

Unidad de Investigación en Epidemiología y Diagnóstico Microbiológico
especializado de enfermedades Infecciosas del Instituto de Investigaciones
Químico Biológicas de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la USAC

INFORME FINAL

Evaluación de resistencia genotípica del VIH-1 en pacientes con fallo virológico de Guatemala.

Guatemala 27 de noviembre de 2013

Integrantes del equipo de investigación

Blanca Elizabeth Samayoa Herrera Química Bióloga, MsPH, DrPH _{candidate}	Coordinadora del proyecto
Dalia Mei LingLau-Bonilla Química Bióloga, PhD In Molecular Biosciences	Investigadora
Anneliese Moller Sundfeldt Química Bióloga, MSc en Administración Financiera	Investigadora
Eduardo Arathoon MD Enfermedades Infecciosas	Investigador
Narda Gabriela Medina Química Bióloga	Auxiliar de Investigación

Instituciones participantes y Co-financiantes:

Dirección General de Investigación (DIGI)-Universidad de San Carlos de Guatemala- USAC-
Asociación de Salud Integral (ASI)
Hospital General San Juan de Dios (HGSJDD)

Índice General

Índice de Ilustraciones.....	4
Guía de Abreviaturas.....	5
1. RESUMEN.....	6
2. INTRODUCCIÓN:.....	9
3. ANTECEDENTES:	11
3.1. <i>Resistencia a Antirretrovirales (ARV's):</i>	11
3.2. <i>Situación de la resistencia a ARV's a nivel mundial:</i>	13
3.3. <i>Evaluación de resistencia a ARV's</i>	14
3.4. <i>Situación del VIH en Guatemala</i>	15
3.4.1. VIH/Sida en Guatemala:.....	15
3.4.2. Clínica Familiar “Luis Ángel García”	16
3.5. <i>Uso y monitoreo de antirretrovirales en Guatemala</i>	16
4. JUSTIFICACIÓN:.....	17
5. OBJETIVOS:	19
6. METODOLOGÍA:	20
6.1. <i>Método, técnicas e instrumentos</i>	20
6.1.1. Diseño del Estudio:	20
6.1.2. Unidad de análisis y observación:	20
6.1.3. Sujeto de estudio y Reclutamiento:	20
6.1.4. Criterios de inclusión:.....	20
6.1.5. Tipo de estudio:	20
6.1.6. Muestra y muestreo:	21
6.1.7. Colección de datos:.....	21
6.1.8. Aspectos éticos:.....	21
6.2. <i>Procedimientos utilizados para el procesamiento de las muestras:</i>	22
7. RESULTADOS:.....	24
8. DISCUSIÓN:	32
9. CONCLUSIONES:.....	39
10. RECOMENDACIONES:	40
11. REFERENCIAS:	41
12. ANEXOS	46

Índice de Ilustraciones

Tablas:

Tabla 1: Características demográficas de la muestra de estudio (n=25).....	24
Tabla 2. Diferencias en las características clínicas entre los pacientes	26
Tabla 3. Mutaciones identificadas por familia de ARV	31
Tabla 4. Listado de medicamentos y mutaciones por paciente	46

Figuras:

Figura 1. Distribución geográfica de la muestra de estudio.....	25
Figura 2. Ubicación de los pacientes provenientes del departamento de Guatemala	25
Figura 3. Motivos inadherencia referidos por los pacientes	27
Figura 4. Resultado del Resistencia.....	28
Figura 5. Resistencia por familia de antirretrovirales.....	29
Figura 6. Resistencia a Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de Nucleósidos (NRTI)	29
Figura 7. Resistencia Inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de Nucleósidos (NNRTI)	30
Figura 8. Resistencia Inhibidores de la proteasa (IP)	30
Figura 9. Forma de colección de datos	47

Guía de Abreviaturas

3TC	Lamivudina
ABC	Abacavir
APV	Amprenavir
ARN	Ácido ribonucleico
ARV	Antiretroviral
ASI	Asociación de Salud Integral
ATV	Atazanavir
AZT	Zidovudina
CD4	Linfocitos T CD4+
CFLAG	Clínica Familiar "Luis Ángel García"
CV	Carga viral
d4T	Estavudina
ddI	Didanosina
DLV	Delavirina
DRV	Darunavir
EFV	Efavirenz
FPV	Fosamprenavir
FTC	Emtricitabina
IDV	Indinavir
IPs	Inhibidores de proteasa
IFs	Inhibidores de la fusión
LPV/r	Lopinavir
NFV	Nelfinavir
NNRTIs	Inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa reversa (Por sus siglas en inglés)
NRTIs	Inhibidores nucleósidos de la transcriptasa reversa (Por sus siglas en inglés)
NVP	Nevirapina
OMS	Organización Mundial de la Salud
RTV	Ritonavir
Sida	Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida
SQV	Saquinavir
TAM	Mutación a análogos de timina
TARV	Terapia antirretroviral altamente activa
TDF	Tenofovir
TPV	Tipranavir
UAI	Unidades de Atención Integral
VIH	Virus de Inmunodeficiencia Humana

1. RESUMEN

Antecedentes: Actualmente la terapia antirretroviral (TARV) ha cambiado la historia natural de la infección por VIH retardando la evolución de la enfermedad y mejorando la calidad de vida de las personas infectadas (Palella F. , y otros). Las guías internacionales indican que la TARV es la única estrategia para lograr la supresión viral; sin embargo la capacidad del VIH para generar resistencia ha emergido como un problema en el tratamiento. Como consecuencia de dicha resistencia puede emerger el fallo virológico (World Health Organization, 2010). Otro factor interrelacionado tanto con el fallo virológico como con el desarrollo de resistencia, es la falta de adherencia a la terapia ARV (Nachega, y otros, 2011), la cual debe ser evaluada principalmente en pacientes que presentan falla en respuesta a la terapia.

Por estas razones, el objetivo del presente estudio fue determinar los patrones genotípicos de resistencia a antirretrovirales (ARVs) en personas que recibían TARV en fallo virológico e identificar las mutaciones asociadas a esta resistencia.

Métodos: Fueron incluidos aquellos pacientes que asistieron a las unidades de atención integral de VIH, de Guatemala, en quienes se sospechaba de resistencia clínica y que requerían cambios en la TARV por fallo virológico, además se solicitó haber evaluado la adherencia y una carga viral igual o mayor a 1000 copias/ml para realizar el análisis. Se recolectó información clínica y demográfica del paciente a partir de la forma de solicitud. El análisis de resistencia se realizó a través de la metodología TRUGENE HIV-1. Se proyectó una muestra de 50 pacientes, de quienes fueron incluidos 25, por restricciones burocráticas.

Resultados: En este estudio el 68% (17) de las muestras analizadas presentaron resistencia a por lo menos un ARV. Fueron analizadas 25 muestras de pacientes adultos, siendo de sexo femenino el 60% (15). La edad promedio fue de 38 años (rango de 20-61 años). Por área de residencia, el 84 % (21) de los pacientes vivía en la ciudad capital.

Con respecto al perfil clínico, el grupo en estudio fue dividido según la presencia (PR) o ausencia de resistencia (AR). En relación al tiempo de vivir con el diagnóstico de VIH fue de 6.0 y 7.7 años para el grupo PR y AR

respectivamente. Se observó un recuento mayor de células CD4 en el grupo de PR con 205 vrs 181 células/uL para el grupo con AR. La carga viral fue similar en ambos grupos con Log10 de 4.7 y 4.8. En lo relacionado a TARV la mediana del tiempo de haber iniciado a recibir la misma fue de 5.1 y 4.8 años para el grupo con AR y PR respectivamente. Según el número de esquemas previos a la sospecha de resistencia, la mitad de los pacientes con AR había recibido tres esquemas; mientras que el 35% (6) de los pacientes con PR había recibido un esquema previo, ninguna de estas variables presentó diferencia estadísticamente significativa ($p>0.05$). Otro parámetro evaluado fue la adherencia a ARVs, la cual fue determinada a través del recuento de pastillas en un año de seguimiento, el promedio fue 81.6% para el grupo con PR y 82.6% para el grupo AR. Tabla 1 demo

Los ARVs frecuentemente indicados por la guía nacional en 2010 eran los NRTIs, NNRTIs y los IPs. El análisis realizado en este estudio detectó las mutaciones relacionadas a estos grupos específicos de ARVs. De los 25 análisis de resistencia realizados el 68% (17) de las muestras presentaron resistencia al menos a una familia de ARV, el 32% (8) restante no mostró resistencia a ninguno de los ARVs evaluados. De los pacientes con resistencia, se observó que el 65% (11) tenían resistencia a dos familias de ARVs, seguido del grupo de pacientes con resistencia a una familia de ARV con 29% (5) y en el 6% (1) se observó resistencia a las tres familias de ARVs evaluados.

Por familia de ARV, se observó que la mayor parte de pacientes tenía resistencia a los NNRTIs con 82.3% (14), seguido de los pacientes con resistencia a los NRTIs con 76.5% (13) y el 17.6% (3) tenía alguna resistencia a IP. En el grupo de pacientes con resistencia a los NRTIs (12), el 100% presentó resistencia a FTC y 3TC. En el grupo de pacientes con resistencia a los NNRTIs (15), el 100% presentó resistencia a NVP seguido de EFV con 93.3% (14). La ETR presentó la resistencia más baja en esta familia de ARVs con 60% (9). En el grupo de pacientes con resistencia a los IPs (3), la distribución fue heterogénea, se observaron patrones de resistencia incluso en las combinaciones potenciadas con ritonavir; además todos los pacientes presentaron resistencia a tipranavir y no se detectó resistencia a darunavir. Según los esquemas de TARV recibidos, previo al

análisis de resistencia, el 60% (15) de los pacientes había recibido esquemas basados en NNRTIs y en IPs; únicamente 24% (6) había recibido esquemas basados en NNRTIs; el restante 20% (4) había recibido esquemas basados en IPs.

En relación a las mutaciones, se identificaron un total de 79, de las cuales el 95% (75) generaron resultados con resistencia a alguna familia de ARV, lo cual correspondía a 17 pacientes con resistencia. Se identificaron mutaciones para las tres familias de ARVs. El 26.58% (21) de las mutaciones identificadas conferían resistencia a los NRTIs; el 46.83% (37) a los NNRTIs y el 26.58% (21) de las mutaciones a los IPs. Las mutaciones más frecuentes, y que conferían resistencia se presentan en la Tabla 3. Un grupo importante de estas mutaciones lo fueron las correspondientes a los NRTIs, las que fueron análogos de timidina (TAMs). El 12% (3) de los pacientes que fueron incluidos en el análisis presentaron ese tipo de mutaciones. Un paciente presentó la combinación de mutaciones TAMs K70R + K219E, los otros dos pacientes presentaron una TAM cada uno siendo la K219E y K219Q.

Conclusiones: La resistencia adquirida, en este grupo de población, fue menor a lo reportado en otros países latinoamericanos; sin embargo se considera similar a lo reportado por OMS en países con bajo o medio ingreso económico. Por familia de ARV los NNRTIs presentaron la frecuencia más alta de resistencia con 88.2% (15), seguidos de los NRTIs con 70.5% (12). La frecuencia más baja fue la presentada por los IPs con 17.6% (3). Estos hallazgos se correlacionan con el concepto de barrera genética, también identificado en otros estudios

2. INTRODUCCIÓN:

El monitoreo de resistencia a antirretrovirales (ARVs) representa un alto costo para los programas de manejo de personas viviendo con VIH/Sida (PVVS), por lo que se realiza principalmente en países desarrollados. En países en vías de desarrollo es muy limitado el número de resistencias realizadas. En el año 2007 Shekelle y colaboradores, reportaron únicamente ocho estudios de resistencia a antirretrovirales en pacientes que nunca habían recibido tratamiento ARV en Latinoamérica, ninguno de estos estudios provenía de la región centroamericana. Adicionalmente se conocen estudios de resistencia para mujeres embarazadas y niños en países en vías de desarrollo. Aunque el diseño de estos estudios varía considerablemente y los resultados obtenidos son sumamente heterogéneos (9 a 69% de resistencia a inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa reversa NNRTI), una de las conclusiones más importantes es que en Latinoamérica existe resistencia a antirretrovirales en todo tipo de PVVS. Sin embargo, sistemáticamente no se realizan pruebas de resistencia en estos países, por lo que un número significativo de pacientes continúa con regímenes de tratamiento ineficaces para las cepas que los infectan (Shekelle, y otros, 2007).

En Guatemala el uso de terapia antirretroviral (TARV) tiene más de 10 años de estar disponible (Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social MSPAS, 2012) Principalmente a criterio médico se ha realizado el inicio y cambio en la terapia, en estas poblaciones, sin soporte de alguna herramienta sistemática que apoye estas decisiones. Actualmente existe poca información acerca de los patrones de resistencias a ARVs y no se consideran los ensayos genotípicos como parte de la rutina en el monitoreo de estos pacientes.

El análisis de genotipo es capaz de detectar mutaciones en muestras de plasma con niveles de ARN de VIH mayores de 1000 copias/ml. Los resultados contienen una lista de las mutaciones detectadas, incluyendo una interpretación que indica

los ARVs a los cuales es posible que confieran resistencia (Clotet, y otros, 2004; Hirsch, y otros, 2003).

Adicionalmente las recomendaciones internacionales sugieren, como parte de la atención integral, realizar pruebas de resistencia a ARVs en pacientes con fallo virológico, a mujeres embarazadas y en pacientes recién infectados que puedan haber adquirido una cepa resistente. Por lo tanto estas pruebas deben ser integradas como otro componente del monitoreo en las personas con TARV, en combinación con la detección de la carga virale para VIH-1 (CV) y el recuento de linfocitos T CD4+. El objetivo general del proyecto fue determinar los patrones de resistencia a ARVs, por medio de genotipaje, en una muestra de población de personas viviendo con VIH/Sida, específicamente en pacientes con terapia antirretroviral que presentaban fallo virológico.

3. ANTECEDENTES:

3.1. Resistencia a Antirretrovirales (ARV's):

El manejo clínico de personas viviendo con VIH/Sida (PVVS) ha mejorado significativamente desde que empezaron a utilizarse medicamentos antirretrovirales (ARVs), en lo que se conoce como terapia antirretroviral altamente activa (TARV). En este tipo de terapia se administran diferentes clases de agentes que tienen como blanco distintos puntos en el ciclo de replicación del VIH. La terapia incluye: *inhibidores nucleósidos de la transcriptasa reversa* (NRTIs), *inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa reversa* (NNRTIs), *inhibidores de proteasa* (IPs) e *inhibidores de fusión* (IFs) (Palella F. , y otros, 1998). Dos años después de haber empezado a utilizarse el NRTI zidovudina (AZT), se reportaron los primeros casos de resistencia del virus a dicho medicamento (Larder, Darby , & Richman, 1989). Subsecuentemente, en 1992 se reportó el primer caso de transmisión de una cepa resistente a AZT (Erice, y otros, 1993). Desde entonces ha sido reportado el desarrollo de resistencia a todos los medicamentos ARVs comercialmente disponibles (Johnson, y otros, 2013).

Usualmente las mutaciones en el genoma viral que confieren resistencia a los ARV disminuyen la efectividad no solo de un medicamento sino de todos los que pertenecen al mismo tipo, es decir las mutaciones que confieren resistencia a AZT, también afectan la efectividad de otros NRTI. Como consecuencia, la presencia de una mutación individual puede tener efectos significativos en la respuesta del paciente a múltiples ARVs (Clavel & Hance, 2004; Clotet, y otros, 2004).

El desarrollo de mutaciones que confieren resistencia a los ARVs se explica por las altas tasas de replicación viral y la tasa de error inherente a la transcripción reversa de virus de una cadena de ARN. En pacientes recibiendo TARV, el riesgo de desarrollar resistencia a ARVs se incrementa si no se mantienen dosis óptimas de la droga en sangre, ya sea por falta de adherencia o por la prescripción de un

régimen subóptimo. Adicionalmente un paciente que no haya recibido ARVs puede infectarse con una cepa resistente, lo que se conoce como resistencia primaria (Clavel & Hance, 2004; Deeks, Barbourg, Grant, & Martin, 2002; Tobin, y otros, 2005).

Las mutaciones genéticas del VIH pueden ser clasificadas como primarias o secundarias. Las mutaciones primarias alteran la unión de la droga a su blanco, resultando en la necesidad de incrementar las cantidades de la droga para lograr inhibir la enzima blanco. Las mutaciones secundarias incrementan los niveles de resistencia por medio del mejoramiento del virus y de su capacidad de conservar mutaciones primarias. Usualmente, las mutaciones secundarias tienen poco o ningún efecto en los niveles de resistencia en ausencia de mutaciones primarias. En países en vías de desarrollo, es común encontrar otro tipo de variación genética, denominadas polimorfismo, principalmente en pacientes VIH positivo que no han recibido tratamiento ARV. Estas variaciones polimórficas usualmente se encuentran en la proteasa del VIH y se cree que constituyen mutaciones secundarias (Shekelle, y otros, 2007). El fallo virológico del tratamiento, y por lo tanto el apareamiento de resistencia a ARVs, es particularmente común en pacientes que recibieron monoterapia o terapia con solo dos drogas, previo a uso de TARV, que incluye NNRTIs y IPs (Paredes, y otros, 2000).

A pesar del desarrollo de nuevos agentes ARVs con efectos secundarios más leves y dosificaciones menos complejas, la resistencia a ARVs continúa siendo un serio problema para PVVS. Miles de pacientes que iniciaron terapia ARV a mediados de los años 90, son considerados actualmente portadores de cepas resistentes a múltiples drogas (Safer, 2010). Asimismo, una proporción significativa de infecciones nuevas por VIH son causadas por cepas resistentes a una o más drogas antirretrovirales. Se estima que hasta un 10% de pacientes recién infectados, que nunca han recibido tratamiento ARV, están infectados con cepas resistentes. La presencia de virus resistente a drogas antes de iniciar un nuevo régimen de ARVs es un predictor independiente de la respuesta virológica a

ese régimen (Bennett, Myatt, Bertagnolio, Sutherland, & Gilks, 2008; Pillay, 2004; Geretti, 2007)

Numerosos estudios prospectivos controlados han mostrado que pacientes cuyos médicos tratantes tienen acceso a datos genotípicos de resistencia a ARVs, responden mejor a TARV que aquellos cuyos médicos no cuentan con estos datos (Paredes, y otros, 2000). Es entonces crucial la evaluación del genotipo de cepas de pacientes que no han respondido al tratamiento, a fin de identificar mutaciones en las cepas y de esta forma caracterizar las causas y factores asociados al desarrollo de resistencia, los cuales son pasos críticos para modificar regímenes de tratamiento que incrementen la efectividad de la TARV.

3.2. Situación de la resistencia a ARV's a nivel mundial:

La mayoría de estudios de incidencia y prevalencia de resistencia a ARVs proveen información de países desarrollados. El reporte del proyecto WATCH, financiado por la Unión Europea, encontró en pacientes de reciente diagnóstico, tasas de resistencia a algún tipo de ARV de 5.5% en África, 7.4% en el este de Asia, 5.7% en el sureste asiático, y 6.4% en América Latina (Shekelle, y otros, 2007; Bowles, Wensing, van de Vijver, Schuurman, Boucher, & WATCH investigators, 2006). Las tasas de resistencia para Norte América y Europa fueron de 11.4 y 10.6% respectivamente, más altas que en las regiones en vías de desarrollo. Los patrones de resistencia a nivel mundial parecen reflejar las tendencias en el uso de ARVs, por ejemplo, en países desarrollados, donde los medicamentos ARVs han estado disponibles por más tiempo, las tasas de resistencia a NNRTIs van de 3 a 4%, mientras que en países en vías de desarrollo, donde los recursos son considerablemente más limitados, las tasas de resistencia son más bajas (Shekelle, y otros, 2007). Es entonces de esperar que conforme el uso de ARVs se generalice en países en vías de desarrollo, las tasas de resistencia a antirretrovirales aumenten.

En Latinoamérica, Shekelle y colaboradores, 2007 reportaron ocho estudios de resistencia a antirretrovirales en pacientes que no habían recibido tratamiento ARV, ninguno de estos estudios provenía de la región centroamericana. En ellos se encontró de 2 a 14% de Resistencia a NRTIs, la resistencia a NNRTIs en este grupo de pacientes fue de 0 a 2%, mientras que los niveles de resistencia a IP fueron de 1.2 a 7.69% (Shekelle, y otros, 2007).

3.3. Evaluación de resistencia a ARV's

El desarrollo de resistencias a ARVs puede determinarse por medio de pruebas genotípicas o fenotípicas. Los ensayos genotípicos detectan mutaciones en los genes que codifican la transcriptasa reversa o la proteasa. Las pruebas fenotípicas evalúan la habilidad del virus de replicarse en la presencia de la droga analizada. La interpretación de resultados de ensayos genotípicos depende de la evaluación de la probabilidad de que una mutación determinada confiera resistencia a una o más drogas ARVs. Aunque la interpretación de resultados de pruebas fenotípicas es más directa comparada con los ensayos genotípicos, estas pruebas son más costosas y su utilidad clínica está menos validada por estudios clínicos (Clotet, y otros, 2004; HHS Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents; Hammer, y otros, 2006).

Los ensayos genotípicos se basan en la amplificación y secuenciación del virus proveniente de un paciente a fin de identificar mutaciones en los genes de transcriptasa reversa y de proteasa del VIH. Estas mutaciones correlacionan con la resistencia clínica a ARVs. Este tipo de ensayos son capaces de detectar mutaciones en muestras de plasma con niveles de ARN de VIH mayores de 1000 copias/ml. Los resultados son reportados como una lista de las mutaciones detectadas, generalmente en el reporte se incluye una interpretación que indica las drogas a las cuales es posible que las mutaciones detectadas confieran resistencia (Clotet, y otros, 2004; Hirsch, y otros, 2003).

Para la interpretación correcta de los resultados de genotipaje es indispensable contar con la historia detallada de los medicamentos ARVs que el paciente ha recibido y de una revisión clínica experta (Shekelle, y otros, 2007).

3.4. Situación del VIH en Guatemala

3.4.1. VIH/Sida en Guatemala:

En Guatemala, con una población aproximadamente de 14 millones de habitantes, la prevalencia estimada de la infección es de 0.79, en la población general. Para diciembre del año 2011 se habían notificado 27,474 casos a partir de 1984, cuando se hizo el primer reporte en el país. Sin embargo, estimaciones y proyecciones de la epidemia para el año 2009 consideraban que el número de personas viviendo con VIH superaba los 60,000 casos. La transmisión del virus es principalmente por contacto sexual (94%) y materno-infantil (5%). El 78% de los casos fueron reportados en 7 de los 22 departamentos, adicionalmente se estima que cerca de dos tercios de las infecciones potenciales se mantienen sin ser detectadas (Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social MSPAS, 2010; Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social MSPAS, 2012).

Estimaciones del año 2005 indicaban que cerca de la mitad de los casos de VIH/Sida se identificarían en la población en edad productiva del país.

El gran número de personas infectadas por VIH está teniendo un impacto significativo en los centros hospitalarios capitalinos. La infección por VIH es la segunda causa de ingresos al servicio de medicina interna del Hospital Roosevelt (junto al Hospital General San Juan de Dios, los dos únicos grandes hospitales estatales en Guatemala) y representa más del 20% de los pacientes hospitalizados en los servicios de medicina interna del Hospital San Juan de Dios.

3.4.2. Clínica Familiar “Luis Ángel García”.

La Clínica Familiar Luís Ángel García (CFLAG) es una clínica de atención integral para adultos y niños viviendo con VIH/Sida. Fue fundada en 1988 en el Hospital General San Juan de Dios y constituyó uno de los primeros proyectos de la Asociación de Salud Integral -ASI-, la cual la apoya logística y financieramente.

CFLAG sirve a más de 2,000 hombres, mujeres y niños con VIH/SIDA y cubre la atención médica de usuarios de todas las regiones del país con cerca de 7000 consultas al año. La clínica además de estos servicios brinda consultas y atención a pacientes VIH/Sida hospitalizados, pruebas de detección del VIH con orientación, servicios diagnósticos e investigación aplicada para el desarrollo.

3.5. Uso y monitoreo de antirretrovirales en Guatemala

Desde el año 2004, Guatemala tiene subvención del Fondo Global para apoyar acciones de prevención, fortalecimiento de la sociedad civil, reducción de casos por vía vertical y acceso a la atención integral. Hasta el 2009, dos terceras partes de la subvención fueron dirigidos a provisión de tratamiento. Actualmente el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS) es receptor principal de la propuesta, acompañado de HIVOS, una ONG internacional. Adicionalmente se estima que únicamente el 50% de las personas con VIH han sido beneficiadas.

En este contexto, la CFLAG en el Hospital General San Juan de Dios ha sido reconocida como uno de los dos centros de referencia en la atención integral del VIH/Sida en Guatemala, lo que le ha permitido que más de 200 pacientes adultos y más de 180 niños tengan acceso a la terapia antirretroviral. En paralelo se ha logrado mejorar el diagnóstico de algunas infecciones oportunistas, así mismo se realizan rutinariamente determinaciones de cargas virales y recuentos de linfocitos T CD4+, entre otros. Además se ha implementado el programa de prevención de

la transmisión vertical del VIH en mujeres embarazadas en cuidados prenatales y labor y partos.

4. JUSTIFICACIÓN:

Las guías a nivel internacional indican que la TARV es la única estrategia para lograr la supresión viral; sin embargo la capacidad del VIH para mutar y replicarse aún en presencia de ARVs ha emergido como un problema en el tratamiento de la infección (World Health Organization, 2010). Como consecuencia de esa resistencia a los medicamentos cabe citar el fracaso del tratamiento; lo cual genera un aumento de los costos sanitarios directos e indirectos para los pacientes, debido a la necesidad de administrar otros tratamientos más costosos. En Latinoamérica se estima que el gasto anual en promedio para un paciente bajo TARV de primera línea es de USD 316, mientras que el costo estimado para segunda y tercera línea es de USD 810 y USD 2321 respectivamente (Organización Panamericana de Salud, 2012). Datos para Guatemala indican que aproximadamente el 5% de los pacientes con TARV se encuentran bajo tratamiento de segunda línea, que según las guías nacionales incluye IPs (Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, 2010). En muchos de los casos el cambio se ha realizado sin evidencia justificada, lo cual podría, en algunos casos, conllevar a tratamientos igualmente subóptimos. La implementación de metodologías que permitan conocer los perfiles de resistencia como el análisis de genotipos puede reducir costos al sistema de salud y junto con ello brindar una mejor calidad de vida al paciente a través de una TARV efectiva. Muchos de estos cambios pueden resultar en respuestas sub-óptimas debido a la falta de individualización de esquemas según los resultados del genotipo.

Actualmente el grado de resistencia del VIH a los medicamentos ARV como resultado de la expansión de la TARV en países con recursos limitados no se ha podido cuantificar de forma sistemática debido a la falta de datos e información fiables (World Health Organization, 2012). A través de este estudio se ha logrado obtener información sobre perfiles de resistencia y mutaciones en pacientes en fallo virológico, estos resultados permitieron tomar decisiones médicas sobre la TARV, de los pacientes incluidos, además de identificar los perfiles y mutaciones

más frecuentes. Este proyecto justificó la solicitud basado en aspectos como: A) El uso racional y el costo beneficio de las pruebas de resistencia; B) Disposición de personal capacitado en el país; C) Apoyo de otras fuentes para atender grupos de pacientes específicos; D) Oportunidad para el manejo óptimo de las terapias antirretrovirales disponibles. Actualmente se estima que unas 10,000 personas que viven con VIH reciben tratamiento ARV; sin embargo la selección de los medicamentos de segunda línea en pacientes que presentan fallo virológico no ha sido evaluada, el análisis de los patrones de resistencia permite evaluar la efectividad de dichos esquemas.

5. OBJETIVOS:

General:

Determinar los patrones genotípicos de resistencia del VIH-1 en una muestra de personas viviendo con VIH/Sida, en Guatemala.

Específicos:

- Determinar los patrones genotípicos de resistencia a antirretrovirales en personas con terapia antirretroviral que presenten fallo virológico, con una carga viral superior a 1000 copias de ARN viral /ml de plasma.
- Identificar genotípicamente las mutaciones de resistencia del VIH-1 a antirretrovirales.

6. METODOLOGÍA:

6.1. *Método, técnicas e instrumentos*

6.1.1. Diseño del Estudio:

Se realizó un estudio descriptivo observacional de corte transversal en muestras provenientes de pacientes que asistían a las UAIs para VIH en Guatemala.

6.1.2. Unidad de análisis y observación:

Todas las muestras analizadas pertenecían a pacientes mayores a 18 años, seropositivos a la infección por VIH-1 que asistían a los centros de atención integral.

6.1.3. Sujeto de estudio y Reclutamiento:

Los pacientes incluidos en este estudio fueron aquellos quienes presentaban fallo virológico.

6.1.4. Criterios de inclusión:

Se consideró como sospecha clínica de resistencia si llenaba algunos de criterios (Clotet, y otros, 2004): para pacientes tratados: Se efectuaron los test de resistencia en los casos en donde, se requería cambios en el tratamiento antirretroviral por fallo virológico; para ello fue necesaria la historia de los ARVs utilizados, la adherencia al tratamiento y tener una carga viral > 1000 copias/ml.

6.1.5. Tipo de estudio:

Se realizó un estudio descriptivo observacional de corte transversal en muestras que provenían de pacientes que asistían a las UAIs para VIH en Guatemala. Se seleccionaron aquellos pacientes a los que clínicamente se sospechó la resistencia a ARVs y que paralelamente llenaron los criterios de inclusión establecidos para este estudio. Las variables que se estudiaron

fueron los resultados de las mutaciones identificadas en las distintas cepas del VIH de las muestras analizadas.

6.1.6. Muestra y muestreo:

Fue calculada una muestra por conveniencia de 50 pacientes. La estimación de esta muestra se basó en el número de pruebas disponibles para esta metodología (60) y el 16.66% de controles o repeticiones a efectuar; sin embargo, DIGI únicamente proporcionó un kit para genotipificación; por lo que solamente se realizaron 25 análisis.

6.1.7. Colección de datos:

La información clínica fue obtenida a través de la forma de solicitud de resistencias a ARVs enviada por el médico tratante. La información recolectada incluyó: 1) características demográficas 2) información clínica relacionada a VIH y 2) datos de laboratorio. A partir de la forma de colección se creó una base de datos para el ingreso de esta información y de los resultados, para un posterior análisis.

6.1.8. Aspectos éticos:

A criterio médico fueron procesadas aquellas muestras que necesitaran el análisis de genotipo. Los médicos referentes de las muestras llenaron la forma de solicitud de resistencia. Durante el desarrollo de la investigación no se utilizaron los nombres de las personas a las cuales pertenecían las muestras en estudio y ninguno de ellos fue expuesto a riesgos. Para este tipo de investigación no se considera indispensable un consentimiento informado ya que a solicitud del médico tratante las muestras colectadas de manera rutinaria (en el monitoreo de las cargas virales y recuentos de linfocitos T CD4+ de los pacientes) pueden ser derivadas para el análisis de la resistencia a antirretrovirales. Sin embargo, el tema de este proyecto cuenta con la aprobación del Comité de Investigación del Hospital General San Juan de Dios.

6.2. Procedimientos utilizados para el procesamiento de las muestras:

Recuentos de Linfocitos T CD4+: El recuento de células CD4 se realizó a través de citometría de flujo FACSCount (Becton Dickinson™). En esta metodología, se cuantificó el número absoluto de T CD4+ en una muestra de sangre con EDTA (Strauss, y otros, 1996; Biosciences, 2008). En el caso de las muestras que fueron referidas de otras UAIs, se solicitó a la unidad respectiva que incluyera en el formulario de solicitud de la prueba, el recuento de linfocitos CD4+ correspondiente.

Copias de HIV-1/ml o carga viral: Estas fueron cuantificadas utilizando los equipos COBAS Ampliprep y COBAS Taqman HIV-1. El ensayo se basa en la amplificación *in vitro* del ácido nucleico viral para la cuantificación de ARN del VIH-1 en plasma, a través de la metodología de PCR, en tiempo real. El test utiliza el instrumento COBAS AmpliPrep para el procesamiento automatizado de la muestra y el analizador COBAS TaqMan 48 para los procesos automatizados de amplificación y detección. La prueba permite cuantificar el ARN del HIV- 1 en el intervalo de 20 a 10.000.000 copias/ml.

Procedimiento del ensayo de genotipificación TRUGENE® HIV-1: El procedimiento del test de genotipificación TRUGENE® HIV-1 (Grant, y otros, 2003; Gale, Kan, & Shinol, 2006) se inició con la extracción de ARN viral de muestras de plasma de pacientes. Esta extracción se realizó con el método de IAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGENTM). El ARN extraído se utilizó para la producción de cADN por medio de una reacción con transcriptasa reversa y PCR (RT-PCR). El cADN obtenido de esta reacción fue amplificado y secuenciado simultáneamente utilizando la metodología CLIP. Los principales aspectos de la metodología CLIP que favorecen su aplicación en ensayos de genotipificación incluyen: la capacidad de realizar amplificación y secuenciación simultánea; la utilización del mutante F667Y (5'→3' exo) de Taq ADN polimerasa que hace que las intensidades de las bandas de ADN sean uniformes, y la capacidad de emplear dos sets de primers que permitan que un solo templado pueda ser secuenciado en ambas direcciones al mismo tiempo. La secuenciación se realizó en un secuenciador Long-Read Tower

que integra un software de genotipado. De cada placa de secuenciación CLIP, el software realizó el análisis y crea una huella genética de la muestra del paciente para la detección de mutaciones y el control de la contaminación. La huella genética también puede usarse para comparar futuros genotipos del mismo paciente en busca de coincidencias. Una vez terminado el análisis de secuencias y guardados los datos, se generó un informe de resistencias TRUGENE HIV-1 para su uso clínico. Las mutaciones asociadas a resistencia a los ARVs detectadas en la muestra fueron procesadas utilizando las guías internacionales. Cuando se aplica una regla por la presencia de una mutación o de una combinación de mutaciones, se incluye el efecto de resistencia correspondiente en el perfil de resistencias del informe de resistencias TRUGENE HIV-1. En los casos en que se activan varias alarmas, se comunica el efecto de resistencia más intenso. Una vez generado, el informe de resistencias TRUGENE HIV-1 fue revisado por una persona calificada en el campo del genotipado del VIH.

7. RESULTADOS:

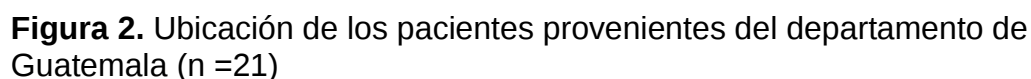
En este estudio el 68% (17) de las muestras analizadas presentaron resistencia a por lo menos un ARV; para esto, fueron analizadas 25 muestras de pacientes adultos, siendo de sexo femenino el 60% (15). La edad promedio fue de 38 años (rango de 20-61 años). El 48% (12) de los pacientes estaban casados o unidos y el 60% (15) tenían únicamente una escolaridad primaria. El 52% (13) trabajaba al momento de la toma de muestra, con un ingreso promedio mensual de Q. 1,721. Un resumen de las características demográficas se presenta en la Tabla 1 en donde se encuentran clasificados según la presencia (PR) o ausencia (AR) de resistencia.

Tabla 1: Características demográficas de la muestra de estudio (N=25)

<i>Característica</i>	AR* n=8 (%)	PR* n=17 (%)	<i>P**</i>
Género			
Femenino	5 (62.5)	10 (58.8)	0.861
Masculino	3 (37.5)	7 (41.2)	
Edad en años, media (rango)	36.8 (20-60)	39.1 (22-61)	
Lugar de residencia			
Ciudad	7 (87.5)	14 (82.3)	0.470
Departamental	1 (12.5)	3 (17.7)	
Estado civil			
Soltero/Divorciado o viudo	4 (50)	9 (53)	0.201
Casado/Unido	4 (50)	8 (47)	
Escolaridad			
Ninguna	1 (12.5)	1 (5.88)	0.886
Primaria	4 (50.0)	11 (64.7)	
Básicos/Diversificado	3 (37.5)	5 (29.4)	
Trabajo actual	4 (50)	9 (52.9)	
Ingreso mensual, media (rango)	1513 (750-2500)	1813 (200-3000)	

*AR: Ausencia de resistencia; PR: Presencia de resistencia; **Prueba de Chi-cuadrado.

Figura 1. Distribución geográfica de la muestra de estudio (N=25)



Con respecto al perfil clínico, el grupo en estudio fue dividido según la presencia (PR) o ausencia de resistencia (AR) (Ver Tabla 2). En relación al tiempo de vivir con el diagnóstico de VIH fue de 6.0 y 7.7 años para el grupo PR y AR respectivamente. Se observó un recuento mayor de células CD4 en el grupo de PR con 205 vrs 181 células/uL para el grupo con AR. La carga viral fue similar en ambos grupos con Log₁₀ de 4.7 y 4.8, sin embargo, ninguno de los parámetros anteriores presentó diferencia estadísticamente significativa ($p>0.05$). Por clasificación clínica, el 76% (19) de los pacientes se encontraban asintomáticos al momento de solicitar la prueba. En lo relacionado a TARV la mediana del tiempo de haber iniciado a recibir la misma fue de 5.1 y 4.8 años para el grupo AR y PR respectivamente. Según el número de esquemas previos a la sospecha de resistencia, la mitad de los pacientes con AR había recibido tres esquemas; mientras que el 35% (6) de los pacientes con PR había recibido un esquema previo, ninguna de estas variables presentó diferencia estadísticamente significativa ($p>0.05$).

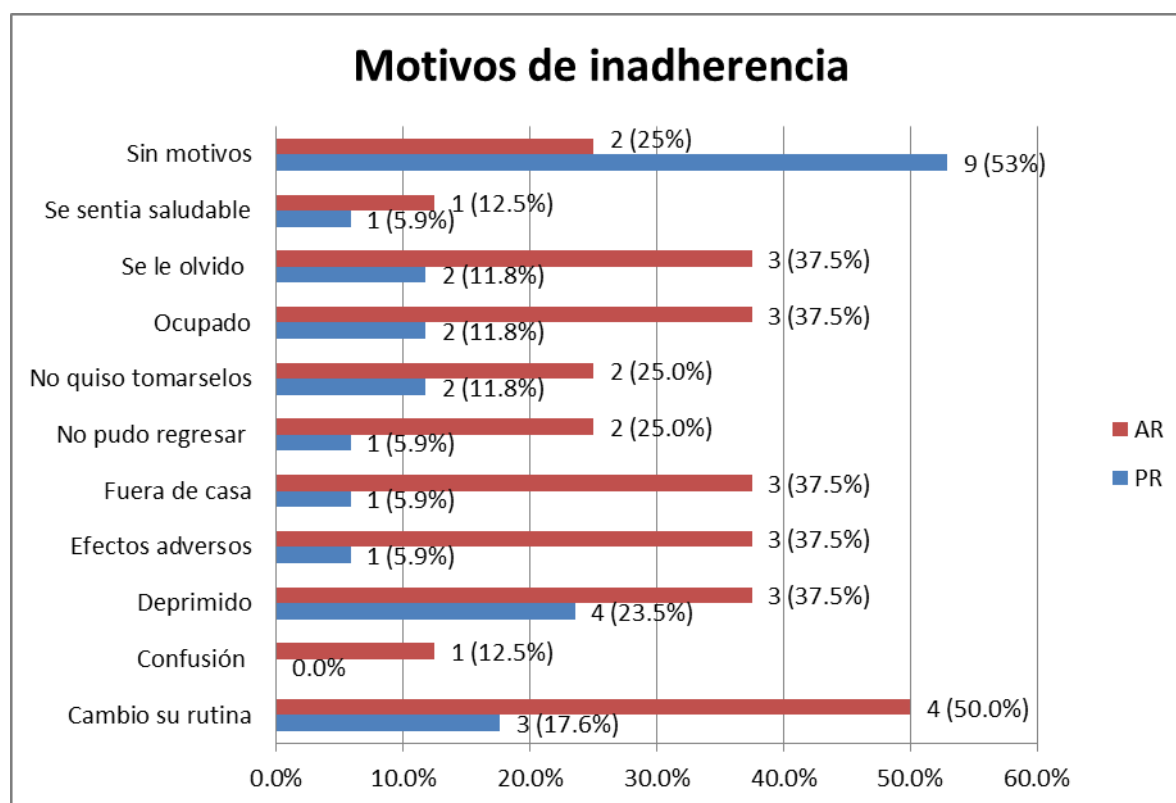
Tabla 2. Diferencias en las características clínicas entre los pacientes (N=25)

Características clínicas	Resistencia		p
	AR (n=8)	PR (n=17)	
Tiempo de vivir con VIH (mediana en años, RIQ)	7.7 (7.2-11)	6.0 (3.3-7)	0.097*
Recuento de CD4 (cél/uL) (mediana, RIQ)	181 (92-266)	205 (106-254)	0.673*
Carga Viral (copias/mL) Log ₁₀ (mediana, RIQ)	4.8 (4.2-5.1)	4.7 (4.0-4.9)	0.411*
Clasificación (%)			
Sintomático	1 (12.5)	5 (28.41)	0.853 [¥]
Asintomático	7 (87.5)	12 (70.59)	
Tiempo de exposición a ARVs, (mediana en años, RIQ)	5.1 (2.2-6.9)	4.8 (2.8-6.0)	1.000*
Número de esquemas previos (%)			
Un esquema	0 (0)	6 (35.3)	0.129 [£]
Dos esquemas	3 (37.5)	6 (35.3)	0.525 [£]
Tres esquemas	4 (50)	2 (11.8)	0.192 [£]
Cuatro esquemas	1 (12.5)	3 (17.6)	0.474 [£]

*Comparación de medianas, significancia exacta de Fisher; [¥]Prueba de Chi-cuadrado; [£]Prueba exacta de Fisher.

Otro parámetro evaluado fue la adherencia a ARVs. El 100% de los pacientes con AR, expresaron haber asistido a talleres de adherencia mientras que en el grupo con PR el 82.3% (14) indicó haber asistido. La adherencia fue determinada a través del recuento de pastillas en un año de seguimiento, el promedio fue 81.6% para el grupo con PR y 82.6% para el grupo AR. Las razones de inadherencia en el grupo de pacientes con AR fue el cambio en la rutina 50% (4); y para los pacientes con PR fueron el sentirse deprimido 23.5% (4) y cambio en la rutina 17.6% (3). A pesar de esto, el 25% (2) y 52.9% (9) de los pacientes con AR y PR respectivamente, no exteriorizaron motivos específicos para la inadherencia.

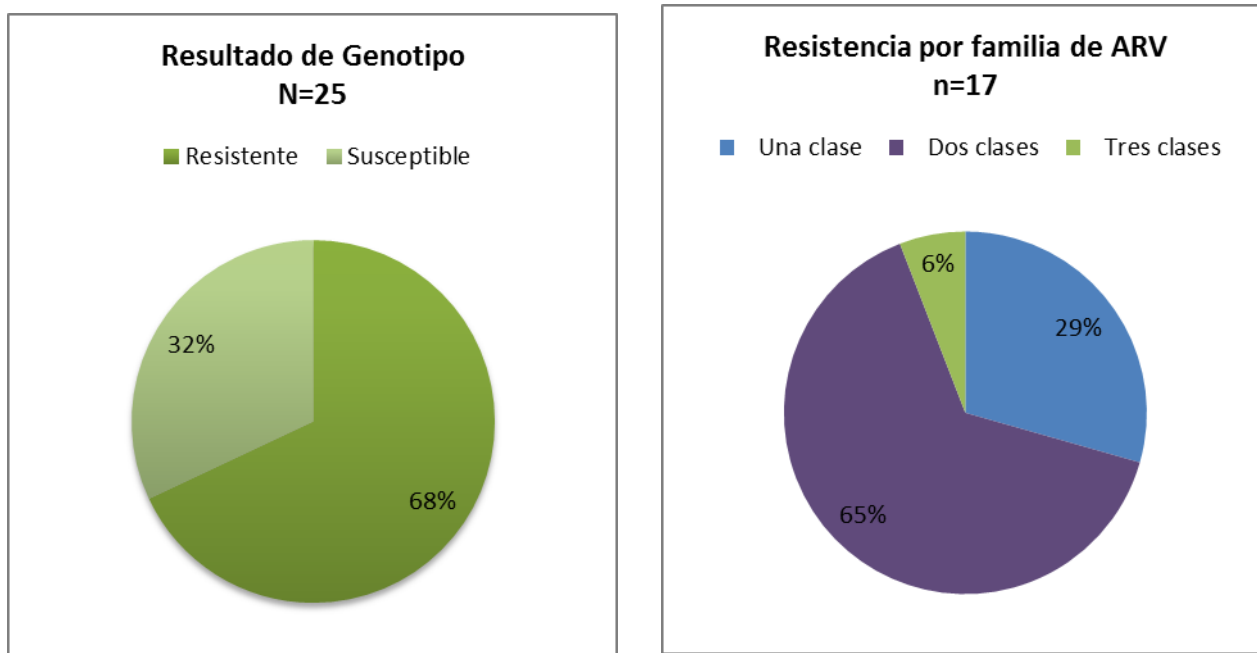
Figura 3. Motivos inadherencia referidos por los pacientes (N=25)



En Guatemala, los ARVs frecuentemente recomendados por la guía nacional, para el año 2010 eran los NRTIs, NNRTIs y los IPs. El análisis realizado en este estudio detectó las mutaciones relacionadas a estos grupos específicos de ARVs. De los 25 análisis de resistencia realizados el 68% (17) de las muestras presentaron resistencia al menos a una familia de ARV, el 32% (8) restante no

mostró resistencia a ninguno de los ARVs evaluados. De los pacientes con resistencia, se observó que el 65% (11) tenían resistencia a dos familias de ARVs, seguido del grupo de pacientes con resistencia a una familia de ARV con 29% (5) y en el 6% (1) se observó resistencia a las tres familias de ARVs evaluados. (Figura 4).

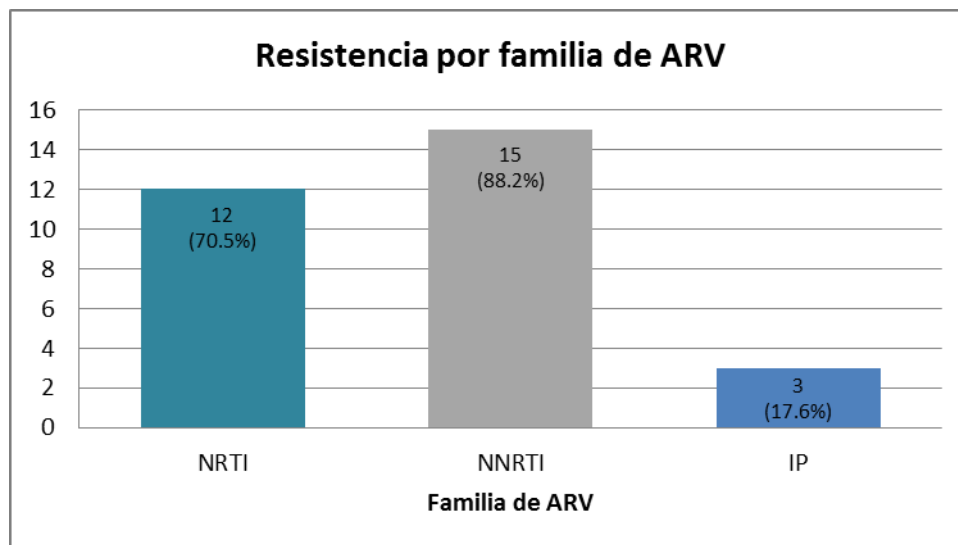
Figura 4. Resultado del Resistencia (N=25)



En relación a los pacientes en los que se identificó resistencia a dos familias de ARVs, el 80% (9) presentó resistencia a NRTI+NNRTI, y el resto del grupo presentó resistencia a NRTI+IP y NNRTI+IP. De los pacientes con resistencia a una familia de ARV, el 80% (4) presentó resistencia a los NNRTIs y el 20% (1) restante a los NRTIs.

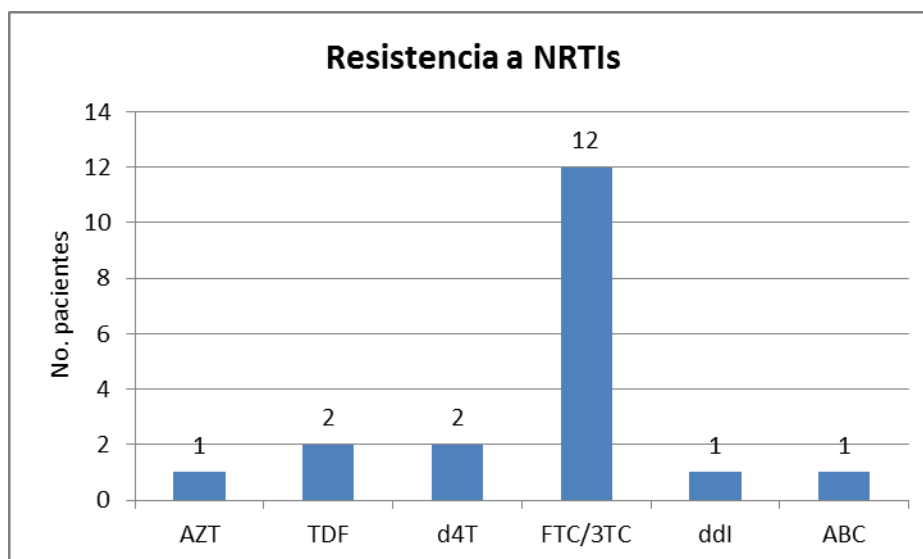
Por familia de ARV, se observó que la mayor parte de pacientes tenía resistencia a los NNRTIs con 82.3% (14), seguido de los pacientes con resistencia a los NRTIs con 76.5% (13), mientras que el 17.6% (3) de los pacientes tenían alguna resistencia a IP. (Figura 5).

Figura 5. Resistencia por familia de antirretrovirales (N=25)



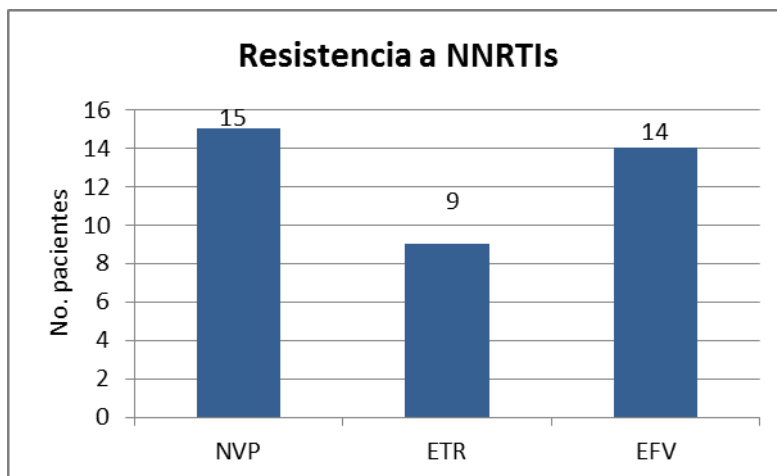
En el grupo de pacientes con resistencia a los NRTIs (n=12), el 100% presentó resistencia a FTC y 3TC (Figura 5.), para el resto de la familia la resistencia fue de 7.69% (1) a 15.38% (2).

Figura 6. Resistencia a Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de Nucleósidos (NRTI) (n= 12)



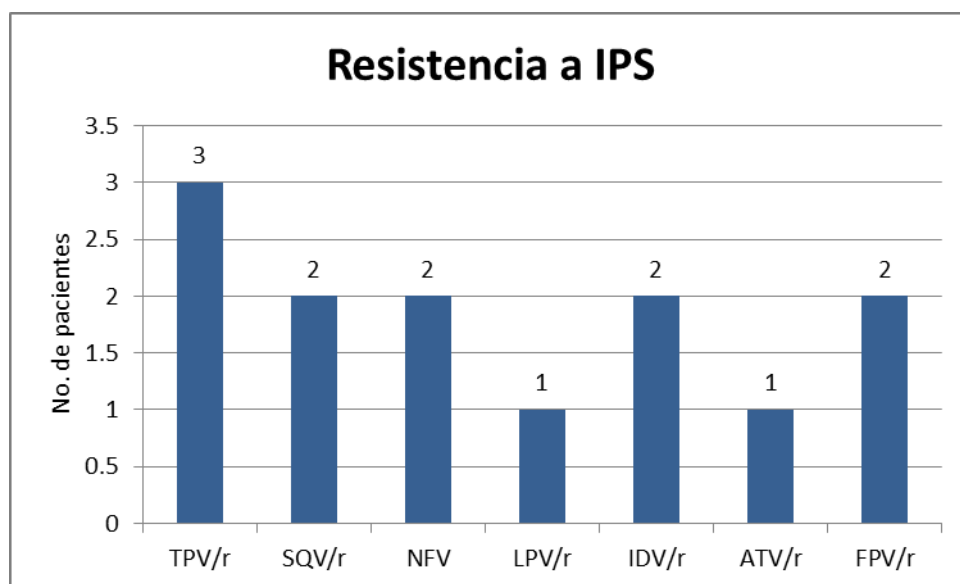
En el grupo de pacientes con resistencia a los NNRTIs (n=15), el 100% presentó resistencia a NVP seguido de EFV con 93.3% (14) (Figura 7.). La ETR presentó la resistencia más baja en esta familia de ARVs con 60% (9).

Figura 7. Resistencia Inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de Nucleósidos (NNRTI) (n= 15)



En el grupo de pacientes con resistencia a los IPs (n=3), la distribución fue heterogénea, se observaron patrones de resistencia incluso en las combinaciones potenciadas con ritonavir (Figura 8); además todos los pacientes presentaron resistencia a TPV y no se detectó resistencia a DVR.

Figura 8. Resistencia Inhibidores de la proteasa (IP) (n=3)



Como uno de los objetivos se estableció identificar las mutaciones de resistencia, por lo cual, para cada paciente se establecieron los ARVs que había recibido y las mutaciones identificadas (Anexo 1).

Según los esquemas de TARV recibidos, previo al análisis de resistencia, el 60% (15) de los pacientes había recibido esquemas basados en NNRTIs y en IPs; el 24% (6) había recibido solamente esquemas basados en NNRTIs; el restante 20% (4) en IPs.

Respecto al análisis de genotipo, se identificaron un total de 79 mutaciones, de las cuales el 95% (75) generaron resultados con resistencia a alguna familia de ARV, lo cual correspondía a 17 pacientes con resistencia. Se identificaron mutaciones para las tres familias de ARVs. El 26.58% (21) de las mutaciones identificadas conferían resistencia a los NRTIs; el 46.83% (37) a los NNRTIs y el 26.58% (21) de las mutaciones a los IPs. Las mutaciones más frecuentes, según su asociación con la familia de ARV a la que conferían resistencia o a la cual se encontraban asociadas se presentan en la Tabla 3.

Tabla 3. Mutaciones identificadas por familia de ARV (N=79)

Mutaciones asociadas a resistencia que inhiben la TR						Mutaciones asociadas a resistencia a IP		
NRTIs			NNRTIs			IPs		
Mutación	Frecuencia	%	Mutación	Frecuencia	%	Mutación	Frecuencia	%
M184V	9	43%	V179D	6	16%	M36I	6	29%
M184I	3	14%	K103N	5	14%	K43T	1	5%
K219E	2	10%	G190A	5	14%	L33F	1	5%
K65R	1	5%	Y181C	5	14%	M46I	1	5%
K70R	1	5%	K101E	2	5%	V82A	1	5%
T69N	1	5%	V108I	2	5%	I47V	1	5%
K219Q	1	5%	V179E	2	5%	I84V	1	5%
K70E	1	5%	A98G	1	3%	I54V	1	5%
Y115F	1	5%	L100I	1	3%	L90M	1	5%
V118I	1	5%	K101P	1	3%	A71V	1	5%
			K103S	1	3%	A71T	1	5%
			G190S	1	3%	Q58E	1	5%
			G190E	1	3%	L10I	3	14%
			V106I	1	3%	K20R	1	5%
			V90I	1	3%			
			V179T	1	3%			

			K101Q	1	3%			
Total	21	100%	Total	37	100%	Total	21	100%

Un grupo importante de mutaciones relacionadas a los NRTIs, lo constituyen las mutaciones a análogos de timidina (TAMs). El 12% (n=3) de los pacientes que fueron incluidos en el análisis presentaron mutaciones TAM. Un paciente presentó la combinación de mutaciones TAMs K70R + K219E, los otros dos pacientes presentaron una TAM cada uno siendo la K219E y K219Q.

8. DISCUSIÓN:

El objetivo de este estudio fue determinar los patrones de resistencia en un grupo de 25 pacientes en fallo virológico, en los cuales se identificó una resistencia de 68% (17), menor a lo reportado en otros países de Latinoamérica como Colombia y Chile con 85.7% y 77% respectivamente. Asimismo estos resultados son similares a lo identificado por la Organización Mundial de la Salud en países de bajo y medio ingreso económico de Asia y África en donde reportaron una resistencia adquirida de 60% (World Health Organization, 2012)

Los pacientes incluidos en su mayoría residían en la ciudad capital 84% (21) y el 56% (14) eran mujeres. La edad promedio fue de 38 años. A pesar de que ninguna de estas variables fue estadísticamente significativa ($p \geq 0.05$), la edad fue similar a la reportada por Parienti y colaboradores quienes encontraron mayor riesgo de fallo virológico en adultos jóvenes comparados con personas de mayor edad. Otros estudios también han identificado relación entre el fallo virológico y la edad (Alave, y otros, 2013; Diaz, Silva, Bermudez, Rooncacio, Diruggiero, & Mantilla, 2007).

En relación a las variables clínicas, la mediana del recuento de linfocitos T CD4+ fue de 187 cél/uL y el Log₁₀ de la carga viral fue de 4.70. La mediana del recuento de linfocitos T CD4+ identificada en este estudio, fue menor a lo reportado por Alave y colaboradores (242 cél/uL), quienes identificaron al recuento de linfocitos T CD4+, como un factor asociado a la falla virológica en pacientes que recibían TARV, otros estudios también han descrito que un recuento de linfocitos T CD4+ <

200 céls/ml en pacientes con tratamiento ha sido asociado al fallo virológico (van Oosterhout, y otros, 2009). En el caso de la carga viral, el criterio de inclusión para este estudio era un valor mayor a 1000 copias/ml de plasma. Sin un tratamiento ARV óptimo, la replicación viral aumenta y como consecuencia se ha observado una disminución en los recuentos de linfocitos T CD4+, por lo que estas dos variables generalmente han sido relacionadas. Adicionalmente tanto las variables clínicas como demográficas fueron comparadas según la presencia o ausencia de resistencia; sin embargo, no se identificaron asociaciones significativas.

Aunque el fallo virológico podría estar asociado a características demográficas (Alave, y otros, 2013), otros aspectos interrelacionados como la falta de adherencia y la resistencia a la TARV también han sido descritos; en muchos de los pacientes en los que se ha presentado falla a la terapia inicial, el principal motivo ha sido la inadherencia o la incapacidad para tomar o tolerar el medicamento, entre otras. Así mismo la falta de adherencia a la TARV ha sido considerada como uno de los factores relacionados en el desarrollo de resistencia (Nachega, y otros, 2011; Patel & Patel, 2006).

En este estudio, la adherencia óptima también fue uno de los requisitos solicitados previo a realizar el análisis de resistencia. En un estudio previo en pacientes provenientes de una de las clínicas incluidas en el estudio, se identificó que el fallo virológico era menos frecuente entre los pacientes con adherencia mayor o igual a 95% (Campbell, Ruano, Samayoa, Estrada, Arathoon, & Young, 2010). En este estudio, el promedio de la adherencia medida fue de 81.6% y 82.6% entre los pacientes con y sin resistencia respectivamente. A pesar de que la adherencia medida en ambos grupos fue similar, es posible que en aquellos en los que no se identificó resistencia la adherencia real haya sido menor. Adicionalmente se ha descrito que una adherencia del 80 al 90% podría ser un predictor para la resistencia antiretroviral (Harrigan, y otros, 2005), por lo que pacientes que presenten adherencias sub-óptimas deberían ser monitoreados e incluidos en circuitos de adherencia para prevenir el desarrollo de resistencia.

Los motivos de inadherencia también fueron evaluados. El grupo de pacientes con resistencia identificaron como razones más frecuentes para haber presentado inadherencia la depresión 23.5% (4) y el cambio de la rutina 17.6% (3); mientras

que el 50% (3) los pacientes sin resistencia identificó el cambio en la rutina como el principal motivo para no tomar el medicamento. La identificación de estos factores en pacientes con TARV debería ser explorada para poder determinar el mejor plan de abordaje y apoyo individualizando cada uno de los casos.

Por familia de ARV fue identificada una resistencia de 88.2% para NNRTIs seguido de 70.5% para NRTIs y 17.6% para IPs. Otros estudios también han identificado mayor resistencia a NNRTIs, seguido de NRTIs e IPs (World Health Organization, 2012; Ríos, y otros, 2007). Estos resultados correlacionan con el concepto de barrera genética, definida como el número de mutaciones requeridas para que se desarrolle resistencia a un ARV (Van de Vijver, y otros, 2010; Lubber, 2005). Así la familia de NNRTIs tiene la barrera genética más baja, una mutación podría conferir resistencia cruzada a la familia completa, por lo que frecuentemente la mayor resistencia ha de presentar a esta familia de ARVs. En contraste la familia de IPs tiene la barrera genética más alta, por lo que se requiere más de una mutación para conferir resistencia a estos medicamentos y generalmente no se presenta resistencia cruzada, teniendo la resistencia más baja. Adicionalmente los resultados identificados podrían representar el orden en el que han sido administrados los esquemas de TARV, ya que las recomendaciones nacionales generalmente sugieren como esquemas de primera línea los basados en NNRTIs, seguidos de los IPs para segunda y tercera línea (Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, 2010), esto se puede observar a través de los pacientes que únicamente habían recibido un esquema (6), ya que el 83.3% (5) habían recibido esquemas basados en NNRTIs.

En relación al análisis de mutaciones por familia de ARV, para los NNRTIs, fueron identificadas mutaciones que confieren resistencia como la K101P 3% (1) a EFV, NVP y RPV; la K103N 14% (5) y G190E/S 6% (2) a EFV y NVP; la G190A 14% (5), Y181C 14% (5) y K103S 3% (1) a NVP (Stanford University, 2012). Una de estas mutaciones, la K103N, se presentó en 14% (5) de los pacientes con resistencia a NNRTIs, se ha identificado que esta mutación es seleccionada por NVP y EFV y confiere alto grado de resistencia a los mismos; ya que NVP y EFV

han sido los principales NNRTIs administrados, la presencia de esta mutación limita el uso subsecuente de dichos ARVs, además ha sido identificada como causa de fallo virológico a NNRTIs y es una de las más frecuentes en pacientes con resistencia a NNRTIs (Safer, 2010).

En el caso de la familia de los NRTIs se ha descrito que cepas con resistencia a los principales ARVs de este grupo (AZT, 3TC y ABC) podrían presentar un alto grado de resistencia (Safer, 2010). En esta familia han sido de interés la presencia de las mutaciones a análogos de timidina o TAMs. La acumulación de estas mutaciones incrementa la resistencia a los NRTIs. En general un virus que presente más de dos TAMs ha sido descrito como más probable que presente resistencia cruzada a análogos de timidina (Safer, 2010). En el grupo de pacientes del presente estudio con resistencia a NRTIs se identificó un 12% (3) de pacientes con TAMs. De ellos un paciente presentó la combinación K70R con la K219E, que disminuye la sensibilidad a AZT y d4T. Los otros dos pacientes presentaron únicamente una TAM. La acumulación de TAMs ha sido importante principalmente en lugares donde la terapia de segunda línea y el monitoreo virológico a través de la carga viral es limitado lo que permite la acumulación de mutaciones bajo un régimen inefectivo (Bennet, Bertagnolio, Sutherland, & Gilks, 2008). La baja frecuencia de TAMs identificada en este estudio podría sugerir un seguimiento adecuado y diagnóstico temprano de la falla virológica, que se confirmó a través de los resultados de carga viral colectados, además por el uso apropiado de genotipos. Otra mutación importante encontrada en esta familia de ARVs, fue la M184V, asociada a tratamiento por 3TC y FTC. Esta mutación ha sido relacionada con reducción de la replicación viral, además de conferir mayor susceptibilidad a AZT, TDF y d4T (Safer, 2010; Stanford University, 2012). Algunos estudios indican que podría ser justificado mantener la presión selectiva, con 3TC, para conservar la mutación, principalmente en pacientes con resistencia y pocas opciones a NRTIs (Diallo, Goette, & Wainberg, 2003). En este estudio, la mutación M184V se identificó en el 43% (9) de pacientes con resistencia a NRTIs. Todos ellos habían recibido esquemas compuestos por 3TC o FTC. En la guía nacional para el tratamiento antirretroviral

y de infecciones oportunistas todos los esquemas de primera línea incluyen el uso de 3TC o FTC (Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, 2010; World Health Organization, 2010). Esto explica la alta tasa de exposición a estos dos ARVs. La selección de esta mutación podría evaluarse principalmente en pacientes que presentan resistencia a otros NRTIs. Por último la combinación de las mutaciones M184V + K101E, reduce la capacidad de replicación viral y la susceptibilidad a RPV, un NNRTI (Stanford University, 2012). Esta combinación fue identificada en dos pacientes de este estudio. Aunque la RPV no es utilizada actualmente en Guatemala, su uso encuentra recomendado en pacientes de nuevo diagnóstico con CV menor a 100,000 copias/ml. Sin embargo se ha documentado que el desarrollo de resistencia a RPV confiere resistencia cruzada con el resto de NNRTIs. Así la identificación de cepas con resistencia a RVP, podría sugerir un alto grado de resistencia cruzada para NNRTIs que debe ser tomado en cuenta para la administración de los esquemas subsecuentes (Sanford, 2012).

Los bajos niveles de resistencia en la familia de IPs, reflejan la barrera genética más alta y la acumulación de mutaciones, que individualmente reducen la susceptibilidad. Generalmente la resistencia se presenta a uno o dos IPs y no a todo el grupo, (Luber, 2005; Safer, 2010), esto correlaciona con los resultados identificados de este estudio ya que la resistencia más baja fue para los IP, 17.6% (3). Esta frecuencia fue menor a la reportada en otros estudios de resistencia en pacientes con fallo virológico (DiazGranados, Mantilla, & Lenis, 2010; Ríos, y otros, 2007). En este grupo, la distribución de las mutaciones fue variada; sin embargo las mutaciones relevantes identificadas fueron la I84V, 5% (1). que confiere altos niveles de resistencia a FPV, NFV, y la L90M a NFV (Stanford University, 2012). Aunque el resto de mutaciones, individualmente no generan resistencia, la acumulación de éstas puede resultar en resistencias de alto nivel. La mayor efectividad de los IPs generalmente limita su uso para aquellos pacientes que ya han presentado fracaso virológico para algún esquema previo (World Health Organization, 2010). Adicionalmente, en países como Guatemala, esquemas basados en IP representan un alto costo, por lo cual frecuentemente no son utilizados como terapia inicial (Organizacion Panamericana de Salud, 2012).

Finalmente, entre los pacientes con fallo virológico incluidos en este estudio el 68% presentó resistencia, lo cual implica que el 32% restante presentaba falla virológica por otros motivos, como inadherencia o interrupción del tratamiento por largos periodos de tiempo, entre otras; estos pacientes, de no haber realizado el análisis de genotipo podrían haber pasado de forma innecesaria a esquemas de segunda línea. Así mismo de los pacientes que presentaron resistencia, según el análisis de genotipo el 88% (15) debería pasar a esquemas de segunda línea. Esto refleja que el análisis de resistencia debe ser incluido en los circuitos de atención integral, ya que esto no solamente reduciría costos al evitar el cambio a esquemas más caros si no también permite individualizar y brindar una terapia óptima, lo cual resulta en una mejor calidad de vida, reducción de la transmisión, reducción de la frecuencia de infecciones oportunistas y con ello reducción de hospitalizaciones reduciendo los costos indirectos.

Entre las limitaciones identificadas en este estudio se encuentran: 1) El tamaño reducido de la muestra, podría no ser representativo de los pacientes con fallo virológico, provocar un sesgo de selección y un error de tipo II con respecto al tamaño de muestra; 2) En el caso de las mutaciones estudios posteriores serían necesarios para confirmar las frecuencias de las mutaciones identificadas y por último 3) La adherencia determinada a través del recuento de pastillas, hace necesario reevaluar la utilidad de este método o de implementar herramientas adicionales para mejorar las mediciones de adherencia, especialmente en aquellos pacientes que no están presentando una respuesta virológica óptima a la TARV.

A pesar de las limitaciones descritas anteriormente, este estudio contribuye a brindar información sobre resistencia de VIH-1 a la TARV en pacientes adultos cursando con fallo virológico en Guatemala. La resistencia a la TARV debe ser explorada en forma sistemática en todos los pacientes, principalmente aquellos que necesitan un cambio en la TARV. El 76% (19) de pacientes incluidos en el estudio había recibido más de un esquema previo, esto resalta la importancia de la disponibilidad de pruebas para resistencia, ya que posiblemente estos pacientes

presentaron mutaciones a las que los subsecuentes esquemas eran inefectivos. Actualmente la estrategia Tratamiento 2.0 de la Organización Mundial de la Salud (OMS) busca optimizar los regímenes de medicamentos, facilitar pruebas de diagnóstico en el punto de atención al paciente, con el objetivo de reducir costos y poder ampliar los servicios (Organización Mundial de la Salud, 2011), sin embargo, no identifica claramente la importancia de las pruebas de resistencia a ARV previo a cambio en esquemas de tratamiento a través de una prueba de genotipaje a pesar de que otros análisis clínicos sugieren que los cambios en la TARV deben de ser individualizado en base a los resultados de las pruebas de resistencia (Safer, 2010).

Los resultados de este estudio demuestran la necesidad de contar con pruebas de genotipaje además del abordaje integral con el objetivo de optimizar regímenes que prevengan el desarrollo de resistencia a TARV.

9. CONCLUSIONES:

- Se encontró que la resistencia a ARVs para el grupo de pacientes en fallo virológico que requerían de cambios en el tratamiento ARV fue de 68% (17); siendo menor, en relación a otros países latinoamericanos.
- Por familia de ARV los NNRTIs presentaron la frecuencia más alta de resistencia con 88.2% (15), seguidos de los NRTIs con 70.5% (12). La frecuencia más baja fue la presentada por los IPs con 17.6% (3). Estos hallazgos se correlacionan con el concepto de barrera genética, también identificado en otros estudios.
- La alta frecuencia de la mutación la K103N, 14% (5) en la familia de NNRTIs podría representar el mayor grado de exposición a NVP y EFV, frecuentemente utilizados como opciones de primera línea y limitar el uso de estos medicamentos en subsecuentes esquemas.
- Las mutaciones más frecuentes M184I/V con 57% (12) y la K219E/Q con 15% (3) en la familia de NRTIs podría manifestar el grado de exposición a 3TC, FTC y AZT, ARVs utilizados en esquemas de primera línea en el país.
- La frecuencia de resistencia para la familia de IP fue baja con 17.6% (3), en comparación con otros países, posiblemente por el menor tiempo de exposición a IPs y la selección de esta familia en esquemas de segunda línea.
- Es necesario contar con pruebas de genotipos para poder brindar una terapia antirretroviral óptima, principalmente en aquellos pacientes que presentan fallo virológico.
- La adherencia medida a través del recuento de pastillas requiere de herramientas adicionales para poder determinarla con mayor exactitud.

10.RECOMENDACIONES:

- El cambio de la TARV requiere de un análisis multidisciplinario, donde se deben evaluar los factores que influyen en la adherencia al tratamiento.
- El cambio de terapia ARV debe estar basado en pruebas de resistencia con el fin de seleccionar esquemas en los cuales todos los componentes sean virológicamente activos.
- Se deben implementar herramientas adicionales para mejorar la medición de la adherencia determinada actualmente a través del recuento de pastillas.
- Los estudios con mayor número de pacientes que incluyan más datos de las unidades de atención integral del interior del país deberán efectuarse para determinar el impacto de este problema en las personas con VIH en terapia antiretroviral.
- La obtención sistematizada de información sobre los perfiles de resistencia en pacientes en primer fallo virológico en Guatemala debe ser implementado en el país.
- Análisis posteriores tendrían que incluir pacientes recién diagnosticados, sin exposición a tratamiento, a fin de conocer el impacto de la transmisión de la resistencia primaria a la terapia antiretroviral en el país.
- Que la Dirección General de Investigación (DIGI) promueva un mejoramiento en el sistema de adquisición, para ser más eficiente el tiempo adjudicado a este y otros proyectos.

11. REFERENCIAS:

- Afani, A., Beltrán, C., Gallardo, A., Roessler, P., Acevedo, W., & Vásquez, T. (2010). Prevalencia de resistencia primaria en pacientes con infección reciente por VIH-1 en Chile. *Rev méd Chile*, 669-676.
- Alave, J., Paz, J., González, E., Campos, M., Rodríguez, M., Willing, J., y otros. (2013). Factores asociados a falla virológica en pacientes infetados con VIH que reciben terapia anti-retroviral en un hospital público del Perú. *Rev Chilena Infectol*, 42-48.
- Bennet, D., Bertagnolio, S., Sutherland, D., & Gilks, C. (2008). The World Health Organization's global strategy for prevention and assessment of HIV drug resistance. *Antivir Ther*, 1-13.
- Bennett, D. (2006). The requirement for surveillance of HIV drug resistance within antiretroviral rollout in the developing world. *Curr Opin Infect Dis*, 607-14.
- Bennett, D., Myatt, M., Bertagnolio, S., Sutherland, D., & Gilks, C. (2008). Recommendations for surveillance of transmitted HIV drug resistance in countries scaling up antiretroviral treatment. *Antivir Ther*, 25-36.
- Biosciences. (2008). BD FACSCoount CD4 reagentes.
- Bowles, E., Wensing, A., van de Vijver, D., Schuurman, R., Boucher, C., & WATCH investigators. (2006). WATCH: Worldwide Analysis of Resistance Transmission over Time of Chronically and Acute Infected-HIV-1 persons.
- Campbell, J., Ruano, A., Samayoa, B., Estrada, D., Arathoon, E., & Young, B. (2010). Adherence to Antiretroviral therapy in an Urban, Free-Care HIV CLinic in Guatemala City, Guatemala. *JIAPAC*, 390-395.
- Clavel, F., & Hance, A. (2004). HIV drug resistance. *New England Journal*, 1023-35.
- Clotet, B., Mendez-Arias, L., Schapiro, J., Ruiz, L., Kuritzkes, D., Burger, D., y otros. (2004). *Guide to management of HIV drug resistance, antiretrovirals pharmacokinetics and viral hepatitis in HIV related subjects*. España: Catalonia: Fundacio de Lluita contra la SIDA.

- Deeks, S., Barbour, J., Grant, R., & Martin, J. (2002). Duration and predictors of CD4 T-cell gains in patients who continue combination therapy despite detectable plasma viremia. *AIDS*, 201-7.
- Diallo, K., Goette, M., & Wainberg, M. (2003). Molecular Impact of the M184V Mutation in Human Immunodeficiency Virus Type 1 Reverse Transcriptase. *AAC*.
- Diaz, C., Silva, A., Bermudez, A., Rooncacio, D., Diruggiero, P., & Mantilla, M. (2007). Rate and Predictors of optimal virologic response to antiretroviral therapy. *AArch Intern Med*, 684-91.
- DiazGranados, C., Mantilla, M., & Lenis, W. (2010). Antiretroviral drug resistance in HIV-infected patients in Colombia. *Int J Infect Dis*, 298-303.
- Erice, A., Mayers, D., Strike, D., Sannerud, K., McCutchan, F., Henry, K., y otros. (1993). Brief report: primary infection with zidovudine-resistant human immunodeficiency virus type 1. *New England Journal*, 1163-5.
- Gale, H., Kan, V., & Shinol, R. (2006). Performance of the TruGene human immunodeficiency virus type 1 genotyping kit and OpenGene DNA sequencing system on clinical samples diluted to approximately 100 copies per milliliter. *Clinical Vaccine Immunology*, 235-8.
- Geretti, A. (2007). Epidemiology of antiretroviral drug resistance in drug-naïve persons. *Curr Opin Infect Dis*, 22-32.
- Grant, R., Kuritzkes, D., Johnson, V., Mellors, J., Sullivan, J., Swanstrom, R., y otros. (2003). Accuracy of the TRUGENE HIV-1 Genotyping Kit. *Journal of Clinical Microbiology*, 1586-1593.
- Hammer, S., Saag, M., Schechet, M., Montaner, J., Schooley, R., Jacobsen, D., y otros. (2006). for adult HIV infection: 2006 recommendations of the International AIDS Society-USA panel. *JAMA*, 827-43.
- Hanping, L., Zhong, M., Guo, W., Zhuang, D., Lin, L., Liu, Y., y otros. (2013). Prevalence and Mutation Patterns of HIV Drug Resistance from 2010 to 2011 among ART-Failure Individuals in the Yunnan Province, China. *PloS One*, 1-9.
- Harrigan, P., Hogg, R., Dong, W., Yip, B., Wynhoven, B., Woodward, J., y otros. (2005). Predictors of HIV drug-resistance mutations in a large antiretroviral-naïve cohort initiating triple antiretroviral therapy. *J Infect Dis*, 339-347.
- HHS Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. (s.f.). *Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1-Infected Adults and*

Adolescents. Recuperado el 08 de 08 de 2013, de AIDSinfo:
<http://aidsinfo.nih.gov/e-news/archive/2013/5/3>

- Hirsch, M., Brun-Vézinet, F., Clotet, B., Conway, B., Kuritzkes, D., D'Aquila, R., y otros. (2003). 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*, 113-28.
- Johnson, V., Calvez, V., Grunthard, H., Paredes, R., Pillay, D., Shafer, R., y otros. (2013). Update of the drug resistance mutations in HIV-1: March 2013. *Top Antivir Med*, 6-14.
- Kim, M., Sonj, J., Ahn, J., Kim, Y., Oh, D., Choi, H., y otros. (2012). HIV Antiretroviral Resistance Mutations Among Antiretroviral Treatment-Naive and -Experienced Patients in South Korea. *AIDS res Hum Retroviruses*.
- Larder, B., Darby, G., & Richman, D. (1989). HIV with reduced sensitivity to zidovudine (AZT) isolated during prolonged therapy. *Science*, 1731-4.
- Li, H., Zhong, M., Guo, W., Zhuang, D., Li, L., Liu, Y., y otros. (2013). Prevalence and Mutation Patterns of HIV Drug Resistance from 2010 to 2011 among ART-Failure Individuals in the Yunnan Province, China. *PloS*.
- Luber, A. (2005). Genetic barriers to resistance and impact on clinical response. *MedGenMed*, 69.
- Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. (2010). Guía de tratamiento antirretroviral y de infecciones oportunistas en Guatemala.
- Ministerio de Salud Publica y Asistencia Social MSPAS. (2010). *Program Nacional de Prevencion y Control de ITS, VIH, y SIDA. "Informe de Progreso UNGASS*. Guatemala.
- Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social MSPAS. (2012). *Informe de Progreso UNGASS, Guatemala*. Guatemala.
- Nachega, J., Marconi, V., van Zyl, G., Gardener, E., Preiser, W., Hong, S., y otros. (2011). HIV treatment adherence, drug resistance, virologic failure: evolving concepts. *Infect Disord Drug Targets*, 167-174.
- Nachega, J., Marconi, V., Van Zyl, G., Gardner, E., Preiser, W., Hong, S., y otros. (2011). HIV treatment adherence, drug resistance, virologic failure: evolving concepts. *Infect Disord Drug Targets*, 167-74.

- Organización Mundial de la Salud. (2011). Marco de acción del Tratamiento 2.0: Impulsando la próxima generación del tratamiento, la atención y el apoyo. 3-28.
- Organizacion Panamericana de Salud. (2012). Tratamiento antirretroviral bajo la lupa: un análisis de salud pública en Latinoamérica y el Caribe.
- Palella, F., Delaney, K., Moorman, A., Loveless, M., Fuhrer, J., Satten, G., y otros. (s.f.). Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med*, 853-60.
- Palella, F., Delaney, K., Moorman, K., Loveless, M., Fuhrer, J., Satten, G., y otros. (1998). Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *New England Journal*, 853-60.
- Paredes, R., Mocroft, A., Kirk, O., Lazzarin, A., Barton, S., van Lunzen, J., y otros. (2000). Predictors of virological success and ensuing failure in HIV-positive patients starting highly active antiretroviral therapy in Europe: results from the EuroSIDA study. *Arch Intern Med*, 1123-32.
- Parienti, J., Massari, V., Descamps, D., Vabret, A., Bouvet, E., Larouzé, B., y otros. (2004). Predictors of virologic failure and resistance in HIV-infected patients treated with nevirapine- or efavirenz-based antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis*.
- Patel, A., & Patel, K. (2006). Future implications: compliance and failure with antiretroviral treatment. *J Postgrad Med*, 197-200.
- Pillay, D. (2004). Current patterns in the epidemiology of primary HIV drug resistance in North America and Europe. *Antiivir Ther*, 695-702.
- Ríos, M., Delgado, E., Pérez-Alvarez, L., Fernández, J., Gálvez, P., de Parga, E., y otros. (2007). Antiretroviral drug resistance and phylogenetic diversity of HIV-1 in Chile. *J Med Virology*, 647-56.
- Safer, R. (2010). Genotypic Testing for Human Immunodeficiency Virus Type 1 Drug Resistance. *Clin Microbiology Rev*, 247-267.
- Sanford, M. (2012). Rilpivirine. *Drugs*, 525-541.
- Shafer, R. (2002). Genotypic Testing for Human Immunodeficiency Virus Type 1 Drug Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 247-267.

- Shafer, R., Rhee, S., & Bennett, D. (2008). Consensus drug resistance mutations for epidemiological surveillance: basic principles and potential controversies. *Antivir Ther*, 59-68.
- Shekelle, P., Maglione, M., Geotz, M., Wagner, G., Wang, Z., Hilton, L., y otros. (2007). Antiretroviral (ARV) drug resistance in the developing world. *Evid Rep Technol Assess*, 1-74.
- Stanford University. (2012). *HIV Drug Resistance Data Base*. Recuperado el 09 de 2013, de <http://hivdb.stanford.edu/index.html>
- Strauss, K., Hannet, L., Engels, S., Shiba, A., Ward, D., Ullery, S., y otros. (1996). Performance evaluation of the FACSCount System: a dedicated system for clinical cellular analysis. *Cytometry*, 52-9.
- The Global Fund. (s.f.). Obtenido de <http://www.theglobalfund.org/es/>
- Tobin, N., Learns, G., Holte, S., Wang, Y., Melvin, A., Mckernan, J., y otros. (2005). Evidence that Low-Level Viremias during Effective Highly Active Antiretroviral Therapy Result from Two Processes: Expression of Archival Virus and Replication of Virus. *Journal of Virology*, 9625-34.
- Van de Vijver, D., Wensing, A., Asjo, B., Brunkova, M., Jorgensen, L., Camacho, R., y otros. (2010). HIV-1 drug-resistance patterns among patients on failing treatment in a large number of European countries. *APA*, 3-9.
- van Oosterhout, J., Brown, L., Weigel, R., Kumweda, J., Mzinganjira, D., Saukila, N., y otros. (2009). Diagnosis of antiretroviral therapy failure in Malawi: poor performance of clinical and immunological WHO criteria. *Trop Med Int Health*, 856-61.
- World Health Organization. (2010). Antiretroviral therapy for HIV infection in adults and adolescents. 1-126.
- World Health Organization. (2012). WHO HIV Drug resistance report 2012. 2-84.

12. ANEXOS

Anexo A- Tabla 4. Listado de medicamentos y mutaciones por paciente

Código de identificación del paciente	Antirretrovirales que ha tomado									Mutaciones encontradas								
	NRTI				NNRTI			IP		NRTI			NNRTI			IP		
R0012013	FTC	3TC	TDF	ABC		EFV	NVP	LPV/r										
R0022013	FTC	3TC	TDF	ABC		EFV				M184V	K219E	K70R	L100I	V108I	V179D	I47V		
R0072013	3TC	AZT	ABC					LPV/r	NFV	M184I			Y181C	V179E		M136I		
R0082013	FTC	3TC	TDF	d4T	ABC	EFV	NVP	LPV/r								L10I		
R0092013	FTC	3TC	AZT	TDF		EFV		LPV/r										
R0112013	FTC	3TC	AZT	TDF	ABC	NVP		SQV/r	LPV/r		K219Q		V179D					
R0122013	3TC	AZT	d4T	ABC		NVP		LPV/r										
R0132013	3TC	AZT				EFV	NVP	LPV/r					K103N	G190A	V106I	V90I	M36I	
R0142013	3TC	D4T	ABC			NVP		LPV/r			V118I							
R0202013	3TC	AZT	ABC					LPV/r		M184V	V118I		K103N					
R0222013	FTC	3TC	TDF	ABC		EFV		LPV/r		M184I			Y181C	V179D		M36I		
R0312013	3TC	AZT	ABC			EFV		LPV/r		M184V			V179E	L10I		M46I	I84V	L90M
R1482012	FTC	TDF				EFV				M184V		K70E	K101E	G190A		Q58E		
R1492012	FTC	TDF						LPV/r		M184V			K101E	G190A	G190S	A98G	K43T	A71V
R1502012	FTC	TDF				EFV				M184V			K103N	G190A	E138A			
R1522012	3TC	AZT	TDF	d4T	ABC	NVP		LPV/r	NFV			T69ins	Y181C	V179D		I54V	V82A	M36I
R1532012	3TC	AZT	d4T	ABC		EFV	NVP	LPV/r		M184V			V179T			M36I	L10I	
R1542012	3TC	AZT	d4T	ABC		NVP		LPV/r										
R1562012	FTC	TDF				EFV				K65R	K219E	Y115F	G190E					
R1572012	FTC	TDF				NVP	EFV			M184I			Y181C	V179D		M36I		
R1602012	3TC	AZT	ABC					LPV/r	NFV									
R1622012	FTC	3TC	TDF	ABC		EFV	NVP	LPV/r		M184V			K103S	K101P				
R1632012	FTC	TDF				EFV							K103N					
R1652012	3TC	TDF	d4T	ABC	FTC	NVP		LPV/r	NFV									
R1662012	FTC	3TC	AZT	TDF		EFV			NFV				K103N	G190A				

Pacientes que no presentaron resistencia

Anexo B.

Figura 9. Forma de colección de datos

Gracias al
apoyo de:



Asociación de Salud Integral
Laboratorio Clínico –ASI–
Biología Molecular
2ª Avenida 11-53 Zona 1
Teléfono 2311-8100, 2311-8105
e-mail: genotipos_asi@hotmail.com

USO INTERNO
Código de Muestra:

Fecha de Ingreso:

Solicitud de Prueba de Genotipo de VIH-1

ADULTO

Para uso de laboratorio ASI

Fecha de recepción de muestra: __/__/__ Hora: __: __

Recibido por: _____ Firma: _____

Condiciones de Recepción: _____

I. DATOS GENERALES DEL PACIENTE

Nombre o Iniciales del paciente: _____ Registro clínico : _____

Género: M ☐ F ☐ Edad: _____ Fecha de nacimiento: _____

Institución que lo refiere: _____

Dirección donde reside: _____

II. INFORMACIÓN CLÍNICA

Fecha de diagnóstico de VIH: __/__/__

Edad del diagnóstico del VIH: _____

Clasificación clínica:

Asintomático ☐

Sintomático ☐ Especificar: _____

Estadio clínico: _____

Prueba de genotipificación anterior: Si ☐ No ☐ Fecha: __/__/__

Laboratorio que realizó la prueba de genotipificación: _____

Resultado: _____

Razones por las que solicita este genotipo: _____

Datos de la muestra

Toma de muestra: Fecha: __/__/__ Hora: __: __ Tipo de muestra _____

III. INFORMACIÓN DEL MÉDICO QUE REFIERE:

Nombre del médico: _____

Teléfono: _____ Dirección de correo electrónico: _____

Firma: _____ Sello: _____

IV. HISTORIAL DE TRATAMIENTO

Fecha	ESQUEMA															MOTIVO DE CAMBIO DE ESQUEMA (Código de 1-5)
	ddl	IND	3TC	NFV	NVP	RTV	SQV	d4T	AZT	EFV	ABC	TDF	DLV	LPV	ATV	

CODIGO PARA MOTIVOS DE CAMBIO DE ESQUEMA: 1. Sospecha de Resistencia 2. Efectos Adversos 3. Embarazo

4. Desabastecimiento 5. Otros _____

OBSERVACIONES: _____

V. HISTORIAL DE PRUEBAS DE SEGUIMIENTO

CARGA VIRAL		CD4	
FECHA	Copias / mL	FECHA	Cel / mm ³

OBSERVACIONES: _____

VI. DATOS DEMOGRÁFICOS

1. En donde vive actualmente?: _____
2. Estado Civil: (Soltero, Casado, Unido, Divorciado, Viudo) _____
3. Escolaridad: (Ninguna, Primaria, Básicos, Diversificado, Universitario) _____
4. Sabe leer y escribir? Sí ___ No ___
5. En el último año usted ha tenido problemas de adicción a drogas o alcohol?
Drogas: Sí ___ No ___ Alcohol: Sí ___ No ___
6. ¿Trabaja Actualmente? Si ___ No ___ NA ___
7. ¿Cuál es su ocupación? _____
8. ¿Cuál es su ingreso promedio mensual en el hogar? _____
9. ¿Con que frecuencia tiene suficiente dinero para asistir a la Clínica? _____

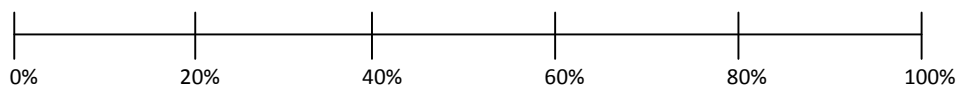
Siempre/ Casi siempre/ Algunas Veces/ Casi nunca/Nunca

10. ¿Cuánto tiempo le toma para asistir a la Clínica? _____ Horas _____ Minutos
11. ¿Sabe su familia que usted tiene VIH? Sí ___ No ___ NA ___
12. ¿Cuenta Ud. con apoyo (económico, emocional) de parte de su familia para seguir con el tratamiento?
Sí ___ No ___ NA ___
13. ¿Su pareja sabe que usted tiene VIH: Sí ___ No ___ NA ___
14. ¿Su pareja lo apoya actualmente?: Sí ___ No ___ NA ___

VII. DATOS DE ADHERENCIA:

- ¿Han asistido a talleres de adherencia (por ejemplo, los de la Clínica u otro grupo de apoyo)?
Sí No NA Cuantas veces? _____
- ¿Con que frecuencia sigue Ud. las instrucciones que se le dan en la clínica para tomar los medicamentos?

Siempre/ Casi siempre/ Algunas Veces/ Casi nunca/Nunca
- ¿Toma siempre sus medicamentos a la hora indicada?
Sí No NA
- Coloque una "X" en la siguiente línea indicando el porcentaje de tabletas que ha tomado en la **última semana** . (Por ejemplo, 0% indica que no ha tomado ninguna tableta, 50% indica que ha tomado la mitad de sus tabletas, y 100% indica que se ha tomado todas las tabletas en la última semana.)



- A continuación está una lista de posibles razones por las que no ha tomado sus medicamentos. Marque "sí" si ha faltado una medicina por la razón, y "no" si no ha faltado una medicina por la razón:

• Estuvo afuera de la casa.	Sí	No
• Estuvo demasiado ocupado.	Sí	No
• Por los efectos adversos a los medicamentos.	Sí	No
• No quiso tomarse la medicina	Sí	No
• Cambió su rutina del día.	Sí	No
• Por confusión sobre como tomar las medicinas.	Sí	No
• Se tomó toda la medicina pero no pudo regresar a la Clínica para obtener más medicina.	Sí	No
• Se sentía deprimido(a) o muy triste.	Sí	No
• Se sentía saludable.	Sí	No
• Se le olvidó.	Sí	No
• Otras cosas: (Explique, por favor)		
- ¿Tiene usted alguna sugerencia para mejorar la toma de medicamentos por parte de los pacientes?

VIII. Otra información importante (Favor completar por el médico tratante)

- Esquema actual [numero de tabletas, régimen (IP's, INRT, NNRTI?)]:

- Adherencia calculada por fichas de la farmacia: _____
- ¿Por cuánto tiempo ha tomado el paciente los ARVs? _____
- Eventos Oportunistas en los últimos 6 meses

- Tratamiento profiláctico o para infecciones oportunistas en el momento del estudio:

Blanca Samayoa, MSc., DrPH candidate,
Dpto. de Microbiología
Coordinadora del proyecto
Escuela de Química Biológica
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

Vo.Bo. Dr. Roberto Flores Arzú
Director Instituto de
Investigaciones Química y Biológicas

Vo.Bo. Dra. Hilda Valencia de Abril
Coordinadora Programa de Salud

Integrantes del equipo de investigación

Nombre	Categoría	Registro de personal	Pago	
			Si	No
Blanca Elizabeth Samayoa Herrera	Director Investigación y Desarrollo*	1978 USAC	X	
Dalia Mei LingLau-Bonilla	Bióloga molecular	016H-2012	X	
Anneliese Moller Sundfeldt	Coordinadora del Laboratorio de Biología Molecular	006H-2012	X	
Eduardo Arathoon	Coordinador Médico CFLAG MD, Enfermedades Infecciosas	25H-2013	X	
Narda Gabriela Medina	Auxiliar de Investigación y desarrollo	005-ASI-2013	X	

* Profesor titular II/Departamento de Microbiología, Escuela de Química Biológica USAC (6 hrs diarias)

Nombre	Firma
Blanca Elizabeth Samayoa Herrera	_____
Dalia Mei LingLau-Bonilla	_____
Msc. Anneliese Moller Sundfeldt	_____
Eduardo Arathoon	_____
Narda Gabriela Medina	_____