

Tropismo del VIH

Eva Poveda

Servicio de Enfermedades Infecciosas

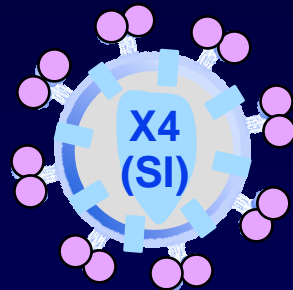
Hospital Carlos III, Madrid

Tropismo y práctica clínica

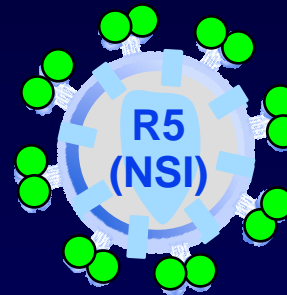
- Definición y asociación del tropismo con la progresión de la infección.
- Impacto del tropismo en la respuesta al tratamiento.
- Antagonistas de CCR5: determinación del tropismo en la práctica clínica.
- Prevalencia de variantes R5- y X4-trópicas en población VIH+: principales determinantes del tropismo viral.

HIV-1 co-receptor usage

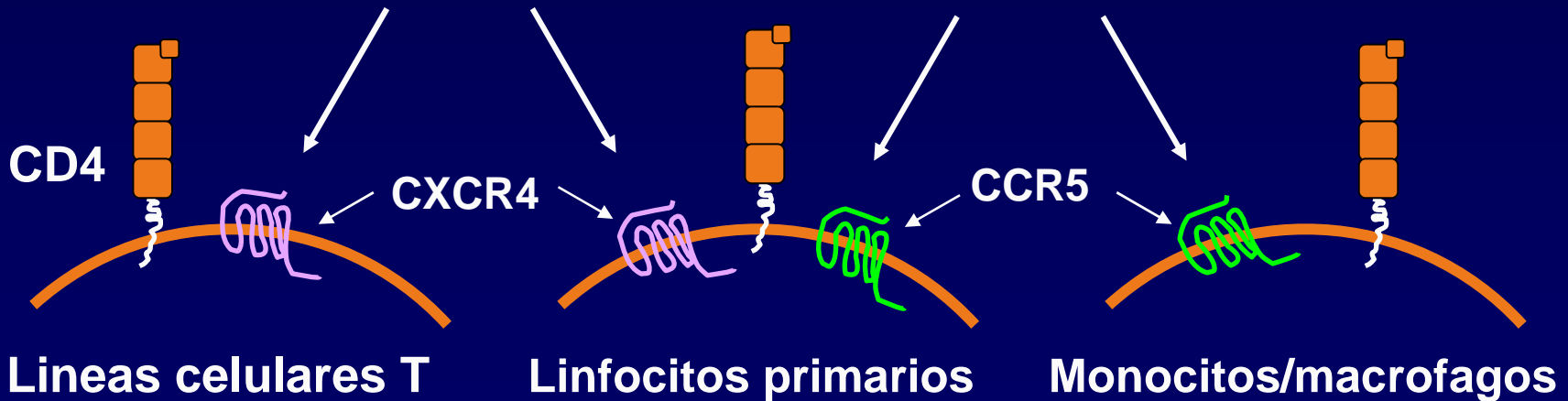
X4-Tropic



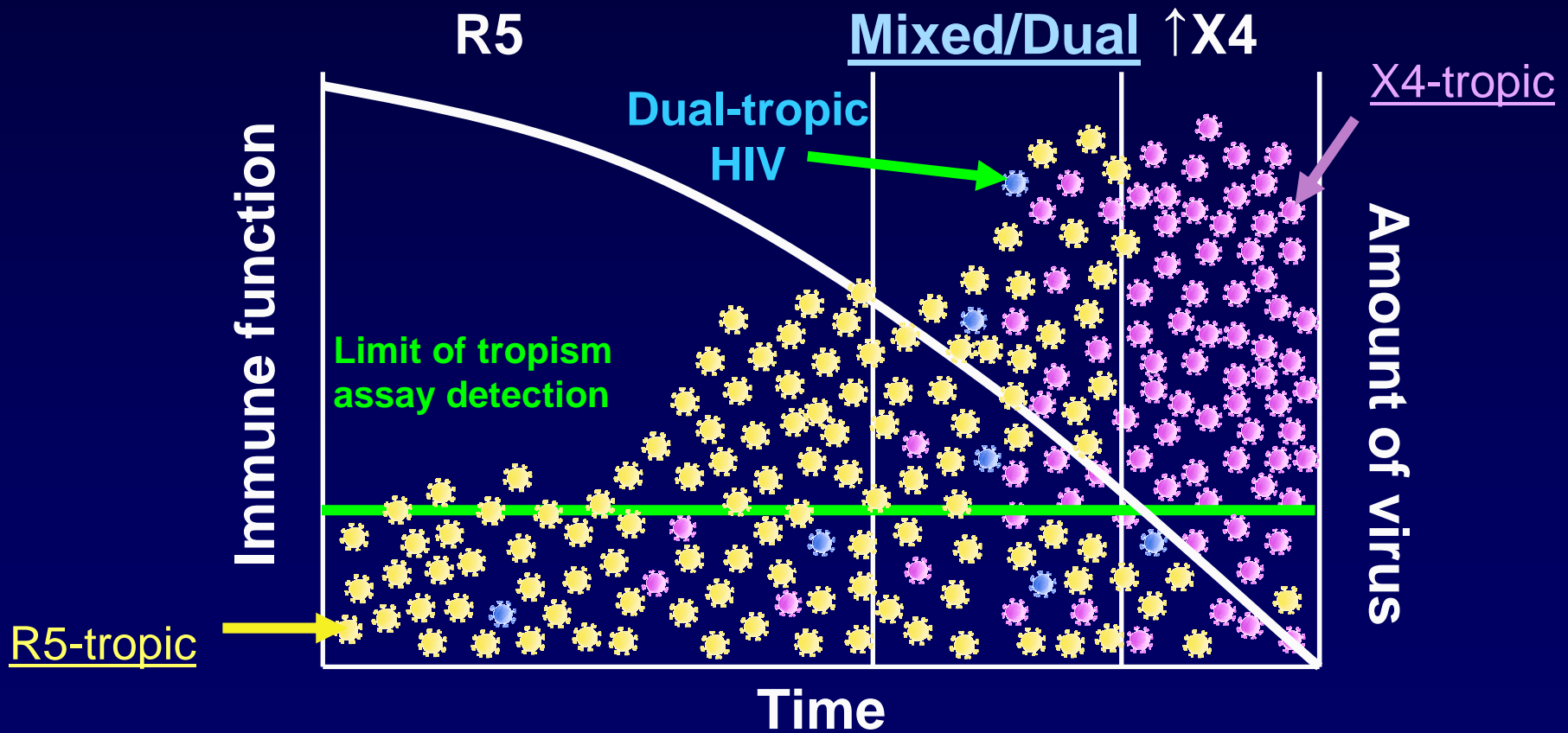
DM



R5-Tropic

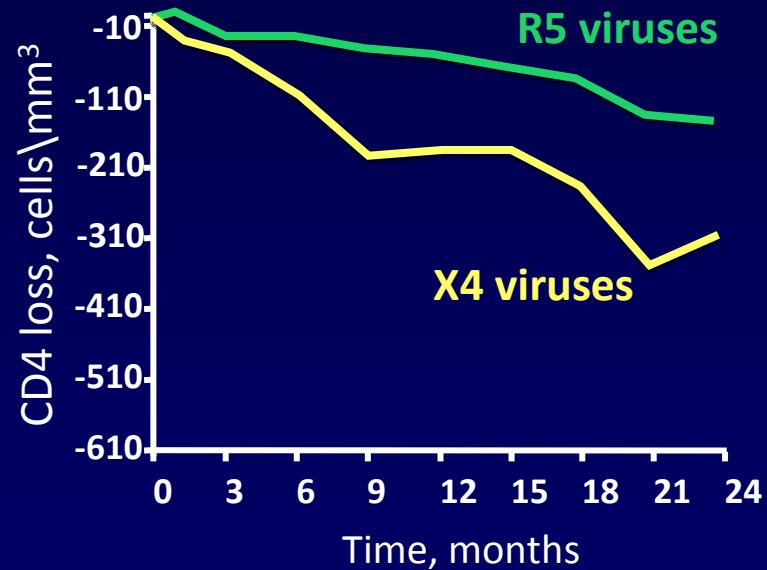


HIV tropism & Disease progression

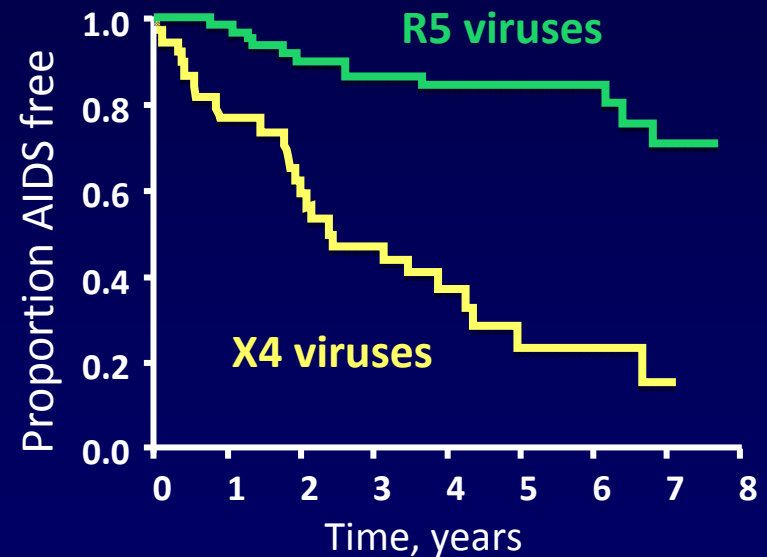


Viral tropism & Disease Progression: Drug-naïve patients

- In the absence of ARV therapy, the presence of **X4 viruses** has been associated with rapid CD4 decline and higher risk for developing AIDS.



Waters et al. CID 2008



Daar et al. CID 2007

Viral tropism & Disease Progression: Patients under ARV therapy

- Controversial results have been reported:

X4-tropic viruses are associated with poorer immunological recovery

Brumme et al. AIDS 2004
Weiser et al. AIDS 2008

Similar virologic and immunological response regardless viral tropism

Waters et al. CID 2008

- Lack of agreement might be due to heterogeneity in study populations (baseline VL or CD4 count), ARVs used or length of follow-up.

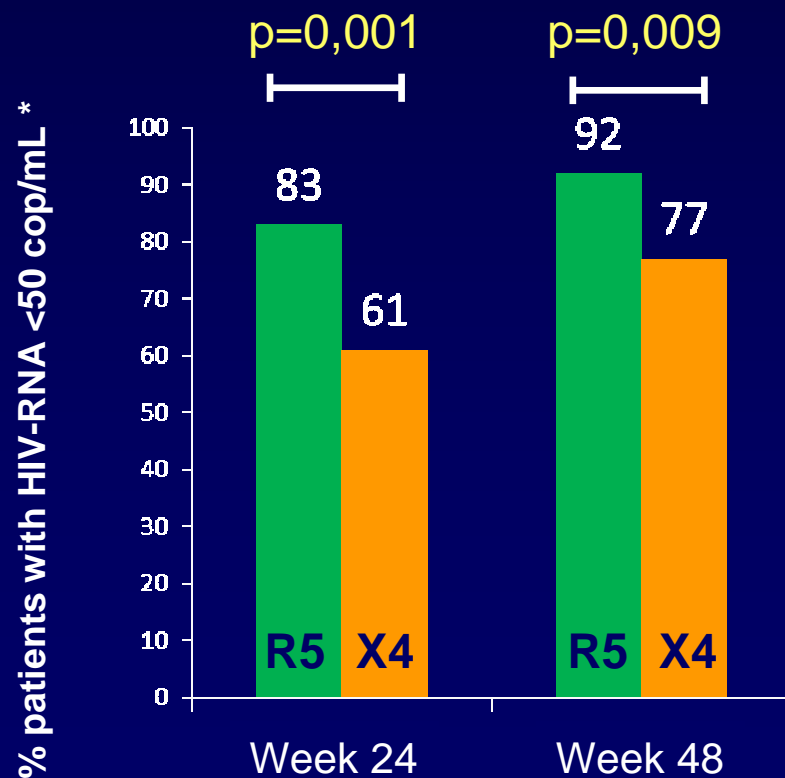
Impact of Baseline HIV-1 Tropism on Viral Response and CD4 Cell Count Gains in HIV-Infected Patients Receiving First-line Antiretroviral Therapy

Eduardo Seclén,¹ Vicente Soriano,¹ María M. González,¹ Luz Martín-Carbonero,¹ Holger Gellermann,² Manuel Distel,² Werner Kadus,² and Eva Poveda¹

¹Department of Infectious Diseases, Hospital Carlos III, Madrid, Spain; and ²Boehringer Ingelheim, Germany

Viral Tropism and Treatment Outcome • JID 2011;204 (1 July) • 139

ArTEN (ATZ/r vs NVP on a background of TDF+FTC)

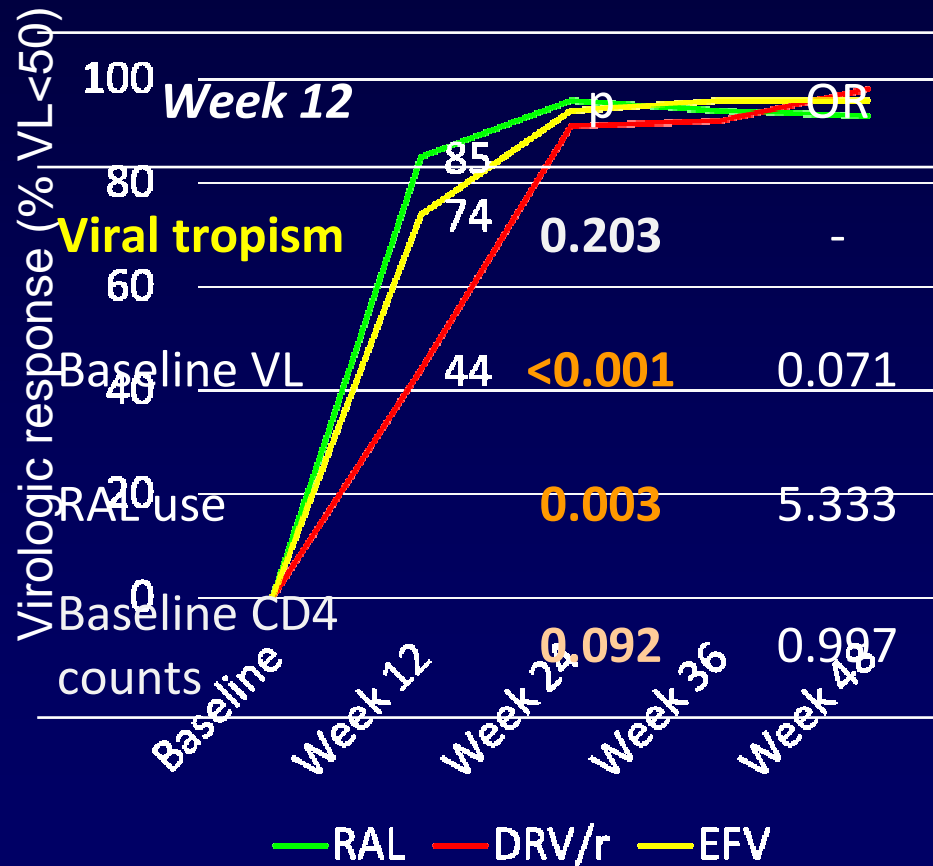


Multivariate analysis

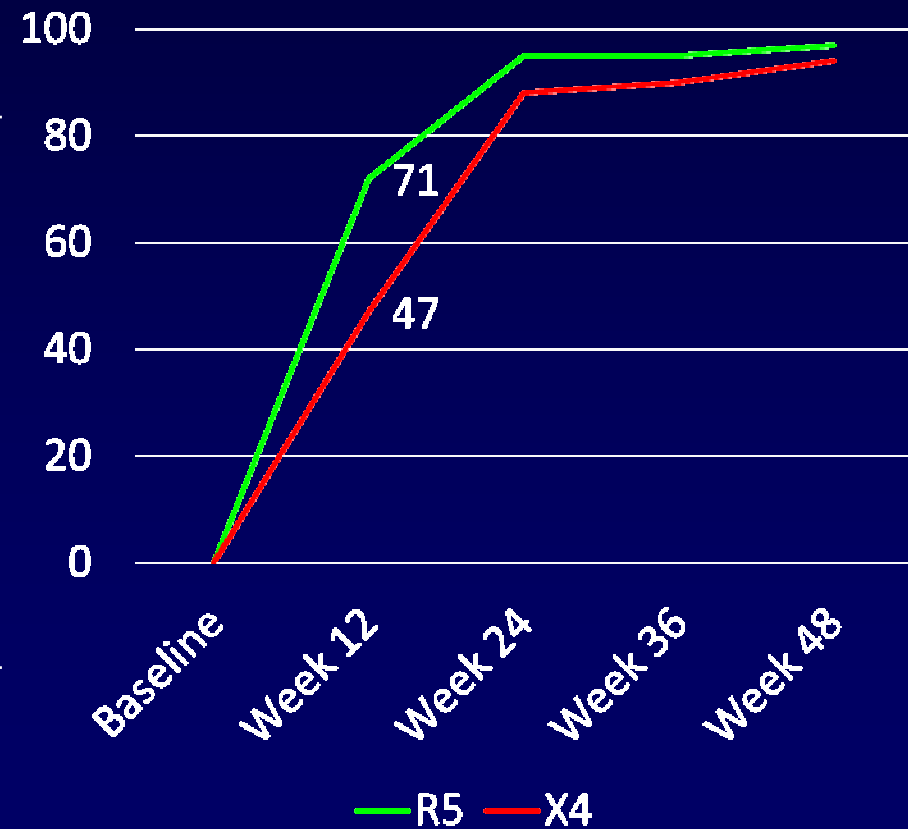
	Week 24	p	OR
Viral tropism		0.002	3.5
Baseline VL		<0.001	0.17
	Week 48	p	OR
Viral tropism		0.007	4.02
Baseline VL		0.009	0.22

Impact of Baseline HIV-1 tropism in HIV patients on first-line therapy with TDF/FTC plus RAL, DRV or EFV

Multivariate analysis of VR



Viral tropism

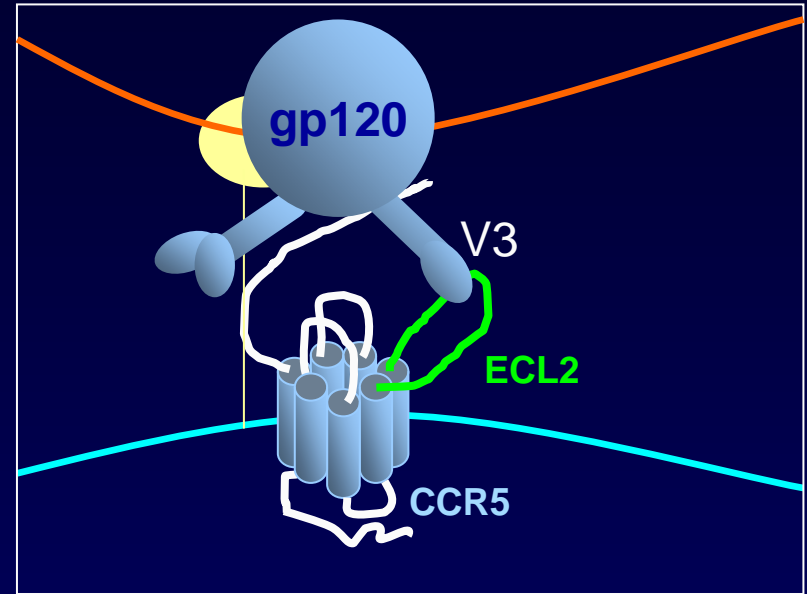
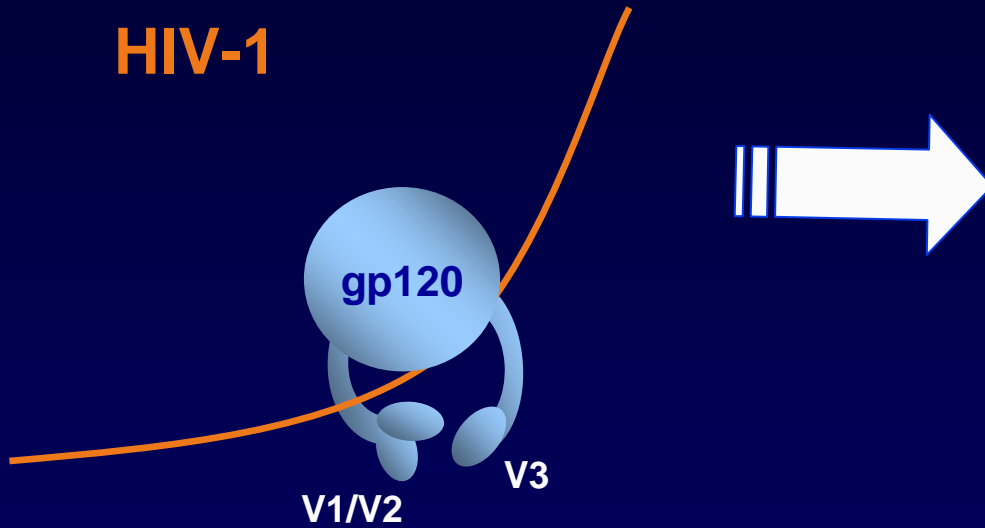


Conclusions

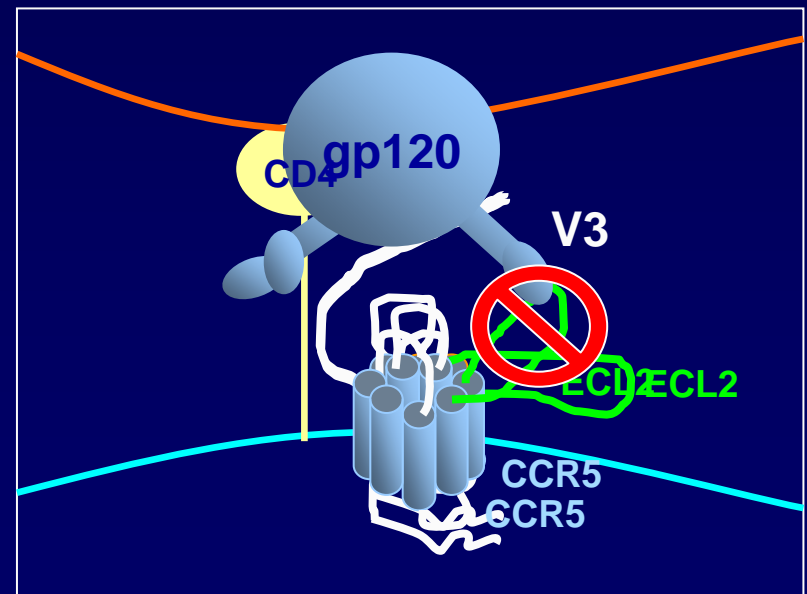
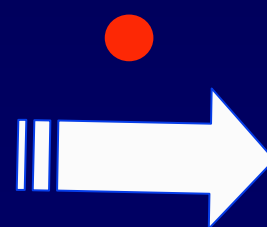
- Baseline viral tropism did not significantly influence viro/immunologic responses during the first year of treatment.
- The high potency of current ARV regimens might overcome any impact of HIV tropism on virological suppression.

CCR5 antagonists: Mechanism of action

HIV-1



+ MVC



T-cell

Tools for HIV tropism determination

Ensayos	Metodología	Limitaciones
Virus recombinantes		
ESTA-Trofile® (Monogram Biosciences, San Francisco, CA, USA)		
PhenoScript (Eurofins-VirAlliance, Kalamazoo, MI)	Generación de virus recombinantes a partir de la envuelta viral para posteriormente infectar células indicadoras que expresan independientemente el receptor CCR5 o CXCR4.	Necesidad de instalaciones y personal cualificado para su desarrollo en centros de referencia.
Antivirogram (Virco BVBA, Mechelen, Bélgica)		
PhenX-R (InPheno, Basel, Suiza)		
Tropitest HIV (Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España)		
Genotipo		
Regla 11/25	Identificación de residuos de aminoácidos en la región V3 de la envuelta viral que influyen en el uso viral del correceptor para entrar en la célula	Menor sensibilidad para detectar variantes X4-trópicas que el ensayo fenotípico de Trofile®. Sin embargo, las herramientas geno2pheno y PSSM han demostrado ser comparables a Trofile® y ESTA para predecir respuesta clínica a MVC.
Carga neta		
Webcat		
Geno2pheno _{coreceptor}		
WebPSSM		
Secuenciación profunda		
	Detecta variantes minoritarias mediante la secuenciación masiva y clonal de diferentes moléculas de DNA generadas a partir de la muestra original.	Es una tecnología sofisticada y altamente costosa fuera del alcance de la mayoría de los laboratorios especializados en el diagnóstico de VIH. Todavía no se ha establecido el umbral óptimo de detección de variantes X4-trópicas minoritarias para identificar pacientes respondedores a MVC.

Documento de Consenso para la

Determinación Genotípica del Tropismo del VIH en la práctica clínica Septiembre 2011.

**Eva Poveda¹, Roger Paredes², Santiago Moreno³, José Alcamí⁴, Juan Córdoba⁵,
Rafael Delgado⁶, Félix Gutiérrez⁷, Josep María Llibre⁸, Miguel García Deltoro⁹, José
Hernández Quero¹⁰, Federico Pulido¹¹, José Antonio Iribarren¹² y Federico García¹³.**

Desde la publicación del *Documento de Consenso para la Determinación Genotípica del Tropismo del VIH en julio de 2010*, se han presentado nuevos datos a través de publicaciones científicas o comunicaciones en diferentes congresos internacionales que son relevantes para la determinación genotípica del tropismo del VIH en la práctica clínica y que por tanto deben incorporarse al documento. En este sentido, los expertos que desarrollaron la primera versión se han reunido recientemente (mayo y junio 2011) con el fin de analizar los nuevos datos publicados e introducirlos de forma consensuada en esta nueva versión.

Tabla 4. Recomendaciones sobre las indicaciones clínicas y técnicas para la determinación genotípica del tropismo del VIH.

	Recomendación	Evidencia	Comentario
Indicación	Pacientes naïve que vayan a iniciar tratamiento antirretroviral (TAR)	BIII	Realizar lo más próximo posible al inicio del TAR siempre que se considere Maraviroc como una opción terapéutica.
	Pacientes pretratados	AIII	Se recomienda tras el fracaso a cualquier línea de tratamiento.
	Pacientes que requieran un cambio de tratamiento con carga viral indetectable	CIII	Se recomienda realizar a partir de ADN proviral si realiza en una muestra con viremia indetectable o a partir de una muestra de plasma congelada previa a la indetectabilidad. Los métodos genotípicos no permiten clasificar cepas DM. En el caso de que la interpretación se realice con geno2pheno se recomienda la inclusión del FPR en el informe como comentario. Indicar si se trata de un subtipo no-B.
Informe resultados	Tropismo R5/Tropismo X4	AIII	Permite tener en cuenta el uso de antagonistas de CCR5 en la toma de decisiones terapéuticas.
	En paralelo al informe de resistencias al resto de antirretrovirales (ITIAN, ITINAN, IP, IN, e IE)	AIII	
Interpretación	Geno2pheno FPR=10% y/o (http://coreceptor.bioinf.mpi-inf.mpg.de/)	AII	En el caso de que el genotipado de V3 se realice en una única PCR.
	PSSM X4R5/SINSI (http://indra.mullins.microbiol.washington.edu/webpssm/)		
	Geno2pheno FPR=5.75%	AII	En el caso de que el genotipado de V3 se realice por triplicado.
Volumen de partida	≥500 µL de plasma	AII	Mejora la sensibilidad para la detección de variantes X4-trópicas.
ADN proviral	Si carga viral ≤ 500 copias/mL, o ausencia de amplificación en plasma.	BII	Existen datos de buena respuesta clínica a maraviroc empleando esta metodología y utilizando FPR comprendidos entre el 10-20% para la interpretación.
	Interpretación: geno2pheno 10-20%	BII	
Análisis de secuencias	Considerar las mezclas nucleotídicas (expansión).	AIII	Incrementa la sensibilidad para la detección de variantes X4-trópicas.
	Si ≥8 Mezclas, rechazar/ re-secuenciar	AIII	La heterogeneidad de la secuencia puede provocar errores de interpretación.
Subtipos no-B	Alertar en el informe de tropismo sobre la peor correlación entre genotipo y fenotipo para determinar el tropismo viral en subtipos no-B. Interpretación: igual que para subtipos B, excepto para variantes de subtipo C para las que se recomienda utilizar la "matriz C" de PSSM.	AIII	La correlación entre genotipo y fenotipo en la detección de variantes X4-trópicas es menor en muestras de subtipos no-B que en muestras de subtipos B. Además, la mayor variabilidad de la secuencia V3 en subtipos no-B puede provocar errores de interpretación. Hasta la fecha no hay estudios de validación clínica de herramientas genotípicas o fenotípicas para identificar pacientes respondedores a Maraviroc en pacientes infectados con subtipo no-B.

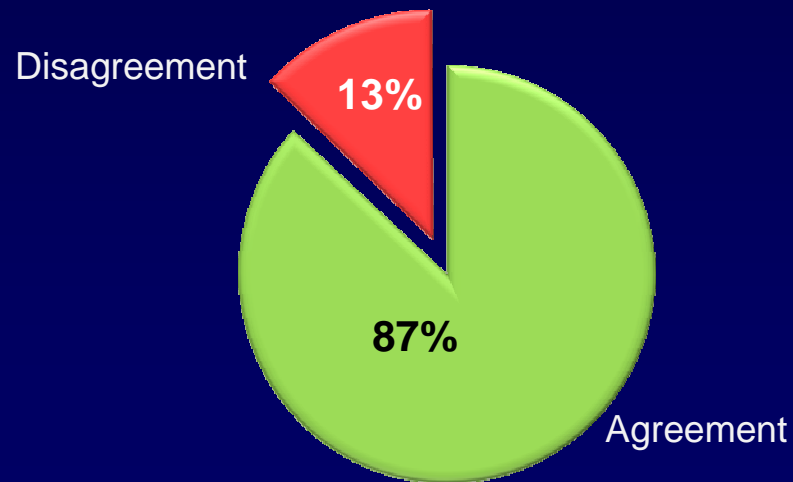
A: Muy recomendable; B: recomendable; C: considerar.
Grado de evidencia. I: Ensayo clínico aleatorizado; II: Cohortes, ensayos no aleatorizados; III: Opinión de expertos.

High Concordance between the Position-Specific Scoring Matrix and Geno2pheno Algorithms for Genotypic Interpretation of HIV-1 Tropism: V3 Length as the Major Cause of Disagreement[∇]

Eduardo Seclén,¹ Vicente Soriano,¹ María M. González,¹ Sagrario Gómez,¹
Alexander Thielen,² and Eva Poveda^{1*}

*Department of Infectious Diseases, Hospital Carlos III, Madrid, Spain,¹ and Max Plank Institute for
Informatics, Saarbrücken, Germany²*

Geno2pheno_{FPR=10%} vs. WebPSSM_{X4/R5}



Geno2pheno_{FPR=10%} vs. WebPSSM_{SI/NSI}

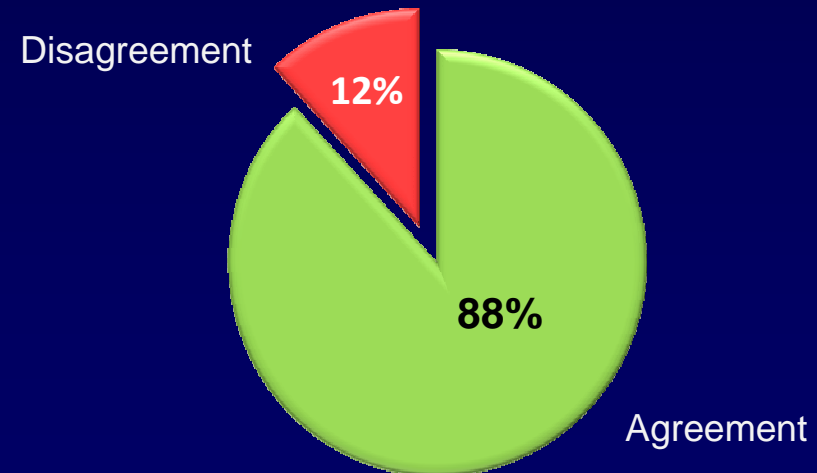


Tabla 4. Recomendaciones sobre las indicaciones clínicas y técnicas para la determinación genotípica del tropismo del VIH.

	Recomendación	Evidencia	Comentario
Indicación	Pacientes naïve que vayan a iniciar tratamiento antirretroviral (TAR)	BIII	Realizar lo más próximo posible al inicio del TAR siempre que se considere Maraviroc como una opción terapéutica.
	Pacientes pretratados	AIII	Se recomienda tras el fracaso a cualquier línea de tratamiento.
	Pacientes que requieran un cambio de tratamiento con carga viral indetectable	CIII	Se recomienda realizar a partir de ADN proviral si realiza en una muestra con viremia indetectable o a partir de una muestra de plasma congelada previa a la indetectabilidad.
Informe resultados	Tropismo R5/Tropismo X4	AIII	Los métodos genotípicos no permiten clasificar cepas DM. En el caso de que la interpretación se realice con geno2pheno se recomienda la inclusión del FPR en el informe como comentario. Indicar si se trata de un subtipo no-B.
	En paralelo al informe de resistencias al resto de antirretrovirales (ITIAN, ITINAN, IP, IN, e IF)	AIII	Permite tener en cuenta el uso de antagonistas de CCR5 en la toma de decisiones terapéuticas.
Interpretación	Geno2pheno FPR=10% y/o (http://coreceptor.bioinf.mpi-inf.mpg.de/)	AII	En el caso de que el genotipado de V3 se realice en una única PCR.
	PSSM X4R5/SINSI (http://indra.mullins.microbiol.washington.edu/webpssm/)		
	Geno2pheno FPR=5.75%	AII	En el caso de que el genotipado de V3 se realice por triplicado.
Volumen de partida	≥500 µL de plasma	AII	Mejora la sensibilidad para la detección de variantes X4-trópicas.
ADN proviral	Si carga viral ≤ 500 copias/mL, o ausencia de amplificación en plasma.	BII	Existen datos de buena respuesta clínica a maraviroc empleando esta metodología y utilizando FPR comprendidos entre el 10-20% para la interpretación.
	Interpretación: geno2pheno 10-20%	BII	
Análisis de secuencias	Considerar las mezclas nucleotídicas (expansión).	AIII	Incrementa la sensibilidad para la detección de variantes X4-trópicas.
	Si ≥8 Mezclas, rechazar/ re-secuenciar	AIII	La heterogeneidad de la secuencia puede provocar errores de interpretación.
Subtipos no-B	Alertar en el informe de tropismo sobre la peor correlación entre genotipo y fenotipo para determinar el tropismo viral en subtipos no-B. Interpretación: igual que para subtipos B, excepto para variantes de subtipo C para las que se recomienda utilizar la "matriz C" de PSSM.	AIII	La correlación entre genotipo y fenotipo en la detección de variantes X4-trópicas es menor en muestras de subtipos no-B que en muestras de subtipos B. Además, la mayor variabilidad de la secuencia V3 en subtipos no-B puede provocar errores de interpretación. Hasta la fecha no hay estudios de validación clínica de herramientas genotípicas o fenotípicas para identificar pacientes respondedores a Maraviroc en pacientes infectados con subtipo no-B.

A: Muy recomendable; B: recomendable; C: considerar.

Grado de evidencia. I: Ensayo clínico aleatorizado; II: Cohortes, ensayos no aleatorizados; III: Opinión de expertos.

ESTUDIO PROTEST

USO DEL TROPISMO GENOTÍPICO DEL VIH-1 A PARTIR DE ADN PROVIRAL PARA GUIAR EL TRATAMIENTO CON ANTAGONISTAS DEL CCR5 EN SUJETOS CON CARGA VIRAL DE VIH-1 INDETECTABLE

Ensayo clínico multicéntrico (27 centros), prospectivo, y no controlado con pacientes infectados por VIH con tropismo R5 determinado genotípicamente en ADN proviral.

Promotor:

Fundació Lluita contra la SIDA

Investigadores coordinadores:

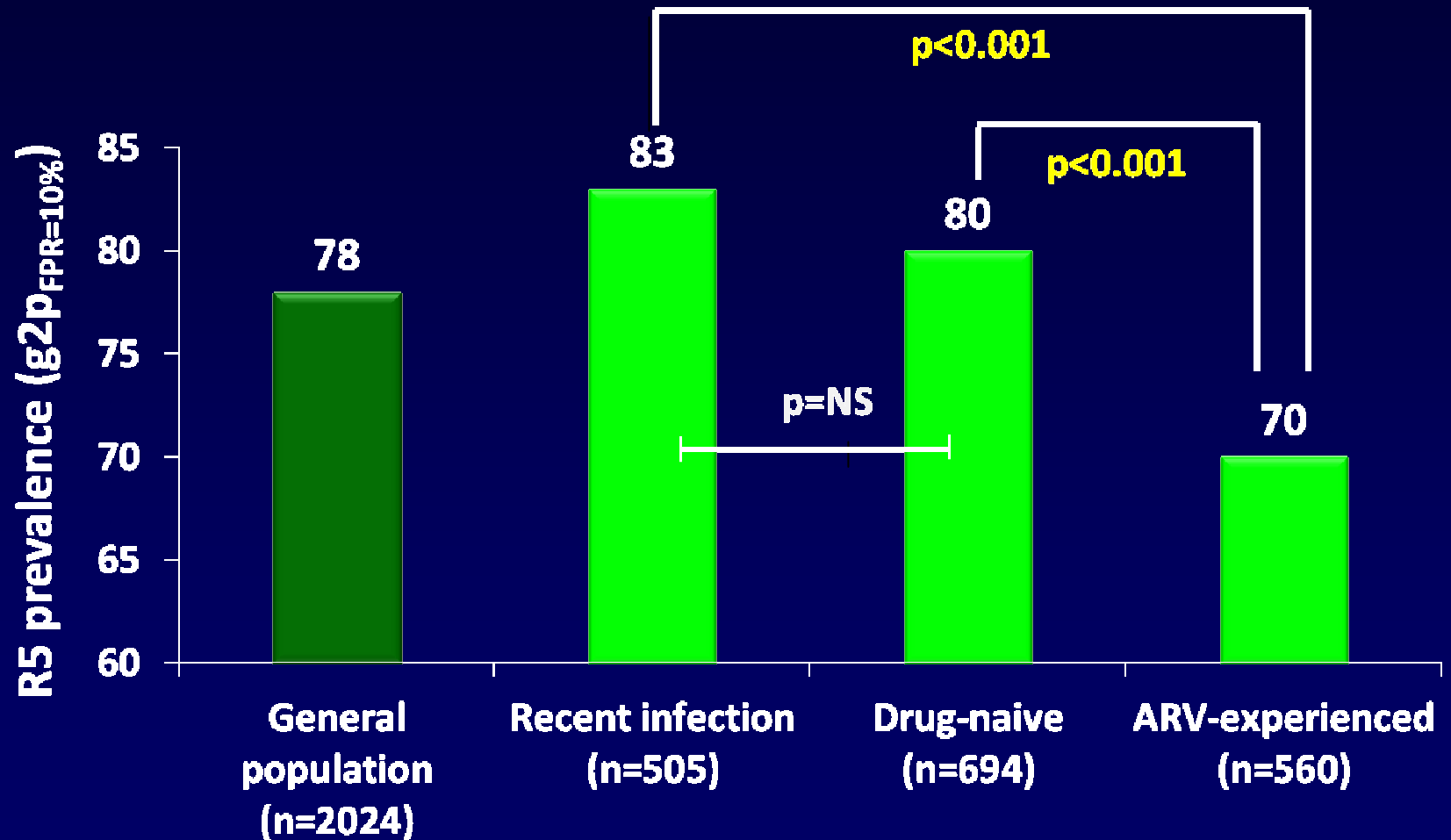
Dr. Roger Paredes, Dra. Eva Poveda, Dr. Federico García

Tabla 4. Recomendaciones sobre las indicaciones clínicas y técnicas para la determinación genotípica del tropismo del VIH.

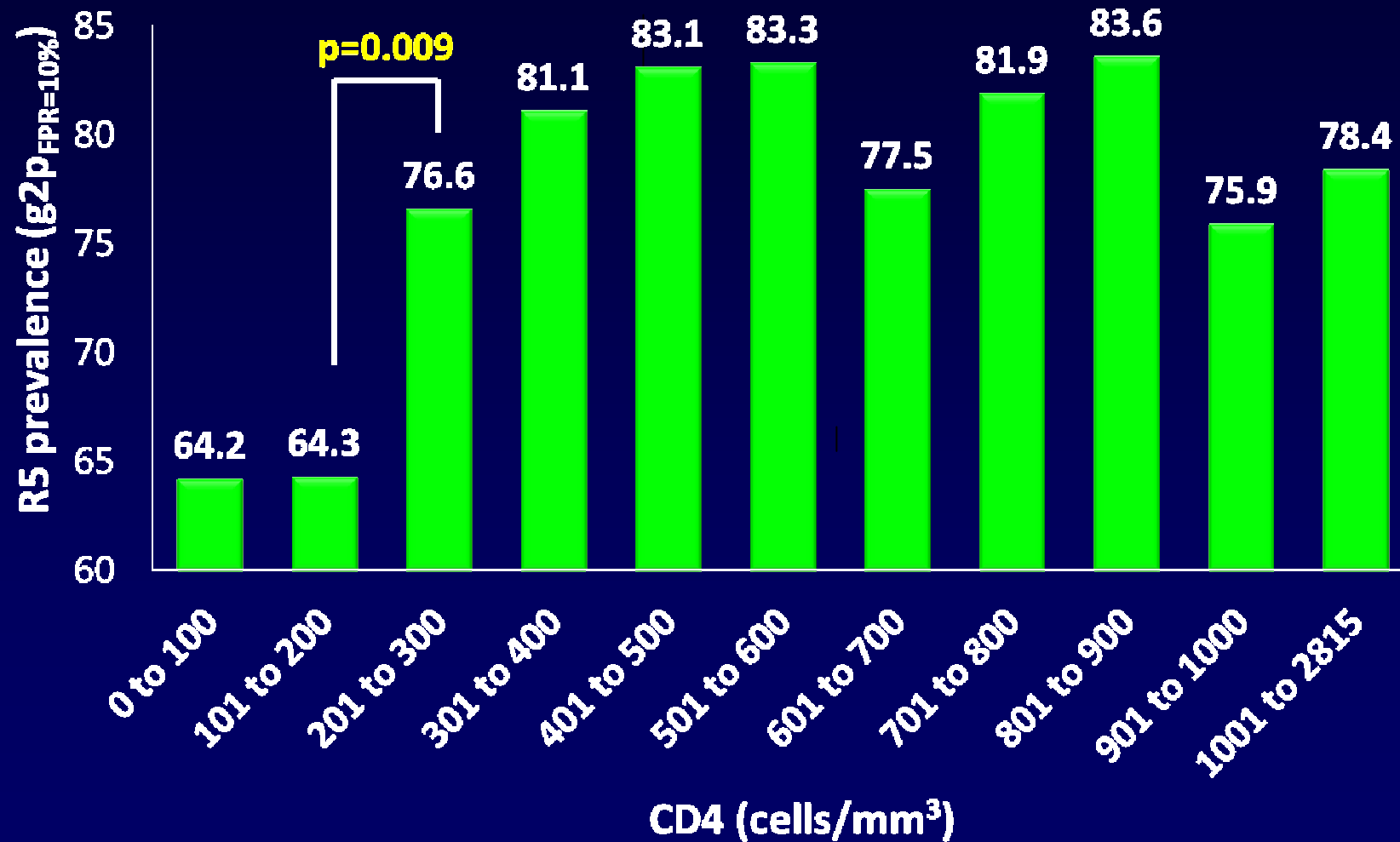
	Recomendación	Evidencia	Comentario
Indicación	Pacientes naïve que vayan a iniciar tratamiento antirretroviral (TAR)	BIII	Realizar lo más próximo posible al inicio del TAR siempre que se considere Maraviroc como una opción terapéutica.
	Pacientes pretratados	AIII	Se recomienda tras el fracaso a cualquier línea de tratamiento.
	Pacientes que requieran un cambio de tratamiento con carga viral indetectable	CIII	Se recomienda realizar a partir de ADN proviral si realiza en una muestra con viremia indetectable o a partir de una muestra de plasma congelada previa a la indetectabilidad.
Informe resultados	Tropismo R5/Tropismo X4	AIII	Los métodos genotípicos no permiten clasificar cepas DM. En el caso de que la interpretación se realice con geno2pheno se recomienda la inclusión del FPR en el informe como comentario. Indicar si se trata de un subtipo no-B.
	En paralelo al informe de resistencias al resto de antirretrovirales (ITIAN, ITINAN, IP, IN, e IF)	AIII	Permite tener en cuenta el uso de antagonistas de CCR5 en la toma de decisiones terapéuticas.
Interpretación	Geno2pheno FPR=10% y/o (http://coreceptor.bioinf.mpi-inf.mpg.de/)	AII	En el caso de que el genotipado de V3 se realice en una única PCR.
	PSSM X4R5/SINSI (http://indra.mullins.microbiol.washington.edu/webpssm/)		
	Geno2pheno FPR=5.75%	AII	En el caso de que el genotipado de V3 se realice por triplicado.
Volumen de partida	≥500 µL de plasma	AII	Mejora la sensibilidad para la detección de variantes X4-trópicas.
ADN proviral	Si carga viral ≤ 500 copias/mL, o ausencia de amplificación en plasma.	BII	Existen datos de buena respuesta clínica a maraviroc empleando esta metodología y utilizando FPR comprendidos entre el 10-20% para la interpretación.
	Interpretación: geno2pheno 10-20%	BII	
Análisis de secuencias	Considerar las mezclas nucleotídicas (expansión).	AIII	Incrementa la sensibilidad para la detección de variantes X4-trópicas.
	Si ≥8 Mezclas, rechazar/ re-secuenciar	AIII	La heterogeneidad de la secuencia puede provocar errores de interpretación.
Subtipos no-B	Alertar en el informe de tropismo sobre la peor correlación entre genotipo y fenotipo para determinar el tropismo viral en subtipos no-B. Interpretación: igual que para subtipos B, excepto para variantes de subtipo C para las que se recomienda utilizar la "matriz C" de PSSM.	AIII	La correlación entre genotipo y fenotipo en la detección de variantes X4-trópicas es menor en muestras de subtipos no-B que en muestras de subtipos B. Además, la mayor variabilidad de la secuencia V3 en subtipos no-B puede provocar errores de interpretación. Hasta la fecha no hay estudios de validación clínica de herramientas genotípicas o fenotípicas para identificar pacientes respondedores a Maraviroc en pacientes infectados con subtipo no-B.

A: Muy recomendable; B: recomendable; C: considerar.
Grado de evidencia. I: Ensayo clínico aleatorizado; II: Cohortes, ensayos no aleatorizados; III: Opinión de expertos.

Prevalence of R5-tropic viruses in a recent large cohort of HIV-1 patients – Which are the current determinants of viral tropism?



Patients with CD4 counts > 200 cells/ μ l harbour the highest rate of R5 viruses regardless ARV-treatment exposure



Seclén et al, EDRW 2012 (submitted)

Conclusions

- The prevalence of R5 viruses is higher in ARV-naive than ARV-experienced subjects.
- Patients with CD4 counts > 200 cells/mm³ harbour the highest rates of R5 viruses (80%), regardless ARV treatment exposure.
- These results support a potential broader use of CCR5 antagonists in the current HIV population.