

ARTÍCULO ORIGINAL

## Resistencia a fármacos en pacientes en tratamiento antirretroviral, Cali, Colombia, 2008-2010

Jorge L. Martínez-Cajas<sup>1,2,3</sup>, Héctor F. Mueses-Marín<sup>2,3</sup>, Pablo Galindo-Orrego<sup>2,3,4</sup>, Juan F. Agudelo<sup>2,3</sup>, Jaime Galindo-Quintero<sup>2,3,4</sup>

<sup>1</sup> Division of Infectious Diseases, Department of Medicine, Queen's University, Kingston, Ontario, Canadá

<sup>2</sup> Grupo de Investigación Educación y Salud en VIH/SIDA, Corporación de Lucha Contra el SIDA, Cali, Colombia

<sup>3</sup> Colaboración Canadá-Colombia contra el VIH/SIDA, Kingston, Ontario, Canadá

<sup>4</sup> Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Universidad de la Sabana, Bogotá, D.C., Colombia

**Introducción.** En Colombia se ha publicado poco sobre farmacoresistencia del VIH en pacientes que reciben tratamiento antirretroviral. Las guías de VIH de Colombia de 2006, no recomiendan el uso de los estudios de genotipo de resistencia en pacientes nunca expuestos a medicamentos antirretrovirales ni después del primer fracaso terapéutico.

**Objetivo.** Determinar la frecuencia de mutaciones de resistencia y el grado de sensibilidad/resistencia del VIH a los antirretrovirales en pacientes que han recibido tratamiento antirretroviral.

**Materiales y métodos.** Se reclutó una muestra no probabilística de 170 pacientes con infección por VIH que recibían tratamiento antirretroviral, experimentaban fracaso virológico y que tenían estudios de genotipo de resistencia. Se estudió la farmacoresistencia del VIH en dos grupos: estudios de genotipo de resistencia tempranos Vs. tardíos.

**Resultados.** El tipo de resistencia más frecuente en pacientes bajo tratamiento antirretroviral, afectó a los inhibidores no nucleosídicos (76 %). El grupo de estudio tardío tuvo mayor riesgo de resistencia a inhibidores nucleosídicos y a los inhibidores de proteasa, mayor número de mutaciones de resistencia y mayor complejidad de las resistencias, que el grupo de estudio temprano. También, se encontró un alto grado (30 %) de resistencia cruzada a los inhibidores nucleosídicos en el grupo de estudio tardío. Los medicamentos menos afectados fueron tenofovir y darunavir.

**Conclusiones.** Los resultados de este estudio sugieren que practicar estudios de genotipo de resistencia tardíos se asocia con altos niveles de resistencia, lo cual puede restringir el uso de un gran número de antirretrovirales esenciales en esquemas subsiguientes. Es necesario revisar las actuales recomendaciones sobre el uso de dichos exámenes en las guías colombianas de manejo de VIH.

**Palabras clave:** VIH, síndrome de inmunodeficiencia adquirida, antirretrovirales, pacientes, Colombia.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v33i4.1462>

### HIV drug resistance in ART-experienced patients in Cali, Colombia, 2008-2010

**Introduction:** Little has been published in Colombia on HIV drug resistance in patients taking antiretroviral treatment (ART). Currently, the Colombian guidelines do not recommend the use of genotypic antiretroviral resistance tests (GART) for treatment-naive patients or for those experiencing a first therapeutic failure.

**Objective:** To determine the frequency of relevant resistance mutations and the degree of susceptibility/resistance of HIV to antiretroviral drugs (ARVs) in ART-experienced patients.

**Materials and methods:** A non-random sample of 170 ART-experienced HIV patients with virologic failure and who underwent GART was recruited. A study of HIV drug resistance was carried out in two groups of patients: one group that underwent early GART and the other group that received late GART testing.

**Results:** The most frequent type of resistance affected the non-nucleoside class (76%). The late-GART group had higher risk of nucleoside analog and protease inhibitor drug resistance, a higher number of

#### Contribución de los autores:

Jorge L. Martínez-Cajas: diseño del estudio, análisis de datos, interpretación de resultados, preparación del manuscrito inicial y final.

Héctor F. Mueses-Marín: análisis estadístico y preparación del manuscrito final.

Pablo Galindo-Orrego: recolección de datos y análisis descriptivo.

Juan F. Agudelo: recolección de datos.

Jaime Galindo-Quintero: diseño del estudio, recolección de datos y preparación del manuscrito final.

resistance mutations and more complex mutational profiles than the early-GART group. A high cross resistance level (30%) was found in the nucleoside analog class. The least affected medications were tenofovir and darunavir.

**Conclusions:** Our results suggest that performing GART late is associated with levels of ARV resistance that could restrict the use of an important number of essential ARV in subsequent regimens. There is a need to revise the current recommendations to include GART prior to start of treatment and after the first virologic failure.

**Key words:** HIV, acquired immunodeficiency syndrome, anti-retroviral agents, patients, Colombia.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v33i4.1462>

A la fecha, el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) ha infectado a 34 millones de personas en todo el mundo (1). En Colombia la prevalencia estimada de infección por el VIH es de 0,5 %, con 156.000 personas, aproximadamente, con infección por VIH, de las cuales, menos de 30.000 están bajo tratamiento (2). 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 (3), lo que la ha convertido en una enfermedad crónica si se administra tratamiento antirretroviral efectivo. 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) (4). A pesar de la disponibilidad de nuevos medicamentos y combinaciones, el asunto de la selección de variantes resistentes a los antirretrovirales continúa siendo un aspecto fundamental en el manejo de la infección por VIH, ya que se asocia al fracaso terapéutico y puede transmitirse de persona a persona, lo que tiene repercusiones clínicas y de salud pública, respectivamente (4,5).

La eficacia a largo plazo del tratamiento antirretroviral depende de múltiples factores que incluyen, entre otros, el cumplimiento del paciente con el tratamiento, el nivel de toxicidad y los efectos adversos de los antirretrovirales, y la resistencia preexistente del VIH a los medicamentos que la componen (6-8). Datos recientes indican que en uno a dos años de iniciado el tratamiento antirretroviral

de primera línea, el fracaso terapéutico ocurre en una proporción de 10 a 35 % de los pacientes (9-12), lo que hace necesario un cambio a un esquema subsecuente que tenga actividad antirretroviral plena y que garantice reinstaurar la supresión viral.

Así, pues, ante un fracaso terapéutico con una combinación de tratamiento antirretroviral inicial (o de primera línea), se debe seleccionar uno de salvamento (o de segunda o tercera línea). 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. Tales estudios se usan rutinariamente desde hace una década en los países desarrollados para guiar la selección, tanto del tratamiento antirretroviral de primera línea como del de salvamento (13,14). A diferencia de los países desarrollados, estas pruebas se han usado menos en países de recursos limitados, lo que se debe principalmente a su alto costo y a la carencia de infraestructura de laboratorios.

En Colombia, en las guías para el manejo de VIH/SIDA publicadas en 2006 se recomendó el uso de los estudios de genotipo de resistencia solo en pacientes con un segundo o tercer fracaso terapéutico, pero no después del primero (15). Asimismo, se recomendó el seguimiento de los pacientes con carga viral para confirmar la supresión viral o el fracaso virológico. El seguimiento de estas recomendaciones, que implicaba el uso de combinaciones de segunda línea sin practicar dichos estudios de genotipo, habría requerido la vigilancia regular del nivel de resistencia a fármacos en las cohortes de pacientes con VIH, como lo ha recomendado la Organización Mundial de la Salud (OMS) (16,17), lo cual no ha ocurrido sistemáticamente en Colombia.

Correspondencia:

Jorge L Martínez-Cajas, Queen's University, 94 Stuart Street, Room 3007, Etherington Hall, Kingston, ON, Canada K7L 3N6. Teléfono: (613) 533 6000, extensión 79021; fax: (613) 533 6863  
jm209@queensu.ca

Recibido: 14/11/12; aceptado:05/07/13

En el campo de la resistencia del VIH a antirretrovirales se han publicado pocos estudios en Colombia que proporcionen a los médicos tratantes información útil respecto a la frecuencia, el tipo y las repercusiones de la resistencia a los antirretrovirales en pacientes que reciben tratamiento antirretroviral (18). Tales datos son necesarios para establecer las mejores estrategias de tratamiento antirretroviral y para examinar si las recomendaciones sugeridas por las guías respecto al seguimiento de la infección por VIH y al uso de los estudios de genotipo de resistencia continúan siendo apropiadas o no. Como respuesta a esta deficiencia en el conocimiento, nuestro grupo ha llevado a cabo un estudio observacional en una clínica especializada en VIH en la ciudad de Cali, cuyo objetivo principal es describir el patrón y los niveles de resistencia del VIH a los antirretrovirales en los pacientes expuestos a tratamiento antirretroviral, y sus relaciones con el tiempo de los estudios de genotipo de resistencia y los factores socio-demográficos y clínicos.

Los objetivos específicos de este estudio fueron: 1) determinar la frecuencia de mutaciones relevantes para resistencias, el grado de sensibilidad o resistencia del virus a los antirretrovirales usados en Colombia y la complejidad de dicha resistencia en dos grupos de pacientes bajo tratamiento antirretroviral y con fracaso terapéutico; y 2) saber si existen correlaciones entre la complejidad de las resistencias y los factores predisponentes.

## Métodos

### Diseño y muestra

Se llevó a cabo un estudio de corte transversal en una muestra no probabilística de 170 pacientes adultos positivos para VIH, mayores de 18 años, de ambos sexos, que contaran con el consentimiento informado para el uso anónimo de los datos de la historia clínica, con exposición previa a antirretrovirales, fracaso virológico y estudios de genotipo de resistencia, entre los años 2008 y 2010, quienes habían ingresado a la atención integral especializada ambulatoria y tratamiento antirretroviral en la Corporación de Lucha contra el Sida, en Cali. Para la genotipificación, los pacientes debían tener carga viral detectable y superior a 1.000 copias/ml al momento del examen. La carga viral se midió con la técnica de reacción en cadena de la polimerasa, PCR (Amplicor®), en el laboratorio central de referencia de la Corporación, y el Centro de Análisis Molecular-CAM, en Bogotá.

Se utilizó un cuestionario estructurado para registrar información de la historia clínica de cada participante y los resultados de los estudios de genotipo de resistencia de VIH, y se indagaron y registraron variables socio-demográficas, hábitos y características relacionadas con el VIH/sida y el tratamiento antirretroviral. Todo el proceso de recolección de la información estuvo a cargo de un asistente de investigación entrenado para tal fin y quien fue supervisado por un médico experto en VIH/sida.

Las muestras de sangre para el estudio de genotipo fueron tomadas por el laboratorio clínico de la Cruz Roja Colombiana, Seccional Valle, en el punto de toma de muestras de la Corporación de Lucha contra el Sida, bajo los mismos estándares para todas las muestras. Una vez preparadas, dichas muestras se remitieron para su secuenciación y obtención de resultados al laboratorio central de referencia de la Corporación, el Centro de Análisis Molecular-CAM, el cual usa alternativamente los sistemas TRUGENE® HIV-1 o ViroSeq™ HIV-1, para practicar los estudios de genotipo de resistencia a los antirretrovirales por secuenciación de ácidos nucleicos de los genes de la transcriptasa inversa y la proteasa del VIH-1.

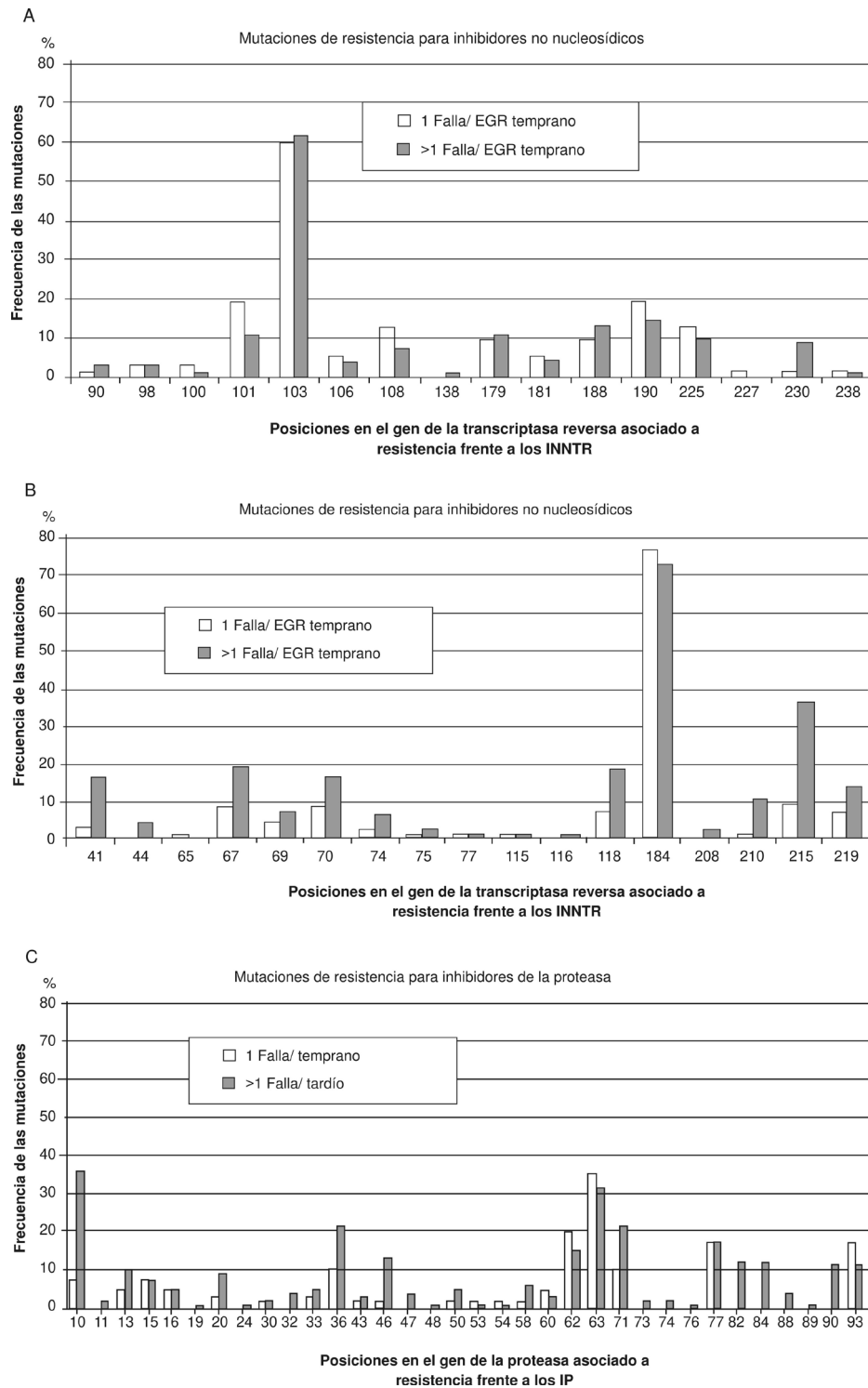
El estudio fue aprobado por el comité de ética para investigación en humanos de la Corporación de Lucha contra el SIDA, Cali, Colombia.

### Identificación de mutaciones de resistencia

Las mutaciones de resistencia se definieron según lista de IAS-USA, 2010. Se determinó el nivel de resistencia a los antirretrovirales usando el algoritmo de *HIV Drug Resistance Database (HIVdb)* de la *Stanford University*. Para cada medicamento se establecieron las siguientes categorías: “No resistente”, si la interpretación por el algoritmo resultó en sensible, potencial bajo o bajo (<30 puntos), o “Resistente”, si la interpretación fue intermedia o muy resistente ( $\geq 30$  puntos) (figura 1).

### Análisis estadístico

Para la descripción y el análisis, la muestra se dividió en dos grupos, uno de pacientes con el primer fracaso virológico documentado, con estudio de genotipo de resistencia “temprano” en los primeros seis meses después de la falla ( $n_1=72$ ); y otro compuesto por pacientes con una o más fallas virológicas documentadas, con estudio de genotipo de resistencia “tardío”, después de seis meses de haberse documentado el primer fracaso virológico ( $n_2=98$ ).



**Figura 1.** Estas tres figuras muestran el porcentaje (ejes verticales) de genotipos individuales que contenían una mutación de resistencia en las posiciones de aminoácidos (ejes horizontales) de la transcriptasa inversa y proteasa: panel A, mutaciones e3 resistencia a los inhibidores no nucleosídicos de la transcriptasa inversa; panel B, mutaciones de resistencia a los inhibidores nucleosídicos de la transcriptasa inversa; panel C, mutaciones de resistencia a los inhibidores de la proteasa viral.

La información se registró y analizó en el *software* SPSS versión 17. Se utilizaron estadísticas descriptivas mediante tablas de frecuencia y contingencia, se hicieron análisis comparativos entre el grupo con el primer fracaso virológico con genotipo establecido tempranamente, y el grupo con una o más fallas con examen de genotipo tardío, para lo cual y según la escala de medición de las variables del estudio, se hicieron pruebas estadísticas de muestras independientes, como prueba t de Student y de ji al cuadrado; las pruebas estadísticas se compararon usando un nivel de significancia de 0,05.

## Resultados

La muestra de este estudio está representada principalmente por adultos hombres (70 %), pertenecientes al régimen de salud contributivo,

con infección por VIH de larga duración (62 % con infección de más de cinco años) y casi todos con más de un año de estar tomando tratamiento antirretroviral (cuadro 1).

La mayoría tuvo un conteo de células T CD4 por debajo de 500/ml, un estado clínico inicial avanzado y se encontraban recibiendo un esquema que combinaba inhibidores no nucleosídicos de transcriptasa inversa (INNTR) con inhibidores nucleosídicos de transcriptasa inversa (INTR) (70 %).

No hubo diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de estudio de genotipo temprano y tardío, respecto a las características sociodemográficas, virológicas e inmunológicas, con excepción del uso de inhibidores de proteasa que fue más frecuente en el grupo de estudio tardío (39 %) frente a 1 % de los pacientes que recibían

**Cuadro 1.** Características sociodemográficas, virológicas e inmunológicas de la muestra

| Características   | 1 falla/temprano | ≥1 falla/tardío |
|---|------------------|-----------------|
| <b>Edad</b>   | 38,6±9,0         | 38,9±9,2        |
| <b>Sexo</b>   |                  |                 |
| Masculino   | 52 (72 %)        | 74 (76 %)       |
| Femenino  | 20 (28 %)        | 24 (24 %)       |
| <b>Régimen de afiliación</b>  |                  |                 |
| Contributivo  | 49 (68 %)        | 53 (55 %)       |
| Subsidiado  | 23 (32 %)        | 44 (45 %)       |
| <b>Duración infección VIH (años)</b>  |                  |                 |
| Hasta 1 año   | 9 (13 %)         | 0 (0 %)         |
| 1 a 5 años  | 34 (47 %)        | 21 (21 %)       |
| 5 o más años  | 29 (40 %)        | 77 (79 %)       |
| <b>Tiempo tomando ARV</b>   |                  |                 |
| Hasta 1 año   | 13 (18 %)        | 0 (0 %)         |
| 1 a 5 años  | 40 (56 %)        | 28 (29 %)       |
| 5 o más años  | 19 (26 %)        | 70 (71 %)       |
| <b>CD4 más reciente al genotipo</b>   |                  |                 |
| CD4<200   | 26 (46 %)        | 39 (61 %)       |
| CD4 201 a 500   | 28 (49 %)        | 16 (25 %)       |
| CD4>500   | 3 (5 %)          | 9 (14 %)        |
| <b>Estadio clínico de la enfermedad al momento de establecer el genotipo *</b>  |                  |                 |
| Temprano  | 9 (12 %)         | 10 (10 %)       |
| Medio   | 12 (17 %)        | 7 (7 %)         |
| Tardío  | 51 (71 %)        | 81 (83 %)       |
| <b>Clases de antirretrovirales tomados al momento de establecer el genotipo</b> |                  |                 |
| INTR  | 70 (97 %)        | 97 (99 %)       |
| INNTR   | 66 (92 %)        | 57 (58 %)       |
| IP  | 1 (1 %)          | 38 (39 %)       |
| IIN   | 1 (1 %)          | 1 (1 %)         |
| IF  | 0 (0 %)          | 1 (1 %)         |
| <b>Carga viral más reciente al conocer el genotipo</b><br>(promedio en x log10) | 3,8±0,53         | 3,9±0,65        |

\*El estadio clínico se determinó según la clasificación del estadio clínico de la Organización Mundial de la Salud (OMS)  
ARV: antirretrovirales; INTR: inhibidores nucleosídicos de la transcriptasa inversa; INNTR: inhibidores no análogos de nucleosídicos de la transcriptasa inversa; IP: inhibidores de la proteasa; IIN: inhibidores de la integrasa; IF: inhibidores de fusión

inhibidores de proteasa en el grupo de estudio temprano (cuadro 1).

Al momento del examen del genotipo, un esquema basado en INNTR fue el más comúnmente utilizado, tanto en el grupo de estudio temprano (92 %) como en el de tardío (58 %). La alta frecuencia de uso de inhibidores de proteasa en el grupo tardío responde a la práctica comúnmente aceptada, también recomendada por las guías, de utilizar un inhibidor de proteasa como parte de un esquema de segunda o tercera línea. Por definición, el grupo tardío tiene individuos que han sufrido fracaso virológico previo (15).

En el cuadro 2 se muestra la exposición previa a tratamiento antirretroviral en la muestra del estudio. Esta muestra revela un rango de exposición que oscila entre un solo esquema antirretroviral y más de tres esquemas subsecuentes. Para este análisis, la muestra de participantes se categorizó en dos grupos: el de estudio temprano de genotipo de resistencia y el de estudio tardío. Esta categorización ayuda a observar el efecto de la detección temprana en comparación con la tardía, de la resistencia en las variantes de VIH presentes en los participantes de esta muestra. Se evidencia que los pacientes con estudio tardío tuvieron más exposición previa a INTR y a inhibidores de proteasa que aquellos con estudio temprano. La historia de exposición previa a INNTR (94 %)

**Cuadro 2.** Exposición previa a tratamiento antirretroviral

|              | 1 falla/temprano |      | ≥1 falla/tardío |      | p      |
|--------------|------------------|------|-----------------|------|--------|
|              | n                | %    | n               | %    |        |
| <b>INTR</b>  |                  |      |                 |      | <0,001 |
| Ninguno      | 0                | 0 %  | 0               | 0    |        |
| Dos          | 49               | 68 % | 21              | 21 % |        |
| Tres         | 14               | 19 % | 24              | 25 % |        |
| Cuatro       | 7                | 10 % | 36              | 37 % |        |
| Cinco        | 2                | 3 %  | 17              | 17 % |        |
| <b>INNTR</b> |                  |      |                 |      | 0,522  |
| Ninguno      | 4                | 6 %  | 5               | 5 %  |        |
| Uno          | 49               | 68 % | 59              | 60 % |        |
| Dos          | 19               | 26 % | 33              | 34 % |        |
| Tres         | 0                | 0 %  | 1               | 1 %  |        |
| <b>IP</b>    |                  |      |                 |      | <0,01  |
| Ninguno      | 55               | 76 % | 21              | 22 % |        |
| Uno          | 14               | 20 % | 30              | 31 % |        |
| Dos          | 3                | 4 %  | 20              | 20 % |        |
| Tres         | 0                | 0 %  | 14              | 14 % |        |
| Cuatro       | 0                | 0 %  | 10              | 10 % |        |
| Cinco        | 0                | 0 %  | 3               | 3 %  |        |

INTR: inhibidores nucleósidos de la transcriptasa inversa; INNTR: inhibidores no análogos de nucleósidos de la transcriptasa inversa; IP: inhibidores de la proteasa

fue igual en ambos grupos, lo que sugiere que la mayoría de los pacientes probablemente inician un esquema basado en INNTR. Además, es muy importante anotar que el 26 % y el 34 % de los participantes de los grupos de estudio temprano y tardío, respectivamente, habían recibido dos INNTR. Ninguno de los pacientes en esta muestra tomaba INNTR de segunda generación (etravirina o rilpivirina).

### **Mutaciones de resistencia y su impacto en la sensibilidad a los fármacos antirretrovirales**

El tipo y la frecuencia de las mutaciones de resistencia más importantes difieren entre ambos grupos. Las mutaciones de resistencia que afectan los INTR y los inhibidores de proteasa son más frecuentes en el grupo de estudio tardío que en el de temprano, pero las mutaciones de resistencia a INNTR fueron más frecuentes en este último (cuadro 3) (figura 1).

Las mutaciones de resistencia a los INTR ocurrieron más frecuentemente en las posiciones 184, 215, 67, 70, 219, 41 y 74 del gen de la transcriptasa inversa. Con excepción de las mutaciones en la posición 184 (mutación M184V/I), todas las demás ocurrieron más frecuentemente en el grupo de estudio tardío que en el de estudio temprano. En particular, las mutaciones en la posición 215 y 41 fueron tres y cinco veces más frecuentes en el grupo de estudio tardío que en el de temprano. Estas mutaciones, llamadas TAM (*Thymidine Analog Associated Mutations*) afectan la sensibilidad de todos los INTR, pero con menor impacto para el tenofovir (19).

Las mutaciones de resistencia en el gen de la transcriptasa inversa que afectan a los INNTR fueron más frecuentes en el grupo de estudio temprano, aunque esto es probablemente debido a que hubo más pacientes que no recibían INNTR sino inhibidores de proteasa en el grupo de estudio tardío. Las mutaciones más frecuentes ocurrieron en las posiciones 103, 101, 190, 188, 225 y 179. Se notó que aquellas en las posiciones 101 y 190 se detectaron más frecuentemente en el grupo de estudio temprano que en el de tardío.

Las mutaciones de resistencia a los inhibidores de proteasa se presentaron en numerosas posiciones de la secuencia de la proteasa viral. Entre las posiciones con mutaciones de impacto mayor, según la lista IAS-USA y en orden de frecuencia, se encontraron las 46, 82, 50, 32, 88, 47, 84, 74, 76 y 54. Casi todas las mutaciones mayores ocurrieron

**Cuadro 3.** Frecuencia de resistencia de importancia clínica en los grupos temprano y tardío, según antirretrovirales específicos y familias de antirretrovirales

|       |     | 1 falla/temprano |    | ≥1 falla/tardío |    | p      |
|-------|-----|------------------|----|-----------------|----|--------|
|       |     | n                | %  | n               | %  |        |
| NRTI  | AZT | 7                | 10 | 29              | 30 | 0,002  |
|       | D4T | 6                | 8  | 27              | 28 | 0,002  |
|       | DDI | 6                | 8  | 20              | 20 | 0,031  |
|       | ABC | 7                | 10 | 27              | 28 | 0,006  |
|       | TDF | 1                | 1  | 8               | 8  | 0,080  |
|       | 3TC | 56               | 78 | 71              | 72 | 0,478  |
| NNRTI | NVP | 56               | 78 | 73              | 74 | 0,620  |
|       | EFV | 56               | 78 | 73              | 74 | 0,620  |
|       | IDV | 1                | 1  | 24              | 24 | <0,001 |
| IP    | NFV | 2                | 3  | 30              | 31 | <0,001 |
|       | SQV | 1                | 1  | 16              | 16 | 0,001  |
|       | FAP | 2                | 3  | 14              | 14 | 0,011  |
|       | LPV | 1                | 1  | 17              | 17 | 0,001  |
|       | ATV | 1                | 1  | 18              | 18 | <0,001 |
|       | DRV | 0                | 0  | 3               | 3  | 0,263  |

INTR: inhibidores nucleósidos de la transcriptasa inversa; INNTR: inhibidores no análogos de nucleósidos de la transcriptasa inversa; IP: inhibidores de la proteasa

casi exclusivamente en el grupo de estudio tardío. En general, los polimorfismos con impacto en la resistencia se observaron con mayor frecuencia que las mutaciones mayores, y afectaron las posiciones 63, 10, 36, 77 y 93, entre otras.

El impacto en la sensibilidad a los medicamentos fue mayor para los INTR e inhibidores de proteasa en el grupo de estudio tardío comparado con el de temprano (cuadro 3). Entre los INTR, los medicamentos más afectados fueron lamivudina, abacavir, zidovudina y estavudina, siendo el tenofovir el menos afectado por la resistencia adquirida en ambos grupos. La resistencia a INNTR fue algo más frecuente en el grupo de estudio temprano (78 % vs 74 %), probablemente porque en este la mayoría de los pacientes recibían esquemas con esta clase de medicamentos, en tanto que en el grupo de estudio tardío hubo una proporción importante de pacientes con esquemas basados en inhibidores de proteasa.

### Discusión

En este estudio se hizo una serie de observaciones que merecen mención: en el grupo de estudio tardío de genotipo de resistencia se encontraron:

1. una gran frecuencia de resistencia a antirretrovirales en los pacientes con infección por VIH que tomaban tratamiento antirretroviral;

2. una mayor afectación de los INTR e inhibidores de proteasa que en el grupo de estudio temprano;
3. un muy alto grado de resistencia cruzada en las familias de INTR y de INNTR;
4. una mayor complejidad en el perfil de resistencia a antirretrovirales que en el grupo de estudio temprano (mayor número de familias de antirretrovirales afectadas y de medicamentos afectados); y
5. una alta proporción de personas con más de un fracaso virológico que aún recibía INNTR de primera línea (efavirenz o nevirapina) al momento de practicar el estudio de genotipo de resistencia.

Estos hallazgos necesitan mirarse en el contexto de Colombia, que es un país de recursos medios, y en relación con las guías para el manejo de VIH/SIDA de Colombia publicadas en 2006, a las cuales nos referiremos como las “Guías”.

Primero, los virus encontrados en el grupo de estudio tardío son frecuentemente resistentes a zidovudina (30 %), estavudina (28 %), abacavir (28 %) y lamivudina (72 %), lo cual restringe sustancialmente el uso de INTR en un esquema subsiguiente. Aun siendo el medicamento menos afectado, el tenofovir pierde actividad plena en 8 % de los casos en el grupo de estudio tardío.

En nuestro estudio se observaron TAM con frecuencia variable y no se observaron mutaciones en la posición 65, lo cual fue probablemente se debió al uso infrecuente de la didanosina, abacavir y estavudina, y al no uso del tenofovir, el cual solo se estuvo disponible en Colombia a partir de 2011.

La mayoría de los inhibidores de proteasa en el grupo de estudio tardío se ven afectados en algún grado por las mutaciones de resistencia (que fluctúa entre 14-31 %), con excepción del darunavir, que se afecta solo en un 3 % de los casos. Estos hallazgos contrastan con la baja frecuencia de resistencia a INTR e inhibidores de proteasa en el grupo de estudio temprano: hasta 10 % para los análogos de timidina, 1 % para el tenofovir y hasta un 3 % para el fosamprenavir. La resistencia a lamivudina también fue alta en el grupo de estudio temprano (78 %).

La consecuencia clínica esperada es que los pacientes del grupo de estudio tardío tendrán menos opciones de un tratamiento óptimo, mayor

riesgo de fracaso virológico y, posiblemente, menor chance de recuperación inmunológica si no se garantiza un esquema de tratamiento antirretroviral subsiguiente con antirretrovirales muy activos. Por consiguiente, los pacientes del grupo de estudio tardío presumiblemente tendrán más necesidad de otras nuevas clases de antirretrovirales para lograr la supresión virológica (inhibidores de la integrasa, inhibidores de la entrada viral o INNTR de segunda generación). Además, el costo de los tratamientos de salvamento sería más alto, pues se necesitarían más medicamentos nuevos.

En este sentido, y dado que la experiencia clínica con esquemas de salvamento que contienen INTR es más amplia, sería muy conveniente poder preservar la actividad de tal clase de medicamentos para que mantengan su utilidad como parte de los tratamientos de segunda o tercera línea, combinados adecuadamente con clases nuevas de medicamentos.

Segundo, las Guías recomiendan lo siguiente: el uso de los estudios de genotipo de resistencia sólo en pacientes con un segundo o tercer fracaso terapéutico establecido con criterios virológicos (fracaso terapéutico o fracaso virológico) (15); seguimiento cuidadoso de la carga viral; y modificación de todos los componentes del esquema de tratamiento antirretroviral tan pronto se detecte el primer fracaso terapéutico, sin necesidad de usar un estudio de genotipo de resistencia (15). Igualmente, las Guías sobre VIH sugieren que el fracaso terapéutico solo podía establecerse en caso de observancia del tratamiento antirretroviral de al menos 95 %, adecuada tolerancia y ausencia de razones clínicas o farmacológicas que afectasen negativamente la biodisponibilidad o el metabolismo de los medicamentos administrados.

Ahora bien, los criterios de fracaso virológico en las Guías son los siguientes: 1) dos cargas virales consecutivas por encima de 400 copias después de seis meses de tratamiento, o 2) dos cargas virales consecutivas después de dos meses de iniciación de tratamiento que no muestren una reducción de al menos dos logaritmos con respecto al nivel de base. De este modo, las Guías sugerían tácitamente que debía probarse presencia de carga viral detectable por un periodo de seis meses en pacientes que tomaban tratamiento antirretroviral crónicamente, antes de emitir un diagnóstico de fracaso virológico, y que debían descartarse otras posibles causas de pérdida de supresión viral, como la falta de observancia del tratamiento.

Esta estrategia obligaría en muchos casos a intentar mejorar la observancia o a usar una serie de intervenciones buscando inducir nuevamente la supresión viral, lo cual a su vez requeriría tiempo adicional a los seis meses para observar el comportamiento de la carga viral. Las Guías sí reconocen como “inconveniente teórico” que continuar un esquema con fracaso virológico pero sin fracaso inmunológico podría favorecer la acumulación de mutaciones de resistencia a fármacos en el VIH, pero estiman que el riesgo es aceptable ya que en la mayoría de los casos los pacientes sostienen su recuperación inmunológica a pesar de una replicación viral detectable.

En este estudio se sugiere en el ámbito local colombiano que la acumulación de resistencia no es solo un inconveniente teórico sino un hecho real en el número de mutaciones, en la complejidad de las mutaciones de resistencia y en el impacto en otros medicamentos de las clases de antirretrovirales disponibles en Colombia. Respecto a este punto, varios estudios en Suráfrica aclaran lo que el nuestro sugiere: en 90 pacientes que iniciaron tratamiento antirretroviral de primera línea con compuestos de INTR e INNTR y que experimentaron fracaso terapéutico definido con fracaso virológico, la frecuencia de resistencia a INNTR, lamivudina e inhibidores timidínicos, fue de 61 %, 34 % y 3 %, respectivamente, cuando el estudio de genotipo de resistencia se obtuvo inmediatamente después de detectado el fracaso virológico, y 87 %, 70 %, y 20 %, respectivamente, en los mismos pacientes seis meses después del fracaso virológico (20).

Esto subraya la importancia de un control más frecuente de la carga viral y el uso temprano de estudio de genotipo de resistencia. El beneficio esperado sería, principalmente, limitar la acumulación de mutaciones contra INTR, lo cual, de lograrse, haría factible el uso de esta clase de antirretrovirales en combinación con inhibidores de proteasa, reforzados en un esquema de segunda línea subsecuente. Hay que recalcar que la meta terapéutica óptima del tratamiento antirretroviral es lograr la supresión viral completa (21-23).

Tercero, en la muestra de este estudio, el 61 % de los participantes del grupo de estudio tardío, quienes por definición habían tenido más de un fracaso virológico, y que tomaban un esquema basado en INNTR, habían sido ya expuestos previamente a esta clase de medicamentos. Ya que sólo un paciente en toda la muestra recibió etravirina (un INNTR de segunda generación)



alguna vez en el pasado, la vasta mayoría de pacientes en este estudio habían sido tratados con INNTR de primera generación, efavirenz o nevirapina, a pesar de haber tenido más de un evento de fracaso virológico previo.

Esta estrategia no es recomendada bajo los estándares actuales, ya que prolonga la exposición del virus en replicación activa y promueve la acumulación de resistencia a los medicamentos usados, en este caso INTR e INNTR, lo cual aumenta el riesgo de resistencia cruzada dentro de ambas clases de medicamentos. Una estrategia para minimizar el riesgo y el impacto de la resistencia adquirida en el VIH, es el uso secuencial de componentes de INTR que consiste en iniciar el tratamiento antirretroviral, ya sea con tenofovir y emtricitabina (o lamivudina) o con zidovudina y lamivudina, en el esquema de primera línea (19).

En este caso, una vez ocurre un fracaso virológico, estas dos combinaciones de INTR son intercambiables, siempre y cuando no haya resistencia significativa a la zidovudina o al tenofovir. La razón para que esto sea muy factible, es que las mutaciones de resistencia inducidas por zidovudina afectan poco al tenofovir en la mayoría de los casos, lo cual no es cierto para los otros INTR (abacavir, didanosina, estavudina), en tanto que la mutación K65R inducida por tenofovir causa hipersensibilidad a la zidovudina. Por consiguiente, el uso de INTR podría volverse clínicamente inútil si se seleccionara fuerte resistencia a esta familia de antirretrovirales, como en el caso de tres o más mutaciones TAM, las cuales afectan seriamente la actividad de todos los INTR, incluyendo la del tenofovir (Waters J, Margot N, McColl D, Zhong L, Miller M. K65R, L74V and Thymidine Analog Mutations in HIV-1 RT Associated with Reduced Response to Tenofovir DF in ART-experienced Patients. 13th Conference of Retroviruses and Opportunistic Infections; Denver, Colorado, USA. 2006). Son precisamente estas mutaciones las que se acumulan cuando se utilizan esquemas de INTR más INNTR después del fracaso virológico, en presencia de mutaciones de resistencia. De este modo, el fracaso terapéutico en pacientes que reciben zidovudina y lamivudina debería, en todos los casos, detectarse tempranamente para evitar la acumulación de mutaciones de tipo TAM.

Cuarto, en los países de recursos medios y bajos, las combinaciones de antirretrovirales conformadas por dos medicamentos INTR y uno de tipo INNTR, son de lejos las más utilizadas a nivel mundial (24).

Estas corresponden principalmente a zidovudina o estavudina más lamivudina, más efavirenz o nevirapina, las cuales se usaron también en más del 90 % de la muestra de pacientes de nuestro estudio. Por esta razón, las mutaciones más frecuentemente encontradas en este estudio fueron las sustituciones K103N y la M184V en la transcriptasa inversa, lo cual es coherente con el patrón de uso de antirretrovirales en la muestra y con publicaciones previas (25).

En estudios recientes en India y Suráfrica, en personas bajo tratamiento antirretroviral de primera línea similares a las de nuestro estudio, se ha revelado una muy alta frecuencia de resistencia a INTR y a INNTR, y una muy preocupante afectación de futuros esquemas de salvamento (20,25-29), dado el escaso acceso a tratamientos de segunda y tercera línea en dichos medios. Usualmente, los INNTR de primera generación, nevirapina y efavirenz, tienen un solo chance de ser útiles en un esquema antirretroviral pues, debido a su baja barrera genética para la resistencia, pierden frecuentemente su actividad después de un solo fracaso virológico (30). En cambio, los INTR con una barrera genética a la resistencia algo mayor, tienden a encontrarse menos afectados, siempre y cuando los virus se genotipifiquen tempranamente después del fracaso virológico. Ya que hay menos experiencia con esquemas antirretrovirales de segunda línea que no usen INTR, se hace muy deseable, y aún más en países con recursos limitados, que la actividad antiviral de esta clase de medicamentos se preserve lo más posible, en tanto que los esquemas de segunda y tercera línea aún tienen como base esta clase de fármacos.

Quinto, la complejidad de las resistencias en el grupo de estudio tardío fue mayor que en los del grupo de estudio temprano: existen más clases de medicamentos afectados, mayor número de mutaciones de resistencia y más resistencia cruzada, que en el grupo de estudio temprano. Nuestros datos también sugieren que el riesgo de utilizar tratamientos de segunda línea con posible actividad subóptima es alto para los INTR y los inhibidores de proteasa (excepto tenofovir y darunavir), cuando se difiere el estudio de resistencia genotípico a una fase más tardía. Diferir el estudio de genotipo de resistencia a la segunda o tercera falla, necesita más tiempo de observación en tratamiento empírico que practicar dichos estudios inmediatamente se detecta el primer fracaso terapéutico según el control de la carga viral.

En un reciente metanálisis se reportó que, en pacientes que toman medicamentos de primera línea (INTR más INNTR) que se controlan infrecuentemente (a intervalos de tres o más meses), el riesgo de acumulación de resistencia a antirretrovirales se aumenta hasta igualar el de acumulación de resistencia de aquellos que no se controlan virológicamente (24). Además, en este estudio también se notó que la frecuencia de resistencia a INTR y a INNTR aumenta a medida que se incrementa el intervalo de tiempo en el que se estableció el genotipo. Dada la definición de fracaso terapéutico en las Guías, se ve necesario modificar tal definición para casos de rebote viral y hacer ajustes a las recomendaciones, dependiendo de la barrera genética de resistencia para los medicamentos individuales y esquemas de tratamiento antirretroviral.

Sexto, aunque nuestros hallazgos sugieren que no detectar la resistencia a antirretrovirales tempranamente puede comprometer las opciones terapéuticas futuras, no es posible con este estudio confirmar si el uso temprano de los estudios de genotipo de resistencia hubiese reducido la frecuencia de resistencia en las variantes de VIH en el grupo de estudio tardío de genotipo. Los pacientes con estudio tardío de genotipo tuvieron mayor tiempo de tratamiento (promedio  $3,5 \pm 2,8$  años en el grupo de estudio temprano Vs.  $6,6 \pm 2,9$  años en el de estudio tardío), razón CD4/CD8 más afectada y mayor exposición a diversos antirretrovirales de las tres familias, que aquellos con estudio temprano de genotipo. Podría inferirse que la duración del tratamiento en el grupo de estudio tardío probablemente afecta la diferencia en la frecuencia de mutaciones de resistencia para los INTR, ya que esta familia se mantuvo en uso casi en todos los pacientes en los dos grupos comparados. Infortunadamente, en nuestro estudio no se pudo evaluar la duración relativa del uso de inhibidores de proteasa Vs. INNTR, ya que no se tuvo acceso a esta información en todos los casos. Tampoco fue posible determinar con exactitud la razón por la que no se hizo un estudio más temprano de genotipo; esto pudo deberse a falta de vigilancia de la carga viral antes del ingreso de los pacientes al programa de atención integral, a ceñimiento a las guías de manejo, o a problemas de acceso a este tipo de estudios y a medicamentos de segunda y tercera línea.

Los datos presentados aquí se suman a los descritos por nuestro grupo sobre resistencia en pacientes no expuestos a tratamiento antirretroviral,

que indican que la resistencia transmitida en Cali puede llegar a ser hasta de 13 %, afectando a los INNTR en un 6 % (Galindo J, Galindo P, Mueses H, Agudelo J, Martínez J. Transmitted HIV resistance in art-naïve patients, Cali, Colombia, 2010. The 21st Annual Canadian Conference on HIV/AIDS Research; April 20-22; Montreal, Canada, 2012). Tales resultados asociados a los presentados en el presente trabajo, sugieren que las Guías de manejo del VIH en Colombia deben revisar urgentemente su recomendación respecto al uso de estudio de genotipo de resistencia para el VIH, de modo que indiquen su utilización después del primer fracaso virológico y en pacientes nunca expuestos a tratamiento antirretroviral.

A pesar de que todavía existe algún grado de controversia en Colombia sobre la relación costo-efectividad de hacer estudios de genotipo de resistencia de VIH a pacientes nunca expuestos a tratamiento antirretroviral y después del primer fracaso virológico, todas las guías en los países desarrollados lo recomiendan, basadas en estudios de costo-efectividad que favorecen su uso (31-34). Debe anotarse que las recomendaciones en el mundo desarrollado se hicieron con estudios de costo-efectividad cuya aplicabilidad al contexto colombiano no es fácilmente transferible. Aun cuando la experiencia en los países de recursos limitados con el uso de tratamiento antirretroviral sin vigilancia viral documentan un beneficio neto en supervivencia de los pacientes, resulta muy preocupante a largo plazo el hallazgo constante de una elevada frecuencia de resistencia a antirretrovirales, lo cual ha provocado intensa atención sobre las posibilidades de introducir la vigilancia virológica y de resistencia en los programas de tratamiento antirretroviral masivos. Por lo tanto, en Colombia es necesario hacer estudios serios de costo-efectividad sobre el uso del estudio de genotipo de resistencia. Sin embargo, no parece haber justificación clínica que soporte la restricción de su uso solo para después del segundo fracaso terapéutico.

En conclusión, nuestro estudio indica que en el contexto local colombiano, hacer un estudio de genotipo de resistencia tardíamente (después del segundo fracaso virológico), está asociado a una mayor probabilidad de encontrar variantes de VIH resistentes a los INTR e inhibidores de proteasa. También, es probable que posponer dicho estudio hasta después de un segundo o tercer fracaso virológico, permita la acumulación inadvertida de mutaciones en las variantes de VIH, resultando en

mayor riesgo de resistencia cruzada que limite la utilidad de futuros esquemas de tratamiento en una proporción significativa de pacientes. Esto llama a una revisión seria de las recomendaciones del manejo de VIH respecto al uso temprano o tardío de los estudios de genotipo de resistencia.

### Agradecimientos

A la Corporación de Lucha contra el Sida y su equipo humano, por la financiación y ejecución total del estudio. Al Centro de Análisis Molecular-CAM en Bogotá y su directora científica, Patricia Olaya. A Francisco Javier Gutiérrez, de la Universidad de Antioquia, por su asesoría externa al proyecto. A Beatriz E. Alvarado, por su asesoría en análisis de datos. A la Red Canadiense de Ensayos Clínicos (CTN, *Canadian HIV Clinical Trials Network*), por su apoyo para facilitar el trabajo colaborativo para la preparación de este manuscrito.

### Conflicto de intereses

Los autores no tienen conflicto de intereses por reportar.

### Financiación

Este estudio fue financiado por la Corporación de Lucha contra el Sida, en Cali, Colombia, con apoyo de investigadores de la Universidad de Antioquia, en Medellín, Colombia, y de la *Queen's University*, en Kingston, Canadá. El trabajo colaborativo fue parcialmente financiado con fondos del *Canadian Institute of Health Research*, CIHR.

### Referencias

1. **Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS).** UNAIDS World AIDS Day Report. 2011. Fecha de consulta: 21 de agosto de 2012. Disponible en: [http://www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/unaidspublication/2011/JC2216\\_WorldAIDSday\\_report\\_2011\\_en.pdf](http://www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/unaidspublication/2011/JC2216_WorldAIDSday_report_2011_en.pdf)
2. **Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS).** Epidemiological factsheet: Colombia. 2012. Fecha de consulta: 21 de agosto de 2012. Disponible en: <http://www.unaids.org/en/dataanalysis/knownyourepidemic/epidemiologicalfactsheets/>.
3. **Palella FJ Jr., Delaney KM, Moorman AC, Loveless MO, Fuhrer J, Satten GA, et al.** Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N Engl J Med.* 1998;338:853-60. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM199803263381301>
4. **Deeks SG.** Treatment of antiretroviral-drug-resistant HIV-1 infection. *Lancet.* 2003;362:2002-11. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)15022-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(03)15022-2)
5. **Bertagnolio S, De Luca A, Vitoria M, Essajee S, Penazzato M, Hong SY, et al.** Determinants of HIV drug resistance and public health implications in low- and middle-income countries. *Antivir Ther.* 2012;17:941-53. <http://dx.doi.org/10.3851/IMP2320>
6. **Elzi L, Marzolini C, Furrer H, Ledergerber B, Cavassini M, Hirschel B, et al.** Treatment modification in human immunodeficiency virus-infected individuals starting combination antiretroviral therapy between 2005 and 2008. *Arch Intern Med.* 2010;170:57-65. <http://dx.doi.org/10.1001/archinternmed.2009.432>.
7. **Paterson DL, Swindells S, Mohr J, Brester M, Vergis EN, SQUIER C, et al.** Adherence to protease inhibitor therapy and outcomes in patients with HIV infection. *Ann Intern Med.* 2000;133:21-30. <http://dx.doi.org/10.7326/0003-4819-133-1-200007040-00004>
8. **Singh N, Berman SM, Swindells S, Justis JC, Mohr JA, SQUIER C, et al.** Adherence of human immunodeficiency virus-infected patients to antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis.* 1999;29:824-30. <http://dx.doi.org/10.1086/520443>
9. **Fox MP, Cutsem GV, Giddy J, Maskew M, Keiser O, Prozesky H, et al.** Rates and predictors of failure of first-line antiretroviral therapy and switch to second-line ART in South Africa. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2012;60:428-37. <http://dx.doi.org/10.1097/QAI.0b013e3182557785>.
10. **Fox MP, Ive P, Long L, Maskew M, Sanne I.** High rates of survival, immune reconstitution, and virologic suppression on second-line antiretroviral therapy in South Africa. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2010;53:500-6. <http://dx.doi.org/10.1097/QAI.0b013e3181bcdac1>.
11. **Hingankar NK, Thorat SR, Deshpande A, Rajasekaran S, Chandrasekar C, Kumar S, et al.** Initial virologic response and HIV drug resistance among HIV-infected individuals initiating first-line antiretroviral therapy at 2 clinics in Chennai and Mumbai, India. *Clin Infect Dis.* 2012;54(Suppl.4):S348-54. <http://dx.doi.org/10.1093/cid/cis005>
12. **Sanne IM, Westreich D, Macphail AP, Rubel D, Majuba P, van Rie A.** Long term outcomes of antiretroviral therapy in a large HIV/AIDS care clinic in urban South Africa: A prospective cohort study. *J Int AIDS Soc.* 2009;12:38. <http://dx.doi.org/10.1186/1758-2652-12-38>.
13. **The Panel on Clinical Practices for Treatment of HIV Infection of The US Department of Health and Human Services.** Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. 2004. Fecha de consulta: 21 de agosto de 2012. Disponible en: <http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL03232004003.pdf>.
14. **Gatell JM, Blanco JL, Alcami J, Antela A, Arrizabalaga J, Casado JL, et al.** GESIDA Consensus document on the use of resistance studies in clinical practice. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2001;19:53-60.
15. **Asociación Colombiana de Infectología.** Guías para el manejo de VIH/SIDA. Basada en la evidencia. 2005. Fecha de consulta: 21 de noviembre de 2012. Disponible en: [http://www.who.int/hiv/pub/guidelines/colombia\\_art.pdf](http://www.who.int/hiv/pub/guidelines/colombia_art.pdf).
16. **World Health Organization.** Surveillance of HIV drug resistance [updated November 8, 2012]. 2006. Fecha de consulta: 5 de octubre de 2012. Disponible en: [http://www.searo.who.int/LinkFiles/BCT\\_Reports\\_HLM-391.pdf](http://www.searo.who.int/LinkFiles/BCT_Reports_HLM-391.pdf).
17. **World Health Organization.** HIV/AIDS. WHO HIV drug resistance strategy. 2012. Fecha de consulta: 8 de

- noviembre de 2012. Disponible en: [http://www.who.int/hiv/topics/drugresistance/general\\_info/en/index.html](http://www.who.int/hiv/topics/drugresistance/general_info/en/index.html).
18. **DíazGranados CA, Mantilla M, Lenis W.** Antiretroviral drug resistance in HIV-infected patients in Colombia. *Int J Infect Dis.* 2010;14:e298-303. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2009.05.006>
  19. **Martínez-Cajas JL, Wainberg MA.** Antiretroviral therapy: Optimal sequencing of therapy to avoid resistance. *Drugs.* 2008;68:43-72.
  20. **Hoffmann C, Charalambous S, Ledwaba J, Schwikard G, Fielding K, Churchyard G, et al.** The rate of developing ART resistance during HIV viremia on HAART in South Africa. Montreal: CROI; 2009.
  21. **Panel de expertos de Gesida y Plan Nacional sobre el Sida.** Documento de consenso de GESIDA/ Plan Nacional sobre el Sida respecto al tratamiento antirretroviral en adultos infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (actualización enero 2011). 2011. Fecha de consulta: 5 de octubre de 2012. Disponible en: [http://apps.elsevier.es/watermark/ctl\\_servlet?\\_f=10&pident\\_articulo=90001770&pident\\_usuario=0&pcontactid=&pident\\_revista=28&ty=24&accion=L&origen=elsevier&web=www.elsevier.es&lan=es&fichero=28v29n03a90001770pdf001.pdf](http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_articulo=90001770&pident_usuario=0&pcontactid=&pident_revista=28&ty=24&accion=L&origen=elsevier&web=www.elsevier.es&lan=es&fichero=28v29n03a90001770pdf001.pdf).
  22. **European AIDS Clinical Society.** EACS guidelines Version 6.1. 2012. Fecha de consulta: 31 de octubre de 2012. Disponible en: <http://www.europeanaidscinicalsociety.org/images/stories/EACS-Pdf/EACSGuidelines-v6.1-English-Nov2012.pdf>.
  23. **Department of Health and Human Services.** Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents [updated October 31, 2012]. 2012. Fecha de consulta: 31 de octubre de 2012. Disponible en: <http://www.aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/adultandadolescentgl.pdf>.
  24. **Gupta RK, Hill A, Sawyer AW, Cozzi-Lepri A, von Wyl V, Yerly S, et al.** Virological monitoring and resistance to first-line highly active antiretroviral therapy in adults infected with HIV-1 treated under WHO guidelines: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis.* 2009;9:409-17. [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(09\)70136-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(09)70136-7).
  25. **Gupta R, Hill A, Sawyer AW, Pillay D.** Emergence of drug resistance in HIV type 1-infected patients after receipt of first-line highly active antiretroviral therapy: A systematic review of clinical trials. *Clin Infect Dis.* 2008;47:712-22. <http://dx.doi.org/10.1086/590943>.
  26. **Gupta A, Saple DG, Nadkarni G, Shah B, Vaidya S, Hingankar N, et al.** One-, two-, and three-class resistance among HIV-infected patients on antiretroviral therapy in private care clinics: Mumbai, India. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2010;26:25-31. <http://dx.doi.org/10.1089/aid.2009.0102>.
  27. **Kumarasamy N, Madhavan V, Venkatesh KK, Saravanan S, Kantor R, Balakrishnan P, et al.** High frequency of clinically significant mutations after first-line generic highly active antiretroviral therapy failure: Implications for second-line options in resource-limited settings. *Clin Infect Dis.* 2009;49:306-9. <http://dx.doi.org/10.1086/600044>.
  28. **Pere H, Charpentier C, Mbeleso P, Dandy M, Matta M, Moussa S, et al.** Virological response and resistance profiles after 24 months of first-line antiretroviral treatment in adults living in Bangui, Central African Republic. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2012;28:315-23. <http://dx.doi.org/10.1089/aid.2011.0127>
  29. **Sungkanuparph S, Win MM, Kiertiburanakul S, Phonrat B, Maek-a-nantawat W.** HIV-1 drug resistance at virological failure versus immunological failure among patients failing first-line antiretroviral therapy in a resource-limited setting. *Int J STD AIDS.* 2012;23:316-8. <http://dx.doi.org/10.1258/ijisa.2011.011337>.
  30. **Gallant JE, DeJesus E, Arribas JR, Pozniak AL, Gazzard B, Campo RE, et al.** Tenofovir DF, emtricitabine, and efavirenz Vs. zidovudine, lamivudine, and efavirenz for HIV. *N Engl J Med.* 2006;354:251-60. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa051871>
  31. **Corzillius M, Muhlberger N, Sroczynski G, Jaeger H, Wasem J, Siebert U.** Cost effectiveness analysis of routine use of genotypic antiretroviral resistance testing after failure of antiretroviral treatment for HIV. *Antivir Ther.* 2004;9:27-36.
  32. **Rosen S, Long L, Sanne I, Stevens WS, Fox MP.** The net cost of incorporating resistance testing into HIV/AIDS treatment in South Africa: A Markov model with primary data. *J Int AIDS Soc.* 2011;14:24. <http://dx.doi.org/10.1186/1758-2652-14-24>.
  33. **Simcock M, Sendi P, Ledergerber B, Keller T, Schupbach J, Battegay M, et al.** A longitudinal analysis of healthcare costs after treatment optimization following genotypic antiretroviral resistance testing: Does resistance testing pay off? *Antivir Ther.* 2006;11:305-14.
  34. **Weinstein MC, Goldie SJ, Losina E, Cohen CJ, Baxter JD, Zhang H, et al.** Use of genotypic resistance testing to guide HHIV therapy: Clinical impact and cost-effectiveness. *Ann Intern Med.* 2001;134:440-50.