



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**DIVISIÓN DE ESTUDIO DE POSGRADO**  
**HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ**

**F**  
**FRECUENCIA DE MUTACIONES DE RESISTENCIA DEL**  
**VIRUS DE INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH) A**  
**MEDICAMENTOS ANTIRRETROVIRALES Y ASOCIACIÓN**  
**CON FALLA VIROLÓGICA E INMUNOLÓGICA EN NIÑOS Y**  
**ADOLESCENTES INFECTADOS CON VIH/SIDA**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO EN**

**INFECTOLOGÍA**

**PRESENTA**

**DRA. ESTHER ROCÍO BARRERO BARRETO**

**DIRECTOR DE TESIS**  
**DRA. NORIS PAVÍA RUZ**

**ASESOR METODOLÓGICO**  
**DR. JUAN BERNARDO DIAMOND HERNÁNDEZ**



**MÉXICO, D. F.**

**Agosto 2007**

**HOSPITAL INFANTIL de MÉXICO**

**FEDERICO GÓMEZ**

Instituto Nacional de Salud



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIO DE POSGRADO  
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ**

**E  
FRECUENCIA DE MUTACIONES DE RESISTENCIA DEL  
VIRUS DE INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH) A  
MEDICAMENTOS ANTIRETROVIRALES Y ASOCIACIÓN  
CON FALLA VIROLÓGICA E INMUNOLÓGICA EN NIÑOS Y  
ADOLESCENTES INFECTADOS CON VIH/SIDA**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**INFECTOLOGÍA**

**PRESENTA:**

**DRA. ESTHER ROCÍO BARRERO BARRETO**

**DIRECTOR DE TESIS**

**DRA. NORIS PAVÍA RUZ**

**ASESOR METODOLÓGICO**

**DR. JUAN BERNARDO DIEMOND HERNÁNDEZ**

**DRA. PATRICIA VILLALOBOS**

**MÉXICO, D. F.**

**Agosto 2007**



**HOSPITAL INFANTIL de MÉXICO**

**FEDERICO GÓMEZ**

Instituto Nacional de Salud

## **DEDICATORIA**

A Carmen Tulia y Josías mis Padres, por su crianza, ejemplo de vida y su apoyo incondicional.

A Carlos y Angélica mis hermanos, por motivarme día a día a seguir luchando por mis ideales.

A Luis Fuentes y Roberto Rodríguez, por su paciencia y sus enseñanzas que con ellas, ampliaron la perspectiva de la biología molecular y me motivaron a continuar en un futuro en la investigación del VIH

A los niños infectados por el virus de inmunodeficiencia humana por ser la inspiración de muchas personas en la búsqueda del conocimiento para poder brindarles una mejor calidad de vida.

## ÍNDICE

<b>1. Marco teórico</b>	<b>01</b>
<b>2. Justificación</b>	<b>06</b>
<b>3. Pregunta de investigación</b>	<b>07</b>
<b>4. Hipótesis</b>	<b>08</b>
<b>5. Objetivo general</b>	<b>09</b>
<b>6. Objetivos específicos</b>	<b>10</b>
<b>7. Materiales y Métodos</b>	
<b>a. Diseño del estudio</b>	<b>11</b>
<b>b. Población de estudio</b>	<b>11</b>
<b>c. Criterios de inclusión</b>	<b>11</b>
<b>d. Criterios de exclusión</b>	<b>11</b>
<b>e. Definición de variables</b>	<b>11</b>
<b>f. Descripción del estudio</b>	<b>14</b>
<b>g. Análisis estadístico</b>	<b>17</b>
<b>8. Resultados</b>	<b>18</b>
<b>9. Discusión</b>	<b>21</b>
<b>10. Conclusión</b>	<b>24</b>
<b>11. Anexos</b>	<b>25</b>
<b>12. Referencias</b>	<b>29</b>

## MARCO TEÓRICO

A 26 años de su aparición, la epidemia del Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) se ha diseminado prácticamente a todo el mundo, alcanzando una magnitud que la ha colocado como una de las enfermedades infecciosas de mayor impacto. Según los cálculos del Programa de la Organización de las Naciones Unidas para la prevención del VIH/SIDA (ONUSIDA) al final del año 2006, el número de personas infectadas por VIH en todo el mundo era alrededor de 40 millones de personas, más del 90% pertenecientes a países con los mayores niveles de pobreza y 2.3 millones eran menores de 15 años<sup>1</sup>. El impacto que ha tenido la epidemia en la mortalidad ha sido importante. Se considera que el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) es la cuarta causa de muerte en todo el mundo<sup>1</sup>.

La epidemia del VIH en México, al igual que en el resto del mundo, se ha convertido en un problema de salud pública complejo, con repercusiones en otros niveles como el social, ético, económico y político; por lo que se ha requerido de la intervención multidisciplinaria para enfrentar el problema. Hasta diciembre de 2006, se han reportado un total de 110.339 casos acumulados de personas con SIDA; de los cuales 2.662 (2.4%) son menores de 15 años de edad, en quienes la transmisión perinatal constituye la principal vía de adquisición de la infección<sup>2</sup>.

La infección por el VIH es causado por un retrovirus que tiene como material genético una doble hebra de ARN negativa, y se caracteriza por emplear como estrategia de replicación la transcripción del ARN viral a un ADN lineal de doble cadena con la consiguiente integración en el genoma del huésped. El genoma del VIH incluye tres genes estructurales principales: GAG, POL y ENV que codifican diferentes proteínas. El gen GAG codifica proteínas del núcleo viral; el gen POL, las enzimas que intervienen en la replicación viral: transcriptasa reversa, proteasa e integrasa, y el gen ENV, las proteínas estructurales de la envoltura viral gp120 y la gp41 encargadas de la adhesión del virus a las células CD4+ del huésped<sup>3</sup>.

El VIH desde el punto de vista genético tiene una gran capacidad de adaptación a los cambios introducidos en su medio natural gracias a que la transcriptasa reversa carece de actividad de exonucleasa 3'-5' incrementándose la posibilidad de incorporar al genoma nucleótidos equivocados con el consecuente aumento en la tasa de mutaciones que generan cambios en las proteínas virales que son blanco de los antirretrovirales. Además las proteínas estructurales y funcionales poseen una notable plasticidad funcional y el virus tiene una alta tasa de replicación que permite generar hasta  $10^{10}$  viriones cada día. Estas características generan viriones capaces de sobrevivir en un ambiente hostil de presión farmacológica seleccionando cepas con mutaciones que le

proporcionan resistencia no solo a los medicamentos actualmente usados si no también a las futuras moléculas, comprometiendo el éxito de la terapia antirretroviral<sup>4,5</sup>.

La terapia antirretroviral es actualmente el punto medular en el manejo de la infección por VIH. Los avances en el conocimiento de la fisiopatología de la enfermedad y el desarrollo de mayor número de fármacos cada vez más potentes y con menor perfil de toxicidad, han permitido que el tratamiento haya evolucionado significativamente. Debido a que los medicamentos no son capaces de lograr la erradicación viral, el paradigma actual es lograr la supresión máxima y duradera de la replicación viral mediante la utilización de combinaciones de tres o cuatro medicamentos, lo que se define como terapia antirretroviral de alta actividad (TARAA), lográndose la supresión en pediatría aproximadamente en 50% de los casos<sup>6</sup>.

El uso de TARAA a partir de 1996 ha cambiado radicalmente la evolución de la enfermedad. En los lugares donde se ha usado extensamente ha impactado en la reducción, tanto de la mortalidad como la incidencia de infecciones oportunistas y el número de hospitalizaciones de personas infectadas<sup>7</sup>. El éxito de la terapia depende de varios factores: el estadio clínico, la cepa viral infectante, la historia de tratamientos previos, la viremia basal, el estado inmunológico del paciente dependiente de la cuantificación de los linfocitos CD4+ y factores farmacocinéticos; pero sobre todo un aspecto muy importante es la adherencia al tratamiento<sup>8</sup>. El objetivo de la TARAA es mantener una carga viral indetectable y recuperar el estado inmunológico del paciente manteniendo un recuento de células CD4+ adecuados para el edad. De lo contrario, en un paciente con adecuada terapia, después de cierto tiempo de tratamiento se considerará en falla virológica o inmunológica.

Para el tratamiento de la infección por VIH/SIDA en pediatría se utilizan tres grupos de medicamentos antirretrovirales de acuerdo al sitio de acción o su composición química:

- Inhibidores de transcriptasa reversa análogos de nucleósidos (ITRAN): fueron los primeros en aparecer y son prodrogas que son fosforiladas a nucleótidos trifosfatos, compiten con nucleótidos por el sitio de activo de la transcriptasa reversa viral, causando una terminación prematura en la síntesis de la cadena de ADN. Los ITRAN usados en pediatría incluyen zidovudina (AZT), lamivudina (3TC), didanosina (ddI), estavudina (d4T), abacavir (ABC) y emtricitabina (FTC)<sup>9</sup>.
- Inhibidores de transcriptasa reversa no nucleósidos (ITRNN): son un grupo de compuestos que no requieren fosforilación para activarse y son inhibidores no competitivos de la transcriptasa reversa. Los aprobados para uso pediátrico son nevirapina (NVP) y efavirenz (EFV).

- Inhibidores de Proteasa (IP): estos bloquean la división de las poliproteínas virales en la fase final del ciclo replicativo del virus, provocando la producción de partículas virales inmaduras y defectuosas. Los IP que se han usado en pediatría son saquinavir (SQV), ritonavir (RTV), Lopinavir/ritonavir (LPV/R), nelfinavir (NFV), indinavir (IDV), fosamprenavir(*f*-APV).

El tratamiento de la infección por VIH ha tenido un cambio considerable a partir del advenimiento de los inhibidores de proteasa (IP), por su gran capacidad como inhibidores de la replicación viral<sup>10</sup>; así mismo se utilizan esquemas con potencia similar con la combinación de dos ITRAN y un ITRNN ó IP. Sin embargo a pesar del éxito de estas combinaciones para mejorar y prolongar la calidad de vida de los pacientes, en forma temprana o tardía dejan de responder a estos tratamientos y deben enfrentar esquemas de rescate que no siempre ofrecen una adecuada respuesta terapéutica<sup>11</sup>.

El desarrollo de resistencia se relaciona con la progresión de la enfermedad, así mismo la resistencia es la causa de que en más del 75% de los casos el esquema triple antirretroviral falle (falla virológica, definida como la detección del virus de inmunodeficiencia a pesar de TARAA o su detección en plasma después de haber alcanzado una supresión) como consecuencia de múltiples fenómenos como la falta de adherencia al tratamiento, problemas de absorción y otros factores farmacocinéticos<sup>12</sup>.

La resistencia del VIH a los antirretrovirales se define como cualquier mutación que produce un cambio en la estructura viral asociado con un cambio en la concentración mínima inhibitoria IC50, que permita la replicación viral en presencia de tratamiento<sup>13, 14</sup>.

La resistencia genotípica se refiere a los cambios (mutaciones) en el gen blanco del medicamento usado (transcriptasa reversa o proteasa), que se relacionan con una menor acción antiviral del medicamento específico. Debido a que la enzima transcriptasa reversa es defectuosa, origina durante la copia del material genético, múltiples mutaciones (cambios puntuales de nucleótidos que provocan modificaciones de aminoácidos) entre las que se encuentran algunas relacionadas con resistencia<sup>15</sup>. Estas mutaciones, que se presentan incluso antes de usar un medicamento y en caso de resistencia transmitida, se relacionan con la pobre respuesta a los fármacos y, en general, confieren resistencia contra varios medicamentos de un mismo grupo (resistencia cruzada).

La mutación del VIH en un individuo es definida por Shafer<sup>13</sup> como el cambio en un aminoácido a partir de la comparación con una secuencia del virus salvaje de referencia (HxB2). Las mutaciones se clasifican en:



- Mutación primaria: Se presenta en el grupo de IP y es aquella que aparece como consecuencia de la presión de selección que ejerce el uso del medicamento dando como resultado un alto grado de resistencia al mismo.
- Mutación secundaria: El uso continuo de un medicamento que no genera una supresión viral completa favorece la aparición de una mutación secundaria, la cual requiere de la presencia de otras mutaciones para generar resistencia. Estas incrementan la resistencia cruzada con otros medicamentos de acción semejante.
- Mutación polimórfica es la que ocurre frecuentemente en virus no expuestos a antirretrovirales y no generan resistencia a medicamentos.

Desde el punto de vista epidemiológico existe resistencia primaria y secundaria. La primaria es inherente a la transmisión de cepas resistentes de un individuo a otro, es decir es la resistencia en un paciente que aún no ha recibido tratamiento antirretroviral. Mientras que la resistencia secundaria aparece en la población viral de un paciente como consecuencia de la presión selectiva ejercida por la exposición a fármacos antirretrovirales<sup>16</sup>. La determinación de las mutaciones de resistencia ha logrado diseñar pruebas para conocer el estado de las variantes genéticas de personas infectadas, logrando un manejo terapéutico dirigido, con el fin de asegurar mayor éxito.

El estudio de resistencia de Antirretrovirales en la infancia es de especial interés dado que los niños frecuentemente tienen elevada carga viral al momento del diagnóstico y un sistema inmune inmaduro. Además un porcentaje importante de niños muestra una más rápida progresión de la enfermedad que los adultos. La consecuencia de la supresión viral incompleta es la generación de resistencia a los antirretrovirales. Aunque el desarrollo de resistencia genotípica a antirretrovirales ha sido demostrado en niños, la información es muy escasa.

Son muy pocos los estudios de resistencia en la población pediátrica, Muller<sup>17</sup> reporta prevalencia de resistencia a antirretrovirales en un estudio de 21 niños infectados por VIH con falla a tratamiento en los que se detectó resistencia a los IP en el 33% y a los ITRAN en el 90%, no se detectó resistencia previa al tratamiento; la resistencia genotípica fue común en aquellos niños que recibían 3TC (91%), NVP (75%) y AZT (64%). Schmidt y Eschleman reportan resultados similares en niños (31 y 47 niños) con falla al tratamiento antirretroviral<sup>18, 19</sup>.

Linde y col, observaron una incidencia baja de resistencia en pacientes con primera esquema de TARAA, de 16 pacientes evaluados durante 24 meses se consideraron con falla al tratamiento, solo 5 pacientes, de los cuales se logró determinar resistencia genotípica en 4 de ellos, observándose una incidencia del 25% de resistencia a ARV en este grupo de pacientes<sup>20</sup>.

En el estudio PACTG 152, se incluyeron 52 niños a los cuales se les realizó genotipo previo y posterior al inicio del tratamiento; en la determinación basal, se detectaron 5 mutaciones asociadas con resistencia a AZT y 6 a ddl, posterior al tratamiento con AZT, 21/28 presentaban resistencia y en los que recibieron ddl solo se observó 1 paciente con mutación específica a AZT. La resistencia a ddl ocurrió en 13/34 bajo tratamiento con ddl comparado con 2 de 18 que recibían AZT. También demostraron que la resistencia a ITRAN se asociaba con incremento de la progresión de la enfermedad<sup>21</sup>.

Lolekha<sup>22</sup> estudió la prevalencia de mutaciones de ITRAN en 95 niños tailandeses infectados con VIH en tratamiento con dos ITRAN después de un periodo de 6 meses y observaron que en el 96.8% tenían resistencia a uno de los ITRAN, el 31.6% resistencia a 3TC y el 50% de los niños tenían resistencia múltiple a ITRAN (más de 4 mutaciones). No se encontró asociación con carga viral, recuento de linfocitos CD4+, número de esquemas y/o regímenes, como factores de riesgo para la emergencia de resistencia a ITRAN.

En un estudio multicéntrico observacional realizado en Bélgica, se incluyeron 21 niños con edades entre 3 y 16 años con falla virológica a un primer esquema de TARAA que incluía un IP, al realizar el genotipo se encontró resistencia a IP en el 66% de los pacientes<sup>23</sup>, en otros estudios, se ha demostrado resistencia genotípica por lo menos a un medicamento en un 23% con la misma terapia<sup>24</sup>.

Se ha identificado resistencia primaria, en pacientes sin tratamiento previo a antirretrovirales. En Japón se reporta la prevalencia de resistencia transmitida de 1999 a 2001 en 5.3% (4/75 pacientes) y para el 2001 esta prevalencia aumenta a 17.1% (7/41)<sup>25</sup>. En Brasil en un estudio de 80 pacientes menores de 13 años, vírgenes a tratamiento no se encontraron mutaciones de resistencia primaria, solo se reportan mutaciones polimórficas, en el grupo con tratamiento previo se encontró una correlación entre la presencia de mutaciones y falla virológica<sup>26</sup>.

## JUSTIFICACIÓN

Las nuevas opciones terapéuticas contra el VIH son limitadas en pediatría, por lo que se debe usar en forma adecuada los esquemas actualmente disponibles, a través de la combinación de antirretrovirales potentes para mantener una supresión viral y prevenir el desarrollo de resistencia. Se ha demostrado que existe una correlación entre la presencia de mutaciones y el surgimiento de fracaso terapéutico.

En la población pediátrica mexicana infectada por el VIH no existen estudios que identifiquen la resistencia a antirretrovirales. La realización de técnicas genotípicas, es de interés en el abordaje del paciente pediátrico infectado por el VIH, en primer lugar por que beneficia a cada paciente al poder optimizar e individualizar el tratamiento con esquemas de rescate. A nivel global permite conocer la epidemiología de las cepas resistentes en nuestra población logrando incidir en la mejor utilización de los medicamentos disponibles para finalmente disminuir el riesgo de resistencia transmisible.

Un porcentaje de nuestros pacientes son adolescentes infectados a través de transmisión perinatal que en un futuro cercano iniciarán o ya iniciaron vida sexual, lo que significa la posibilidad de transmisión de cepas del VIH multiresistentes; los reportes mundiales en este grupo de edad son muy escasos. También es importante conocer la frecuencia de mutaciones de resistencia en los niños sin tratamiento previo ya que apoyaría estudios futuros para normar el esquema de tratamiento inicial en pacientes vírgenes.

## **PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

1. ¿Cuál es la frecuencia de las mutaciones de resistencia a antirretrovirales en pacientes menores de 18 años infectados por el VIH y cual es la asociación entre la presencia de mutación y falla virológica e inmunológica?
2. ¿Cuál es la frecuencia de la resistencia primaria y resistencia secundaria en niños infectados por VIH en seguimiento que asisten a la clínica de inmunodeficiencias del Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIMFG) y la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)?

## **HIPÓTESIS**

1. La frecuencia de resistencia primaria es menor al 20% y resistencia secundaria es mayor del 30%.
2. La multiresistencia del VIH a antirretrovirales está asociada en la mayoría de los casos a falla virológica e inmunológica.

## **OBJETIVO GENERAL**

1. Describir la frecuencia de las mutaciones que generan resistencia del VIH a los antirretrovirales a través de la genotipificación del virus en la población pediátrica infectada en seguimiento en las clínicas de inmunodeficiencia del HIMFG y la UNAM.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Describir la frecuencia de resistencia primaria y secundaria en niños infectados por VIH.
2. Identificar la asociación de resistencia del VIH a antirretrovirales con falla virológica y clínica.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **1. Diseño del Estudio**

Se trata de un estudio descriptivo transversal y analítico.

### **2. Población de Estudio**

Niños y adolescentes menores de 18 años con diagnóstico de Infección por VIH/SIDA (de acuerdo a los criterios de los CDC(1994)<sup>27</sup> , que asistieron a control médico a las Clínicas de inmunodeficiencia del Hospital infantil de México Federico Gómez y la Universidad Nacional Autónoma de México entre septiembre de 2006 a julio de 2007.

- **Grupo I:** Pacientes menores de 18 años no expuestos a antirretrovirales.
- **Grupo II:** Pacientes menores de 18 años con tratamiento antirretroviral.

### **3. Criterios de Inclusión**

- Diagnóstico de VIH de acuerdo a los criterios de los CDC<sup>27</sup>.
- Autorización de los padres para ingresar al estudio, mediante consentimiento informado.
- Los pacientes con una carga viral mayor de 2.000 copias/ml.
- Los pacientes incluidos en el grupo I, no habían recibido tratamiento antiretroviral previamente.
- Los pacientes incluidos en el grupo II recibieron por lo menos dos esquemas de tratamiento antirretroviral.

### **4. Criterios de Exclusión**

- Estado crítico.
- Pacientes recibiendo tratamiento antirretroviral por menos de 6 meses

### **4. Definición de Variables**

- Edad
- Sexo



- Mecanismo de transmisión: es el mecanismo por el cual adquirieron la infección del VIH los pacientes incluidos en el estudio, es una variable cualitativa y se categoriza como Perinatal, sexual, o sanguínea (transfusión o uso de drogas intravenosas).
- Estado clínico e inmunológico: Dependiendo de los signos y síntomas que presentó el paciente en el momento del diagnóstico, se clasificó la infección por el VIH de acuerdo a la clasificación de los CDC<sup>27</sup> en 4 estadios clínicos desde asintomático hasta el estadio final o SIDA, es una variable cualitativa y se categoriza como N, A, B ó C. Así mismo el estado inmunológico dependiendo del recuento absoluto o en porcentaje de linfocitos CD4+, se determinó si estaba sin inmunosupresión o estadio 1 (CD4+ >25%), en inmunosupresión moderada o estadio 2 (CD4+ de 15-24%) y en inmunosupresión severa o estadio 3 (CD4+ ≤14%), es una variable cualitativa y con las categorías comentadas.
- Carga viral: es la cantidad de partículas virales encontradas en el plasma de pacientes infectados con VIH y que se determinó a través de una PCR de ARN y es expresada en número de copias/ml. Es una variable cuantitativa y se categoriza en números enteros de acuerdo al número de copias.
- Recuento de linfocitos CD4+: Se midieron los linfocitos CD4+ en una muestra de sangre periférica a través de citometría de flujo y se expresó como porcentaje del total de linfocitos. Es una variable cuantitativa y se categoriza de acuerdo al recuento en porcentaje y absoluto de linfocitos CD4+.
- Tratamiento antirretroviral previo: Son las drogas usadas en los pacientes pediátricos para inhibir la replicación viral con el objeto de la supresión viral máxima a través de ITRAN y/o ITRNN e IP. Es una variable cualitativa y se categoriza dependiendo los esquemas recibidos:  
 ITRAN: AZT, 3TC, ddI, d4T, ABV, FTC, TDF.  
 ITRNN : NVP y EFV  
 IP: NFV, IDV, RTV, SQV, LPV/r
- Número de esquemas de tratamiento antirretroviral: en los pacientes con múltiples esquemas de tratamiento antirretroviral de acuerdo a los antirretrovirales recibidos se determinó el número de esquemas (un esquema lo constituye un grupo de antirretrovirales dado durante un periodo de tiempo y que se cambia por intolerancia a algún medicamento o por una falla virológica o inmunológica). Es una variable continua y se categoriza en números enteros.

- Tiempo de tratamiento: es el tiempo de duración desde que recibió el primer esquema antiretroviral hasta el momento de la toma de muestra para la realización del genotipo. Es una variable cuantitativa y se categoriza en número de meses de tratamiento.
- Mutaciones de resistencia: son los cambios de nucleótidos en el gen POL que codifica para las enzimas blanco de los antirretrovirales (proteasa y transcriptasa) que generan una modificación de aminoácidos y se relacionan con una menor capacidad del fármaco para inhibir la replicación viral, estas pueden ser primarias, secundarias o accesorias y se codifican por letras y número, por ejemplo M184V donde la primera letra representa el aminoácido encontrado en el virus salvaje (HxB2), el número es la posición o codón 184 donde se encuentra este aminoácido y la segunda letra es el aminoácido por el cual cambia o muta. Es una variable cualitativa y se categoriza por el nombre de la mutación.

## DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO

Un estudio descriptivo, transversal fue realizado entre septiembre de 2006 y julio de 2007, en el que se incluyeron 44 pacientes menores de 18 años con diagnóstico de infección por VIH/SIDA. El 57% de los pacientes (n= 25) habían recibido tratamiento antiretroviral, usando dos o más esquemas diferentes de medicamentos. Los 19 pacientes restantes fueron niños con reciente diagnóstico realizado en este periodo de estudio quienes no habían recibido aún tratamiento antirretroviral.

Previa revisión de expedientes se eligieron por conveniencia los 25 pacientes con multitratamiento antiretroviral que se consideraban en falla y junto a los 19 pacientes de reciente diagnóstico se revisaron sus expedientes incluyéndose en un formato de recolección los datos demográficos como edad, sexo, y las demás variables: estadio clínico e inmunológico al diagnóstico, mecanismo de transmisión, carga viral, recuento de linfocitos CD4+, esquemas de tratamiento antiretroviral previo, y tiempo de duración de cada uno de los esquemas recibidos.

El protocolo de investigación fue aprobado por el comité de ética del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Después de la autorización de los padres o tutores se tomó por punción venosa 4 ml de sangre en un Tubo con anticoagulante EDTA, para la realización de genotipo en el laboratorio de virología molecular del Instituto Nacional de Nutrición y Ciencias Médicas Salvador Zubirán (INNSZ).

### Genotipo-VIH

El sistema de genotipificación HIV-1 (diagnóstico celera, Alameda, California), es uno de los dos sistemas aprobado por la FDA, para genotipificar HIV-1. ViroSeq es un sistema completo integrado que es usado para identificar mutaciones de resistencia a drogas en la proteasa (1 a 90 codones) y en los primeros 335 codones de la retrotranscriptasa<sup>28</sup>.

Una vez que llegaba la muestra de sangre al laboratorio, se centrifugaba a 1500rpm durante 10 minutos para lograr separar el plasma y almacenarlo a -70°C hasta tener como mínimo 10 muestras para procesarlas. Los pasos para obtener el genotipo fueron los siguientes<sup>28</sup>.

#### 1. Extracción del ARN

- Se descongelaban las muestras durante 15 minutos.

- Se trasladaban a la sala de extracción, donde en la campana de flujo laminar biológica nivel 2, se marcaban los tubos de ependorf los cuales contenían 1ml de plasma, además se incluían el control positivo (contiene 500ul de HxB2) y el control negativo.
- Se centrifugaban las muestras a 4°C, 17000rpm durante dos horas con el fin de obtener un pellet donde estaba concentrado el virus de los pacientes.
- Se lisaban las partículas virales con agente caotrópico: Isotiocianato de guanidina (compuesto que lisa la cápside viral para dejar libre el ARN viral).
- Se agregaba un buffer de isopropanolol y se centrifugaba durante 15 minutos, permitiendo concentrar y purificar el ARN viral.

## 2. RT PCR:

- El ARN aislado se transcribió con una Retrotranscriptasa de virus de leucemia murina Moloney (Molv RT). El panel con las mezclas de ARN y la enzima Molv RT se colocaba en el termociclador Applied Biosystems, donde se llevo a cabo en primer lugar la desnaturalización, alineación y retrotranscripción a ADN.
- El ADN resultante fue amplificado usando una PCR simple de 40 ciclos con AmpliTaq Gold DNA polimerasa. La PCR incluía Uracil N glicosilasa (UNG), sistema de control de contaminación.

## 3. Cuantificación de ADN:

- Los productos de la PCR (1.8Kb) fueron purificados y se confirmó su amplificación a través de electroforesis en gel de agarosa al 1% y bromuro de etidio, (permite que fluoresca el ADN al exponerlo en un transiluminador), se mezclaron las muestras de ADN con un buffer de carga y se colocó en cada uno de los pozos del gel donde se colocó además un control positivo con un peso molecular conocido para que al correr la banda de ADN se logaran identificar las bandas del mismo peso.
- Después de haber corrido durante 1 hora el gel de electroforesis a 150 volts se observaban las bandas que confirmaban la amplificación del ADN.

## 4. Purificación del DNA

- Previo a la secuenciación se purificó el ADN por el método de filtración, mezclándolo con cloruro de potasio a través de una membrana de nailon que era colocada en cada tubo de ependorf para centrifugarla durante 30 minutos, permitiendo que el ADN no se filtrara.
- Los ácidos nucleicos quedaban atrapados en la membrana de nailon, a la que se agregaba agua purificada y nuevamente era sometido a centrifugación para filtrar a través de ósmosis inversa, el ADN.

## 5. Secuenciación e interpretación

- Para la secuenciación del gen Pol se utilizaron siete iniciadores (A,B,C,D,F,G,H).
- Cada genotipo fue interpretado por el software de Viroseq, el cual ensamblaba los datos de cada una de las secuencias sencillas (dadas por los siete iniciadores) en una secuencia única, que se comparaba con el gen del virus salvaje y de acuerdo a las diferencias de nucleótidos entre las dos secuencias se determinaron las mutaciones del virus de la muestra analizada.

Se consideraron mutaciones relevantes a aquellas incluidas en el documento de consenso del Hirsch, et al<sup>29</sup> con las modificaciones propuestas por los miembros del Resistance Mutations Project Panel (agosto, 2006)<sup>30</sup>.

Para evaluar la resistencia genotípica a antirretrovirales, las secuencias de los pacientes fueron sometidas al algoritmo de interpretación de resistencia de la Universidad de Stanford (<http://hivdb.stanford.edu>).

En forma rutinaria en cada una de las instituciones participantes se realizó CD4+ y carga viral-VIH cada 3 meses a los pacientes en seguimiento, para fines del protocolo se contabilizó el reporte mas cercano al momento de la toma de muestra del genotipo.

#### **Carga viral:**

Se determinó por la técnica Amplicor 1.5TM (Roche Diagnostico)<sup>31</sup>.

La interpretación del resultado se realizó de acuerdo a las Guías de los CDC<sup>27</sup> y las guías de manejo para VIH de CENSIDA<sup>1</sup>.

#### **Cuantificación de linfocitos CD4+**

Se realizó por citometría de flujo de dos colores mediante el protocolo Simultest, diseñado especialmente para lectura en citómetro de flujo Becton-Dickinson<sup>32</sup>, utilizando un anticuerpo monoclonal CD4+ humano marcado con fluoresceína. Los resultados se interpretaron de acuerdo a la edad del paciente y el reporte se expresó en número absoluto y porcentaje (CDC)<sup>27</sup>.

Se transcribieron los datos en una base de Excel y se procedió al análisis, para determinar la frecuencia de las mutaciones primarias y secundarias en el grupo de multitratamiento y la transmisión de resistencia en el grupo virgen a tratamiento. Posteriormente se realizó el análisis estadístico.

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los resultados se presentan con medidas de tendencia central y de dispersión, además de graficas y tablas.

La prueba t de student se realizó para determinar diferencias entre la variable carga viral y la presencia o ausencia de mutación de resistencia y análisis de varianza para encontrar diferencias intra y entre grupo. Para determinar diferencias entre la presencia o ausencia de mutación y el estado inmunológico (conteo de linfocitos CD4+) en el momento de la realización del genotipo, se realizo prueba de  $\chi^2$ .

Se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 2004, de Wizard S.A.

## RESULTADOS

Se determinó que los 44 niños estaban infectados por el VIH subtipo B por medio del algoritmo de Stanford.

### **Pacientes con tratamiento antirretroviral**

De los 25 pacientes considerados en falla a tratamiento el 52% (n=13) eran de sexo masculino y 48% (n=12) femenino. La media de edad fue de 10.9 años con un rango de 34 meses a 17.8 años. Todos habían adquirido la infección a través de transmisión perinatal.

El 64% de estos pacientes se encontraban en inmunosupresión severa con recuento de CD4+ <15% y el 48% se encontraban en estadio clínico C; de los 25 pacientes solo 9 se encontraban en estadio de SIDA. El recuento de CD4+ más cercano a la realización del genotipo tenía una media de 19.2% con rangos de 2-45%. El promedio de carga viral al momento del genotipo fue de 193.092 copias/ml (4.78 log<sub>10</sub>) con rangos entre (10.000 a 1.500.000).

El 40% de los pacientes habían recibido por lo menos 2 esquemas diferentes de manejo antirretroviral, incluyendo los tres grupos de medicamentos, solo dos pacientes utilizaron un máximo de 5 esquemas de medicamentos. El 96% (n=24) habían recibido AZT y 3TC dentro de los diferentes esquemas antirretrovirales, solo 36% (n=9) recibieron inhibidores de transcriptasa análogos de nucleósidos (ITRAN) y 52% (n=13) habían recibido al menos dos inhibidores de proteasa, usando lopinavir más ritonavir en el 80% de los pacientes (n=20) (Cuadro 1).

La media de tiempo de tratamiento fue de 88.56 meses, con una mediana de 98 meses y un rango entre 25 y 152 meses.

### **Mutaciones de Resistencia:**

De los 25 pacientes analizados todos habían recibido al menos dos análogos de nucleósidos diferentes, siendo los más usados AZT y 3TC. Las mutaciones de relevancia para resistencia asociados a análogos de timidina (TAMs) se presentaron con mayor frecuencia, encontrándose M41L en 14 pacientes (56%), seguida por D67N, T215F, K70R, L210W. Otras mutaciones encontradas en la región de la transcriptasa reversa que confieren susceptibilidad reducida a ITRAN fueron M184V, T69NTS, E44D, E44A y L74V (Fig.1); de estas la de mayor frecuencia fue M184v en el 48% de pacientes y de los 24 pacientes que recibieron 3TC se presentó en el 50% de los mismos.

En este grupo de pacientes multitratados solo 7 (28%), no evidenciaron mutaciones de resistencia. De los 18 (72%) pacientes con resistencia a ITRAN, 12 tuvieron más de 2 mutaciones significativas o que generan alta resistencia a alguno de los antirretrovirales de este grupo y 4 pacientes (16%) tuvieron un número máximo de 6 mutaciones.

Para el grupo de inhibidores de transcriptasa reversa no nucleósidos (ITRNN). Se presentaron solo en aquellos pacientes con antecedente de haber recibido efavirenz (EFV) o nevirapina (NVP). Se encontraron 6 mutaciones de resistencia, en orden de frecuencia fueron K103N, G190A, L100I, V108IV, Y181C, P225H (Fig.2). De los 9 pacientes que habían recibido (ITRAN) se evidenciaron mutaciones de resistencia solo en 6 (66%), de estos solo 2 se encontraban recibiendo EFV en el momento de la realización del genotipo y uno de ellos revelaba 3 mutaciones diferentes al mismo medicamento; Cuatro pacientes tenían antecedente de uso de un ITRNN en los primeros esquemas de tratamiento, por lo menos 3 años antes y solo presentaban una mutación.

De las mutaciones primarias a inhibidores de proteasa (IP) se encontraron en orden de frecuencia las siguientes: I54V (40%), seguida por M46I, V82A, L90M, V32I, D30N, G 48V, I50V, V82F, V82S (Fig. 3). En 24 pacientes se encontraban recibiendo por lo menos un IP, y se evidenciaron mutaciones de resistencia primaria en 15 (62%) pacientes. Mutaciones de resistencia secundaria se presentaron en 17 pacientes, de estas las más frecuentes fueron: A71V, L10F, L33LF, L10V, Q58E, L76V, M46ML, N88D (Fig. 4). De los 24 pacientes que recibían IP solo en 6 (25%) no se encontraron mutaciones de resistencia.

### **Mutaciones Polimórficas**

Todos los pacientes que habían recibido tratamiento evidenciaban al menos 1 mutación polimórfica que no le confería resistencia a ITR de ambos grupos de medicamentos y de estas las más frecuentes fueron: R211K (60%), I293IV (56%), K122E (40%), R207E (40%), A272P (32%), I178M (28%), V179I (28%), G196DI (28%), T200A (28%) (Cuadro 2).

En el segmento que codifica para la proteasa se encontraron, en todos los pacientes, mutaciones polimórficas. Las prevalentes fueron: L63P (76%), I93L (60%), I62V (56%), E35D (48%), R57K (40%), V77I (32%) (Cuadro 3).

### **Asociación de Carga viral y recuento de linfocitos CD4+ con presencia de mutación:**

De la asociación entre la presencia o ausencia de mutación de resistencia con la carga viral solo se encontraron tres mutaciones que presentaban diferencia estadísticamente significativa, observándose una menor carga viral con la presencia de la mutación. Estas fueron:



Para ITRAN: M184V (t=2.32, P=0.038) y T69D (t=2.22, P=0.036)

Para IP : V82A (t=2.11, P=0.048).

No se encontró asociación estadísticamente significativa entre la presencia de la mutación y el recuento de linfocitos CD4+.

### **Pacientes vírgenes a tratamiento**

Durante los 10 meses del estudio se incluyeron 19 pacientes con diagnóstico reciente de infección por VIH/SIDA. La media de edad de los pacientes fue de 48.74 meses con rango entre 4m-10a. El 68.4% de los pacientes fueron de sexo masculino.

Todos los pacientes habían adquirido la infección por transmisión perinatal y el niño es el caso índice en la familia, por lo cual no tienen antecedente de tratamiento antirretroviral en las madres.

El 58% de los pacientes se encontraban al diagnóstico en estadio de inmunosupresión severa con menos de 15% de CD4+, solo 4 pacientes no tenían inmunosupresión al diagnóstico. El recuento de CD4+ estuvo entre 18 y 1492 con una media de 544.79 (SD 508.95). La carga viral en estos pacientes tenía un rango entre 10.000 – 4.000.000cop/ml, con una media de 813.500cop/ml ( $5.53\log_{10}$ ) (SD 1010825.78).

El análisis de las regiones que codifican para la transcriptasa reversa y la proteasa no evidenciaron mutaciones de resistencia en este grupo de pacientes.

### **Mutaciones Polimórficas**

Estas fueron frecuentes en ambas regiones genómicas:

En el segmento que codifica la proteasa se encontraron en orden de frecuencia: L63P (68.4%) R41K (52.6%), I93L (42.1%), V77I (34.8%), M36I (26.3%), R57K (26.3%), I62V (26.3%), E35D (21%), N37D (21%) (Cuadro 3).

En el segmento de la transcriptasa reversa las más frecuentes fueron: R211K (47.3%), K122E (42.1%), A272P (42.1%) I293IV (42.1%) I135T (31.6%) S162C (31.6%), D177E (31.6%), Q207E (31.6%), E297A (31.6%), V60I (26.3%), Q334L (26.3%) I78M (21.1%), G196D (21.1%), K277R (21.1%), E312T (21.1%) (Cuadro 2).

El número de polimorfismo varió desde 3 hasta 8 mutaciones.

De los 19 pacientes solo se realizó estudio de genotipo a 4 madres encontrando las mismas mutaciones polimórficas en sus hijos.

## DISCUSIÓN

La historia natural de la infección por el VIH ha cambiado radicalmente a partir del uso de la TARAA. Utilizando esquemas más potentes en la inhibición de la replicación viral se ha logrado prolongar la vida de pacientes infectados sin llegar a mantener la supresión por largo tiempo, debido a la generación de resistencia a los mismos medicamentos. En pediatría el conocimiento relacionado con resistencia antirretroviral es limitado. Sin embargo la falla a tratamiento se ha visto influenciada por otros factores como son: adherencia al tratamiento, inmadurez inmunológica, elevada carga viral al diagnóstico y farmacocinética que varía notoriamente por la edad y el peso, requiriendo un manejo particular de cada paciente y facilitando la aparición de resistencia. Debido a que en México hasta el momento no se han reportado datos en pediatría se considera de gran utilidad los estudios de resistencia que permitan optimizar el tratamiento y disminuir la transmisión de cepas resistentes.

En la población estudiada con dos o más esquemas de tratamiento antirretroviral se observó que la resistencia genotípica a antirretrovirales es frecuente. En 18 de 25 pacientes (72%) tenían mutaciones de resistencia en el segmento que codifica la transcriptasa reversa, 15 de 24(62%) presentaban mutaciones primarias en la proteasa y 17 (71%) tenían mutaciones secundarias; coincidiendo con lo reportado en la literatura por Mullen<sup>17</sup> quien describe una alta resistencia a ITRAN del 90%. Lolekha<sup>22</sup> observa en niños tailandeses una alta resistencia a primer esquema incluyendo 2 ITRAN del 96.8% con una multiresistencia hasta del 50% (por la presencia de más de 4 TAMs).

En nuestra muestra, de las mutaciones a ITRAN, la más frecuente fue la M41L (56%), seguida por la M184V (48%) coincidiendo con los reportes de Machado y colaboradores<sup>26</sup>; sin embargo la M184V solo se observó en 12 de los 24 pacientes que habían recibido 3TC en alguno de los esquemas de tratamiento, en el momento de realizar el genotipo solo 11 pacientes de 25 recibían 3TC, de estos no todos manifestaron la mutación M184V, lo que supone una falta de adherencia al tratamiento. En la mayoría de los estudios<sup>17, 26, 21, 34</sup> se ha demostrado una alta prevalencia de esta mutación en niños, y se ha asociado con un beneficio en la supresión viral, por la menor capacidad replicativa del virus en los pacientes que la poseen, en nuestro estudio, se encontró que la presencia de la mutación se asociaba con una menor carga viral coincidiendo con lo reportado en la literatura<sup>17, 26, 21, 34</sup>. Además de la M184V se encontró otra mutación de resistencia a ITRAN asociada con una carga viral menor, esta fue la T69D, sin embargo no encontramos reportes con respecto a ésta, probablemente esto se deba a un fenómeno semejante a lo que acontece con la mutación M184V.

De los 24 pacientes que habían recibido AZT, en 11 (46%) se encontraron mutaciones de alta resistencia, porcentaje menor que el observado por Mullen en Londres (64%)<sup>17</sup>. Se observó solo en tres pacientes resistencia a tenofovir (TFV), sin haber recibido este antirretroviral en sus esquemas de tratamiento, lo que confirma la resistencia cruzada que genera este grupo de medicamentos con múltiples mutaciones de resistencia.

De los 25 pacientes incluidos en el estudio se encontró que 4 pacientes tenían un alto nivel de resistencia a prácticamente todos los ITRAN, por la presencia de más de 2 TAMs y la M184V, generando una prevalencia de multiresistencia secundaria del 16%.

En los 9 pacientes que habían recibido ITRNN se encontró hasta un 66% de alta resistencia a este grupo de medicamentos, a pesar de que solo 2 pacientes recibían efavirenz en el momento de la realización del genotipo y la mayoría de pacientes recibieron el medicamento en los primeros esquemas de manejo. La alta resistencia a ITRNN en pacientes con terapia que incluye cualquiera de los dos antirretrovirales de este grupo coincide con la alta resistencia (65%) encontrado por Mullen y colaboradores<sup>17</sup> y 70% reportado por Machado y colaboradores<sup>26</sup>.

La I54V y M46I fueron las mutaciones primarias a IP de mayor frecuencia en los pacientes que recibían un medicamento de este grupo, al igual que el estudio multicéntrico realizado en Bélgica y reportado por Servais y colaboradores<sup>23</sup>. Se encontró una frecuencia de multiresistencia a más de 3 antirretrovirales (incluyendo lopinavir reforzado) de 16%. El nelfinavir es el medicamento con la frecuencia más alta de mutaciones de resistencia coincidiendo con otros estudios<sup>17,23</sup>.

Una variedad de mutaciones polimórficas fueron detectadas en el gen de transcriptasa reversa y proteasa en las posiciones 122, 211, 207, 193 y 35, 62, 63,93 coincidiendo algunas con lo reportado por Mundell<sup>17</sup>.

Al comparar el recuento de linfocitos CD4+ en el momento de la realización del genotipo con la presencia de mutaciones en los 25 pacientes incluidos en esta serie, no se encontró, ninguna asociación. Sin embargo, lo reportado en la literatura es una respuesta discordante, esto es pacientes con falla virológica y sin supresión del estado inmunológico asociados con la presencia de la mutación M184V; esto se debe probablemente a la presencia de una cepa viral con menor capacidad replicativa y diferente mecanismo citopatogénico en los ganglios linfáticos que no afecta la producción de linfocitos CD4+<sup>26, 34</sup>.

En el grupo de pacientes con reciente diagnóstico, sin exposición a tratamiento antirretroviral no se encontró resistencia primaria; es importante considerar que la prevalencia de resistencia primaria varía dependiendo del momento en que se realice el genotipo; así, en ausencia de presión

selectiva por medicamentos predominarán cepas de virus salvaje. En nuestro estudio se relaciona con el hecho de que ninguna de las madres había estado expuesta a antiretrovirales disminuyendo por tanto la posibilidad de transmisión de resistencia. Estos datos coinciden con otros estudios como el de Mullen<sup>17</sup> en Londres, Machado y colaboradores en Brasil donde no evidenciaron mutaciones de resistencia primaria en 68 pacientes sin tratamiento<sup>26</sup>. Estudios en adultos describen prevalencia de resistencia primaria en Europa de 15%, en Argentina entre 2.4-15% y Brasil de 2.4%<sup>33</sup>.

En los pacientes sin tratamiento previo solo se encontraron mutaciones polimórficas, situación ya descrita en la literatura<sup>17, 26</sup>. En solo cuatro pacientes menores de un año se realizó también genotipo a las madres, observándose las mismas mutaciones polimórficas.

## CONCLUSIONES

No se encontraron mutaciones de resistencia en los pacientes sin tratamiento antirretroviral previo, por tal razón en nuestra muestra de pacientes la resistencia primaria o transmitida es nula.

La resistencia secundaria para cada uno de los tres grupos de medicamentos estuvo por encima del 50%.

La presencia de la mutación M184V tiene un factor protector en la carga viral ya que se asocia con una menor capacidad replicativa del virus.

La resistencia secundaria no influye en el estado Inmunológico

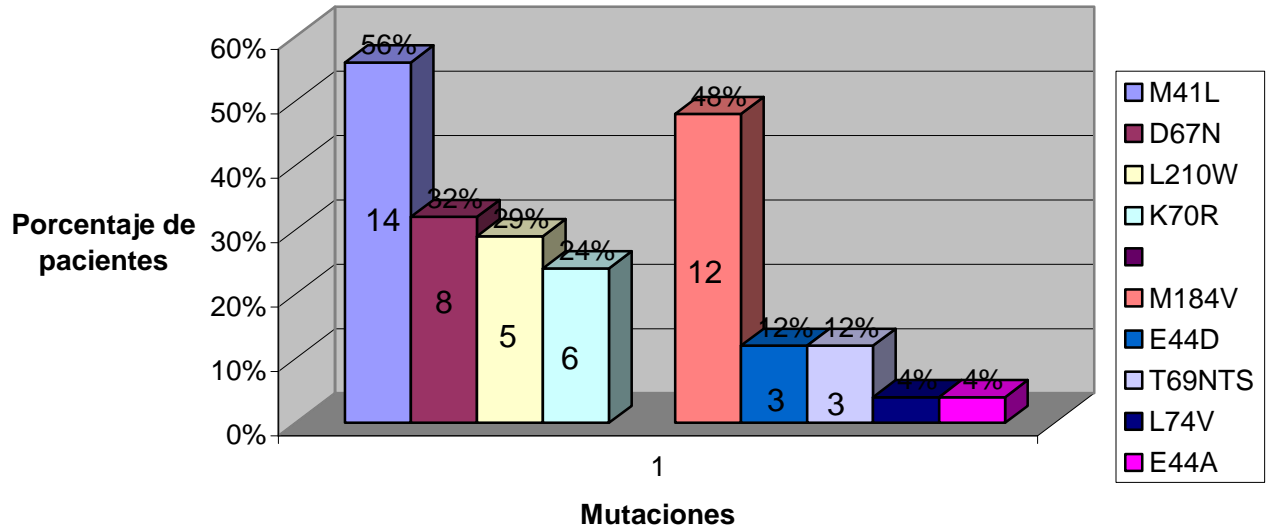
La falla virológica no solo es causada por la presencia de mutaciones de resistencia. La falta de adherencia es otro factor fundamental para falla terapéutica debido a que genera cepas predominantemente de virus salvaje que no expresan mutaciones de resistencia por falta de presión selectiva del medicamento.

Los pacientes de nuestra muestra están infectados por el subtipo B del VIH.

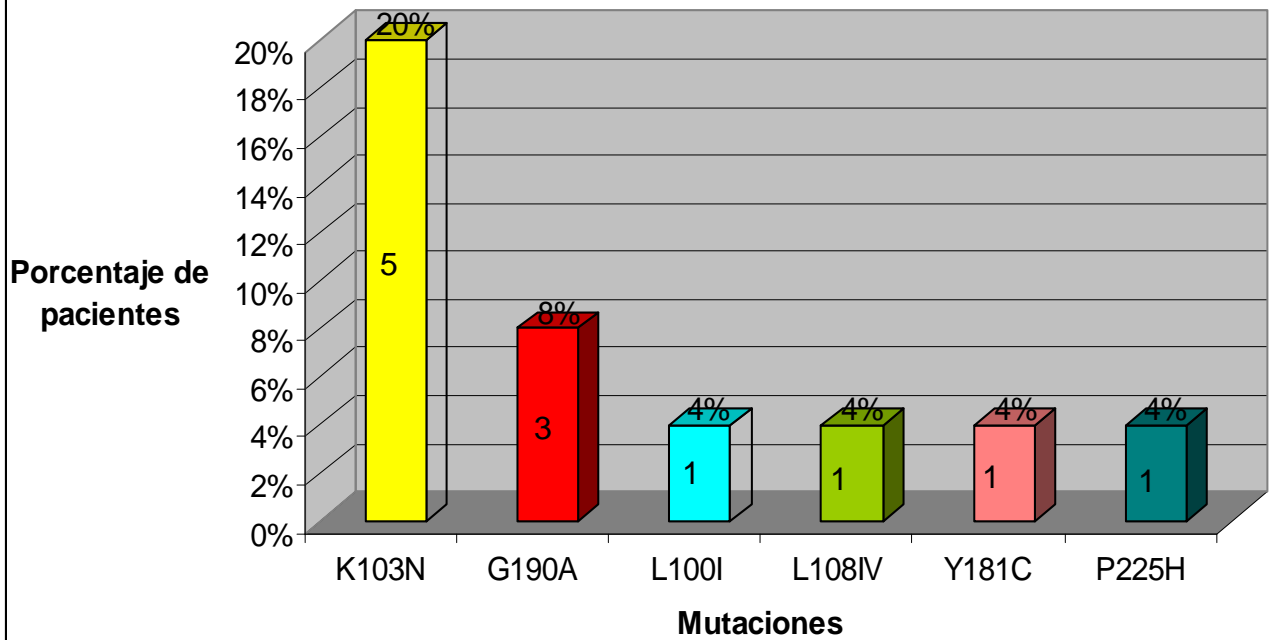
Será de gran interés ampliar el grupo de estudio y realizar seguimiento de estos pacientes con controles de genotipo de acuerdo a la evolución para evaluar los cambios en el perfil de resistencia viral determinados por el uso de drogas antirretrovirales.

## ANEXOS

**Fig.1 MUTACIONES DE RESISTENCIA A ITRAN EN PACIENTES MENORES DE 18 AÑOS INFECTADOS CON VIH/SIDA MULTITRATADOS EN EL HIMFG-UNAM n=25**

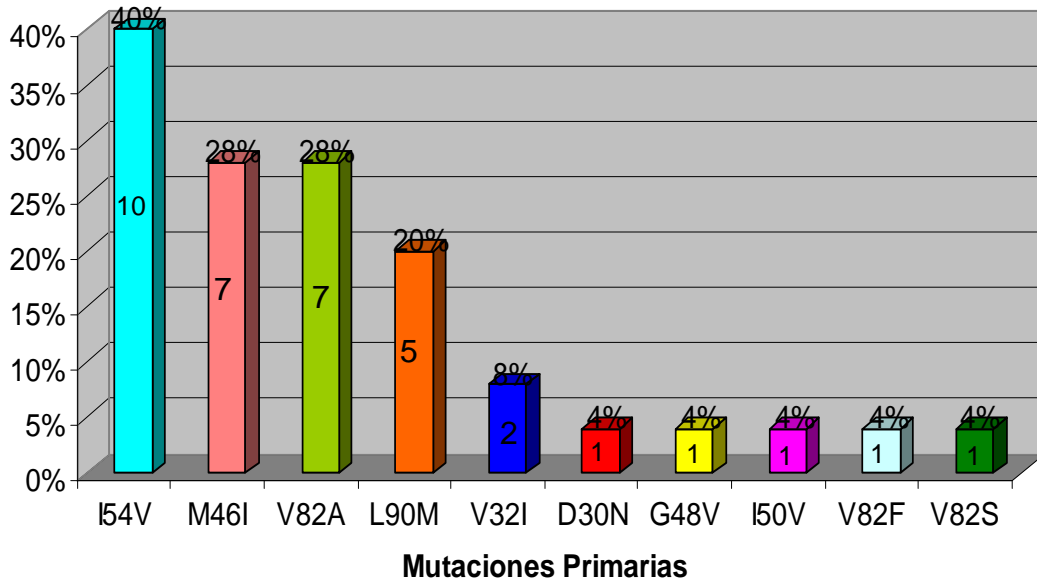


**Fig. 2 MUTACIONES DE RESISTENCIA A ITRNN EN PACIENTES MENORES DE 18 AÑOS INFECTADOS POR VIH/SIDA MULTITRATADOS EN EN EL HIMFG-UNAM n=25**

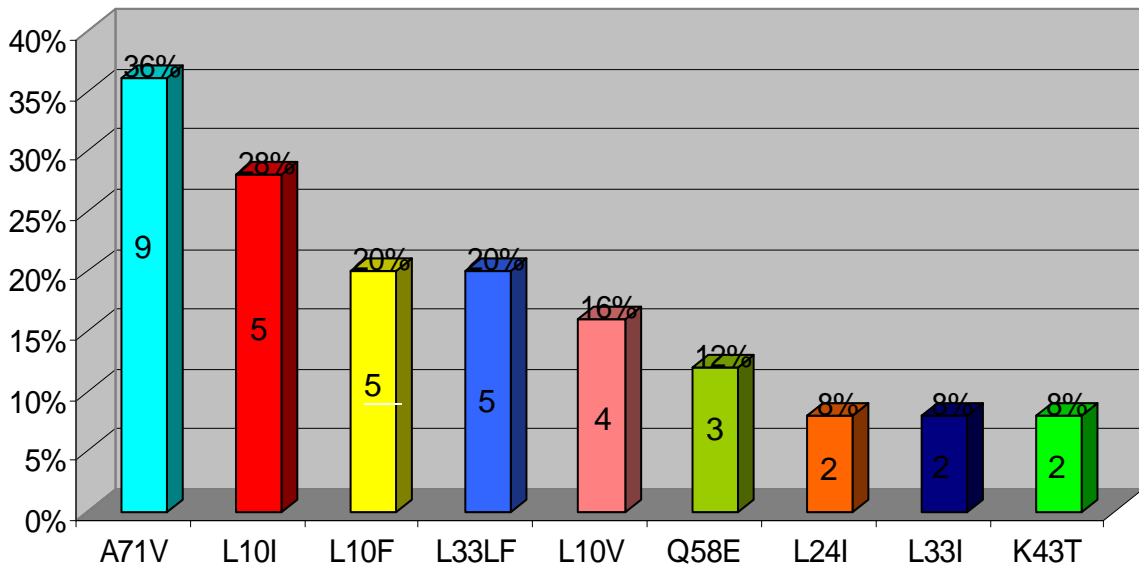


Nota: Solo 9 pacientes de los 25 habían recibido ITRAN. El porcentaje mostrado en la grafica es sobre el total de pacientes N=25

**Fig.3 MUTACIONES PRIMARIAS A IP EN PACIENTES MENORES DE 18 AÑOS  
INFECTADOS POR VIH/SIDA MULTITRATADOS EN EL HIMFG-UNAM n=25**



**Fig. 4 MUTACIONES SECUNDARIAS A IP EN PACIENTES MENORES DE 18 AÑOS  
INFECTADOS CON VIH/SIDA n=25**



**Cuadro 1. Mutaciones específicas a antirretrovirales en pacientes menores de 18 años infectados con VIH/SIDA en el HIM-HGM**

Clase de medicamento	No. Pacientes tratados	No. pacientes con Mutación primaria	Mutaciones Relevantes
<b>ITRAN</b>			
Zidovudina	24	12	M41L(13) T215Y(7) K70R(6) T69N(3)
Lamivudina	24	12	M184V (11)
Didanosina	22	7	T69N(3) L74V(1)
Estavudina	20	8	T215Y(3) K70R(3) D67N(3) M41L(4)
Abacavir	4	5	M184V(1)
<b>ITRNN</b>			
Nevirapina	1	6	K103N (1) Y181C(1) G190A(1)
Efavirenz	9	6	K100I(1) K103N (5) Y181C(1) G190A(2)
<b>IP</b>			
Nelfinavir	17	13	D30N (1) L90M (4)
Ritonavir	14	5	V82A(5)
Saquinavir	5	4	L90M(2)
Lopinavir/ritonavir	20	4	

**Cuadro 2. Mutaciones polimórficas de Transcriptasa reversa en pacientes menores de 18 años infectados con VIH/SIDA en el HIM-HGM**

Mutaciones Polimórficas	Pacientes Multitratados n=25	Pacientes sin tratamiento n=19
K122E	10 (40%)	8 (42%)
I135T	5 (20%)	6 (31%)
I178M	7 (28%)	4 (21%)
V179I	7 (28%)	---
G196DI	7 (28%)	4 (21%)
T200A	7 (28%)	---
R207E	10 (40%)	6 (31%)
R211K	15 (60%)	9 (47%)
A272P	8 (32%)	8 (42%)
I293IV	14 (56%)	8 (42%)



**Cuadro 3. Mutaciones polimorficas de Proteasa en pacientes menores de 18 años infectados con VIH/SIDA en el HIM-HGM**

<b>Mutaciones Polimorficas</b>	<b>Pacientes multitratados n=25</b>	<b>Pacientes sin tratamiento n=19</b>
K20KR	7 (28%)	--
E35D	12 (48%)	4 (21.1%)
M36I	7 (28%)	5 (26.3%)
N37D	5 (20%)	4 (21.1%)
R41K	7 (28%)	10 (52.6%)
R57K	10 (40%)	5 (26.3%)
D60E	7 (28%)	---
I62V	14 (56%)	5 (26.3%)
L63P	19 (76%)	13 (68.4%)
V77I	8 (32%)	7 (36.8%)
I93L	15 (60%)	8 (42.1%)

## REFERENCIAS

1. ONUSIDA/OMS-2006. AIDS epidemic update: December 2006. Available at [www.UNAIDS.org/](http://www.UNAIDS.org/)
2. CONASIDA. El SIDA en cifras 2006. Panorama epidemiológico del VIH/SIDA en México. [www.salud.gov.mx/conasida/](http://www.salud.gov.mx/conasida/)
3. Cleghorn FR, Reitz MS, Popovic M, Gallo RC. Human immunodeficiency viruses. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and practice of infectious diseases. 6ª Ed. Churchill Livingstone, Philadelphia. 2006:1874-87.
4. Paolucci S, Baldanti F, Maserati R, Castelli F, Suter F, Maggiolo F, and et al. Quantification of the impact of HIV-1 reverse transcriptase protease mutations on the efficacy of rescue HAART. *Antiviral Res.* 2000;45:101-114.
5. Rousseau MN, Vergne L, Montes B, Peeters M, Reynes J, Delaporte E and et al. Patterns of resistance mutations to antiretroviral drugs in extensively treated HIV-1 patients with failure of highly active antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2001;26:36-34.
6. Rosenblatt HM, Stanley KE, Song LY, Jonson GM, Wiznia AA, Nachman SA, et al. Immunological response to highly active antiretroviral therapy in children with clinically stable HIV- 1 infection. *J Infect Dis* 2005;192:445-55.
7. 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. *N Engl J Med* 1998; 338: 853-860.
8. Kuritzkes D. Clinical implications of antiretroviral Resistance. Medscape CME circle, 2001.
9. Hayes EV, McGann KA. Complications of human immunodeficiency virus therapy. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23: 873-874.
10. Watson DC, Farley JJ. Efficacy of and adherence to highly active antiretroviral therapy in children infected with human immunodeficiency virus type 1. *Pediatr Infect Dis J* 1999;18:682–689.
11. Palmer S, Shafer R, Merigan TC. New drug combinations against highly drug resistance HIV isolates in vitro. *Antiviral Therapy* 1998;3(1):9
12. Richman D. The implication of drug resistance for strategies of combination antiviral chemotherapy. *Antiviral Res* 1996;29(1):31-33.
13. Shafer RW, Rhee SY, Pillay D, Miller V, Sandstrom P, Schapiro JM, and et al. HIV-1 protease and reverse transcriptase mutations for drug resistance surveillance. *AIDS* 2007, 21:215–223.
14. Soto LE. Resistencia del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) a medicamentos antiretrovirales. *Enf Infec Y Microbiol* 1999;19(2):64-71.
15. Clavel F, Hance AJ. Medical progress: HIV Drug Resistance. *N Engl J Med* 2004;350:1023-35.
16. Condra JH. Resisting resistance. *Ann Intern Med* 1998;128:951-954.

17. Mullen J, Leech S, O'Shea S, et al. Antiretroviral drug resistance among HIV-1 infected children failing treatment. *J Medical virology* 2002;68:299-304
18. Schmidt B, Walter H, Niehues T, Vocks-Hauck M, Wintergerst U, Grosch-Worner I, and et al. Resistance profiles in HIV-1 infected children: A call for resistance testing. Abstract 469, 8<sup>th</sup> Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Chicago 2001 february 4-8.
19. Eshleman S, Krogstad P, Jackson JB, Wang YG and et al. Analysis of human immunodeficiency virus type I drug resistance in children receiving nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors plus nevirapine, nelfinavir or ritonavir. *J Infect Dis* 2001;183:1372-1738.
20. Linde R, Funk MB, Shuster T, Wintergerst U, and et al. Low incidence of genotypic and phenotypic resistance in pediatric HIV- infected patients of long term first-line antiretroviral triple therapy. *AIDS* 2001;15:1077-1079.
21. Englund JA, Raskino C, Vavro C, Palumbo P, Ross L, Mickinney R and et al, Mutations linked to drug resistance, human immunodeficiency virus type 1 biologic phenotype and their association with disease progression in children receiving nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Pediatr Infect Dis J* 2004;23:15-22.
22. Lolekha R and et al. Resistance to dual Nucleoside reverse-transcriptase inhibitors in children infected with HIV clade A/E. *Clin Infect Dis* 2005;40:309-312.
23. Servais J, Hainaut M, Schmitz V, Maes P, Fransen K, Vaira D, and et al, Resistance testing in children changing human immunodeficiency virus type 1 protease inhibitor. *Pediatr Infect Dis J* 2002; 21: 214-220.
24. Chaix ML, Rouet F, Kouakoussui KA, Laguide R, Fassinou P, Montcho C, et al, Genotypic human immunodeficiency virus type 1 drug resistance in highly active antiretroviral therapy-treated children in Abidjan, Cote d'Ivoire. *Pediatr Infect Dis J*.2005.Dec;24(12):1072-6.
25. Ibe S, Hotta N, Takeo U, Tawada Y, Mamiya N, Yamanaka K and et al. Prevalence of drug-resistant human immunodeficiency virus type in therapy naive patients and usefulness of genotype testing. *Microbiol Immunol* 2003; 47:499-505
26. Machado ES, Lambert JS, Watson DC, Afonso AO, da Cunha SM, Nogueira SA, and et al. Genotypic resistance and HIV-1 subtype in Brazilian children on dual and triple combination therapy. *J Clin Virol*. 2004 May;30(1):24-31.
27. Centers for Disease Control and prevention: 1994 revised classification system for human immunodeficiency virus infection in children less than 13 years of age. *MMWR Rep* 43 (RR-12):1, 1994. [www.cdc.gov/mmwr](http://www.cdc.gov/mmwr).
28. Eshleman SH, Hackett JJ, Swanson P and et al. Performance of the Celera diagnostics Viroseq HIV-1 genotyping system for sequence-based analysis of diverse human immunodeficiency virus type 1 strains. *J Clin Microb*. 2004; 42:2711-2717.
29. Hirsch MS, Brun-Vézinet F, D'Aquila RT, Hammer SM, Johnson VA, Kuritzkes DR, and et al. Antiretroviral drug resistance testing in adult HIV-1 infection: recommendations of and International AIDS Society-USA Panel. *JAMA* 2000;283:2417-26

30. Johnson VA, Brun-Vézinet F, Clotet B, Kuritzkes DR, Pillay D, Schapiro JM, and et al. Update of the Drug Resistance Mutations in HIV-1: Fall 2006. *Top HIV Med.* 2006;14:125-130.
31. Kuritzkes DR. Plasma HIV RNA quantitation, discussed at the New York course. *Science* 2. 1996;625: 11-14
32. Clinical applications of flow cytometry: Quality assurance and immunophenotyping of lymphocytes: Approved guideline. Wayne PA, National committee for clinical laboratory standards 1998. NCCLS document H42A.
33. Afani A, Ayala M, Meker A, Cabrera R, Acevedo W. Resistência primaria a terapia antiretroviral en pacientes con infección por VIH en Chile. *Rev Méd Chile* 2005;133:295-301.
34. Nicastrì E, Loredana S, D'Ettoire G, Parisi S, Plamisano L, Galluzo C, and et al. High prevalence of M184L mutation among patients with viroimmunologic discordant responses to highly active antiretroviral therapy and outcomes after change of therapy guided by genotypic analysis. *J Clin Microbiol* 2003;41:307-312.