

**MUTACIONES POR LA RESISTENCIA AL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL  
EN PACIENTES CON VIH+1 DE UNA IPS DE LA CIUDAD DE BARRANQUILLA-  
COLOMBIA EN EL PERIODO DE 2009 A 2013**



**Oswaldo Morales Torrado**

**Universidad del Norte  
Departamento de Salud Pública  
Maestría en Epidemiología  
Barranquilla, Atlántico  
2022**

**MUTACIONES POR LA RESISTENCIA AL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL  
EN PACIENTES CON VIH+1 DE UNA IPS DE LA CIUDAD DE BARRANQUILLA-  
COLOMBIA EN EL PERIODO DE 2009 A 2013**



**Trabajo de investigación para optar por el título de Magister en  
Epidemiología**

**Por**

**Oswaldo Morales Torrado**

**Director**

**Edgar Navarro Lechuga**

**Universidad del Norte**

**Departamento de Salud Pública**

**Maestría en Epidemiología**

**Barranquilla, Atlántico**

**2022**

## **Nota de aprobación**

**Este trabajo de grado de Maestría ha sido aprobado por el comité de grado para la maestría en Epidemiología en cumplimiento de los requisitos exigidos por el Departamento de Salud Pública, de la División de Ciencias de la Salud y de la Universidad del Norte.**

---

---

---

---

## TABLA DE CONTENIDO

### Contenido

1. INTRODUCCIÓN.....	10
2. MARCO TEÓRICO.....	16
3.1 VIH y Resistencia Viral .....	17
3.2 Mutaciones de Resistencia.....	21
3.3 Fallo Viroológico.....	23
3.4 Métodos de genética molecular para determinar resistencia en VIH-1 .....	27
3.5 Guía Nacional de manejo del VIH.....	31
3. OBJETIVOS.....	34
3.1 Objetivo general.....	34
3.2 Objetivos específicos.....	34
4. METODOLOGÍA .....	35
4.1 Tipo de estudio.....	35
4.2 Escenario del estudio y tamaño de la muestra.....	35
4.3 Criterios de inclusión.....	35
4.4 Criterios de exclusión .....	36
4.3 Recolección de la información.....	37
4.4 Aspectos Éticos.....	37
4.5 Presentación de los Resultados:.....	38
4.6 Plan de procesamiento de la Información.....	38
5. RESULTADOS .....	39
6. DISCUSIÓN .....	47
<b>7. CONCLUSIONES.....</b>	<b>52</b>
<b>8. LIMITACIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>53</b>
<b>10. REFERENCIAS .....</b>	<b>55</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>62</b>
Anexo 1 Operacionalización de Variables .....	62

## LISTA DE TABLAS

1. Tabla 1. Ventajas y desventajas de las pruebas de resistencia a la TARV Pag. 31
2. Tabla 2. Distribución de frecuencia y porcentaje según las características sociodemográficas y mecanismo de contagio de los pacientes de la ips vital salud de barranquilla en el periodo de 2009-2013 Pag. 39
3. Tabla 3. Distribución, frecuencia y porcentaje de las comorbilidades de los pacientes de vital salud de barranquilla con vih+ en tratamiento TARV en el periodo 2009-2013 Pag. 40
4. Tabla 4. Distribución, frecuencia según los parámetros clínicos de nivel de CD4 y carga viral y el tipo de TARV, de los pacientes vih+ de vital salud ips de barranquilla en el periodo de 2009-2013 Pag. 41
5. Tabla 5. Distribución, frecuencia y porcentaje de las mutaciones encontradas en los paciente vih+ de vital salud de barranquilla en el periodo 2009-2013 Pag. 42
6. Tabla 6. Asociación entre comorbilidades y la resistencia a la TARV de los pacientes con vih+ de vital salud de barranquilla Enel periodo de 2009-2013 Pag. 43
7. Tabla 7. Asociación entre la resistencia a los diferentes tipos de TAR y el sexo de los pacientes de vital salud de barranquilla en el periodo 2009-2013 Pag. 44
8. Tabla 8. Asociación entre los diferentes esquemas de tratamiento con resistencia al TAR y los polimorfismos más frecuentes encontrados en los pacientes de vital salud barranquilla en el periodo de 2009-2013 Pag. 44

## LISTAS DE FIGURAS

1. Figura 1. Recomendaciones de Tratamiento Antirretroviral (fuente: Martínez E, Guía de práctica clínica basada en la evidencia científica para la atención de la infección por VIH en adolescentes y adultos hombres y mujeres, residentes en Colombia, Ministerio de Salud Colombia 2013). Pag. 33
2. Figura 2. Distribución de Frecuencia de pacientes que presentaron o no, resistencia al TAR, en la ips vital salud de barranquilla en el periodo de 2009-2013 Pag. 41
3. Figura 3. Frecuencia de individuos que presentaron o no presentaron resistencia al TAR de acuerdo con el tipo de TAR que recibían. NRTI; NNRTI; IP, en la ips de vital salud de barranquilla en el periodo de 2009-2013. Pag.42
4. Figura 4. Comparación de medias entre la cantidad de mutaciones encontrados en los sujetos agrupados de acuerdo con el tipo de resistencia a los TAR. NRTI: inhibidores nucleósidos de la transcriptasa inversa; NNRTI: inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa inversa; IP: inhibidores de la proteasa. Fuente: base de datos del estudio Pag. 45

## **LISTA DE ANEXOS**

1. Anexo 1 Operacionalizacion de Variables

Pag. 62

## RESUMEN

En los pacientes VIH(+), tras un periodo determinado de tiempo en tratamiento, la tasa de fracaso virológico es del 50%, siendo responsable del mismo hasta en un 80% el desarrollo de resistencias al tratamiento antirretroviral, esto es debido a la gran heterogeneidad genética del VIH+ 1, que es el resultado de la elevada tasa de mutaciones que se generan durante la replicación del ARN viral, estas mutaciones son las que confieren resistencia a la TAR, La identificación de las resistencias se realizan mediante métodos analíticos genotípicos, fenotípicos o ambos, en barranquilla no existe a la fecha, un estudio que reporte cuales son las son las mutaciones de resistencia más frecuentes encontradas en los pacientes nuestros, por lo cual se adelantó un estudio descriptivo retrospectivo a un total de 936 pacientes adultos con VIH + en terapia antirretroviral (TARV), de una IPS de la ciudad de barranquilla, en el periodo del 2009 al 2013, a quienes se le realizaron genotipificación del virus para determinar las mutaciones que habían presentado, algunos habían presentado falla virológica y otros no y los resultados que arrojó el estudio fueron que el 37%(346) de los pacientes eran mujeres y el 70%(590) hombres, las edades se distribuían el 51%(480) tenían de 18-34 años y el 46%(428) tenían de 35 a 60 años, solo un 3%(28) tenían más de 60 años. El mecanismo de contagio el 99%(930) fue vía sexual, en cuanto a las comorbilidades la mas frecuente fue la anemia 31%(291) , seguido de embarazo 7,47%(70), hepatitis B 3.52%(33), Tuberculosis 2.7%(25), trastornos psiquiátricos 2.9%(27), otras comorbilidades estaban enfermedad renal, enfermedad coronaria, sarcoma de Kaposi, hepatitis C y sin comorbilidades 50%(468). En cuanto a las mutaciones de resistencia que se encontraron fueron 202 diferentes, las más frecuente fue el polimorfismo L63P 54% (134), R41K 31%(77), I93L 28%(69), I62V 27% (67), V77I 25% (62), M36I 21%(53), I15V 19% (47), E35D 15% (37), I13V 14.5%(36), L10I 13%(32), K103N 12.5% (31), M184V 9.6% (24), D60E 9%(22), V118I 8.4%(21), L63T 8.4% (21), I62IV 8%(20), igualmente se observó que el 50% (475) de los pacientes que están con TARV presentan dislipidemia pero no se encontró diferencia significativa entre el grupo de los que tenían resistencia a la TARV y los que no tenían, podemos concluir que las mutaciones de resistencia al tratamiento



antirretroviral en pacientes con VIH+1 de una IPS de la ciudad de Barranquilla-Colombia en el periodo de 2009 a 2013 es la L63P, que asociada a resistencia a los NRTI+NNRTI. Este estudio sirve para orientar al medico tratante de cuales debe ser la terapia de rescate a utilizar si tiene en cuenta cuales son las mutaciones de resistencia mas frecuentes en nuestro medio.

# MUTACIONES POR LA RESISTENCIA AL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL EN PACIENTES CON VIH+1 DE UNA IPS DE LA CIUDAD DE BARRANQUILLA-COLOMBIA EN EL PERIODO DE 2009 A 2013

## 1. INTRODUCCIÓN

2.

El VIH/SIDA es un espectro de condiciones que inducen trastornos en el sistema inmunológico del cuerpo humano, creando numerosos problemas socioculturales en las comunidades, imponiendo enormes costos a los sistemas de salud y provocando la muerte de las personas infectadas (1). Si no se trata, la infección por VIH da como resultado una cantidad reducida de células T CD4, lo que conduce al SIDA, definiendo entonces al SIDA como un recuento de células T CD4 menor a 200 células/ $\mu$ L o la presencia de una enfermedad definitoria del mismo (2).

El VIH es un virus ARN con alta capacidad de adaptación y replicación, pertenece a la familia de los retrovirus y del género lentivirus, del que se conocen dos tipos el VIH-1 y el VIH-2 ambos infectan al hombre y animales como los primates. El más diseminado en todo el mundo es el VIH-1, estimándose para el año 2018, una prevalencia mundial de 37,9 millones de personas infectadas, pero alrededor del 21% de ellas no conocía su estado serológico (3). Se estima que el 0,8% de los adultos de 15 a 49 años en todo el mundo viven con el VIH, aunque la carga de la epidemia sigue variando considerablemente entre países y regiones (3, 4). Se ha informado que más del 60% de la población infectada por el VIH/SIDA vive en países ubicados en países subsaharianos. A pesar de un informe sobre nuevos casos de infecciones que muestra una condición estable en los países africanos, el número de personas con VIH/SIDA sigue aumentando en estos países (3, 5).

Según el programa conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA, la tasa de incidencia de la infección por el VIH se ha reducido al 38% anualmente (6), encontrando, por ejemplo, que la tasa de incidencia mundial del VIH fue de 3,4 millones en el 2001, de 2,1 millones para el 2013 y 1,7 en el 2019 (7, 8). Sin

embargo, se estima que, en el transcurso de la próxima década, habrá más de 60 millones de personas con VIH en el mundo, siendo una de las principales causas de muerte prematura en los países en vía de desarrollo (5).

La terapia antirretroviral (TAR) revolucionó el tratamiento de las personas que viven infectadas con el VIH al disminuir drásticamente su morbilidad y mortalidad, de las personas infectadas con VIH/SIDA en el mundo, se estima que al menos 23,3 millones permanecían con tratamiento con terapia antirretroviral (TAR) (8-10). El conocimiento de los fenómenos específicos del ciclo replicativo del VIH, la interacción con el hospedero y el conocimiento de la estructura tridimensional de las proteínas virales, permitió el surgimiento de la TAR, como una combinación de tres o más fármacos pertenecientes a dos o más familias de fármacos antirretrovirales, la cual llevaba a una disminución en los niveles de ARN viral y a un aumento en el conteo de linfocitos T CD4+ (LT CD4+); a este tipo de tratamiento es lo que se conoce como TAR (11).

Desde la aparición de las primeras TAR se hizo evidente que después de algún tiempo el efecto antiviral se podría perder o disminuir. Hallazgos recientes muestran que, de las personas en tratamiento, el 86% tienen una supresión viral exitosa, lo que resulta en una carga viral indetectable y una enfermedad intransmisible, conocida como U=U (9). Estos logros de salud pública sin precedentes fueron posibles gracias a la disponibilidad y la administración generalizada de combinaciones económicas de dosis fijas de dos inhibidores nucleósidos de la transcriptasa inversa (NRTI) más un inhibidor no nucleósido de la transcriptasa inversa (NNRTI), tratamientos que lográndose mantener, las personas infectadas con VIH podrían no estar inmunodeprimidas (9, 10).

Para América Latina a mediados de 2019 se estima que viven 2,1 millones de personas infectadas con VIH y 330.000 en países del Caribe. También se estima que, de estas cifras, al menos el 60% recibían TAR a finales de 2019 (8). De hecho, diversos estudios han indicado resultados prometedores en estas regiones con respecto a la atención continua del VIH: la retención clínica (63 a 77%), el uso de TAR (74 a 91%) y la supresión viral (53 a 82%) mejoraron significativamente de

2003 a 2012, aunque las disparidades para los grupos vulnerables, como las/los trabajadoras(res) sexuales, inoculación de drogas, los hombres homosexuales y otros hombres que tienen sexo con hombres, siguen siendo preocupantes **(8, 12, 13)**.

Para finales del 2019 en Colombia vivían al menos 200.000 personas con VIH/SIDA, de los cuales 190.000 tenían entre 15 y 49 años, representando al menos el 0,41% de la población del país **(8)**. En comparación a otros países de Latinoamérica como Perú (77%), Argentina (67%) o Chile (68%), solo el 45% (89.000 casos) de las personas infectadas reciben TAR en Colombia **(8)**.

Actualmente y apoyado con los marcados avances de la biología molecular, la información disponible en relación con la infección por VIH ha tenido un aumento significativo, logrando estos avances demostrar el éxito o fracaso de las TAR estaban influenciadas por múltiples factores presentes en los pacientes **(9)**. Inicialmente el fracaso terapéutico se relacionó con tratamientos insuficientes o de la potencia del TAR, así como también la adherencia al tratamiento y las posibles interacciones medicamentosas que se pudieran presentar en los pacientes, desencadenando limitaciones en la eficacia de los TAR. No obstante, el virus del VIH tiene una gran facilidad de reemplazar las bases de los nucleótidos erróneamente en el proceso de su replicación lo que se conoce como la tasa de mutación y la cual es alta para este virus y es la principal causa de resistencia a los TAR **(14)**.

El VIH presenta variabilidad genética lo que permite la formación de variantes virales con capacidad para evadir el sistema inmune, cambiar el tropismo celular y desarrollar resistencia a medicamentos antirretrovirales, las cuales pueden permanecer como poblaciones minoritarias o, de acuerdo con el ambiente, expandirse Einfluir en el desenlace clínico y en la respuesta al tratamiento. La transcriptasa reversa del virus se considera la principal fuente de mutaciones, mientras que la segunda mayor contribución a la diversidad del virus es dada por el intercambio de segmentos o recombinación entre dos genomas ARN durante el proceso de replicación del genoma **(15, 16)**. La tasa de mutación se define como el

número de bases incorrectas que son incorporadas en el genoma del virus en cada ciclo de replicación; esta varía entre  $3,4 \times 10^{-5}$  a  $2,4 \times 10^{-5}$  sustituciones/nucleótido/ciclo replicativo; teniendo en cuenta que el genoma viral es de aproximadamente 104 nucleótidos, se puede asumir que aproximadamente una cuarta parte de los viriones nacientes presentan mutaciones **(17, 18)**. Durante la transcripción del genoma, la transcriptasa reversa debe hacer dos saltos o cambios de molde para generar el ADN proviral **(19)**. Dado que el genoma del VIH está compuesto por dos copias de ARN de cadena sencilla y que un individuo puede infectarse simultáneamente con dos subtipos o dos variantes diferentes, estos saltos durante la transcripción reversa llevan a la formación de partículas virales con genomas recombinantes que pueden contener varias mutaciones que conducen a multiresistencia a TAR y otros **(15-19)**.

Es así como el margen de éxito del tratamiento TAR a largo plazo en los países en vía de desarrollo es estrecho, debido a que los regímenes y programas terapéuticos tienen una barrera genética baja a la resistencia. El fracaso del tratamiento TAR con una combinación de dosis fija de NRTI/NNRTI ocurre en el 10 al 30% de los pacientes por año **(14, 20)**, y la mayoría de los pacientes con falla virológica adquieren resistencia a los NRTI y/o NNRTI **(20)**. A medida que ha aumentado el número de pacientes con resistencia adquirida a los TAR, también ha aumentado la proporción de pacientes recién infectados con resistencia transmitida a los medicamentos **(21, 22)**. Esto genera la necesidad de un cambio a un esquema subsecuente que tenga actividad antirretroviral plena y que garantice reinstaurar la supresión viral sobre la efectiva identificación previa **(14, 21)**.

Aunque la farmacoresistencia del VIH+1 tanto adquirida como transmitida son problemas de salud pública, es importante identificar el tipo de resistencia de los pacientes al TAR, buscando la posibilidad de revertir más rápidamente el impacto negativo de la efectividad de la terapia TAR de primera línea **(21)**. La identificación de la prevalencia de resistencia transmitida o también denominada primaria posee gran importancia en la clínica, pues estos son los pacientes que adquieren la infección por el VIH+1 con variantes virales que tienen mutaciones de resistencia

para una o más drogas, situación que evidentemente compromete la efectividad de los TAR desde el inicio, ya que habitualmente, se observa como un fracaso terapéutico precoz es decir antes de los 6 meses de tratamiento en pacientes sin antecedente de exposición previa a antirretrovirales **(22)**. Al identificar las barreras genéticas a la resistencia del tratamiento, se puede ajustar los tratamientos farmacológicos para lograr la efectiva supresión viral y aún más importante, predecir las proporciones en incidencia de resistencia transmitida a los TAR en poblaciones específicas.

Los estudios relacionados con la identificación de resistencia al TAR y mutaciones virales recientes sugieren la necesidad de poder identificar, caracterizar y clasificar factores asociados con la resistencia, con consecuencias directas en el ajuste de los tratamientos específicos y en los programas de salud pública. Varios estudios han mostrado que la sólida identificación de las mutaciones ha podido localizar el avivamiento independiente de nuevas cepas de HIV+1 en regiones de Asia y África con algunas mutaciones que generaban resistencia de alto nivel a los NNRTI **(23)**. Estos hallazgos permitieron sugerir a los sistemas de salud pública regionales, ajustes en los regímenes de TAR con una alta barrera genética a la resistencia combinada y promoviendo una mejor adherencia del paciente a los tratamientos, mitigando así los aumentos de la resistencia al TAR y logrando reducir la generación de nuevas cepas resistentes a los tratamientos **(21)**.

Los antecedentes nacionales en la identificación de la resistencia al TAR en pacientes con VIH+1 han mostrado algunas características particulares para la región. Gómez et al., (2010), mostraron que de los 650 pacientes examinados el 82,1% de las cepas virales fueron resistentes a uno o más medicamentos, encontrando las mayores resistencias en los NRTI y NNRTI, como la lamivudina (55,4%), la nevirapina (54,3%), el efavirenz (52,6%) y la zidovudina (45,1%), la más baja fue para la estavudina (11,0%). En este mismo estudio se encontró que la resistencia a los inhibidores de proteasa osciló entre 30% y 38% **(24)**.

Otro antecedente nacional, publicado en 2013 por Martínez-Cajas et al., evidenciaron en su estudio realizado en 170 pacientes infectados con VIH, un 76%

de resistencia en los pacientes bajo tratamiento antirretroviral con NNRTI. También, encontraron en un 30 % de los sujetos, resistencia cruzada a los NRTI (25). Recientemente, en el 2019, los resultados de la investigación de Agudelo-Rojas et al., mostraron mayor afectación de mutaciones de resistencia para los TAR en los NNRTI 85 y un 11% para inhibidores de proteasa en pacientes diagnosticados en la ciudad de Cali (26). En la ciudad de Barranquilla, actualmente no se muestran publicados estudios, antecedentes o datos específicos que sirvan de referencia o de base inicial para la conceptualización teórica y epidemiológica del presente estudio.

Como fue descrito, el advenimiento de la TAR altamente activa en el manejo de pacientes infectados crónicamente por el VIH ha llevado a reducciones dramáticas en la morbimortalidad por esta infección. Esto se debe principalmente a que el tratamiento antirretroviral combinado es capaz de suprimir la carga viral del VIH a niveles indetectables y aumentar gradualmente el recuento de células T CD4, lo que le permite al paciente responder y adherente al tratamiento, mejorar su estado inmunológico. La emergencia de virus resistentes a los medicamentos de TAR, se mantiene como una de las barreras al éxito de la terapia y se ha identificado como una causa importante de fracaso terapéutica, progresión a SIDA y muerte. Desde diferentes perspectivas, los estudios que identifican mutaciones puntuales a los tratamientos TAR pueden ser útiles para la detección previa a la terapia en regiones con niveles altos de resistencia al TAR. En el contexto de un enfoque de salud pública para la terapia TAR, una prueba confiable de resistencia genotípica en el lugar de atención de salud podría identificar qué pacientes deben recibir la terapia estándar de primera línea y cuáles deben recibir un régimen que contenga inhibidores de la proteasa (21).

De acuerdo con lo descrito con anterioridad, surge la necesidad plausible de analizar el comportamiento del VIH-1 sobre el tratamiento de TAR en una población no explorada, la cual actualmente en la literatura nacional e internacional carece de antecedentes que relacionen la resistencia al tratamiento TAR y mutaciones,

sirviendo como punto de partida epidemiológica y puedan generar una base para este tipo de análisis clínicos de interés.

Por todo lo anterior es importante responder a la pregunta ¿Cuáles son las características de las mutaciones por la resistencia al tratamiento antirretroviral en pacientes con VIH+1 de Vital Salud IPS de la ciudad de Barranquilla-Colombia en el periodo de 2009 a 2013?

### 3. MARCO TEÓRICO

#### *Variación genética del VIH*

La gran heterogeneidad genética del VIH-1 es el resultado de la elevada tasa de mutación que se genera durante la replicación del ARN viral. La tasa de mutación se define como el número de bases incorrectamente incorporadas por nucleótido y por ciclo de replicación. Representa el número de veces que la ARN polimerasa incorpora un nucleótido erróneo y es del orden de  $10^{-3}$ - $10^{-5}$  sustituciones/nucleótido/ciclo replicativo en virus ARN. La razón principal de la alta tasa de mutación es que las ARN polimerasas y las retrotranscriptasas (RT) carecen de una actividad exonucleasa 3´-5´ denominada actividad editorial, así se incrementa la probabilidad de incorporación equívoca de nucleótidos cuando se compara con las ADN polimerasas que, por lo general, tienen mecanismos de corrección y reparación. La variación genética en los virus ARN no sólo puede ocurrir por mutaciones puntuales (transiciones y transversiones), sino también por adiciones y deleciones, por recombinación homóloga y no homóloga y por reordenamiento de segmentos genómicos (27).

Las poblaciones de virus ARN replican como distribuciones complejas de genomas diferentes, pero genéticamente relacionadas, denominada cuasiespecies (27). Toda población de virus ARN presenta una secuencia definida estadísticamente llamada secuencia promedio o consenso, que tiene encada posición el nucleótido más frecuente del conjunto de moléculas de la población. Cada genoma viral puede diferir del consenso en un número distinto de posiciones nucleotídicas. Las



cuasiespecies constituyen un reservorio de variantes virales, que representan un amplio rango de fenotipos con respecto a virulencia, tropismo, cinética de replicación y composición antigénica **(28, 29)**.

El tamaño poblacional es importante en la heterogeneidad genética. En un individuo infectado por el VIH-1 puede existir del orden de  $10^9$  a  $10^{12}$  viriones, siendo el recambio de viriones y de células infectadas muy elevado. Por tanto, el control de las enfermedades infecciosas causadas por virus ARN, entre ellas el SIDA/VIH, constituye una tarea difícil por la gran plasticidad genética y el enorme potencial evolutivo del VIH-1 y 2 **(27)**. Las cepas del VIH-1 que circulan alrededor del mundo presentan gran heterogeneidad de genotipos y de subtipos virales. Los análisis filogenéticos obtenidos con base en sus secuencias génicas, principalmente de los genes *pol* y *env*, han revelado dos grandes grupos dentro del VIH-1: el grupo M ("main"o principal), subdividido en 10 subtipos hasta el momento (A-J) y el grupo O ("outlier"), con varios aislados muy divergentes entre sí. Para el VIH-2 se han descrito 6 subtipos (A-F). El subtipo A del VIH-1 y en menor medida el B, son los más frecuentes a nivel mundial. Los subtipos C, D y E, y quizá el F, podrían comportarse como no patogénicos en el ser humano. La gran expansión actual del VIH permite prever la aparición de más variantes del VIH-1 y del VIH-2 en el futuro **(30)**.

### 3.1 VIH y Resistencia Viral

En un individuo infectado por el VIH+1 puede existir del orden de  $10^9$  a  $10^{10}$  viriones, siendo el recambio de viriones y de células infectadas muy elevado. Por tanto, el control de las enfermedades infecciosas causadas por virus ARN, entre ellas el SIDA/VIH, constituye una tarea difícil por la gran plasticidad genética y el enorme potencial evolutivo del VIH+1 y 2. Las cepas del VIH+1 que circulan alrededor del mundo presentan gran heterogeneidad de genotipos y de subtipos virales **(5)**.

La gran heterogeneidad genética del VIH+1 es el resultado de la elevada tasa de mutaciones que se generan durante la replicación del ARN viral. Siendo esta una característica importante denominada dinámica viral del VIH, la cual depende en gran medida del rápido recambio presentado en los viriones en sangre, al alto índice

de error que se puede presentar en la transcriptasa inversa, una gran producción diaria de partículas virales y la posibilidad de recombinación genética que se produce cuando virus con diferentes secuencias infectan la misma célula **(14)**.

El VIH ha desarrollado distintos mecanismos para escapar tanto de la presión del sistema inmunológico como de la presión farmacológica. La escasa fidelidad de la transcriptasa inversa (TI) en su labor de replicación del ARN viral, unida a la elevada población de viriones existentes (en torno a 10<sup>12</sup>) y a la extraordinaria cinética de replicación del VIH (con una vida media plasmática inferior a 6 horas), favorecen la aparición espontánea de múltiples variantes genómicas denominadas cuasi especies **(11)**. Así, cuando se ejerce una presión selectiva sobre las distintas cuasi especies de una persona infectada, las poblaciones menores preexistentes resistentes a esta presión serán seleccionadas, adquiriendo una ventaja replicativa que las convertirá, con el tiempo, en la población viral predominante **(18)**

La introducción de las combinaciones de fármacos antirretrovirales ha resultado en una acentuada reducción de la morbilidad y la mortalidad de la infección por VIH, lo que la ha convertido en una enfermedad crónica si se administra tratamiento antirretroviral efectivo **(9)**. Por otra parte, es bien sabido que, in vitro, el VIH es capaz de adquirir resistencia a cualquiera de los antirretrovirales en uso actual y que existen variantes virales que pueden presentar fenotipos resistentes a uno o varios fármacos (variantes resistentes), lo que a su vez puede afectar el resultado clínico del tratamiento (o respuesta terapéutica) **(18)**.

El fracaso terapéutico que se manifiesta como carga viral detectable en un paciente que recibe tratamiento antirretroviral se conoce como fracaso virológico. Es en este caso en que los estudios de genotipo de resistencia proporcionan información valiosa en forma de una predicción aproximada del nivel de sensibilidad (o resistencia) a los antirretrovirales de una población de VIH que infecta a un paciente determinado **(31)**.

Existen dos tipos de mutaciones: primarias y secundarias. Se conocen como mutaciones primarias aquellas alteraciones en el material genómico que una vez

expresadas darán lugar a cambios en el sitio activo de la enzima, dado que afectan a la afinidad de ésta por su sustrato (32). Habitualmente se seleccionan pronto en el curso del tratamiento por la presión selectiva ejercida por el fármaco, en un intento de evadir su acción inhibitoria. Las mutaciones secundarias se van acumulando en el genoma viral que ya posee mutaciones primarias con la finalidad de restaurar la ventaja cinética que ha pagado la enzima por la mutación primaria. Son seleccionadas, pues, por la ventaja replicativa que confieren y la mejora de la afinidad por el sustrato natural de la enzima. Por sí mismas, estas mutaciones secundarias poseen un efecto mínimo o nulo en la magnitud de la resistencia al tratamiento antirretroviral (33).

El VIH+1 tiene una gran tendencia a producir mutantes resistentes. No todas las mutaciones tienen la misma importancia clínica. Para cada fármaco antirretroviral existen unas mutaciones llamadas “principales”, cuya presencia determina resistencia, y otras “secundarias” que contribuyen a la resistencia en menor medida (20). Las variantes de VIH-1 mutadas tienen una menor eficiencia biológica y con frecuencia una menor capacidad replicativa. Las variantes resistentes pueden detectarse mediante técnicas genotípicas o fenotípicas. Las genotípicas detectan cambios específicos en el genoma de las enzimas diana del fármaco antirretroviral (transcriptasa inversa, proteasa, integrasa, envuelta), mientras que las fenotípicas determinan la respuesta de la población viral mayoritaria a concentraciones crecientes del fármaco antirretroviral (33). Ambas comparten limitaciones como dificultad de detección cuando la población mutada es inferior al 20% de la población viral o cuando la carga viral plasmática es inferior a 1.000 copias/ml, aunque existen técnicas que soslayan estos inconvenientes. Las técnicas genotípicas son las que se utilizan en la asistencia clínica en su mayoría dado que son más sencillas, rápidas y accesibles (19).

Los análisis filogenéticos obtenidos con base en sus secuencias génicas, principalmente de los genes pol y env, han revelado dos grandes grupos dentro del VIH+1: el grupo M (“main” o principal), subdividido en 10 subtipos hasta el momento (A-J) y el grupo O (“outlier”), con varios aislados muy divergentes entre sí. Para el

VIH+2 se han descrito 6 subtipos (AF). El subtipo A del VIH+1 y en menor medida el B, son los más frecuentes a nivel mundial. Los subtipos C, D y E, y quizá el F, podrían comportarse como no patogénicos en el ser humano (16).

La tasa de mutación se define como el número de bases incorrectamente incorporadas por nucleótido y por ciclo de replicación. Representa el número de veces que la ARN polimerasa incorpora un nucleótido erróneo y es del orden de 10<sup>3</sup> a 10<sup>5</sup> Sustituciones/nucleótido/ciclo replicativo en virus ARN 3 x 10<sup>5</sup>. La razón principal de la alta tasa de mutación es que las ARN polimerasas y las retrotranscriptasas (RT) carecen de una actividad exonucleasa 3'-5' denominada actividad editorial, así se incrementa la probabilidad de incorporación equívoca de nucleótidos cuando se compara con las ADN polimerasas que, por lo general, tienen mecanismos de corrección y reparación. La variación genética en los virus ARN no sólo puede ocurrir por mutaciones puntuales (transiciones y transversiones), sino también por adiciones y deleciones, por recombinación homóloga y no homóloga y por reordenamiento de segmentos genómicos (19).

Las interacciones entre distintas mutaciones y el efecto de mutaciones individuales sobre la capacidad replicativa del virus pueden influenciar la expresión fenotípica de la resistencia. Algunas mutaciones pueden ser antagonistas, en tanto que existen mutaciones que generan resistencia a ciertas drogas mientras que confieren hipersusceptibilidad a otras (34). En otro aspecto tenemos que los fármacos antirretrovirales tienen diferentes vidas medias plasmáticas e intracelulares. Esta diferencia juega un papel significativo en aquellos casos en que las concentraciones de la medicación que se alcanzan son muy altas y, por ende, la intensidad con la que se suprime la replicación viral es mayor. Conocida esta situación como barrera farmacocinética la cual se ha convertido en una herramienta clínica muy útil, como es el ejemplo de lo que sucede con los inhibidores de la proteasa (IP) del VIH+1, que pueden ser potenciados en términos farmacocinéticos con inhibidores del citocromo P450. Resulta fundamental mencionar la evolución de la resistencia, que puede entenderse como un proceso longitudinal en el que el VIH-1 cambia con el tiempo. El virus que infecta a un sujeto dado evoluciona en función de la diversidad

genética y de la presión de selección para la aparición de mutantes de resistencia o de escape inmunológico (11).

Las poblaciones de virus ARN replican como distribuciones complejas de genomas diferentes, pero genéticamente relacionadas, estas son denominadas cuasi especies. Toda población de virus ARN presenta una secuencia definida estadísticamente llamada secuencia promedio o consenso, que tiene en cada posición el nucleótido más frecuente del conjunto de moléculas de la población. Cada genoma viral puede diferir del consenso en un número distinto de posiciones nucleotídicas. Las cuasi especies constituyen un reservorio de variantes virales, que representan un amplio rango de fenotipos con respecto a virulencia, tropismo, cinética de replicación y composición antigénica. El tamaño poblacional es de gran importancia en la heterogeneidad genética. Desde la primoinfección, la población de cuasi especies está siempre sometida a una constante variación genética, competición entre cepas y selección de la variante mejor adaptada a su entorno. Todo esto genera que, del inóculo inicial relativamente homogéneo, se deriven cepas cada más separadas genéticamente (21).

En el análisis del comportamiento de la resistencia viral al TAR, podemos destacar los siguientes términos: a) preexistencia: virus con mutaciones de resistencia a los antirretrovirales ya pueden estar presentes en los individuos sin tratamiento; b) presión selectiva: la supresión incompleta de la replicación viral por una terapéutica no adecuada selecciona la aparición de variantes virales resistentes; c) barrera genética: el número de mutaciones necesarias para que la resistencia se haga evidente en un individuo varía para los diferentes TAR; y d) barrera farmacocinética: las diferentes concentraciones plasmáticas de los antirretrovirales influyen sobre la replicación viral (11, 21, 34).

### 3.2 Mutaciones de Resistencia

El aumento de la capacidad de acción antiviral, facilitado por el desarrollo de nuevos fármacos, ha incrementado la frecuencia de mutantes virales resistentes. Esto desde el punto de vista terapéutico es un inconveniente, porque compromete el éxito de la terapia (33). En la actualidad en las diferentes guías de manejo de HIV a nivel

mundial como son GESIDA, Consenso de TAR SADI, recomendaciones de terapia antirretroviral de la OMS, recomiendan el estudio inicial de las resistencias primarias al VIH (35).

Como una aproximación hacia un diseño más racional y personalizado de la terapia antiviral, se han estudiado los cambios en el código genético del virus, mutaciones producidas por la acción de drogas antivirales sobre los genes que codifican por la retro transcriptasa (RT) y la proteasa (P) del virus. La determinación sistemática de estas mutaciones resistentes ha ayudado al diseño de pruebas que permiten conocer el estado genético, en cuanto a resistencia antiviral, de las variantes que tiene un individuo infectado. Este conocimiento teórico a priori, permite el manejo terapéutico personalizado que asegura un mayor éxito en el tratamiento del SIDA/VIH (36).

La gran cantidad de mutaciones que se han descrito en la literatura y que se han identificado en los sitios que codifican las enzimas en el virus que son los blancos de los antirretrovirales y que se han vinculado con la resistencia han sido clasificadas como mutaciones primarias o mayores las cuales hacen referencia a aquellas mutaciones que poseen un alto grado de especificidad para una droga o clases de drogas y que comprometen de manera significativa la susceptibilidad del virus a las mismas; generalmente, son seleccionadas en primer lugar, pero pueden aparecer luego de la selección de algunas mutaciones secundarias (33).

Las mutaciones secundarias o menores las cuales son mutaciones que tienden a acumularse en virus que ya seleccionaron una o más mutaciones primarias; tienen escaso o ningún efecto sobre el nivel de resistencia en forma aislada, pero pueden incrementar el nivel de resistencia asociado a las mutaciones primarias o compensar la capacidad replicativa que el virus fue perdiendo al acumular dichas mutaciones. En algunas ocasiones a estas mutaciones se les llama accesorias (32, 33)

### 3.3 Fallo Viroológico

La resistencia viral es una importante razón, pero no la única que puede dilucidar el fracaso terapéutico en los pacientes en TAR, se hace importante que esta se diferencie de las diferentes causas de aumento sostenido de la carga viral, que incluyen: alteraciones en la absorción o en el metabolismo de las drogas, interacciones que reducen sus niveles terapéuticos y una adherencia subóptima al régimen que al paciente se le está administrando (11). Al momento de definir el fallo virológico la carga viral es el parámetro más importante para evaluar la respuesta al TAR y aquellos incrementos en la viremia que son significativos, confirmados y no atribuibles a una interurrencia infecciosa, vacunación o algún otro tipo de estímulo inmunológico, indica la presencia de fallo virológico, esto independiente de los cambios en el recuento de linfocitos CD4 o del estado clínico del paciente (21).

Teniendo como criterios para definir fallo virológico (37):

- Una reducción de la carga viral del VIH-1 menor de 0.5 log a las cuatro semanas o menor de 1 log a las doce semanas de haber iniciado el tratamiento.
- No llegar a niveles indetectables de la carga viral (<50 copias /mL) a los seis meses de haberse iniciado el tratamiento antirretroviral. En este punto se debe considerar el grado de descenso inicial de la viremia y la tendencia subsecuente, ya que algunos casos con cargas virales iniciales muy elevadas podrían necesitarse hasta 12 meses para alcanzar niveles indetectables.
- La detección viral repetida luego de haber alcanzado niveles indetectables sugiere la aparición de resistencia viral. Sin embargo, el grado de aumento de la carga viral debe ser considerado, por lo que se debe realizar un seguimiento cercano al paciente.
- Cualquier incremento significativo y repetido, definido como un aumento mayor de 0,5 log, a partir de la carga viral de inicio de VIH-1 no atribuible a diferencias de metodología, una interurrencia infecciosa, vacunación u otro estímulo inmunológico.

En ocasiones el tratamiento puede ser virológicamente efectivo, pero a pesar de ello, los pacientes no evolucionan favorablemente. Es por esta observación que

desde épocas tempranas en la era de los tratamientos TAR se ha establecido el término fracaso terapéutico dentro del cual se encuentra inmerso el fracaso virológico, pero también agrega los criterios de fallo inmunológico y clínico. No necesariamente pueden coexistir dos o más de estos conceptos para la definición de fracaso terapéutico, es decir que con la presencia de uno de ellos es suficiente **(38)**.

El fallo inmunológico se define como la caída persistente de los linfocitos CD4, determinada por lo menos en dos oportunidades separadas por un mes con una diferencia inicial mayor del 30% del número absoluto, sin otra causa que lo explique **(23)**. Por su parte, el fallo clínico se interpreta como el deterioro clínico que implica la demostración de una nueva condición que define SIDA que fue adquirida después de haber iniciado el tratamiento antirretroviral. Sin embargo, si el paciente persiste gravemente inmunocomprometido por mucho tiempo a pesar de una buena respuesta virológica, una nueva condición oportunista no reflejaría necesariamente un fracaso terapéutico **(39)**.

En la situación de pacientes infectados con VIH -1 que se presentan con aumento de la carga viral es fundamental la interpretación de tal situación en el contexto de los criterios de fallo virológico. Siempre se debe reiterar la carga viral para constatar que se trata de un aumento sostenido y no de un transitorio. En tal caso deben reconocerse y corregirse las causas de dicho aumento de la viremia y si esta persiste siendo detectable debería realizarse una prueba de resistencia para guiar la selección del nuevo tratamiento antirretroviral **(37)**.

Se debe resaltar que el reconocimiento del concepto de cada tipo de fallo virológico es una situación diferente que debe interpretarse en el contexto del momento en el que se identifica juntamente con los antecedentes de exposición previa a los antirretrovirales **(38)**. En este sentido, es posible clasificar el fallo virológico en función de sus características particulares en tres tipos:

- Fallo virológico al primer esquema antirretroviral: es aquel que se presenta en los pacientes que experimentan un fracaso terapéutico con su primer esquema



antirretroviral, siendo de vital importancia establecer las causas de dicho fracaso a fin de elegir el segundo esquema con la máxima chance de éxito terapéutico, también se debe reconocer si se trata de un fallo virológico precoz el cual se puede presentar antes de los seis meses de iniciado el tratamiento o un fallo virológico tardío **(40)**.

- Fallo virológico al segundo esquema antirretroviral: esta situación clínica es diferente en este escenario el paciente ya ha experimentado un fallo previamente y un cambio de antirretrovirales en consecuencia. De esto se deduce que hay probabilidad o certeza, en función de la disponibilidad de una prueba de resistencia, de haber seleccionado mutaciones con el primer fracaso terapéutico, que se suman a las mutaciones seleccionadas con el segundo, lo que extiende la posibilidad de resistencia a una mayor cantidad de drogas. Por ese motivo es de suma importancia contar con las pruebas de resistencia previas, en caso de contar con ellas, para cotejarlas con la realizada en el segundo fallo virológico, ya que mutaciones previamente seleccionadas podrían no ser detectadas luego de quitar la presión farmacológica de las drogas que se suspendieron **(38)**.
- Fallo virológico a múltiples esquemas antirretrovirales: es de mucha importancia poder contar con las pruebas de resistencia realizadas en fallos virológicos previos, esto nos permitiría tener una real dimensión de la extensión de la resistencia en esta circunstancia. Todo cambio en de un régimen en pacientes que han experimentado fallos virológicos múltiples debería idealmente involucrar el reemplazo completo del mismo por otro esquema con drogas a las que el paciente no estuvo expuesto y sobre las cuales no se anticipa o evidencia la aparición de resistencia mediante la realización de una prueba de genotipo o fenotipo. En los esquemas modernos, un mínimo de dos drogas activas debe asegurarse para que el tratamiento tenga la mayor probabilidad de éxito. La elección del nuevo esquema tiene que apoyarse también en drogas que aseguren la máxima tolerancia y mínima toxicidad posible **(41)**.

El aumento de la capacidad de acción antiviral, facilitado por el desarrollo de nuevos fármacos, ha incrementado la frecuencia de mutantes virales resistentes. Esto

desde el punto de vista terapéutico es un inconveniente, porque compromete el éxito de la terapia antirretroviral. Como una aproximación hacia un diseño más racional y personalizado de la terapia antiviral, se han estudiado los cambios mutacionales producidos por la acción de drogas antivirales sobre los genes que codifican por la transcriptasa reversa (RT) y la proteasa (P) del virus. La determinación sistemática de estas mutaciones resistentes ha ayudado al diseño de pruebas que permiten conocer el estado genético, en cuanto a resistencia antiviral, de las variantes que tiene un individuo infectado. Este conocimiento teórico a priori, permite el manejo terapéutico personalizado que asegura un mayor éxito en el tratamiento del SIDA/VIH (38).

En la prevención de la resistencia viral está establecido que la acumulación de mutaciones de resistencia se inicia, por lo general con el fallo virológico al primer esquema antirretroviral y que nuevas mutaciones que emergen en cada fallo sucesivo han de permanecer archivadas, fundamentalmente, en los reservorios de infección latente y tiene el potencial de afectar de forma negativa la eficacia de cada nuevo tratamiento que se inicie en el paciente. En general, cuanto más potente y duradera es la supresión de la replicación viral menor es la probabilidad del desarrollo de resistencia que lleva a un fracaso terapéutico. En tal sentido, para alcanzar la máxima supresión viral por el mayor tiempo posible se requiere que las siguientes consideraciones sean tenidas en cuenta a fin de evitar y minimizar el riesgo de resistencia viral (36):

- Seleccionar el primer esquema antirretroviral con el menor perfil de resistencia cruzada posible, a fin de preservar la mayor cantidad de opciones futuras.
- Que el esquema sea potente, lo que significa que se trate de una combinación de drogas que asegure la supresión viral en la gran mayoría de los pacientes que la reciban.
- Que la eficacia del tratamiento sea mínimamente afectada por cuestiones de adherencia subóptima por parte del paciente.
- Que conlleve el menor riesgo de toxicidad posible a corto, mediano o largo plazo.

- Que tenga alta barrera genética, por lo menos en dos de sus tres componentes habituales.

### 3.4 Métodos de genética molecular para determinar resistencia en VIH-1

Lograr determinar la resistencia a los antirretrovirales en un paciente con fallo virológico representa una herramienta de valor para tomar decisiones terapéuticas adecuadas. En la actualidad se describen disponibles dos métodos básicos para determinar la resistencia del VIH-1 a los antirretrovirales:

A. Genotipificación: muestra la secuencia de nucleótidos del genoma viral que permite identificar las mutaciones vinculadas con la resistencia viral. Se basan en la amplificación por reacción en cadena a la polimerasa (PCR) de los genes mencionados, por lo común desde el ARN plasmático, aunque también puede amplificarse el ADN proviral que se encuentra integrado en los linfocitos infectados de sangre periférica. Los productos de este primer paso se denominan amplicones, los cuales se someten a una segunda etapa conocida como secuenciación automatizada **(18)**.

Más recientemente, se ha mejorado la técnica de PCR en tiempo real, que permite una mayor sensibilidad y rapidez para obtener los amplicones. Una vez obtenida la secuencia de nucleótidos, esta es analizada con el fin de encontrar cambios específicos en los aminoácidos o mutaciones que previamente han sido asociados en estudios in vitro o in vivo con cambios en la susceptibilidad viral o con una respuesta clínica reducida para alguna droga en particular respectivamente. La secuenciación permite entonces determinar la posición del codón en el que se ha producido una mutación y comparar luego, dicho resultado con la misma secuencia de la cepa patrón o de referencia; posteriormente estos hallazgos son interpretados para predecir la resistencia a los antirretrovirales **(11)**.

En esencia, existen tres métodos de secuenciación. La secuenciación directa de ARN retroviral y dos técnicas basadas en la hibridación (LiPA™ y GeneChip™). Los resultados de la prueba de genotipificación se logran obtener en promedio en 15 días dependiendo del método utilizado y permiten ocasionalmente detectar las

mutaciones antes de que se produzca un cambio evidente en la susceptibilidad viral lo conocido como mutaciones centinelas. También permite identificar la coexistencia de cepas salvajes y resistentes o variantes con diferentes mutaciones en una misma posición (26).

Los fundamentos son los siguientes:

1. Secuenciación: el principio global de esta técnica e esta técnica consiste en la obtención de moléculas de ADN un nucleótido más largo que la precedente y su posterior separación mediante electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE) de alta resolución (42). En la actualidad, aunque el principio básico no ha cambiado, las técnicas modernas de secuenciación se derivan del método de Sanger mediante el cual, en lugar de fraccionar el ADN en cuestión, se procede a la síntesis de pequeños fragmentos a partir de la cadena molde. Esta síntesis tiene una peculiaridad, que es la incorporación de nucleótidos terminadores de cadena. Estos nucleótidos en realidad son didesoxinu-cleósidos-5'-trifosfato (ddNTP), es decir, carecen de grupo hidroxilo (OH) en posición 3', que es fundamental para la elongación de la cadena, porque es precisamente en esta posición donde la polimerasa inserta el siguiente nucleótido durante la síntesis de ADN. La adición de la proporción adecuada de nucleótidos naturales con respecto a estos didesoxinucleótidos dará lugar a la síntesis de fragmentos de diversos tamaños (42). Para secuenciar el VIH se pueden adoptar dos estrategias: la secuenciación del genoma proviral integrado en los linfocitos, que ya está como ADN, o la realización de una retrotranscripción previa de ARN viral plasmático, para obtener una colección de cADN retro-virales. Para poder obtener secuencias confiables, un requisito fundamental es la idoneidad del material de partida, tanto en pureza como en cantidad. Para garantizar este aspecto se realiza, en primera instancia, una PCR «anidada», que no es otra cosa que dos PCR seguidas, de forma que el amplificado conseguido es mucho más abundante que si se realizase una PCR ordinaria. Tras la obtención del material genético suficiente se

procede a la purificación del amplificado para eliminar restos de iniciadores, sales, enzimas, nucleótidos, etc. Una vez obtenidos todos los fragmentos se procede a su separación electroforética, que se realiza de forma automatizada en un secuenciador; ésta puede ser según la clásica PAGE de alta resolución o mediante electroforesis capilar **(42)**.

2. LiPA™: el fundamento de esta técnica es una hibridación reversa post-PCR<sup>45-47</sup>. El soporte de la hibridación consiste en tiras de nitrocelulosa con sondas de oligonucleótidos específicos inmovilizadas en líneas paralelas. Estas sondas son complementarias a la secuencia de mutaciones conocidas que confieren resistencia a los fármacos antirretrovirales. La amplificación de la muestra se realiza con oligonucleótidos cebadores biotinilados que permitirán el revelado de la reacción. Después de la hibridación se añade un conjugado compuesto por estreptavidina-fosfatasa alcalina, que se unirá a cualquier híbrido formado sobre la tira. Al añadir el sustrato de la enzima se producirá un precipitado marrón-púrpura en las posiciones correspondientes **(43)**.
3. GeneChip™ (Affimetrix): a pesar de que el fundamento de esta técnica es una hibridación, el resultado final es la secuenciación del material amplificado a partir de la muestra. El soporte de hibridación son microarreglos de ADN o «chips» de silicio que contienen un «biblioteca combinatoria» de sondas, que consiste en una gran cantidad de oligonucleótidos solapantes (409.000/1.28 cm<sup>2</sup>). La hibridación de estos microarreglos con cADN retroviral va a permitir identificar el nucleótido presente en cada posición de la secuencia a analizar **(44)**. Como los productos de RT-PCR están marcados, permitirá deducir la secuencia la detección de fluorescencia tras la hibridación mediante barrido de láser e integración de las señales obtenidas con un programa informático. Una ventaja de esta técnica es que permite el análisis simultáneo de un elevado número de muestras. Pruebas fenotípicas comerciales. Como las pruebas genotípicas son una medida indirecta, pues la presencia de mutaciones no siempre implica su ex-presión, las pruebas fenotípicas deberían ser el primer escalón natural en la detección de resistencias.

Básicamente estas técnicas consistían en el co-cultivo de linfocitos del paciente con líneas celulares linfoides, como MT2 y MT4, en presencia de fármacos antirretrovirales (45). Transcurridas unas semanas se medía la replicación viral por la producción de antígeno p24 o la actividad retrotranscriptasa. Estas técnicas tienen varias limitaciones e inconvenientes como son la laboriosidad, altos costos, la infraestructura necesaria, el largo tiempo requerido y la falta de estandarización. Todo esto ha sido resuelto en parte por las técnicas de virus recombinantes (RVA). Las técnicas de virus recombinantes determinan la concentración que inhibe 50% de la infectividad (IC50) y la comparan con la IC50 de una cepa de referencia o de un aislamiento anterior de un mismo paciente (43).

Una limitación importante de esta metodología es la dificultad para detectar las variantes resistentes que representan minorías que no superan el 10% al 20% de la población global, además de la imposibilidad para encontrar mutaciones en los virus que se encuentran en las células infectadas de forma latente (reservorios). Tampoco permite predecir el efecto de las mutaciones nuevas y las interacciones entre distintas mutaciones, tanto primarias como secundarias. Por tales razones, la genotipificación permite establecer que drogas no deben utilizarse, pero no garantiza el éxito de aquellas para las que no se evidencian mutaciones de resistencia (45).

Existen por lo menos cuatro laboratorios que ofrecen pruebas comerciales para realizar un genotipo del VIH-1:

- GeneSeq® (Monogram Biosciences)
- Trugene® (Siemens)
- ViroSeq® (Abbott Diagnostic)
- GENChec® (Virco)

B. Fenotipificación: mide la replicación viral in vitro en presencia de dosis crecientes de determinadas drogas estableciendo el nivel de susceptibilidad de un virus dado. En el contexto de la sensibilidad a los antirretrovirales, las pruebas de

fenotipificación se refieren a la susceptibilidad del virus VIH-1 a ser inhibido por una droga en particular. La susceptibilidad es definida estableciendo la concentración requerida de una droga para inhibir la replicación in vitro al 50%, 90% o 95%, abreviada como CI50, CI90 o CI95 respectivamente. Cada uno de estos parámetros es igualmente útil para identificar cepas susceptibles, pero por razones técnicas y de estandarización, la CI50 se ha convertido en el mejor parámetro de comparación con la cepa de referencia. En otras palabras, el fenotipo se basa en la observación del crecimiento del virus de un paciente en presencia de concentraciones crecientes de una droga para determinar la CI50, la cual se compara con la CI50 de la cepa de referencia y de esta manera, se establece la magnitud del cambio entre ambas (47).

**Tabla 1. Ventajas y desventajas de las pruebas de resistencia al TAR.**

Genotipificación	Fenotipificación
<b>Ventajas</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Relativamente simple</li> <li>• Ampliamente Disponible</li> <li>• Detecta mezclas de cepas salvajes y resistentes</li> <li>• Detecta mutaciones antes del cambio fenotípico</li> <li>• Menor costo</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Medición directa de la resistencia</li> <li>• Evalúa el efecto neto de las mutaciones sobre la sensibilidad</li> <li>• Otorga información útil sobre resistencia cruzada</li> <li>• Metodología aplicable a cualquier droga</li> </ul>
<b>Desventajas</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Poco sensible a la presencia de variantes minoritarias</li> <li>• Su análisis requiere conocer los determinantes de la resistencia</li> <li>• No predice el efecto de las interacciones entre distintas mutaciones</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Poco sensible a la presencia de variantes minoritarias</li> <li>• Requiere varias semanas para dar resultados</li> <li>• Complejidad que impide su amplia disponibilidad</li> <li>• Mayor costo</li> </ul>

*Fuente: elaboración original.*

### 3.5 Guía Nacional de manejo del VIH

Los tratamientos de primera línea son en su mayoría compuestos por uno de los inhibidores de transcriptasa inversa (Efavirenz o Nevirapina) o uno de los inhibidores de proteasa boosteados (Lopinavir/Ritonavir, Darunavir/Ritonavir, Atazanavir/Ritonavir, Saquinavir/ritonavir o Fosamprenavir/ritonavir) más

Lamivudina y una de las siguientes drogas (zidovudina, abacavir, Estavudina, Didanosina o Tenofovir). Los tratamientos de segunda línea están constituidos en su mayoría por un inhibidor de proteasa bosteadado (Lopinavir/Ritonavir, Darunavir/Ritonavir, Atazanavir/Ritonavir, Saquinavir/ritonavir o Fosamprenavir /ritonavir) más Lamivudina y uno de los siguientes inhibidores de transcriptasa inversa (zidovudina, Estavudina, Didanosina, Tenofovir, o abacavir). Los esquemas de líneas más tardía se constituyen con 2 a 3 drogas activas en la prueba de resistencia genotípica escogidas de las siguientes: Raltegravir, Etravirina, Maraviroc y los demás medicamentos previamente citados) **(48)**.

Las guías de manejo de VIH/SIDA han resaltado la necesidad de individualizar la TAR con base a los datos genéticos del VIH-1, integrados con información clínica, laboratorial y terapéutica. Las pruebas de resistencia genotípica para VIH-1 son indispensables para el proceso de individualización de la terapia, ya que evitan la formulación de medicamentos de TAR que no sean efectivos contra la variante viral presente en el paciente. Estas pruebas genéticas dependen de la secuenciación de genes necesarios para la replicación viral, como la transcriptasa inversa y la proteasa, para detectar mutaciones capaces de conferir resistencia a los TAR **(48)**.

Recientemente en Colombia Guía de práctica clínica basada en la evidencia científica para la atención de la infección por VIH en adolescentes y adultos hombres y mujeres, residentes en Colombia 2013 la cual plantea recomendaciones de inicio de TAR las cuales se muestran en el grafico 1.



### Recomendaciones sobre selección de primer tratamiento antirretroviral

	ITRNs	3er componente
<b>Hombres y mujeres mayores de 13 años</b>		
<b>Tratamiento recomendado</b>	ABC/3TC* ó TDF/FTC*	Efavirenz Atazanavir/ritonavir Darunavir /ritonavir Raltegravir
<b>Alternativas</b>	AZT/3TC*	Nevirapina Lopinavir /ritonavir Fosamprenavir /ritonavir
<b>Mujer embarazada</b>		
	ITRNs	3er componente
<b>Tratamiento recomendado</b>	AZT/3TC*	Lopinavir/ritonavir ó Atazanavir/ritonavir
<b>Alternativas</b>	ABC/3TC* ó TDF/FTC*	Nevirapina

\* = Presentaciones coformuladas

**Fuerza de la recomendación:**  
Fuerte a favor de la recomendación.



**Figura 1.** Recomendaciones de Tratamiento Antirretroviral (fuente: Martínez E, Guía de práctica clínica basada en la evidencia científica para la atención de la infección por VIH en adolescentes y adultos hombres y mujeres, residentes en Colombia, Ministerio de Salud Colombia 2013).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo general**

Caracterizar las mutaciones que confieren resistencia al tratamiento antirretroviral en pacientes con VIH-1 de Vital Salud IPS de la ciudad de Barranquilla-Colombia en el periodo de 2009 a 2013.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Determinar las características sociodemográficas de los sujetos objeto de estudio: sexo, edad y mecanismo de contagio.
- Identificar las características clínicas y comorbilidades al momento del diagnóstico de VIH-1, recuento de L CD4+ y carga viral de los sujetos objeto de estudio.
- Caracterizar y describir el tipo de TAR y mutaciones de resistencia en las fallas virológicas en los sujetos objeto de estudio.
- Establecer el score genotípico de resistencia a los diferentes esquemas antirretrovirales de los sujetos objeto de estudio.
- Asociar los tipos de mutaciones de resistencia a los medicamentos antirretrovirales con parámetros específicos de tratamiento, sociodemográficas, comorbilidades y clasificación.

## **4. METODOLOGÍA**

### **4.1 Tipo de estudio**

El tipo de estudio fue un estudio descriptivo retrospectivo, en un grupo de pacientes infectados por VIH, atendidos en un programa integral de Vital Salud IPS de la ciudad de Barranquilla -Colombia en el periodo de 2009 a 2013.

### **4.2 Escenario del estudio y tamaño de la muestra**

La población diana fueron todos los pacientes que asistieron al programa de atención integral de VIH desde enero de 2009 hasta diciembre de 2013. La población accesible y elegible serán todos los pacientes que han estado inscritos en el programa de atención de VIH de la IPS de referencia, que hayan estado durante mínimo tres meses de atención en la institución y que cumplan con los criterios de inclusión y exclusión.

La información se extraerá de una base de datos en Microsoft Excel diseñada como instrumento de investigación denominado por el grupo investigador como Registro Único de Cuentas de Alto Costo (RUCAC), que incluye las variables: edad, sexo, procedencia, nivel educativo, farmacodependencia, tendencia sexual, mecanismo de contagio, tiempo de diagnóstico, tiempo de falla viral tardía, factores socioeconómicos, manifestaciones clínicas, tipos de virus, nivel de adherencia, estado nutricional, tiempo de primer, segundo y tercer tratamiento, genotipificación, tiempo de la falla virológica entre otras variables de importancia.

### **4.3 Criterios de inclusión**

1. Pacientes inscritos en el programa de atención integral de VIH/SIDA de Vital Salud IPS de la ciudad de Barranquilla y que haya presentado falla virológica tipo 1, 2 y 3 posterior al tratamiento antirretroviral.
2. Pacientes que cumplan con los criterios anteriores y además se le hayan realizado la prueba de genotipificación, carga viral y recuento de L CD4.
3. Pacientes que firmen el consentimiento informado para el tratamiento de sus datos de historia clínica.

#### 5.4 Criterios de exclusión

1. Ausencia de uno o más variables definidas para el estudio en la historia del paciente.
2. Paciente que no haya permanecido por lo menos 3 meses en el programa.
3. Pacientes menores de edad

### 4.3 Recolección de la información

*Sensibilización:* Se presentó al protocolo al personal directivo de la IPS a intervenir para obtener su aprobación y posteriormente se le presentara a todo el personal profesional, técnico y auxiliar que trabaja en la misma, además se la capacitación de las personas que participaron en la recolección de la datos.

*Proceso de recolección:* los datos se extrajeron de una fuente secundaria, como es la historia clínica de los pacientes del programa de atención integral de VIH/SIDA, que se encuentra digitalizadas en un una base de datos que posee la IPS llamada Registro Único de Cuentas de Alto Costo (RUCAC).

Los datos con respecto a la determinación de resistencia a TAR se identificaron del reporte de las mutaciones por medio de amplificación preliminar con PCR seguida de la secuenciación en la región de la proteasa y TR del gen pol del VIH-1, test realizado mediante metodología de interpretación por el algoritmo de fenotipaje virtual desarrolla por la empresa VIRCO (software de 'virco TYPE VIH-1' realiza una modelización matemáticamente compleja que predice cómo responderá el VIH a un fármaco en concreto. Para ello, cuenta con una gran base de datos que incluye 61.000 pares de genotipos/fenotipos coincidentes, derivados de 445.000 genotipos y 98.000 fenotipos). Para el procedimiento anterior las muestras fueron enviadas en cadena de frio muestras de sangre seca filtro procedente de cada paciente estudiado y luego se encontraban reportadas en la historia.

### 4.4 Aspectos Éticos

El presente estudio fue catalogado de riesgo ético mínimo en concordancia con la resolución 008430 de 1993 del Ministerio de Salud colombiano, Título II, Artículos 6 y 11 de la investigación en seres humanos. Debido a que el estudio se realizara con una fuente secundaria de datos en la cual se respetara la identidad y nombres de los pacientes. Los pacientes firmaron a la clínica un consentimiento informado donde autoricen por medio de una firma el tratamiento de sus datos inherentes a la historia clínica, demás paraclínicos y de genética molecular (49).

La presente investigación también es basada en la declaración de Helsinki promulgada por la Asociación Médica Mundial (AMM) como organismo de principios

éticos que guían a la comunidad médica y otras personas que se dedican a la experimentación con seres humanos y sus derivados (50).

#### 4.5 Presentación de los Resultados:

Los datos se presentan mediante tablas de distribución de frecuencia absolutas y relativa de las variables estudiadas, incluyendo patrones de mutaciones, mutaciones a los IP, mutaciones a los ITRN, mutaciones a los ITRNN y mutaciones a la combinación de TAR. Distribución de frecuencia del cruce de las variables tipos de resistencia con las variables y edad, sexo. Tabla con la distribución de frecuencia relativa de las mutaciones de resistencia a los IP, ITRN o ITRNN, además un cuadro con los valores del chi-cuadrado de las diferencias de proporciones para analizar cuales valores tienen diferencias estadísticamente significativas. Además, una tabla de las variables que mostraron diferencia de proporciones estadísticamente significativa.

#### 4.6 Plan de procesamiento de la Información.

Los datos se consignaron inicialmente en la ficha clínica preestablecida y luego tabulados en forma sistematizada en el programa Microsoft Excel en la base de datos RUCAC y procesados en el programa SPSS versión 20.0, otros cálculos se realizaron con el programa Epidat versión 3.1. Todo el procesamiento se realizó en un equipo HP Pavillon 2.0, con procesador AMD E1- 1200 APU, 1,40 GHZ, con una memoria instalada de 4.0 GB, con el sistema operativo Windows 10.

## 4. RESULTADOS

Se observó con relación a las características sociodemográficas de la población estudiada, que de los N=936 sujetos estudiados dos terceras partes fueron hombres (63,03%). Más de la mitad de los sujetos fueron adultos jóvenes (51,28%) y en menor frecuencia fueron adultos mayores de 60 años (3,00%), siendo el promedio de edad 39,78±13,41 años. El mecanismo de contagio de los pacientes estudiados fue en su mayoría contacto sexual en un (99,35%) (ver tabla 2).

**Tabla 2.** Distribución de frecuencia y porcentaje según las características sociodemográficas y mecanismo de contagio de los pacientes de la ips vital salud de barranquilla en el periodo de 2009-2013

Característica	FA (n)	FR (%)
Sexo		
Mujeres	346	36,97
Hombres	590	63,03
Edad		
18-34	480	51,28
35-60	428	45,72
>60	28	3,00
Etnia		
Afrodescendiente	70	7,48
Indígena	1	0,11
Gitano	5	0,53
Ninguno	860	91,88
Mecanismo de contagio		
No se conoce	1	0,11
Transmisión sexual	930	99,35
Uso de agujas	5	0,54

*Fuente: base de datos del estudio.*

La comorbilidad más frecuente encontrada en los pacientes estudiados fue la anemia (31,09%) seguida de la Hepatitis B (3,52%) y trastornos psiquiátricos (2,88%). De las mujeres incluidas en el estudio, el 20,23% estaban en estado de embarazo al momento del diagnóstico ( ver Tabla 3), en un 50,03% no existieron comorbilidades.

**Tabla 3.** Distribución, frecuencia y porcentaje de las comorbilidades de los pacientes de vital salud de barranquilla con vih+ en tratamiento TARV en el periodo 2009-2013

<b>Comorbilidad</b>	<b>FA (n)</b>	<b>FR (%)</b>
Anemia	291	31,09
Embarazo	70	7,47
Hepatitis B	33	3,52
Trastornos Psiquiátricos	27	2,88
Tuberculosis	25	2,67
Enfermedad renal	9	0,96
Enfermedad coronaria	6	0,64
Sarcoma de Kaposi	4	0,42
Hepatitis C	3	0,32
No presentaron	468	50,03

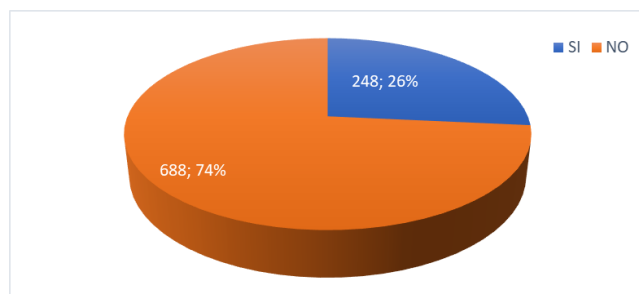
*Fuente: base de datos del estudio.*

Al menos dos quintas partes de los sujetos estaban en clasificación 3 de acuerdo con el recuento de los linfocitos CD4 (<200 copias en un 41,13%) y un poco más de dos terceras partes de los individuos poseían una carga viral mayor a mil copias por mililitro (69,34%), destacando que un 25,21% de los sujetos estudiados no se realizaron el estudio de carga viral al inicio del TAR.

Al inicio de los tratamientos, la mayor frecuencia de los sujetos estudiados estuvo medicados con una combinación entre medicamentos NRTI y NNRTI (58,01%), seguidos en proporción de los sujetos tratados con una combinación entre NRTI y IP (Tabla 6). De los sujetos estudiados, el 26% presentaron algún tipo de resistencia al TAR y el 74% no presentó mutaciones de resistencia ver (Figura 2), el 26,70% de los que recibían NRTI+NNRTI y 26,04% de los que se les suministró NRTI+IP presentaron resistencia al TAR (Figura 3)



**Figura 2.** Distribución de Frecuencia de pacientes que presentaron o no, resistencia al TAR, en la ips vital salud de barranquilla en el periodo de 2009-2013



Fuente: base de datos del estudio.

Se pudo observar que los pacientes estudiados el 35.7%(334) pacientes se clasificaron el nivel 1, el 23.2%(217) pacientes estaban en nivel 2 y el 41,1%(385) pacientes estaban en nivel 3 (ver tabla 4), en cuanto a la carga viral el 1.07%(10) tenían < 50 copias , 4.39%(41) tenían de 50-999 copias y el 69.21%(649) tenían mas de 1000 copias el otro 25% no se les realizo carga viral (ver tabla 4), en la tabla 4 observamos que 58%(543) de los pacientes estudiados estaban recibiendo NRTI+NNRTI, el 38.5%(361) estaban recibiendo terapia con NRTI+IP, el 0.2%(3) pacientes estaban recibiendo IP, 2.88%(27) pacientes estaban recibiendo NRTI y el 0.22%(2) pacientes estaban recibiendo solo NNRTI.

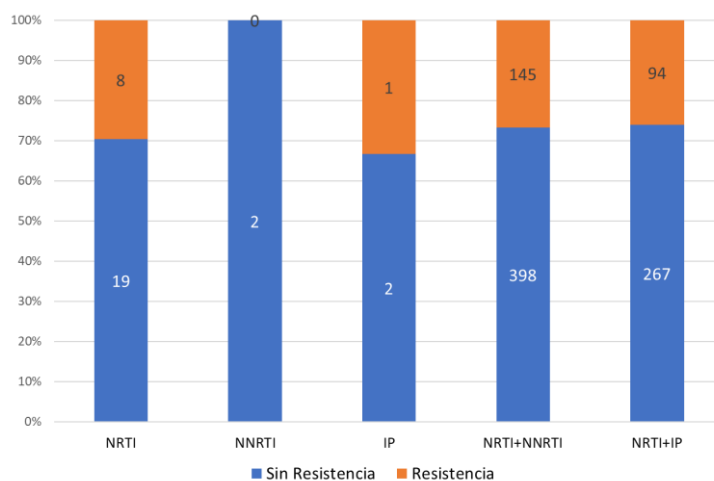
**Tabla 4.** Distribución, frecuencia según los parámetros clínicos de nivel de CD4 y carga viral y el tipo de TARV, de los pacientes vih+ de vital salud ips de barranquilla en el periodo de 2009-2013

Parámetro	FA (n)	FR (%)
Recuento de LCD4		
Clasificación 1 (>500)	334	35,68
Clasificación 2 (200-499)	217	23,19
Clasificación 3 (<200)	385	41,13
Carga Viral		
<50 copias/ml	10	1,07
50-999 copias/ml	41	4,38
> 1000 copias/ml	649	69,34
No se realizó	236	25,21
Tipo de TAR de inicio de tratamiento		
NRTI	27	2,88
NNRTI	2	0,22
IP	3	0,32
NRTI+NNRTI	543	58,01

NRTI+IP	361	38,57
---------	-----	-------

Fuente: base de datos del estudio

**Figura 3.** Frecuencia de individuos que presentaron o no presentaron resistencia al TAR de acuerdo con el tipo de TAR que recibían. NRTI; NNRTI; IP, en la ips de vital salud de barranquilla en el periodo de 2009-2013.



Fuente: base de datos del estudio

En la presente investigación se evidenciaron 202 mutaciones diferentes en el VIH+1 en los sujetos que presentaron resistencia al TAR. El polimorfismo L63P fue el más frecuente (54,03%) (ver tabla 5), observado en más de la mitad de los individuos con resistencia, seguido de las mutaciones R41K (31,05%), I93L e I62V observada en aproximadamente el 27% de los sujetos con resistencia. Un total de 88 diferentes mutaciones fueron encontradas en casos únicos, mientras que 36 diferentes mutaciones se encontraron de a 2 casos y 22 polimorfismos fueron encontrados de a 3 casos. La Tabla 5 describe las mutaciones que se fueron encontradas en más de 20 casos diferentes.

**Tabla 5.** Distribución, frecuencia y porcentaje de las mutaciones encontradas en los paciente vih+ de vital salud de barranquilla en el periodo 2009-2013

Mutaciones	FA (n)	FR (%)
L63P	134	54,03

R41K	77	31,05
I93L	69	27,82
I62V	67	27,01
V77I	62	25,00
M36I	53	21,37
I15V	47	18,95
E35D	37	14,92
I13V	36	14,52
L10I	32	12,90
K103N	31	12,50
M184V	24	9,68
D60E	22	8,88
V118I	21	8,47
L63T	21	8,47
I62IV	20	8,06

*Fuente: base de datos del estudio.*

**Tabla 6.** Asociación entre comorbilidades y la resistencia a la TARV de los pacientes con vih+ de vital salud de barranquilla Enel periodo de 2009-2013

Complicación		Sin resistencia		Con resistencia		Total (N)	P-Valor
		N	%	N	%		
Dislipidemias	Si	333	35,58	128	13,68	475	0,3857
	No	355	37,93	120	12,82		
Neuropatía periférica	Si	23	2,46	18	1,92	41	0,0098
	No	665	71,05	230	24,57		
Lipodistrofia	Si	36	3,85	19	2,03	55	0,1632
	No	652	69,66	229	24,47		
Coinfección con Hepatitis B crónica	Si	31	3,31	10	1,07	41	0,7547
	No	657	70,19	238	25,43		
Anemia	Si	234	25,00	79	8,44	313	0,5371
	No	454	48,50	169	18,06		
Discapacidad Funcional	Si	13	1,39	8	0,85	21	0,3485
	No	646	69,02	225	24,04		
Otras Infecciones	Si	23	2,46	131	14,00	154	0,0004
	No	665	71,04	117	12,50		

*Fuente: base de datos del estudio.*

La tabla 6 muestra los resultados de cruzar las comorbilidades encontradas en los pacientes y el hecho de presentar resistencia a la TARV, pero al realizarle la prueba de chi cuadrado se encontró que solo la neuropatía periférica y otras infecciones

demonstraron tener algún tipo de asociación con la resistencia (ver tabla 6), en otras infecciones se incluyen infecciones de transmisión sexual y respiratorias (presente en el 52,82% de los pacientes con resistencia frente al 3,34% de los pacientes sin resistencia), mostraron significancia estadística a favor de la proporción en la incidencia de los sujetos con resistencia al TAR ( $p < 0,05$ ). Las complicaciones más frecuentes que no mostraron asociación a las pruebas estadísticas ( $p > 0,05$ ) con la condición de resistencia al TAR fueron las dislipidemias en un 50,75%, seguidas de los casos de anemias y lipodistrofia, presentes en el 33,44% y 5,87% de los casos, respectivamente. La asociación entre la resistencia a la TARV y el sexo no mostraron diferencias estadísticas significativas (Tabla 6).

**Tabla 7.** Asociación entre la resistencia a los diferentes tipos de TAR y el sexo de los pacientes de vital salud de barranquilla en el periodo 2009-2013.

Resistencia		Mujeres		Hombres		P-Valor
		N	%	N	%	
NRTI	Si	3	11,11	5	18,52	0,9742
	No	7	25,93	12	44,44	
NNRTI	Si	0	0,00	0	0,00	-
	No	0	0,00	2	100,00	
IP	Si	0	0,00	1	33,33	0,3865
	No	1	33,33	1	33,33	
NRTI+IP	Si	50	13,85	44	12,19	0,1496
	No	119	32,96	148	41,00	
NRTI+NNRTI	Si	41	7,55	104	19,15	0,4835
	No	125	23,02	273	50,28	

Fuente: base de datos del estudio.

Se realizó el cruce de los paciente que recibían diferentes esquemas de tratamiento con resistencia a TARV y las diferentes mutaciones presentadas, observándose que no existió diferencias significativas en los diferentes grupos (ver tabla 8)

**Tabla 8.** Asociación entre los diferentes esquemas de tratamiento con resistencia al TAR y los polimorfismos más frecuentes encontrados en los pacientes de vital salud barranquilla en el periodo de 2009-2013

Resistencia	I62V	I93L	L63P	M36I	R41K	V77I	

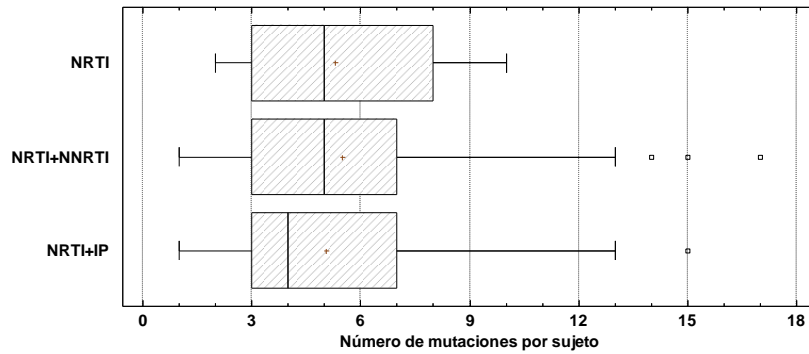
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	P-Valor
NRTI	3	0,65	3	0,65	3	0,65	3	0,65	3	0,65	3	0,65	0,8058
NNRTI	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	
IP	1	0,22	0	0,00	0	0,00	1	0,22	1	0,22	0	0,00	
NRTI+NNRTI	39	8,44	39	8,44	75	16,23	28	6,06	44	9,52	41	8,87	
NRTI+IP	24	5,19	27	5,84	56	12,12	21	4,55	29	6,28	21	4,55	

Fuente: base de datos del estudio

De acuerdo con lo descrito en la tabla 5, la mutación más frecuente L63P se observó en el 51,72% y 59,57% de los casos con resistencia al TAR NRTI+NNRTI y NRTI+IP, respectivamente. La segunda más frecuente, la mutación R41K mostró una distribución similar entre las combinaciones de los TAR, presente en el 30,34% de los casos con resistencia a NRTI+NNRTI y 30,85% en los casos con resistencia a NRTI+IP. Otras mutaciones como I62V fue encontrada en 26,89% de los pacientes con resistencia a los NRTI+NNRTI y en el 25,53% de los pacientes resistentes al tratamiento NRTI+IP y la I93L fue encontrada en el 26,89% y 28,72% de los casos de los individuos con resistencia a los NRTI+NNRTI y NRTI+IP, respectivamente. En este análisis la asociación no mostró ser estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ).

Finalmente, en la figura 4, la comparación de medias entre la cantidad de polimorfismos encontrados en los sujetos agrupados de acuerdo con el tipo de resistencia a los TAR no mostró diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ).

**Figura 4.** Distribución de cajas y bigotes de los esquemas de tratamiento con resistencia al TAR y los polimorfismos más frecuentes encontrados en los pacientes de vital salud barranquilla en el periodo de 2009-2013



Fuente: base de datos del estudio

## 6. DISCUSIÓN

El presente estudio se llevó a cabo en una población de pacientes VIH+1 bajo atención integral especializada ambulatoria y de hospitalización en una IPS de la ciudad de Barranquilla Colombia. Nuestros hallazgos tienen implicaciones respecto a la necesidad de realizar estudios genotípicos con el fin de tener vigilancia de resistencia del VIH a las terapias TAR y a factores relacionados con la transmisión de VIH farmacorresistente en Colombia. Los participantes del estudio, en su mayoría correspondieron a una población de adultos jóvenes, con gran predominio de hombres; principalmente diagnosticados de forma inmediata. Cabe destacar en todos fueron genotipificados con VIH+1.

En general y en cuanto a las características sociodemográficas, etnia y mecanismo de infección, esta población es similar al universo de personas infectadas por el VIH+1 reportados en la literatura. En la ciudad de Cali – Colombia, autores como P. Galindo-Orrego et al, **(51)** reportan en su estudio similar edad promedio de sus sujetos estudiados en el momento del estudio genotípico  $32 \pm 10,2$  años (rango 18-67 años), La mayoría, hombres (76%), datos muy semejantes con la presente investigación. Este mismo autor dentro de sus variables de estudio, tuvo en cuenta la convivencia de los pacientes investigados, haciendo énfasis en su estado civil al momento del diagnóstico de VIH, evidenciando así, que en un 68% no convivían en pareja (solteros 55%, separados o viudos 13%), y el 32% convivían en pareja (casados, unión libre). En contraste con la presente investigación, donde solo se indagaron métodos de contagio, consignados en el instrumento de investigación y/o historia clínica **(51)**.

Autores como Afani S et al, también coinciden con la presente investigación sobre todo el hecho que el sexo biológico sigue siendo de mayor frecuencia en el masculino, (90%) y adicionando la importancia de la conducta sexual como la homosexualidad y bisexualidad (68,3%) en sus pacientes estudiados, hecho que contrasta con la presente investigación, donde no se tuvieron en cuenta mencionadas variables **(52)**.

Autores como Fernández Lisón et al., describieron en su estudio que todos sus pacientes estudiados presentaron falla virológica de causa multifactorial, asociado a falta de adherencia al tratamiento o posible resistencia farmacológica, coincidiendo con la presente investigación, donde todos los pacientes investigados presentaron VIH+1 con falla virológica por Resistencia farmacológica a los TAR **(53)**.

En cuanto al recuento de LCD4 y carga viral , Afanis et al., también evidenciaron en su investigación análoga, que en sus sujetos estudiados el promedio de LCD4 fue de 200,1 células/mL (52-520 células/mL) y la carga viral promedio fue de 142.840 copias RNA/mL (6.100-800.000 copias ARN/mL), muy semejante a lo evidenciado en el presente estudio (<200 copias en un 41,13%) y un poco más de dos terceras partes de los individuos poseían una carga viral mayor a mil copias por mililitro (69,34%), destacando que un 25,21% de los sujetos estudiados no se realizaron el estudio de carga viral al inicio del TAR **(52)**.

En cuanto a las comorbilidades estudiadas en la presente investigación en mayor frecuencia se evidenciaron la anemia y las hepatitis B y C, siendo patologías no necesariamente vinculadas al VIH-SIDA, si no, como cuadros patognomónicos asociados a complicaciones por la infección viral y la falla virológica. Autores como López-Romero et al, en Bucaramanga- Colombia, describen en su investigación que comorbilidad más común en sus pacientes con VIH, fue hipertrigliceridemia con 272 pacientes (28,30%) en nivel alto de triglicéridos, seguida de la prediabetes con 204 pacientes (21,36%) y por las infecciones de transmisión sexual con un total de 196 pacientes (18,53%) con prueba positiva para sífilis, contrastando con los resultados obtenidos en la presente investigación **(54)**.

Martínez-iglesias et al, describen en su investigación a la dislipidemia, hipertensión y diabetes tipo 2 como las comorbilidades más prevalentes con el 15,03%, 5,67% y 1,95% respectivamente, teniendo coincidencia con la dislipidemia presente en este estudio, categorizada como complicación durante la falla virológica **(55)**.



Una publicación sobre la situación del VIH en Colombia 2018 reporta las principales comorbilidades de las personas que viven con VIH en el país y en primer lugar esta la dislipidemia, en segundo lugar, las infecciones de transmisión sexual y en tercer lugar la coinfección con Hepatitis B. Esto podría relacionarse con un uso no consistente del preservativo en las relaciones sexuales y con una pobre conciencia del autocuidado tal como coincide con el presente estudio **(56)**.

Autores como Mata-Marín et al, reportan para una cohorte de personas que viven con VIH de México, una diferencia significativa en la prevalencia de comorbilidades entre el grupo de pacientes mayores de 50 años y los de menores de edad. La prevalencia en los del grupo de más de 50 años fue de dislipidemia 81%, hipertensión arterial en el 30%, diabetes mellitus 18% y osteoartritis 33%, coincidiendo nuevamente con la presente investigación **(57)**.

De igual manera, Maciel et al, en Brasil, compararon un grupo de pacientes con VIH con otro sin la infección y encontraron una prevalencia de comorbilidades mayor en aquellos con VI, tales como: hipertensión 62%, enfermedad ósea 52,9%, enfermedad hepática (no viral) 25,6% y diabetes 22,6%, en contraste con el presente estudio, el cual no evidencio en sus resultados comorbilidades de ese tipo **(58)**.

Otros autores en Puerto Rico como, Rodríguez-Díaz et al, encontraron que las comorbilidades más comunes tanto para hombres como para mujeres fueron dislipidemia 60,8%, abuso de alcohol 48,8% e hipertensión 39,6%, en discrepancia también con lo expuesto en la presente investigación **(59)**.

En cuanto a la Resistencia a los TAR, el aumento primario, según una revisión realizada por Afani, et al **(52)** obedece a la transmisión de virus resistente a drogas antirretrovirales. A pesar de que muchos factores influyen en las diferencias regionales de resistencia primaria, la tasa de transmisión de virus resistente estaría asociada inversamente a la disponibilidad de tratamientos antirretrovirales óptimos y a la adherencia a ellos. La transmisión de estos virus se ha reportado por diferentes grupos de investigadores incluidos en su revisión. Estudios

internacionales, incluso, han detectado la transmisión de VIH con resistencia a más de una familia de drogas (multi-resistencia a antirretrovirales), tal como lo muestra la presente investigación, aunque sin valores estadísticamente significativos para extrapolar resultados **(52)**.

Wensing et al., han definido y actualizado una lista de mutaciones nuevas para 2019 de resistencia en VIH que es, a la fecha, la mejor aproximación a las mutaciones de resistencia transmitida que se deben vigilar. Las mutaciones son aquellas que han sido identificadas por uno o más de los siguientes criterios: 1. Experimentos de pases in vitro o validación de la contribución a la resistencia mediante mutagénesis dirigida al sitio; 2. Pruebas de susceptibilidad de aislamientos clínicos o de laboratorio; 3. Secuenciación de nucleótidos de virus de pacientes en los que falla el fármaco; 4. Estudios de asociación entre el genotipo basal y la respuesta virológica en pacientes expuestos al fármaco **(60)**. Esta mostró más de 93 mutaciones de resistencia no polimórficas cuya frecuencia en virus salvajes es de 0,5% o menos. De esta manera, excluye mutaciones que ocurren de manera natural en virus de diferentes subtipos o mutaciones polimórficas que pueden acompañar a mutaciones no polimórficas inducidas por exposición a drogas TAR. Por ejemplo, los polimorfismos 36I y 93L de la proteasa viral que a pesar de aparecer en listas de mutaciones de resistencia preparadas por comités expertos (por ejemplo, IAS-USA, Base de datos de VIH de Stanford), no son siempre inducidas por exposición a drogas, sino que son también frecuentes en virus salvajes de subtipos no B del VIH-1, y también acompañan con frecuencia a otras mutaciones mayores en virus expuestos a IP **(61)**.

Teniendo en cuenta los anteriores argumentos nuestro estudio contrasta con la actualización descrita anteriormente, puesto que evidenciamos 202 polimorfismos diferentes en el VIH-1 en los sujetos que presentaron resistencia al TAR. El polimorfismo L63P fue el más frecuente (54,03%), observado en más de la mitad de los individuos con resistencia, seguido de las mutaciones R41K (31,05%), I93L e I62V observada en aproximadamente el 27% de los sujetos con resistencia. La mutación más frecuente L63P se observó en el 51,72% y 59,57% de los casos con

resistencia al TAR NRTI+NNRTI y NRTI+IP, respectivamente. La segunda más frecuente, la mutación R41K mostró una distribución similar entre las combinaciones de los TAR, presente en el 30,34% de los casos con resistencia a NRTI+NNRTI y 30,85% en los casos con resistencia a NRTI+IP. Para los anterior cabe destacar que aunque no existe asociación estadística para relacionar la resistencia a TAR con los polimorfismos encontrados, otros autores como P. Galindo-Orrego et al describen en los resultados de su estudio que la mayor parte de las cuales afectó a la susceptibilidad del virus a los análogos NRTI: la encontrada con más frecuencia fue la F77L, seguida por la M41L, la K70R, la L210W y la T215Y, siendo mutaciones ninguna evidenciada en nuestra investigación **(51)**.

En una investigación realizada en Ecuador por González-González M, et al, evidencia que con relación a la frecuencia de mutación del VIH+1, la mutación F77L más prevalente en niños, entre otras como K103N/S, M46L/I, V82T/F/A/S/L y L90M en niños, discrepando en la presente investigación donde esta misma mutación F77L fue más frecuente en adultos **(62)**.

La consideración de otras mutaciones que por sí solas evidentes en el presente estudio pueden conferir algún nivel de afectación de la susceptibilidad del virus a los TAR, aun cuando no pertenezcan a la lista de la OMS actualizada den 2019, pero sí a la de IAS-USA también es importante **(51)**.

Por otra parte, estudios previos reconocen que la estimación de la resistencia transmitida varía de acuerdo con el set de mutaciones que se utilicen para definir las mutaciones de resistencia, lo que sugiere que la resistencia transmitida podría medirse dentro de un rango, en lugar de usarse un número absoluto con límites entre un parámetro más estricto y uno menos estricto, que es lo que no se consiguió en la presente investigación **(61)**.

En otros países latinoamericanos, los estudios también son escasos y con grupos pequeños de pacientes. En Argentina se ha encontrado una prevalencia entre 2,4 y 15,4%, con una frecuencia de mutaciones secundarias de hasta 90%. Estudios, en Brasil, han demostrado una prevalencia de hasta 2,2% de resistencia a IP, 2,4% a

ITRN y 2,1% a ITRnN. Las mutaciones secundarias reportadas más frecuentemente en los trabajos mencionados no difieren a las encontradas por nosotros, siendo L63P la más frecuente, presente en aproximadamente 50% de los pacientes **(63-65)**.

## **7. CONCLUSIONES**

Fueron evidentes las mutaciones por la resistencia al tratamiento antirretroviral en pacientes con VIH+1 de una IPS de la ciudad de Barranquilla-Colombia en el periodo de 2009 a 2013. Siendo la más frecuente las L63P asociada a NRTI+NNRTI, en mayor frecuencia en mujeres que en hombres en la primera falla virológica o resistencia primaria. El mecanismo de contagio fue en mayor proporción por transmisión sexual.

La comorbilidad más frecuente evidenciada en la presente investigación fue, la anemia, sin embargo, u 50% de los pacientes estudiados no presentó comorbilidades en el momento del recuento de LCD4 y carga viral. El tipo de TAR más frecuente fue NRTI+NNRTI al inicio del tratamiento.

Las mutaciones asociadas a la Resistencia a TAR fueron fue la F77L, seguida por la M41L, entre otras en combinación.

Es importante considerar que la prevalencia de resistencia primaria varía dependiendo del momento en que se realiza el análisis de resistencia. A pesar de que las mutaciones asociadas a resistencia pueden persistir por varios meses, la ausencia de presión selectiva por los medicamentos genera la repoblación de cepas salvajes con mayor capacidad de replicación. Cuando esto sucede, las mutaciones transmitidas no pueden ser detectadas. Sin embargo, se ha demostrado una rápida reaparición de las cepas resistentes frente a la reintroducción de la terapia. Es así como los valores de prevalencia son más elevados al estudiar pacientes con infección aguda o con infección reciente (<12 meses) que al estudiar pacientes crónicos.

En nuestro trabajo no contamos con datos confiables del tiempo transcurrido entre el momento de la infección y la realización de la prueba de genotipificación, por lo que se debe considerar que los datos obtenidos pueden estar subvalorados.

## **9. LIMITACIONES Y RECOMENDACIONES**

Sería de gran interés ampliar el grupo de estudio y complementar la información con datos del tiempo desde el contagio. Además, ejecutar un seguimiento de los pacientes sería muy interesante, ya que al contar con un estudio de genotipificación previo al inicio de TAR, se podrían evaluar los cambios en el perfil de resistencia viral determinados por el uso de fármacos antirretrovirales.

Los estudios de resistencia tienen utilidad individual para el manejo terapéutico óptimo de cada paciente y además un beneficio colectivo, en términos de salud pública, al incidir directamente en la mejor utilización del tratamiento antirretroviral, disminuyendo probablemente la aparición de resistencias potencialmente transmisibles.

La principal fortaleza del estudio radica en que este estudio sirve para sustentar la necesidad de realizarle la genotipificación a todos los pacientes antes de iniciar las TARV por el alto porcentaje 26% de mutaciones de resistencia encontrado en los pacientes estudiados, sirve para reforzar la teoría de individualizar la terapia, pero además para orientar la terapia de rescate, pero el estudio además tiene una limitante que no se pudieron evaluar variables de interés por el hecho de ser un estudio retrospectivo, como es el tiempo transcurrido entre el uso de la terapia y la aparición de las mutaciones, el tiempo de uso del esquema de tratamiento, pretendemos que este estudio sirva de inspiración para desarrollar estudios prospectivos y multicéntricos en nuestra región donde se puedan estudiar variables que no se pudieron evaluar en el presente.

Una de los sesgos que tiene el estudio es el hecho que no se tuvo un criterio claro para seleccionar a los paciente que se le realizo la genotipificación

En países europeos y latinoamericanos la resistencia primaria ha alcanzado cifras sobre 15%, por lo que las recomendaciones actuales incorporan el estudio de genotipificación previo a TAR, en este estudio pudimos observar que la ips vital salud el 26% de los pacientes estudiados presentaron alguna mutación que le confiere resistencia a la TARV . En Colombia, es probable que, frente al aumento de fracaso terapéutico, y transmisión de cepas resistentes, exista con el tiempo una mayor prevalencia de resistencia primaria que determine cambios en las indicaciones actuales.

## 10. REFERENCIAS

1. Rezaei S, Ahmadi S, Rahmati J, Hosseini H, Dehnad A, Aryankhesal A, et al. Global prevalence of depression in HIV/AIDS: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Supportive & Palliative Care* 2019; 0:1–9.
2. Cooper TJ, Woodward BL, Alom S, Harky A. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) outcomes in HIV/AIDS patients: a systematic review [published online ahead of print, 2020 Jul 15]. *HIV Med.* 2020;10.
3. World Health Organization. Hiv prevalence, 2018. Disponible en: [http://www.who.int/gho/hiv/epidemic\\_status/prevalence\\_text/en/](http://www.who.int/gho/hiv/epidemic_status/prevalence_text/en/)
4. Ghiasvand H, Waye KM, Noroozi M, Harouni GG, Armoon B, Bayani A. Clinical determinants associated with quality of life for people who live with HIV/AIDS: a Meta-analysis. *BMC Health Serv Res.* 2019;19(1):768.
5. Ssemwanga D, Lihana RW, Ugoji C, Abimiku A, Nkengasong J, Dakum P, Ndembu N. Update on HIV-1 acquired and transmitted drug resistance in Africa. *AIDS Rev.* 2015 Jan-Mar;17(1):3-20.
6. UNAIDS The Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. Disponible en: <https://www.unaids.org/en/keywords/unaids-joint-united-nations-programme-hivaids>.
7. Thapa R, Amatya A, Pahari DP, Bam K, Newman MS. Nutritional status and its association with quality of life among people living with HIV attending public anti-retroviral therapy sites of Kathmandu Valley, Nepal. *AIDS Res Ther.* 2015;12(1):14.
8. UNAIDS, AIDSinfo. Indicators. Disponible en: <http://aidsinfo.unaids.org/>
9. Siedner M, Triant V. Undetectable = untransmittable and your health: the personal benefits of early and continuous therapy for HIV infection. *J Infect Dis* 2019; 219: 173–176.
10. Rodger A, Cambiano V, Bruun T et al Risk of HIV transmission through condomless sex in serodifferent gay couples with the HIV-positive partner taking suppressive antiretroviral therapy (PARTNER): final results of a multicentre, prospective, observational study. *Lancet* 2019; 393: 2428–38.

11. Vanegas-Otálvaro D, Acevedo-Sáenz L, Díaz-Castrillón FJ, Paula Velilla-Hernández A. Resistencia a antirretrovirales: bases moleculares e implicaciones farmacológicas. *Rev CES Med* 2014; 28(1): 91-106.
12. Rebeiro PF, Cesar C, Shepherd BE, De Boni RB, Cortés CP, Rodríguez F, et al. Assessing the HIV Care Continuum in Latin America: progress in clinical retention, cART use and viral suppression. *J Int AIDS Soc.* 2016.;19(1).
13. Costa J, Torres T, Coelho L, Luz P. Adherence to antiretroviral therapy for HIV/AIDS in Latin America and the Caribbean: Systematic review and meta-analysis. *J Int AIDS Soc.* 2018;21(1):e25066.
14. McMahon JH, Elliott JH, Bertagnolio S, Kubiak R, Jordan M. Viral suppression after 12 months of antiretroviral therapy in low- and middle-income countries: a systematic review. *Bull World Health Organ.* 2013; 91: 377–85E.
15. Esposito F, Corona A, Tramontano E. HIV1 Reverse transcriptase still remains a new drug target: structure, function, classical inhibitors, and new inhibitors with innovative mechanisms of actions. *Mol Biol Int.* 2012; 2012:586401.
16. Chen J, Powell D, Hu WS. High frequency of genetic recombination is a common feature of primate lentivirus replication. *J Virol.* 2006; 80(19):9651-8. 34.
17. Mansky LM, Temin HM. Lower in vivo mutation rate of human immunodeficiency virus type 1 than that predicted from the fidelity of purified reverse transcriptase. *J Virol.* 1995; 69(8):5087-94.
18. Simon V, Ho DD. HIV-1 dynamics in vivo: implications for therapy. *Nat Rev Microbiol.* 2003; 1(3):181-90.
19. Mougél M, Houzet L, Darlix J. When is it time for reverse transcription to start and go? *Retrovirology.* 2009; 6:24.
20. Stadel K, Richman D. Rates of emergence of HIV drug resistance in resource-limited settings: a systematic review. *Antivir Ther.* 2013; 18: 115–123.
21. Rhee SY, Blanco JL, Jordan MR, Taylor J, Lemey P, Varghese V, 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.



22. Vannappagari V, Ragone L, Henegar C, van Wyk J, Brown D, Demarest J, Quercia R, St Clair M, Underwood M, Gatell JM, de Ruiter A, Aboud M. Prevalence of pretreatment and acquired HIV-1 mutations associated with resistance to lamivudine or rilpivirine: a systematic review. *Antivir Ther.* 2019;24(6):393-404.
23. Calvez V, Marcelin A, Vingerhoets J, Hill A, Hadacek B, Moecklinghoff C. Systematic review to determine the prevalence of transmitted drug resistance mutations to rilpivirine in HIV-infected treatment-naive persons. *Antivir Ther.* 2016;21(5):405-12.
24. Gómez Sandra M, Olaya Patricia, Díaz Francisco J. Resistencia a los medicamentos antirretrovirales en pacientes que reciben tratamiento para VIH-sida en Colombia. *Infect.* 2010; 14( 4 ): 248-256.
25. Martínez-Cajas Jorge L, Mueses-Marín Héctor F, Galindo-Orrego Pablo, Agudelo Juan F, Galindo-Quintero Jaime. Resistencia a fármacos en pacientes en tratamiento antirretroviral, Cali, Colombia, 2008-2010. *Biomédica.* 2013; 33( 4 ): 631-642.
26. Agudelo-Rojas L, Coral-Orbes M, Galindo-Orrego X, Mueses-Marín H, Galindo-Quintero J. Resistencia a la terapia antirretroviral (TAR) en pacientes VIH/SIDA en fracaso terapéutico. *Acta Med Colomb* 2019; 44.
27. Vallejo, García F, Domínguez M. "La genotipificación y fenotipificación de la resistencia del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) a los fármacos antirretrovirales." *Colombia Médica.* 2003; 34(3): 143-154.
28. Holland J. Genetic diversity of RNA viruses. *Curr Top Microbiol Immunol.* 1992; 176: 136-144.
29. Domingo E, Martínez-Salas E, Sobrino F, De la Torre J, Portela A, Orín J. The quasispecies (extremely heterogeneous) nature of viral RNA genome populations: biological relevance-a review. *Gene.* 1985; 40: 1-8.
30. Subbarao S, Schochetman G. Genetic variability of HIV-1. *AIDS* 1996; 10 Suppl A: 13-23.

31. Wu J, Norris J, Liu HX, Li Z, Su YY, Zhu L, Wang N. The Prevalence of HIV Drug Resistance among Treatment-failure Individuals and Treatment-naïve Individuals in China: A Meta-analysis. *Biomed Environ Sci.* 2014 Nov;27(11):858-71.
32. Bhargava M, Cajas JM, Wainberg MA, Klein MB, Pant Pai N. Do HIV-1 non-B subtypes differentially impact resistance mutations and clinical disease progression in treated populations? Evidence from a systematic review. *J Int AIDS Soc.* 2014 Jul 4;17(1):18944.
33. Sigaloff K, Calis J, Geelen S, van Vugt M, de Wit T. HIV-1-resistance-associated mutations after failure of first-line antiretroviral treatment among children in resource-poor regions: a systematic review. *Lancet Infect Dis.* 2011; 11(10): 769-79.
34. Rojas Sánchez P, Holguín A. Drug resistance in the HIV-1-infected paediatric population worldwide: a systematic review. *J Antimicrob Chemother.* 2014 Aug;69(8):2032-42.
35. Eshun-Wilson I, Rohwer A, Hendricks L, Oliver S, Garner P. Being HIV positive and staying on antiretroviral therapy in Africa: A qualitative systematic review and theoretical model. *PLoS One.* 2019 Jan 10;14(1):e0210408.
36. Kanters S, Vitoria M, Doherty M, Socias ME, Ford N, Forrest JI, et al. Comparative efficacy and safety of first-line antiretroviral therapy for the treatment of HIV infection: a systematic review and network meta-analysis. *Lancet HIV.* 2016 Nov;3(11):e510-e520.
37. Ford N, Orrell C, Shubber Z, Apollo T, Vojnov L. HIV viral resuppression following an elevated viral load: a systematic review and meta-analysis. *J Int AIDS Soc.* 2019 Nov;22(11):e25415.
38. Edessa D, Sisay M, Asefa F. Second-line HIV treatment failure in sub-Saharan Africa: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2019 Jul 29;14(7):e0220159.
39. Kranzer K, Ford N. Unstructured treatment interruption of antiretroviral therapy in clinical practice: a systematic review. *Trop Med Int Health.* 2011 Oct;16(10):1297-313.

40. Ataro Z, Motbaynor B, Weldegebreal F, Sisay M, Tesfa T, Mitiku H, Marami D, Teklemariam Z, Shewamene Z. Magnitude and causes of first-line antiretroviral therapy regimen changes among HIV patients in Ethiopia: a systematic review and meta-analysis. *BMC Pharmacol Toxicol.* 2019; 20(1): 63.
41. Endalamaw A, Mekonnen M, Geremew D, Yehualashet FA, Tesera H, Habtewold TD. HIV/AIDS treatment failure and associated factors in Ethiopia: meta-analysis. *BMC Public Health.* 2020 Jan 20;20(1):82. doi: 10.1186/s12889-020-8160-8.
42. Innis M, Myambo K, Gelfand D. DNA sequencing with *Thermus aquaticus* DNA polymerase and direct sequencing of polymerase chain reaction-amplified DNA. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1988; 85: 9436-9440.
43. García M. Hibridación de ácidos nucleicos: Fundamentos y aplicaciones. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana (OSP).* 1990; 109(3).
44. Kozal M, Shah N, Shen N, et al. Extensive polymorphisms observed in HIV-1 clade B protease gene using high-density oligonucleotide arrays. *Nat Med.* 1996; 2: 753-759.
45. Gunthard H, Wong J, Ignacio C, Havlir D, Richman D. Comparative performance of high-density oligonucleotide sequencing and dideoxynucleotide sequencing of HIV type 1 pol from clinical samples. *AIDS Res Human Retroviruses.* 1998; 14: 869-876.
46. Hemelaar J, Elangovan R, Yun J, Dickson-Tetteh L, Fleminger I, Kirtley S, Williams B, Gouws-Williams E, Ghys PD; WHO–UNAIDS Network for HIV Isolation Characterisation. Global and regional molecular epidemiology of HIV-1, 1990-2015: a systematic review, global survey, and trend analysis. *Lancet Infect Dis.* 2019 Feb;19(2):143-155.
47. Hart AB, Samuels DC, Hulgán T. The other genome: a systematic review of studies of mitochondrial DNA haplogroups and outcomes of HIV infection and antiretroviral therapy. *AIDS Rev.* 2013; 15(4):213-20.
48. Martínez E, Guía de práctica clínica basada en la evidencia científica para la atención de la infección por VIH en adolescentes y adultos hombres y mujeres, residentes en Colombia, Ministerio de Salud Colombia 2013.

49. Ruíz E. Acuerdos y normas nacionales e internacionales sobre ética médica y bioética. *Persona y bioética*. 2000; 11-12.
50. Barrios I, Anido V, Morera M. Declaración de Helsinki: cambios y exégesis. *Revista Cubana de Salud Pública*. 2016; 42: 12-19.
51. Galindo-Orrego, Pablo, et al. "Resistencia transmitida del virus de la inmunodeficiencia humana en pacientes sin exposición previa a tratamiento antirretroviral, Cali, Colombia, 2010." *Infectio* 17.1 (2013): 19-27.
52. Afani S Alejandro, Ayala C Marisol, Meyer K Andrea, Cabrera C Roy, Acevedo M William. Primary resistance to antiretroviral therapy in patients with HIV/AIDS in Chile. *Rev. méd. Chile* [Internet]. 2005 Mar [citado 2020 Nov 28]; 133( 3 ): 295-301.
53. Lisón, LC Fernández, LM Fernández Pereira, and S. Romero Chala. "Tasa de mutaciones genotípicas y resistencia a antirretrovirales en un hospital general." *Farmacia Hospitalaria* 35.4 (2011): 191-196.
54. Díaz Agudelo, Thatiana Camila. "Comorbilidad de pacientes que viven con VIH y pertenecen al programa de atención integral de una IPS de Bucaramanga." (2019).
55. Martínez-Iglesias, P. L., Ruiz-Sternberg, J. E., León-Leiva, S., Beltrán-Rodríguez, C. C., Rojas-Rojas, M. M., Moreno, J., ... Lenis-Quintero, W. (2019). Comorbidities among adults living with hiv from two healthcare centers in Colombia. *Infectio*, 23, 92-96.
56. Costo, F. C. (2019). *Situación del VIH/SIDA en Colombia 2018*. Bogotá Colombia: Cuenta de Alto Costo.
57. Mata-Marín, J. A., Martínez-Osio, M. H., Arroyo-Anduiza, C. I., Berrospe-Silva, M. de L. Á., Chaparro-Sánchez, A., Cruz-Grajales, I., ... Jerónimo-Morales, M. (2019). Comorbidities and polypharmacy among HIV-positive patients aged 50 years and over: A case-control study. *BMC Research Notes*, 12(1), 556.
58. Maciel, R. A., Klück, H. M., Durand, M., & Sprinz, E. (2018). Comorbidity is more common and occurs earlier in persons living with HIV than in HIV-uninfected matched controls, aged 50 years and older: A cross-sectional study. *International*

Journal of Infectious Diseases: IJID: Official Publication of the International Society for Infectious Diseases, 70, 30-35.

59. Rodríguez-Díaz, C. E., Santiago-Rodríguez, E. I., Jovet-Toledo, G. G., Santana-Bagur, J., RonSuarez, Y., Orengo, J. C., ... Monsanto, H. (2019). Comorbidities in a sample of adults with HIV in Puerto Rico: An exploratory study. *HIV/AIDS (Auckland, N.Z.)*, 11, 155-164.
60. Wensing AM, Calvez V, Ceccherini-Silberstein F, et al. 2019 update of the drug resistance mutations in HIV-1. *Top Antivir Med.* 2019;27(3):111-121.
61. Bennett DE, Camacho RJ, Otelea D, Kuritzkes DR, Fleury H, Kiuchi M, et al. Drug Resistance Mutations for Surveillance of Transmitted HIV-1 Drug-Resistance: 2009 Update. *PLoS One.* 2009;4:e4724.
62. González-González Manuel, Correa-Sierra Consuelo, Hermida-Álava Katherine, Machado-Díaz Ana, Gómez-Andrade L. Fernando, Castillo-Segovia Martha et al. Análisis genético de las mutaciones presentes en las poblaciones virales en pacientes con infección por VIH-1 en Ecuador. *Rev. chil. infectol.* [Internet]. 2018 [citado 2020 Nov 29]; 35( 1 ): 49-61.
63. Kijak G, Pampuro S, Avila M, Zala C, Cahn P, Wainberg M et al. Resistance profiles to antiretroviral drugs in HIV-1 drug-naive patients in Argentina. *Antiviral Ther* 2001; 6: 71-7.
64. Brindeiro R, Díaz R, Sabino E, Morgado M, Pires I, Brigido Dantas M et al. Brazilian Network for HIV Drug Resistance Surveillance (HIV-BResNet): a survey of chronically infected individuals. *AIDS* 2003; 17: 1063-9.
65. Dumans A, Soares M, Pieniazek D, Kalish M, De Vroey V, Hertogs K et al. Prevalence of Protease and Reverse Transcriptase Drug Resistance Mutations over Time in Drug-Naive Human Immunodeficiency Virus Type 1-Positive Individuals in Rio de Janeiro, Brazil. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 3075-79.

## ANEXOS

### Anexo 1 Operacionalización de Variables

NOMBRE DE LA VARIABLE	DEFINICION	NATURALEZA	NIVEL DE MEDICION	CATEGORIAS
Edad	Tiempo transcurrido en años desde el nacimiento hasta el estudio.	Cuantitativa	Razón	18,19,20, 21...
Sexo	Genero del individuo	Cualitativa	Nominal	Masculino, Femenino.
Mecanismo de contagio	Forma en que contrajo el VIH.	Cualitativa	Nominal	Sexual, transfusión o inoculación.
Características Clínicas o comorbilidades al momento del diagnóstico	Otras enfermedades y manifestaciones clínicas.	Cualitativa	Nominal	TBC, VHB, VHC, diarrea, Sarcoma de Kaposi, linfoma, psiquiátricos, toxoplasmosis, otros.
Recuento de L CD4.	Clasificación según la Cantidad de células L CD4 circulantes.	Categórica	Nominal	Rango de 0 a 2.000: <ul style="list-style-type: none"> <li>• &gt;500 – Clasificación 1</li> <li>• 499-200 – Clasificación 2</li> <li>• &lt;200 – Clasificación 3</li> </ul>
Carga viral	Concentración viral, estimación de la cantidad de virus.	Cuantitativa	Razón	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Si fue indetectable (menor de 50 copias/ml).</li> <li>• Detectable pero menos de mil copias.</li> <li>• Mil o más copias.</li> <li>• N.A: no se realizó.</li> </ul>
Tiempo de diagnostico	Tiempo en meses que ha transcurrido desde su diagnóstico.	Cuantitativa	Razón	1, 2, 3... meses.
Tiempo de falla	Tiempo en meses que ha trascurrido desde la falla.	Cuantitativa	Razón	1, 2, 3... meses.

VARIABLE	DEFINICION	NATURALEZA	NIVEL DE MEDICION	CATEGORIAS
Patrones de mutaciones: tipo de mutación	Tipo de genotipo de resistente viral encontrado después de la segunda falla virológica.	Cualitativa	Nominal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• m36l</li> <li>• i62</li> <li>• t69at</li> <li>• k103kn</li> <li>• p225hp</li> <li>• l63alp</li> <li>• v77i</li> <li>• i93l</li> <li>• l63p</li> <li>• t91agst</li> <li>• v118i</li> <li>• r41k</li> <li>• l63lp</li> <li>• v77iv</li> <li>• y188l</li> <li>• m184mv</li> </ul>
Mutaciones presentadas contra IP	Tipo de mutación presentada contra los IP.	Cualitativa	Nominal	A, C, D...
Mutaciones presentadas contra NRTI	Tipo de mutación presentada contra los NRTI.	Cualitativa	Nominal	A, C, D...
Mutaciones presentadas contra NNRTI	Tipo de mutación presentada contra los NNRTI.	Cualitativa	Nominal	A, C, D...