Encuesta transversal de resistencia adquirida del VIH al dolutegravir en niños, niñas, adolescentes y adultos recibiendo tratamiento antirretroviral con dolutegravir en *[nombre del país], [año a realizarse la encuesta]*

* **Protocolo genérico versión 1.0, 19 de abril de 2023**
* **Método centinela basado en laboratorios de carga viral**

ÍNDICE

[1. Recursos 2](#_Toc132800182)

[**1.1** **Personal e instituciones participantes** 2](#_Toc132800183)

[**1.2** **Fuentes de financiamiento** 2](#_Toc132800184)

[2. Abreviaturas y acrónimos 3](#_Toc132800185)

[3. Definiciones 4](#_Toc132800186)

[4. Introducción 5](#_Toc132800187)

[5. Justificación 7](#_Toc132800188)

[6. Objetivos 8](#_Toc132800189)

[**6.1** **Objetivos primarios** 8](#_Toc132800190)

[**6.2** **Objetivos secundarios** 8](#_Toc132800191)

[7. Metodología 8](#_Toc132800192)

[**7.1** **Diseño de la encuesta** 8](#_Toc132800193)

[**7.2** **Selección de laboratorios de carga viral a participar en la encuesta como sitios centinela** 9](#_Toc132800194)

[**7.3** **Identificación y manejo de muestras de plasma elegibles** 9](#_Toc132800195)

[**7.4** **Cálculo del tamaño de la muestra** 11](#_Toc132800196)

[**7.5** **Procedimientos de muestreo** 11](#_Toc132800197)

[**7.6** **Identificador único de la encuesta para las muestras elegibles seleccionadas** 11](#_Toc132800198)

[**7.7** **Procedimientos de laboratorio para genotipaje de VIH** 12](#_Toc132800199)

[**7.8** **Manejo de datos clínicos y demográficos** 13](#_Toc132800200)

[**7.9** **Variables a recolectar** 14](#_Toc132800201)

[**7.10** **Análisis estadístico** 14](#_Toc132800202)

[8. Consideraciones éticas 15](#_Toc132800203)

[9. Diseminación de resultados 16](#_Toc132800204)

[10. Referencias 17](#_Toc132800205)

[**Anexo 1:** Flujograma para la selección de muestras elegibles 19](#_Toc132800206)

[**Anexo 2:** Consideraciones para la toma y manejo de muestras de plasma que serán utilizadas para la encuesta de resistencia de VIH a los ARVs 20](#_Toc132800207)

[**Anexo 3:** Cálculo del tamaño de muestra 21](#_Toc132800208)

[**Anexo 4:** cronograma 22](#_Toc132800209)

# **Recursos**

## **Personal e instituciones participantes**

*[Completar según sea requerido]*

## **Fuentes de financiamiento**

*[Completar según sea requerido]*

# **Abreviaturas y acrónimos**

|  |  |
| --- | --- |
| ARVs | Antiretrovirales (medicamentos) |
| DTG | Dolutegravir |
| INTI | Inhibidores nucleosídicos de la transcriptasa inversa |
| INNTI | Inhibidores no nucleosídicos de la transcriptasa inversa |
| INSTI | Inhibidores de la integrasa |
| OMS | Organización Mundial de la Salud |
| TAR | Tratamiento antirretroviral |
| VIH | Virus de inmunodeficiencia humana |

# **Definiciones**

* **Adultos:** individuos con al menos 18 años de edad *[ajustar según el contexto del país]*.
* **Niños, niñas y adolescentes:** individuos menores de 18 años de edad *[ajustar según el contexto del país]*.
* **Resistencia adquirida del VIH a los medicamentos antirretrovirales:** este tipo de resistencia se desarrolla cuando mutaciones virales emergen y son seleccionadas en individuos que están recibiendo medicamentos antirretrovirales.
* **Carga viral detectable:** a efectos de esta encuesta, la carga viral detectable se refiere a la concentración de ARN del VIH que supera el límite inferior de detección de la prueba de carga viral con que se analiza a las personas tratadas con un esquema de tratamiento antirretroviral con dolutegravir en el país.
* **Persistencia confirmada de la carga viral detectable (viremia):** a efectos de esta encuesta, la persistencia confirmada de la carga viral detectable o viremia en las personas que están recibiendo un esquema de tratamiento antirretroviral con dolutegravir se define como la detección de una cantidad de ARN del VIH >1000 copias/ml en una segunda prueba confirmatoria posterior a la primera carga viral detectable que indica que el virus sigue siendo detectable tras un periodo de consejería intensificada en adherencia.

# **Introducción**

La resistencia del virus de inmunodeficiencia humana (VIH) a los medicamentos antirretrovirales (ARVs) surge y es seleccionada cuando el virus se replica en presencia de ARVs. La resistencia del VIH a los ARVs afecta la habilidad de estos medicamentos para bloquear la replicación viral, incidiendo negativamente en la eficacia de los programas de tratamiento antirretroviral (TAR). La resistencia del VIH a los ARVs disminuye la eficacia y opciones de los regímenes de TAR. Además, puede reducir la prevalencia de supresión viral en personas con VIH en TAR, aumentar el número de nuevas infecciones de VIH y las muertes asociadas a la infección avanzada por VIH, además de aumentar los costos del programa de TAR (1, 2).

Es por ello que la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda que se vigile la resistencia del VIH a los ARVs como componente clave de una respuesta integral y efectiva contra el VIH (3, 4). La vigilancia de la resistencia adquirida del VIH a los ARVs proporciona información crítica para evaluar el desempeño de los programas de TAR en el logro de los objetivos de supresión viral y describe los patrones de resistencia del VIH a los ARVs en la población que recibe TAR (3).

Actualmente, la OMS recomienda para adultos el uso de TAR con dolutegravir (DTG) como esquema preferente de primera línea y como esquema preferente de segunda línea para aquellos que estén recibiendo un esquema de TAR sin DTG y que tienen fallo virológico. También OMS recomienda el uso de TAR con dolutegravir para niños y niñas con ≥3 kg y ≥4 semanas de edad (5).

Una de sus mayores ventajas del dolutegravir reside en la alta barrera genética que impone a la selección de la farmacorresistencia (6). No se ha detectado resistencia a él en los participantes en ensayos clínicos que no habían recibido antes ningún ARV (7, 8) y, hasta la fecha, son muy pocos los no tratados con anterioridad en los que el tratamiento de primera línea con el TAR con dolutegravir ha fracasado (9). Con todo, la aparición de resistencia es posible, sobre todo en las personas que han recibido inhibidores de la integrasa de primera generación, cuya barrera genética a la selección de farmacorresistencia es comparativamente menor, o bien han recibido el dolutegravir como monoterapia (10). Datos recientes de los programas de TAR en el África subsahariana demuestran la aparición de resistencia en pacientes que han sufrido fracaso terapéutico con esquemas con dolutegravir (11, 12), situación que pone de relieve la necesidad de mantener una vigilancia epidemiológica sistemática de la resistencia a escala poblacional en quienes reciben TAR con DTG (3).

En *[nombre del país]* se estima que *[estimación nacional]* personas viven con VIH. Para el año *[indicar el año correspondiente]*, *[estimación nacional]* adultos y *[estimación nacional]* niños, niñas y adolescentes recibían TAR. Según la guía vigente de TAR, para adultos y adolescentes el esquema preferente de TAR de primera línea en *[nombre del país]* es *[incluir el esquema]* y el esquema de segunda línea estándar es *[incluir el esquema]*. En el caso de los niños y niñas, el esquema preferente de primera línea para niños con un peso <20kg es *[incluir el esquema]*, de 20 a 30kg es *[incluir el esquema]* y con >30kg es *[incluir el esquema]*.

# **Justificación**

La resistencia del VIH a los ARVs puede comprometer la eficacia de estos medicamentos para reducir la incidencia del VIH y la morbimortalidad asociadas al VIH (1, 2, 13). Incluso en contextos en que los programas de TAR se manejan óptimamente, la resistencia del VIH a los ARVs puede surgir y puede ser transmitida (14). A medida que se expanda el número de personas recibiendo ARVs para la prevención o tratamiento de VIH, es probable que se incremente la resistencia del VIH a los ARVs (15-17).

A fin de minimizar la aparición y propagación de la resistencia del VIH a los ARVs, la OMS recomienda que los programas de TAR y profilaxis pre exposición (PrEP) estén acompañados de medidas para monitorear la calidad de los servicios de TAR y PrEP, así como la vigilancia de la resistencia del VIH a los ARVs (3, 4), incluida la vigilancia de la resistencia adquirida del VIH a los ARVs (18).

A medida que el TAR con DTG se extiende a más personas que viven con el VIH en el mundo, adquiere más importancia estimar la frecuencia con que surge la resistencia adquirida del VIH a DTG en las poblaciones tratadas con esquemas que lo contienen. La OMS recomienda a los países que estén ampliando el uso de TAR con DTG, monitorear la resistencia del VIH al DTG como parte de la vigilancia de la resistencia del VIH a los ARVs (3, 19).

Los resultados de esta encuesta que se llevarán a cabo en *[nombre del país]* se utilizarán para informar la guía nacional de TAR y el plan de acción nacional para prevenir y controlar la resistencia del VIH al dolutegravir.

# **Objetivos**

## **Objetivos primarios**

* Estimar la prevalencia de la resistencia del VIH al dolutegravir en adultos que presentan viremia persistente confirmada mientras reciben un esquema de TAR con DTG.
* Estimar la prevalencia de la resistencia del VIH al dolutegravir en niños, niñas y adolescentes que presentan viremia persistente confirmada mientras reciben un esquema de TAR con DTG.

## **Objetivos secundarios**

* Estimar la prevalencia de resistencia del VIH a los ARVs que son administrados junto con el DTG en adultos que presentan viremia persistente confirmada mientras reciben un esquema de TAR con DTG.
* Estimar la prevalencia de resistencia del VIH a los ARVs que son administrados junto con el DTG en niños, niñas y adolescentes que presentan viremia persistente confirmada mientras reciben un esquema de TAR con DTG.

# **Metodología**

## **Diseño de la encuesta**

Se llevará a cabo una encuesta centinela siguiendo los métodos recomendados por la OMS para encuestas de resistencia adquirida basadas en laboratorios de carga viral (19).

El período de la encuesta será de tres meses, del *[mes de inicio]* al *[mes de finalización]*. Durante estos tres meses, las muestras de plasma sobrantes de los análisis de la carga viral que sean elegibles (**sección 7.3.1**) se almacenan prospectivamente en el sitio centinela (**sección 7.2**) siguiendo las recomendaciones de OMS para el manejo de este tipo de muestras biológicas (**sección 7.3.2**), hasta alcanzar el tamaño de muestra requerido (**sección 7.4**). Las muestras elegibles seleccionadas serán genotipadas siguiendo las recomendaciones de OMS (**sección 7.7**) y los resultados se utilizarán para estimar la prevalencia de resistencia del VIH a los ARVs (**sección 7.10**).

La encuesta se realizará de forma estratificada por adultos, por un lado, niños, niñas y adolescentes, por el otro. Se requiere analizar estos dos grupos por ya que puede diferir entre ellos la prevalencia de la supresión viral, la resistencia adquirida del VIH a los ARVs, sus determinantes y las acciones de salud pública requeridas.

## **Selección de laboratorios de carga viral a participar en la encuesta como sitios centinela**

*[Nota para editar esta sección: El país podrá decidir si en el estudio participan uno o varios laboratorios de carga viral como sitio centinela. Para actuar como centro centinela, el laboratorio tendrá que disponer de instalaciones adecuadas para conservar a –20 °C o –80 °C las muestras de los análisis de la carga viral, priorizando como sitios centinelas aquellos laboratorios donde se hagan más pruebas confirmatorias.*

*Opción A (un solo laboratorio): [El laboratorio de carga viral X fungirá en la encuesta como sitio centinela.]*

*Opción B (>1 laboratorio): [A continuación se incluye la lista de laboratorios que participarán en la encuesta como sitios centinela.]*

*Incluir lista de los laboratorios seleccionados y su identificador único de tres letras]*

## **Identificación y manejo de muestras de plasma elegibles**

### **Criterios de elegibilidad de las muestras de plasma sobrantes**

Las muestras de plasma elegible serán las muestras sobrantes de los análisis de carga viral que procedan de personas en que se confirme la viremia persistente (carga viral > 1000 copias/ml en la segunda prueba o prueba confirmatoria). Para ser elegibles para la encuesta, estas muestras sobrantes de los análisis de carga viral deben cumplir todos los criterios de inclusión y no cumplir con el criterio de exclusión. El **anexo 1** ofrece un esquema del proceso de selección de las muestras elegibles.

* + - 1. **Criterios de inclusión**
* La muestra de plasma es de una persona que ha recibido TAR con DTG por al menos 6 meses y que se encuentra recibiendo TAR al momento de la toma de muestra de carga viral;
* La muestra de plasma procede de un individuo que ha recibido consejería intensificada en adherencia durante tres meses posterior a una carga viral detectable.
* La muestra de plasma tiene un resultado de carga viral ≥1000 copias/ml), que confirma al individuo como un caso de viremia persistente.
* La muestra sobrante es suficiente en cantidad para la prueba de genotipaje de VIH (al menos *[el volumen mínimo requerido por el laboratorio que realizará las pruebas de genotipaje de VIH]* de plasma).
* La muestra puede ser vinculada a la información mínima necesaria para la encuesta (**sección 7.9**).
	+ - 1. **Criterio de exclusión**
* La muestra sobrante del análisis de la carga viral arroja un resultado inconcluyente en la prueba.
* La muestra sobrante pertenece a una «primera» prueba de carga viral que no se hizo para confirmar la persistencia de la viremia.

### **Manejo de muestras elegibles**

Las muestras de plasma que se utilizarán para esta encuesta deberán haberse tomado y manejado de acuerdo con los procedimientos recomendados por la OMS para la vigilancia de la resistencia del VIH a los ARVs (20) (**Anexo 2**).

Con relación al almacenamiento, las alícuotas de plasma deberán congelarse lo más pronto posible dentro de las 48 horas posterior a la toma de muestra. Las alícuotas de plasma serán almacenadas en congelación a -20 o -80°C en el *[nombre del laboratorio]* hasta su procesamiento. Se evitará congelar y descongelar las muestras de plasma para evitar dañar el ARN viral, que podría repercutir en fallas en la amplificación y secuenciación del VIH (20).

## **Cálculo del tamaño de la muestra**

El tamaño de la muestra recomendado por OMS (**ver anexo 3**) para las encuestas centinela de resistencia adquirida del VIH a DTG es de 139 por sitio centinela y por población (19). Es decir que, para esta encuesta, el tamaño de la muestra será *[agregar si se incluirá más de 1 sitio centinela: por cada sitio centinela]:*

* 139 muestras elegibles de adultos
* 139 muestras elegibles de niños, niñas y adolescentes.

Si los laboratorios centinelas a cargo de las pruebas de carga viral no pueden alcanzar el tamaño muestral deseado, se incluirán todas las muestras biológicas que sean aptas durante el período de la encuesta.

## **Procedimientos de muestreo**

Las muestras de plasma elegibles *[agregar si se incluirá más de 1 sitio centinela: en cada laboratorio centinela]* se someterán a un muestreo consecutivo hasta que se alcance el tamaño muestral deseado de 139. Se anotará las fechas de inicio y de final del muestreo *[agregar si se incluirá más de 1 sitio centinela: en cada laboratorio centinela]* y se tomará esta última para estimar el tamaño total de muestras elegibles en el plazo de tres meses fijado para la encuesta, dato necesario para aplicar la corrección por población finita al realizar el análisis de los datos.

Si al término de los tres meses el laboratorio centinela no ha alcanzado el tamaño muestral deseado de 139, en las pruebas de farmacorresistencia se incluirán todas las muestras elegibles que se hayan obtenido en ese plazo.

## **Identificador único de la encuesta para las muestras elegibles seleccionadas**

A las muestras elegibles que sean seleccionadas para la encuesta se les asignará un identificador único de la encuesta. Este identificador único de la encuesta estará formado por los siguientes cinco componentes separados por un guion (-):

* Abreviatura de tres letras que corresponde al país según la organización internacional de estandarización:[[1]](#footnote-1) *[código ISO de tres letras]* para *[nombre del país]*
* Tipo de encuesta: SADR (por sus siglas en inglés de “sentinel *acquired drug resistance”)*
* Año en que iniciará la encuesta: *[indicar el año]*
* Código de tres letras que identifica al laboratorio de carga viral participante (**sección 7.2**)
* Número de 4 dígitos, es decir, el número correlativo que se asignará a cada muestra elegible seleccionada en cada laboratorio
* Población: **a** para adultos y **c** para niños, niñas y adolescentes

Por ejemplo, si el laboratorio San Ignacio *[cambiar este ejemplo por el nombre un laboratorio de carga viral que participará en la encuesta]* es seleccionado para participar en la encuesta a realizarse en adultos en El Salvador *[cambiar este ejemplo por el nombre del país]* en el año 2023 *[cambiar este año por el año en que se realizará la encuesta]*, el identificador único de la encuesta para el primer paciente enrolado sería: SLV-SADR-2023-SAN-0001-a *[cambiar según corresponda]*.

## **Procedimientos de laboratorio para genotipaje de VIH**

### **Transporte de las muestras biológicas**

Las muestras elegibles que sean seleccionadas para la encuesta serán enviadas al *[nombre del laboratorio]* en cadena de frío utilizando hielo seco y evitando descongelar los especímenes (20). Las muestras serán embaladas usando un empaque triple. El envío de las muestras (embalaje, clasificación y etiquetado) se realizará según las regulaciones de la Asociación Internacional de Transporte Aéreo. Los permisos de importación y exportación se obtendrán previo a realizar el envío de las muestras.

### **Genotipaje de VIH**

A las muestras elegibles seleccionadas para la encuesta se les realizará el ensayo de genotipaje de VIH para detectar mutaciones asociadas a resistencia a los ARVs. El genotipaje de VIH será realizado según las recomendaciones de OMS (20) por el *[nombre del laboratorio]*, laboratorio designado por OMS para la vigilancia de la resistencia del VIH a los ARVs. El genotipaje de VIH incluirá la secuenciación parcial del gen Pol que incluye la Proteasa, Transcriptasa Inversa e Integrasa (20). Las secuencias virales serán identificadas utilizando el identificador único de la encuesta (**sección 7.6**).

Las secuencias serán ensambladas usando ReCall (British Columbia Centre for Excellence in HIV/AIDS, BCCfE, Vancouver, BC) (21). El control de calidad de las secuencias generadas por el genotipaje de VIH se realizará utilizando la herramienta web recomendada por OMS (WHO/BCCfE HIVDR quality control tool): <https://recall.bccfe.ca/who_qc/> (22). Si se identifican pares o grupos de secuencias virales con diferencia genética <0.5%, se repetirá el proceso de genotipaje de VIH para descartar errores de contaminación.

## **Manejo de datos clínicos y demográficos**

Los datos demográficos y clínicos requeridos se descargarán de las bases de datos electrónicas de laboratorio *[Alternativamente: se extraerán manualmente de los formularios de solicitud de carga viral que acompañan a las muestras de carga viral]. [Si es necesario: [de ser necesario, la información será complementada utilizando registros de las clínicas de TAR de las que se obtuvieron las muestras.]* Los datos demográficos y clínicos serán identificados usando el identificador único de la encuesta (**sección 7.6**).

El control de calidad de los datos digitados será evaluado por un coordinador de la encuesta. Las discrepancias, como respuestas inconsistentes o fuera de rango, y datos faltantes serán informadas y corregidas según corresponda.

## **Variables a recolectar**

### **7.9.1 Información del paciente**

**Información demográfica y clínica**

* Código del laboratorio de carga viral (**sección 7.2**)
* Identificador único de la encuesta para la muestra elegible (**sección 7.6**)
* Identificador único utilizado en la clínica o laboratorio para el paciente (esta variable es opcional)
* Fecha de nacimiento (DD/MM/AAAA). Si se desconoce, se registrará la edad en años cumplidos
* Sexo al nacer (hombre, mujer)
* Género (masculino, femenino, transgénero)
* Fecha en que el paciente inició TAR por primera vez (DD/MM/AAAA)
* Régimen actual de TAR (primera línea/ segunda línea / tercera línea)
* Esquema de TAR actual (indicar ARVs utilizados)
* Fecha de inicio del TAR con dolutegravir
* Fecha de inicio (o reinicio) del esquema actual
* Carga viral actual (valor en copias/ml)
* Carga viral anterior (fecha y valor en copias/ml)

### **7.9.2 Información por sitio centinela**

* Nombre del laboratorio de carga viral
* Código del laboratorio de carga viral (**sección 7.2**)
* Fecha de inicio de recolección de muestras elegibles (DD/MM/AAAA)
* Fecha en que finalizó la recolección de muestras elegibles (DD/MM/AAAA)

## **Análisis estadístico**

La herramienta *WHO/BCCfE HIVDR quality control tool* (22) se utilizará para evaluar la distancia genética de las secuencias virales. Si se identifican pares o grupos de secuencias virales con diferencia genética <0.5%, sin vínculo epidemiológico aparente, solamente una secuencia de dicho grupo se incluirá en el análisis de datos.

La resistencia del VIH a los ARVs será estimada utilizando la base de datos de resistencia de VIH de la Universidad de Stanford HIVdb (23, 24). Se considerará que el virus es resistente a los ARVs cuando la base de datos HIVdb asigne un punteo ≥15 al menos a una droga. Se reportará la resistencia del VIH desagregada por ARV.

Se realizará el análisis estadístico acorde a la guía de OMS para el análisis de encuestas de resistencia adquirida del VIH a los ARVs (18), utilizando STATA (StataCorp, College Station, TX, USA). Las estimaciones se realizarán utilizando pesos estadísticos según el diseño de estudio acorde a la guía de OMS para el análisis de encuestas centinela de resistencia adquirida del VIH a DTG (19). El análisis estadístico se realizará en forma separada para niños, niñas y adolescentes y para adultos, y será ajustado por población finita. Se estimarán proporciones y sus intervalos de confianza al 95%.

# **Consideraciones éticas**

*[Seleccione la opción que corresponda y edite según sea pertinente:*

*Opción A: Este protocolo ha sido evaluado y aprobado por el comité de ética [indicar el nombre del comité. Dado que el análisis de genotipaje de VIH se realizará en muestras sobrantes de carga viral deidentificadas, no será necesario obtener un consentimiento informado.*

*Opción B: Este protocolo describe una actividad de vigilancia, la vigilancia de la resistencia del VIH a los ARVs. Por lo tanto, este protocolo ha sido aprobado por la normativa local como una actividad de vigilancia y no se requerirá consentimiento informado.]*

El personal que participará en la encuesta será capacitado sobre el propósito de la encuesta y sobre los procedimientos apropiados para el almacenamiento y selección de muestras elegibles para las encuestas de resistencia de VIH a los ARVs. La capacitación contemplará cómo mantener la confidencialidad de los datos de los pacientes cuya muestra será incluida en la encuesta y el uso correcto de los datos recopilados y las muestras biológicas recolectadas.

# **Diseminación de resultados**

Se escribirá un informe con los hallazgos de la encuesta. Los hallazgos de la encuesta se discutirán dentro del Ministerio de Salud y se utilizarán para desarrollar/actualizar el plan de acción nacional para prevenir y controlar la FRVIH y la guía nacional de TAR.

El informe se compartirá con las diferentes entidades del Ministerio de Salud según corresponda y con socios en la respuesta nacional contra el VIH, pero en ningún caso los reportes incluirán datos que identifiquen a las personas.

Los hallazgos de la encuesta se publicarán en revista científicas, según lo considere pertinente el Ministerio de Salud.

Además, los datos de la encuesta (datos demográficos, clínicos y de laboratorio) se compartirán con OPS/OMS para que los hallazgos sean incluidos en los análisis regionales y mundiales.

# **Referencias**

1. Phillips AN, Stover J, Cambiano V, Nakagawa F, Jordan MR, Pillay D, et al. Impact of HIV Drug Resistance on HIV/AIDS-Associated Mortality, New Infections, and Antiretroviral Therapy Program Costs in Sub-Saharan Africa. The Journal of infectious diseases. 2017;215(9):1362-5.

2. Guidelines on the public health response to pretreatment HIV drug resistance: July 2017. Geneva: World Health Organization; 2017. p. 84.

3. HIV drug resistance strategy, 2021 update. Geneva: World Health Organization; 2021.

4. Global Action Plan on HIV drug resistance 2017–2021. Geneva: World Health Organization; 2017. p. 40.

5. Consolidated guidelines on HIV prevention, testing, treatment, service delivery and monitoring: recommendations for a public health approach. Geneva: World Health Organization; 2021.

6. Inzaule SC, Hamers RL, Doherty M, Shafer RW, Bertagnolio S, Rinke de Wit TF. Curbing the rise of HIV drug resistance in low-income and middle-income countries: the role of dolutegravir-containing regimens. The Lancet infectious diseases. 2019;19(7):e246-e52.

7. Venter WDF, Moorhouse M, Sokhela S, Fairlie L, Mashabane N, Masenya M, et al. Dolutegravir plus Two Different Prodrugs of Tenofovir to Treat HIV. The New England journal of medicine. 2019;381(9):803-15.

8. Kouanfack C, Mpoudi-Etame M, Omgba Bassega P, Eymard-Duvernay S, Leroy S, Boyer S, et al. Dolutegravir-Based or Low-Dose Efavirenz-Based Regimen for the Treatment of HIV-1. The New England journal of medicine. 2019;381(9):816-26.

9. Lübke N, Jensen B, Hüttig F, Feldt T, Walker A, Thielen A, et al. Failure of Dolutegravir First-Line ART with Selection of Virus Carrying R263K and G118R. The New England journal of medicine. 2019;381(9):887-9.

10. Rhee SY, Grant PM, Tzou PL, Barrow G, Harrigan PR, Ioannidis JPA, et al. A systematic review of the genetic mechanisms of dolutegravir resistance. J Antimicrob Chemother. 2019;74(11):3135-49.

11. van Oosterhout JJ, Chipungu C, Nkhoma L, Kanise H, Hosseinipour MC, Sagno JB, et al. Dolutegravir Resistance in Malawi's National HIV Treatment Program. Open Forum Infect Dis. 2022;9(5):ofac148.

12. Kamori D, Barabona G, Rugemalila J, Maokola W, Masoud SS, Mizinduko M, et al. Emerging integrase strand transfer inhibitor drug resistance mutations among children and adults on ART in Tanzania: findings from a national representative HIV drug resistance survey. J Antimicrob Chemother. 2023;78(3):779-87.

13. Systematic reviews and meta-analyses informing the guidelines on the public health response to pretreatment HIV drug resistance. Web Annex 2. Geneva: World Health Organization; 2017.

14. Bennett DE, Myatt M, Bertagnolio S, Sutherland D, Gilks CF. Recommendations for surveillance of transmitted HIV drug resistance in countries scaling up antiretroviral treatment. Antiviral therapy. 2008;13:25.

15. van de Vijver DA, Nichols BE, Abbas UL, Boucher CA, Cambiano V, Eaton JW, et al. Preexposure prophylaxis will have a limited impact on HIV-1 drug resistance in sub-Saharan Africa: a comparison of mathematical models. AIDS (London, England). 2013;27(18):2943-51.

16. Cambiano V, Bertagnolio S, Jordan MR, Pillay D, Perriens JH, Venter F, et al. Predicted levels of HIV drug resistance: potential impact of expanding diagnosis, retention, and eligibility criteria for antiretroviral therapy initiation. AIDS (London, England). 2014;28 Suppl 1:S15-23.

17. Phillips AN, Venter F, Havlir D, Pozniak A, Kuritzkes D, Wensing A, et al. Risks and benefits of dolutegravir-based antiretroviral drug regimens in sub-Saharan Africa: a modelling study. The lancet HIV. 2019;6(2):e116-e27.

18. Laboratory-based survey of acquired HIV drug resistance using remnant viral load specimens. Geneva: World Health Organization; 2021.

19. Estudios de vigilancia centinela de la resistencia adquirida por el VIH contra el dolutegravir en personas tratadas con este antirretrovírico en un esquema combinado. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2023. p. 30.

20. WHO HIVResNet HIV drug resistance laboratory operational framework. Second ed. Geneva: World Health Organization; 2020. p. 82.

21. Woods CK, Brumme CJ, Liu TF, Chui CK, Chu AL, Wynhoven B, et al. Automating HIV drug resistance genotyping with RECall, a freely accessible sequence analysis tool. Journal of clinical microbiology. 2012;50(6):1936-42.

22. WHO HIVDR QC Tool. In: Woods CK, Harrigan PR, editors. <https://pssm.cfenet.ubc.ca/who_qc>.

23. Rhee SY, Gonzales MJ, Kantor R, Betts BJ, Ravela J, Shafer RW. Human immunodeficiency virus reverse transcriptase and protease sequence database. Nucleic acids research. 2003;31(1):298-303.

24. Liu TF, Shafer RW. Web resources for HIV type 1 genotypic-resistance test interpretation. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 2006;42(11):1608-18.

## **Anexo 1:** Flujograma para la selección de muestras elegibles

Prueba de carga viral en el semestre siguiente al inicio del TAR, en los 12 meses siguientes al inicio y anualmente desde entonces

MUESTRA SOBRANTE APTA\*\*\*

Carga viral indetectable\*

Carga viral detectable \*\*

Reanálisis de la carga viral tras recibir asesoramiento durante 3 meses para mejorar el cumplimiento

Carga viral detectable

> 1000 copias/ml

Carga viral detectable

≤ 1000 copias/ml

Muestra sobrante
no apta

Muestra sobrante
no apta

\*Carga viral indetectable: la concentración de VIH se sitúa **por debajo** del límite inferior de detección de la prueba de carga viral usada en el país. En la mayoría de países el límite inferior de detección es de 20 copias/ml.

\*\*Carga viral detectable: la concentración de VIH se sitúa **por encima** del límite inferior de detección de la prueba de carga viral usada en el país. En la mayoría de países el límite inferior de detección es de 20 copias/ml.

\*\*\*Debe tener el volumen adecuado y las variables requeridas.

Persona tratada con un TAR que contiene dolutegravir

## **Anexo 2:** Consideraciones para la toma y manejo de muestras de plasma que serán utilizadas para la encuesta de resistencia de VIH a los ARVs

Las muestras biológicas se recolectarán, manipularán, almacenarán y procesaran de acuerdo con los procedimientos recomendados por la OMS para la vigilancia de la resistencia del VIH a los ARVs (20).

**Toma de muestra sanguínea:** las muestras de sangre venosa periférica se colectarán en tubos con EDTA como anticoagulante. Este procedimiento se realizará siguiendo las precauciones universales de bioseguridad para la toma de muestras sanguíneas.

**Manejo de las muestras biológicas:** La centrifugación, pipeteo y la preparación de alícuotas se realizará siguiendo las precauciones estándar de bioseguridad en el laboratorio. El plasma será separado lo más pronto posible dentro de las siguientes 6 horas de haberse extraído la sangre. Durante el período entre la toma de muestra y la separación del plasma, las muestras de sangre completa se mantendrán en refrigeración (4°C).

Las muestras de sangre serán centrifugadas a 800-1600 x g por 20 minutos a temperatura ambiente. El plasma será separado utilizando pipetas de transferencia estériles, generando al menos 3 alícuotas de plasma de 1ml en criotubos. Las alícuotas de plasma se mantendrán en refrigeración (4°C) en tanto son congeladas (<48 horas de haber sido colectadas) a -20 o -80°C.

## **Anexo 3:** Cálculo del tamaño de muestra

Cuando los tamaños muestrales son moderados y las estimaciones de la prevalencia quedan alejadas de los límites (alejadas del 0% o del 100%), el método de cálculo del intervalo de confianza aplicable en los estudios con muestras individuales se basa en la distribución normal estándar o *z*. La fórmula del tamaño muestral necesario se obtiene invirtiendo el intervalo de confianza de Wald al 95% con la distribución normal estándar:

$$n=\frac{z\_{0.975}^{2}\*p^{HIVDR}\*\left(1-p^{HIVDR}\right)}{L^{2}},$$

donde $n$ es el tamaño muestral necesario, $p^{HIVDR}$ es la prevalencia prevista de la resistencia al dolutegravir del VIH, $L$ es la precisión absoluta deseada, y $z\_{0.975}$ es el cuantil 97,5 de la distribución normal estándar.

Ante la carencia de datos extensos y concluyentes sobre la prevalencia de la resistencia al dolutegravir, la $p^{HIVDR}$ del estudio queda fijada en el 50%. Este es el punto de variabilidad máxima y dará el mayor tamaño muestral necesario para hacer la estimación. La amplitud deseada del intervalo de confianza es de ±10%, lo cual da como resultado un tamaño muestral necesario de *n* = 97.

**Sobredimensionamiento del tamaño muestral para compensar los fallos en la genotipificación**

El tamaño muestral necesario ha de aumentarse para tener en cuenta los fallos en las pruebas de genotipificación de las muestras. Como en el análisis de datos no se podrá disponer de los resultados de resistencia del VIH de todas las muestras seleccionadas, la OMS recomienda aplicar a los cálculos del tamaño muestral una tasa prevista por fallo de la genotipificación del 30%. Así pues, el tamaño muestral deseado será (${97}/{\left(1-0,3\right)}$) = 139.

## **Anexo 4:** cronograma

*[Ajustar según sea requerido]*

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Actividad** | **Mes A** | **Mes B** | **Mes C** | **Mes D** | **Mes E** | **Mes F** | **Mes G** | **Mes H** | **Mes I** | **Mes J** |
| **Fase preparatoria** |
| Desarrollo del protocolo | X |  |   |   |   |   |   |   |   |   |
| Aprobación del protocolo |   | X  |  |   |   |   |   |   |   |   |
| Adquisición de insumos |   |   | X |  |  |   |   |   |   |   |
| Capacitación |   |   | X  |  |  |   |   |   |   |   |
| Gestión de permisos de exportación e importación de muestras biológicas |   |   |  X | X |  |   |   |   |   |   |
| **Fase de la encuesta** |
| Almacenamiento de muestras elegibles |   |   |   |  X |  X | X |  |  |   |   |
| Envío de muestras biológicas al laboratorio para genotipaje de VIH |   |   |   |   |   |   | X  |  |   |   |
| Realización de genotipaje de VIH |   |   |   |   |   |   |  X |  X |  |  |
| Análisis de datos y elaboración de informe |   |   |   |   |   |   |   |   |  X  |   |
| Socialización de los resultados |   |   |   |   |   |   |   |   |   | X  |

1. Códigos de país según la norma ISO 3166: <https://www.iso.org/obp/ui/#search/code/> [↑](#footnote-ref-1)