATERIAL AND METHOD: 191 samples from the same number of patients who were on antiretroviral therapy and virological failure were analyzed. Samples were processed by means of the genotypic technique LiPA in order to study the presence of mutations in the reverse transcriptase (RT) and the protease (P) genes. Prescribed therapeutic regimens and epidemiological variables relevant in HIV infection were also analyzed.

RESULTS: Overall resistance prevalence was 72.32%. By LiPA, RT mutations were detected in 71.43% of patients, being M184V, T215Y and L41M the most frequent ones. Moreover, P mutations were detected in 53.38% of cases, being V82A, L90M and I84V the most frequent ones. 61.02% of the patients presented one or more mutations against the reverse transcriptase inhibitors included in their treatment. With regard to protease inhibitors, this fact was documented in 28.81% of cases, and in 23.73% of patients receiving both reverse transcriptase inhibitors and protease inhibitors.

CONCLUSIONS: Although the analysis of the mutation patterns by LiPA has known limitations, the prevalence of resistances in our study was different from that reported by other authors, being lower in the P gene and higher in the RT one. Of note, a high proportion of patients showed mutations against the drugs included in their prescribed treatment.

Key words: HIV. Genotypic resistances. Antiretroviral treatment.

Correspondencia: Dr. J.M. Eiros.
Centro Nacional de Microbiología.
Ctra. Majadahonda a Pozuelo, km 2. 28220 Majadahonda. Madrid. España.
Correo electrónico: eiros@isciii.es

Recibido el 24-2-2004; aceptado para su publicación el 9-11-2004.

Tras casi 2 décadas de estudios clínicos con distintas opciones terapéuticas, en el momento actual el tratamiento antirretroviral (TAR) con combinaciones de al menos 3 fármacos constituye el tratamiento de elección^{1,2}, y se ha observado que su cumplimiento por parte del paciente desempeña un papel fundamental en la duración de la respuesta. La situación clínica, la viremia plasmática y el recuento de linfocitos CD4 representan los elementos básicos para establecer las decisiones terapéuticas en los distintos contextos y para evaluar su eficacia, mientras que la toxicidad constituye una limitación para el cumplimiento del tratamiento³.

Si bien los paneles de expertos han emitido recomendaciones terapéuticas^{2,4-6} que han ido variando a lo largo de los años, no existe uniformidad ni consenso a la hora de optar por una modalidad de tratamiento. Por ello, el elevado número de recomendaciones^{2,4,5}, la aparición de reacciones adversas³, la existencia de interacciones medicamentosas y la idiosincrasia de cada paciente potencian la existencia de la variabilidad en la prescripción. Al someter al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) a la presión selectiva de los fármacos antirretrovirales, la selección de virus con mutaciones de resistencias se presenta como un fenómeno probablemente inevitable^{7,8}. Cuando a lo largo del seguimiento de un paciente que recibe tratamiento específico no se documenta una supresión de la carga viral o ésta experimenta un incremento sustancial, nos encontramos ante una situación considerada de fracaso virológico^{2,9,10}, circunstancia ante la cual el estudio de resistencias cobra su mayor importancia^{9,11,12}.

El objetivo del presente estudio es doble: en primer término, describir las pautas de tratamiento empleadas en nuestro entorno asistencial y, en segundo lugar, detallar la prevalencia de resistencias en pacientes que reciben tratamiento antirretroviral, analizando la relación entre la aparición de mutaciones con los regímenes terapéuticos administrados junto con otras variables de interés.

EIROS JM, ET AL. RESISTENCIAS GENOTÍPICAS EN PACIENTES CON INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA. CORRELACIÓN CON LAS PAUTAS TERAPÉUTICAS EMPLEADAS EN SU TRATAMIENTO

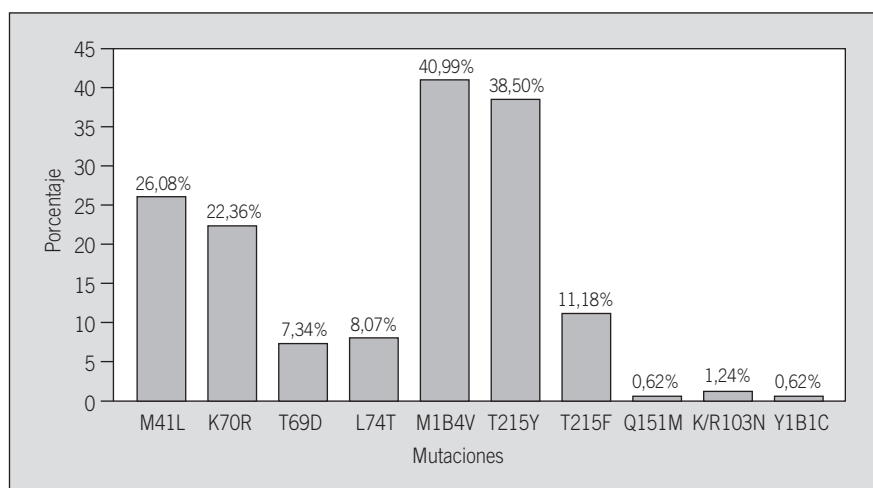


Fig.1. Frecuencia de mutaciones resistentes a inhibidores de la retrotranscriptasa.

Material y método

En el período comprendido entre septiembre de 1996 y marzo de 2003 se recibieron 432 muestras en nuestro laboratorio para el estudio de resistencias genotípicas; de ellas se seleccionaron las muestras de plasma correspondientes a pacientes en los que se constató, según el volante de petición, que estaban recibiendo TAR (191 muestras correspondientes a un número igual de pacientes).

La carga viral (CV) se determinó mediante la técnica Cobas Amplicor HIV-1 Monitor™ Test (Roche Molecular Systems, Branchburg, NJ, EE.UU.)¹³ y posteriormente se estudió la aparición de resistencias mediante la técnica LiPA (VERSANT® HIV-1 RT Resistance Assay, VERSANT® HIV-1 Protease Resistance Assay, Bayer Corporation, Tarrytown, NY, EE.UU.)^{14,15}, que consiste en una hibridación reversa después de una reacción en cadena de la polimerasa cuyo soporte son tiras de nitrocelulosa con sondas de oligonucleótidos específicos inmovilizadas en líneas paralelas. Esta técnica permite el estudio de las posibles mutaciones en los codones, 41, 69, 70, 74, 75, 103, 106, 151, 181, 184 y 215 del gen de la retrotranscriptasa (LiPA RT) y en los correspondientes 30, 46, 48, 50, 54, 82, 84 y 90 para el gen de la proteasa (LiPA P), que según se ha documentado se asocian a resistencia para fármacos inhibidores de transcriptasa inversa (ITI), tanto análogos de los nucleósidos (ITIAN) como no análogos de los nucleósidos (ITINAN), e inhibidores de proteasa (IP), respectivamente.

Para la interpretación de las mutaciones encontradas se siguieron, además de las recomendaciones del fabricante^{14,15}, las recomendaciones contenidas en la Guía para el manejo de resistencias en la infección por el VIH y de la farmacocinética de los antirretrovirales¹⁶, así como guías de interpretación de distintas compañías^{17,18}, guías de sociedades internacionales¹⁹ y algoritmos de interpretación de distintas webs oficiales²⁰.

Análisis estadístico

Para el análisis de los resultados se empleó el programa estadístico SPSS versión 9.0 para Windows. Se realizó un estudio descriptivo de las diferentes variables. Los intervalos de confianza (IC) del 95% se calcularon mediante los métodos de Fleiss²¹ y Diamond²², empleando una macro desarrollada por Domènech et al²³. La comparación de las variables categóricas se realizó mediante la prueba de la χ^2 y se estableció un nivel de significación de p menor de 0,05.

Resultados

Recibimos 432 muestras para el estudio de resistencias genotípicas, que según el tratamiento se distribuyeron en 3 grupos:

a) pacientes nunca tratados, es decir, aquellos que no habían recibido TAR previamente (148 muestras [34,26%]); b) pacientes con tratamiento desconocido, esto es, aquellos que habían recibido alguna vez tratamiento pero éste no constaba en el volante de solicitud (93 muestras [21,53%]); y c) pacientes en tratamiento; es decir, aquellos que en los que en el volante de solicitud se documentó que estaban recibiendo TAR (191 muestras [44,21%]).

En la tabla 1 se detalla la distribución de las variables epidemiológicas y asistenciales (sexo, año de diagnóstico, factor de riesgo y hospital de origen), así como su categorización en función de variables clínicas (estadio de la infección por el VIH), virológicas (CV) e inmunológicas de los 191 individuos analizados en el presente estudio. En el momento de realizarlo, el 31,94% (IC del 95%, 25,19-38,69) de los pacientes presentaban valores de CV superiores a 100.000 copias ARN/ml (mediana: 62.500 copias ARN/ml; moda > 100.000 copias ARN/ml) y un 39,26% (IC del 95%, 32,19-46,33) mostraban un recuento inferior a 200 linfocitos CD 4/ μ l.

En lo referente al TAR, en los 191 individuos se registró la existencia de 72 combinaciones terapéuticas diferentes. Destaca que un 76,43% (IC del 95%, 70,29-82,57) recibía un tratamiento triple, un 13,08% (IC del 95%, 8,20-19,96) seguía tratamiento cuádruple, el 6,80% (IC del 95%, 3,16-10,44) biterapia, el 2,09% (IC del 95%, 0,02-4,16) tratamiento con 5 fármacos antivirales; los extremos, esto es, monoterapia y tratamiento con 6 antivirales, fueron muy poco frecuentes: un 1,04% (IC del 95%, 0-2,51) y un 0,52% (IC del 95%, 0-1,56) respectivamente.

En 14 ocasiones no se procedió al estudio de resistencias por baja CV (< 1.000 copias ARN/ml). En las 177 muestras en las que se realizó el estudio de resisten-

TABLA 1

Características demográficas de los pacientes en fracaso terapéutico (n = 191)

Variables epidemiológicas	Número (%)
Sexo	
Varones	143 (74,87)
Mujeres	48 (25,13)
Año del diagnóstico	
Antes de 1998	86 (45,02)
Desde 1998	10 (5,23)
Sin datos	98 (51,30)
Factor de riesgo	
ADVP	50 (26,17)
Vía sexual	23 (12,04)
Transmisión vertical	9 (4,71)
Transfusión sanguínea	9 (4,71)
Sin datos	100 (52,35)
Hospital de origen:	
HUV	55 (28,80)
HRH	67 (35,07)
CP	18 (9,42)
Otros	51 (26,71)
Carga viral (copias ARN/ml)	
< 100.000	130 (68,06)
≥ 100.000	61 (31,94)
Linfocitos CD 4/ μ l	
< 200	75 (39,26)
≥ 200	116 (60,74)
Estadio de la infección por el VIH	
Sida	79 (41,36)
No sida	63 (32,98)
Sin datos	49 (25,66)

ADVP: adicción a drogas por vía parenteral; HUV: Hospital Universitario de Valladolid; HRH: Hospital Río Ortega de Valladolid; CP: centros penitenciarios; VIH: virus de inmunodeficiencia humana.

cias no se detectaron resistencias frente a fármacos antirretrovirales en 49 ocasiones (27,68%; IC del 95%, 20,96-34,40), en 75 casos (42,38%; IC del 95%, 34,94-49,80) se encontraron resistencias tanto para IP como para ITIAN, y en 2 casos (1,12%; IC del 95%, 0-2,72) se encontraron mutaciones de resistencias para ambas clases de ITI; en ninguna ocasión se hallaron resistencias aisladas a los ITINAN, ni asociación de resistencias a ITINAN e IP (tabla 2).

En el estudio de las mutaciones encontradas en el gen de la TI, 16 muestras (8,38%; IC del 95%, 4,37-12,39) no pudieron amplificarse mediante LiPA. De las 161 muestras restantes, 46 casos (28,57%; IC del 95%, 21,45-35,69), mostraron genotipo natural, mientras que 115 (71,43%; IC del 95%, 64,31-77,55) presentaban di-

TABLA 2

Distribución de resistencias entre los pacientes tratados

Resistencias que presentan	Número (%)
ITIAN	38 (21,47)
ITINAN	-
IP	13 (7,34)
ITIAN + ITINAN	2 (1,12)
ITIAN + IP	75 (42,38)
ITINAN + IP	-
Sin resistencias	49 (27,68)

ITIAN: inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de los nucleósidos; ITINAN: inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de los nucleósidos; IP: inhibidores de la proteasa.

versas mutaciones. Al valorar la frecuencia absoluta de aparición de mutaciones, la más frecuentemente encontrada fue M184V, con 66 casos (40,99%; IC del 95%, 33,24-48,75), seguida de T215Y en 62 casos (38,50%; IC del 95%, 30,84-46,18), L41M en 42 muestras (26,08%; IC del 95%, 19,17-33,01), K70R en 36 muestras (22,36%; IC del 95% 15,79-28,93) (fig. 1).

Al valorar la asociación entre estas mutaciones y el TAR en el momento del estudio encontramos que presentaba mutaciones frente a los antirretrovirales ITI incluidos en su régimen terapéutico un 61,02% de los pacientes, y cabe destacar que el porcentaje de pacientes que presentaban mutaciones frente a 2 fármacos ITI incluidos en su tratamiento alcanzó el 30,51%. Si desglosamos los tratamientos en sus fármacos elementales, un 64,89% de los pacientes que recibían lamivudina y un 62,14% de los que tomaban estavudina, presentaban mutaciones frente a ellos (tabla 3). Cabe añadir en este sentido la frecuencia de asociación de resistencias a abacavir, zidovudina y estavudina, que se encontró en 22 casos (13,66%).

En el LiPA P no se pudo amplificar el ARN vírico de 14 muestras (7,90%; IC del 95%, 3,85-11,97). De las 163 muestras analizadas, 76 (46,62%; IC del 95%, 38,81-54,44) no presentaban mutaciones, frente a 87 casos (53,38%; IC del 95%, 45,59-61,18) que mostraban genotipo mutado. Las mutaciones más frecuentes, considerando la frecuencia absoluta, fueron: V82A en 37 ocasiones (22,70%, IC del 95%, 16,13-29,26), L90M en 36 casos (22,08%; IC del 95%, 15,59-28,58) y M46I e I84V detectadas en 20 ocasiones cada una (12,27%; IC del 95%, 7,13-17,40). Los patrones de mutaciones más prevalentes fueron los que presentaban únicamente la mutación V82A, con 13 pacientes (7,97%; IC del 95%, 3,73-12,21), y la mutación L90M en 11 casos (6,74%; IC del 95%, 2,82-10,68) (fig. 2).

Asimismo, se analizaron las resistencias encontradas en relación con los IP que estaban tomando los pacientes en el momento del estudio; en un 28,81% de los casos se detectaron mutaciones de resistencia frente a fármacos IP incluidos en el TAR, y en un 23,73% de los casos el paciente presentaba mutaciones frente a fármacos ITI e IP incluidos en su régimen terapéutico. Al analizar cada fármaco IP por separado se observó la existencia de asociación entre el tratamiento con determinados antirretrovirales y la aparición de mutaciones de resistencia frente a ellos; destaca el caso del nelfinavir, en el que el 63,89% de los pacientes que lo recibían presentaban mutaciones frente a él (tabla 3). Cabe señalar la asociación de

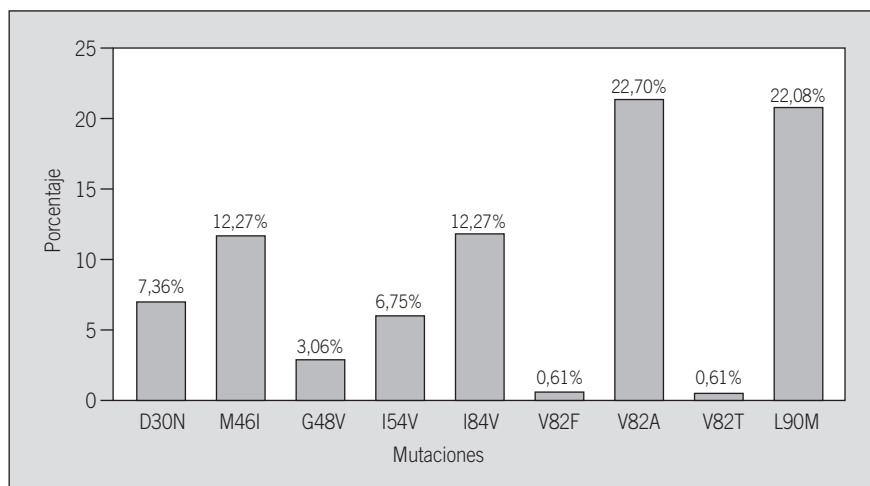


Fig. 2. Frecuencia de mutaciones asociadas a inhibidores de la proteasa.

resistencias frente a indinavir y ritonavir en 35 ocasiones (21,47%); en 2 de ellas los pacientes estaban siendo tratados con ambos fármacos y en 13 ocasiones los pacientes recibían tratamiento con uno de los 2 fármacos. En 37 ocasiones (22,69%) se encontró asociación de resistencias frente al nelfinavir y al saquinavir.

Discusión

El TAR que los pacientes recibían en el momento de la solicitud de la determinación de resistencias muestra una importante variabilidad de prescripción en la práctica clínica asistencial. La evolución en el tiempo de las distintas modalidades terapéuticas se correlaciona con las recomendaciones realizadas por los paneles de expertos a lo largo de los años^{2,4,5}. El tratamiento triple ha sido la modalidad más prescrita a los pacientes de nuestro estudio (el 76,43% de los pacientes), lo que concuerda con las referidas recomendaciones. Asimismo es importante

destacar el porcentaje de solicitudes en las que se registran tratamientos dobles (6,80%). Aun siendo conscientes de la validez de nuestros hallazgos, éstos deben ponderarse con la precaución exigible a un estudio basado en la práctica asistencial de un laboratorio de diagnóstico microbiológico.

Del análisis pormenorizado de los datos referentes a los fármacos empleados se ha podido constatar que la utilización de 2 ITIAN combinados con un IP fue la combinación terapéutica más frecuentemente empleada (el 41,05% de los casos), seguida por la prescripción de 2 ITIAN con un ITINAN (26,32%). Este hallazgo concuerda con lo referido por la mayoría de autores, tanto en estudios nacionales^{4,6,24-26} como internacionales²⁷.

Conviene señalar la variabilidad en los tratamientos previamente instaurados a la realización de la primera determinación de CV en nuestro centro. Resulta comprensible que la monoterapia con zidovudina fuese hasta 1997 la modalidad recibida por la quinta parte de los pa-

TABLA 3

Asociación entre el consumo de inhibidores de la transcriptasa inversa e inhibidores de la proteasa y la creación de resistencias

Fármaco	N.º de pacientes	Resistentes al fármaco (%)	Otras resistencias (%)	Sin resistencias (%)
Inhibidor de la transcriptasa inversa				
Lamivudina	94	61 (64,89)	6 (6,38)	27 (28,72)
Abacavir	8	8 (100)	-	-
Zidovudina	62	27 (43,55)	12 (19,35)	23 (37,10)
Estavudina	103	64 (62,14)	3 (2,91)	36 (34,95)
Zalcitabina	7	1 (14,29)	-	6 (85,71)
Didanosina	60	7 (11,67)	29 (48,33)	24 (40,00)
Delavirdina	3	-	-	3 (100)
Efavirenz	30	2 (6,67)	26 (86,67)	2 (0,85)
Nevirapina	35	-	24 (68,57)	11 (31,43)
Inhibidor de la proteasa	50	16 (32,00)	10 (20,00)	24 (48,00)
Lopinavir	2	-	2 (100)	-
Nelfinavir	36	23 (63,89)	7 (19,44)	6 (16,67)
Ritonavir	36	14 (38,89)	10 (27,78)	12 (33,33)
Saquinavir	20	6 (30,00)	11 (55,00)	3 (15,00)

EIROS JM, ET AL. RESISTENCIAS GENOTÍPICAS EN PACIENTES CON INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA. CORRELACIÓN CON LAS PAUTAS TERAPÉUTICAS EMPLEADAS EN SU TRATAMIENTO

cientes y que en menor proporción se situasen otras opciones terapéuticas, cuya implantación fue progresiva; estos hechos han estado condicionados por las aportaciones de estudios pioneros en este ámbito^{28,29}. En este punto cabe comentar que diversos trabajos publicados^{4,30} establecen una relación concluyente entre el primer TAR que recibe un paciente y su duración y la eficacia de los siguientes tratamientos. Nuestro estudio no ha permitido evaluar la frecuencia de los cambios terapéuticos ni la eficacia de los segundos y siguientes tratamientos. Merece señalarse el interés que suscita la posibilidad de disponer de esta información para el proceso de diseño de un volante uniforme para implantar las técnicas de detección de resistencias frente a antirretrovirales en el ámbito del territorio de los diversos sistemas autonómicos de salud³¹.

La prevalencia de resistencias encontradas en el presente trabajo se sitúa por debajo de lo comunicado por algunos autores³²⁻³⁵. La utilización de LiPA como método diagnóstico constituye una limitación importante de este trabajo respecto a la obtención de la secuencia completa de la proteasa y de buena parte de la RT mediante secuenciación automática, tal como han demostrado Yahi et al³² en una serie reclutada en Marsella y Gallego et al³⁵ en un estudio multicéntrico español. Una posible causa de esta baja prevalencia podría ser la detección de «falsos negativos», ya que está descrito que un lapso de tiempo superior a 15 días entre el abandono del tratamiento y la detección de resistencias permitiría el recambio de la población vírica, de forma que subpoblaciones «naturales» pasasen a ser predominantes³⁶. En este sentido sería esencial controlar el cumplimiento del tratamiento, parámetro cuya medida no está optimizada ni implantada actualmente en el seguimiento de estos pacientes. La contribución de Descamps et al³⁷, en la que se monitoriza este factor mediante 2 estrategias, asocia la ausencia de mutaciones en pacientes que fracasan con la falta de cumplimiento. Más importante si cabe es la contribución de Bangsberg et al³⁸, quienes, al valorar el cumplimiento terapéutico como posible factor inductor de resistencias, observan que en pacientes en que es bueno pero que no presentan supresión vírica, o sea, en fracaso virológico, la creación de resistencias ante fármacos antirretrovirales es significativamente superior a la que se genera en pacientes poco o no adherentes al tratamiento, y mayor también que en los pacientes que seguían períodos cortos de tratamiento. Esto contrasta con la opinión de expertos que desaconsejan la práctica de paradas técnicas en el tratamiento de pacientes por elevar la existencia de mutaciones de

resistencia y favorecer la progresión de la enfermedad^{39,40}. La asociación entre la aparición de mutaciones y los fármacos administrados se documentó en un gran número de casos; incluso algunos pacientes estaban siendo tratados con más de un fármaco frente a los que presentaban mutaciones. Esta situación de tratamiento incorrecto se debe en parte a que un número importante de mutaciones que hoy sabemos otorgan resistencia frente a fármacos antirretrovirales en años anteriores se consideraron bandas de genotipo natural o bandas de resistencias secundarias. El Plan Nacional sobre el sida valoró la elaboración de una base de datos nacional de resistencias y la limitación principal ya entonces apuntada se ha visto confirmada con posterioridad. Nuestro país no difiere sustancialmente de otros de nuestro entorno y será el esfuerzo internacional el que acabe imponiéndose en este ámbito. No obstante, contribuciones como la presente creemos que ayudan a perfilar de manera práctica la realidad asistencial.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Paul S, Gilbert HM, Ziecheck W, Jacobs J, Sepkowitz KA. The impact of potent antiretroviral therapy on the characteristics of hospitalized patients with HIV infection. *AIDS*. 1999;13: 415-8.
- Yeni PG, Hammer SM, Hirsch MS, Saag MS, Schechter M, Carpenter CCJ, et al. Treatment for adult HIV infection. 2004 Recommendations of the International AIDS Society-USA Panel. *JAMA*. 2004;292:251-65.
- Carr A, Samaras K, Thorisdottir A, Kaufmann GR, Chisholm DJ, Cooper D. Diagnosis, prediction and natural course of HIV-1 protease inhibitor associated lipodystrophy, hyperlipidaemia and diabetes mellitus: a cohort study. *Lancet*. 1999;353: 2093-9.
- Miró J, Antela A, Arrizabalaga J, Clotet B, Gatell JM, Guerra L, et al. Recomendaciones de GESIDA/Plan Nacional sobre el Sida respecto al tratamiento antirretrovírico en pacientes adultos infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana en el año 2000 (I). *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2000; 18:329-51.
- DHHS Panel on Clinical Practices for the Treatment of HIV Infections. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV infected adults and adolescents. Washington, 4 de Febrero de 2002. Disponible en: <http://www.aidsinfo.nih.gov/>
- Miró JM, Antela A, Arrizabalaga J, Clotet B, Gatell JM, Guerra L, et al. Recomendaciones de GESIDA/Plan Nacional sobre el Sida respecto al tratamiento antirretrovírico en pacientes adultos infectados por virus de la inmunodeficiencia humana en el año 2000 (II). *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2000;18:396-412.
- Domingo E, Holland JJ. RNA virus mutations and fitness for survival. *Annu Rev Microbiol*. 1997; 51:151-78.
- Markowitz M. Resistance, fitness, adherence, and potency: mapping the path to virologic failure. *JAMA*. 2000;283:250-1.
- Martínez-Picado J, De Pasquale MP, Kartsonis N, Hanna GJ, Wong J, Finizi D, et al. Antiretroviral resistance during successful therapy of HIV type 1 infection. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000; 97:10948-53.
- Hirsch MS, Brun-Vezinet F, Clotet B, Conway B, Kuritzkes D, D'Aquila R. Antiretroviral drug resistance testing in adults infected with human immunodeficiency virus type 1: 2003 recommendations of an International AIDS Society-USA Panel. *Clin Infect Dis*. 2003;37:113-28.
- Haubrich R, Demeter L. Clinical utility of resistance testing: retrospective and prospective data supporting use and current recommendations. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2001;26:S51-S9.
- The EuroGuidelines Group for HIV Resistance. Clinical and laboratory guidelines for the use of HIV-1 drug resistance testing as a part of treatment management: recommendations for the European setting. The EuroGuidelines Group for HIV resistance. *AIDS*. 2001;15:309-20.
- Instruction guides. Cobas Amplicor HIV-1 MonitorTM. Test. version 1.5. Branchburg: Roche Molecular Systems, 2001; p.1-60.
- VERSANT® HIV-1 RT. Kit for the simultaneous detection of wild-type sequences and mutations at several locations in the HIV-1 reverse transcriptase gen. Tarrytown, Bayer Corporation, 2001.
- VERSANT® HIV-1 protease. Kit for the simultaneous detection of wild-type and mutations at codons 30, 46/48, 50, 54, 82/84, and 90 in the HIV-1 protease region of the pol gene. Tarrytown: Bayer Corporation.
- Ruiz L, Casado JL, Martínez-Picado J, Soriano V, Clotet B. Resistencia a los fármacos antivirales. En: Clotet B, Menéndez-Arias L, Ruiz L, Tural C, Brun-Vezinet F, Loveday C, et al, editores. Guía para el manejo de las resistencias al VIH y de la farmacocinética de los antirretrovirales. 2.ª ed. Barcelona: Editorial TAISA; 2002; p. 1-17.
- GuideLines Rules 6.0®. Toronto: Visible Genetics Inc, 2001-2002.
- VircoNET™ version 1.6.2® Virco Central Virological Laboratory, 2002.
- American Society of Health-System Pharmacists® («ASHP»). Bethesda: ASHP, USA, Maryland 20814; 2001.
- Disponible en: <http://hiv.medscape.com/updates/quickguide>
- Fleiss JL. Statistical methods for rates and proportions. John Wiley & Sons Inc; 1981. p. 1-18.
- Diamond GA. Limited assurances. *Am J Cardiol*. 1989;63:99-100.
- Domènech JM, Bonillo A. Proceso de datos sanitarios con el Sistema SPSS. Documentos del laboratorio de estadística aplicada y modelización. Barcelona: Universidad Autónoma de Barcelona; 1998.
- García F, Romeu J, Grau I, Sambat MA, Dalmau D, Knobel H, et al. A randomized study comparing triple versus double antiretroviral therapy or no treatment HIV-1 infected patients in very early stage disease: The Spanish EARTH-1 Study. *AIDS*. 1999;13:2377-88.
- García F, Alonso MM, Romeu J, Knobel H, Arrizabalaga J, Ferrer E, et al. Comparison of immunologic restoration and virologic response in plasma, tonsillar tissue and cerebrospinal fluid in HIV-1 infected patients treated with double versus triple antiretroviral therapy in very early stages: The Spanish EARTH-2 Study. *Early Antiretroviral Therapy Study*. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2000;25:26-35.
- Alonso MM, Gómez JL, Santolaria F, Rodríguez F, Essardas H, Rodríguez E, et al. Eficacia del tratamiento antirretroviral en pacientes con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana. *Med Clin (Barc)*. 2000;115:481-6.
- Sabin CA, Thynn Y, Devereux H, Griffioen A, Loveday C, Phillips N, et al. Two decades of HIV infection in a cohort of haemophilic individuals: clinical outcomes and response to highly active antiretroviral therapy. *AIDS*. 2000;14:1001-7.
- Volberding PA, Lagakos SW, Koch MA, Pettinelli C, Myes MW, Boo DK, et al. Zidovudine in asymptomatic human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med*. 1995;333:408-13.
- Cooper DA, Gatell JM, Kroon S, Clumeck N, Millard J, Goebel FD, et al. Zidovudine in persons with asymptomatic HIV infection and CD4+ cell counts greater than 400 per cubic millimeter. *N Engl J Med*. 1993;329:297-303.

EIROS JM, ET AL. RESISTENCIAS GENOTÍPICAS EN PACIENTES CON INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA. CORRELACIÓN CON LAS PAUTAS TERAPÉUTICAS EMPLEADAS EN SU TRATAMIENTO

30. Tebas P, Henry K, Nease R, Murphy R, Phair J, Powderly W. Timing of antiretroviral therapy. Use of Markov modeling and decision analysis to evaluate the long-term implications of therapy. *AIDS*. 2001;15:591-9.
31. Guerra L, Parras F. Las resistencias a los antirretrovirales: un debate clínico, de salud pública y de política sanitaria. *Med Clin (Barc)*. 2000;115:428-30.
32. Yahi N, Tamalet C, Tourres C, Tivoli N, Ariasi F, Volot F et al. Mutation patterns of the reverse transcriptase and protease genes in human immunodeficiency virus type 1-infected patients undergoing combination therapy: survey of 787 sequences. *J Clin Microbiol*. 1999;37:4099-106.
33. Gutiérrez F, Moltó J, Escolano C, Mora A, Pasquau F, Gregori J, et al. Resistencias genotípicas a los fármacos antirretrovirales en fracasos terapéuticos con pautas de alta eficacia. *Med Clin (Barc)*. 2000;115:401-4.
34. Baxter JD, Mayers DL, Wentworth DN, Neaton JD, Hoover ML, Winters MA, et al, and the CPCRA 046 Study Team for the Terry Beirn Community Programs for the Clinical Research on AIDS (CPCRA). A randomized study of antiretroviral management based on plasma genotypic antiretroviral resistance testing in patients failing therapy. *AIDS*. 2000;14:F83-F93.
35. Gallego O, Ruiz L, Vallejo A, Clotet B, Leal M, Soriano V. Rate of virological treatment failure and frequencies of drug resistance genotypes among human immunodeficiency virus-positive subjects on antiretroviral therapy in Spain. *J Clin Microbiol*. 2002;40:3865-6.
36. Imamichi H, Crandall KA, Natarajan V, Jiang MK, Dewar RL, Breg S, et al. Human immunodeficiency virus type 1 quasi especies that rebound after discontinuation of highly active antiretroviral therapy are similar to the viral quasi especies present before initiation of therapy. *J Infect Dis*. 2001;183:36-50.
37. Descamps D, Flandre P, Calvez V, Peytavin G, Meiffredy V, Collin G, et al. Mechanisms of virologic failure in previously untreated HIV-infected patients from a trial of induction-maintenance therapy. *JAMA*. 2000;283:205-11.
38. Bangsberg DR, Charlebois ED, Grant RM, Holodniy M, Deeks SG, Perry S, et al. High levels of adherence do not prevent accumulation of HIV drug resistance mutations. *AIDS*. 2003;17:1925-32.
39. Lawrence J, Mayers DL, Hullsiek KH, Collins G, Abrams DI, Reislser RB, et al. Structured treatment interruption in patients with multidrug-resistant human immunodeficiency virus. *N Engl J Med*. 2003;349:837-46.
40. Ruiz L, Ribera E, Bonjoch A, Romeu J, Martínez-Picado J, Paredes R, et al. Role of structured treatment interruption before a 5-drug salvage antiretroviral regimen: the retrogene study. *J Infect Dis*. 2003;188:977-85.