

Resistencias primarias de VIH en una población penitenciaria. Estudio REPRICOVA-2

Julio García-Guerrero^a, Agustín Herrero^a, Miguel Bedia^c, Rosa Araújo^b, Juan C. Castellano^b y Grupo de Estudio REPRICOVA*

^aCentro Penitenciario de Castellón. ^bCentro Penitenciario de Valencia. ^cCentro Penitenciario de Alicante-Cumplimiento. España.

*El Grupo de Estudio Repricova (Resistencias en PRIsiones de la COmunidad VAleñiana) está formado por: Julio García-Guerrero (C.P. Castellón), Agustín Herrero Matías (C.P. Castellón), Enrique Vera Remartínez (C.P. Castellón), Juan C. Castellano Cervera (C.P. Valencia), Rosa Araújo Pérez (C.P. Valencia), Miguel Bedia Collantes (C.P. Alicante), José M. Almenara Romero (C.P. Valencia), Vicente Saurí Reina (C.P. Valencia), Javier David Cataluña (C.P. Valencia), María I. Llorente García (C.P. Alicante) y Francisco González Morán (Dirección General de Salud Pública, Generalitat Valenciana, Castellón).

INTRODUCCIÓN. Existen escasos estudios sobre resistencias primarias en pacientes presos.

MÉTODOS. Estudio descriptivo, de prevalencia en un día, de mutaciones de resistencia en presos infectados crónicos nunca tratados; muestreo aleatorio sistemático.

Genotipado por secuenciación automática.

RESULTADOS. Se estudiaron 90 pacientes. Dos muestras tienen mutaciones de inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos (ITIAN), cuatro de no nucleósidos (ITINN) y una de inhibidores de la proteasa (IP).

CONCLUSIONES. Hallamos baja proporción de resistencias primarias en nuestra serie. No es necesario test de resistencias antes de la primera terapia antirretroviral.

Palabras clave: Resistencia primaria. VIH. Prisión.

Primary HIV drug resistance in a prison population.

REPRICOVA-2 Study

INTRODUCTION. Currently, there are few reports on primary human immunodeficiency virus (HIV) drug resistance in the prison population.

METHODS. This is a descriptive, one-day prevalence study to identify HIV drug-resistant mutations in chronically infected treatment-naïve prisoners. Systematic randomized sampling was performed and genotyping was done by automatic sequencing.

RESULTS. A total of 90 patients were studied. Two samples were found to have nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NRTI)-resistant mutations, four had non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI)-resistant mutations and one had protease inhibitor (PI)-resistant mutations.

CONCLUSIONS. There was a low rate of primary resistance in our series. Therefore, resistance testing is not required before prescribing initial antiretroviral therapy in these patients.

Key words: Primary resistance. HIV. Prison.

Correspondencia: Dr. J. García-Guerrero.
Fernando el Católico, 18, 6º D. 12005 Castellón. España.
Correo electrónico: garciaj@comcas.es

Manuscrito recibido el 24-2-2003; aceptado el 30-4-2003.

Introducción

Es conocido que, en un paciente infectado por virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) sin contacto previo con tratamiento antirretroviral (TARV), pueden existir variantes virales con mutaciones de resistencia¹. También, con más frecuencia, existen resistencias primarias debido a la transmisión de virus con mutaciones desde "pacientes fuente" que sí han tomado tratamiento². La existencia de resistencias primarias es un fenómeno en expansión provocado por la extensión de los TARV a amplias capas de población infectada. En las prisiones españolas los TARV se han extendido a buena parte de la población infectada por el VIH y el acceso a materiales estériles para inyección de drogas no prescritas ha estado muy limitado. Además, se ha documentado transmisión del VIH dentro de la prisión³. Por ello, es razonable suponer que existen presos con resistencias primarias y que la prevalencia de genotipos mutantes del VIH-1 entre seropositivos naïve, podría ser superior en estos centros que fuera de ellos, aunque los estudios sobre el particular son escasos.

Nuestro objetivo es determinar la prevalencia de mutaciones de resistencia a fármacos antirretrovirales (FARV) en el ARN VIH-1 plasmático de pacientes nunca tratados internados en los centros penitenciarios de la Comunidad Valenciana.

Métodos

Estudio descriptivo, transversal, multicéntrico, de prevalencia en un corte de un día (15/02/02), de mutaciones de resistencia en pacientes seropositivos nunca tratados, internados en centros penitenciarios ordinarios de Castellón, Valencia y Alicante. Muestreo aleatorio sistemático, estratificado por centros. Todos los pacientes firmaron su consentimiento para la obtención de las muestras sanguíneas; el proyecto fue revisado y obtuvo la autorización para su realización de la Dirección General de Instituciones Penitenciarias. Se recogieron características demográficas, de prácticas de riesgo, clínicas, virológicas e inmunológicas de la población seleccionada. Se describen estadísticos básicos, procesados con el programa EPIINFO 6.0.

El estudio genotípico de las muestras se llevó a cabo en el Instituto Valenciano de Microbiología (Bétera, Valencia). Se obtuvieron de cada paciente 5 ml de sangre total en tubo Vacutainer PPT. El ARN viral se obtuvo por purificación por el método de columna QIAamp viral ARN (Qiagen, Isaza, Barcelona), posterior transcripción con transcriptasa reversa AMV (Promega), en su correspondiente tampón (Promega, Inmogenetics, Barcelona), doble amplificación con AmpliTaq

TABLA 1. Características demográficas, datos referentes a vía de transmisión y estado clínico, virológico e inmunológico de la población seleccionada

Sexo		
Varones	78	
Mujeres	12	
Edad media en años (límites)	32,3 (18-47)	
Prácticas de riesgo*		
UDVP	69	
Tatuajes	27	
Prácticas sexuales		
Heterosexuales	89	
Homosexuales	1	
Persistencia prácticas de riesgo en prisión*	22	
Antigüedad de infección VIH en meses		
Media(DE)	65 (58,037)	
Mediana(rango)	44 (1-200)	
< 1 año	22 (24,4%)	
1-5 años	38 (42,2%)	
6-10 años	11 (12,2%)	
> 10 años	19 (21,1%)	
Estadio clínico (CDC, 1993)		
A1	34	
A2	14	
A3	2	
B1	8	
B2	15	
B3	5	
C1	1	
C2	5	
C3	2	
No documentados	4	
CD4+/ml		
Media(DE)	565 (294)	
Mediana (rango)	516 (64-1739)	
< 200	5 (5,5%)	
200-500	36 (40%)	
> 500	44 (48,8%)	
No documentados	5 (5,5%)	
Log. carga viral		
Media(DE)	4,09 (1,024)	
Mediana (rango)	4 (2-6)	

UDVP: usuarios de drogas por vía parenteral; DE: desviación estándar; *referidas por los pacientes.

TABLA 2. Mutaciones encontradas

Paciente	ITIAN	ITINN	IP
20ASPASA	T215Y	K103N-G190A	
20ESGOJL		Y181C	
20SANNIE		K103N	
30SANMED	M184V		
50MANTOA		Y181C	
30MARPAAM		L90M	

A: alanina; C: citosina; D: ácido aspártico; E: ácido glutámico; F: fenilalanina; G: glicina; H: histidina; I: isoleucina; K: lisina; L: leucina; M: metionina; N: asparragina; P: prolina; Q: glutamina; R: arginina; S: serina; T: treonina; V: valina; W: triptófano.
ITIAN: inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos; ITINN: inhibidores de la transcriptasa inversa no nucleósidos; IP: inhibidores de la proteasa.

polimerasa (Promega, Inmogenetics, Barcelona) y purificación con el procedimiento de Quiaquick-PCR (Qiagen, Isaza, Barcelona). La reacción de secuenciación se llevó a cabo con nucleótidos marcados con Big-Dyes (Applied Biosystems, Madrid), siguiendo las instrucciones del fabricante y la lectura de la secuenciación se realizó con un equipo de electroforesis capilar ABI Prism 310 (Applied Biosystems, Madrid). Las secuencias obtenidas se compararon con la cepa de referencia HXB2 del VIH-1 y se describen sólo los cambios de aminoácidos en la

secuencia del gen de la proteasa o de la transcriptasa inversa, respectivamente asociados a resistencia a algún FAV perteneciente a los grupos de inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos (ITIAN), no análogos de nucleósidos (ITINN) o de inhibidores de proteasas (IP). Hemos utilizado como referente el último documento de consenso de la International AIDS Society-USA⁴. Las mutaciones que aparecen se expresan en numerales y en porcentaje sobre el total de la muestra.

Resultados

En la fecha de corte había en las prisiones participantes un total de 3.705 internos. De ellos, 679 (18,32%) eran infectados por el VIH, de los que 187 nunca habían recibido TARV. Se incluyeron en el estudio 90 pacientes, 78 varones y 12 mujeres, con una edad media de 32,3 años (18-47). Las demás características se detallan en la tabla 1. En seis de las muestras no se logró amplificar el gen de la proteasa. Un total de seis muestras (6,6%) presentaban alguna mutación de resistencia. Dos muestras (2,2%) presentaban alguna mutación de ITIAN; cuatro (4,4%) expresaban mutaciones de resistencia a ITINN y sólo una (1,1%) mostraba alguna mutación mayor de IP (tabla 2). Mutaciones menores de la proteasa se detectaron en 36 (40%) de las muestras estudiadas.

Discusión

Se ha determinado la prevalencia de mutaciones de resistencia en ARN viral plasmático de VIH-1, en un significativo grupo de pacientes nunca tratados de las prisiones de la Comunidad Valenciana. Una de las posibles limitaciones del estudio es que determinamos secuencias de ARN viral en muestras de plasma sanguíneo. Con ello obtenemos una idea del genoma viral que está replicando en ese momento, pero no puede excluirse la presencia de genomas virales mutados en otros compartimentos del organismo (núcleo de linfocitos, líquido cefalorraquídeo [LCR], semen, etc.) o, incluso, en el mismo plasma sanguíneo, ya que es conocido que los métodos de detección de mutaciones sólo son efectivos si las variantes virales significan más del 10-20% de la población viral total. Esta circunstancia y el largo período de infección de nuestros pacientes ayuda a explicar los resultados obtenidos. A causa del denominado *fitness* viral, la cepa mutada suele tener una menor capacidad replicativa y acaba siendo sustituida por la cepa salvaje en ausencia de tratamiento⁵, que no puede detectarse con las técnicas habituales. Sería de gran interés el determinar, en estos grupos de pacientes con infección crónica y sin tratamiento, el genoma viral en otros compartimentos del organismo, como ADN proviral integrado en el núcleo de linfocitos de sangre periférica. Estas células pueden esconder durante largo tiempo patrones genéticos virales diferentes al dominante plasmático. Podríamos detectar así mutaciones que de otra forma pasarían desapercibidas; de esta forma, las pruebas ganarían en sensibilidad⁶.

Los niveles de prevalencia obtenidos sugieren que, en este grupo de pacientes, no es necesario realizar un test de resistencia previo a la instauración del TARV. Tampoco muestran cambios de tendencia, ya que los valores obtenidos no difieren de los que encontramos en un

estudio anterior de similar diseño hecho 2 años atrás. En esa ocasión describíamos prevalencias de 5,2% para ITIAN y de 0,7% para IP⁷. Tampoco difieren sensiblemente de los obtenidos en el último gran estudio publicado de estas características para la población general española, en el que se citan prevalencias de 3,1% para ITIAN, 1,5% para ITINN y 6% para IP⁸. Por el contrario, sí que hay discordancia con otro estudio hecho en algunas prisiones de Madrid, en el que se refieren prevalencias de genotipos mutados en el 13% de las muestras en 1999 y del 15% en 2001⁹. Es difícil explicar estas diferencias, ya que el grupo de pacientes estudiado y el método de laboratorio empleado son similares. No parece suficiente causa para explicarlas los diferentes resultados obtenidos por diferentes laboratorios¹⁰. Por ello, creemos necesario un estudio nacional, con aleatorización de prisiones participantes y pacientes incluidos, que ayude a solventar esta cuestión.

El tipo de mutaciones encontradas entra dentro de la lógica. La detección de T215Y, asociada clásicamente a resistencia a zidovudina, probablemente expresa el largo tiempo de uso de este fármaco; lamivudina es el ITIAN de más baja barrera genética, por lo que la aparición de M184V también es lógica. El que aparezcan cuatro muestras que expresan mutaciones de resistencia de ITINN, es un dato consistente con la baja barrera genética de esta familia de fármacos y con una baja adherencia al tratamiento de los pacientes en prisión⁹, lo cual facilita la transmisión de virus resistentes. L90M es una mutación asociada, en mayor o menor grado, con resistencia a todos los IP⁴, por lo que tampoco es extraño que aparezca en nuestra serie.

Bibliografía

- Nájera I, Richman DD, Olivares I, Rojas JM, Peinado MA, Perucho M, et al. Natural occurrence of drug resistant mutations in the reverse transcriptase of human immunodeficiency virus type 1 isolates. *AIDS Res Human Retrov* 1994;10:1479-87.
- Hecht FM, Grant RM, Petropoulos CJ, Dillon B, Chesney MA, Tian H, et al. Sexual transmission of an HIV-1 variant resistant to multiple reverse-transcriptase and protease inhibitors. *N Engl J Med* 1998;339:307-11.
- Marco A, Caylá J, Humet V, Gallego C, Escribano M, Mangués J, et al. Estudio multicéntrico de incidencia de infección por VIH en reclusos de Barcelona. Evidencia de seroconversión en el medio penitenciario. III Congreso Nacional de Sanidad Penitenciaria. 26-28 Octubre 2000. Granada (España). [Abstract 21].
- DAquila RT, Schapiro JM, Brun-Vezinet F, Clotet B, Conway B, Demeter LM, et al. Drug Resistance Mutations in HIV-1. *Topics HIV Med* 2002;10:11-5.
- Devereux HL, Youle M, Johnson MA, Loveday C. Rapid decline in detectability of HIV-1 drug resistance mutations after stopping therapy. *AIDS* 1999;13:F123-7.
- Romano L, Venturi G, Carli T, Corsi P, Pippi L, Valensin PL, et al. Distribution of drug-resistant HIV-1 variants in plasma RNA and peripheral blood mononuclear cell DNA in patients on therapy and after treatment interruption. *Antiviral Ther* 2002;7(Suppl 1):92-3.
- García-Guerrero J, Herrero A, Vera E, Almenara JM, Araújo R, Saurí V, et al. Mutaciones de resistencia de virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 en pacientes no tratados de los centros Penitenciarios de la Comunidad Valenciana. Estudio REPRICOVA. *Med Clin (Barc)* 2002;118:247-50.
- Gallego O, Ruiz L, Vallejo A, Ferrer E, Rubio A, Clotet B, et al. Changes in the rate of genotypic resistance to antiretroviral drugs in Spain. *AIDS* 2001; 15:1894-6.
- Gallego O, Corral A, De Mendoza C, González-Lahoz J, Soriano V. Resistance to antiretroviral drugs among HIV-1 Infected Persons in Jail. High Impact of Low Treatment adherence. XIV Intern AIDS Conf, July 7-12, 2002. Barcelona, Spain. [Abstract WePeC6073].
- Schurman R, Brambilla D, De Groot T, Huang D, Land S, Bremer J, et al. Underestimation of HIV type 1 drug resistance mutations: Results from the ENVA-2 genotyping proficiency program. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2002;18:243-8.