

## REZISTENȚA LA INRT LA PACIENȚII MULTIPLU EXPERIMENTAȚI DIN CONSTANȚA: IMPLICAȚII TERAPEUTICE

Dr. Roxana-Carmen Cernat<sup>1</sup>, Conf. Dr. Irina Magdalena Dumitru<sup>1,2</sup>,  
Dr. D. Oțelea<sup>3</sup>, Prof. Dr. Sorin Rugină<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Spitalul Clinic de Boli Infecțioase, Constanța

<sup>2</sup>Universitatea „Ovidius”, Constanța

<sup>3</sup>Institutul Național de Boli Infecțioase „Prof. Dr. Matei Balș”, București

### REZUMAT

**Obiective.** Identificarea prevalenței rezistenței dobândite la INRT (inhibitorii non-nucleozidici de reverstranscriptază) și al profilelor de rezistență la un lot de pacienți cu multiple scheme de terapie antiretrovirală din Constanța și evaluarea opțiunilor terapeutice remanente.

**Material și metode.** Studiu retrospectiv ce a inclus 144 pacienți seropozitivi HIV, multiplu experimentați terapeutic, aflați în eșec virusologic. Tulpinile izolate de la acești pacienți au fost analizate în Laboratorul de Genetică Moleculară al Institutului Național de Boli Infecțioase „Matei Balș” din București, secvențele rezultate fiind salvate în format Fasta.

Subtiparea HIV-1 s-a efectuat pe baza algoritmului „REGA HIV-1&2 Automated subtyping tool version 2.0”. Pentru determinarea opțiunilor terapeutice s-a utilizat „Stanford HIVdb Program version 8.4”.

Datele au fost prelucrate statistic cu programul R-Project. Reprezentările grafice au fost realizate cu programul GNU PLOT.

**Rezultate.** Prevalența rezistenței dobândite a fost de 92,36%. Cea mai frecventă mutație a fost la nivelul codonului 184. Călea TAM-2 a fost mai frecvent selectată decât TAM-1, existând și asociații între cele două căi; în schimb, mutația K65R a fost rar întâlnită.

**Concluzii.** Prevalența rezistenței dobândite la INRT a fost crescută. Opțiunea terapeutică cea mai valoroasă în clasa INRT a ramas tenofovirul, datorită profilului mutațional selectat, mai ales din cauza neutilizării lui și a folosirii extensive anterioare a analogilor timidinici.

**Cuvinte cheie:** HIV, INRT, rezistență dobândită

### ABREVIERI

ABC – abacavir	TDF – tenofovir
AZT – zidovudina	LPV/r – Lopinavir/ritonavir
3TC – lamivudina	SQV – saquinavir
FTC – emtricitabina	ARV – antiretrovirale
d4T – stavudina	INRT – inhibitori nucleozidici de reverstranscriptază
ddI – didanozina	TAMs – mutații asociate timidinei
ddC – zalcitabina	

### INTRODUCERE

Rezistența HIV la antiretrovirale se definește prin capacitatea virusului de a produce mutații și de a se înmulți în prezența unui inhibitor. Acest lucru necesită creșterea concentrației medicației pentru a obține supresia virală, concentrațiile crescute reu-

șind să suprimă numai parțial replicarea virală. Prima consemnare a apariției acestui fenomen datează din 1989, prin utilizarea AZT-ului în monoterapie, acest medicament fiind primul inhibitor nucleozidic de reverstranscriptază (INRT) folosit. Ulterior, în această clasă au apărut alte molecule care, asociate în combinații, au reprezentat temelia pe care

Autor corespondent:

Dr. Roxana-Carmen Cernat, Clinica II Boli Infecțioase, Spitalul Clinic de Boli Infecțioase, Bulevardul Ferdinand 100, Constanța  
E-mail: roxana.cernat@seanet.ro

s-au clădit schemele terapeutice ale pacienților infectați HIV.

Mecanismul prin care acestea determină inhibarea replicării virale este bine cunoscut. INRT acționează ca substraturi alternative, completând nucleozidele fiziologice (deoxiadenozina, deoxitimidina, deoxiguanina și deoxicitidina) de care diferă printr-o modificare minimă, includerea INRT ducând la imposibilitatea sintetizării și elongării lanțului de ADN viral.

INRT se împart în două subgrupe:

1. analogi timidinici: zidovudina (AZT) și stavudina (d4T) care acționează în celulele CD4 activate,

2. analogi non-timidinici, care acționează atât în celulele CD4 activate, cât și în cele aflate în repaus, sunt: lamivudina (3TC) și emtricitabina (FTC) – analogi de citidină, precum și didanozina (ddI) și zalcitabina (ddC).

Inhibitorii nucleotidici de reverstranscriptază au același mecanism de acțiune ca primii menționați, dar nu necesită decât dublă fosforilare, fiind deja monofosforilați. Aceștia sunt activi în multe tipuri de celule, inclusiv în cele aflate în stare de repaus (limfocite, monocite, macrofage) și au o bună penetrabilitate intracelulară. Reprezentantul acestei subclase este tenofovirul (TDF) și, mai recent, a fost înregistrat TAF (un prodrug al tenofovirului), cu proprietăți superioare TDF (concentrare în PBMC-uri de 5-7 ori mai mare, cu concentrație cu 90% mai mică în plasmă) (1).

Rezistența la această clasă are la bază două mecanisme distincte:

**a.** Creșterea fosforilării via ATP sau a pirofosfatului duce la excizia INRT deja încorporați în ADN. Este determinată de mutații la codonii M41L, D67N, K70R, L210W, T215Y, K219Q (9), mutații care se numesc TAMs (Thymidine Analogue Mutations). Acumularea acestor mutații se face treptat într-un regim terapeutic conținând analogi timidinici, iar prezența lor duce la rezistența încrucișată între compușii clasei. Se descriu două căi de distincție de apariție a TAMs: TAM-1, prin apariția mutațiilor M41L, L210W, T215Y, și TAM-2, prin apariția D67N, K70R și K219Q/E (2).

**b.** Inhibiția sterică determinată de mutații ce fac reverstranscriptaza (RT) capabilă să recunoască diferențele de structură între INRT și deoxinucleotidele fiziologice. În prezența M184V, Q151M,

L74V sau K65R, încorporarea se face în favoarea deoxinucleotidelor, cu evitarea INRT (3).

Există numeroase studii care indică faptul că selecția diferită a acestor căi determină răspunsuri terapeutice diferite. Un exemplu ar fi selecția căii TAM-1, care are un impact mai mare în termeni de rezistență dobândită la AZT, influențând mai pregnant și scăderea susceptibilității la ABC, ddI și TDF comparative cu calea TAM-2 (4).

Epidemia HIV din Constanța se caracterizează printr-un număr important de cazuri care provin din cohorta pediatrică, ce au contactat infecția HIV pe cale parenterală în anii 1986-1990 (5), în condițiile preexistenței virusului în populația adultă (6), din sursele epidemiologilor din Ministerul Sănătății existând date că această epidemie devansează cu un an epidemia națională (7). Având acces la AZT din anul 1995, ulterior la biterapie prin apariția ddC, 3TC, ddI, acești pacienți au folosit extensiv scheme bazate pe INRT în mono, bi- și triterapie. O altă caracteristică a lotului constănțean a fost accesul la LPV/r după anul 2001 (8), în cadrul unui studiu tip acces precoce; ca urmare, cea mai frecventă asociere terapeutică a fost o combinație de 2 INRT (AZT+3TC sau ddI+d4T) și LPV/r. Dacă despre profilul de rezistență indus la această populație de LPV/r sunt date publicate, profilul indus la INRT nu a fost studiat decât de un studiu național (9), ce a inclus pacienți din întreaga cohorta pediatrică românească.

## MATERIAL ȘI METODĂ

### Eșantionul populațional

Au fost incluși 144 de pacienți diagnosticați și confirmați cu infecție HIV, aflați în urmărirea Centrului Regional Constanța. Pacienții urmau tratament antiretroviral de minimum 6 luni, fiind în eșec viral confirmat (viremie > 1.000 copii/ml) ce a impus genotipare la nivelul RT. S-au urmărit următoarele caracteristici: date demografice, modalitatea de infecție, valorile nadir CD4 și HIV-ARN zenit, valorile CD4 și HIV-RNA la momentul efectuării genotipării, anul diagnosticului și cel al instituirii medicației ARV, tipul medicației folosite, expunerea în timp la INRT, numărul de scheme terapeutice, numărul de luni în eșec viral și imunologic, mutațiile cumulate rezultate din testele de genotipare, numărul de genotipări efectuate.

## METODE

Testele de genotipare s-au efectuat în Laboratorul de Genetică Moleculară al Institutului Național de Boli Infecțioase „Prof. Matei Balș”. Pentru secvențierea HIV-RNA s-a utilizat trusa Viroseq™ HIV-1 Genotyping System (Celera Diagnostics, Alameda, CA), pentru RT-PCR a fost utilizat sistemul GeneAmp System 9700 (Applied Biosystems), produsele obținute prin amplificare au fost secvențiate bidirecțional cu ABI Prism 3100-Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Pentru analiza inițială a secvențelor s-a utilizat Sequencing Analysis Software Version 3.7 (Applied Biosystems) și, ulterior, secvențele au fost asamblate cu ViroSeq 2.5/2.7/2.8 HIV-1 Genotyping System Software (Celera Diagnostics, Alameda, CA). Secvența obținută, reprezentând întreaga genă PR și două treimi din gena RT, a fost salvată în format FASTA. Subtiparea HIV-1 s-a efectuat pe baza algoritmului REGA HIV-1&2 Automated subtyping tool version 2.0. Mutațiile în structura reverstranscriptazei au fost cele listate în articolul consensus al grupului de experți al IAS-USA, publicat în ianuarie 2017 (update la cel din 2015) (10), respectiv: M41L, A62V, K65REN, D67N, T69ins, K70R, L74V, V75I, F77L, Y115F, F116Y, Q151M, M184VI, L210W, T215Y F, K219QE. Fișierele FASTA au fost prelucrate cu algoritmul Stanford HIVdb Program version 8.4 (2017-06-16).

Determinările limfocitelor CD4, CD8 și a raportului CD4/CD8 s-au efectuat în laboratorul Spitalului Clinic de Boli Infecțioase Constanța cu ajutorul FACS Count, produs de Becton Dickinson. Determinările HIV-RNA efectuate au folosit sistemul Cobas TaqMan48 Roche, cu limită de detecție 48 copii/ml, din anul 2016, GeneXpert produs de Cepheid, cu limită de detecție 40 copii/ml.

Lotul populațional a fost analizat și cuantificat cu ajutorul statisticii descriptive. Pentru calcule statistice s-a utilizat programul R-Project. Pentru reprezentările grafice s-a folosit programul GNU-PLOT.

## REZULTATE

Lotul de studiu a fost oarecum echilibrat, cu o ușoară predominanță la sexul masculin, (51,39%), cei mai mulți subiecți provenind din mediu urban (62,5%). Mediana vârstei a fost de 29 de ani, cu li-

mite între 5 și 68 ani. Cea mai importantă cale de transmitere a infecției HIV a fost cea parenterală, 65,27% dintre subiecți provenind din cohorta pediatrică; 11,11% au fost infectați pe cale verticală, majoritatea înainte de anul 1990, iar restul de 23,61% au achiziționat infecția pe cale sexuală.

Deși foarte tineri, pacienții din acest grup au avut un istoric lung de boală, valoarea mediană a duratei infecției HIV fiind de 12 ani, 87,5% aflându-se deja în clasa clinică C (conform CDC Atlanta 1993). Mediana numărului de limfocite CD4 (la ultima genotipare) a fost de 277 cel./mm<sup>3</sup>, iar cea a CD4 nadir de 78 cel./mm<sup>3</sup>. Valoarea mediană a viremiei HIV la ultima genotipare a fost de 4,31 log<sub>10</sub> copii/ml, în timpul evoluției bolii, pacienții din lot au prezentat valori mai mari ale viremiei HIV (mediană HIV-ARN zenit – 5,02 log<sub>10</sub> copii/ml).

Durata medie a administrării terapiei ARV a fost de 10 ani, iar mediana numărului de scheme terapeutice fiind de 5 (1-12). O mică parte au avut în antecedente monoterapie cu AZT (4 pacienți, 2,78%), 64 (44,44%) biterapie, toți fiind expuși ulterior la triterapie sau chiar la terapie cvadruplă. Deși au prezentat perioade lungi cu eșec viral, majoritatea subiecților (70,83%) au avut în decursul evoluției bolii o singură genotipare; pentru ceilalți pacienți din grup efectuându-se între 2 și 5 analize genotipice.

Subtipul viral cel mai frecvent întâlnit a fost F1 92,36%, existând cazuri rare de subtipuri B (2,78%), C (2,78%), A1(0,7%) și doar două forme recombinante circulante CRF02\_AG (0,7%) și CRF14\_BG (0,7%).

### Mutații asociate cu rezistența la INRT

Prevalența substituțiilor de aminoacizi în gena reverstranscriptazei în lotul studiat a fost de 92,36%. Mutațiile la nivelul genei RT pentru lotul studiat sunt reprezentate în Fig. 1.

Cea mai frecventă mutație selectată în această clasă a fost la nivelul codonului 184, ea fiind corelată cu expunerea la lamivudine sau emtricitabină. Un număr de 131 de subiecți (90,97%) au prezentat M184V, iar alți doi M184I (1,39%). Cum această mutație este prima care apare în cazul unui regim terapeutic în eșec, iar 3TC este unul dintre cele mai folosite medicamente, atât în combinații fixe (ABC/3TC, AZT/3TC, AZT/ABC/3TC), dar și ca

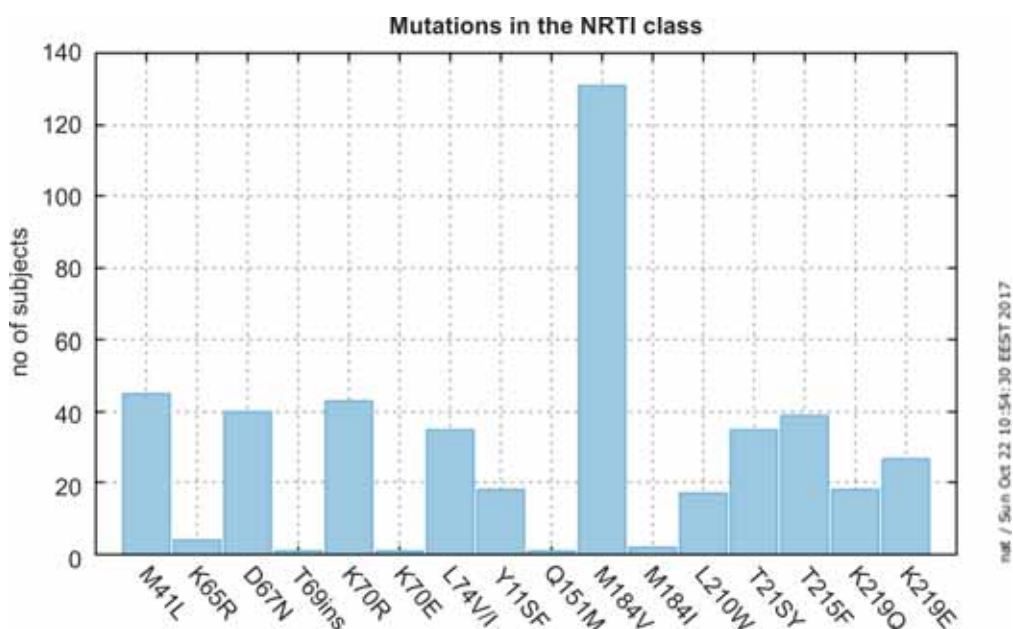


FIGURA 1. Mutații în clasa INRT

parte individuală a unei terapii, este explicabil de ce a fost găsită cu o frecvență atât de mare. Pacienții din lot au avut o mediană a expunerii la 3TC de 75,5 luni, expunerea la 3TC/FTC și mutațiile de rezistență fiind reprezentate în Fig. 2. Este de menționat că cei doi pacienți care nu se aflau în eșec terapeutic pe regimuri ce includeau 3TC sau FTC, fuseseră anterior expuși la 3TC, 3TC fiind folosit inconstant pentru menținerea susceptibilității la TDF, în condiții de rezistență înaltă de triplă clasă, demonstrată de genotipări anterioare.

Utilizarea analogilor timidinei reprezentați de AZT și d4T s-a soldat cu mutații asociate tip TAMs. În cazul pacienților care se aflau în tratament anti-

retroviral și au dezvoltat aceste mutații pe calea TAM (ca mecanism de rezistență dobândită), 89,5% (129/144) au fost expuși în cursul istoricului terapeutic la AZT sau d4T. Mutațiile selectate de aceste medicamente sunt reprezentate în Fig. 1.

Cea mai frecvent întâlnită a fost calea TAM-2, respectiv D67N, K70R, T215F, K219Q/E, ratele de prevalență pentru fiecare dintre mutațiile menționate fiind: 27,77% la D67N, 29,86% la K70R, 27,08% la T215F și 31,25% în cazul K219Q/E. Mutațiile tip TAM-1 puse în evidență au fost: M41L (31,25%), L210W (11,80%) și T215Y (24,30%). Interesantă este și asocierea mutațiilor provenite pe cele două căi (Fig. 3). Cele mai frecvente asocieri

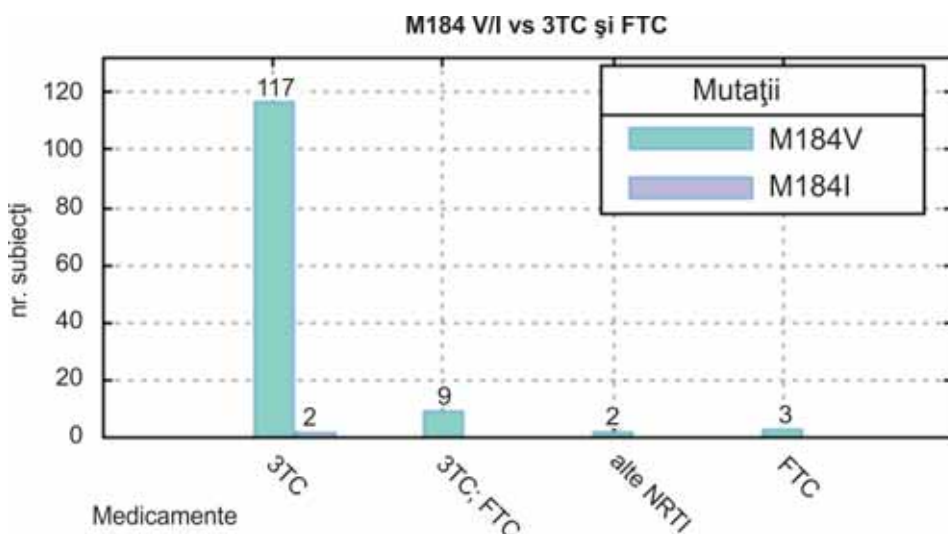


FIGURA 2. Corelație M184V/I vs. 3TC și FTC



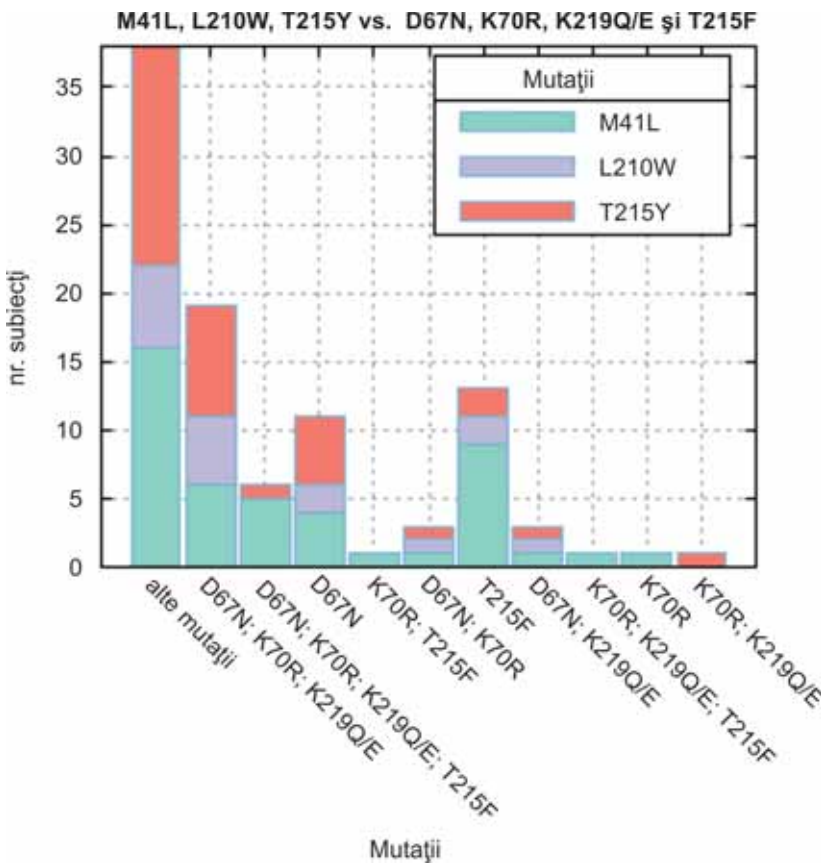


FIGURA 3. Asocierea mutațiilor pe căile TAM1 și TAM2

au fost T215Y la D67N, K70R, K219Q/E și T215F la M41L.

Un procent mic de pacienți a fost expus numai la d4T, AZT folosindu-se mai frecvent ca unic analog timidinic (Fig. 4). Dacă AZT s-a asociat frecvent cu 3TC, d4T s-a utilizat în combinație cu ddI înainte

ca această asociere să fie contraindicată pentru cumpul de toxicitate. Cei mai mulți pacienți au avut terapie succesivă cu AZT și d4T în decursul istoricului terapeutic. Medianele utilizării pentru cei doi analogi timidinici au fost 49, respectiv 11 luni.

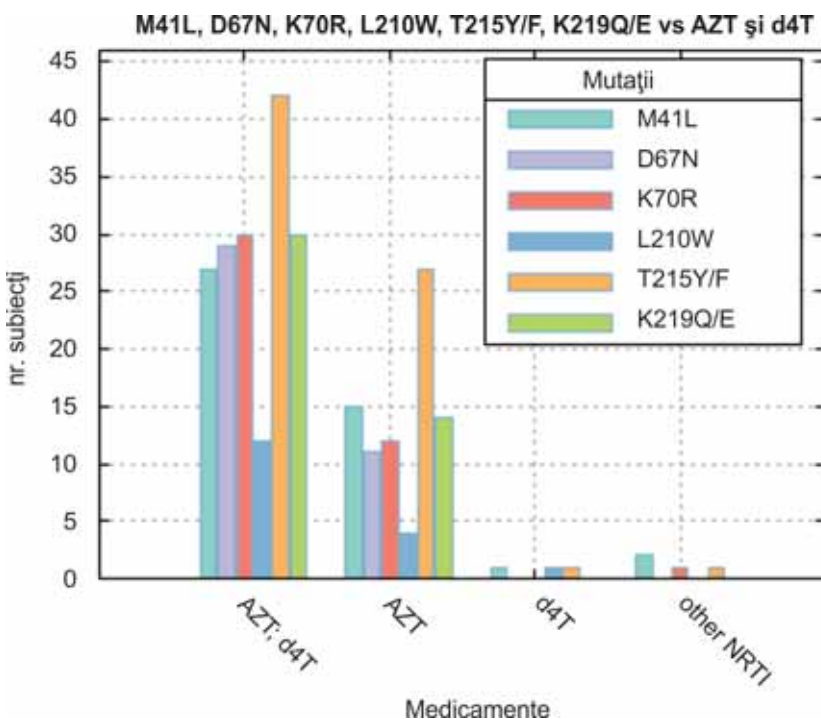


FIGURA 4. Mutații TAM asociate AZT, d4T

Mutația K65R a fost prezentă la 4 pacienți (2,77%) fiind asociată cu expunerea la TDF sau ABC (fiecare în câte două cazuri). Prin accesul tardiv pe piața românească, TDF a fost utilizat mai rar, doar 19 pacienți fiind în eșec viral sub regimuri terapeutice conținând TDF. Peste jumătate dintre pacienți (55,5%) din lot au fost expuși la ABC (80/144). Selectarea mutației K65R în aceste condiții a fost probabil influențată de prezența TAMs indusă de preexpunerea la analogi timidinici, 15 dintre cei 19 pacienți în eșec sub TDF prezentând între 1 și 5 mutații tip TAMs. De asemenea, 51 dintre cei 80 de pacienți care au utilizat regimuri conținând ABC au avut între 1 și 6 mutații tip TAMs, iar 2 dintre cei 4 subiecți care au dezvoltat K65R au avut mutații tip TAMs.

Mutația la nivelul codonului L74V/I a fost evidențiată la 32 de subiecți (22,22%), fiind secundară expunerii la ABC sau ddi. Este de menționat faptul că un număr de 25 dintre aceștia au avut între 1 și 5 TAMs; un singur pacient a asociat K65R și L74V.

Istoricul terapeutic al pacienților care au selecționat mutațiile K65R și L74V este reprezentat în Fig. 5.

80 de subiecți au avut o schemă conținând ABC, iar alți 73 au avut un regim terapeutic ce conținea ddi. 15 subiecți au folosit succesiv ddi și ABC, alți 2 pacienți – ddi, ABC ulterior TDF și unul singur ABC urmat de TDF. În momentul efectuării genotipării, 60 de pacienți erau în tratament cu ABC și numai 18 în scheme terapeutice ce includeau ddi.

Prezența K65R determină scăderea susceptibilității la TDF, ABC și ddi, iar L74V reduce sensibilitatea la ABC și ddi (concomitent determinând creșterea susceptibilității la AZT, TDF și reducerea

fitness-ului viral, fapt care nu se constată în cazul L74I).

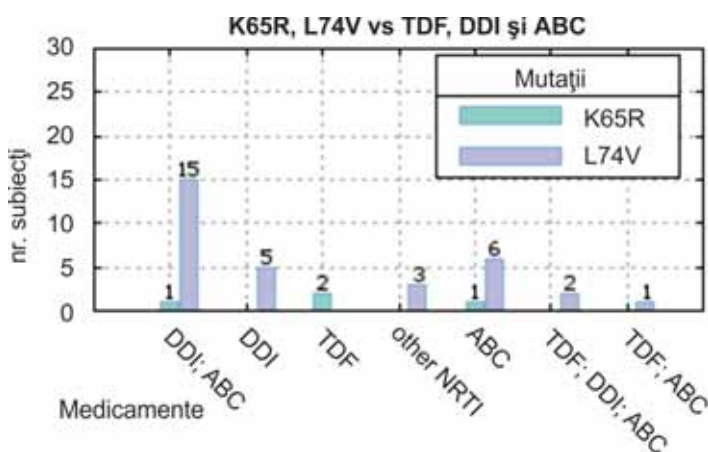
Doi pacienți au prezentat mutații de MDR: inserția la poziția 69, care determină pierderea răspunsului terapeutic la toată clasa INRT și complexul Q151M, în care singura opțiune viabilă în clasă ar fi activitatea reziduală incompletă a TDF. Ambele tulpini au apărut în contextul unor eșecuri virale prelungite sub ABC/3TC asociate cu EFV, respectiv SQV/r (ambele cu prag genetic de rezistență scăzut), nesancționate corect și în timp util.

### Opțiuni terapeutice în clasa INRT

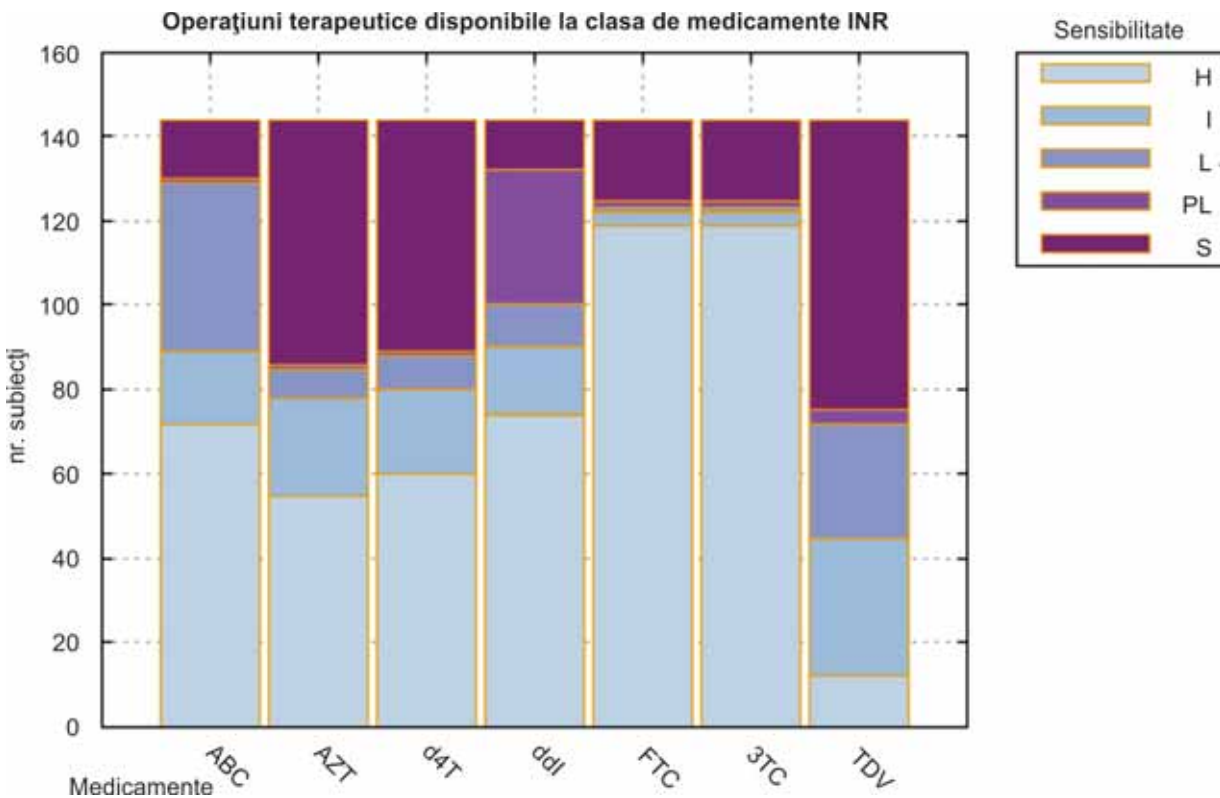
Stratificarea opțiunilor terapeutice în clasa INRT (reprezentată în Fig. 6) a luat în calcul numai medicația aflată în uz în momentul studiului.

Datorită folosirii extensive a combinațiilor conștând din 3TC și analogi timidinici sau ABC, rezultatul interpretării cumulative Stanford nu este deloc surprinzător. Rata cea mai înaltă de rezistență este la lamivudină (3TC), respectiv emtricitabină (FTC), deoarece aceste medicamente reprezintă veriga cea mai slabă într-o combinație de ARV. Aceasta din urmă, deși a fost utilizată foarte puțin (13 dintre cei 144 pacienți), are același profil de rezistență ca 3TC. Menținerea 3TC și FTC în terapia pacienților din acest lot ar avea utilitate doar pentru menținerea fitness-ului viral scăzut și resensibilizării la analogi timidinici și TDF, întrucât 131 dintre cele 144 de tulpini sunt rezistente.

O a doua variantă care va fi dificil de utilizat din cauza unui grad mare de rezistență este didanozina. Aproape jumătate din lot a dezvoltat rezistență înaltă la ddi (74/144), doar 12 tulpini păstrând sen-



**FIGURA 5.** Corelație K65R și L74V-istoric terapeutic TDF, ddi și ABC



**FIGURA 6.** Opțiuni terapeutice disponibile la clasa de medicamente INRT

sibilitatea. ddI ar mai putea fi utilizat doar în cazuri excepționale, când activitatea sa reziduală ar fi mai importantă decât toxicitatea.

Motivul acestui grad înalt de rezistență este prezența în lotul nostru a unui număr mare de TAMs combinate și mai puțin a selectării mutațiilor M74V/I sau a K65R. Este dovedit că prezența a 3 mutații tip TAMs determină rezistență la ddI, iar acest tip de profil a fost frecvent întâlnit în lotul nostru.

Surprinzător este că, din cauza gradului de rezistență înaltă, ABC domină competiția cu analogii de timidină. Cu alte cuvinte, numai 14 dintre cele 144 de tulpini și-au menținut sensibilitatea la ABC, în timp ce, în cazul AZT, respectiv d4T, 58, respectiv 55, de tulpini își mențin susceptibilitatea maximă.

Cel mai potent INRT rămâne TDF: 69 dintre cele 144 de tulpini au fost sensibile și doar 12 au dezvoltat rezistență înaltă. Chiar în condițiile unui grad de rezistență intermediară (33 de cazuri) sau ușoară (27 de cazuri), acest medicament poate fi o opțiune viabilă întrucât are cea mai bună penetrabilitate intracelulară, iar efectul său terapeutic este puțin influențat de existența unui număr mai mic de 3 TAMs.

## DISCUȚII

În contextul unui lot de pacienți cu un istoric de terapie antiretrovirală îndelungat și care se suprapune peste introducerea și utilizarea medicației antiretrovirale în România (din 1995, AZT, ulterior ddC, 3TC, d4T, ddI, ultimele introduse fiind TDF și FTC în 2008), prevalența crescută a rezistenței dobândite în clasa INRT nu este surprinzătoare. Cea mai mare parte a subiecților incluși în lotul constantean provine din cohorta pediatrică infectată la sfârșitul anilor '90 cu subtipul F1 pe două căi: orizontală și verticală. Acești pacienți au fost expuși la mono și biterapie (aceste scheme având la bază AZT, ulterior asociat cu ddC, ddI sau 3TC) și au ajuns la triterapie cu scheme în care s-au refolosit INRT. În termeni de rezistență dobândită, acest fapt a generat un profil de rezistență particular. Veriga cea mai slabă în schemele terapeutice a fost 3TC, activitatea lui intrinsecă antivirală fiind în acest moment pierdută la acești pacienți, rolul său actual fiind de resensibilizare la alți INRT de tipul TDF sau AZT și de menținere a fitness-ului viral. Deși rar utilizat, FTC având același profil de rezistență, are același efect. Ca urmare, în termeni de cost-eficiență, folosirea 3TC pentru cele două motive menționate anterior este mult mai justificată.

Cea mai interesantă caracteristică a grupului a fost acumularea de TAMs secundară utilizării AZT și/sau d4T. Calea TAM 2 a fost mai frecvent întâlnită, în comparație cu calea TAM1, deși există numeroase asocieri între mutațiile provenite pe cele două căi, chiar la tulpini care nu au prezentat un număr mare de TAMs. Expunerea susținută la analogi timidinici pe perioade îndelungate ar putea fi explicația acestor asocieri și a numărului mare de mutații evidențiate. Un sfert dintre pacienți (36/144) au prezentat între 4 și 6 mutații, 7 dintre cei 36 având asociate L74V și M184V, cu repercusiuni importante asupra susceptibilității acestor tulpini, singura opțiune remanentă cu sensibilitate intermediară fiind TDF. Dacă nici unul dintre aceștia nu a fost expus la monoterapie AZT, 23 au experimentat biterapie în decursul istoricului lor terapeutic, fiind pacienți ce provin din cohorta pediatrică care au inițiat tratament înainte de începutul anilor 2000. Selectarea căii TAM2 în detrimentul TAM1 este în contradicție cu ceea ce se semnalează la subtipul B (4), dar concordant cu datele publicate din analiza tulpinilor izolate de la pacienții din cohorta românească (9).

Selectarea extrem de rară a mutației K65R este o altă caracteristică a lotului de pacienți multiplu experimentați la terapia antiretrovirală din Constanța. Deși accesul la TDF a fost limitat, expunerea la ABC ar fi putut predispuce la această mutație dacă nu ar fi existat selectate un număr important de TAMs prin utilizarea anterioară a analogilor timidinici. Se poate spune că mutațiile tip TAMs au avut rol de protecție în achiziționarea K65R, ceea

ce nu s-a întâmplat în cazul L74V, unde din acest motiv a fost pierdut efectul terapeutic al ddI. Interesantă este asocierea TAMs și K65R, în contradicție cu datele publicate (12), care susțin efectul antagonic bidirecțional al acestor mutații.

Consecința selectării acestor mutații determină păstrarea răspunsului terapeutic la TDF, INRT cel mai bine conservat în termeni de eficiență din această clasă.

## CONCLUZII

Utilizarea extensivă și succesivă a INRT în decursul istoricului terapeutic al pacienților multiplu experimentați din Constanța a generat un profil dominat de acumularea de TAMs, asociată cu emergența mutațiilor la nivelul codonului 184, în special a M184V. Profilul mutațional al TAMs a fost diferit față de cel publicat în alte studii ce au inclus tulpini aparținând subtipului B, prin dominanța căii TAM2, asocierea relativ frecventă între cele două căi și, uneori, asocierea cu K65R. Selectarea extrem de rară a mutației K65R este secundară nu neapărat accesului tardiv la TDF (întrucât a existat o expunere importantă la ABC), ci, mai probabil, preexistenței TAMs. Secundar, prezența acestor mutații face din TDF cea mai utilă opțiune terapeutică pentru acest lot de pacienți. În situațiile în care TDF își mai păstrează doar o activitate parțială, se justifică utilizarea 3TC pentru inducerea resensibilizării TDF, chiar dacă 3TC și-a pierdut activitatea antivirală intrinsecă.