

# Tratamiento antirretroviral según tipos y subtipos del virus de la inmunodeficiencia humana

Pablo Rivas<sup>a</sup>, África Holguín<sup>a</sup>, Eva Ramírez de Arellano<sup>a</sup>, Carmen Muñoz-Almagro<sup>b</sup>, Rafael Delgado<sup>c</sup>, Raúl Ortiz de Lejarazu<sup>d</sup>, Vicente Soriano<sup>a</sup>, por el Grupo de Estudio del Sida (GeSIDA)

<sup>a</sup>Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Carlos III. Madrid. España. <sup>b</sup>Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Sant Joan De Déu. Barcelona. España. <sup>c</sup>Servicio de Microbiología. Hospital 12 de Octubre. Madrid. España. <sup>d</sup>Servicio de Microbiología. Hospital Clínico Universitario. Valladolid. España.

Los virus del subtipo B del grupo M son las variantes más prevalentes del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) tipo 1 en los países occidentales. El desarrollo del tratamiento antirretroviral y la mayoría de los datos que conocemos sobre mecanismos de resistencia del VIH se han basado en el estudio de cepas del subtipo B. Sin embargo, en el global de la epidemia, predominan otros subtipos como el A y el C, así como formas recombinantes entre subtipos como son las variantes CRF01\_AE y CRF02\_AG, entre otros. Además, la prevalencia de estos subtipos no-B y de recombinantes está aumentando en los países desarrollados, favorecido principalmente por los movimientos migratorios y el turismo. Las diferencias genéticas entre subtipos podrían tener impacto en la respuesta al tratamiento antirretroviral y en el desarrollo de distintas vías de resistencia, aunque las evidencias clínicas en este sentido son aún limitadas. Se revisan a continuación algunas características de los diferentes subtipos que pueden tener influencia en la respuesta al tratamiento antirretroviral.

**Palabras clave:** Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Tratamiento antirretroviral de gran actividad. Subtipos del VIH.

Antiviral therapy according to HIV type and subtype

HIV-1 group M subtype B viruses are the most prevalent variants in Western countries. Antiretroviral therapies have been developed using subtype B isolates. Most data on HIV drug resistance mechanisms are from clade B viruses. However, overall, subtypes A and C and circulating recombinant forms such as CRF01\_AE y CRF02\_AG predominate in the global epidemic. In addition, the prevalence of these non-B subtypes and of recombinant forms is increasing in developed countries, mainly due to migration and tourism. Genetic variability

among subtypes could have an impact on therapy outcome and on the development of drug resistance, although clinical evidence remains limited. We review some characteristics of the various subtypes that could influence therapy outcome.

**Key words:** HIV. Highly Active Antiretroviral Therapy. HIV subtypes.

## Introducción

El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) tiene una gran variabilidad genética y se puede clasificar en numerosos subtipos con una distribución geográfica muy diferente<sup>1,2</sup>. El subtipo B dentro del grupo M del VIH tipo 1 (VIH-1) es el más prevalente en los países desarrollados de Europa y América. Este es el subtipo más ampliamente estudiado y del que existe mayor conocimiento, tanto de sus características biológicas como de su respuesta al tratamiento antirretroviral (TAR). Sin embargo, la inmensa mayoría de casos de infección por el VIH-1 en el mundo se origina por el resto de subtipos, llamados genéricamente no-B y de recombinantes intersubtipo<sup>2</sup>. Además, la prevalencia de estos subtipos en nuestro entorno es cada vez mayor y es probable que aumente en el futuro debido a fenómenos como el turismo y la inmigración<sup>3</sup>. Los conocimientos sobre la transmisibilidad de los subtipos no-B, el curso de la infección o su respuesta al tratamiento son aún limitados. A continuación revisamos algunas características de los diferentes subtipos que pueden tener implicaciones en la práctica clínica.

## Tipos y subtipos del virus de la inmunodeficiencia humana

El VIH pertenece a la familia de los *lentivirus* y se clasifica en 2 tipos: el VIH-1 y el VIH-2. Ambos provienen de diferentes saltos interespecie de virus que infectan de manera natural a poblaciones de simios en África. El VIH-2 es más cercano filogenéticamente al virus de la inmunodeficiencia del sooty mangabey (SIVsm), con el que tiene una gran homología genética. El VIH-1 proviene del virus que infecta naturalmente a la variedad de chimpancé que habita en el sur de Camerún (SIVcpzPtt). El VIH-1 y el VIH-2 tienen un 40-50% de homología genética y una organización genómica similar<sup>4</sup>. El VIH-1 es el causante de

Correspondencia: Dr. P. Rivas.  
Servicio de Enfermedades Infecciosas.  
Hospital Carlos III de Madrid.  
Silesio Delgado, 10. 28029 Madrid. España.  
Correo electrónico: pablorivas@hotmail.com

TABLA 1. Clasificación del virus de la inmunodeficiencia humana

Tipo	Grupo	Subtipos y recombinantes
VIH-1	M	9 (A, B, C, D, F, G, H, J, K) 32 CRF <sup>a</sup> : (01_AE, 02_AG, 03_AB, 04_AGHKU, 05_DF, 06_AGJK, 07_BC, 08_BC, 09, 10_CD, 11_A01GJ, 12_BF, 13_A01GJU, 14_BG, 15_01B, 16_A2D, 17_BF1, 18, 19, 20_BG, 21_A2D, 22_01A1, 23_01A1, 24_BG, 25_BG, 26_AG, 27, 28, 29_BF, 30_BF, 31_0206, 32_02A1) Múltiples URF <sup>b</sup>
	O	
	N	
VIH-2	-	8 (A, B, C, D, E, F, G, H)

<sup>a</sup>CRF: formas recombinantes circulantes.

<sup>b</sup>URF: formas recombinantes únicas.

Tabla disponible en: <http://hiv-web.lanl.gov/content/hiv-db/REVIEWS/RefSeqs2005/RefSeqs05.html>

la pandemia mundial, mientras que el VIH-2, que se considera menos patógeno y menos transmisible, se encuentra confinado principalmente a zonas del África Occidental. En España hasta diciembre de 2004 se habían comunicado 124 casos de VIH-2, la mayoría en inmigrantes africanos<sup>5</sup>.

Las cepas del VIH-1 se han clasificado en 3 grandes grupos según su homología genética, empleando fundamentalmente los genes *env* y *gag* y más recientemente *pol*<sup>2</sup>. Éstos son el grupo M (*main* o principal), el grupo O (*outlier*), y el grupo N (no M, no O). El grupo M se ha dividido en 9 subtipos (A, B, C, D, F, G, H, J, K) y en cepas recombinantes entre ellos, denominadas formas recombinantes circulantes (CRF) o formas recombinantes únicas (URF). Las CRF se forman por fragmentos genómicos de distintos subtipos y se caracterizan por tener puntos de recombinación comunes y conocidos, así como por haber sido reconocidos en más de 3 individuos no relacionados epide-

miológicamente. Las URF se han encontrado en individuos aislados o en grupos de personas infectadas relacionadas epidemiológicamente, y no comparten los puntos de recombinación intersubtipo con las CRF conocidas, lo que no permite agruparlas con ellas. Actualmente se han descrito 32 CRF y su número se incrementa constantemente<sup>6</sup>. Las CRF se denominan por un número de orden y por los subtipos genéticos que los han originado (tabla 1).

Ciertos virus del grupo M del VIH-1 causan el 90% de las infecciones por el VIH. Dentro de este grupo, las cepas del subtipo B predominan en Europa y América. Sin embargo, al menos el 25% de las nuevas infecciones en Europa se producen por variantes no-B procedentes de África y Asia<sup>7</sup>, siendo los subtipos A, C y los recombinantes CRF01\_AE y CRF02\_AG las variantes más frecuentes en África y en Asia. Es en esos continentes, principalmente en el África subsahariana, donde se concentra el mayor número de casos del VIH y donde la epidemia se está extendiendo más rápidamente (tabla 2)<sup>7,8</sup>. Los grupos O y N del VIH-1 son muy minoritarios y se encuentran confinados principalmente en África Occidental. En España, al igual que en el resto de Europa y América, predomina el subtipo B, aunque se está observando una prevalencia creciente de subtipos no-B en los últimos años. Dentro de ellos, predomina el subtipo G y el CRF02\_AG, encontrados sobre todo en pacientes provenientes de África Occidental y Central<sup>3,9</sup>, aunque se han descrito casos de todos los subtipos, varias CRF y múltiples URF, incluso en población no inmigrante.

## Implicaciones clínicas de la variabilidad genética del virus de la inmunodeficiencia humana

La gran variabilidad genética del VIH puede hacer que los diferentes subtipos tengan diferentes características biológicas que les confieran distinta capacidad replicativa, tropismo celular, susceptibilidad a fármacos, etc. En la práctica clínica estos cambios genéticos podrían alterar la capacidad de transmisión persona a persona del VIH, el curso de la enfermedad que producen, o la respuesta al tratamiento. Por otro lado, la presencia de subtipos no-B del VIH puede dar lugar a problemas de diagnóstico basado en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y errores en las técnicas de cuantificación viral que se han desarrollado tomando como referencia subtipos B del VIH-1. Aunque las técnicas actuales de detección de anticuerpos frente al VIH muestran una elevada sensibilidad en la detección de los 2 virus y los distintos grupos y subtipos de VIH-1, no ocurre lo mismo con alguna de las técnicas moleculares que utilizamos para el diagnóstico temprano de la transmisión vertical. La técnica clásica de detección del provirus ADN puede presentar falsos negativos para el diagnóstico temprano de la transmisión vertical de algunos subtipos no-B. Las técnicas de ARN amplían la cobertura de la detección a otros subtipos. Por ejemplo, la prueba Monitor HIV-1 versión 1.5 de Roche detecta correctamente los subtipos A-G del grupo M, Branched DNA de laboratorios Bayer, los subtipos A-F, y Nasba de Biomerieux, los subtipos A-H, pero podrían infravalorar la carga viral de otros subtipos no B. Actual-

TABLA 2. Distribución de los subtipos del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 y de las formas recombinantes circulantes (CRF) mayoritarias

Subtipo/CRF	Prevalencia global	Distribución
A	Alta	África Oriental, Europa del Este, Asia Central
B	Baja	América, Europa Occidental, Australia, Japón
C	Alta	Sur de África y África Oriental, India, China, Nepal
D	Baja	África Oriental
F	Baja	América del Sur, África Central, Europa del Este
G	Baja	África Central
H	Baja	África Central
J	Baja	África Central
K	Baja	África Central
CRF01_AE	Alta	Sudeste de Asia
CR02_AG	Alta	África Occidental y Central

Adaptada de Geretti<sup>8</sup>.

mente las nuevas plataformas basadas en tecnología Real-Time PCR son prometedoras para la adecuada detección de todos los subtipos del VIH-1.

Igualmente, el diseño y el uso de vacunas frente al VIH-1 deberían tener en cuenta la existencia de los distintos subtipos y formas recombinantes del virus, así como su distribución geográfica. De esa manera, se podría mejorar su eficacia.

En lo que se refiere a la respuesta al tratamiento, la mayoría de lo que se conoce sobre el uso de antirretrovirales procede de estudios realizados en América del Norte, Europa y Australia, donde predomina el subtipo B. La experiencia es muy limitada en los países en desarrollo donde predominan otros subtipos, por lo que la influencia de este factor en la respuesta al tratamiento no es bien conocida.

## Influencia de la variabilidad genética en la respuesta al tratamiento antirretroviral

En el ámbito molecular, los subtipos del VIH-1 varían en un 10-12% de sus nucleótidos y en un 5-6% de los aminoácidos en la retrotranscriptasa (RT) y la proteasa (PR), que son las principales enzimas diana del TAR. Estos cambios genéticos en el gen *pol*, que codifica la RT y la PR, podrían conferir resistencias a distintos antirretrovirales, o incluso a las familias enteras de inhibidores de la RT e inhibidores de la PR, o facilitar el desarrollo de éstas<sup>7</sup>. Sin embargo, hay que tener en cuenta que, en general, las mutaciones de resistencia de los subtipos B también confieren resistencia a los subtipos no-B y, de momento, no hay evidencia de que los subtipos no-B seleccionen mutaciones primarias (o mayores) nuevas y distintas que los B<sup>10</sup>.

En la práctica, las diferencias más evidentes entre subtipos se refieren al VIH-2 y a muchas cepas del grupo O del VIH-1 que de forma natural son resistentes a inhibidores de la RT no análogos de los nucleósidos. Esto se debe a mutaciones naturales en la posición 181 de la RT: la Y181I en el VIH-2 y la Y181C en el grupo O<sup>7,11</sup>. Estas mutaciones se consideran mutaciones de resistencia primarias porque por sí mismas reducen la susceptibilidad del virus al fármaco. El VIH-2 también es resistente de forma natural al inhibidor de la fusión enfuvirtida y podría tener una susceptibilidad reducida al amprenavir y al nelfinavir<sup>12,13</sup>. Recientemente se ha descrito la mutación V47A asociada al fracaso con lopinavir/ritonavir en pacientes con VIH-2 que, además de una alta resistencia fenotípica al lopinavir, puede conferir resistencia cruzada a indinavir y amprenavir e hipersusceptibilidad a saquinavir<sup>14</sup>. El grupo O, por su parte, es sensible a la enfuvirtida, aunque existe poca experiencia<sup>15</sup>.

En los subtipos no-B del grupo M del VIH-1, no hay una mayor frecuencia de mutaciones de resistencia primarias en proporciones apreciables en comparación con los subtipos B. Sin embargo, es más frecuente la existencia de polimorfismos y mutaciones secundarias en posiciones asociadas a resistencia tanto en la RT como en la PR<sup>3,8,10,16</sup>. De hecho, algunos polimorfismos considerados mutaciones de resistencia secundarias en los subtipos B se encuentran presentes en las secuencias consenso de los subtipos no-B,

es decir, son propias de alguno de estos subtipos. Así, las mutaciones A98S, V179I y K238R de la RT aparecen en la secuencia consenso del recombinante CRF14\_BG, del subtipo A y del recombinante CRF01\_AE, respectivamente. La mutación de resistencia V82I de la PR es propia del subtipo G y del CRF14\_BG, la K20I del subtipos G y recombinantes CRF02\_AG y la mutación M36I está presente de manera natural en la PR de la mayoría de los virus no-B y recombinantes. Por tanto el residuo 36I podría considerarse un "marcador" de los subtipos no-B<sup>3,10</sup>. Sin embargo, el papel de estas mutaciones secundarias en la respuesta al tratamiento no está del todo claro. Se ha encontrado una mayor frecuencia de mutaciones secundarias en la PR de los subtipos no-B y recombinantes intersubtipo que teóricamente podrían tener impacto en un tratamiento con indinavir, nelfinavir, atazanavir y ritonavir, mientras que en subtipos B los polimorfismos influirían más en saquinavir y lopinavir/ritonavir<sup>17</sup>. En cuanto a la RT, en el subtipo C también existen de manera natural mutaciones que podrían afectar la susceptibilidad a los inhibidores de la RT no análogos de los nucleósidos<sup>18</sup>.

En cuanto a los estudios de sensibilidad *in vitro*, hay algunas cepas de subtipos no-B que pueden tener una disminución, o en ocasiones un aumento, de la susceptibilidad a algunos fármacos concretos<sup>8,19</sup>. Sin embargo, en general, la mayoría de cepas con subtipos no-B son igual de susceptibles a los antirretrovirales que las del subtipo B<sup>8,16,19</sup>. En algunas cepas no-B la acumulación de ciertos polimorfismos y mutaciones secundarias en la PR se ha asociado a una reducción en la susceptibilidad *in vitro* a inhibidores de la proteasa (IP) incluso en ausencia de mutaciones primarias<sup>20</sup>. La mutación V82I también se ha asociado en ocasiones con una menor susceptibilidad *in vitro* a algunos IP como atazanavir en algunos aislados del CRF02\_AG o del subtipo C<sup>16,21</sup>. También cepas recombinantes CRF02\_AG parecen tener una susceptibilidad disminuida a nelfinavir y lopinavir, debido a cambios estructurales en el bolsillo catalítico de las PR. Se desconoce el efecto en la práctica del uso de los IP potenciados para superar la disminución de la susceptibilidad *in vitro*. De momento no hay evidencia de que los posibles cambios de susceptibilidad tengan impacto en la práctica clínica.

Otro aspecto interesante es el papel que desempeña la variabilidad genética basal del VIH en el desarrollo de vías de adquisición de mutaciones de resistencia diferentes a las habituales en los subtipos B tras el inicio de un TAR. Las mutaciones primarias asociadas a resistencia son las mismas independientemente del subtipo. Sin embargo, algunas aparecen claramente con mayor frecuencia en unos subtipos que en otros<sup>8,10</sup>. Esto se ilustra, por ejemplo, con la mutación V106M que se selecciona con frecuencia en subtipos C y CRF\_01AE tras la exposición a efavirenz, pero que es muy infrecuente en subtipos B<sup>10</sup>. Esto se explica porque en el subtipo C, la valina normal de la posición 106 de la RT proviene de la traducción del codón GTG, mientras que en el subtipo B viene del codón GTA. Para transformarse en metionina, cambio asociado con resistencia a efavirenz, el subtipo B debe experimentar 2 mutaciones y pasar de GTA a ATG, mientras que en el subtipo C basta una mutación para pasar de GTG a ATG. Es decir, la barrera genética del subtipo C es menor para efavirenz porque se reduce el número de muta-

ciones necesario para seleccionar la mutación V106M y adquirir resistencia<sup>22</sup>.

Otro ejemplo sería la distinta vía de adquisición de resistencia en ciertos subtipos durante el tratamiento con nelfinavir. Así, en los subtipos C, G y el CRF01\_AE la mutación que se selecciona de forma predominante tras el uso de nelfinavir es la L90M en lugar de la D30N, que es la habitual en los subtipos B. La L90M confiere un grado mayor de resistencias cruzadas a los IP que la D30N, lo que puede tener implicaciones clínicas<sup>10,23</sup>.

Por otro lado, algunas mutaciones secundarias como la M36I en la PR que, como previamente hemos comentado, es tan característico de subtipos no-B, pueden modular el *fitness* o capacidad replicativa del virus e influir en su barrera genética, y facilitar la emergencia de mutaciones primarias como la L90M<sup>23</sup>. La mutación K65R, que confiere resistencia cruzada a múltiples inhibidores de la RT análogos de los nucleósidos, y la Y181C, que afecta principalmente a la nevirapina, son menos prevalentes en pacientes del subtipo A que en pacientes con subtipo B o C, a pesar de una exposición similar a antirretrovirales<sup>24</sup>.

## Estudios clínicos de eficacia del tratamiento según los subtipos

A pesar de que son múltiples las formas en las que la variabilidad genética puede influir en la respuesta al TAR, los estudios de su impacto real en la práctica clínica son aún escasos y presentan diversas limitaciones.

En términos generales, los grandes programas de TAR en países con recursos limitados, y especialmente en África, donde los subtipos no-B son mayoritarios, muestran una tasa de respuesta equivalente a la que se obtiene en los países desarrollados, al menos en los primeros 12 meses de tratamiento<sup>25</sup>. Específicamente referidos a subtipos, la mayoría de los estudios comparativos efectuados hasta la fecha son estudios de cohortes, con seguimientos entre 6 y 24 meses, principalmente con pacientes sin tratamiento previo, y que incluyen a una población muy heterogénea de subtipos y tratamientos<sup>26,27</sup>. En estos estudios no se ha encontrado evidencia de una peor respuesta virológica e inmunológica en los subtipos no-B. Algunos autores han señalado una peor recuperación de CD4 en el subtipo A<sup>28,29</sup> aunque se necesitan más estudios al respecto. En nuestra experiencia, los pacientes con VIH-2 tienen significativamente una respuesta inmunológica peor que los pacientes con VIH-1, lo que asociamos en parte a una menor carga viral inicial<sup>30</sup>.

En resumen, aunque hay una amplia base teórica que sustenta que el subtipo del VIH puede influir en la respuesta al TAR, aún no hay evidencias clínicas que nos puedan ayudar a determinar si existe un tratamiento óptimo para los distintos subtipos del VIH. Las únicas recomendaciones establecidas en este sentido se refieren a la resistencia natural del VIH-2 y del grupo O a los no análogos de los nucleósidos y también del VIH-2 al inhibidor de la fusión enfuirtida. No se dispone, en ninguna de las directrices publicadas de tratamiento del VIH, de recomendaciones específicas para guiar el tratamiento dependiendo del subtipo del virus, probablemente por la escasa evidencia que existe. Se nos abre pues un amplio campo de investigación en este sentido.

## Bibliografía

- Robertson DL, Anderson JP, Bradac JA, Carr JK, Foley B, Funkhouser RK, et al. HIV-1 nomenclature proposal. *Science*. 2000;288:55-6.
- Thomson MM, Najera R. Molecular epidemiology of HIV-1 variants in the global AIDS pandemic: an update. *AIDS Rev*. 2005;7:210-24.
- Holguin A, Alvarez A, Soriano V. High prevalence of HIV-1 subtype G and natural polymorphisms at the protease gene among HIV-infected immigrants in Madrid. *AIDS*. 2002;16:1163-70.
- Holguin A, Soriano V. Origen y evolución del virus de la inmunodeficiencia humana. *Med Clin (Barc)*. 2000;115:775-8.
- Toro C, Soriano V; Grupo Español de Estudio del VIH-2 y HTLV-1/2. Situación actual de la infección por el VIH-2 y el HTLV-1/2 en España: luces y sombras. *Med Clin (Barc)*. 2005;124:616-7.
- Leitner T, Korber B, Daniels M, Calef C, Foley B. HIV-1 Subtype and Circulating Recombinant Form (CRF) Reference Sequences, 2005. [Consultado 28 marzo 2006]. Disponible en: <http://hiv-web.lanl.gov/content/hiv-db/REVIEWS/RefSeqs2005/RefSeqs05.html>
- Wainberg MA. HIV-1 subtype distribution and the problem of drug resistance. *AIDS*. 2004;Suppl 3:S63-8.
- Geretti AM. HIV-1 subtypes: epidemiology and significance for HIV management. *Curr Opin Infect Dis*. 2006;19:1-7.
- Lospitao E, Alvarez A, Soriano V, Holguin A. HIV-1 subtypes in Spain: a retrospective analysis from 1995 to 2003. *HIV Med*. 2005;6:313-20.
- Holguin A, Ramirez de Arellano E, Rivas P, Soriano V. Efficacy of antiretroviral therapy in individuals infected with HIV-1 non-B subtype. *AIDS Reviews*. 2006;8:98-107.
- Descamps D, Collin G, Letourneur F, Apetrei C, Damond F, Lousert-Ajaka I, et al. Susceptibility of human immunodeficiency virus type 1 group O isolates to antiretroviral agents: in vitro phenotypic and genotypic analyses. *J Virol*. 1997;71:8893-8.
- Parkin NT, Schapiro JM. Antiretroviral drug resistance in non-subtype B HIV-1, HIV-2 and SIV. *Antivir Ther*. 2004;9:3-12.
- Rodes B, Sheldon J, Toro C, Jiménez V, Álvarez MA, Soriano V. Susceptibility to protease inhibitors in HIV-2 primary isolates from patients failing antiretroviral therapy. *J Antimicrob Chemother*. 2006;57:709-13.
- Rodes B, Toro C, Sheldon JA, Jiménez V, Mansinho K, Soriano V. High rate of proV47A selection in HIV-2 patients failing lopinavir-based HAART. *AIDS*. 2006;20:127-9.
- Poveda E, Barreiro P, Rodes B, Soriano V. Enfuvirtide is active against HIV type 1 group O. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2005;21:583-5.
- Kantor R, Katzenstein D. Polymorphism in HIV-1 non-subtype B protease and reverse transcriptase and its potential impact on drug susceptibility and drug resistance evolution. *AIDS Rev*. 2003;5:25-35.
- Van de Vijver DAMC, Wensing AMJ, Angarano G, Åsjö B, Balotta C, Boeri E, et al. Differences in the frequency of minor substitutions between HIV-1 subtypes and their potential impact on the genetic barrier for resistance to protease inhibitors. *Antivir Ther*. 2005;10:S145.
- Grossman Z, Istomin V, Averbuch D, Lorber M, Risenberg K, Levi I, et al. Genetic variation at NNRTI resistance-associated positions in patients infected with HIV-1 subtype C. *AIDS*. 2004;18:909-15.
- Holguin A, Paxinos E, Hertogs K, Womac C, Soriano V. Impact of frequent natural polymorphisms at the protease gene on the in vitro susceptibility to protease inhibitors in HIV-1 non-B subtypes. *J Clin Virol*. 2004;31:215-20.
- Parkin N, Chappey C, Lam E, Petropoulos C. Reduced susceptibility to protease inhibitors (PI) in the absence of primary PI-resistance-associated mutations. *Antivir Ther*. 2005;10:S118.
- Fleury HJ, Toni TA, Lan NTH, Hung PV, Deshpande A, Recordon-Pinson P, et al. Susceptibility to ARVs of CRF01\_AE, CRF02\_AG and subtype C viruses from naive patients: comparative genotypical and phenotypical data. *Antiviral Therapy*. 2005;10:S148.
- Grossman Z, Istomin V, Averbuch D, Lorber M, Risenberg K, Levi I, et al. Genetic variation at NNRTI resistance-associated positions in patients infected with HIV-1 subtype C. *AIDS*. 2004;18:909-15.
- Perno CF, Cozzi-Lepri A, Forbici F, Bertoli A, Violin M, Stella Mura M, et al. Minor mutations in HIV protease at baseline and appearance of primary mutation 90M in patients for whom their first protease-inhibitor antiretroviral regimens failed. *J Infect Dis*. 2004;189:1983-7.
- Gupta RK, Chrystie IL, O'Shea S, Mullen JE, Kulasegaram R, Tong CY. K65R and Y181C are less prevalent in HAART-experienced HIV-1 subtype A patients. *AIDS*. 2005;19:1916-9.
- Ivers LC, Kendrick D, Doucette K. Efficacy of antiretroviral therapy programs in resource-poor settings: a meta-analysis of the published literature. *Clin Infect Dis*. 2005;41:217-24.
- Boquet L, Cheret A, Deuffic-Burban S, Choisy P, Gerard Y, De la Tribonniere X, et al. Impact of human immunodeficiency virus type 1 subtype on

- first-line antiretroviral therapy effectiveness. *Antivir Ther.* 2005;10: 247-54.
27. Bannister W, Ruiz L, Loveday C, Vella S, Zilmer K, Podlekareva D, et al. HIV-1 subtypes and virologic response to HAART in Europe. 12 th CROI. Boston, 2005 (Abstract 598).
  28. De Wit S, Boulme R, Poll B, Schmit JC, Clumeck N. Viral load and CD4 cell response to protease inhibitor-containing regimens in subtype B versus non-B treatment-naive HIV-1 patients. *AIDS.* 2004;18:2330-1.
  29. Atlas A, Granath F, Lindstrom A, Lidman K, Lindback S, Alaeus A. Impact of HIV type 1 genetic subtype on the outcome of antiretroviral therapy. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2005;21:221-7.
  30. Rivas P, Santos J, Mansinho K, Sarmento R, Antunes F, Sánchez-Conde M, et al. CD4 recovery following initiation of HAART is lower in HIV-2 than in HIV-1. The role of the low baseline viraemia. 45th ICAAC. Washington, 2005 (Abstract H-1884).