

**Documento sobre la Utilidad Clínica de las Resistencias a  
Antirretrovirales**

**Grupo de Educación en SIDA (GeSIDA) de la Sociedad Española de  
Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC)**

**Julio 2018**

## **Composición del Panel**

### **Coordinadores y Revisores**

Eva Poveda. Instituto de Investigación Sanitaria Galicia Sur (IISGS)-Complejo Hospitalario Universitario de Vigo.

José Luis Blanco. Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Clinic. IDIBAPS. Barcelona

### **Redactores**

Marta Álvarez. UGC de Microbiología, Hospital San Cecilio-Campus de la Salud, Granada.

Carmen de Mendoza. Laboratorio de Medicina Interna. Instituto de Investigación Sanitaria Puerta de Hierro-Segovia de Arana. Madrid.

José Luis Casado Osorio. Unidad de VIH, Servicio de E. Infecciosas, Hospital Ramón y Cajal, Madrid.

Federico Pulido. Unidad VIH. Hospital Universitario 12 de Octubre, imas12. Universidad Complutense de Madrid.

Rafael Delgado. Servicio de Microbiología. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid

Antonio Aguilera. Servicio de Microbiología. Complejo Hospitalario Universitario de Santiago. Santiago de Compostela.

Roger Paredes. Servicio de Enfermedades Infecciosas e Institut de Recerca de la sida irsiCaixa, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona.

María del Mar Mosquera. Servicio de Microbiología, Hospital Clínic de Barcelona e Instituto de Salud Global Barcelona (ISGlobal).

Isabel Viciano. Microbiología. Hospital Virgen de la Victoria Málaga.

Josep M Llibre. Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario Germans Trias i Pujol; Fundación "Lluita contra la SIDA", Badalona.

M<sup>a</sup> Jesús Pérez Elías. Jefe de Sección de la Unidad de VIH/SIDA. Servicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital Ramón y Cajal, IRYCIS".

Manuel Crespo Casal. Unidad de Enfermedades Infecciosas, Departamento de Medicina Interna. Complejo Hospitalario Universitario de Vigo. IIS-Galicia Sur

Miguel García Deltoro. Servicio de Enfermedades Infecciosas. Consorcio Hospital General Universitario de Valencia.

Carmen Vidal Lampurdanés. Unidad de Secuenciación. Hospital son Espases, Palma de Mallorca.

Carmen Ricart Olmos. Servicio de Enfermedades Infecciosas. Consorcio Hospital General Universitario de Valencia

Federico García. Unidad de Gestión Clínica de Microbiología, Hospital Universitario San Cecilio. Instituto de Investigación Ibs.Granada. Granada.

Arkaitz Imaz. Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital de Bellvitge. Barcelona

África Holguín. Laboratorio de Epidemiología Molecular del VIH. Instituto de Investigación Sanitaria Ramón y Cajal (IRYCIS)-Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid.

Ana López Lirola. Sección Infecciones. Hospital universitario de Canarias. La Laguna. S/C de Tenerife.

## **Declaración de Conflicto de Interés**

**Eva Poveda** ha recibido ayudas para asistencias a congresos y reuniones científicas de Janssen Cilag, Gilead Sciences, Merck Sharp & Dohme y ViiV Healthcare; ha recibido compensación económica por charlas de Janssen Cilag y Merck Sharp & Dohme, y ayudas para el desarrollo de proyectos de investigación y actividades de educación biomédica de Janssen Cilag y Gilead Sciences.

**José Luis Blanco** ha sido consultor de Janssen, Sandoz, Stendhal y ViiV Healthcare; ha recibido pagos por conferencias de Gilead Sciences, Stendhal, Gador, Merck Sharp & Dohme, Roche y ViiV Healthcare; ha recibido becas de investigación de Janssen, Merck Sharp & Dohme, BMS y ViiV Healthcare

**Antonio Aguilera** ha efectuado labores de consultoría (Gilead Sciences); ha recibido honorarios por charlas (Gilead Sciences y Merck Sharp & Dohme) y ayudas para asistencia a congresos (Gilead Sciences y Merck Sharp & Dohme).

**Marta Álvarez** no declara conflicto de interés

**José Luis Casado** ha sido consultor de Janssen y ViiV Healthcare; ha recibido pagos por conferencias de Gilead Sciences, Merck Sharp & Dohme, and ViiV Healthcare; ha recibido becas de investigación de Janssen y ViiV Healthcare

**Manuel Crespo Casal** ha efectuado labores de consultoría para los laboratorios Abbvie, Bristol-Myers Squibb, Gilead Sciences, Janssen Cilag, Merck Sharp & Dohme y ViiV Healthcare; ha disfrutado de becas para investigación clínica de laboratorios Gilead Sciences y ViiV Healthcare; ha recibido compensación económica por ponencias de Abbvie, Bristol-Myers Squibb, Gilead Sciences, Janssen Cilag, Merck Sharp & Dohme y ViiV Healthcare, así como pagos por desarrollos de presentaciones educacionales para Bristol Meyers Squibb, Gilead Sciences y ViiV Healthcare.

**Miguel García Deltoro** ha efectuado labores de consultoría para los laboratorios Abbvie, ViiV Healthcare, Gilead Sciences, y Janssen Cilag; ha disfrutado de becas para investigación clínica de ViiV Healthcare, Gilead Sciences, Janssen, y Merck-Sharp & Dome; ha recibido compensación económica por ser ponente en eventos financiados por Gilead Sciences, Janssen Cilag, Merck-Sharp & Dome y ViiV Healthcare

**Federico García** ha recibido ayudas para proyectos de investigación de Gilead y Roche; honorarios por ponencias de ViiV, Gilead, Abbvie, MSD, Janssen, Roche, Biomerieux, Hologic, Qiagen; ha recibido ayudas para asistencia a actividades formativas de ViiV, Gilead, Abbvie, MSD, Janssen, Roche, Biomerieux, Hologic, Qiagen; Labores de asesoramiento para ViiV, Gilead, Abbvie, Roche y Hologic

**Rafael Delgado** ha recibido fondos para investigación de Beckman, Hologic y Roche; ha participado en Advisory Boards para Abbott y Hologic; ha recibido honorarios por conferencias de Abbott, Beckman, Gilead, Hologic, Janssen y ViiV

**África Holguín Fernández** no declara conflicto de interés

**Arkaitz Imaz** ha recibido de ayudas para investigación clínica de Gilead Sciences y ViiV Healthcare; ha efectuado labores de consultoría para Merck Sharp & Dohme y ViiV Healthcare; ha recibido compensación económica por ser ponente en eventos financiados por Abbvie, Gilead Sciences, Janssen Cilag y Merck Sharp & Dohme; ha recibido compensación económica por participación en actividades con fines educacionales de Gilead Sciences, Merck Sharp & Dohme y ViiV Healthcare

**Josep M<sup>a</sup> Llibre** ha realizado actividades de consultoría, educacionales o recibido becas de investigación de ViiV Healthcare, Gilead Sciences, Janssen Cilag, Merck Sharp & Dohme y TheraTechnologies. Es miembro del Panel redactor de las Guías de tratamiento antiretroviral de GeSIDA

**Ana López Lirola** no declara conflicto de interés

**Carmen de Mendoza Fernández** no declara conflicto de interés

**María del Mar Mosquera** no declara conflictos de interés

**Roger Paredes** ha realizado consultoría y/o ha recibido becas de investigación de Merck, ViiV Healthcare y Gilead

**M<sup>a</sup> Jesús Pérez Elías** ha efectuado labores de consultoría para los laboratorios Abbvie, Boehringer Ingelheim, ViiV Healthcare, Gilead Sciences, y Janssen Cilag; ha disfrutado de becas para investigación clínica de ViiV Healthcare, Gilead Sciences, Janssen, y Merck-Sharp & Dome; ha recibido compensación económica por ser ponente en eventos financiados por Gilead Sciences, Janssen Cilag, Merck-Sharp & Dome y ViiV Healthcare

**Federico Pulido** ha recibido honorarios por asesoría o ponencias de Gilead, Janssen, MSD y ViiV

**Carmen Ricart Olmos** ha efectuado labores de consultoría para los laboratorios Abbvie, ViiV Healthcare, Gilead Sciences, y Janssen Cilag; ha disfrutado de becas para investigación clínica de ViiV Healthcare, Gilead Sciences, Janssen, y Merck-Sharp & Dome; ha recibido compensación económica por ser ponente en eventos financiados por Gilead Sciences, Janssen Cilag, Merck-Sharp & Dome y ViiV Healthcare

**Isabel Viciano** ha recibido compensación económica por ser ponente en eventos financiados por Gilead Sciences, Abbott, y ViiV Healthcare

**Carmen Vidal Lampurdanés** no declara conflicto de interés

## Índice

**1. Introducción.** Coordinadores

**2. Situación Epidemiológica de las Resistencias a Antirretrovirales.**

Marta Álvarez y Carmen de Mendoza.

**3. Recomendaciones sobre cuándo hacer una prueba de resistencias y los aspectos que hay que considerar.**

José Luis Casado y Federico Pulido.

**4. Recomendaciones técnicas en los estudios de resistencias.**

Rafael Delgado y Antonio Aguilera.

**5. Resistencias en poblaciones minoritarias: técnicas/plataformas, interpretación y evidencias.**

María del Mar Mosquera y Roger Paredes.

**6. Interpretación de resistencia a ITIAN.**

Isabel Viciano y Josep María Llibre.

**7. Interpretación de resistencia a ITINAN.**

María Jesús Pérez-Elías y Manel Crespo.

**8. Interpretación de resistencia a IP.**

Miguel Del Toro, Carmen Vidal y Carmen Ricart.

**9. Interpretación de resistencia a INI.**

Federico García y Arkaitz Imaz.

**10. Resistencias en VIH-2 y subtipos no-B.**

África Holguín y Ana López Lirola.

**11. Conclusiones/Recomendaciones finales.** Coordinadores

## **Abreviaturas**

3TC: Lamivudina

ABC: Abacavir

ADN: Ácido desoxirribonucleico

APV: Amprenavir

ARN: Ácido ribonucleico

ARV: Antirretrovirales

ATV: Atazanavir

AZT: Zidovudina

BIC: Bictegravir

CI: Concentración inhibitoria

CMSP: Células mononucleares de sangre periférica

CR: Capacidad replicativa

CV: Carga viral

d4T: Estavudina

DBS: Sangre seca en papel de filtro

ddl: Didanosina

DLV: Delavirdina

DOR: Doravirina

DRV: Darunavir

DTG: Dolutegravir

EFV: Efavirenz

ER: Estudio de resistencias

ETR: Etravirina

EVG: Elvitegravir

FTC: Emtricitabina

IF: Inhibidores de fusión

INI: Inhibidor de integrasa

IP: Inhibidor de la proteasa

ITIAN: Inhibidor de la transcriptasa inversa análogo de nucleósidos o nucleótidos

ITINAN: Inhibidores de la transcriptasa inversa, no análogos de nucleósidos

LCR: Líquido cefalorraquídeo

LPV: Lopivavir

MR: Mutaciones de resistencia

NVP: Nevirapina

NGS: Secuenciación masiva-*Next generation sequencing*

RAL: Raltegravir

RPV: Rilpivirina

SIDA: Síndrome de la Inmunodeficiencia Humana Adquirida

SNC: Sistema nervioso central

TAF: Tenofovir alafenamida

TAMs: Mutaciones asociadas a ITIAN timidínicos

TAR: tratamiento antiretroviral

TDR: Transmisión de variantes resistentes

TDF: Tenofovir (disoproxil fumarato)

TPV: Tipranavir

TI: Transcriptasa Inversa

VIH-2: Virus de la Inmunodeficiencia Humana tipo 2



## 1. Introducción

Los estudios de resistencias a los fármacos empleados en el tratamiento de la infección por VIH son una herramienta fundamental para la correcta monitorización y seguimiento de los pacientes con esta infección. Sin embargo, las recomendaciones para su uso en la práctica clínica se han ido modificando y actualizando en función de los diferentes escenarios en cuanto a la prevalencia de mutaciones de resistencias, fármacos en uso, descripción de nuevas mutaciones y las metodologías disponibles. Desde el Grupo de Educación en SIDA (GeSIDA) de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) se presenta el *Documento sobre la Utilidad Clínica de las Resistencias a Antirretrovirales* que revisa los principales aspectos y recomendaciones a tener en cuenta para el uso de los estudios de resistencia en la práctica clínica actual.

El documento incluye 9 capítulos redactados por expertos nacionales en el estudio y manejo clínico de las resistencias a los antirretrovirales en los que se actualizan los aspectos más relevantes sobre la utilidad de los estudios de resistencias. Los capítulos describen de forma muy práctica las principales consideraciones a tener en cuenta en el contexto actual de la infección por VIH y nuestro entorno respecto a la situación epidemiológica sobre las resistencias, las recomendaciones nacionales para el tratamiento de la infección por VIH, la interpretación de las mutaciones a las diferentes familias de fármacos, las metodológicas disponibles y sus limitaciones técnicas. Cada capítulo se acompaña de la bibliografía más relevante al respecto que permitirá profundizar y ampliar la información en caso necesario. Con todo ello, este documento pretende ser una guía práctica y actualizada para la realización de los estudios de resistencias en la práctica clínica teniendo en cuenta los últimos datos disponibles en este campo y la experiencia de los grandes profesionales en el tema.

*Eva Poveda y José Luis Blanco*

## 2. Situación epidemiológica de las resistencias a los antirretrovirales.

*Marta Álvarez y Carmen de Mendoza*

La prevalencia de mutaciones de resistencia a los antirretrovirales actualmente recomendados para el tratamiento de la infección por VIH se mantiene a niveles muy bajos en nuestro entorno. Esta situación se debe fundamentalmente a que más del 90% de los pacientes en están con viremia suprimida, gracias a la disponibilidad de regímenes de tratamiento más potentes, sencillos y con mayor barrera a las resistencias.

La Cohorte Española de pacientes naive CoRIS evalúa periódicamente la transmisión de variantes resistentes (TDR) en nuestro país. En el último análisis realizado para el período comprendido entre 2007 y 2017 el porcentaje global de mutaciones de resistencias fue del 7,8% (95% CI, 7,1%-8,5%) (Tabla 1)<sup>1</sup>. Otras cohortes europeas (SPREAD, EuroCoord/CHAIN y HIV-CASUAL)<sup>2-4</sup> han reportado resultados similares<sup>5,6</sup>.

Por familias de fármacos, las resistencias basales a ITIAN e ITINAN son las más altas (3-4%) mientras que para IPs se mantienen entre un 1 y 2%. En la tabla 2 se recogen los cambios más frecuentemente observados en la cohorte española de pacientes naive de la Red de SIDA (CoRIS)<sup>1</sup> y en la cohorte europea (SPREAD<sup>2</sup>). En cuanto a los INI, la prevalencia se sitúa en un 0,1% y en general la transmisión de virus resistentes a esta familia continúa siendo excepcional habiéndose comunicado únicamente casos aislados. Un estudio reciente de la cohorte Suiza justifica esta bajísima prevalencia de resistencias a los INI por la mínima carga viral poblacional circulante con resistencias a éstos<sup>7</sup>.

En pacientes en situación de fracaso virológico en tratamiento antirretroviral debemos de tener en cuenta algunos aspectos relevantes además de los previamente comentados, que han modificado drásticamente la prevalencia de las resistencias en la infección por VIH en los últimos años:

- 1) Identificar el fracaso de forma precoz.
- 2) Disponer de un mayor arsenal terapéutico que facilita un diseño óptimo de terapias de rescate.
- 3) Combinaciones de tratamiento en una sola pastilla, una vez al día.

En la tabla 3 se recogen las características de las resistencias a algunas combinaciones terapéuticas en la que destacamos las siguientes conclusiones<sup>8-13</sup>:

- La aparición de mutaciones de resistencia en pacientes que fracasan a primera línea de tratamiento con esquemas a INI es muy baja (<2%).
- De los 3 inhibidores de la integrasa aprobados, RAL y EVG presentan una menor barrera a las resistencias y tienen un alto nivel de resistencias cruzadas.
- Dolutegravir presenta una barrera a las resistencias superior al resto de los INI, aunque su perfil de resistencias no está aún perfectamente definido.
- El uso de terapias de mantenimiento/simplificación basadas en monoterapia con DTG se ha asociado con un mayor fracaso virológico con el consiguiente riesgo de aparición de mutaciones de resistencia y limitando el éxito de futuras terapias.

## Referencias

1. Álvarez M, Fernández-Caballero JA, Pérez AB, et al. Decline in clinically relevant resistance to first line ARV regimens in Spain. 25<sup>th</sup> Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI). 2018; Abstract 528.
2. Hofstra LM, Sauvageot N, Albert J, et al. SPREAD Program. Transmission of HIV Drug Resistance and the Predicted Effect on Current First-line Regimens in Europe. *Clin Infect Dis* 2016; 62: 655-63.
3. Wittkop L, Günthard HF, de Wolf F, et al; EuroCoord-CHAIN study group. Effect of transmitted drug resistance on virological and immunological response to initial combination antiretroviral therapy for HIV (EuroCoord-CHAIN joint project): a European multicohort study. *Lancet Infect Dis* 2011; 11: 363-71.
4. Lodi S, Günthard HF, Dunn D, et al; HIV-CAUSAL Collaboration. Effect of immediate initiation of antiretroviral treatment on the risk of acquired HIV drug resistance. *AIDS* 2018; 32: 327-35.
5. Rhee SY, Blanco JL, Jordan MR, et al. Geographic and temporal trends in the molecular epidemiology and genetic mechanisms of transmitted HIV-1 drug resistance: an individual-patient- and sequence-level meta-analysis. *PLoS Med* 2015; 12(4):e1001810.
6. Gupta RK, Gregson J, Parkin N, et al. HIV-1 drug resistance before initiation or re-initiation of first-line antiretroviral therapy in low-income and middle-income countries: a systematic review and meta-regression analysis. *Lancet Infect Dis* 2018; 18: 346-55.
7. Scherrer AU, Yang W, Kouyos RD, et al. Successful prevention of transmission of integrase resistance in the Swiss HIV Cohort Study. *J Infect Dis* 2016; 214:399-402.
8. Margot N, Cox S, Das M, et al. Rare emergence of drug resistance in HIV-1 treatment naïve patients receiving elvitegravir/cobicistat/emtricitabine/tenofovir alafenamide for 144 weeks. *J Clin Virol* 2018; 103: 37-42.
9. Eron JJ, Clotet B, Durant J, et al. Safety and efficacy of dolutegravir in treatment-experienced subjects with raltegravir-resistant HIV type 1 infection: 24-week results of the VIKING Study. *J Infect Dis* 2013; 207: 740-8.
10. Raffi F, Babiker AG, Richert L, et al. Ritonavir-boosted darunavir combined with raltegravir or tenofovir-emtricitabine in antiretroviral-naïve adults infected with HIV-1: 96 week results from the NEAT001/ANRS143 randomised non-inferiority trial. *Lancet* 2014; 384: 1942-51.
11. Blanco JL, Rojas J, Paredes R, et al. Dolutegravir-based maintenance monotherapy versus dual therapy with lamivudine: a planned 24 week analysis of the DOLAM randomized clinical trial. *J Antimicrob Chemother* 2018 Mar 28. [Epub ahead of print]
12. Llibre JM, Hung CC, Brinson C, et al. Vandermeulen K, Underwood M, Smith K, Gartland M, Aboud M. Efficacy, safety, and tolerability of dolutegravir-rilpivirine for the maintenance of virological suppression in adults with HIV-1: phase 3, randomised, non-inferiority SWORD-1 and SWORD-2 studies. *Lancet* 2018; 391: 839-49.
13. Margolis D, González-García J, Stellbrink H, et al. Long-acting intramuscular cabotegravir and rilpivirina in adults with HIV-1 infection (LATTE-2): 96-week results of randomized, open-label, phase 2b, non-inferiority trial. *Lancet* 2017; 390: 1499-1510.

**Tabla 1.** Prevalencia de mutaciones de resistencias a los antiretrovirales en pacientes VIH+ naive a ART.

Cohorte	Región	Período de estudio	Nº	Prevalencia de TDR (%)			
				ITIAN	ITINAN	IP	Total
CoRIS <sup>1</sup>	España	2007-2017	5.484	3.3	3.9	1.8	7.8
SPREAD <sup>2</sup>	Europa	2008-2010	4.140	4.5	2.9	2.0	8.3
	Mundial:			0	1.4	0	2.8
	África subsahariana			1.0	0.8	0.5	2.9
Meta-análisis <sup>5</sup>	Sur-sureste asiático			3.5	1.1	1.6	5.6
(287 estudios)	Países asiáticos	2000-2013	50.870	4.0	2.8	1.4	7.6
	Latinoamérica/Caribe			5.6	3.4	1.5	9.4
	Europa			5.8	4.5	3.0	11.5
	Norteamérica						

**Tabla 2.** Prevalencia de las principales mutaciones de resistencias transmitidas en CoRIS<sup>1</sup> y Spread<sup>2</sup>.

<b>Mutaciones</b>	<b>CoRIS</b>	<b>Spread</b>
<b>ITIAN</b>		
M41L	0.9	1.7
D67EGN	0.7	0.6
M184IV	0.6	0.2
L210W	0.3	0.4
T215rev	1.2	2.5
K219EQNR	1.0	0.5
<b>ITINAN</b>		
K101EP	0.4	0.3
K103NS	2.9	2
Y181CIV	0.4	0.7
G190AES	0.5	0.5
<b>IP</b>		
M46IL	0.8	0.5
V82AFTMSLC	0.2	0.2
L90M	0.3	0.5

**Tabla 3.** Características del perfil de resistencias en pacientes en fracaso a diferentes combinaciones terapéuticas. (Se recogen únicamente algunos estudios en los que se ha observado el desarrollo de mutaciones de resistencia tras fracaso terapéutico).

Estudio (año publicación)	Tratamiento	Fracasos /Total (%)	Resistencias emergentes (%)				
			Total	ITIANs	ITINANs	IPs	INSTI
<b>Primera línea de tratamiento</b>							
Margot (2018) <sup>7</sup>	E/C/F/TAF E/C/F/TDF	58/1733 (3,3)	1,4	M184V (1,2) K65R (0,3)	-	-	66A (0,1) 92 (0,4) 148 (0,2) 155 (0,3)
<b>INSTI naive</b>							
BENCHMRK studies (2013) <sup>8</sup>	RAL/2 INTIAN	166/462 (36)					143C/H/R (4) 148H/L/R (7,6) 155H (8,4)
<b>Terapia dual</b>							
NEAT001 (2016) <sup>9</sup>	DRV/r /RAL	61/401 (15,2)	4,4	-	-	L76V (0,2)	155H (3,2) 143C (0,2) 214Y (0,2) 148 (0,2)
<b>Terapias de mantenimiento</b>							
DOLAM study (2018) <sup>10</sup>	DTG monotherapy	2/31 (6,4)	6,4	-	-	-	138K (3,2) 140S (3,2) 147G (3,2) 148R (3,2) 155H (6,4)
SWORD study (2018) <sup>11</sup>	DTG/RPV	3/513 (0,6)	0,2		101K/N (0,2)	-	-----
LATTE-2 (2017) <sup>12</sup>	Cabotegravir/RPV	3/286 (1)	1	-	103N (0,3) 138G (0,3) 238T (0,3)	-	148R (0,3) 269R/G (0,3)

### **3. Recomendaciones sobre cuándo hacer una prueba de resistencias y los aspectos que hay que considerar.**

*José Luis Casado y Federico Pulido*

Los estudios de resistencia (ER) a los antirretrovirales son una de las principales herramientas de las que dispone el clínico para optimizar el tratamiento antirretroviral<sup>1</sup>, pero como toda prueba de laboratorio es imprescindible conocer sus indicaciones, su interpretación y sus limitaciones.

#### **Aspectos a considerar para indicar un estudio de resistencias:**

##### *Prevalencia de resistencias a los distintos antirretrovirales en nuestro medio*

La prevalencia de mutaciones de resistencia transmitidas en poblaciones mayoritarias ha ido disminuyendo de forma paulatina en los últimos años en lo que se refiere a los ITIAN y a los IP, frente a los ITINAN en los que ha aumentado discretamente<sup>2</sup>. En cuanto a los inhibidores de integrasa (INI), los datos de prevalencia de resistencias primarias en mutaciones relevantes es muy baja en el momento actual<sup>2</sup>.

##### *Coste-eficacia de los test de resistencias*

Conocer las resistencias basales es coste-eficaz si la prevalencia de resistencia en la población en estudio es superior al 5%, o incluso en cifras menores en caso de alto riesgo de fracaso<sup>3</sup>, aunque un reciente estudio no lo considera coste eficaz con el uso de fármacos con alta barrera a la resistencia<sup>4</sup>. En España, la tasa de resistencias transmitidas actual está en torno al 7%<sup>2</sup>: 6% para los ITINAN, 2-3% para los IP y 1-2% para los ITIAN.

#### **Limitaciones técnicas: carga viral mínima y especies minoritarias**

##### *Carga viral mínima*

Los ER utilizados en la clínica requieren un umbral de carga viral mínimo para garantizar la obtención de resultados. Aunque en los laboratorios con experiencia se consigue amplificar y secuenciar muestras por encima de 200 copias/mL<sup>5</sup>, la mayoría de los ensayos clínicos han adoptado un punto de corte de 400 copias/mL para realizar ER en caso de fracaso, con la suficiente reproducibilidad y menor variabilidad



técnica. Sin embargo, actualmente con frecuencia los fracasos virológicos muestran valores de carga viral entre 50-400 copias/mL, es decir, en estos casos tendremos que valorar si esperar, con la posible evolución a mayor fracaso y resistencias<sup>6,7</sup>, o cambiar sin estar guiados por ER.

#### *Variantes minoritarias*

Los ER convencionales (estudios de secuenciación poblacional o Sanger) no muestran poblaciones virales que estén presentes en menos del 15-20% de la carga viral total, por lo que no van a mostrar poblaciones minoritarias. De este modo, distintas mutaciones pueden permanecer ocultas a estos test de secuenciación de poblaciones virales mayoritarias y aparecer posteriormente en caso de reintroducción de fármacos a los que confieren resistencia<sup>8</sup>. En la actualidad existen diferentes plataformas que revisaremos en el capítulo 5 que pueden mostrar mutaciones que confieren resistencia que están presentes en menos de un 1%.

### **Limitaciones clínicas**

#### *Tiempo hasta el estudio de resistencias*

Es importante saber si en el momento del estudio el paciente continúa con el tratamiento que ha fracasado, y si no es así cuánto tiempo ha pasado desde la interrupción del tratamiento. Se recomienda un plazo menor de 30 días entre la retirada y el estudio, pues el rápido recambio de la población viral conduciría a un predominio de poblaciones de virus salvaje que daría lugar a falsos negativos en la determinación de resistencias, o a una mezcla de subpoblaciones resistentes y salvaje con resultados contradictorios en el estudio genotípico de resistencias (mutaciones de resistencia) y fenotípico (sensible)<sup>9</sup>. Igualmente, se ha observado que el tiempo en fracaso, ajustado por el valor de la replicación viral y la barrera genética de los fármacos que se están recibiendo, puede determinar la tasa de resistencias. En una revisión de los fracasos con INI (EVG) en ensayos clínicos pivotaes, se observó que 4 de 18 pacientes no presentaban mutaciones de resistencia y solo se detectaban 51% de las mutaciones en la primera carga viral tras el fracaso, en comparación con la segunda carga viral de confirmación obtenida 4 a 6 semanas después<sup>10</sup>.

#### *Dificultad en la interpretación del test de resistencias*

Para interpretar un ER ante un fracaso virológico, es necesario conocer el tratamiento que estaba recibiendo el paciente en ese momento, y secuenciar todas las dianas terapéuticas implicadas (incluyendo la integrasa si el TAR incluía INI). Se debe

recordar que las mutaciones relacionadas con la resistencia a fármacos utilizados con anterioridad, pero que no están incluidos en el tratamiento actual, pueden no detectarse sin que ello signifique que no exista resistencia a dichos fármacos. Es por tanto conveniente: (i) utilizar todos los ER realizados en el seguimiento histórico del paciente a la hora de seleccionar el régimen de TAR que ofrezca las mayores garantías de eficacia, y (ii) considerar la posibilidad de la presencia de un virus resistente a aquellos fármacos con baja barrera a las resistencias si se confirma por historia un fracaso virológico en presencia de dichos fármacos (3TC/FTC, NEV, EFV, RPV e IP no potenciados).

### **Indicación para solicitar un estudio de resistencias**

*En pacientes que nunca han recibido tratamiento antirretroviral:*

La recomendación actual de tratar a todas las personas diagnosticadas de infección por VIH elimina la controversia del mejor momento para realizar un ER tras el diagnóstico<sup>1</sup>. Actualmente no se considera imprescindible disponer del ER a la hora de iniciar un TAR basado en INI<sup>4</sup> o inhibidores de proteasa potenciados (IP), y la realización de un ER no debería demorar el inicio del tratamiento antirretroviral (TAR). Sin embargo, se sigue recomendando la realización de ER basal, dada la relativa alta tasa de resistencias a ITINAN, y la posibilidad de uso futuro de ITIAN y ITINAN<sup>11</sup>. En el caso de no poder realizar ER basal, sería conveniente archivar una muestra de plasma previa al inicio de tratamiento para secuenciarla en el futuro si se plantea la utilización de un ITINAN.

Dada la casi nula tasa de resistencias transmitidas actuales a INI<sup>1,12</sup>, la secuenciación de la IN no está justificada. La generalización del uso de INI podría hacer cambiar la situación en el futuro, por lo que es imprescindible mantener un sistema de vigilancia epidemiológica que cuantifique la incidencia de resistencias transmitidas a INI en nuestro entorno.

En el caso de una transmisión de fuente conocida con historia de fracaso al TAR, se debería realizar ER (con secuenciación de la IN en el caso de uso de este tipo de fármacos por el sujeto fuente).

*En pacientes en fracaso virológico:*

Ante un repunte virológico confirmado en un paciente con viremia previamente suprimida se debe investigar si ha habido: (i) una mala adherencia, o (ii) una interacción farmacocinética que haya reducido los niveles de los ARV. Si ha habido un abandono por un tiempo superior a 15-30 días el riesgo de falsos negativos del ER se incrementa, como hemos mencionado. En esa situación una alternativa sería – especialmente si la interrupción fue brusca y con fármacos con similar farmacocinética- reintroducir el TAR previo (si la interrupción no se ha debido a un problema de tolerancia) y reevaluar la necesidad del ER en función de la respuesta (como en el apartado anterior). Si no ha habido un abandono completo o éste es inferior a 15 días, la realización de un ER puede dar información sobre la posible selección de cepas resistentes a alguno o algunos de los fármacos utilizados en ese momento.

*En mujeres embarazadas:*

En el caso de una mujer embarazada en la que se va a iniciar TAR, siempre se debe realizar un ER, incluyendo la secuenciación de la IN si se va a prescribir un INI. El inicio de tratamiento no debe demorarse para esperar el resultado, pero disponer precozmente de la información en el caso de que existan resistencias transmitidas puede facilitar un ajuste rápido del TAR para conseguir el control virológico en el menor periodo de tiempo posible. Ante la presencia de una carga viral detectable en la segunda mitad del embarazo se recomienda realizar un ER para ajustar el TAR antes del parto.

## Referencias

1. Panel de expertos de Gesida y Plan Nacional sobre el Sida. Documento de consenso de Gesida/Plan Nacional sobre el Sida respecto al tratamiento antirretroviral en adultos infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana. (Actualización enero 2018). Disponible en URL: [http://gesida-seimc.org/wp-content/uploads/2018/01/gesida\\_TAR\\_adultos\\_v3-1.pdf](http://gesida-seimc.org/wp-content/uploads/2018/01/gesida_TAR_adultos_v3-1.pdf) (Acceso 9 Mayo 2018).
2. Álvarez M, Camacho-Luque R, Pérez AB, et al. Evolución en la transmisión de resistencias a antirretrovirales de primera línea en pacientes VIH en CoRIS (2007-2017). Programa de Vigilancia en la Integrasa Viral. IX Congreso Nacional de GeSIDA, 28 de noviembre – 1 de diciembre de 2017, Vigo. Abstract OR-05.
3. Sax P, Islam R, Walensky RP, et al. Should resistance testing be performed for treatment-naive HIV-infected patients? A cost-effectiveness analysis. *Clin Infect Dis* 2005; 41:1316-23.
4. Koullias Y, Sax PE, Fields NF, et al. Should we be testing for baseline integrase resistance in patients newly diagnosed with human immunodeficiency virus? *Clin Infect Dis* 2017; 65:1274-81.
5. Stelzl E, Troppan KT, Winkler M, et al. Optimized protocol for detection of HIV-1 drug mutations in patients with low viral load. *J Virol Methods* 2010; 168:152-4.
6. Nettles RE, Kieffer TL, Simmons RP, et al. Genotypic resistance in HIV-1–infected patients with persistently detectable low-level viremia while receiving highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* 2004; 39:1030-37.
7. Swenson LC, González-Serna A, Min JE, et al. HIV drug resistance occurring during low-level viremia is associated with subsequent virologic failure. *Antivir Ther* 2013; 18: A1-A145.
8. Li JZ, Gallien S, Do TD, et al. Prevalence and significance of HIV-1 drug resistance mutations among patients on antiretroviral therapy with detectable low-level viremia. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56: 5998-6000
9. Taiwo, B. Understanding transmitted HIV resistance through the experience in the USA. *Int J Infect Dis* 2009; 13:552-9.
10. White K, Kulkarni R, Miller MD. Analysis of early resistance development at the first failure timepoint in elvitegravir/cobicistat/emtricitabine/tenofovir disoproxil fumarate-treated patients. *J Antimicrob Chemother* 2015; 70:2632-8.
11. Wittkop L, Gunthard HF, de Wolf F. Effect of transmitted drug resistance on virological and immunological response to initial combination antiretroviral therapy for HIV (EuroCoord-CHAIN joint project): a European multicohort study. *Lancet Infect Dis* 2011; 11:363-71.
12. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1 infected adults and adolescents. US Department of Health and Human Services. Disponible en URL: <https://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/adultandadolescentgl.pdf>. (Acceso 9 Mayo 2018).

## 5. Resistencias en poblaciones minoritarias: técnicas/plataformas, interpretación y evidencias.

*María del Mar Mosquera y Roger Paredes*

El genotipado viral utilizado tradicionalmente en diagnóstico clínico de la determinación de las mutaciones de resistencias se basa en la secuenciación por el método de Sanger. Este método únicamente es capaz de detectar mutantes virales presentes entre un 15-20% de la población. Con ello, mutantes resistentes presentes en poblaciones minoritarias, que en algunos casos podrían asociarse a fracaso del tratamiento, pasarían desapercibidas a la hora de diseñar un tratamiento efectivo. Mediante nuevas técnicas de secuenciación masiva, hoy es posible detectar mutantes presentes hasta el 1-2% de la población viral de forma robusta y consistente. Dado que, además, dichas plataformas ofrecen la oportunidad de abaratar la secuenciación, distintos laboratorios han empezado a utilizarlas para el análisis de las resistencias genotípicas. Las plataformas de secuenciación masiva están en constante evolución<sup>1</sup>, pero únicamente dos de ellas se están utilizando en la actualidad para diagnóstico clínico: MiSeq<sup>TM</sup> (Illumina, San Diego, CA)<sup>2,3</sup> y *Sentosa*<sup>®</sup> SQ HIV Genotyping Assay (Vela Diagnostics, Singapur)

MiSeq<sup>TM</sup> es una plataforma abierta que se puede utilizar para múltiples aplicaciones de secuenciación. En 2016 Roche dejó de producir definitivamente el secuenciador GS Junior (454, Roche, Branford, CT) y desde entonces distribuye reactivos para la plataforma MiSeq (Illumina, San Diego, CA)<sup>2,3</sup>. *Sentosa*<sup>®</sup>, por su parte, es una plataforma basada en el método PGM Ion Torrent<sup>4,5</sup> que recibió la marca CE-IVD en agosto de 2017 para genotipado de VIH (Tabla 1). En ambos sistemas, el análisis e interpretación de mutaciones se puede realizar mediante software accesible sin recurrir a complejos análisis bioinformáticos: DeepChek<sup>®</sup>-HIV (ABL, SA and TherapyEdge, Inc, Luxemburgo) en el caso de Roche-MiSeq y *Sentosa* SQ Reporter en el caso de Vela. Además de estos softwares comerciales, distintos grupos han desarrollado plataformas web de análisis de resistencias automatizados, robustos y gratuitos, entre los que destacan PASEq (<https://paseq.org>, irsiCaixa) e Hydra (<https://hydra.canada.ca>, Public Health Agency of Canada)<sup>6</sup>.

Aunque tanto MiSeq como PGM Ion Torrent se han utilizado desde 2011 en investigación, los caminos hacia su comercialización como tests diagnósticos de rutina han sido distintos, y existen pocas comparaciones directas entre ellas. En términos generales, ambas plataformas producen resultados equivalentes. En una comparación realizada entre los sistemas *Sentosa*<sup>®</sup> y MiSeq<sup>TM</sup> la especificidad del primero en la

detección de mutaciones resultó >99.9% en muestras con ARN de VIH-1 de al menos 500 copias/mL, presentando una reproducibilidad de cuantificación comparable a la de MiSeq™<sup>7</sup>. Sin embargo, ambas plataformas utilizan una química de secuenciación distinta, lo que conlleva un patrón de errores diferente y utilizan software de corrección de errores distinto, por lo que es de esperar alguna discrepancia ocasional que, en términos generales, se espera que tenga poco impacto en la toma de decisiones clínicas. Se debe tener en cuenta que ambas plataformas están en constante proceso de mejora y actualización<sup>8,9</sup>.

En la actualidad se pueden establecer las siguientes recomendaciones respecto a la utilización de métodos de secuenciación masiva en la práctica clínica:

1. Tanto las plataformas de secuenciación masiva como aquellas basadas en secuenciación Sanger son igualmente válidas para realizar estudios de resistencias genotípicas en el laboratorio clínico.
2. No existe una plataforma de secuenciación masiva mejor que otra. Se debe considerar que, en general, todas producen resultados equivalentes.
3. Los informes de estudios genotípicos de plataformas de secuenciación masiva siempre deben incluir los resultados a un nivel de sensibilidad Sanger-like, es decir, al 15 o 20% de sensibilidad (aunque las diferencias son mínimas, la mayoría de laboratorios están adoptando 15%). En general, los resultados a dicho nivel son los que deben guiar las decisiones clínicas.
  - a. La única excepción a esta regla es si, por cualquier motivo, se considera iniciar tratamiento con nevirapina o efavirenz. Múltiples estudios demuestran que la detección de variantes minoritarias resistentes a estos fármacos se asocia a un mayor riesgo de fracaso virológico<sup>10,11</sup>, por lo que en presencia de variantes minoritarias, dichos fármacos deberían evitarse. Algunos estudios sugieren que el límite de detección con una mayor exactitud diagnóstica sería el 5%<sup>12</sup>.
  - b. No existen estudios suficientes que analicen el efecto de las variantes minoritarias en la respuesta a otros fármacos con barrera genética baja o intermedia, como los inhibidores de integrasa.
  - c. La detección de variantes minoritarias no tiene ningún efecto sobre la efectividad de fármacos con barrera genética alta, como los inhibidores de la proteasa potenciados<sup>13,14</sup>.
  - d. La utilización de técnicas ultrasensibles puede mejorar la predicción del tropismo viral en comparación con los métodos de Sanger<sup>15-17</sup>.
  - e. Aunque no existe suficiente evidencia para dar recomendaciones definitivas, es posible que la detección de una mutante a una frecuencia

entre 1 y 5% deba considerarse clínicamente relevante si se cumplen las dos condiciones siguientes:

- i. Dicha mutación es capaz de conferir resistencia de nivel intermedio o alto al tratamiento por sí misma (ej. M184V a XTC, K65R a tenofovir, Q148R a raltegravir, etc.)
  - ii. Es congruente con la historia clínica del paciente, es decir, (a) ha sido detectada como variante mayoritaria anteriormente, o (b) se observa tras la exposición a un fármaco que es capaz de seleccionarla (ej. M184V o K65R tras profilaxis pre-exposición, Q148R en el contexto de fracaso virológico a inhibidores de integrasa).
- f. La detección de variantes minoritarias en otros compartimentos (LCR, semen, CMSP) debe enmarcarse en un contexto de investigación y no debe utilizarse para tomar decisiones clínicas. A menudo las variantes minoritarias en CMSP se producen en un contexto de edición por APOBECG en virus no viables. No existen estudios sólidos que demuestren su utilidad en el manejo del paciente.

## Referencias

1. Casadellà M, Paredes R. Deep sequencing for HIV-1 clinical management. *Virus Res* 2017; 239:69-81.
2. Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, et al. Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry. *Nature* 2008; 456:53-9.
3. Ram D, Leshkowitz D, Gonzalez D, et al. Evaluation of GS Junior and MiSeq next-generation sequencing technologies as an alternative to Trugene population sequencing in the clinical HIV laboratory. *J Virol Methods* 2015; 212:12-6.
4. Chang MW, Oliveira G, Yuan J, Okulicz JF, Levy S, Torbett BE. Rapid deep sequencing of patient-derived HIV with ion semiconductor technology. *J Virol Methods* 2013; 189:232-4.
5. Rothberg JM, Hinz W, Rearick TM, et al. An integrated semiconductor device enabling non-optical genome sequencing. *Nature* 2011; 475:348-52.
6. Noguera-Julian M, Edgil D, Harrigan PR, Sandstrom P, Godfrey C, Paredes R. Next-Generation Human Immunodeficiency Virus Sequencing for Patient Management and Drug Resistance Surveillance. *J Infect Dis* 2017;216(suppl\_9):S829-33.
7. Raymond S, Nicot F, Carcenac R, et al. HIV-1 genotypic resistance testing using the Vela automated next-generation sequencing platform. *J Antimicrob Chemother* 2018:1-6.
8. Brumme CJ, Poon AFY. Promises and pitfalls of Illumina sequencing for HIV resistance genotyping. *Virus Res* 2017; 239:97-105.
9. Loman NJ, Misra R V., Dallman TJ, et al. Performance comparison of benchtop high-throughput sequencing platforms. *Nat Biotechnol* 2012; 30:434-9.
10. Li JZ, Paredes R, Ribaldo HJ, et al. Low-Frequency HIV-1 Drug Resistance Mutations and Risk of NNRTI-Based Antiretroviral Treatment Failure: A Systematic Review and Pooled Analysis. *JAMA [Internet]* 2011;305(13):1327-35. Available from: [papers://d08f9576-fa0b-499a-a277-114c394c193d/Paper/p3997](http://papers://d08f9576-fa0b-499a-a277-114c394c193d/Paper/p3997).
11. Cozzi-Lepri A, Noguera-Julian M, Di Giallonardo F, et al. Low-frequency drug-resistant HIV-1 and risk of virological failure to first-line NNRTI-based ART: A multicohort European case-control study using centralized ultrasensitive 454 pyrosequencing. *J Antimicrob Chemother* 2015;70.
12. Ávila-Ríos S, García-morales C, Matías-florentino M, et al. Pretreatment HIV-drug resistance in Mexico and its impact on the effectiveness of first-line antiretroviral therapy: a nationally representative 2015 WHO survey. *Lancet HIV* 2016; 3018:1-13.
13. Casadellà M, Manzardo C, Noguera-Julian M, et al. Clinical value of ultradeep HIV-1 genotyping and tropism testing in late presenters with advanced disease. *Aids [Internet]* 2015;29(12):1493-504. Available from: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00002030-201507310-00009>.
14. Lataillade M, Chiarella J, Yang R, et al. Prevalence and clinical significance of HIV drug resistance mutations by ultra-deep sequencing in antiretroviral-naïve subjects in the CASTLE study. *PLoS One* 2010;5(6):e10952.
15. Swenson LC, Mo T, Dong WW, et al. Deep sequencing to infer HIV-1 co-receptor usage: application to three clinical trials of maraviroc in treatment-experienced patients. *J Infect Dis [Internet]* 2011;203(2):237-45. Available from: [papers://d08f9576-fa0b-499a-a277-114c394c193d/Paper/p4172](http://papers://d08f9576-fa0b-499a-a277-114c394c193d/Paper/p4172).
16. Swenson LC, Mo T, Dong WW, et al. Deep Third Variable Sequencing for HIV Type 1 Tropism in Treatment-Naive Patients: A Reanalysis of the MERIT Trial of Maraviroc. *Clin Infect Dis [Internet]* 2011;53(7):732-42. Available from:



- papers://d08f9576-fa0b-499a-a277-114c394c193d/Paper/p4178.
17. MCGovern R, Thielen A, Mo T, et al. Population-based V3 genotypic tropism assay: a retrospective analysis using screening samples from the A4001029 and MOTIVATE studies. *AIDS* [Internet] 2010;24(16):2517-25. Available from: papers://d08f9576-fa0b-499a-a277-114c394c193d/Paper/p4177.

**Tabla 1.** Resumen de las características tecnológicas.

	<b>ROCHE-MiSeq</b>	<b>VELA</b>
<b>Automatización</b>	No	Semi-automático
<b>Tiempo técnica (de muestra a resultados)</b>	8.5 días	3.5 días
<b>Tiempo del personal invertido</b>	13.3 h	3.5 h
<b>Muestras/run</b>	20-22	15
<b>Sensibilidad analítica teórica</b>	≥2000 cp/mL	≥1000 cp/mL
<b>Límite detección</b>	1%	1%
<b>Límite detección recomendado en diagnóstico</b>	5%	5%
<b>Software de análisis</b>	Sí	Sí
<b>Volumen de muestra necesario</b>	1 mL	0.73 mL
<b>Nº aminoácidos secuenciados:</b>		
<b>PR</b>	10-99	1-99
<b>TI</b>	1-251	1-376
<b>IN</b>	42-170	1-288

## 6. Interpretación de resistencia a ITIAN.

Isabel Viciano y Josep M Llibre

Los tratamientos antiretrovirales triples tanto de inicio como en simplificación suelen incluir una pareja coformulada de ITIAN compuesta por ABC/3TC o TDF/FTC (bien sea TDF o TAF). ABC demostró una eficacia inferior en sujetos con CV>100.000 copias/ml cuando se administró con efavirenz o atazanavir/ritonavir<sup>1</sup>. Esta diferencia vs tenofovir no se ha observado con INI (RAL o DTG)<sup>2-4</sup>.

Hay 34 mutaciones no polimórficas en 15 posiciones en la transcriptasa inversa asociadas a resistencia a ITIAN, que se muestran en la Tabla 1<sup>5</sup>. Los perfiles de mutaciones que afectan la actividad de estos análogos difieren ligeramente, por lo que es importante su análisis.

### Patrones de multiresistencia a ITIAN

Existen básicamente tres vías de desarrollo de multiresistencia a ITIAN.

- 1) Acúmulo de TAMs (mutaciones asociadas a ITIAN timidínicos): M41L, D67N, K70R, L210W, T251Y/F, K219Q/E<sup>6-8</sup>. Clásicamente se agrupan en dos vías de desarrollo de resistencia: TAM1 (M41L, L210W, T251Y) y TAM2 (D67N, K70R, T215F, K219Q/E)<sup>6,9</sup>. Confiere Resistencia a todos los ITIAN con excepción de FTC o 3TC. En general, se considera que con  $\geq 3$  TAMs y especialmente en presencia de M41L y L210W la resistencia es completa a todos los ITIAN excepto a tenofovir, que a menudo muestra actividad intermedia y puede retener alguna actividad residual<sup>10,11</sup>. Tenofovir es el ITIAN que mantiene más actividad en presencia de TAMs. La presencia de M184V revierte en algún grado la resistencia conferida por estas TAMs, especialmente en presencia de  $\geq 3$  TAMs<sup>6,10,12</sup>. El grado de resistencia cruzada depende del número y tipo de mutaciones y debe evaluarse en cada caso. Tenofovir alafenamida (TAF) posee *in vitro* una mayor actividad antiviral que tenofovir disoproxil fumarato (TDF) frente al acúmulo de TAMs en diferentes aislados virales con diferentes patrones de resistencias<sup>13-15</sup>. La presencia de TAMs causa un cierto grado de hipersusceptibilidad frente a ITIANs, aunque la traslación clínica de este hallazgo no está documentada. Las TAMs muestran un antagonismo fenotípico bidireccional con K65R y raramente suelen coexistir en el mismo genotipo<sup>12-16</sup>.
- 2) Complejo de inserción de tres serinas entre los codones 67 y 70 (69SSS).(6) Implica la inserción de  $\geq 2$  aminoácidos, más frecuentemente S-S, S-A, o S-G.

Confiere resistencia a todos los ITINAN, especialmente, cuando aparece junto a  $\geq 1$  TAM de la vía 1 (M41L, L210W, o T251Y).

- 3) Complejo de multiresistencia Q151M<sup>6</sup>. Confiere resistencia a todos los ITIANs con excepción de TDF –salvo que esté presente la mutación K65R<sup>8-17</sup>. Incluye A62V, V75I, F77L, F116Y, La mutación más relevante en este complejo es Q151M. El resto de mutaciones, de manera aislada, no confiere resistencia significativa.

### **M184V/I**

Confiere resistencia fenotípica completa de alto grado a 3TC y FTC. Asimismo, confiere hipersusceptibilidad a AZT y TDF/TAF (en mayor grado *in vitro* a TAF)<sup>7,14,15</sup>. Sin embargo, tiene un fuerte impacto en la capacidad replicativa o *fitness* viral y diversos ensayos clínicos han confirmado la eficacia clínica de mantener 3TC o FTC en un régimen antiretroviral de rescate a pesar de haberse confirmado la presencia de M184V, sin añadir toxicidad adicional -lo que se explicaría por la actividad residual que mantendría el 3/FTC aún en presencia de la resistencia conferida por M184I/V<sup>18,19</sup>. Por sí sola confiere resistencia intermedia a ABC, aunque asociada a TAMs incrementa el grado de resistencia a ABC.

M184I se asocia a la presencia de E138K específicamente en fracasos a RPV, corrigiendo el defecto replicativo inducido por ésta. Aparecen probablemente debido a una neutralización incompleta de una o varias proteínas APOBEC3 que favorecen el escape viral<sup>20</sup>. M184I suele emerger antes y de forma transicional a la M184V debido a que requiere una sustitución menos compleja de nucleótidos.

### **K65R**

K65R es seleccionada principalmente por TDF, pero también, aunque con menor frecuencia, por ABC y d4T. La presencia de K65R está asociada con una respuesta virológica reducida al tenofovir. La existencia de TAMs o el tratamiento combinado con AZT previene la emergencia de la K65R en presencia de tenofovir (TFV)<sup>15,16</sup>. No existen datos que indiquen diferencias en los patrones de resistencia entre TDF y TAF porque el componente activo de ambas formulaciones es el TDF<sup>11,14,15</sup>. Sin embargo TAF consigue niveles intracelulares entre 3 y 5 veces más elevados de tenofovir que TDF<sup>13</sup>. De hecho, TAF inhibió *in vitro* el crecimiento viral de 12/15 cepas con  $\geq 3$  TAMs, mientras que TFV (administrado *in vitro* a los niveles alcanzados con TDF) no fue capaz de inhibir el crecimiento de ninguna de las 15<sup>13</sup>. La presencia de la mutación M184V/I aumenta la sensibilidad a tenofovir<sup>6,7,9,17</sup>.

K65R es seleccionada más frecuentemente (4-11%) en pacientes con subtipos no B en fracaso con d4T y también frente a TDF en subtipos C<sup>21-23</sup>.

La selección de la K65R en presencia de TFV se asocia a una disminución de la *fitness* viral<sup>17</sup>. La mutación K65R condiciona resistencia a tenofovir y resistencia intermedia a Abacavir, 3TC y FTC, y aumenta la sensibilidad a AZT.

La presencia de M184I/V junto a K65R aumenta la sensibilidad a tenofovir, AZT y d4T, y aumenta la resistencia a ddl y ABC.

#### **K65E/N**

La mutación K65N causa una ligera disminución de sensibilidad a TDF. K65E es una mutación raramente seleccionada por el tratamiento con NRTI que causa gran disminución de la *fitness* viral<sup>24,25</sup>.

#### **K70E/G/Q**

La mutación K70E/G/Q es seleccionada por regímenes que contienen tenofovir o ABC. Están asociadas a un bajo nivel de resistencia a tenofovir, ABC y posiblemente a 3TC y FTC<sup>5,11</sup>.

#### **L74V/I y Y115F**

Son seleccionadas principalmente por ABC (también ddl), particularmente cuando los test de resistencias se realizan tras un prolongado tiempo de fracaso virológico. Y115F puede ser seleccionada también por tenofovir<sup>17</sup>. L74V/I causa resistencia intermedia a ABC (y elevada a ddl) y cierta hipersusceptibilidad a tenofovir. Y115F causa resistencia a ABC y bajo nivel de resistencia a TDF<sup>8</sup>.

## Referencias

1. Sax PE, Tierney C, Collier A, et al. Abacavir–Lamivudine versus Tenofovir–Emtricitabine for Initial HIV-1 Therapy. *N Engl J Med* 2009; 361:2230-40.
2. Raffi F, Rachlis A, Stellbrink HJ, et al. Once-daily dolutegravir versus raltegravir in antiretroviral-naïve adults with HIV-1 infection: 48 week results from the randomised, double-blind, non-inferiority SPRING-2 study. *Lancet* 2013; 381:735-43.
3. Clotet B, Feinberg J, van Lunzen J, et al. Once-daily dolutegravir versus darunavir plus ritonavir in antiretroviral-naïve adults with HIV-1 infection (FLAMINGO): 48 week results from the randomised open-label phase 3b study. *Lancet* 2014; 383:2222-31.
4. Gallant J, Lazzarin A, Mills A, et al. Bictegravir, emtricitabine, and tenofovir alafenamide versus dolutegravir, abacavir, and lamivudine for initial treatment of HIV-1 infection (GS-US-380-1489): a double-blind, multicenter, phase 3, randomised controlled non-inferiority trial. *Lancet* 2017; 390:2063-72.
5. Bennett DE, Camacho RJ, Otelea D, et al. Drug resistance mutations for surveillance of transmitted HIV-1 drug-resistance: 2009 update. *PLoS One*. 2009;4(3).
6. Whitcomb JM, Parkin NT, Chappey C, et al. Broad Nucleoside Reverse-Transcriptase Inhibitor Cross-Resistance in Human Immunodeficiency Virus Type 1 Clinical Isolates. *J Infect Dis* 2003; 188:992-1000.
7. Miller MD, Margot N, Lu B, et al. Genotypic and phenotypic predictors of the magnitude of response to tenofovir disoproxil fumarate treatment in antiretroviral-experienced patients. *J Infect Dis* 2004; 189:837-46.
8. Paredes R, Tzou PL, Van Zyl G, et al. Collaborative update of a rule-based expert system for HIV-1 genotypic resistance test interpretation. *PLoS ONE* 2017; 10:1-31 p.
9. Melikian GL, Rhee SY, Taylor, et al. Standardized comparison of the relative impacts of HIV-1 Reverse Transcriptase (RT) mutations on nucleoside RT inhibitor susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56:2305-13.
10. Wolf K, Walter H, Beerenwinkel N, et al. Tenofovir Resistance and Resensitization. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47:3478-84.
11. Wensing AM, Calvez V, Günthard HF, et al. 2017 Update of the Drug Resistance Mutations in HIV-1. *Top Antivir Med* 2016; 24:132-3.
12. Parikh UM, Bacheler L, Koontz D, et al. The K65R Mutation in Human Immunodeficiency Virus Type 1 Reverse Transcriptase Exhibits Bidirectional Phenotypic Antagonism with Thymidine Analog Mutations The K65R Mutation in Human Immunodeficiency Virus Type 1 Reverse Transcriptase Exhibits Bidirection Society 2006; 80:4971-7.
13. Margot NA, Liu Y, Miller MD, et al. High resistance barrier to tenofovir alafenamide is driven by higher loading of tenofovir diphosphate into target cells compared to tenofovir disoproxil fumarate. *Antiviral Res* 2016; 132:50-8.
14. Margot N, Ram R, Abram M. Antiviral Activity of Tenofovir Alafenamide Against HIV-1 with Thymidine Analog Mutation(s) and M184V. 25th Conf Retroviruses Opportunistic Infect 2018, Boston, MA #560.
15. Margot NA, Johnson A, Miller MD, et al. Characterization of HIV-1 resistance to tenofovir alafenamide in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; 59:5917-24.
16. von Wyl V, Yerly S, Böni J, et al. Factors associated with the emergence of K65R in patients with HIV-1 infection treated with combination antiretroviral therapy containing tenofovir. *Clin Infect Dis* 2008; 46:1299-309.
17. White KL, Margot NA, Wrin T, et al. Molecular Mechanisms of Resistance to Human Immunodeficiency Virus Type 1 with Reverse Transcriptase Mutations K65R + M184V and Their Effects on Enzyme Function and Viral Replication Capacity. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46:3437-46.

18. Paton NI, Kityo C, Hoppe A, Reid A, Kambugu A, Lugemwa A, et al. Assessment of Second-Line Antiretroviral Regimens for HIV Therapy in Africa. *N Engl J Med* 2014; 371:234-47.
19. Campbell TB, Shulman NS, Johnson SC, et al. Antiviral Activity of Lamivudine in Salvage Therapy for Multidrug- Resistant HIV- 1 Infection. *Clin Infect Dis* 2005; 41:236-42.
20. Fourati S, Malet I, Lambert S, Soulie C, Wirden M, Flandre P, et al. E138K and M184I mutations in HIV-1 reverse transcriptase coemerge as a result of APOBEC3 editing in the absence of drug exposure. *AIDS* 2012; 26:1619-24.
21. Hawkins CA, Chaplin B, Idoko J, Ekong E, Adewole I, Gashau W, et al. Clinical and genotypic findings in HIV-infected patients with the k65r mutation failing first-line antiretroviral therapy in Nigeria. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009; 52:228-34.
22. Gregson J, Tang M, Ndembu N, Hamers RL, Marconi VC, Brooks K, et al. Global epidemiology of drug resistance after failure of WHO recommended first-line regimens for adult HIV-1 infection: A multicentre retrospective cohort study. *Lancet Infect Dis* 2016;16:565-75.
23. Skhosana L, Steegen K, Bronze M, et al. High prevalence of the k65r mutation in hiv-1 subtype c infected patients failing tenofovir-based first-line regimens in south africa. *PLoS One* 2015; 10:1-12.
24. Fourati S, Visseaux B, Armenia D, et al. Identification of a rare mutation at reverse transcriptase Lys65 (K65E) in HIV-1-infected patients failing on nucleos(t)ide reverse transcriptase inhibitors. *J Antimicrob Chemother* 2013; 68:2199-204.
25. Chunduri H, Crumpacker C, Sharma PL. Reverse transcriptase mutation K65N confers a decreased replication capacity to HIV-1 in comparison to K65R due to a decreased RT processivity. *Virology* 2011; 414:34-41.

**Tabla 1.** Interpretación de Resistencias a ITIAN.

Fármaco	AZT	ABC	TDF/TAF**	3TC***	FTC***
<b>Resistencia</b>	T215Y/F	K65R	K65R	M184I/V	M184I/V
	Q151L/M Inserción 69 ≥3 TAM	codón Inserción codón 69 ≥3 TAM	Inserción codón 69 ≥ 4 TAM	Inserción codón 69	Inserción codón 69
<b>Resistencia Intermedia</b>	< 3 TAM	K70E/G L74I/V Y115F M184V < 3 TAM	K70E/G Q151L/M 3 TAM	K65R Q151L/M	K65R Q151L/M
<b>Hipersusceptibilidad*</b>	<b>K65R</b> <b>K70E/G</b> <b>M184I/V</b> <b>K65R+M184I/V</b>		<b>M184I/V</b>		

AZT: Zidovudina; ABC: Abacavir; TDF/TAF: Tenofovir/ Tenofovir Alafenamida; 3TC: Lamivudina; FTC: Emtricitabina

\*La presencia de mutaciones que confieren hipersusceptibilidad (verde) junto a mutaciones que confieren resistencia tendrían una interpretación de Resistencia Intermedia, con la excepción de la K65R+M184I/V que revertiría la resistencia al AZT.

\*\*A pesar de que TDF y TAF tienen algunas diferencias in vitro en sus CI50 y actividad frente a algunas mutaciones, este comité recomienda la misma valoración para ambos en base a los resultados de los ensayos clínicos.

\*\*\*En caso de historia de fracaso previo a un ARV que contenga 3TC ó FTC debe de considerarse resistencia a estos fármacos.



## 7. Interpretación de resistencia a ITINAN.

*María Jesús Pérez-Elías y Manuel Crespo*

Actualmente están comercializados 4 inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósido (ITINAN): nevirapina (NVP), efavirenz (EFV), etravirina (ETR) y rilpivirina (RPV)<sup>1</sup>. En un futuro próximo es posible que se comercialice doravirina<sup>2</sup>. Ninguno de ellos está indicado como tratamiento de inicio preferente en el tratamiento antirretroviral del adulto<sup>1</sup>. El uso de los ITINAN de primera generación NVP y EFV es cada vez menor. La RPV está indicada como pauta alternativa –que puede ser de elección en algunos pacientes- en tratamiento de inicio en pacientes con CV <100.000 copias/mL y en el cambio de tratamiento, en pacientes con supresión virológica, desde pautas que contienen EFV o (regímenes con) inhibidores de la proteasa. La mayor evidencia para el uso de ETR es en pautas de rescate avanzado<sup>1</sup>.

Los ITINAN son moléculas pequeñas que inhiben la TI fijándose a un bolsillo hidrofóbico de la enzima en una unión alostérica, modificando su flexibilidad y bloqueando la síntesis de ADN. La secuencia de la TI que codifica el bolsillo de unión de los ITINAN comprende la secuencia de aminoácidos entre las posiciones 90 y 348. Las mutaciones que comprometen más la actividad de los ITINAN están ubicadas fundamentalmente en las regiones 98-108 y 179-190 de la TI, aunque también pueden ocurrir entre los codones 225 y 238<sup>3</sup>. Se han encontrado MR en los codones 90, 98, 100, 101, 103, 106, 108, 138, 179, 181, 188, 190, 221, 225, 227, 230, 236, 238, 318, 348.

La primera MR que aparece tras el fracaso virológico con una pauta basada en ITINAN, depende del fármaco al que se ha expuesto el paciente (normalmente EFV: K103N; NVP: Y181C; y RPV y ETR: E138K), aunque la resistencia cruzada entre ellos es muy frecuente y absoluta entre los de primera generación EFV y NVP<sup>4</sup>. La ETR tiene una mayor barrera genética las resistencias, le cuesta más y necesita acumular más mutaciones para ser resistente, y el patrón de mutaciones de resistencias que le impactan fenotípicamente no se incluye –lo mismo que con la RPV- la mutaciones K103N<sup>5</sup>. Otra característica de los ITINAN es la falta de actividad virológica residual de EFV, NVP y RPV en pacientes con MR frente a los ITINAN<sup>6</sup>.

### **Mutaciones de Resistencia en pacientes Naive**

En los últimos registros epidemiológicos a nivel mundial, se ha observado un aumento considerable de las MR asociadas a los ITINAN, especialmente en países de África Subsahariana, Latinoamérica y Asia<sup>7</sup>, donde los ITINAN son fármacos de

primera línea y las pruebas de resistencia no están disponibles de forma rutinaria. Por este motivo son esenciales los programas nacionales de vigilancia y modificar la indicación de los ITINAN como fármacos de primera línea. En España los ITINAN son la familia con mayor prevalencia de MR en pacientes naive<sup>8</sup>. Esto tiene poca relevancia en nuestro país, al no ser fármacos de uso preferente en el TAR inicial<sup>1</sup>. Sin embargo, merece consideración cuando se plantee modificar el TAR en pacientes con supresión virológica. En la lista actualizada de MR para vigilancia epidemiológica de las resistencias transmitidas a ITINAN se incluyen 19 MR, en 10 posiciones de la TI: 100I; 101E/P; 103N/S; 106M/A; 179F; 181C/I/V; 188L/H/C; 190A/S/E; 225H; 230L<sup>9</sup>.

Las MR K103N, Y181C y G190A son las MR encontradas en más del 80% de cepas con MR transmitidas a ITINANs de primera generación, en cualquier área geográfica y subtipo viral. V106M es la cuarta MR más frecuente en el subtipo C<sup>10</sup>. En la práctica clínica los pacientes con MR aisladas a los ITINANs, pueden recibir en primera línea, un régimen basado en INI o en un IP<sup>11</sup>.

### **Mutaciones de Resistencia en pacientes con Fracaso Viroológico**

En la Tabla 1 se muestra la interpretación de las diferentes mutaciones en la sensibilidad de los diferentes ITINAN <sup>12-15</sup>. En algunos subtipos se han descrito mutaciones particulares, A98S en el subtipo C<sup>16</sup> o L228I y Y232H en el subtipo CRF08\_BC<sup>17</sup>. Existe poca información sobre la DOR, en estudios in vitro se ha confirmado su actividad frente a cepas que tienen las mutaciones K103N, Y181C, E138K, Y181C, y K101E<sup>18</sup>. Sometiendo al VIH subtipo B a concentraciones crecientes de DOR se selecciona inicialmente la mutación V106A y desde esta se inician dos vías de mutación, F227L o L234I. En los subtipos virales A y C, se detectaron vías de desarrollo de mutaciones similares, en las cuales las MR V106A o V106M inician las vías mutacionales<sup>19</sup>.

## Referencias

1. Documento de consenso de GeSIDA/Plan Nacional sobre el Sida respecto al tratamiento antirretroviral en adultos infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (Actualización enero 2018) en <http://gesida-seimc.org/category/guias-clinicas/antirretroviral-vigentes/>
2. Molina JM, Squires K, Sax PE, et al. DRIVE-FORWARD Study Group. Doravirine versus ritonavir-boosted darunavir in antiretroviral-naive adults with HIV-1 (DRIVE-FORWARD): 48-week results of a randomised, double-blind, phase 3, non-inferiority trial. *Lancet HIV* 2018, Mar 23. pii: S2352-3018(18)30021-3. doi: 10.1016/S2352-3018(18)30021-3 [Epub ahead of print]
3. Wei X, Ghosh SK, Taylor ME, et al. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* 1995; 373:117-22.
4. Delaugerre C, Rohban R, Simon A, et al. Resistance profile and cross-resistance of HIV-1 among patients failing a non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor-containing regimen. *J Med Virol* 2001; 65:445-48.
5. Vingerhoets J, Tambuyzer L; Azijn H, et al. Resistance profile of etravirine: combined analysis of baseline genotypic and phenotypic data from the randomized, controlled Phase III clinical studies. *AIDS* 2010; 24:503-14.
6. Deeks S, Hoh R, Torsten B. et al. Interruption of Treatment with Individual Therapeutic Drug Classes in Adults with Multidrug-Resistant HIV-1 Infection. *J Infect Dis* 2005; 192:1537-44.
7. Gupta R, Gregson J, Parkin N, et al. HIV-1 drug resistance before initiation or re-initiation of first-line antiretroviral therapy in low-income and middle-income countries: a systematic review and meta-regression analysis. *Lancet Infect Dis* 2017; 8: 346-55
8. Alvarez M, Fernández-Caballero JA, Perez A, et al. Decline in clinically relevant resistance to first line ARV regimens in Spain. XXV Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI) Boston, Massachusetts, March 4-7, 2018. Abstract 528.
9. Bennett DE, Camacho RJ, Otelea D, et al. Drug Resistance Mutations for Surveillance of Transmitted HIV-1 Drug-Resistance: 2009 Update. *PLOS ONE* 2009; 4: e4724. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004724>
10. Rhee SY, Blanco JL, Jordan MR, et al. Geographic and temporal trends in the molecular epidemiology and genetic mechanisms of transmitted HIV-1 drug resistance: an individual-patient- and sequence-level meta-analysis. *PLoS Med.* 2015 Apr 7;12(4):e1001810.
11. Clutter DS, Fessel WJ, Rhee SY, et al. Response to Therapy in Antiretroviral Therapy-Naive Patients With Isolated Nonnucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor-Associated Transmitted Drug Resistance. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2016;72:171-6.
12. de Mendoza C, Anta L, García F, et al. HIV-1 genotypic drug resistance interpretation rules - 2009 Spanish guidelines. *AIDS Rev.* 2009; 11:39-51.
13. HIVdb Program. Genotypic Resistance Interpretation Algorithm. Sierra version 2.2.5 (last updated 2018-04-10). HIVdb version 8.4 (last updated 2017-06-16) <https://hivdb.stanford.edu/hivdb/by-mutations/report/>.
14. Wensing AM, Calvez V, Günthard HF, et al. Update of the Drug Resistance Mutations in HIV-1. *Top Antivir Med.* 2017; 24:132-133.
15. Genotype interpretation: non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors ANRS - ac 11: resistance group, September 2017- Version n°27. <http://www.hivfrenchresistance.org/2017/tab1.html>
16. Deshpande A, Jauvin V, Magnin N, et al. Resistance mutations in subtype C HIV type 1 isolates from Indian patients of Mumbai receiving NRTIs plus NNRTIs and experiencing a treatment failure: resistance to AR. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2007; 23:335-40
17. Zhang XM, Zhang Q, Wu H, et al. Novel Mutations L228I and Y232H Cause Nonnucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor Resistance in Combinational Pattern. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2016; 32:909-17.

18. Lai MT, Feng M, Falgout J P, et al. In vitro characterization of MK-1439, a novel HIV-1 nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58:1652-63.
19. Feng M, Wang D, Grobler JA, et al. In vitro resistance selection with doravirine (MK-1439), a novel nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor with distinct mutation development pathways. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; 59:590–98.

**Tabla 1.** Interpretación de las mutaciones de resistencia a ITINAN en pacientes con fracaso virológico.

<b>Fármaco</b>	<b>NVP</b>	<b>EFV</b>	<b>ETR</b>	<b>RPV</b>
<b>Resistencia Alta</b>	L100I K101E/P K103H/N/S/T 106A/M Y181C/I/S/V Y188C/H/L G190A/C/E/Q/S/T/V F227C/L	L100I K101P K103H/N/S 106A/M Y181C/I/V Y188C/H/L G190A/C/E/Q/S/T/V F227C M230L	K101P Y181C/I/V ≥3 MR entre: L100I, K101E/H/I/R, V106I, G190A/S, M230L	L100I K101P Y181C/I/V Y188L M230I/L <sup>2</sup>
<b>Resistencia Intermedia</b>	A98G L100V K101E H221Y <sup>1</sup> P225H	L100V K103T Y181S P225H F227L	L100I 2 MR entre: K101E/H/I/R, V106I, G190A/S M230L F227C	K101E E138K <sup>3</sup> V179L <sup>4</sup> H2211Y <sup>5</sup> F227C

## 8. Interpretación de resistencia a IP

*Miguel García, Carmen Vidal y Carmen Ricart*

La proteasa es una enzima codificada por una secuencia de 99 aminoácidos ubicada en el gen Pol que ejerce su acción en las etapas tardías de la replicación viral. Se encarga del procesamiento o escisión de las poliproteínas Gag y Gag-Pol, paso necesario para convertir las nuevas partículas virales nacientes inmaduras no infecciosas, en partículas virales maduras capaces de infectar a otras células<sup>1,2</sup>.

Los Inhibidores de la Proteasa (IP) compiten con el sustrato natural de la proteasa del VIH en su unión al centro activo, al tener una estructura química similar a los puntos de la cadena peptídica donde el enzima produce los cortes<sup>3</sup>. Pero, además en la actualidad, se conoce que el efecto de bloqueo de los IP va más allá, y se da en cada paso relevante del ciclo de vida del VIH incluidas la entrada, la transcripción inversa, la integración y en los procesos post integración al favorecer la formación de moléculas de integrasa, transcriptasa inversa y proteasa disfuncionantes<sup>4</sup>.

Debemos recordar dos conceptos básicos para poder interpretar la dinámica de resistencias de los fármacos antirretrovirales, y concretamente de los IP:

- Barrera genética: es el número de mutaciones de resistencia necesarias para que el virus desarrolle resistencia fenotípica a ese fármaco
- Robustez: es la dificultad para que aparezcan mutaciones de resistencia cuando se produce el fracaso virológico en presencia del fármaco.

Los IP, cuando están potenciados, son prácticamente los únicos fármacos que conjugan ambas virtudes: tienen una alta barrera genética, y así, para que un virus adquiera resistencia significativa se requiere la acumulación de varias mutaciones de resistencia; y una alta robustez, puesto que es excepcional la selección de resistencias en el fracaso virológico, especialmente en pacientes en su primera línea de tratamiento cuando no hay mutaciones preexistentes en la integrasa<sup>5</sup>. Por todo ello, son los fármacos con mayor permisividad a los fallos de adherencia. Farmacológicamente, la alta barrera genética y de resistencia se sustentan, primero en un coeficiente inhibitorio muy elevado frente a la IC50 del virus *wild-type*,<sup>6</sup> segundo en una semivida disociativa muy prolongada<sup>7</sup> y, por último, quizás en el comentado efecto *multi-step*<sup>4</sup>.

Nada menos que más de 70 mutaciones localizadas en 28 codones del gen de la proteasa, se han asociado en mayor o menor grado con resistencia a los IP<sup>8,9</sup>.

Las mutaciones de resistencia a IP pueden ser:<sup>8</sup>

- Mutaciones Primarias, Principales o Mayores: relacionadas directamente con la unión de la proteasa al IP, y que contribuyen en mayor medida a la resistencia.
- Mutaciones Secundarias, Menores o Compensatorias: no están directamente relacionadas con la unión al IP, mejoran la capacidad replicativa de los virus mutantes resistentes teniendo un menor efecto, de tal forma que sólo disminuyen la sensibilidad si se asocian a resistencias primarias.
- Polimorfismos Naturales: cerca del 50% de los pacientes que nunca han recibido IP tiene algunas mutaciones secundarias, que no contribuyen a disminuir la sensibilidad en ausencia de otras mutaciones.

Las instituciones europeas y americanas más conocidas como ANRS<sup>10</sup>, Rega<sup>11</sup>, Geno2pheno<sup>12</sup>, IAS-USA<sup>9</sup> y Stanford<sup>8</sup> proponen diferentes algoritmos de interpretación para determinar el grado de resistencia a los ARV y particularmente de los IP. Nosotros lo hemos hecho recientemente en una actualización de la Red de Investigación en SIDA (RIS) de enero de este año<sup>13</sup> proponiendo una guía práctica y sencilla, para utilizar en la clínica diaria sin tener que poner los datos en ninguna plataforma informática y evitando puntuaciones complejas para cada una de las mutaciones<sup>8,11</sup>. La adaptación, la hemos realizado fundamentalmente de la ANRS<sup>10</sup>. pero teniendo en cuenta también mutaciones que, a pesar de no estar en algunos scores de los fármacos<sup>14-16</sup>, sí que tienen varias referencias que muestran su relevancia en la resistencia<sup>17-20</sup> y, por ejemplo, así figuran claramente en la base de Stanford y en otras plataformas colaborativas<sup>8,21</sup>.

Dado que en la actualidad únicamente se utilizan tres IP: lopinavir (LPV), atazanavir (ATV) y darunavir (DRV), en la tabla adjunta resumen de interpretación de resistencias a los IP (Tabla 1), se definen tan solo las resistencias a esta triada. Sin embargo, entendiendo que hay pacientes que han fracasado a los IP de primera generación, para ayudar a identificar las posibles mutaciones de resistencias que algunos pacientes pudieran haber seleccionado, sobre todo si en su día no se pudieron determinar, comentaremos muy brevemente las vías de escape o mutaciones más frecuentes y sus características: indinavir: M46L, V82A, I54V; ritonavir: M46L, V82A; saquinavir: G48V, L90M; nelfinavir: D30N, L90M; ammprenavir

/fosamprenavir: V32I,I47V,I50L,I84V.

DRV, es el que presenta la mayor barrera a las resistencias, no solo de los IP sino de todo el arsenal terapéutico antirretroviral actual, además es el único que puede aumentar su dosis en pacientes con resistencias previas. LPV tendría una barrera a las resistencias intermedia, aunque actualmente se utiliza menos y, por último, ATV es el que tendría una barrera a las resistencias más baja, especialmente cuando se utiliza no potenciado.

Puede verse claramente (Tabla 1), que tanto ATV como LPV pueden tener una resistencia fenotípica de alto nivel con tan solo ciertas mutaciones únicas, o bien con el acúmulo de otras varias. DRV necesita al menos dos o bien una si es de las de mayor peso (I50V, I54L/M, L76V o I84V) para su formulación de 800 mg una vez al día (qd) y, al menos cuatro para la de 600 mg dos veces al día (bid) o bien tres si son de las referidas de mayor impacto fenotípico<sup>16</sup>. Por otra parte, la presencia de mutaciones que producen hipersusceptibilidad<sup>22-24</sup> junto con mutaciones de resistencia, las neutralizarían en parte confiriendo una resistencia tan solo intermedia.

Por último, hay que destacar que recientemente se ha documentado que la mutación V32I es una sustitución clave que rara vez ocurre en los intentos de selección *in vitro*, pero que una vez lo hace, predispone a VIH-1 a desarrollar resistencia a DRV de alto nivel<sup>25</sup>. Habrá que revisar los escasos aislados *in vivo* de alto impacto fenotípico a DRV para ver si la contienen.



## Referencias

1. Flexner Ch. HIV-Protease inhibitors. *N Engl J Med* 1998; 338:1281-92
2. Adamson CS. Protease-Mediated Maturation of HIV: Inhibitors of protease and the maturation process. *Mol Biol Int* 2012; 2012:604261.
3. Davis DA, Soule EE, Davidoff KS, et al. Activity of human immunodeficiency virus type 1 protease inhibitors against the initial autocleavage in Gag-Pol polyprotein processing. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56:3620-8
4. Rabi SA, Laird GM, Durand CM, et al. Multi-step inhibition explains HIV-1 protease inhibitor pharmacodynamics and resistance. *J Clin Invest* 2013; 123:3848-3860.
5. Blanco Arévalo JL. Darunavir as initial therapy for human immunodeficiency virus infection and as a strategy for switching regimen not motivated by virological failure. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2016; 34 Suppl 1:3-10.
6. Tang MW, Shafer RW. HIV-1 antiretroviral resistance: scientific principles and clinical applications. *Drugs* 2012; 72:1-25
7. Dierynck I, De Wit M, Gustin E, et al. Binding kinetics of darunavir to human immunodeficiency virus type 1 protease explain the potent antiviral activity and high genetic barrier. *J Virol* 2007; 81:13845-51.
8. Stanford HIV Drug Resistance Database. Major HIV-1 Drug resistance Mutations. Updated Dec 11, 2017. Disponible en: <https://hivdb.stanford.edu/dr-summary/resistance-notes/PI>.
9. Wensing AM, Calvez V, Günthard HF, et al. IAS–USA: 2017. Update of the Drug Resistance Mutations in HIV-1. *Top Antivir Med* 2017; 24:132-141.
10. ANRS AC11 Resistance Group. HIV-1 genotypic drug resistance interpretations algorithm's. September 2017, version N°27. Disponible en: <http://www.hivfrenchresistance.org/2017/Algo2017-HIV1.pdf>
11. Camacho R, Van Laethem K, Geretti AM, et al. Algorithm for the use of genotypic HIV-1 resistance data. Rega v.9.1.0 October2013. Disponible en: [https://rega.kuleuven.be/cev/avd/files/software/reg\\_a\\_algorithm/Rega\\_HIV1\\_Rules\\_v9.1.0.pdf](https://rega.kuleuven.be/cev/avd/files/software/reg_a_algorithm/Rega_HIV1_Rules_v9.1.0.pdf).
12. Genotypic Resistance-Algorithm Deutschland. August 2015. Disponible en: <http://www.hiv-grade.de/cms/grade/hiv2eu>.
13. Guía de resistencias a los antirretrovirales: actualización 2018. Red de investigación en SIDA (RIS). RD16/0025. Disponible en: [www.iisgaliciasur.es/wp-content/.../2018/01/Guia\\_Resistencias\\_RIS\\_25Enero2018.pdf](http://www.iisgaliciasur.es/wp-content/.../2018/01/Guia_Resistencias_RIS_25Enero2018.pdf).
14. Marcelin AG, Cohen-Codar I, King MS, et al. Virological and pharmacological parameters predicting the response to lopinavir-ritonavir in heavily protease inhibitor-experienced patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49:1720-6.
15. Vora S, Marcelin AG, Günthard HF, et al. Clinical validation of atazanavir/ritonavir genotypic resistance score in PI-experienced patients. *AIDS* 2006; 20:35-40.
16. De Meyer S, Dierynck I, Lathouwers E, et al. Phenotypic and genotypic determinants of resistance to darunavir: analysis of data from treatment-experienced patients in POWER 1, 2, 3 and DUET-1 and 2. XVII International HIV drug resistance workshop: basic principles and clinical implications, 10-14 June 2008, Sitges, Spain, abstract 31.
17. De Mendoza C, Valer L, Bacheler L, et al. Prevalence of the HIV-1 protease mutation I47A in clinical practice and association with lopinavir resistance. *AIDS* 2006; 20: 1071-4.
18. Nijhuis N, Wensing AMJ, Bierman W, et al. A novel genetic pathway involving L76V and M46I leading to lopinavir/r resistance. XVI International HIV drug

- resistance workshop: basic principles and clinical implications, 12-16 June 2007, Barbados, West Indies, abstract 127.
19. Barber TJ, Harrison L, Asboe D, et al. Frequency and patterns of protease gene resistance mutations in HIV-infected patients treated with lopinavir/ritonavir as their first protease inhibitor. *J Antimicrob Chemother* 2012; 67:995-1000.
  20. Colonna RJ, Rose R, McLaren C, et al. Identification of I50L as the signature atazanavir (ATV)-resistance mutation in treatment naïve HIV-1 infected patients receiving ATV-containing regimens. *J Infect Dis* 2004; 189: 1802-10
  21. Paredes R, Tzou PL, van Zyl G, et al. Collaborative update of a rule-based expert system for HIV-1 genotypic resistance test interpretation. *PLoS One* 2017 12: e0181357.
  22. Weinheimer S, Discotto L, Friberg J, et al. Atazanavir signature I50L resistance substitution accounts for unique phenotype of increased susceptibility to other protease inhibitors in a variety of human immunodeficiency virus type 1 genetic backbones. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49:3816-24.
  23. Wiesmann F, Vachta J, Ehret R, et al. The L76V mutation in HIV-1 protease is potentially associated with hypersusceptibility to protease inhibitors Atazanavir and Saquinavir: is there a clinical advantage? *AIDS Res Ther* 2011; 8:7.
  24. Resch W, Ziermann R, Parkin N, et al. Nelfinavir-resistant, amprenavir-hypersusceptible strains of human immunodeficiency virus type 1 carrying an N88S mutation in protease have reduced infectivity, reduced replication capacity, and reduced fitness and process the Gag polyprotein precursor aberrantly. *J Virol* 2002; 76:8659-66.
  25. Aoki M, Das D, Hayashi H, et al. Mechanism of Darunavir (DRV)'s High Genetic Barrier to HIV-1 Resistance: A Key V32I Substitution in Protease Rarely Occurs, but Once It Occurs, It Predisposes HIV-1 To Develop DRV Resistance. *M Bio.* 2018; 9: e02425-17.

**Tabla 1.** Interpretación de Resistencia a inhibidores de Proteasa (IP).

Fármaco	Resistencia Alto Nivel	Resistencia Intermedia	Hipersusceptibilidad***
<u>LPV</u> */rtv	<b>I47A, L76V, V82A/F/S/T</b>  ≥4(L10F/I/R/V,K20M/R,L24I,V32I,L33F,M46I/L,G48V/M,I50V,F53L,54M/L/T/V/A,L63P,A71I/L/V/T, G73S, I84V, L90M)	<b>3</b> (L10F/I/R/V, K20M/R, L24I, V32I, L33F, M46I/L, G48V/M, I50V, F53L, I54M/L/T/V/A, L63P, A71I/L/V/T, G73S, I84V, L90M)	<b>I50L</b>
<u>ATV</u> */p	<b>I50L, I84V, N88S</b>  ≥3 (L10F/I/R/V, G16E, K20M/R/I/T/V, L24I, V32I, L33F/I/V, M46I/L, I47V, G48V/M F53L, I54V/T/A/L/M, D60E, A71V/T, G73C/S/T/A, V82A/F/S/T, I85V, L90M)	<b>2</b> (L10F/I/R/V, G16E, K20M/R/I/T/V, L24I, V32I, L33F/I/V, M46I/L, I47V, G48V/M F53L, I54V/T/A/L/M, D60E, A71V/T, G73C/S/T/A, V82A/F/S/T, I85V, L90M)	<b>L76V</b>
<u>DRV</u> /p	<b>DRV 600 mg bid**</b>	≥4 (V11I, V32I, L33F, I47V/A, <b>I50V, I54L/M</b> , T74P, <b>L76V</b> , V82F, <b>I84V</b> , L89V)	<b>I50L</b>  <b>N88S</b>
	<b>DRV 800 mg qd**</b>	≥2 (V11I, V32I, L33F, I47V/A, <b>I50V, I54L/M</b> , T74P, <b>L76V</b> , V82F, <b>I84V</b> , L89V)	<b>I50L</b>  <b>N88S</b>

LPV: Lopinavir. Rtv: Ritonavir. ATV: Atazanavir. DRV: Darunavir. Cob: Cobicistat. Bid: dos veces al día. Qd: Una vez al día. \*LPV y ATV pueden tener resistencia de alto nivel con mutaciones unitarias o bien con el acúmulo de varias; para el ATV no potenciado con cualquiera de las mutaciones aisladas que aparecen en su recuadro ya se puede considerar resistencia de alto nivel. \*\*En presencia de dos o más mutaciones a DRV o bien de una de las señaladas en negrita (I50V,I54L/M,L76V o I84V) se debe elegir la dosificación de 600 mg bid; asimismo con 3 ó más de las señaladas en negrita ya se considerará resistencia de alto nivel para la dosificación de 600 mg bid<sup>16</sup>. \*\*\*La presencia de mutaciones de hipersusceptibilidad junto a las de resistencia, tendría una interpretación de resistencia intermedia

## 9. Interpretación de resistencia a los inhibidores de la integrasa

*Federico García y Arkaitz Imaz*

Los inhibidores de la integrasa (INI) se pueden dividir en 2 grupos en función de su barrera a las resistencias. Los INI de primera generación, Raltegravir (RAL) y Elvitegravir (EVG), son fármacos con baja barrera a la resistencia; los de segunda generación Dolutegravir (DTG) y Bictegravir (BIC), tiene una alta barrera para el desarrollo de resistencias.

### **Resistencia a Raltegravir.**

Existen tres rutas documentadas de adquisición de resistencia a RAL: la vía de la mutación Y143R/C, la de N155H, y la de Q148H/K/R. Estas mutaciones son las que se consideran primarias para la resistencia a este fármaco<sup>1</sup>. Generalmente, tienen un impacto importante sobre la capacidad replicativa (CR) del virus, pero si se mantiene la presión de RAL tras el fracaso virológico, aparecen mutaciones que, además de incrementar el nivel de resistencias, son compensatorias de la CR: (i) N155H se acompaña de L74M, E92Q, E97A; (ii) Q148 H/K/R de E138K, G140A/S; (iii) Y143R/C de E157Q, T66A, E92Q. La mutación N155H suele ser la primera y la más frecuente en aparecer tras el fracaso a RAL; si se mantiene la presión farmacológica en fracaso terapéutico esta ruta evoluciona hacia aislados con las mutaciones Q148H y G140S, que confieren un alto grado de resistencia fenotípica con una CR similar a la del virus salvaje. Por este motivo es extremadamente importante detectar precozmente los fracasos a este fármaco para retirarlo cuanto antes y evitar la acumulación de mutaciones (lo que podría permitir en algunos casos conservar la actividad de INI de 2ª generación).

No se reconoce un impacto significativo de E157Q aislada<sup>2</sup>, o de otros polimorfismos y mutaciones compensatorias sobre la actividad de RAL.

### **Resistencia a Elvitegravir.**

Las mutaciones de resistencia seleccionadas tras el fracaso a EVG incluyen cambios en 6 codones de la integrasa: T66I/A/K, E92Q/G, T97A, S147G, Q148H/R/K y N155H. En general T66I/A se selecciona de forma precoz, E92Q y S147G de forma simultánea o sucesiva y Q148R/K es más tardía aunque puede aparecer en combinación con las anteriores. Estos cambios tienen diferente impacto en la resistencia a EVG in vitro: Q148R > E92Q > N155H > T66I > S147G > T97A. La mutación polimórfica T97A, requiere mutaciones adicionales para conferir resistencia.

Estas mutaciones primarias reducen tanto la susceptibilidad a EVG como la CR, lo que explica que sea difícil la selección de algunas mutaciones primarias en combinación. El mantenimiento de la presión de EVG favorece la selección de otras mutaciones compensatorias que confieren mayor grado de resistencia e incrementan la CR, como E138A/K, G140C/S o S147G, por lo que al igual que con RAL, es muy importante detectar precozmente los fracasos a este fármaco.

Las mutaciones en el codón 143 R (arginina) y C (cisteína) no tienen prácticamente impacto en la resistencia fenotípica a EVG. Del mismo modo, las mutaciones T66I/A E92G apenas impactan, por sí solas, en la resistencia a RAL. Sin embargo, dada la similitud en los perfiles de resistencia de ambos fármacos, no se recomienda el uso EVG tras fracaso a RAL y viceversa <sup>3-5</sup>.

### **Resistencia a Dolutegravir.**

Las mutaciones seleccionadas por cepas VIH-1 “salvajes” expuestas a DTG *in vitro*, fundamentalmente R263K<sup>6-7</sup> –G118R en subtipos C- y menos frecuentemente S153F, S153Y, L101I/S153F, T124A/S153Y, y L101I/T124A/S153F, confieren bajo nivel resistencia a DTG, y reducen de forma marcada la CR e infectiva del virus<sup>8</sup>.

En ensayos clínicos en pacientes naïve, no se ha documentado selección de mutaciones en aquellos pacientes que presentaron fracaso virológico <sup>9-11</sup>, y aunque los estudios de resistencias se realizaron en la primera viremia detectable y no en la confirmación del fracaso virológico, la escasísima comunicación de selección de resistencias tras un fracaso a una primera línea de TAR con DTG <sup>12-15</sup> posicionan DTG como el INI con mayor barrera a la resistencia comercializado hasta la fecha.

En el ensayo clínico SAILING, en pacientes con fracasos previos a otras pautas de TAR y resistencia a al menos 2 clases de ARV pero naïve a INI, se describió la selección de R263K -junto con la mutación polimórfica C151I- en un paciente, y N155H en otros dos, tras el fracaso con un régimen que incluía DTG <sup>16</sup>.

DTG mantiene su actividad *in vitro* frente a variantes virales resistentes a RAL y EVG con una única mutación, así como frente a la asociación de E92Q, Y143C/R, o N155H con otras mutaciones secundarias. Solo la combinación de una mutación en la posición 148 junto con otras mutaciones secundarias confiere resistencia a DTG <sup>17</sup>.

En los ensayos clínicos VIKING, en pacientes con fracaso a INI de primera generación, se observó que una mutación en el codón 148 junto con al menos otras 2 mutaciones –que incluyen fundamentalmente cambios en la posición 140- es el principal predictor de respuesta a DTG, asociándose de forma significativa con menor respuesta tras 7 días monoterapia con DTG y menor probabilidad de supresión viral

tras 24 semanas de tratamiento con DTG más una pauta con al menos otro fármaco activo<sup>18-19</sup>.

### **Resistencia a Bictegravir .**

El perfil de resistencia de BIC muestra bastante similitud con DTG desde el punto de vista de las posiciones implicadas<sup>20</sup>. Las mutaciones seleccionadas in vitro son R263K±M50I o S153F/Y, y también tienen un bajo impacto en la actividad de BIC. De forma similar a DTG, BIC mantiene actividad antiviral in vitro frente a variantes resistentes a RAL y EVG con mutaciones únicas. Ante dobles mutantes (E138K/Q148K, G140S/Q148R, E92Q/N155H y Q148R/N155H) la actividad de BIC también está reducida, si bien el impacto de algunas de estas combinaciones sobre BIC parece ser in vitro algo menor que sobre DTG<sup>20-21</sup>, lo que podría explicarse por un mayor coeficiente de disociación de la integrasa de BIC frente a DTG<sup>22</sup>. La combinación E92Q/G140E confiere alto nivel de resistencia a todos los INI incluido BIC aunque su impacto sobre la CR hace poco probable la viabilidad viral in vivo<sup>21</sup>.

No se ha observado selección de mutaciones de resistencia tras el fracaso virológico en pacientes naïve tratados con BIC en ensayos clínicos<sup>23-24</sup>. No se dispone de información de estudios clínicos que hayan evaluado la actividad de BIC en pacientes con fracaso a otros INI.

## Referencias

1. Thierry E, Deprez E, Delelis O. Different Pathways Leading to Integrase Inhibitors Resistance. *Front Microbiol* 2017; 7:2165.
2. Doyle T, Dunn DT, Ceccherini-Silberstein F, De Mendoza C, Garcia F, Smit E, et al, Coronet Study. Integrase inhibitor (INI) genotypic resistance in treatment-naive and raltegravir-experienced patients infected with diverse HIV-1 clades. *J Antimicrob Chemother* 2015; 70:3080-6.
3. Abram ME, Hluhanich RM, Goodman DD, et al. Impact of primary elvitegravir resistance-associated mutations in HIV-1 integrase on drug susceptibility and viral replication fitness. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57:2654-63.
4. Goethals O, Clayton R, Van Ginderen M, et al. Resistance mutations in human immunodeficiencyvirus type 1 integrase selected with elvitegravir confer reduced susceptibility to a wide range of integrase inhibitors. *J Virol* 2008; 82:10366-74.
5. Geretti AM, Armenia D, Ceccherini-Silberstein F. *Curr Opin Infect Dis* 2012; 25:67786.
6. Quashie PK, Mesplède T, Han YS, et al. Characterization of the R263K mutation in HIV-1 integrase that confers low-level resistance to the second-generation integrase strand transfer inhibitor dolutegravir. *J Virol* 2012; 86:2696-705.
7. Mesplède T, Quashie PK, Osman N, et al. Viral fitness cost prevents HIV-1 from evading dolutegravir drug pressure. *Retrovirology* 2013; 10:22.
8. Kobayashi M, Yoshinaga T, Seki T, et al. In Vitro antiretroviral properties of S/GSK1349572, a next-generation HIV integrase inhibitor. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55:813-21.
9. Raffi F, Jaeger H, Quiros-Roldan E, et al; extended SPRING-2 Study Group. Once-daily dolutegravir versus twice-daily raltegravir in antiretroviral-naïve adults with HIV-1 infection (SPRING-2 study): 96 week results from a randomised, double-blind, non-inferiority trial. *Lancet Infect Dis* 2013; 13:927-35.
10. Walmsley S, Baumgarten A, Berenguer J, et al. Brief Report: Dolutegravir Plus Abacavir/Lamivudine for the Treatment of HIV-1 Infection in Antiretroviral Therapy-Naive Patients: Week 96 and Week 144 Results From the SINGLE Randomized Clinical Trial. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2015; 70:515-9.
11. Molina JM, Clotet B, van Lunzen J, et al; FLAMINGO study team. Once-daily dolutegravir versus darunavir plus ritonavir for treatment-naive adults with HIV-1 infection (FLAMINGO): 96 week results from a randomised, open-label, phase 3b study. *Lancet HIV* 2015; 2:e127-36.
12. Lepik KJ, Harrigan PR, Yip B, et al. Emergent drug resistance with integrase strand transfer inhibitor-based regimens. *AIDS*. 2017; 31:1425-34.
13. Fulcher J, Du Y, Sun R, et al. Emergence of integrase resistance mutations during initial therapy with TDF/FTC/DTG. Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. February 13–16, 2017. Seattle, Washington. #LB 500.
14. Pena M, Chueca N, Hernández-Febles M, et al. Use of Next Generation Sequencing to study a first line failure to a Dolutegravir containing regimen. 16th European Meeting on HIV & Hepatitis 2018; Rome, May 2018. #31.
15. Lübke N, Jensen B, Hüttig F, et al. Failure of Dolutegravir-containing First-line regimen. 16th European Meeting on HIV & Hepatitis 2018; Rome, May 2018. #30.
16. Cahn P, Pozniak AL, Mingrone H, et al. Dolutegravir versus raltegravir in antiretroviral-experienced, integraseinhibitor-naive adults with HIV: week 48 results from the randomised, doubleblind,non-inferiority SAILING study. *Lancet* 2013; 382:700-8.

17. Seki T, Suyama-Kagitani A, Kawauchi-Miki S, et al. Effects of raltegravir or elvitegravir resistance signature mutations on the barrier to dolutegravir resistance in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; 59:2596-606.
18. Eron JJ, Clotet B, Durant J, et al. Safety and efficacy of dolutegravir in treatment-experienced subjects with raltegravir-resistant HIV type 1 infection: 24-week results of the VIKING Study. *J Infect Dis* 2013; 207:740-8.
19. Castagna A, Maggiolo F, Penco G, et al; VIKING-3 Study Group. Dolutegravir in antiretroviral-experienced patients with raltegravir and/or elvitegravir-resistant HIV-1: 24-week results of the phase III VIKING-3 Study. *J Infect Dis* 2014; 210:354-62.
20. Tsiang M, Jones GS, Goldsmith J, et al. Antiviral Activity of Bictegravir (GS-9883), a Novel Potent HIV-1 Integrase Strand Transfer Inhibitor with an Improved Resistance Profile. *Antimicrob Agents Chemother* 2016; 60:7086-97.
21. Andreatta K, Chang S, Martin R, et al. Integrase Inhibitor Resistance Selections Initiated with Drug Resistant HIV-1. Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Boston, MA, March 4-7, 2018. Abstract 546.
22. White K, Niedziela-Majka A, Novikov N, et al. Bictegravir Dissociation Half-life from HIV-1 G140S/Q148H Integrase-DNA Complexes. Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, February 13-16, 2017, Seattle, WA. #497.
23. Gallant J, Lazzarin A, Mills A, et al. Bictegravir, emtricitabine, and tenofovir alafenamide versus dolutegravir, abacavir, and lamivudine for initial treatment of HIV-1 infection (GS-US-380-1489): a double-blind, multicentre, phase 3, randomised controlled non-inferiority trial. *Lancet* 2017; 390:2063-72.
24. Sax PE, Pozniak A, Montes ML, et al. Coformulated bictegravir, emtricitabine, and tenofovir alafenamide versus dolutegravir with emtricitabine and tenofovir alafenamide, for initial treatment of HIV-1 infection (GS-US-380-1490): a randomised, double-blind, multicentre, phase 3, non-inferiority trial. *Lancet* 2017; 390: 2073-82.
25. Guía de Resistencias a Antretrovirales de la Red de Investigación en SIDA) (disponible en [http://www.iisgaliciasur.es/wp-content/uploads/2018/01/Guia\\_Resistencias\\_RIS\\_25Enero2018.pdf](http://www.iisgaliciasur.es/wp-content/uploads/2018/01/Guia_Resistencias_RIS_25Enero2018.pdf)).



**Tabla 1.** Interpretación de Resistencias a INI

	<b>RAL</b>	<b>EVG</b>	<b>DTG</b>	<b>BIC</b>
<b>Resistencia</b>	T66K E92Q/V  Y143C/H/R Q148H/K/R N155H	T66A/K/I E92GQV S147G Q148H/K/R N155H R263K	Q148 H/K/R+ ≥2 G140A/C/S, E138A/K/T o L74I	No información
<b>Resistencia Intermedia</b>	H51Y T66AI E92G E138A/K G140A/C/S G163R S230R R263K  G118R F121Y	H51Y E138A/K G140A/C/S G163R S230R  G118R F121Y	Q148 H/K/R+ 1 G140A/C/S, E138A/K/T o L74I R263K	Q148 K/R+  1 G140S, E138K o N155H

Adaptada de Guía de Resistencias a los Antiretrovirales (RIS)<sup>25</sup>

Los aislados VIH-2 son sensibles a RAL, EVG y DTG, las principales mutaciones asociadas con resistencias a INI en VIH-2 son: G118R, Y143C, Q148K/R, N155H, G140S+Q148R.

## 10. Resistencias en VIH-2 y subtipos no-B

*África Holguín y Ana López Lirola*

El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) presenta alta variabilidad genética, debida a su alta tasa de replicación, de mutagénesis y de recombinación – a la que también se añade el papel del mecanismo de resistencia innata al VIH-1, APOBEC 3G -, describiéndose numerosas variantes. Se clasifica en dos tipos: VIH-1 y VIH-2. Dentro del VIH-1 se diferencian por homología genética cuatro grupos: M (*main*), O (*outlier*), N (no-M, no-O) y P. A su vez, el grupo M se ha subdividido en 9 subtipos denominados por letras (A, B, C, D, F, G, H, J, K)<sup>1</sup> y múltiples recombinantes entre ellos. Existen, al menos, 96 recombinantes circulantes (CRF: <https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/CRFs/CRFs.html>), e múltiples recombinantes únicos (URF). El subtipo B, variante predominante en Europa y EE.UU., es la más estudiada a nivel virológico, clínico y terapéutico. Sin embargo, los subtipos del VIH-1 distintos al subtipo B y recombinantes (variantes no-B) causan cerca del 90% de los 37 millones de infecciones por VIH.

El VIH-2 es menos prevalente y transmisible que el VIH-1<sup>2</sup>. Infecta a 2 millones de personas, sobre todo en África occidental y zonas con vínculos socioeconómicos afines (Portugal, Francia, España). Su menor virulencia condiciona que más de la mitad de los casos presenten viremias indetectables al diagnóstico<sup>3</sup>, pero incluso en viremias bajas se han identificado mutaciones de resistencias (MR)<sup>4</sup>. El VIH-2 no se puede cuantificar con kits de carga viral para VIH-1. Actualmente existe poca evidencia de calidad y falta de comercialización de kits para la monitorización y el genotipado del VIH-2 imprescindible para el manejo de pacientes donde se ha demostrado la presencia de MR primarias transmitidas, la inmunosupresión avanzada y el fracaso virológico tras el tratamiento antirretroviral. Sin embargo, existen algoritmos para identificar las MR en VIH-2 (<http://www.hiv-grade.de/HIV2EU>)<sup>5</sup> y para la interpretación genotípica de resistencias (<http://www.hivfrenchresistance.org/2017/Algo2017-HIV2.pdf>).

Debido a la alta variabilidad genética, cada tipo, grupo, subtipo o recombinante del VIH presenta polimorfismos naturales a lo largo de su genoma fijados durante la evolución viral, que son específicos de una o varias variantes. Algunos se localizan en residuos asociados a la resistencia a fármacos antirretrovirales (ARV)<sup>6-9</sup>. Cuando estos polimorfismos naturales coinciden con MR

primarias aparece resistencia natural a ciertos ARV, limitando el arsenal terapéutico para las variantes que lo presentan.

Así, el VIH-2 presenta resistencia natural a ITINAN por la presencia natural de Y181I/V, Y188L y G190A en su retrotranscriptasa<sup>10</sup>, a inhibidores de la fusión por los cambios N42Q y N43Q en gp41 o a IP (amprenavir, tipranavir y atazanavir) por las sustituciones I32V, V47I, M76L, e I82V en la proteasa viral<sup>11</sup>. El VIH-2 también muestra menor barrera genética para ITIAN, siendo las TAMs más raras y desarrollando rápidamente la K65R, Q151M, M184V en presencia de ITIAN<sup>4,12,13</sup>.

Aunque se ha demostrado actividad antiviral con cenicriviroc (antagonista dual de cepas CCR5 y CCR2) en aislados del VIH-2 con tropismo CCR5<sup>14</sup>, no se recomienda su uso dada la afinidad por otros correctores del virus, como CCR1, CCR3, CCR6, GPR15 (BOB), CCR8 y CXCR6. Los INI han demostrado eficacia para VIH-2 y presentan un perfil de resistencias similar al VIH-1<sup>15</sup>.

Respecto al VIH-1, el grupo O del VIH-1 presenta resistencia natural a ITINAN por la presencia de Y181C en su TI<sup>16</sup>. Para el grupo M del VIH-1, la mayoría de polimorfismos naturales asociados a resistencias se localizan en posiciones de resistencia secundaria, lo que podría explicar la misma eficacia terapéutica en pacientes tratados infectados con distintas variantes virales observadas en varios estudios<sup>8,17</sup>. Sin embargo, el bajo número de pacientes con ciertas variantes no-B del VIH-1 y el uso de terapias combinadas analizadas en estos trabajos podrían enmascarar una distinta respuesta a ARV individuales, como han observado otros trabajos que comparan eficacia de monoterapias en pacientes con subtipo C<sup>18</sup>, subtipo F<sup>19</sup> o subtipo G y recombinante CRF02\_AG<sup>20</sup> con respecto al subtipo B.

Es importante destacar que los polimorfismos naturales en posiciones de resistencia en variantes concretas pueden influir en la barrera genética a ciertos ARV<sup>21</sup>, en las vías de resistencia<sup>22</sup>, en la mejora de la capacidad replicativa o *fitness* del virus bajo presión farmacológica<sup>23</sup>, en la susceptibilidad a ARV específicos<sup>9,24</sup> o alterar la interpretación de la resistencia a ciertos ARV utilizando diferentes algoritmos<sup>16,25</sup>. Asimismo, pueden favorecer la aparición más rápida de mutaciones de resistencia primaria en variantes concretas debido al uso de tripletes de nucleótidos diferenciales para ese residuo relacionado con resistencia en esas variantes virales<sup>26</sup>. Por ejemplo, la MR a ITINAN V106M ocurre con mayor frecuencia en virus de subtipo C de pacientes tratados con NVP o EFV porque V106M requiere un cambio de un

nucleótido en el subtipo C [GTG (V) => ATG (M)], pero un cambio de dos pares de bases en otras variantes [GTA (V) => ATG (M)]<sup>26</sup>. Un mecanismo similar explicaría la aparición preferente de la MR a ITIAN V75M en los recombinantes CRF01\_AE<sup>27</sup>, de la MR a IP V82M en virus del subtipo G<sup>28</sup>, y de la MDR a ITINAN G190S en los subtipos A de la antigua Unión Soviética<sup>29</sup>. Varias líneas de evidencia también sugieren que K65R es más probable y rápido que se seleccione en los virus de subtipo C que en otros subtipos<sup>26</sup>.

## Referencias

1. Peeters M, Jung M, Ayouba A. The origin and molecular epidemiology of HIV. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2013; 11:885-96.
2. Clavel F, Guyader M, Guétard D, et al. Molecular cloning and polymorphism of the human immune deficiency virus type 2. *Nature* 1986; 324:691-5.
3. Popper SJ, Sarr AD, Travers KU, et al. Lower human immunodeficiency virus (HIV) type 2 viral load reflects the difference in pathogenicity of HIV-1 and HIV-2. *J Infect Dis* 1999; 180: 1116-21.
4. Gottlieb G, Dia Badiane NM, Hawes SE, et al. Emergence of multiclass drug-resistance in HIV-2 in antiretroviral-treated individuals in Senegal: Implications for HIV-2 treatment in resource-limited West Africa. *Clin Infect Dis* 2009; 48:476-83.
5. Charpentier Ch, Camacho R, Ruelle J et al, HIV-2EU: Supporting Standardized HIV-2 Drug Resistance interpretation in Europe. *Clin Infect Dis* 2013;56:1654-8.
6. Llácer Delicado T, Torrecilla E and Holguín A. Deep analysis of HIV-1 natural variability across HIV-1 variants at residues associated with integrase inhibitors (INI) resistance in INI-naïve individuals. *J Antimicrob Chemother* 2016; 71:362-6.
7. Wainberg MA, Brenner BG. The impact of HIV genetic polymorphisms and subtype differences on the occurrence of resistance to antiretroviral drugs. *Mol Biol Int* 2012:256982.
8. Lessells RJ, Katzenstein DK, de Oliveira T. Are subtype differences important in HIV drug resistance? *Curr Opin Virol* 2012; 2:636-43.
9. Holguín A, Ramírez de Arellano E, Rivas P y Soriano V. Efficacy of antiretroviral therapy in individuals infected with HIV-1 non-B subtypes. *AIDS Rev* 2006; 8:98-107.
10. Witvrouw M, Pannecouque C, Switzer WM, Folks TM, De Clercq E, Heneine W. Susceptibility of HIV-2, SIV and SHIV to various anti-HIV-1 compounds: implications for treatment and postexposure prophylaxis. *Antiviral Therapy* 2004; 9:57-65.
11. Raugi DN, Smith RA, Ba S, et al. Complex patterns of protease inhibitor resistance among antiretroviral treatment-experienced HIV-2 patients from Senegal: Implications for second-line therapy. *Antimicrob Agent Chemother* 2013; 57:2751-60.
12. Smith RA, Anderson DJ, Pyrak CL, et al. Antiretroviral drug resistance in HIV-2: three amino acid changes are sufficient for classwide nucleoside analogue resistance. *J Infect Dis* 2009;199:1323-6.
13. Descamps D, Damond F, Matheron S, et al. High frequency of selection of K65R and Q151M mutations in HIV-2 infected patients receiving nucleoside reverse transcriptase inhibitors containing regimen. *J Med Virol* 2004; 74:197-201.
14. Visseaux B, Charpentier C, Collin G, et al. Cenicriviroc, a Novel CCR5 (R5) and CCR2 Antagonist, Shows In Vitro Activity against R5 Tropic HIV-2 Clinical Isolates. *PLoS One* 2015;10:e0134904.
15. Treviño A, Cabezas T, Lozano A et al. Dolutegravir for the treatment of HIV-2. *J Clin Virol* 2015; 64:12-5
16. Depatureaux A, Charpentier C, Leoz M, et al. Impact of HIV-1 group O genetic diversity on genotypic resistance interpretation by algorithms designed for HIV-1 group M. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2011; 56:139-45.
17. Touloumi G, Pantazis N, Chaix ML, et al. Virologic and immunologic response to cART by HIV-1 subtype in the CASCADE collaboration. *PLoS One*. 2013;8(7):e71174.
18. Kantor R, Smeaton L, Vardhanabhati S, et al. Pretreatment HIV drug resistance and hiv-1 subtype c are independently associated with virologic failure: results

- from the multinational PEARLS (ACTG A5175) Clinical Trial. *Clin Infect Dis* 2015; 60:1541-9.
19. Pernas B, Grandal M, Mena et al. High prevalence of subtype F in newly diagnosed HIV-1 persons in northwest Spain and evidence for impaired treatment response. *AIDS* 2014; 28:1837-40.
  20. Sutherland KA, Ghosn J, Gregson J, et al. HIV-1 subtype influences susceptibility and response to monotherapy with the protease inhibitor lopinavir/ritonavir. *J Antimicrob Chemother* 2015; 70:243-8.
  21. Fofana DB, Charpentier C, Maïga AI, et al. Genetic barrier for attachment inhibitor BMS-626529 resistance in HIV-1 B and non-B subtypes. *J Antimicrob Chemother* 2015; 70:130-5
  22. Grossman Z, Paxinos EE, Averbuch D, et al. Mutation D30N is not preferentially selected by human immunodeficiency virus type 1 subtype C in the development of resistance to nelfinavir. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48:2159-65.
  23. Holguín Á, Sune C, Hamy F, et al. Natural polymorphisms in the protease gene modulate the replicative capacity of non-B HIV-1 variants in the absence of drug pressure. *J Clin Virol* 2006; 36:264-71.
  24. Poveda E, de Mendoza C, Parkin N, et al. Evidence for different susceptibility to tipranavir and darunavir in patients infected with distinct HIV-1 subtypes. *AIDS*. 2008; 22:611-6.
  25. Yebra G, de Mulder M, del Romero J, et al. HIV-1 non-B subtypes: High transmitted NNRTI-resistance in Spain and impaired genotypic resistance interpretation due to variability. *Antiviral Res* 2010; 85:409-17.
  26. Brenner BG, Oliveira M, Doualla-Bell F, et al. HIV-1 subtype C viruses rapidly develop K65R resistance to tenofovir in cell culture. *AIDS* 2006; 20:F9-13.
  27. Ariyoshi K, Matsuda M, Miura H, et al. Patterns of point mutations associated with antiretroviral drug treatment failure in CRF01\_AE (subtype E) infection differ from subtype B infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003; 33:336-42.
  28. Palma AC, Covens K, Snoeck J, et al. HIV-1 protease mutation 82M contributes to phenotypic resistance to protease inhibitors in subtypeG. *J Antimicrob Chemother* 2012; 67:1075-9.
  29. Kolomeets AN, Varghese V, Lemey P, et al. A uniquely prevalent nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor resistance mutation in Russian subtype A HIV-1 viruses. *AIDS* 2014; 28:F1-8.

**Tabla 1.** Resistencias naturales para el VIH-2.

<b>ARV</b>	<b>Polimorfismos naturales en VIH-2</b>	<b>Impacto clínico</b>
<b>ITIAN</b>	T69N, V75I, T215S, K219E (RT)	Sensible a ITIAN
<b>ITINAN</b>	Y181I/V, Y188L, G190A (RT)	Resistencia natural a NVP/EFV No recomendados ETR/RPV
<b>IP</b>	L10V, V32I, M36I, M46I, I47V, Q58E, A71V/I, G73A, V82I, L89I/V (PR)	Sensibles LPV/DRV/SQV No recomendados APV/ATV/TPV
<b>IF</b>	N42Q y N43Q (gp41)	Resistencia natural a T20
<b>INI</b>	L74I (IN)	Sensibles RAL/EVG/DGV
<b>Maraviroc</b> <b>Cenicriviroc</b>	Uso varios co-receptores	Actividad <i>in vitro</i> en aislados R5

## Conclusiones

La prevalencia de resistencias, tanto primarias transmitidas como secundarias adquiridas, se ha reducido de forma significativa en estos últimos años. Sin embargo, su interpretación, especialmente en el caso del paciente que presenta un fracaso virológico, sigue siendo un reto para los clínicos, en especial para los más jóvenes que no vivieron la primera década de este siglo XXI en la que éste era un escenario más frecuente.

En estos 9 capítulos hemos querido abordar el escenario de las resistencias, no sólo desde un punto de vista metodológico, revisando los principales aspectos técnicos para la determinación de las mutaciones de resistencias y la revisión de las diferentes mutaciones que afectan la sensibilidad de los diferentes antirretrovirales, sino también desde aspectos más conceptuales, entrando en el manejo del paciente tras el fracaso virológico en diferentes situaciones de mayor complejidad: fracasos virológicos con viremias de bajo nivel, múltiples fracasos sin datos de estudios de resistencia previos.

La información más relevante que podríamos extraer de este documento y utilizar en la práctica clínica y diagnóstica diaria, se podrían resumir en las siguientes “píldoras”: (i) aunque la tasa de resistencias transmitidas ha disminuido de forma significativa, y con los regímenes actualmente recomendados basados en INI el estudio de resistencias basal no nos debe retrasar el momento de inicio del TAR, disponer de esa información puede ser importante en pautas de tratamiento futuras y en cualquier caso es importante mantener la vigilancia epidemiológica de las resistencias transmitidas a los INI; (ii) los estudios de resistencias se deben realizar rápidamente tras la confirmación del fracaso virológico y mientras el paciente está tomando el tratamiento; (iii) los estudios de resistencias de nueva generación, capaces de detectar resistencias en poblaciones minoritarias, nos abren un nuevo e interesante “mundo” en el que nos queda mucho por aprender (i.e. aún debemos conocer cuál es el impacto de las resistencias en las poblaciones minoritarias en el fracaso virológico para los diferentes ARV); (iv) los estudios de resistencias son una excelente herramienta de ayuda a la hora de diseñar el TAR de rescate, sin embargo esta información siempre se debe complementar con una buena historia de los tratamientos y fracasos previos; y (v) aunque en general el impacto de las diferentes mutaciones en la sensibilidad a la mayoría de los fármacos está bastante bien definida, para los fármacos que han aparecido más recientemente, TAF y los INI,



especialmente los de segunda generación, DTG y BIC, es necesario recabar más información que nos ayude a mejorar su interpretación.

Esperamos que esta guía práctica de manejo de las resistencias os haya sido útil y convertido un tema que suele ser algo “incómodo” en más “amigable”.

*Un fuerte abrazo de los redactores y coordinadores*

