



Universidad de Buenos Aires, Facultad de Medicina

Departamento de Microbiología, Parasitología
e Inmunología
Cátedra 1
Microbiología II

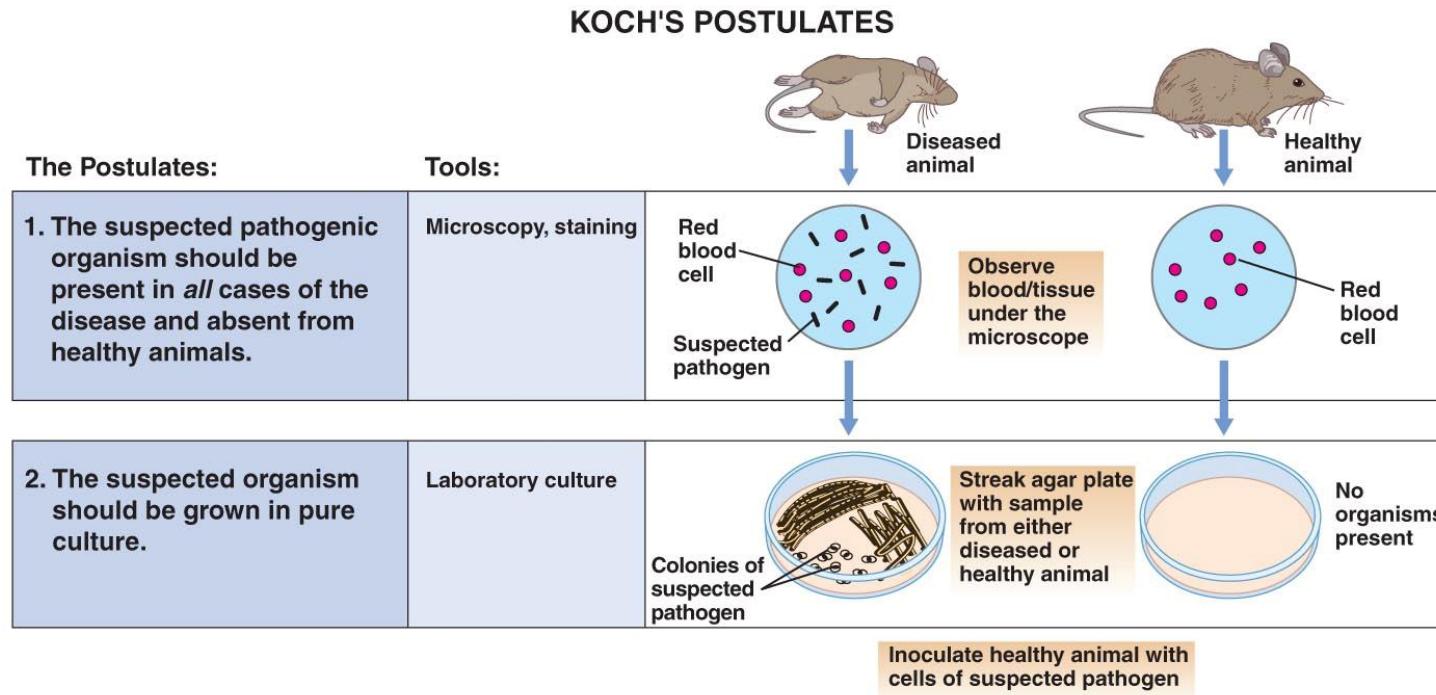
Teórico 3
Diagnóstico Virológico

Manuel Gómez Carrillo

- Más del **60%** de las enfermedades infecciosas que el médico advierte son producidas por virus.

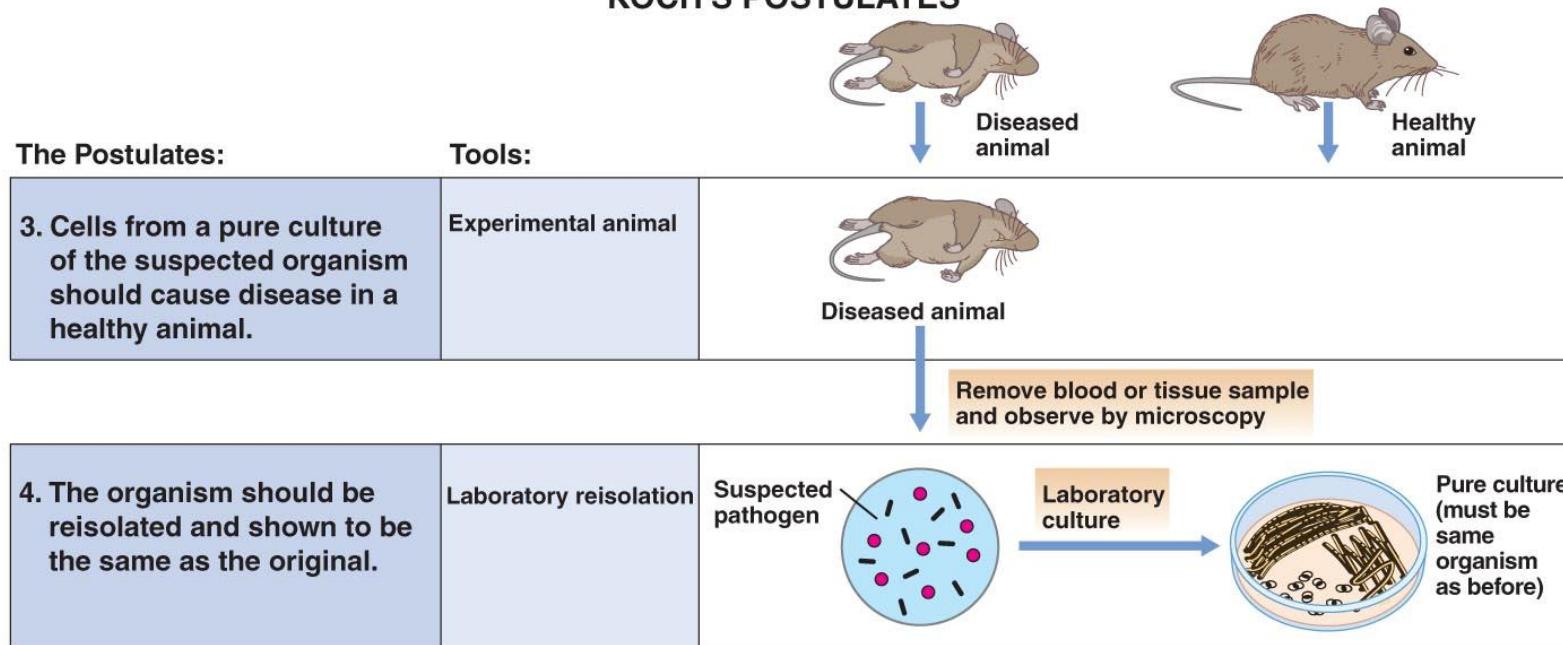


Postulados de Koch



1. El patógeno debe estar presente en el hospedador enfermo
2. El patógeno puede ser aislado en cultivo puro desde hospedador enfermo

KOCH'S POSTULATES



3. El patógeno causa enfermedad cuando es inoculado en un hospedador sano
4. El patógeno puede ser re-aislado desde el hospedador infectado de novo en postulado 3.

Postulados de Rivers

Thomas Milton Rivers, 1937 - Modifica los postulados de Koch
(válidos en infecciones bacterianas)

1. Aislamiento del virus desde el hospedador enfermo.
2. Aislamiento de virus en **cultivo en células**.
3. Prueba de tamaño por filtrado.
4. Producción de enfermedad comparable cuando el virus cultivado es inoculado para infectar animales de experimentación.
5. Re-aislamiento del mismo virus desde el animal de experimentación.
6. Detección de una **respuesta inmune específica** contra el virus.

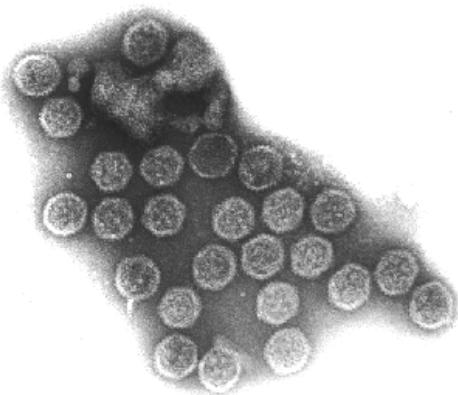
Diagnóstico Virológico

Un elemento crucial para realizar el diagnóstico de laboratorio de un virus, cualquiera sea el método empleado, es la toma y el procesamiento de una muestra clínica adecuada.

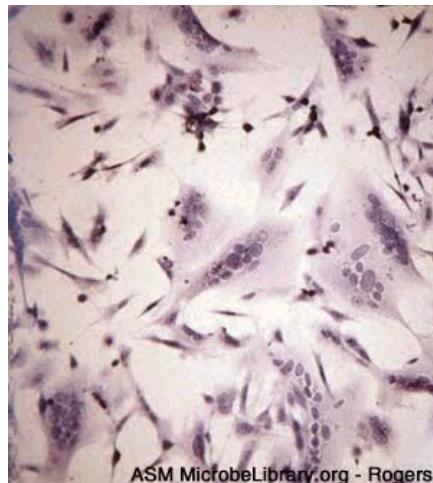
¿Porqué es importante?

INFORMACIÓN

ESTRUCTURAL



BIOLÓGICA

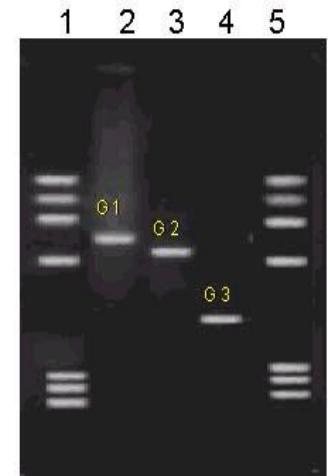


ASM MicrobeLibrary.org - Rogers

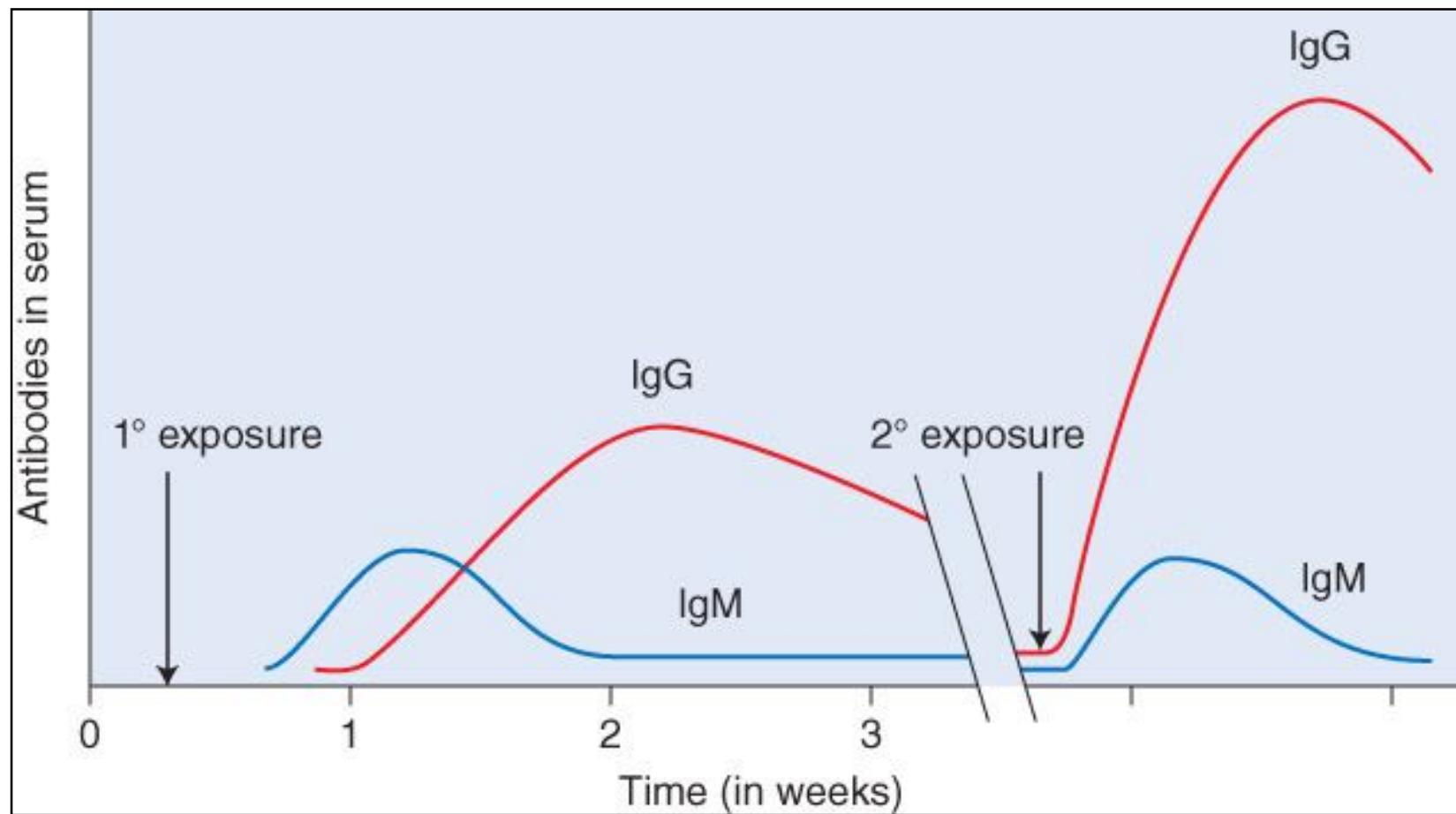
ANTIGENICA



GENÓMICA

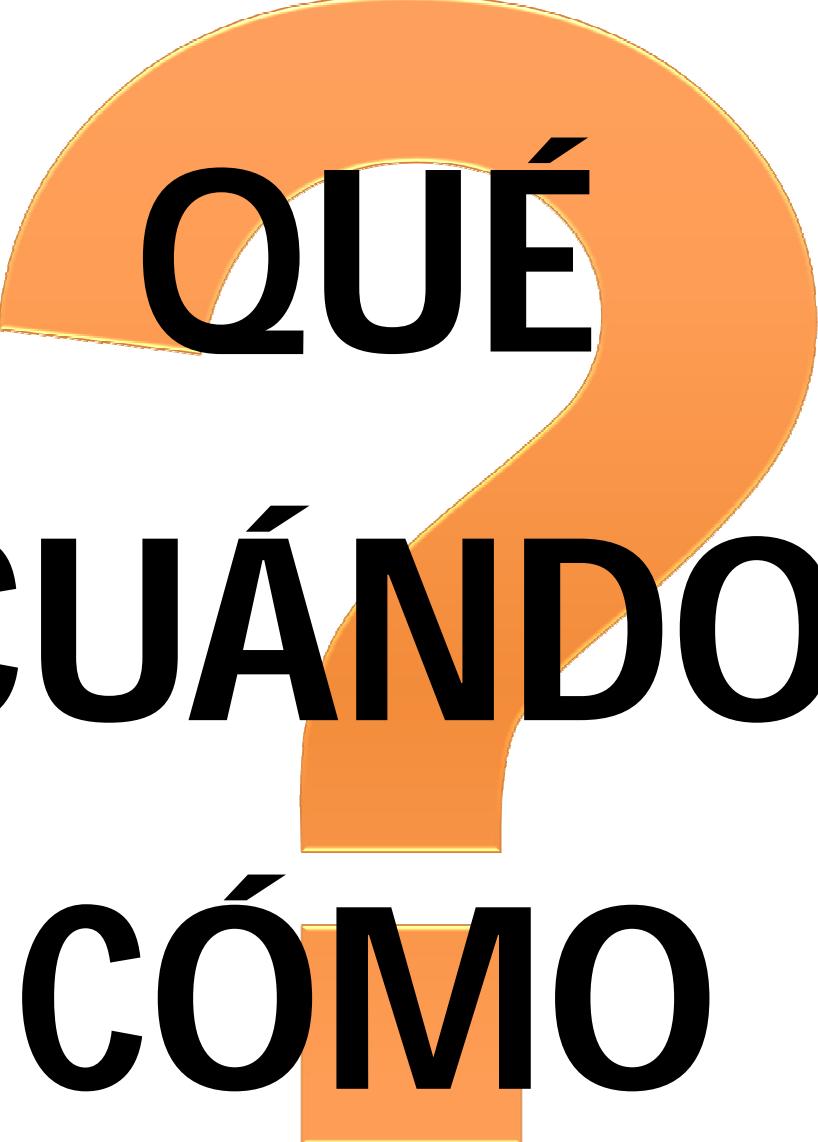


Respuesta inmunológica



¿Cuál es la mejor?



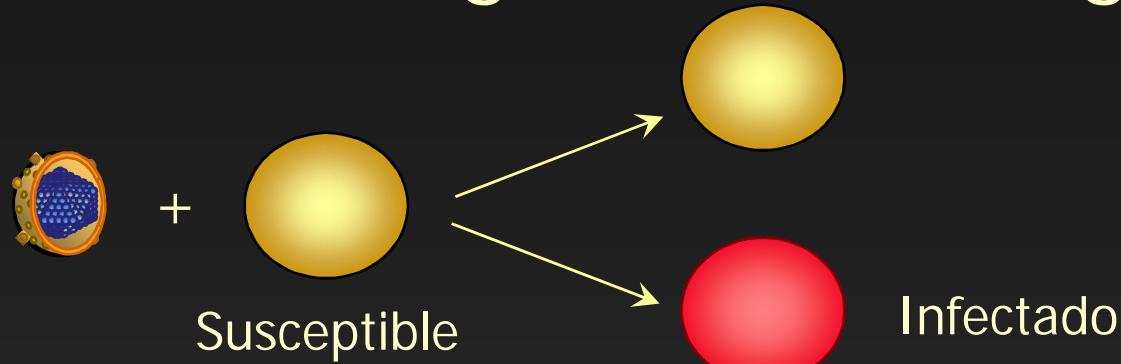


QUÉ

CUÁNDO

CÓMO

Diagnóstico Virológico



Susceptible Infectado



Agudo

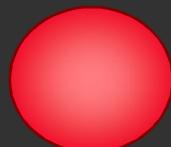
Asintomático

Sintomático

Persistencia



Portador inactivo

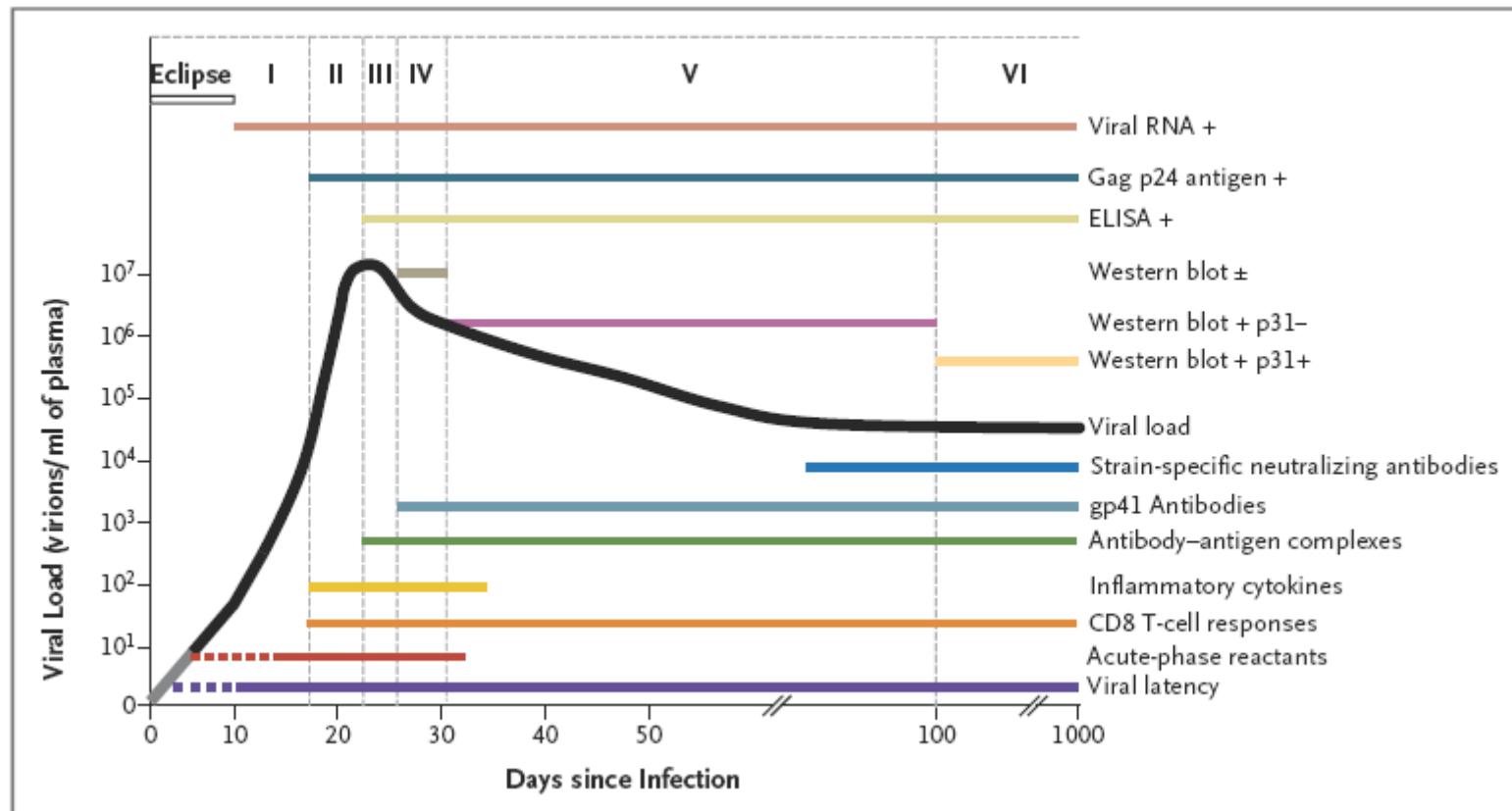


Crónico activo

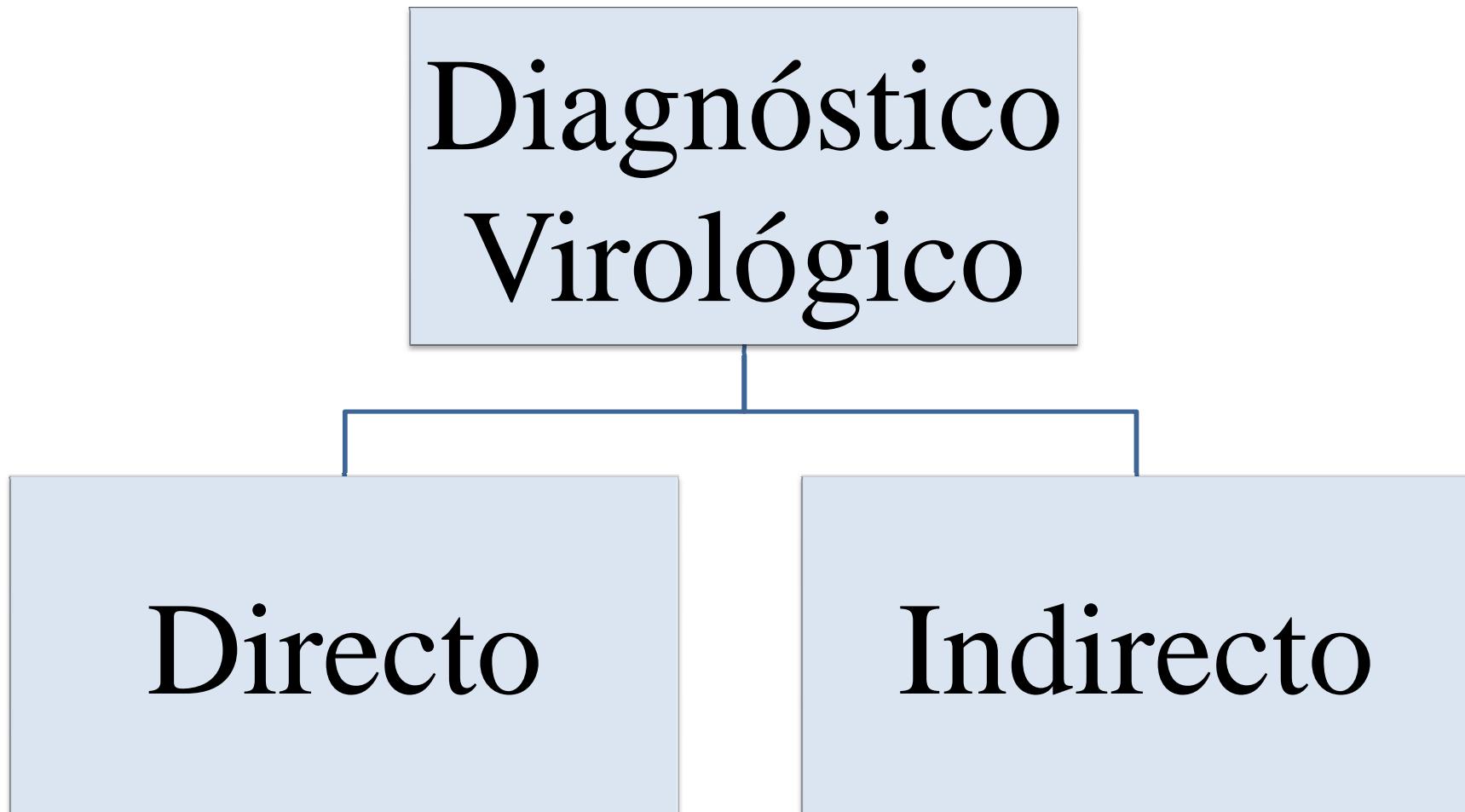


Recuperado

Una infección es un proceso dinámico



MÉTODO vs TÉCNICA



Estrategias Generales para el Diagnóstico de Laboratorio de las Infecciones Virales

■ Detección Directa

- Microscopia o tinciones
- Aislamiento Viral
- Detección de antígenos virales
- Detección del material genómico (ADN o ARN)

■ Detección Indirecta

- Anticuerpos específicos

Colección y Conservación de las muestras biológicas para pruebas virológicas

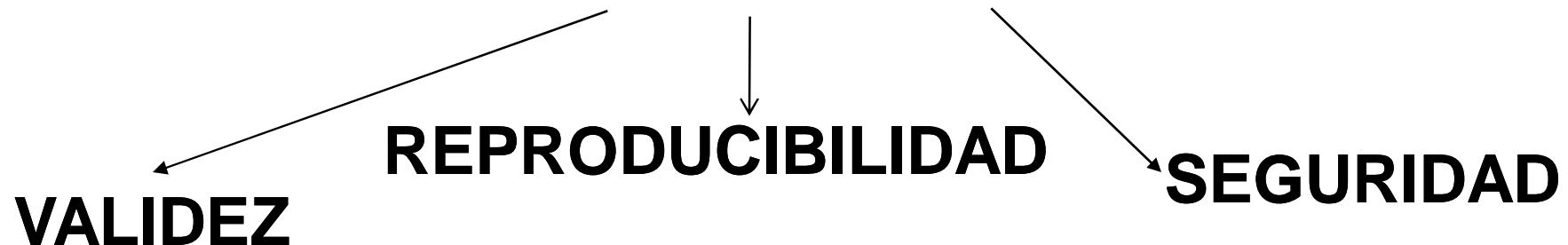
- **¿Qué tipo de muestras se colectan para el diagnóstico virológico?**

- *Infecciones del tracto respiratorio*: Hisopados nasales y faríngeos, aspirado nasofaríngeo, lavados bronquiales, esputo
- *Infecciones oculares*: Hisopados faríngeos y conjuntivales
- *Infecciones del tracto gastrointestinal*: heces e hisopado rectal
- *Rash vesicular*: fluido vesicular, raspado de la base de la lesión
- *Rash maculopapular*: hisopados faríngeo, rectal y heces.
- *SNC (encefalitis y meningitis)*: líquido cefalorraquídeo, heces, tejidos, saliva, biopsia de cerebro.
- *Infecciones genitales*: fluido vesicular o hisopado
- *Infecciones de tracto urinario*: orina
- *Infecciones transmitidas por sangre*: sangre

CONCEPTOS BASICOS PARA LA TOMA DE MUESTRA

- ❖ Elegir el material que mejor represente el proceso infeccioso.
- ❖ Tomar la muestra en el momento adecuado y en lo posible antes de que el paciente reciba antivirales.
- ❖ Obtener la muestra evitando contaminarla con la flora normal del paciente.
- ❖ Tamaño o volumen de la muestra adecuado.
- ❖ Utilizar un recipiente estéril y adecuado para su conservación y transporte
- ❖ Identificar la muestra correctamente.
- ❖ Enviar al laboratorio lo más rápidamente posible.

DIAGNÓSTICO VIROLOGICO



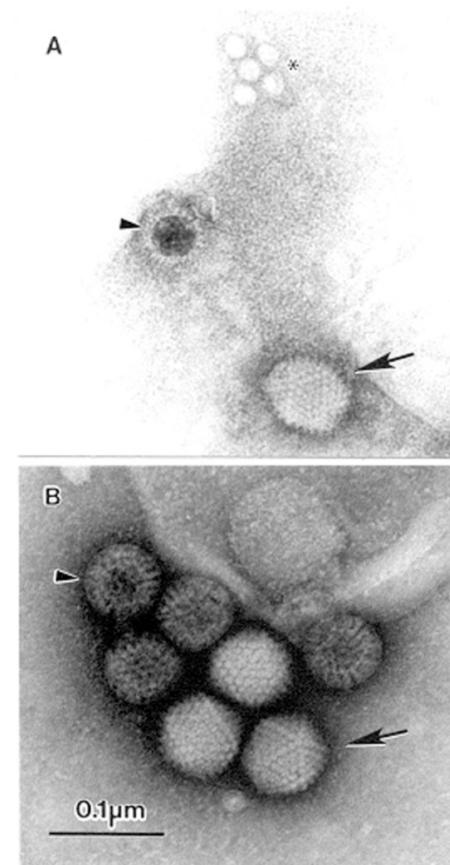
Especificidad y Sensibilidad

Valores Predictivos

1. Son parámetros matemáticos.
2. Los cálculos se basan en casos positivos y negativos.
3. Reflejan la correcta (verdadera) o incorrecta (falsa) identificación:
 - Del microorganismo.
 - De los componentes del microorganismos (antígenos, ácidos nucleicos).
 - De la respuesta inmune frente a la infección

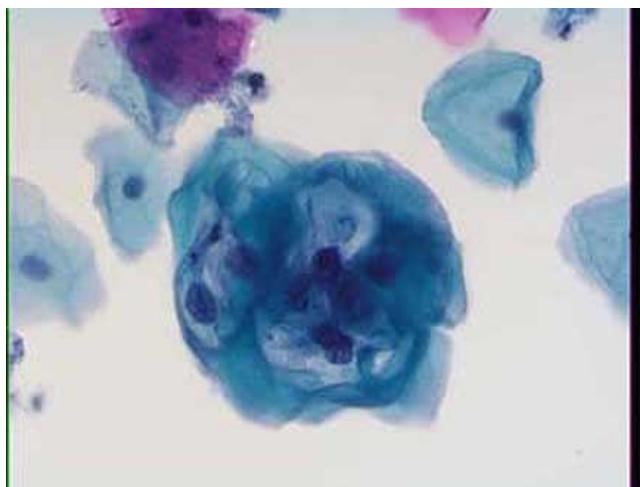
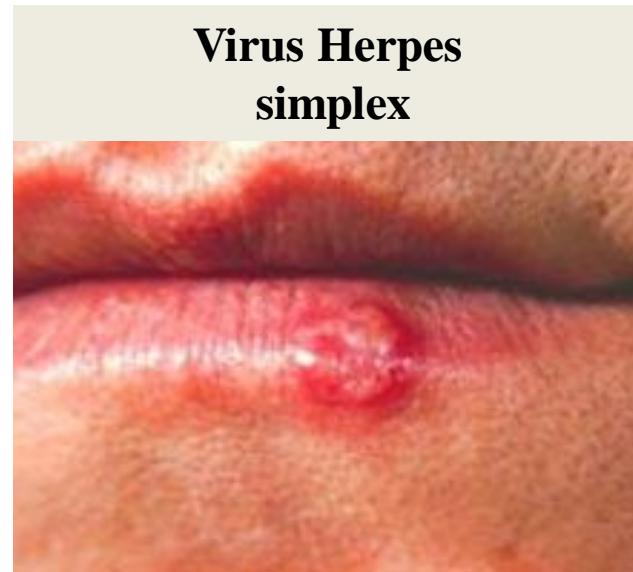
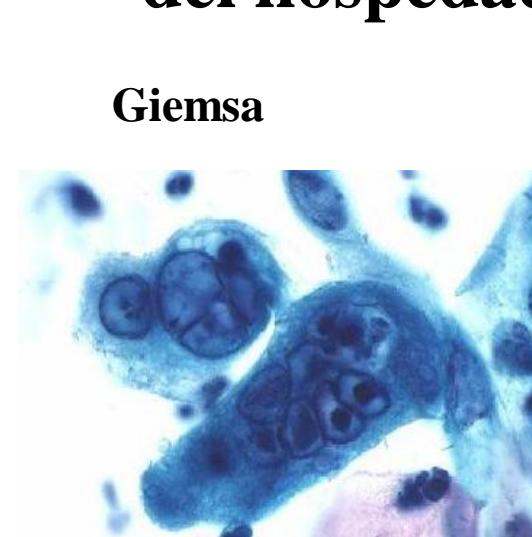
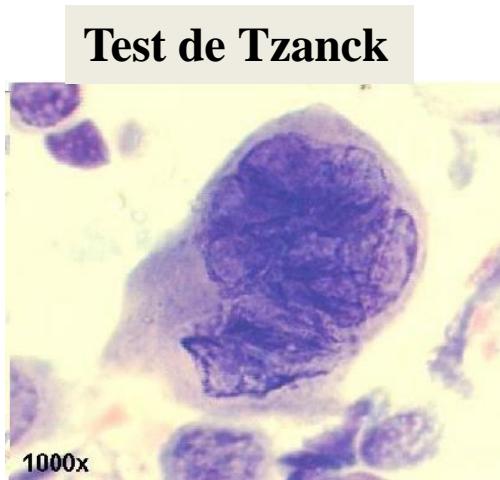
Detección Directa

- Microscopia electrónica
 - Examinar un espécimen para “ver” la presencia de virus
 - Inmuno-microscopia electrónica
 - Anticuerpos marcados



Métodos Directos

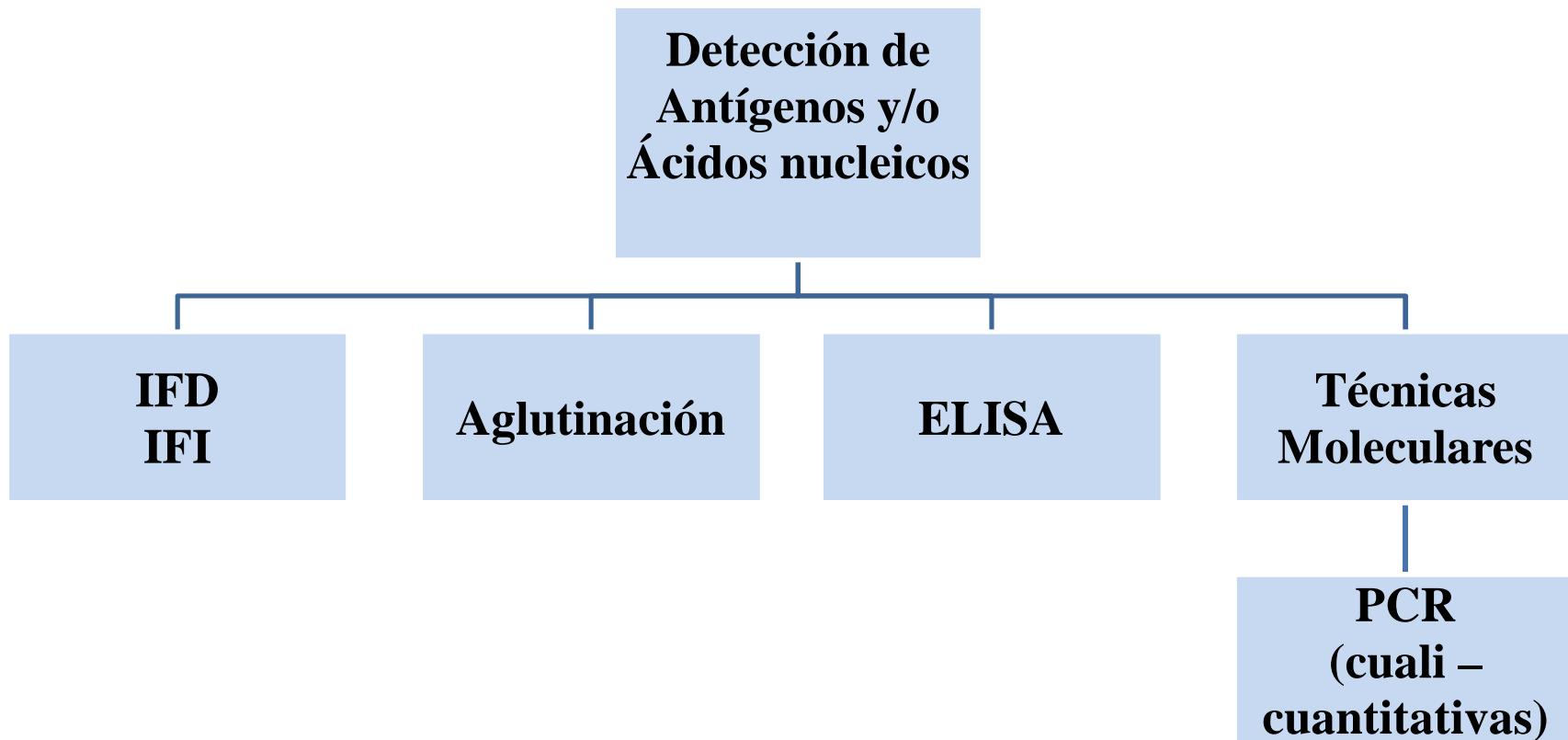
Eventos del virus que conducen a daño en células y tejidos del hospedador



Coilocitos en una muestra de citología exfoliativa del cuello uterino: método de Papanicolaou.

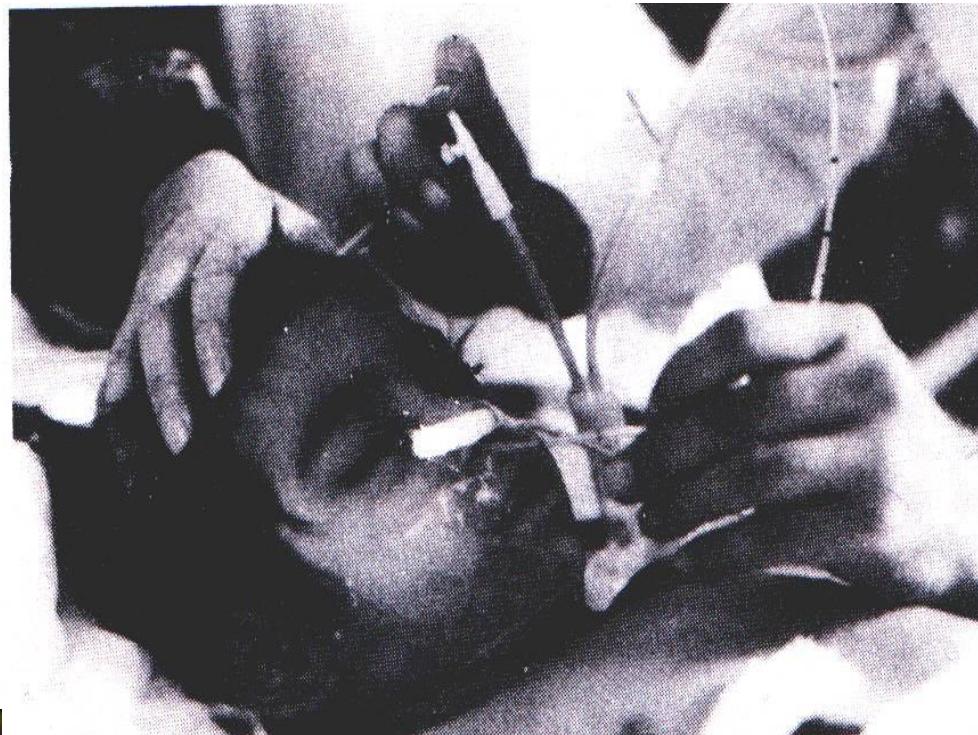
Métodos Directos

Detección de componentes del microorganismos o genoma

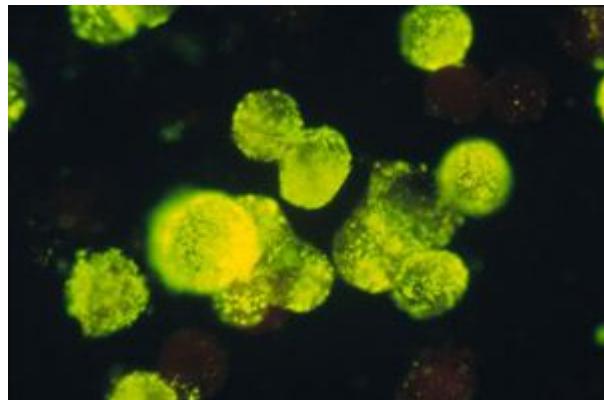


Métodos Directos

Determinación de antígenos virales en muestras respiratorias



Antígenos por IF



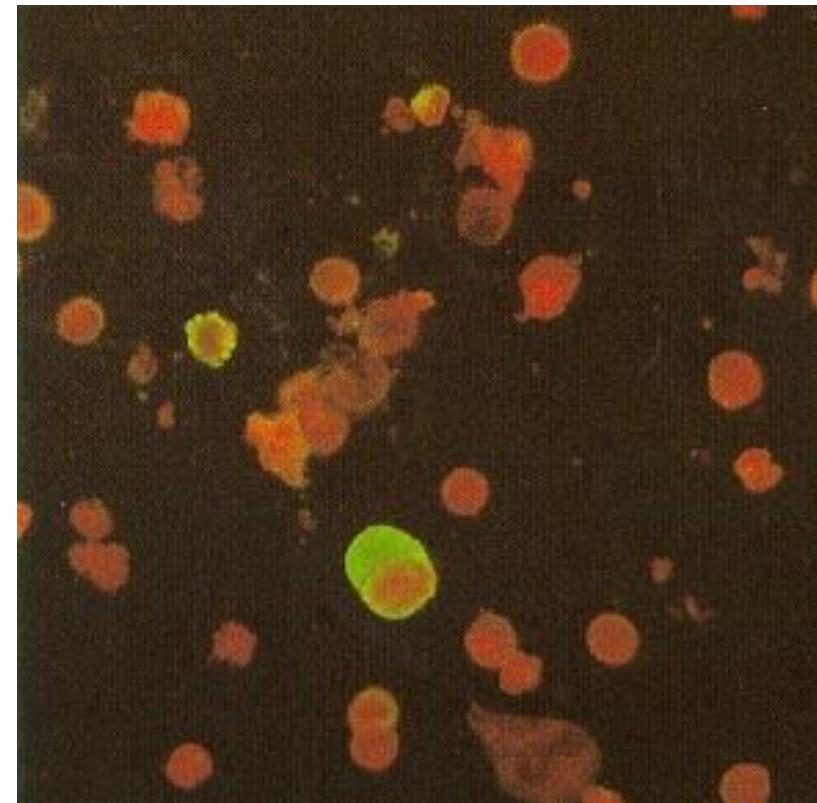
Aspirado nasofaríngeo



Método de estudio:

Las muestras de ANF son estudiadas por Inmunofluorescencia directa o indirecta con anticuerpos monoclonales para 7 virus respiratorios:

- Adenovirus
- RSV
- Influenza A y B
- Parainfluenza 1, 2 y 3
- Metapneumovirus



Cultivo de virus en el Laboratorio ("aislamiento")

- Virus necesitan un sistema “hospedador”
- pueden multiplicarse en:
 - Animales
 - Huevos embrionados
 - Cultivos de tejidos (o celulares, de preferencia)

Cultivos celulares

Euploidismo

Constituido por distintos tipos celulares

Crecimiento limitado (5 a 10 divisiones celulares)

Virología experimental. Preparación de vacunas a virus atenuado

Cultivos Primarios

Población homogénea (tipo celular único), diploide

Hasta 100 divisiones

Células diploides

Uso: vacunas

Único tipo celular

Aneuploidismo

Crecimiento ilimitado

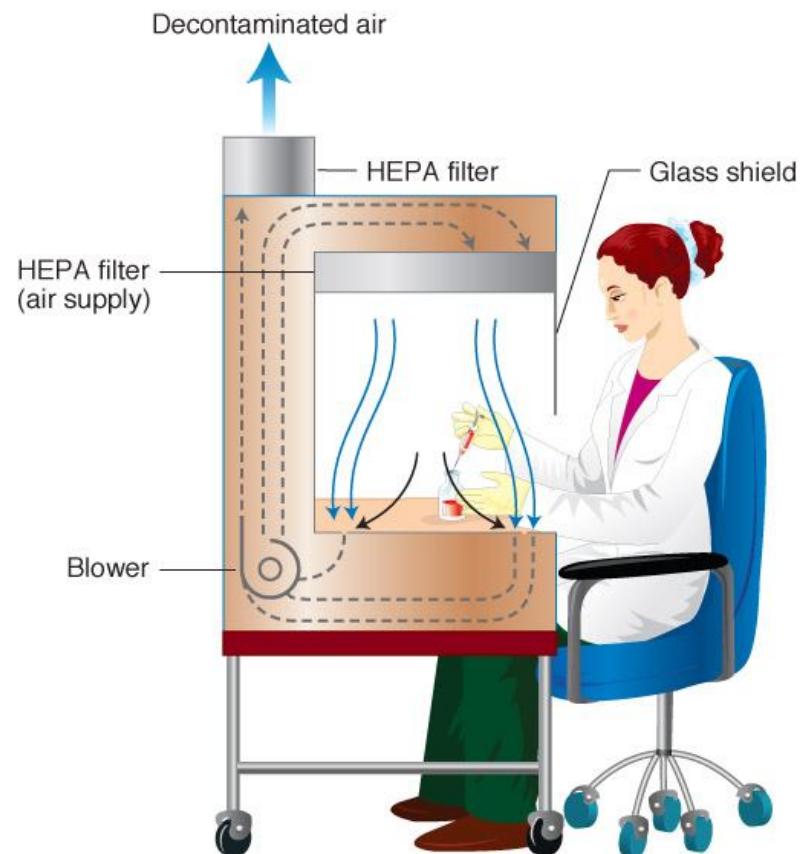
Surgidas desde células tumorales o de cultivos diploides

Menos diferenciadas

Línea celular continua

Cabinas de Flujo Laminar

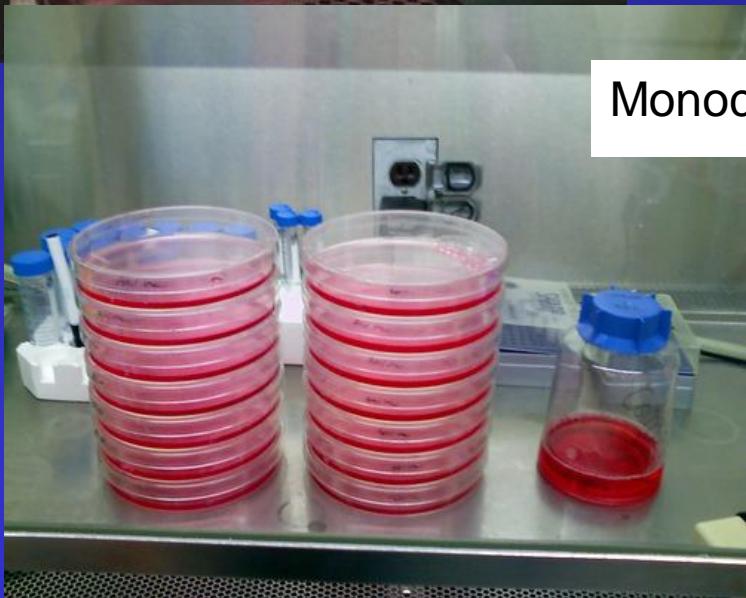
- Se encuentra en laboratorios de Virología
- Gabinete de Flujo Laminar vertical
 - Contiene filtros HEPA
 - Remueven 99.97% de partículas de $0.3\mu M$ o mayores



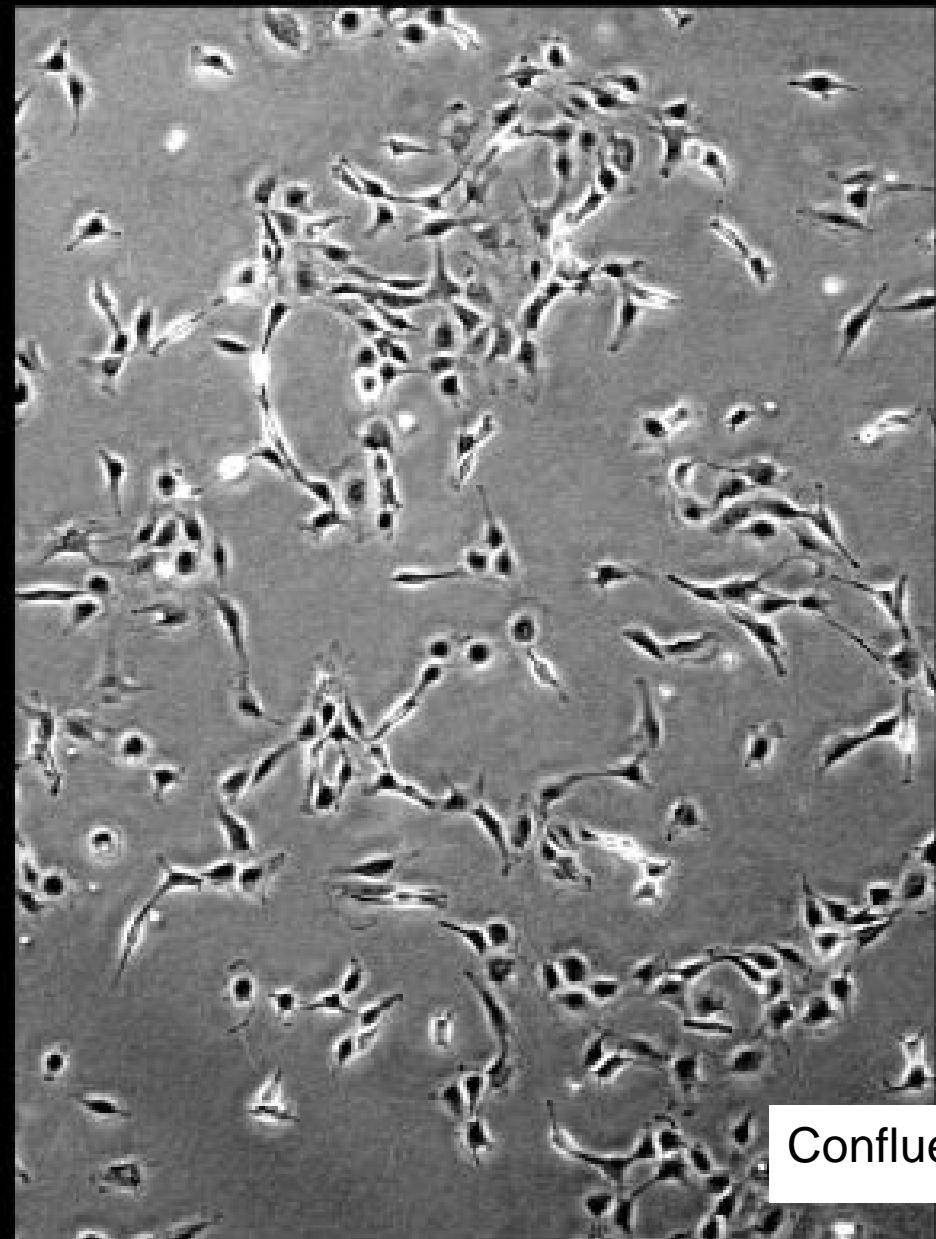




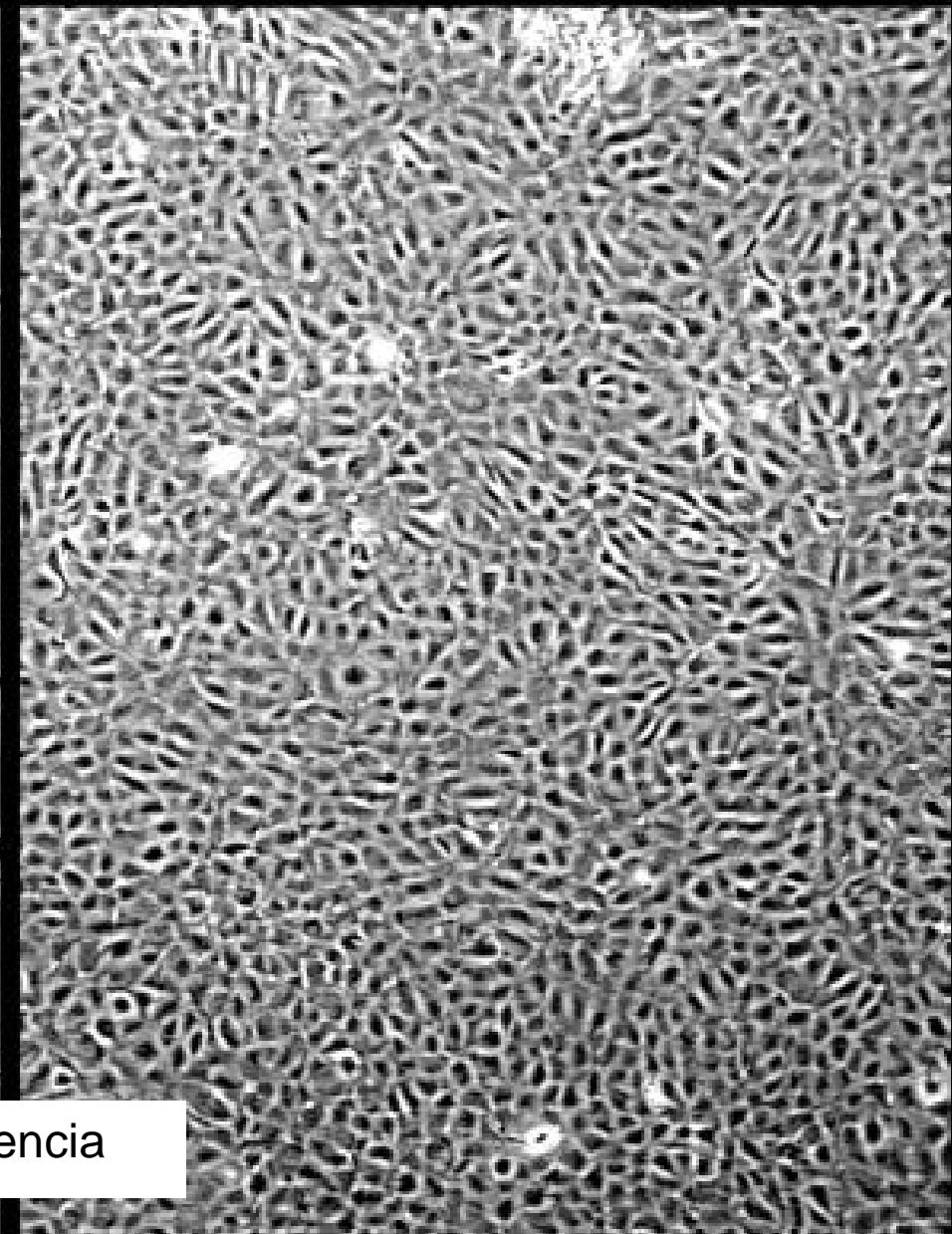
Suspensión

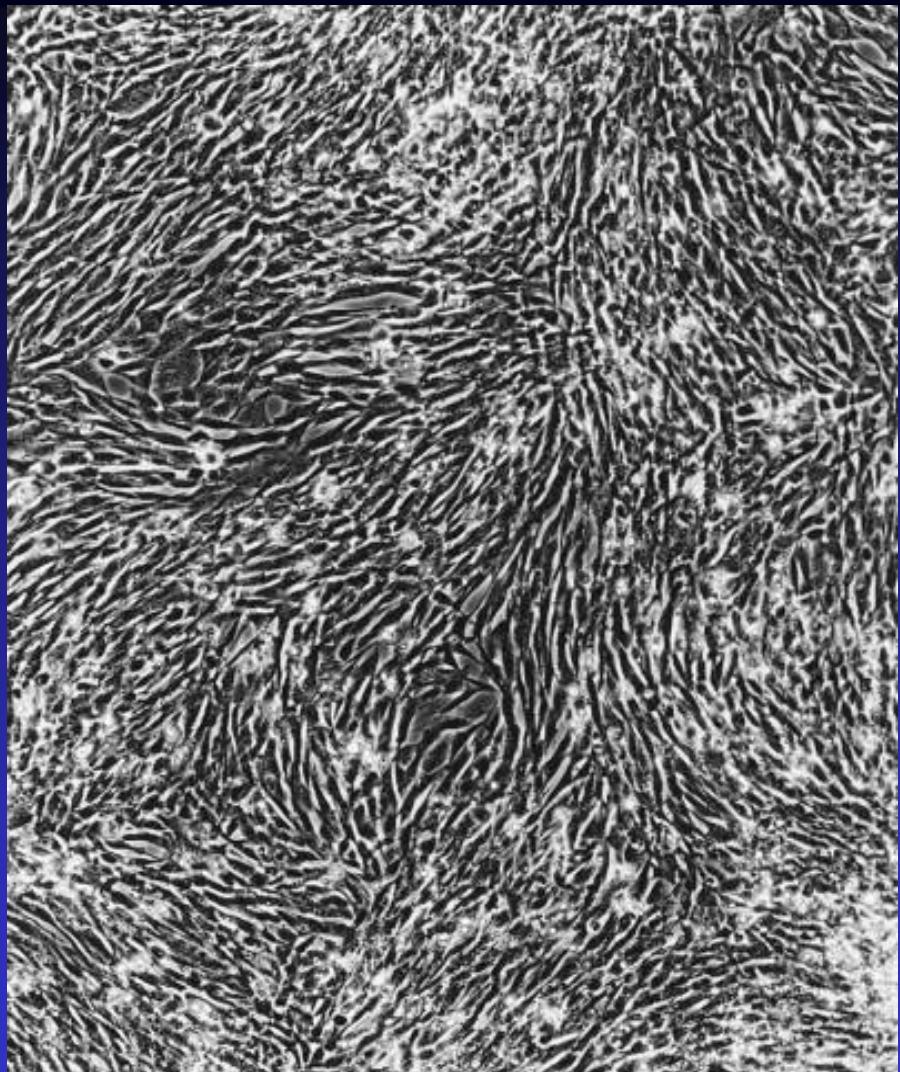


Monocapa

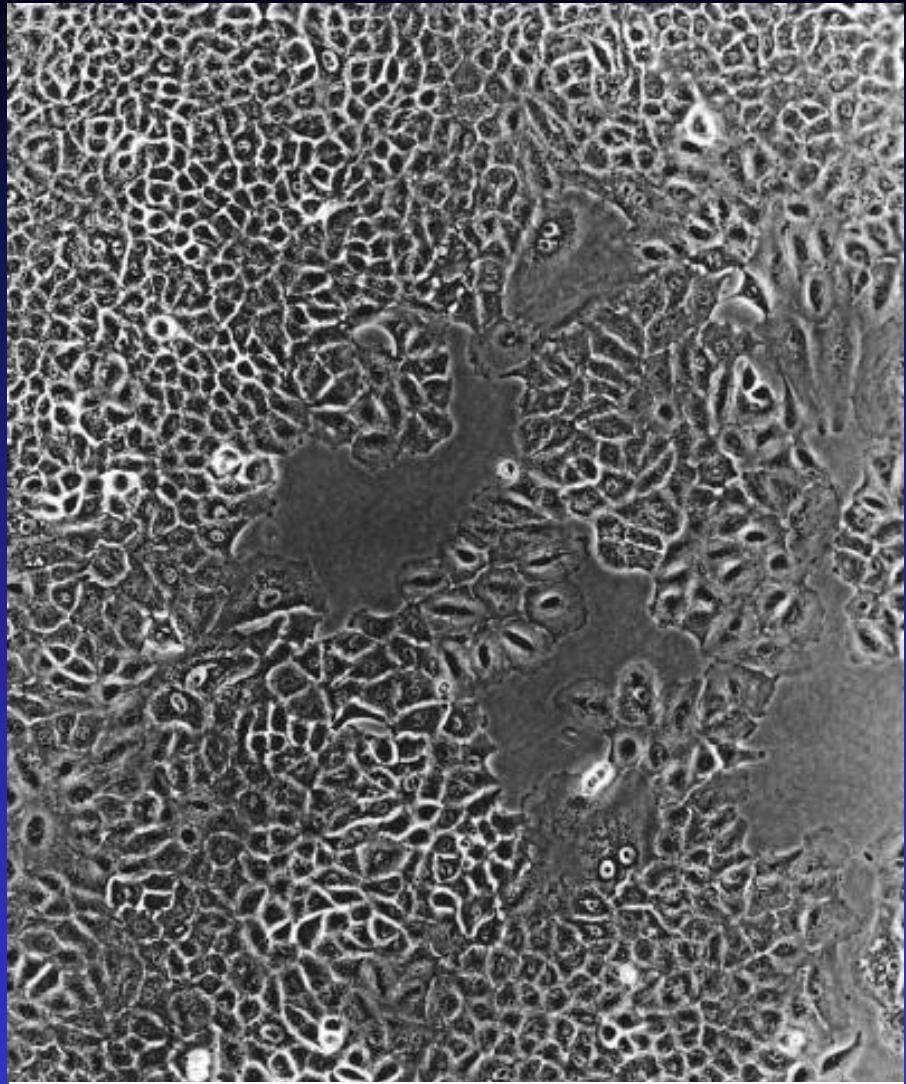


Confluencia





Línea continua fibroblástica
BHK
(*baby hamster kidney*)



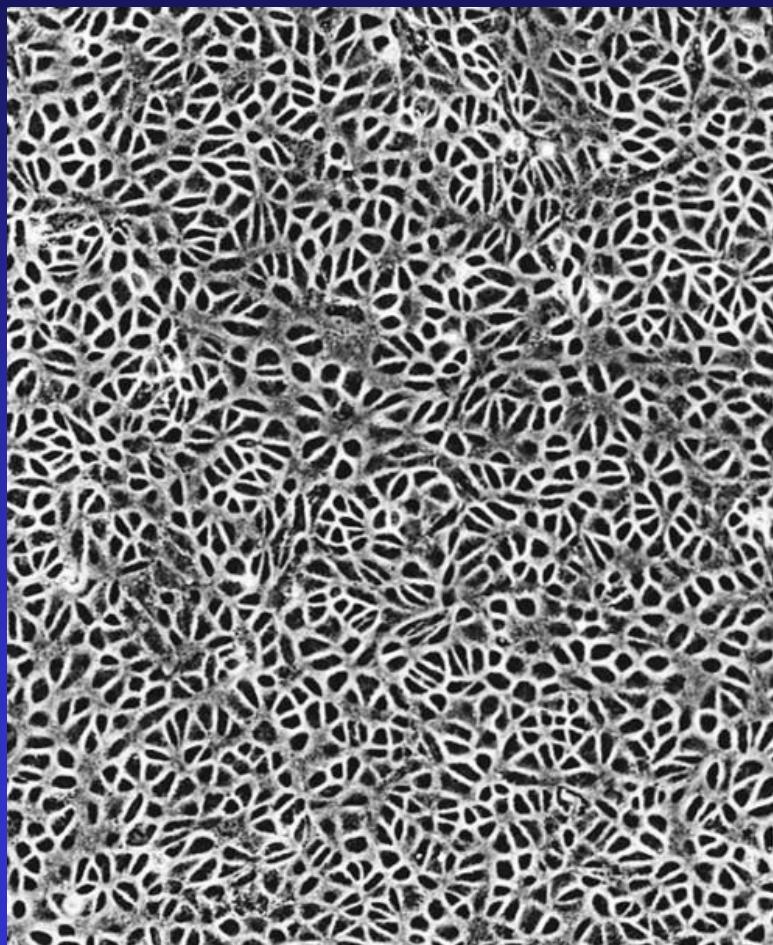
Línea continua epitelioide
A549
(carcinoma humano de pulmón)

Efectos Citopáticos

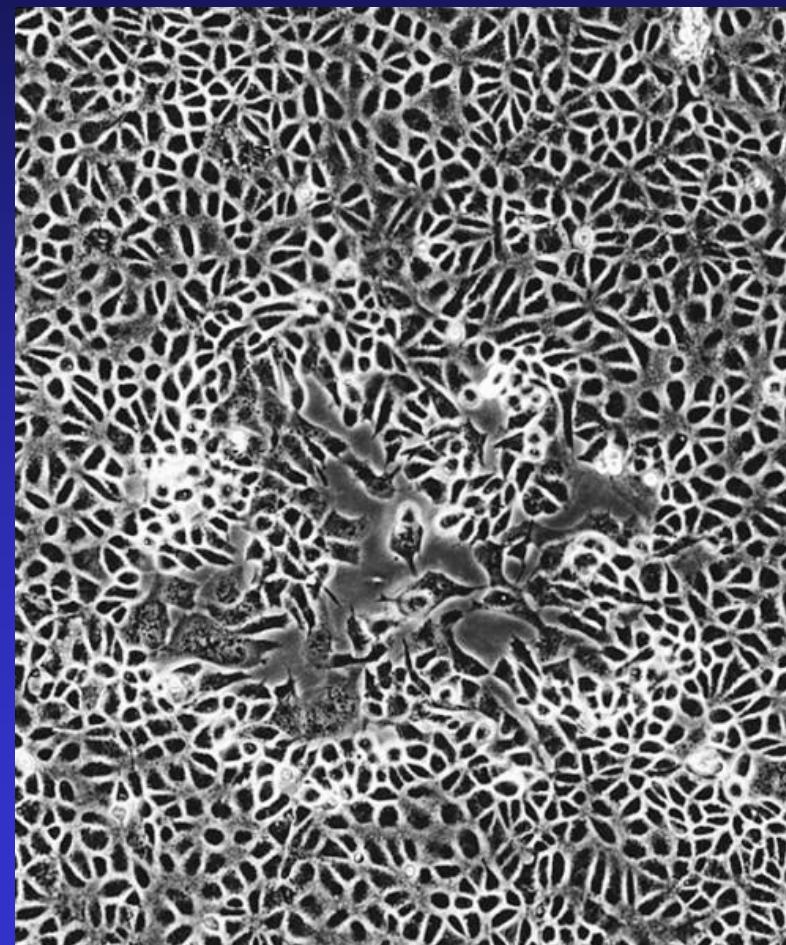
- Resultados visibles de una infección viral
- Muerte celular por
 - Virus multiplicándose
 - Inhibición de la síntesis de DNA, RNA o proteínas
 - Efectos sobre la permeabilidad de membranas
- Los efectos citopáticos (ECP) pueden ser observados con microscopios de luz invertida e incluyen:
 - Redondeamiento/despegado desde la superficie plástica
 - Sincicios/fusión celular
 - Burbujas
 - Aumento de la refringencia
 - Agregación
 - Pérdida de la adherencia
 - Lisis celular y muerte
- Observaciones comunes de los ECPs
 - Formación de cuerpos de inclusión
 - Acumulos intracelulares de partes virales (replicación o ensamblaje)
 - Ensayos de hemadsorción

BSC40 (Mono verde africano)

Control

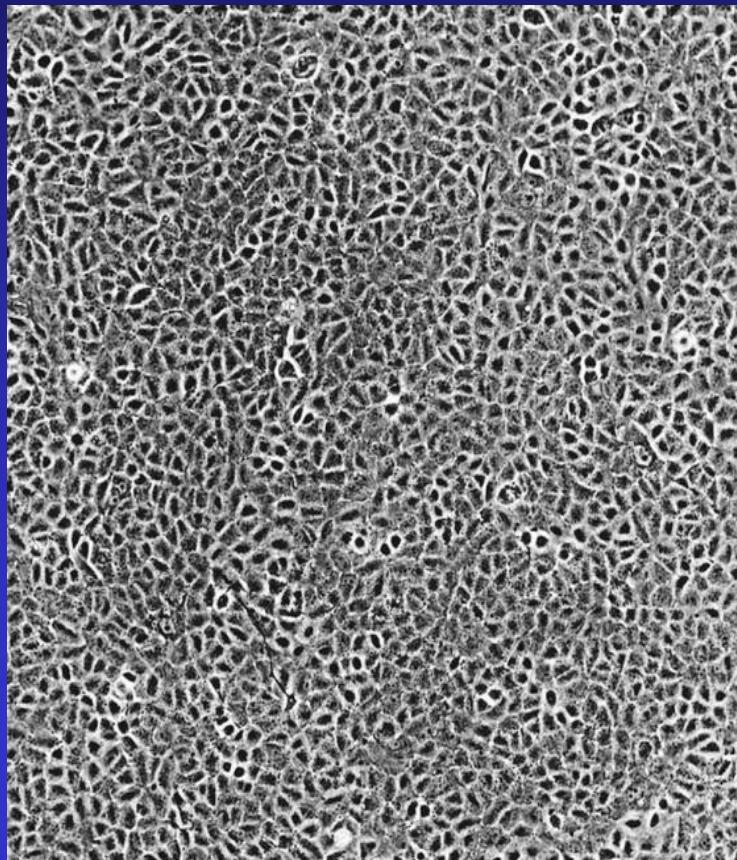


Infectadas

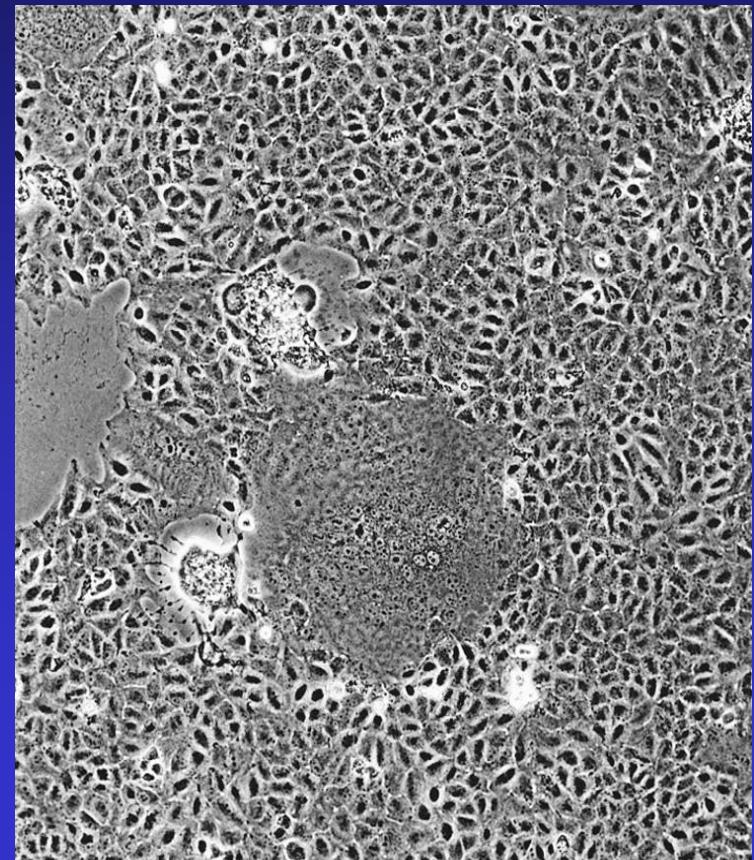


A549

Control



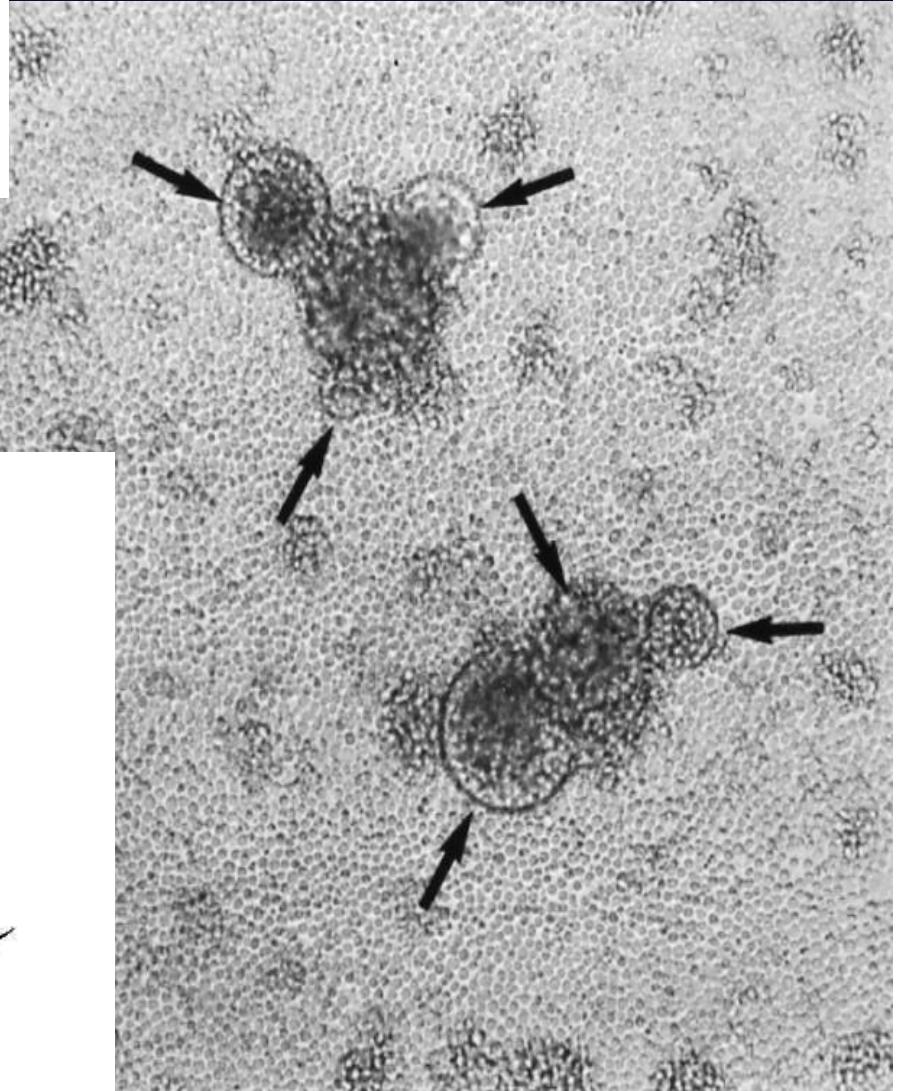
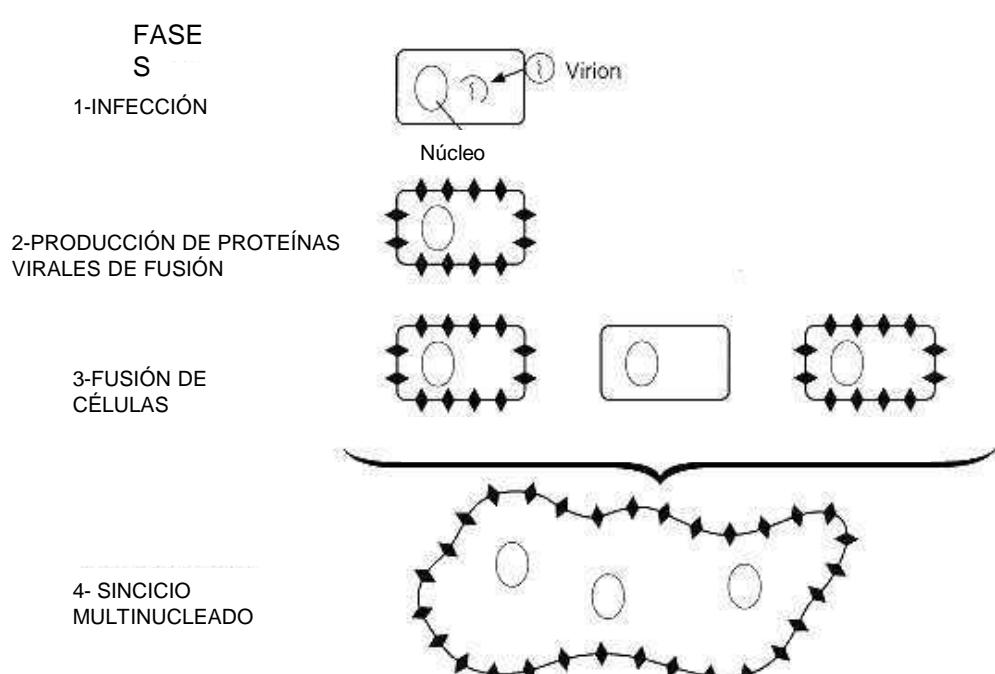
Infectadas
(Sarampión)



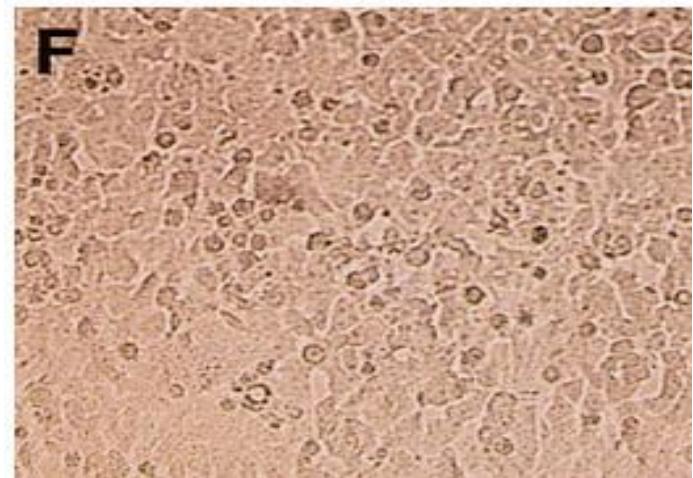
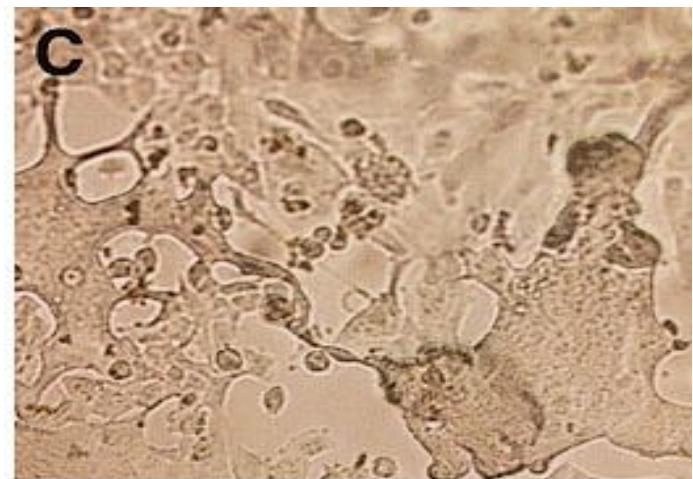
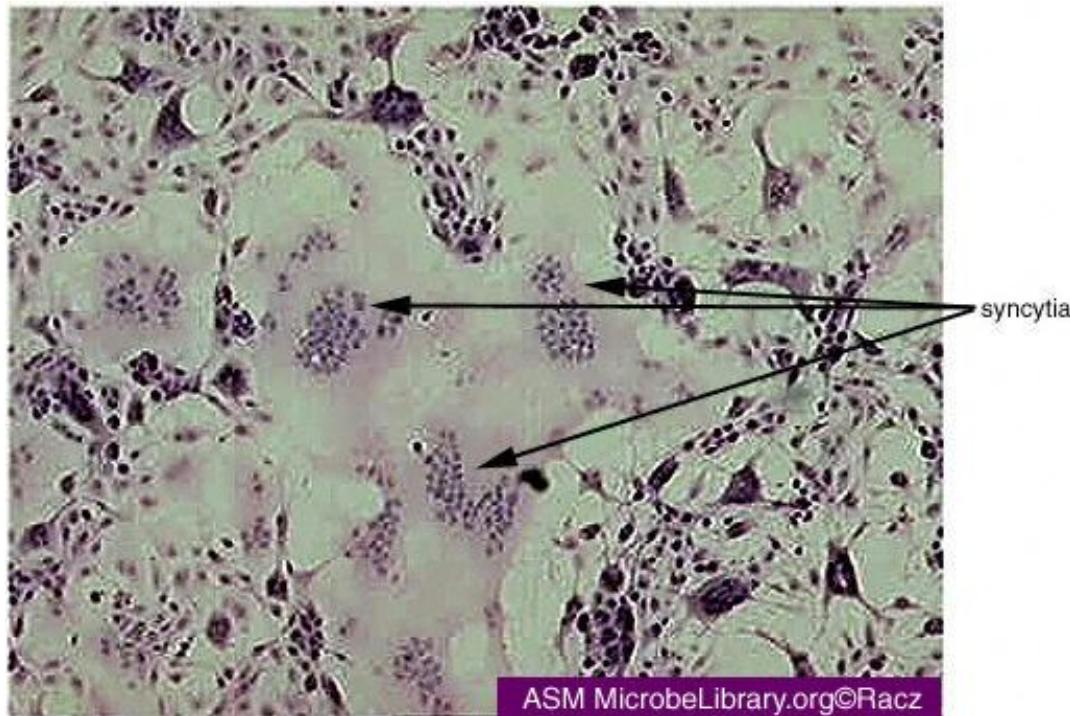
MT-2 (células linfoides – HTLV-I)

Infectadas con HIV-1

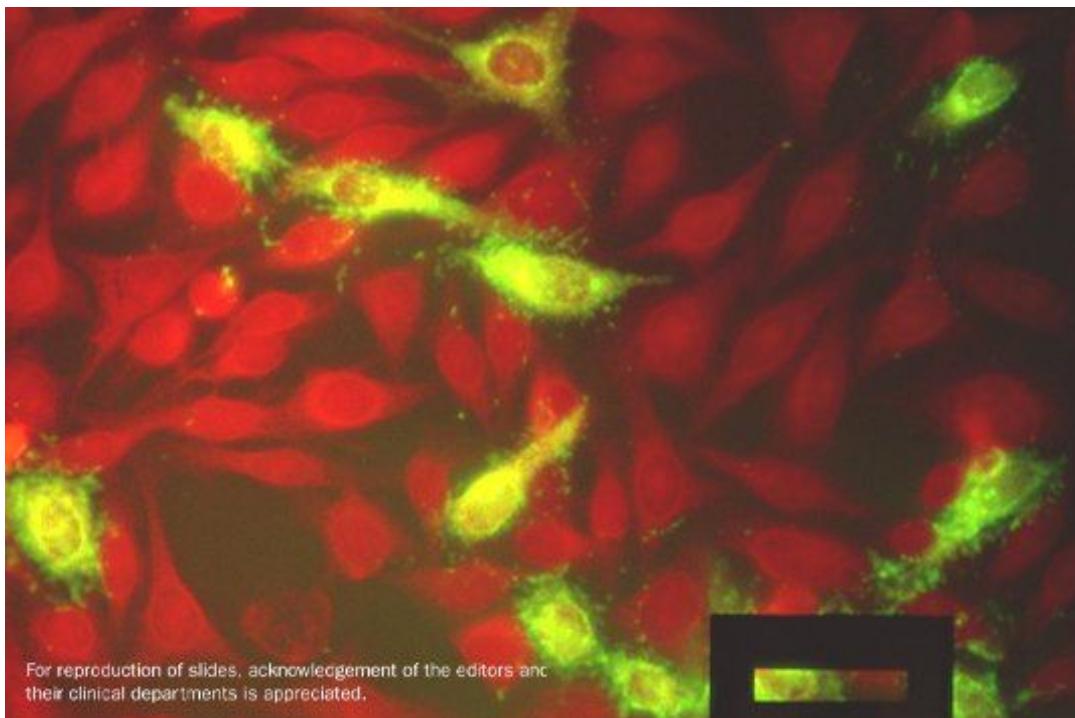
Formación de sincicios



ACP en cél. HEp2 de RSV

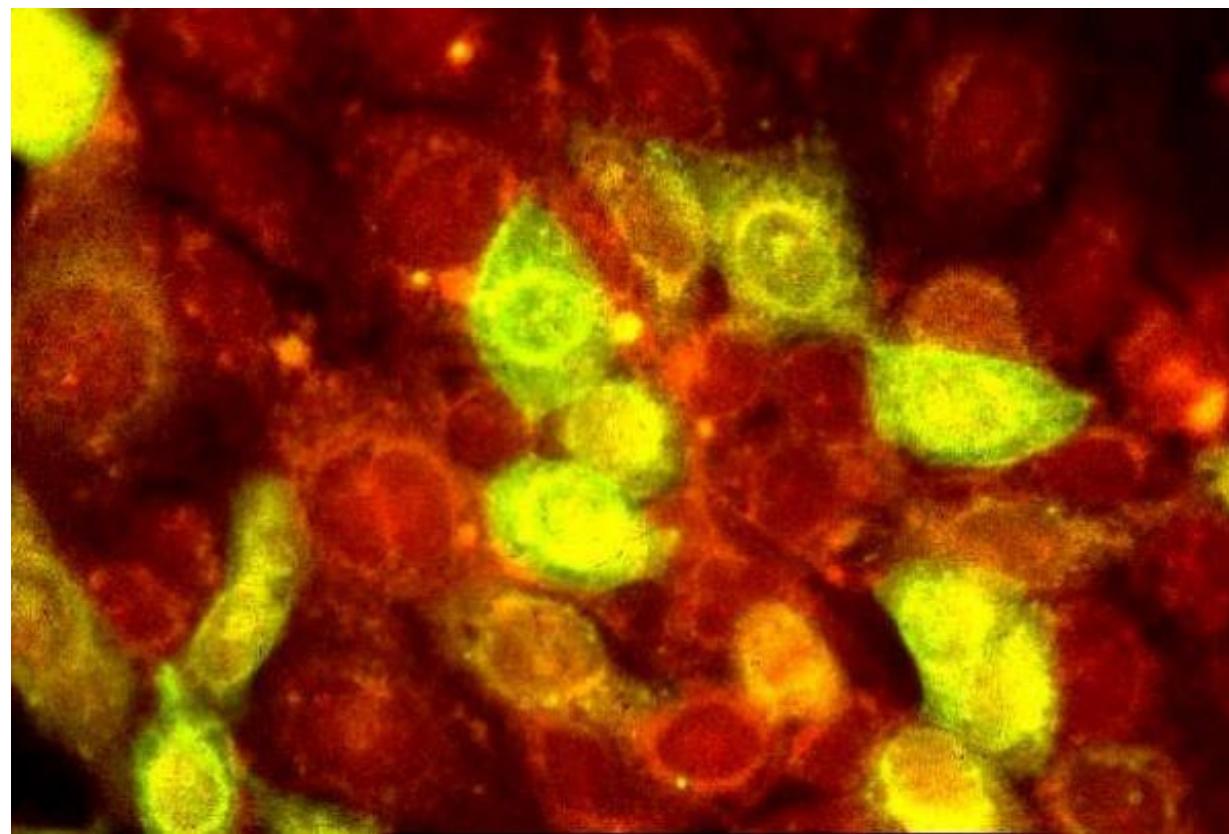


Detección en células infectadas con VSR por IFI



For reproduction of slides, acknowledgement of the editors and
their clinical departments is appreciated.

Detección de Adeno en células infectadas por IFI



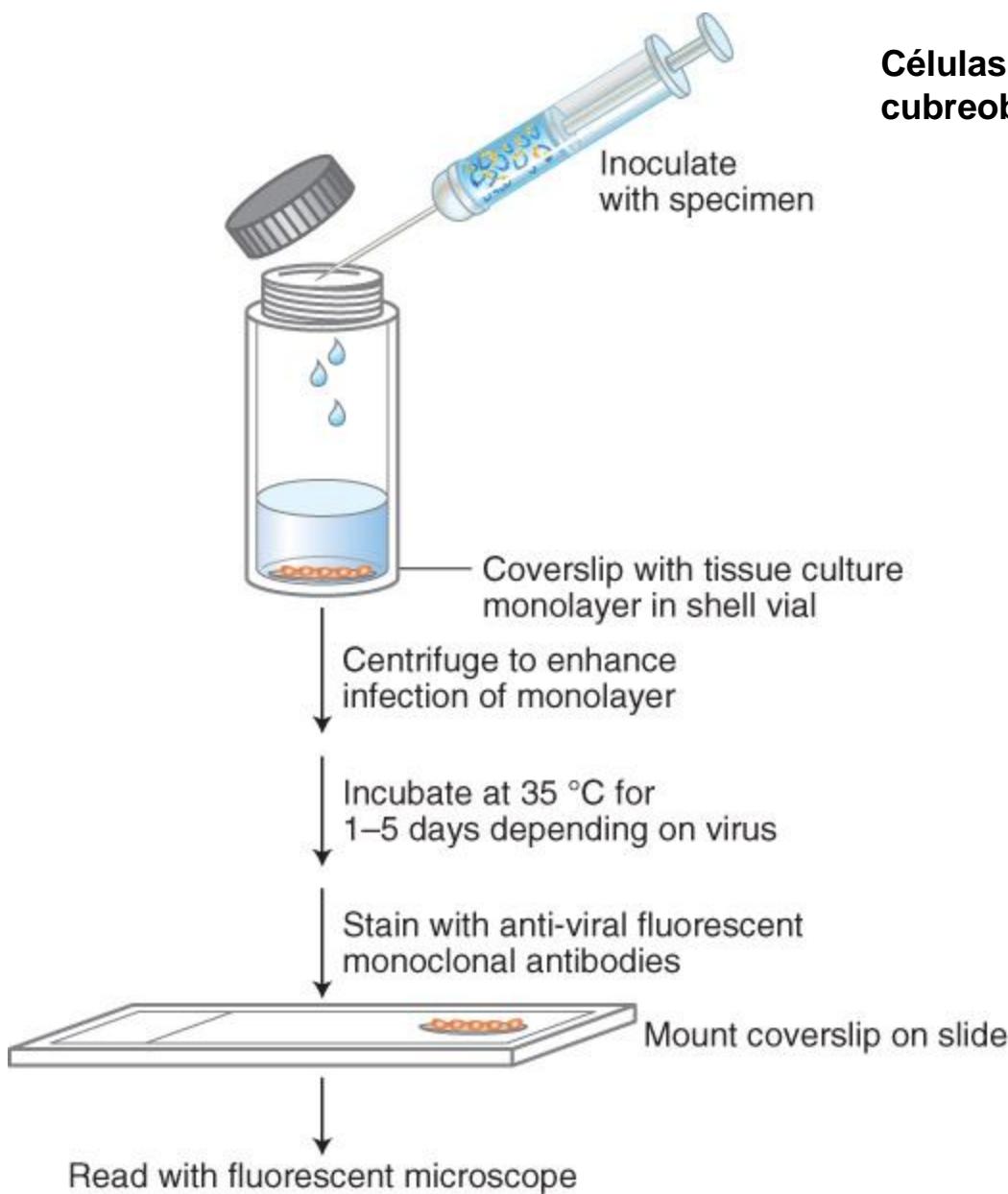
Aislamiento viral (Técnica de Shell Vial)

- Cultivo tras centrifugación
 - Muy usado en laboratorios clínicos

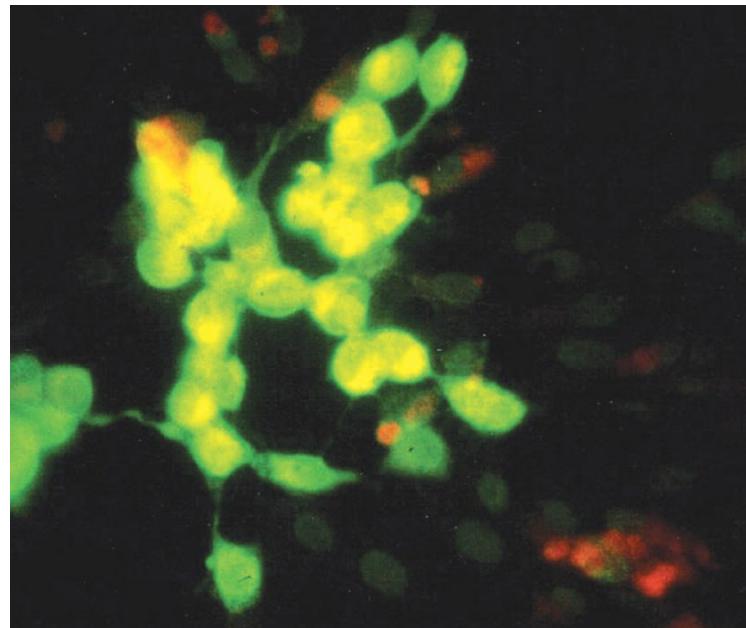
TABLE 5-4

Detection of Virus: Traditional CPE Method vs. Shell Vial Technique

Virus	Days to Detect CPE Conventional Cell Culture Method [avg(range)]	Days to Detect CPE Shell Vial Centrifugation Method [avg(range)]
RSV	6(2-14)	1-2
Influenza A	2(1-7)	1-2
Influenza B	2(1-7)	1-2
PIV 1-4	6(1-14)	1-2
Adenovirus	6(1-14)	2-5
HSV	2(1-7)	1-2
VZV	6(3-14)	2-5
CMV	8(1-28)	1-2



Células cultivadas crecen en cubreobjetos en el fondo del shell vial.

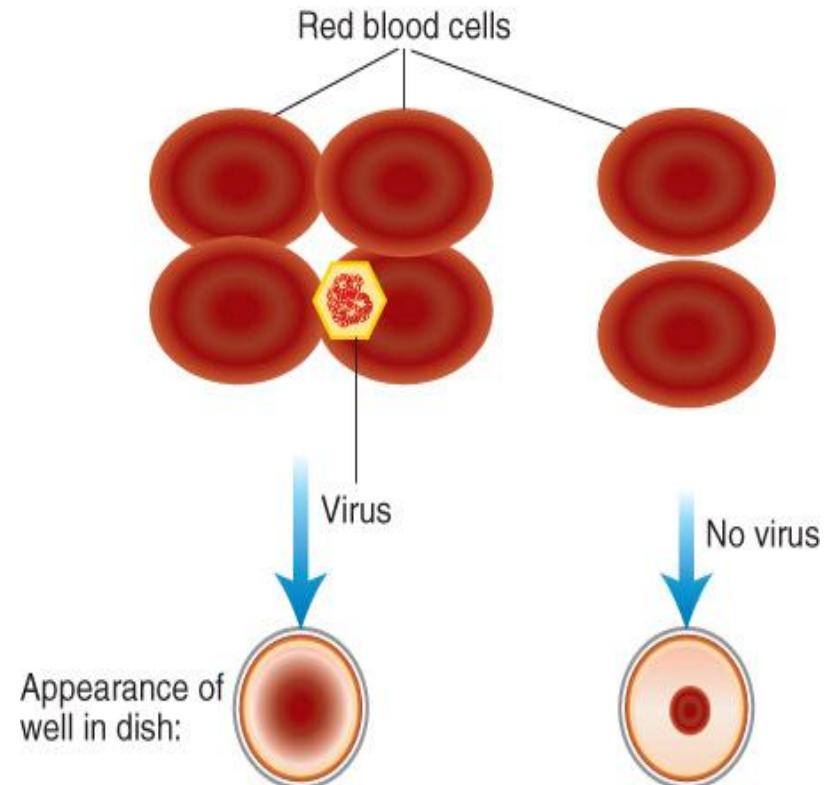
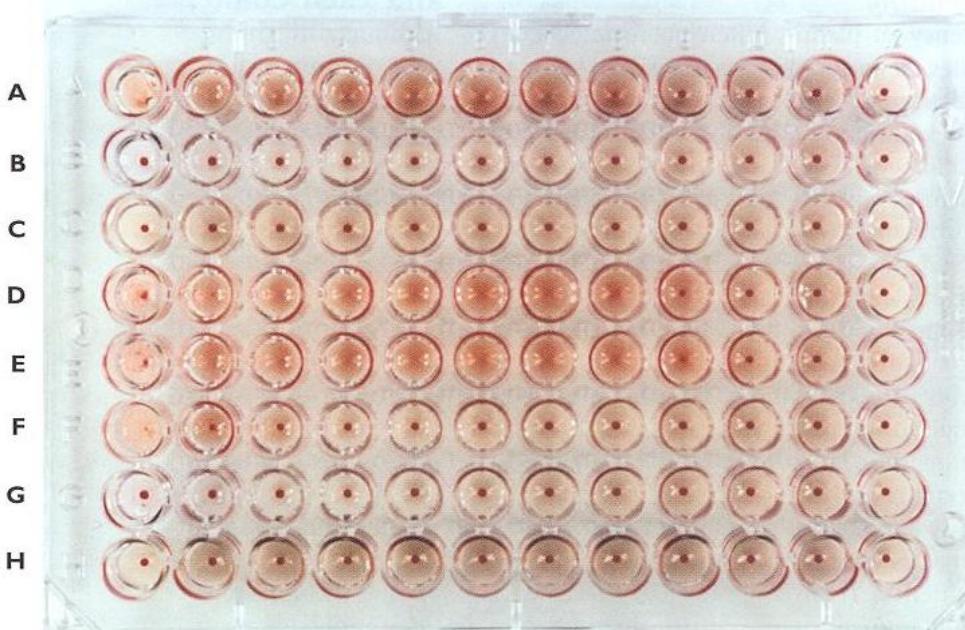


Detección de virus herpes simplex tipo 1 usando shell vial e inmunofluorescencia.

Reproduced from Athmanathan, S., S. R. Bandlapally, and G. N. Rao, BMC Clin. Pathol. 2 (2002): 1-5.

Prueba de Hemaglutinación

- Algunos virus aglutinan glóbulos rojos
 - Parotiditis, sarampión, influenza
 - Hemaglutinación



Diagnóstico serológico

Método indirecto:

IgM específica o Conversión serológica por IgG
para inf. agudas

IgG en inf. crónicas o para diagnóstico retrospectivo

Método directo:

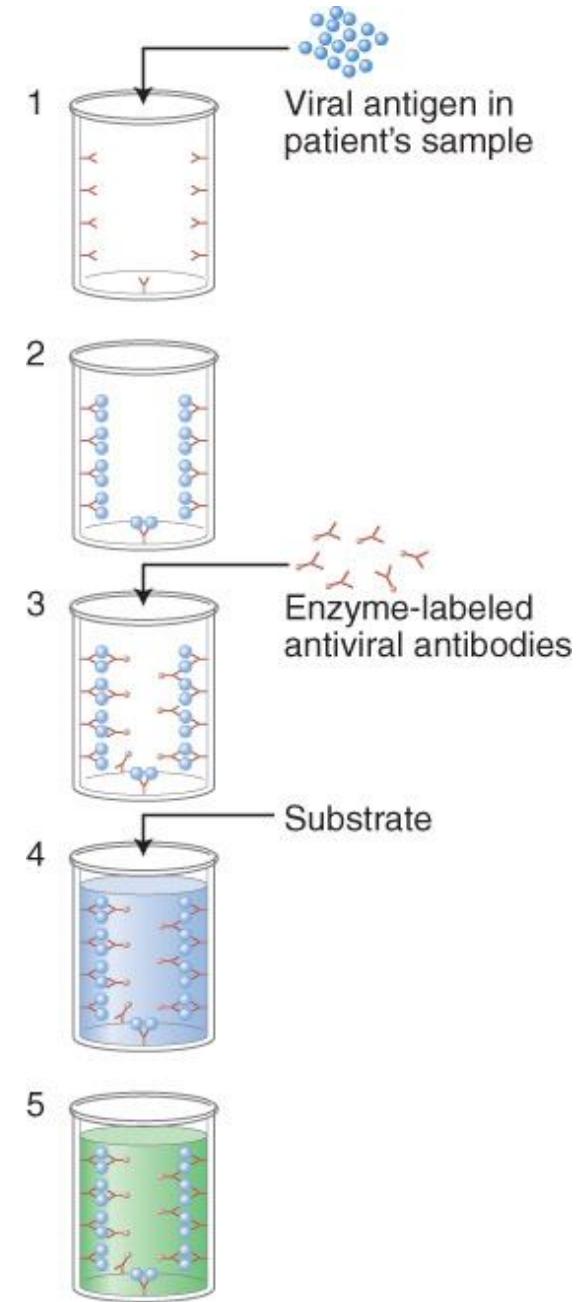
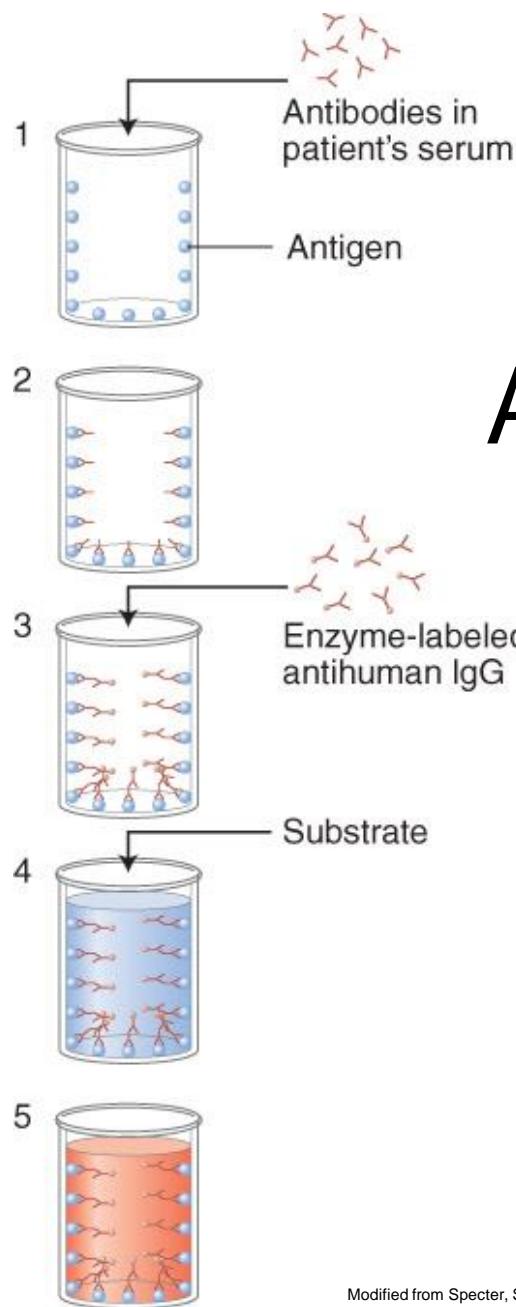
Detección de antígenos solubles en suero o plasma.
Útil también en otros fluidos (LCR, orina, saliva, etc)

Serología Viral

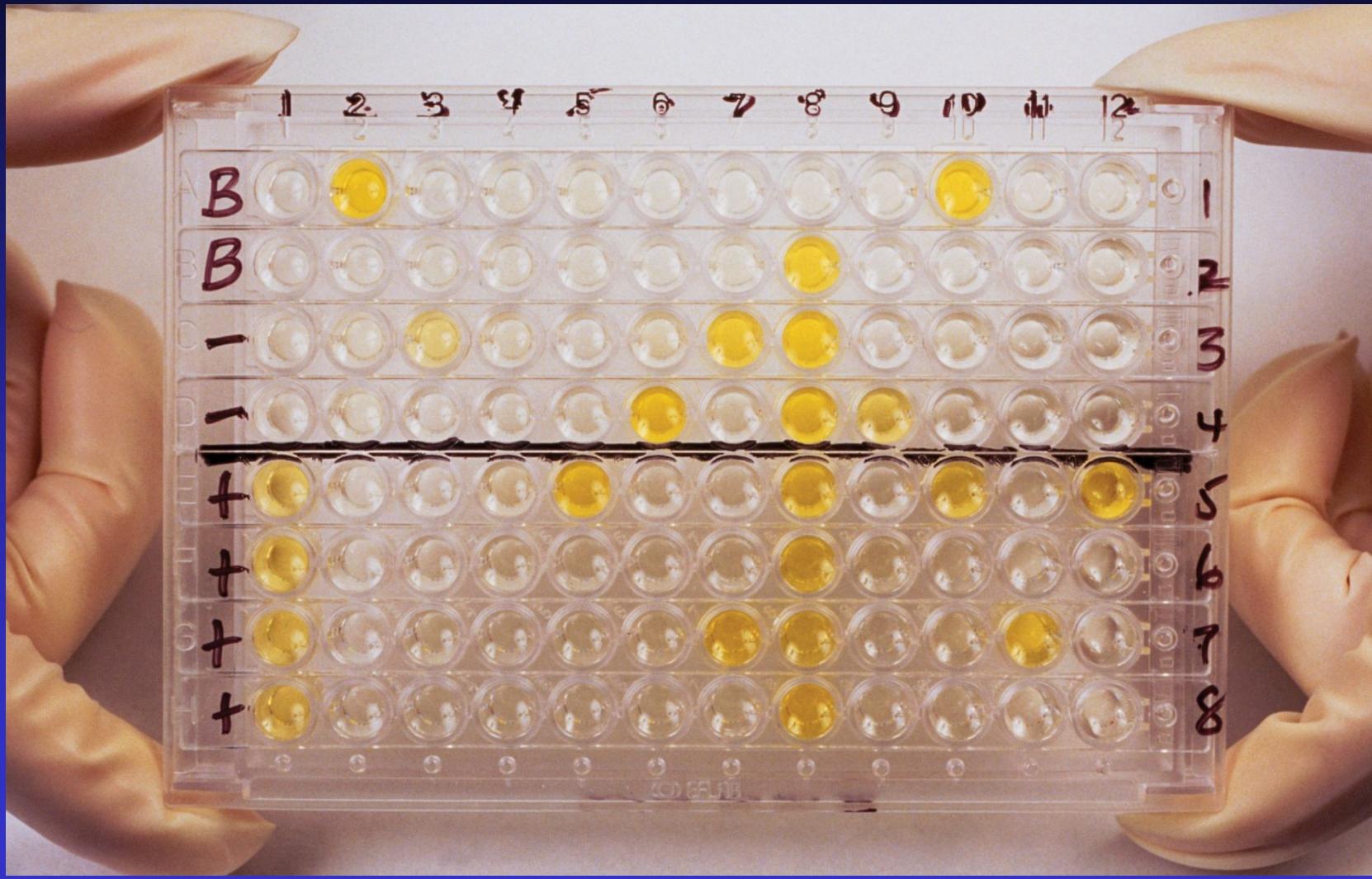
- Enzimo-inmunoensayos (ELISA)
 - Pueden detectar tanto la presencia de Ac específicos como de antígenos virales
 - Enzima reacciona con un sustrato para convertirlo en un producto coloreado
 - Muy sensible

ELISA

Ac-----Ag



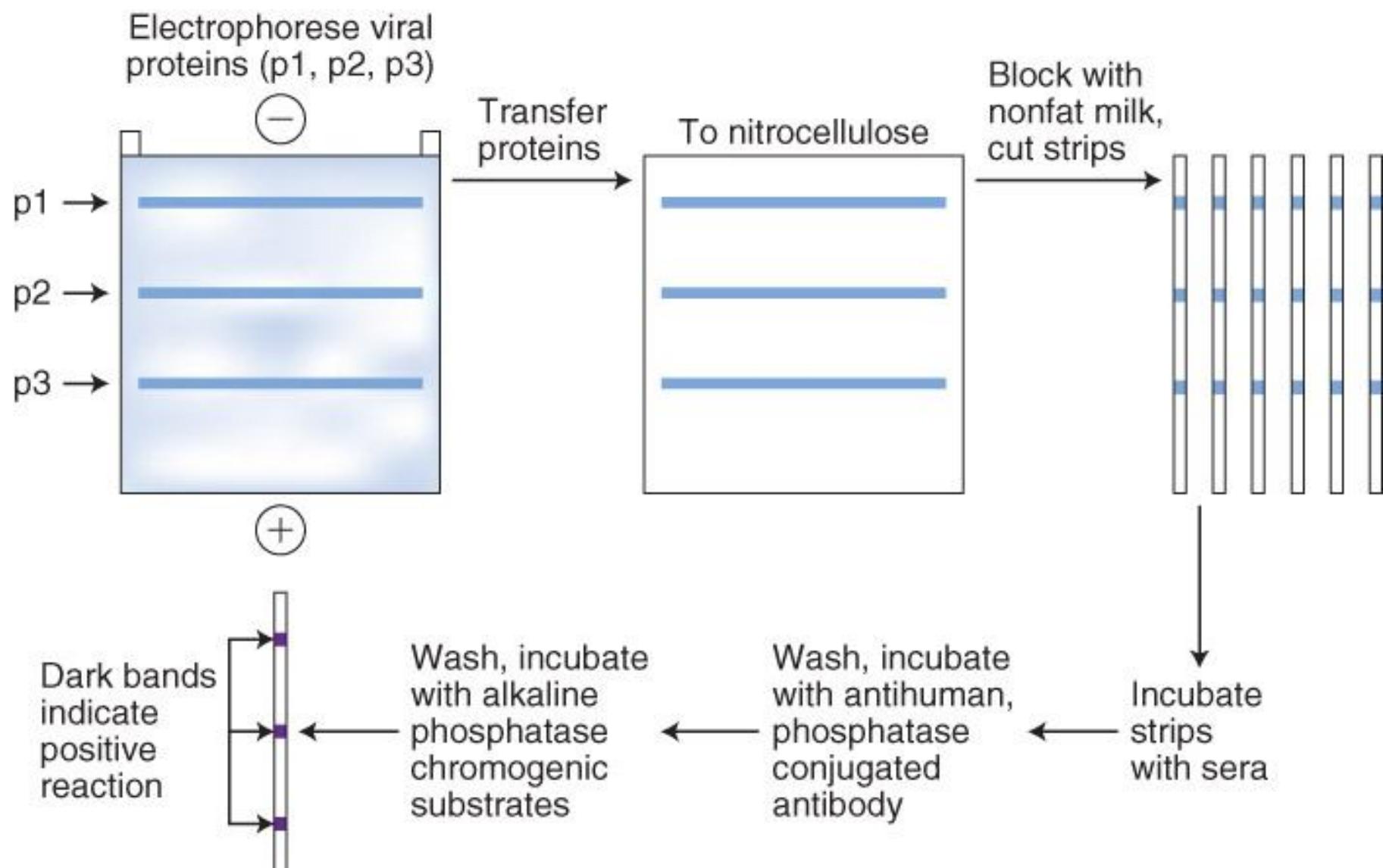
Modified from Specter, S. C., R. L. Hodinka and S. A. Young. Clinical Virology Manual, Third Edition . ASM Press, 2000.

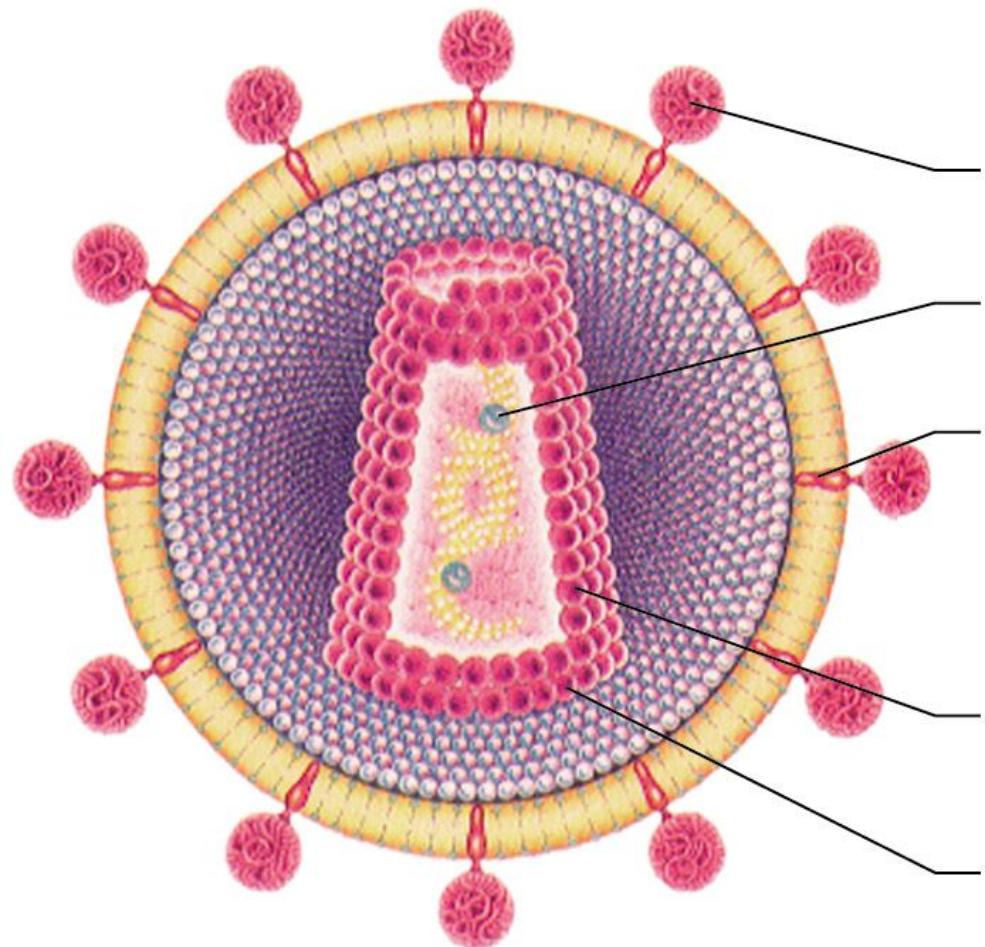


© Hank Morgan/Science Photo Library/Photo Researchers, Inc.

Serología Viral

- Western Blotting
 - Se deben preparar las tiras reactivas (que contengan los antígenos virales conocidos) siguiendo algunos pasos esenciales:
 - Las proteínas virales son separadas empleando un gel de poliacrilamida en condiciones desnaturizantes (SDS-PAGE gel)
 - Luego son transferidas a un filtro de nitrocelulosa
 - Las tiras se enfrentan con la muestra de suero/plasma donde se pretende investigar la presencia de Ac específicos
 - Revelado mediante reacción cromogénica

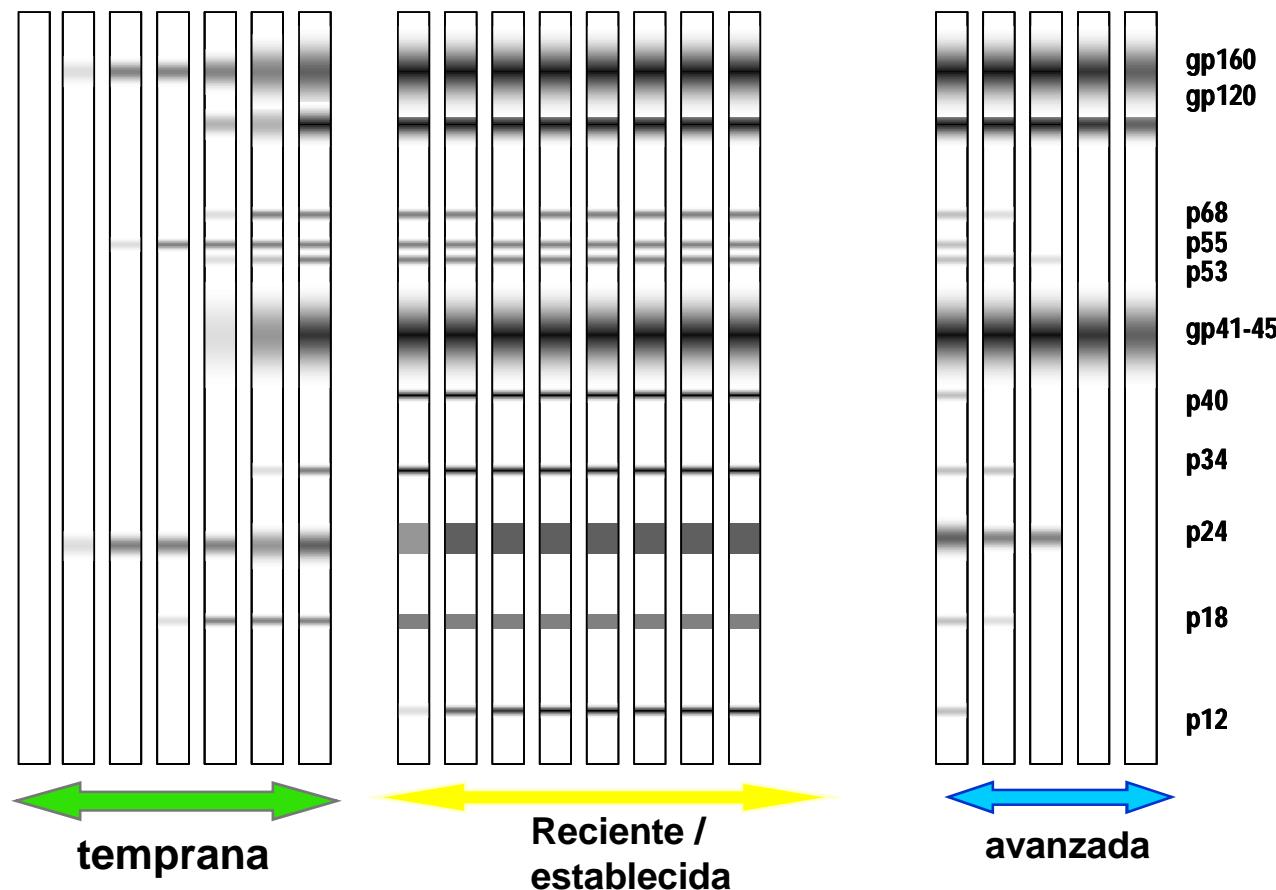




- gp160 (env precursor)
- gp120 (outer env or "surface" glycoprotein)
- p65 (reverse transcriptase)
- p55 (core precursor)/p51 (RT)
- gp41 (transmembrane glycoprotein)
- p40 (core)
- p31 (endonuclease)
- p24 (core shell or "capsid")
- p18 (core matrix)

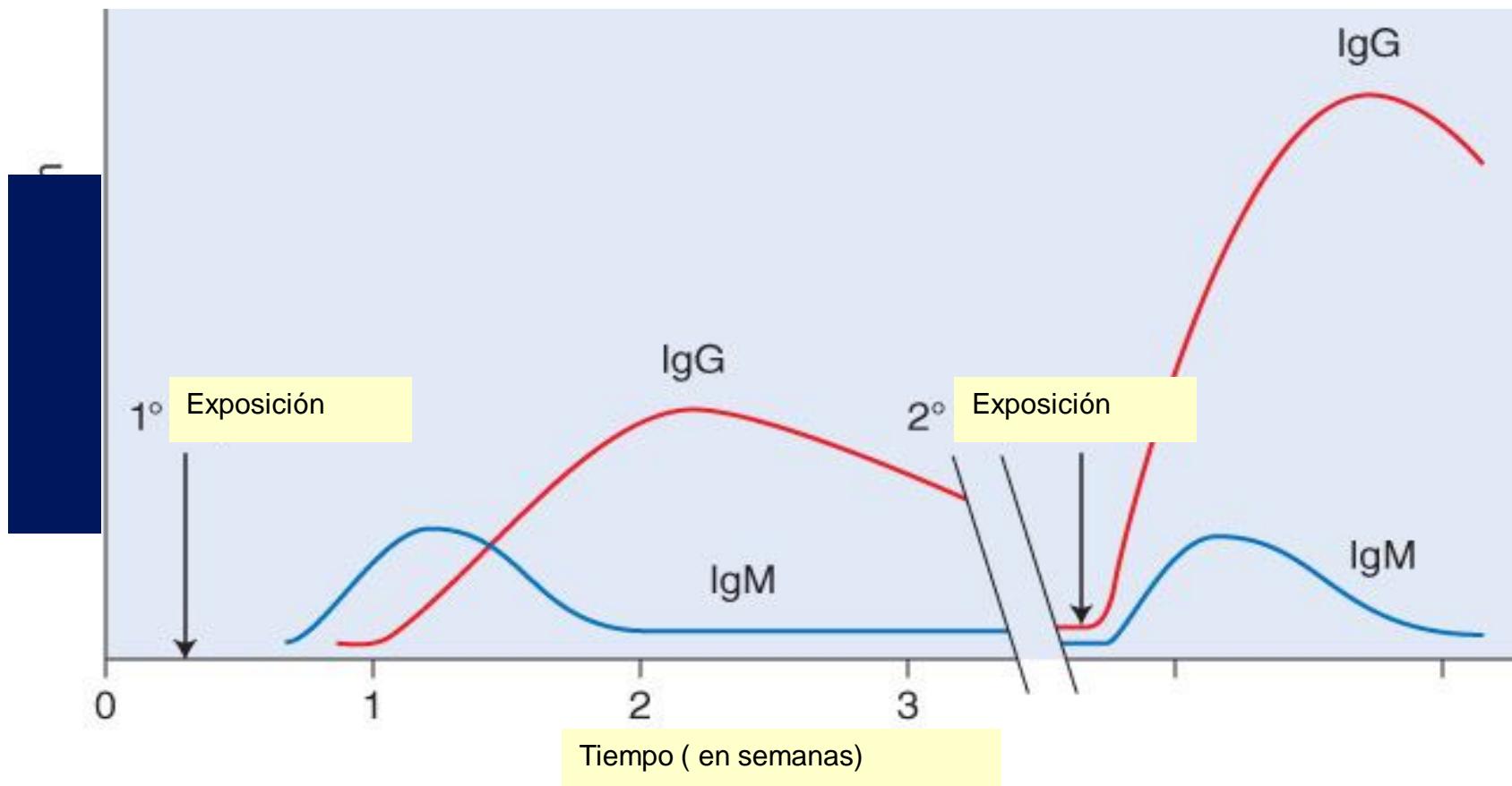
Image courtesy of Bio-Rad Laboratories

Patrones de WB: Cinética de anticuerpos específicos en la infección por HIV

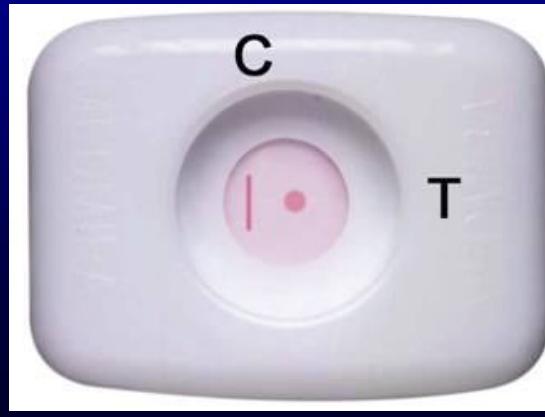


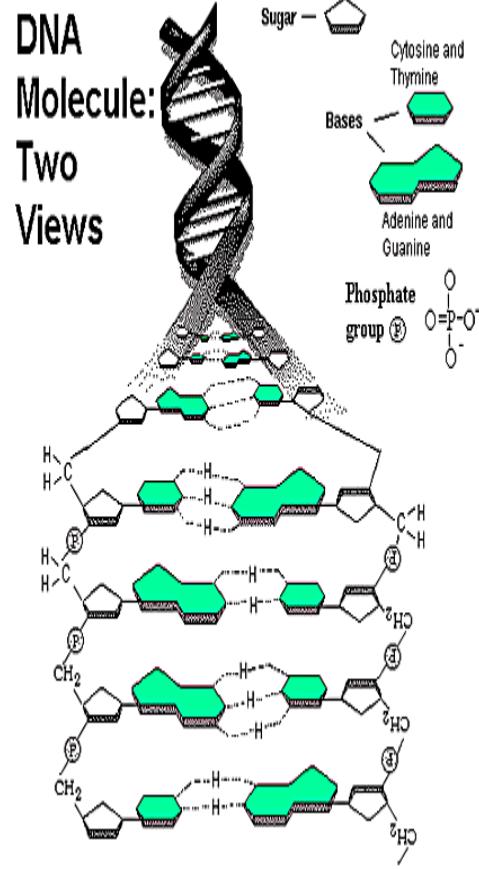
Conversión serológica

Concepto



TEST RÁPIDOS





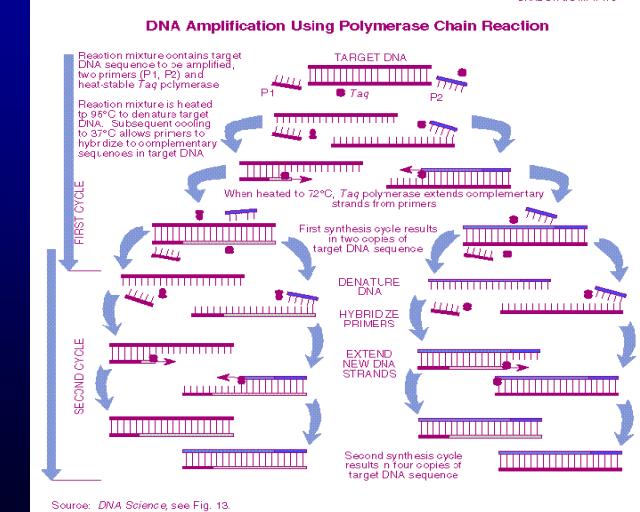
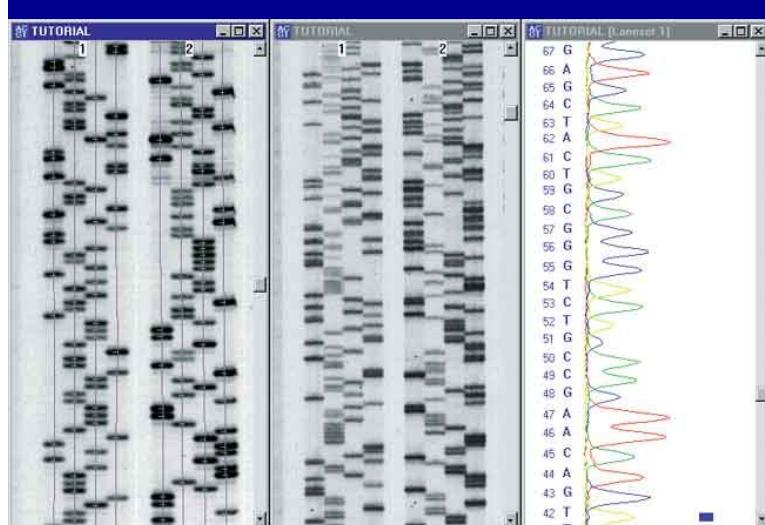
BIOLOGÍA MOLECULAR

ADN-PCR

RT-PCR (ARN)

bDNA

Real Time PCR

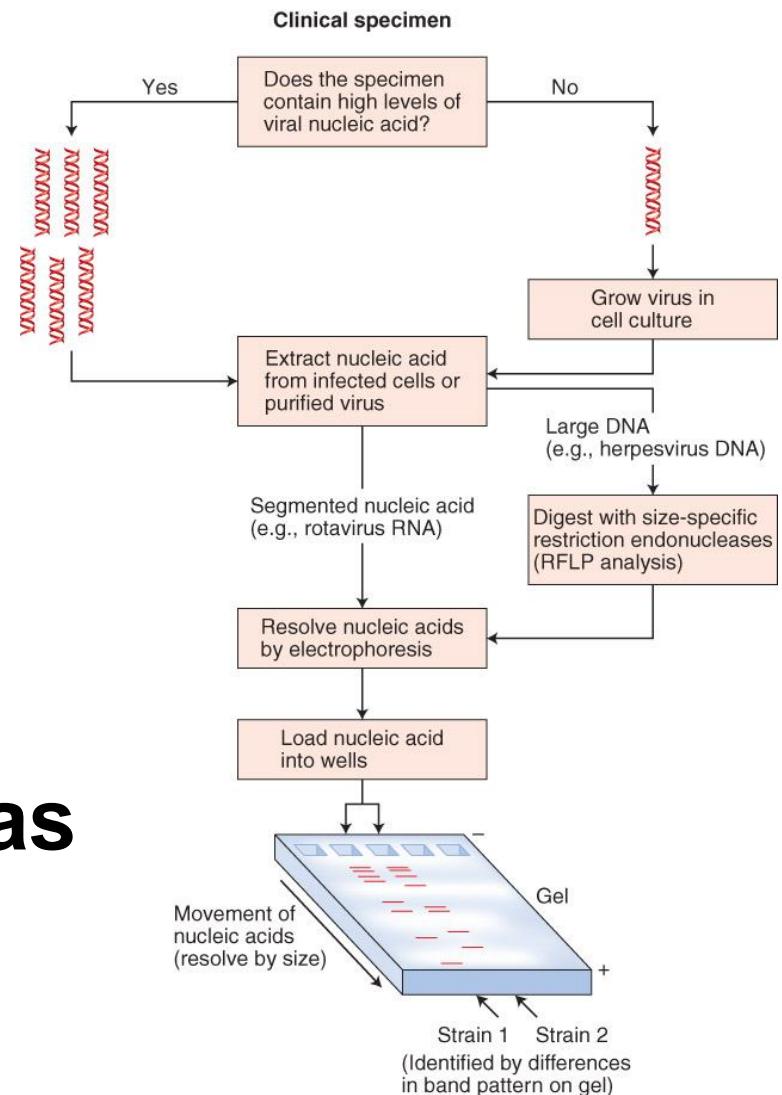


Genoma viral

□ Técnicas moleculares

- PCR (DNA), RT-PCR (RNA), hibridación, RFLP, secuenciación, etc
- Pueden ser usadas para detectar virus que no son cultivables
- Identificación de genotipos
- Tienen aplicación en el monitoreo de los pacientes (ej. Carga viral para HIV, HCV, CMV etc)

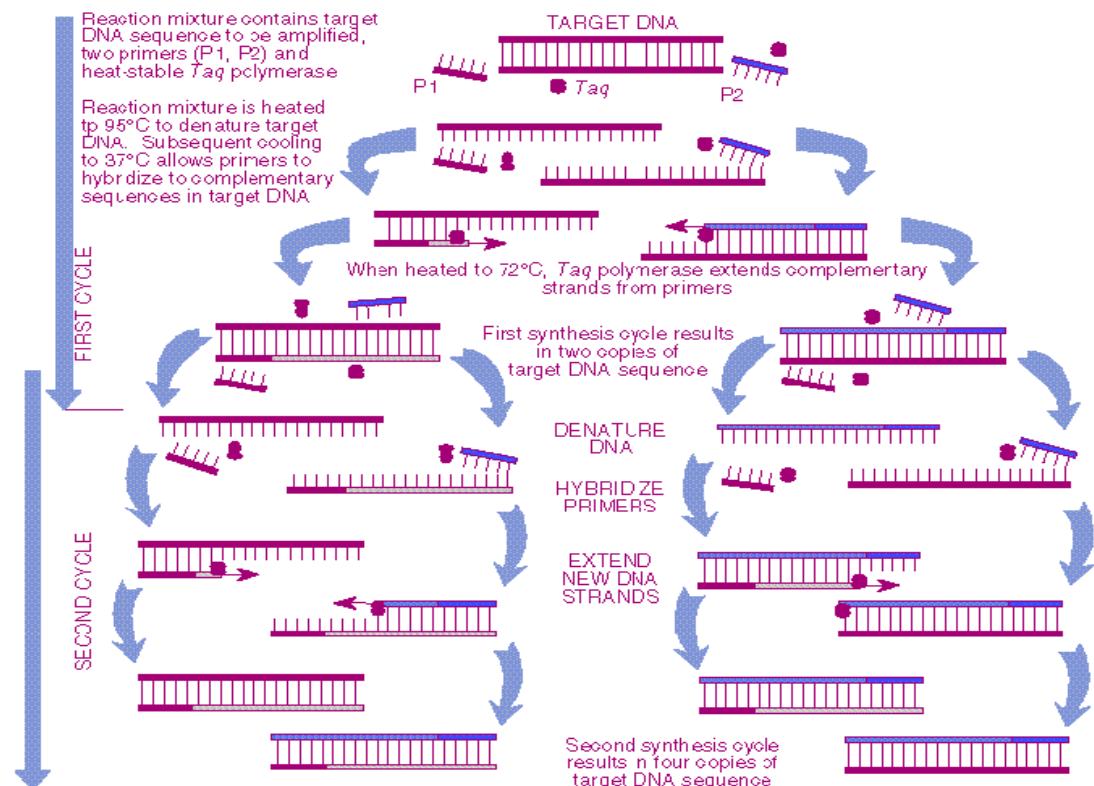
Cualitativas o Cuantitativas

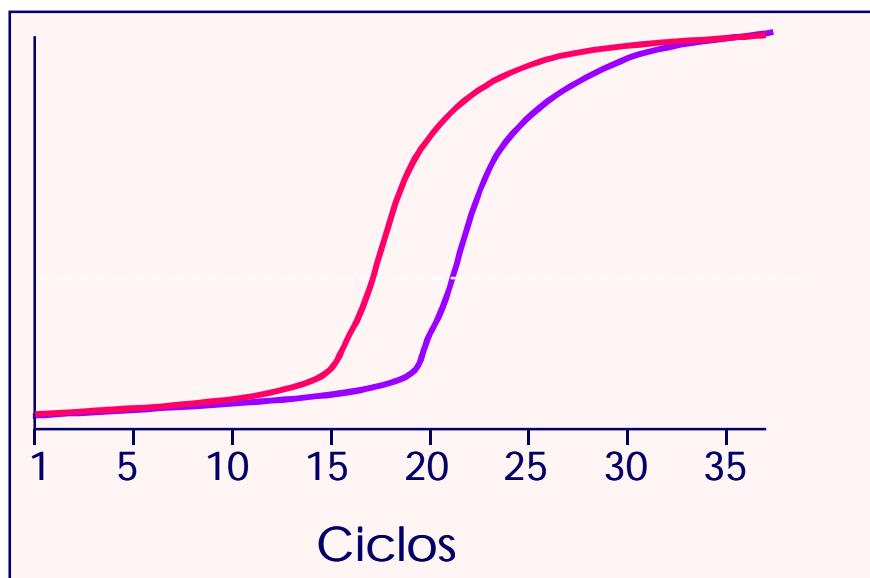
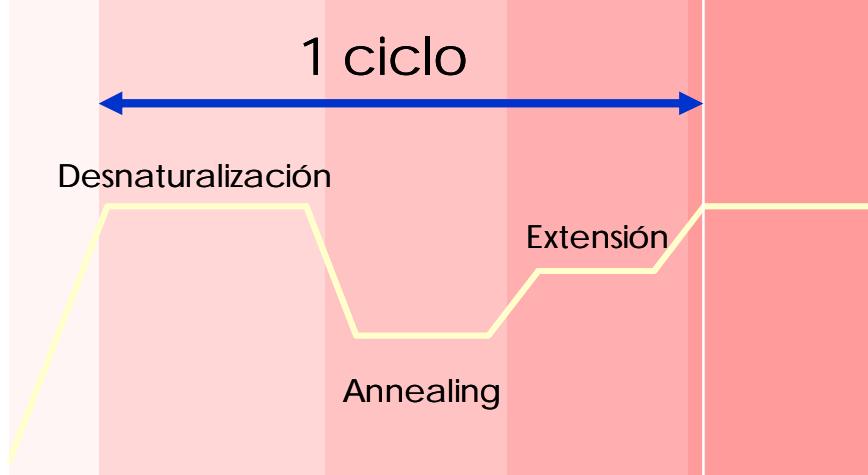




ORNL-DWG 91M-17476

DNA Amplification Using Polymerase Chain Reaction





$$\text{Amplicones} = x \cdot (1+e)^n$$

1 ciclo = 2 copias

2 ciclos = 4 copias

3 ciclos = 8 copias

.

.

40 ciclos = 1×10^{12} copias

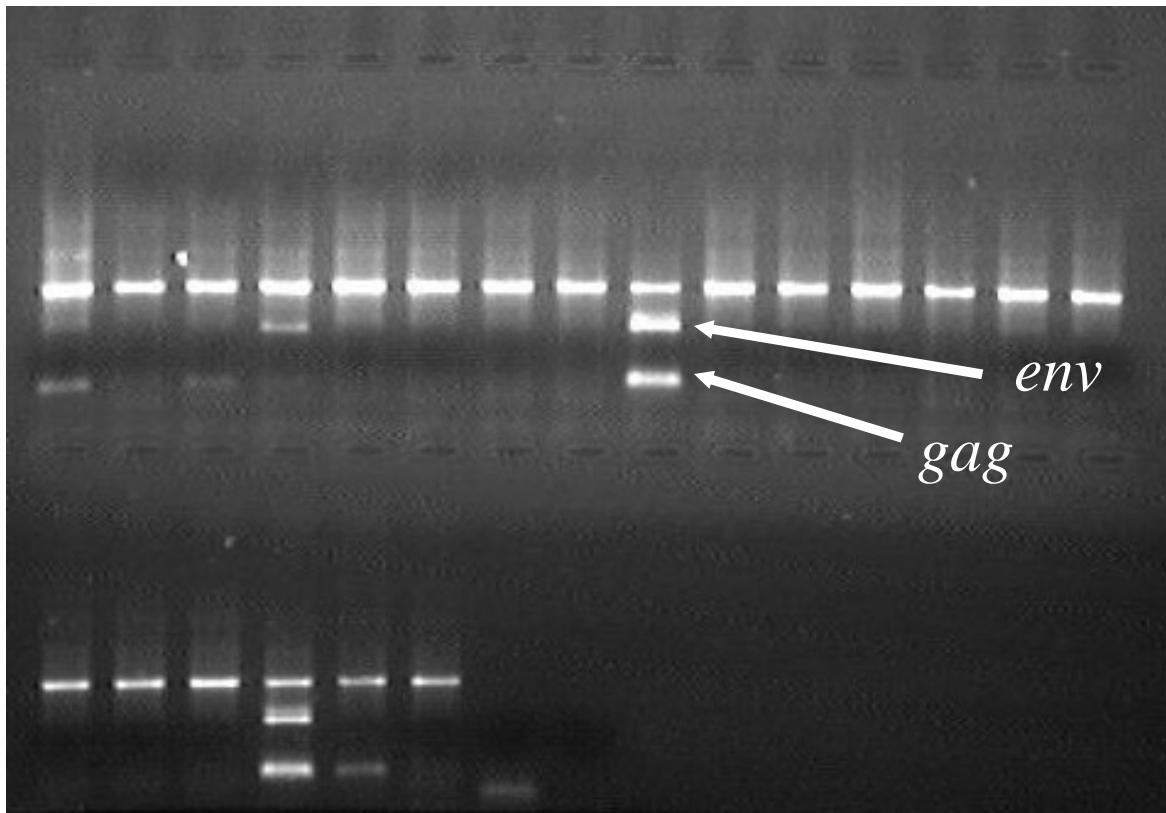


$$50 \text{ m} \times 25 \text{ m} \times 2 \text{ m} = 2500 \text{ m}^3$$

500 copias/ml

PCR para detección de los genes

env y *gag* de HIV en linfo-mononucleares



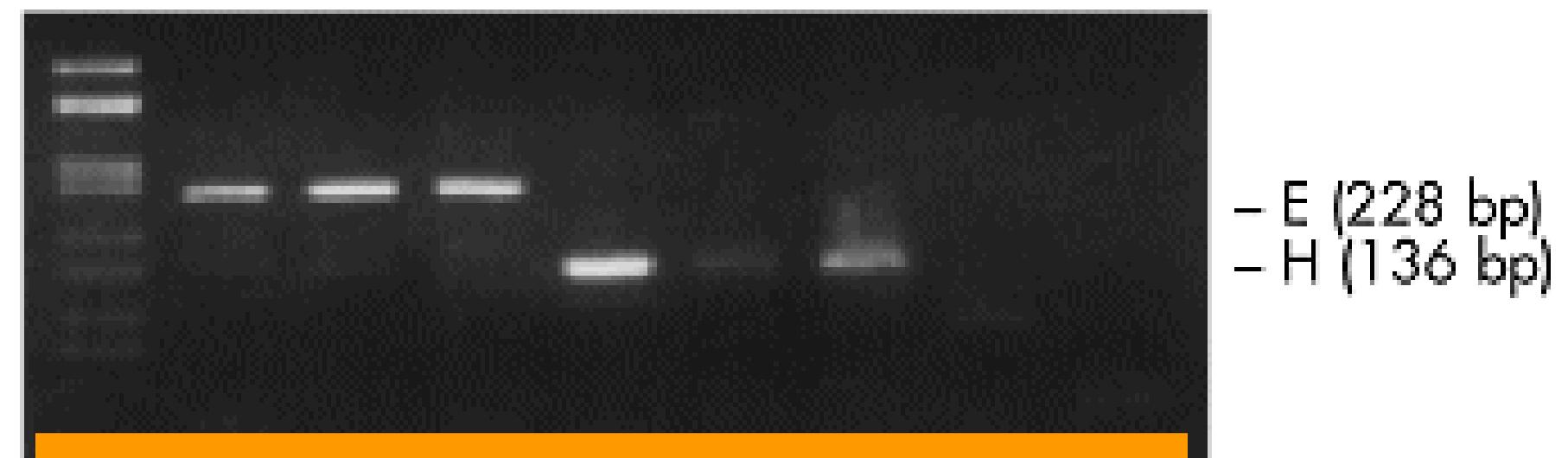
Beta actina

M

Enterovirus

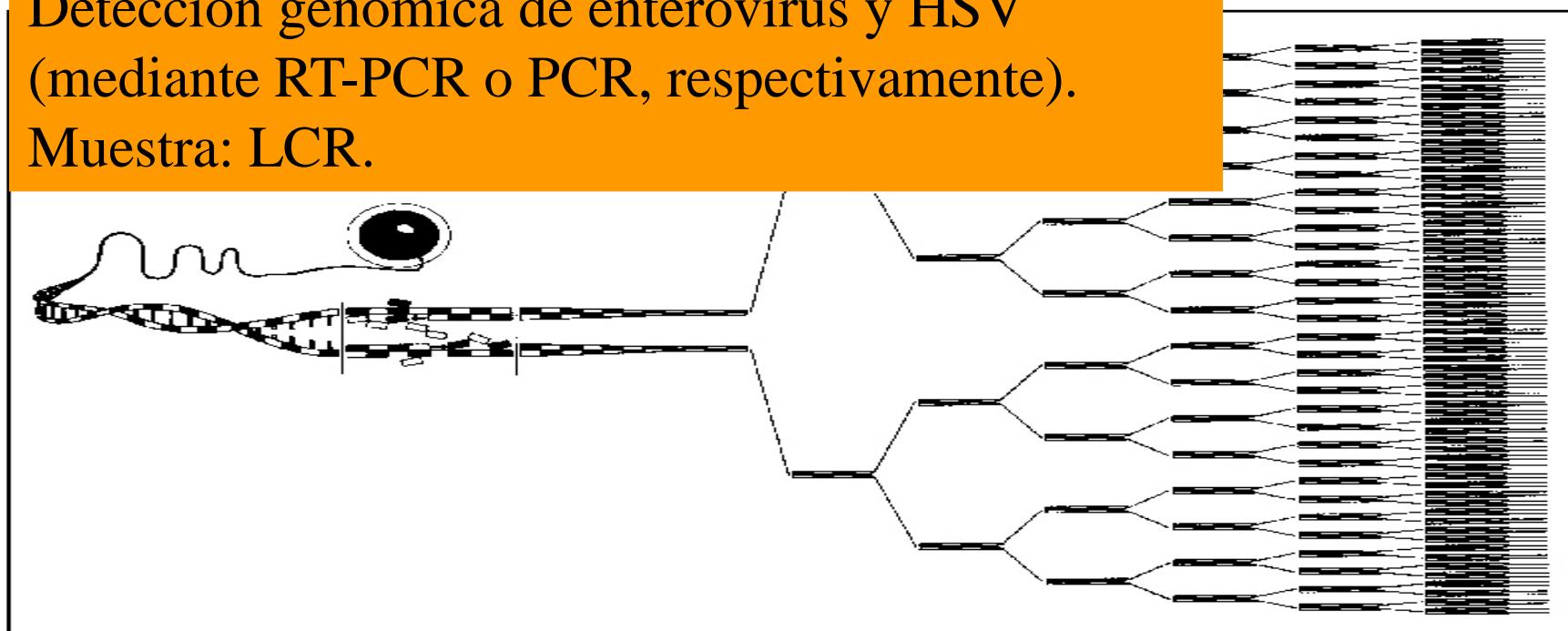
HSV

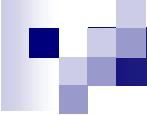
-



- E (228 bp)
- H (136 bp)

Detección genómica de enterovirus y HSV
(mediante RT-PCR o PCR, respectivamente).
Muestra: LCR.



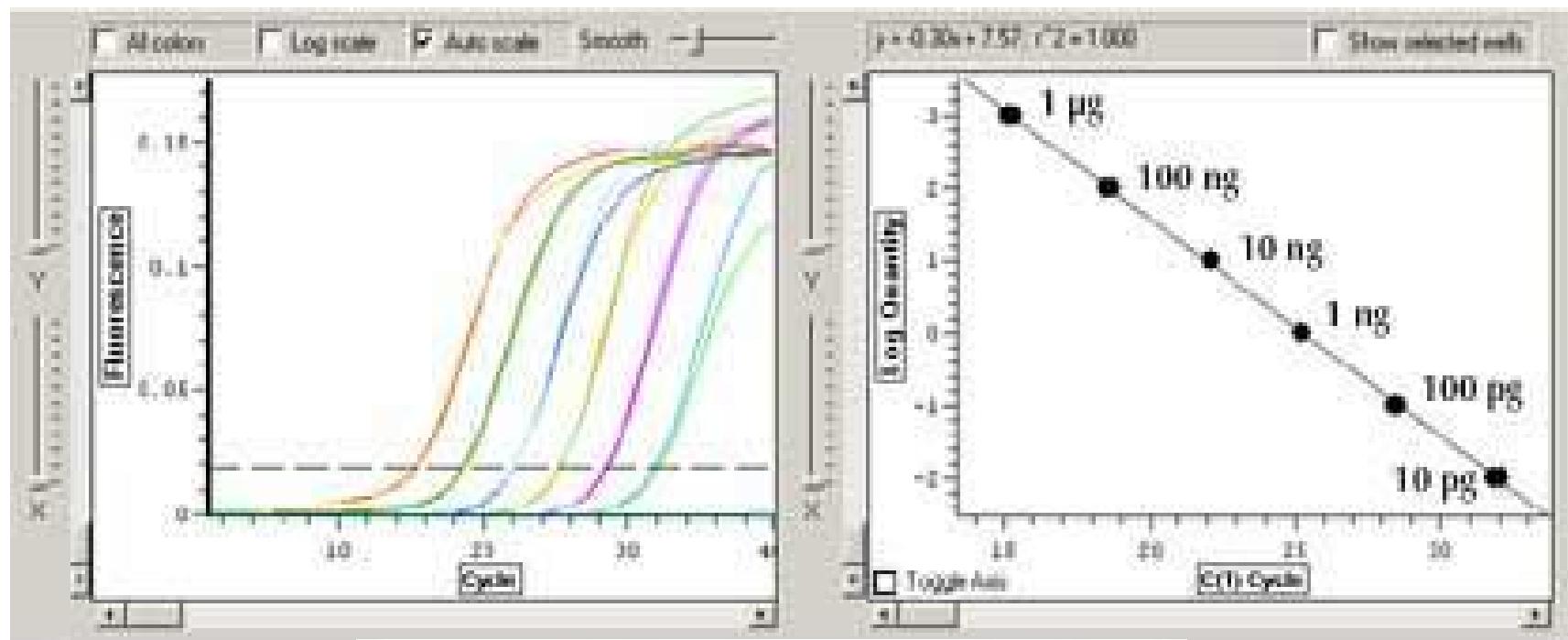


¿Qué es la PCR en tiempo real?

- Es una reacción de amplificación mediante **PCR**, **acoplada a un lector de fluorescencia**.
- Utiliza uno de los dos sistemas siguientes para detectar el DNA polimerizado:
 1. Agentes intercalantes.
 2. Sondas de hibridación específicas.

Utilidad clínica: CUANTIFICACIÓN (CARGA VIRAL)

PCR en tiempo real

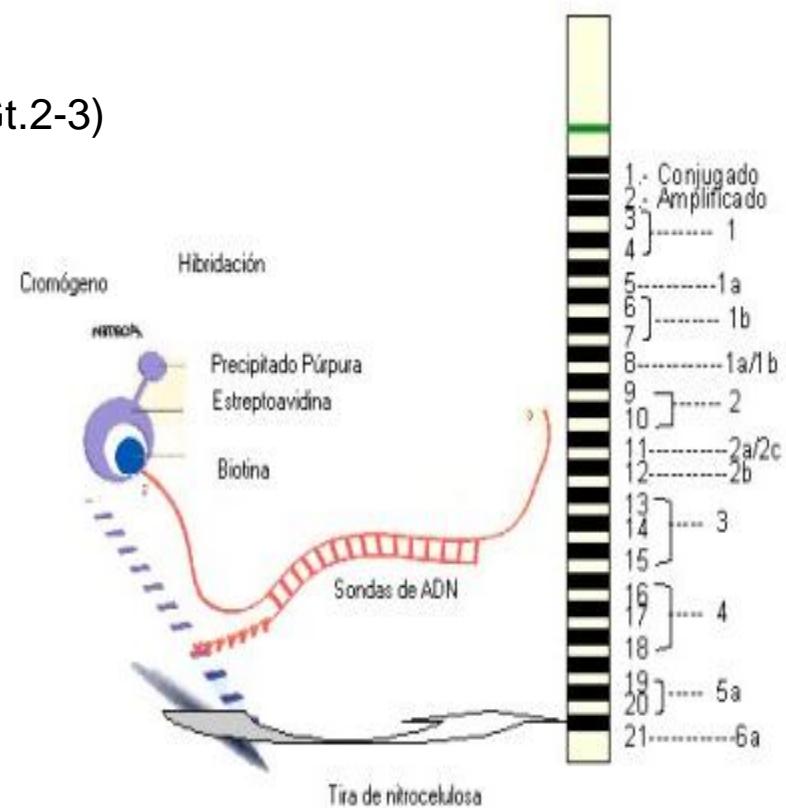
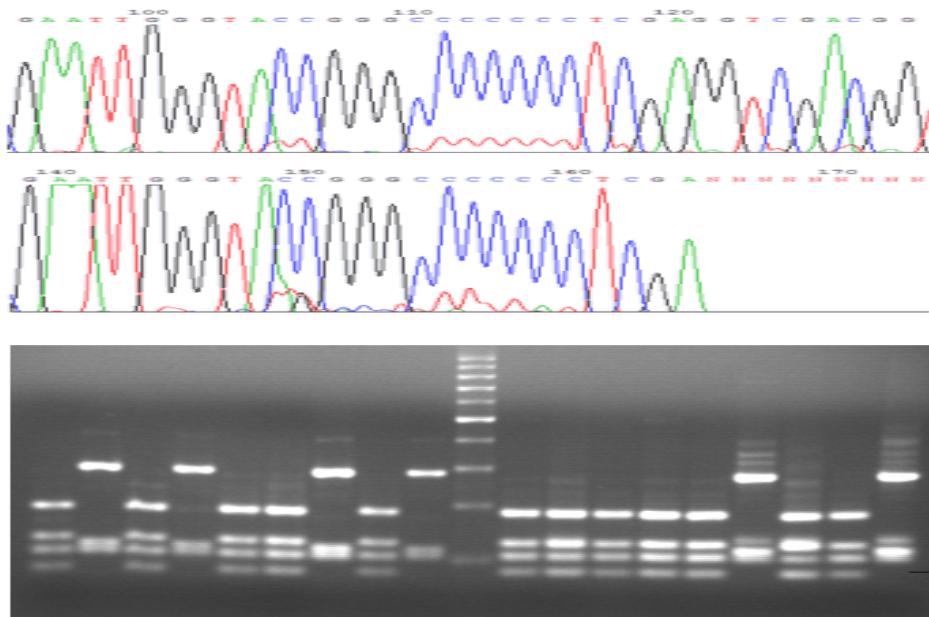


1a



Genotipo

- Gt 1-6; numerosos subtipos: diferencias geográficas
- Implicancias diagnósticas y biológicas
- Secuenciación; RFLP; ensayos comerciales (INNO-LiPA HCV Genotype)
- Duración de la terapéutica (monoinfectados)
- Pronóstico (pre-tratamiento)
 - Progresión, fibrosis
 - Riesgo de HCC
 - Respuesta a peg-IFN+RBV (Gt1-4 vs. Gt.2-3)



Caracterización de cuasiespecies virales

Fenotipo

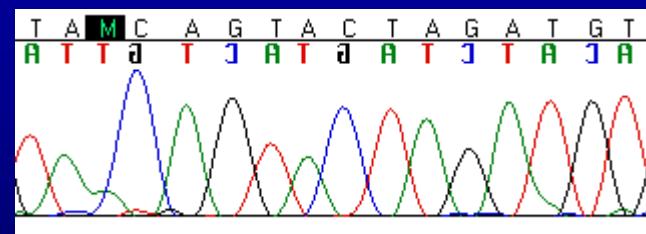
Determinación *in vitro* de la susceptibilidad de un virus a una determinada droga.



Única metodología para medir resistencia en forma directa.

Genotipo

Secuencia de bases nucleotídicas que constituyen un gen en particular.

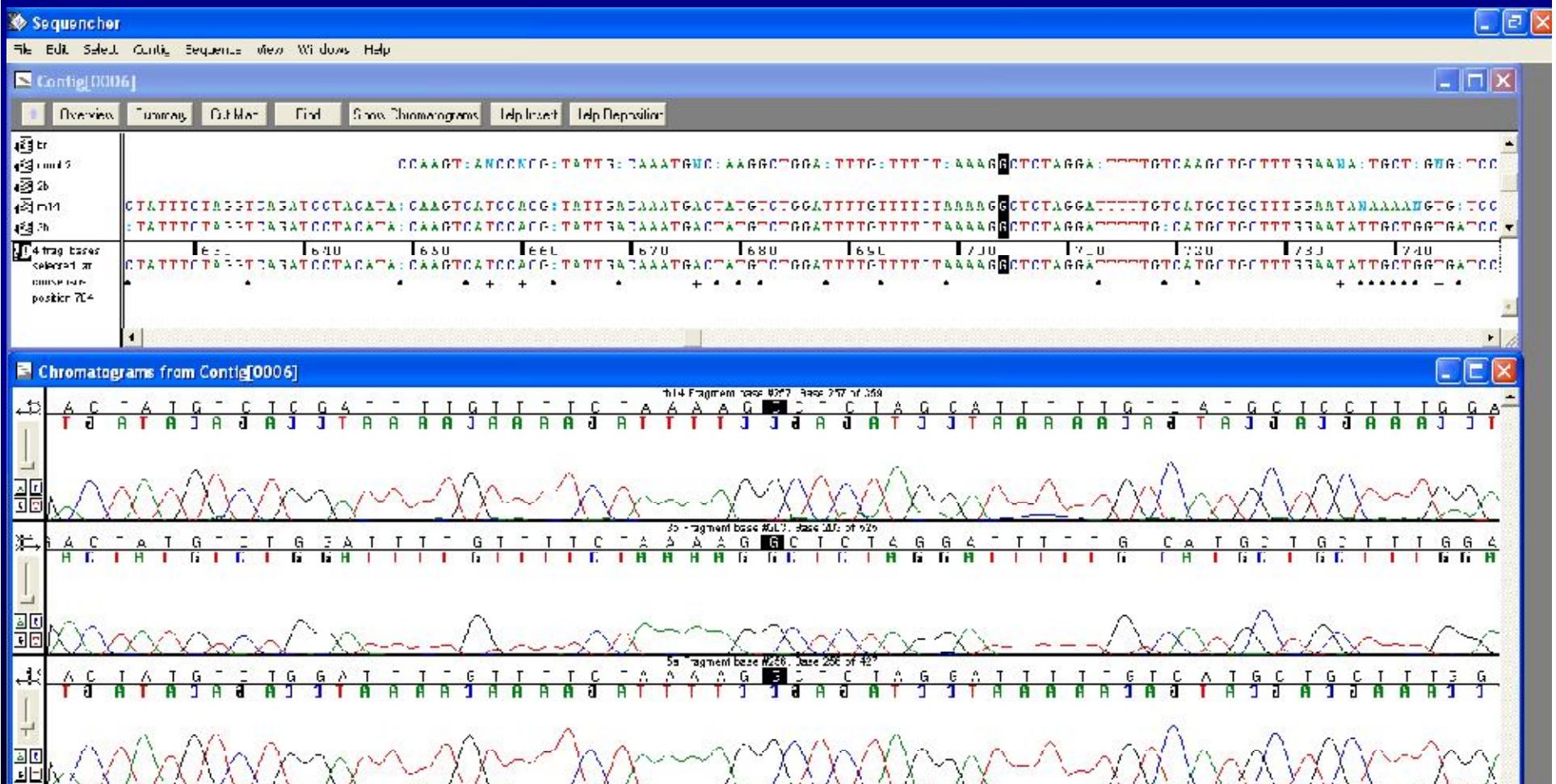
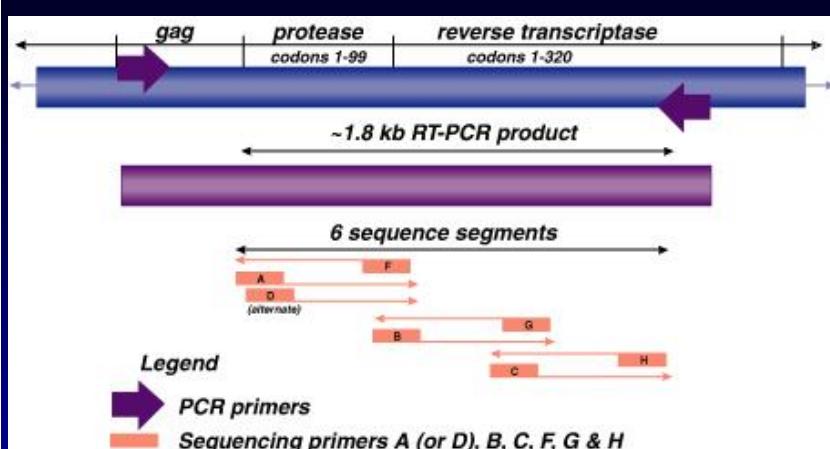


Define presencia de mutaciones que pueden inducir resistencia.

Tests de genotipificación

- ✓ detectan mutaciones asociadas a resistencia presentes en genes específicos (PR y RT).
- ✓ emplean secuenciación nucleotídica.
- ✓ resultados entre 1-2 semanas.
- ✓ interpretación de las mutaciones y resistencia cruzada es compleja.
- ✓ variantes minoritarias pueden no ser detectadas.

Análisis de secuencias



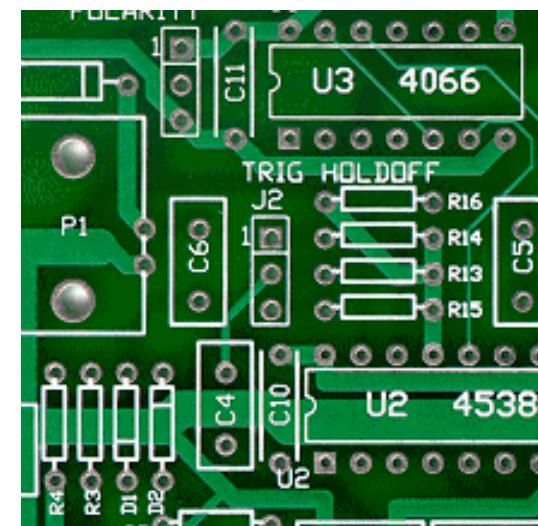
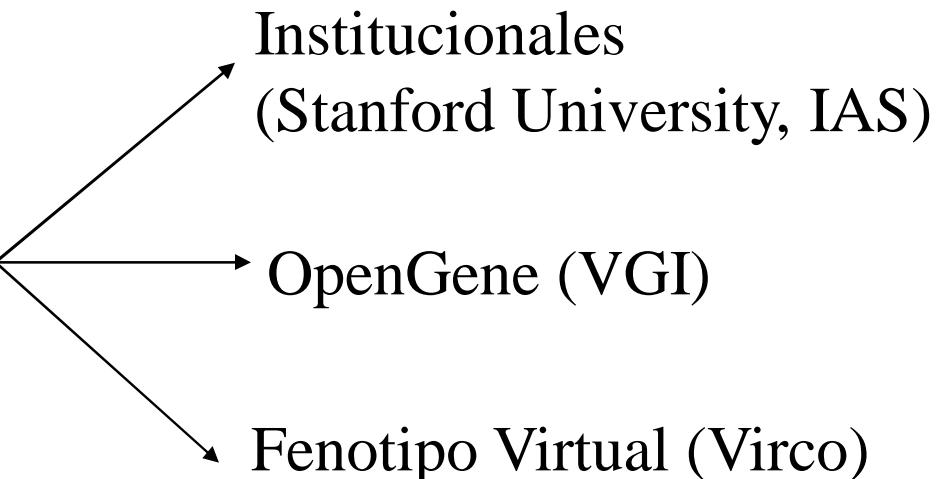
INTERPRETACION

Comparación de secuencias obtenidas con secuencia de referencia

BASES DE DATOS



Secuencia obtenida



CI_{50%} base de datos

NOMENCLATURA

M184V

aa salvaje

CODON

aa resistente

En TR se asocia a resistencia frente a 3TC, ddC y Abacavir

Mutaciones NRTIs

	Multi-nRTI Resistance ²				V	L	T	K	
	M	E	D	K					
Zidovudine ^{3,4}	41	44	67	70	I	W	Y	Q	
	L	D	N	R		F	E		
	M	E	D	K	V	L	T	K	
Zidovudine ^{3,4}	41	44	67	70	I	W	Y	Q	
	L	D	N	R		F	E		
	M	E	K	D	V	L	T	K	
Stavudine ^{3,4}	41	44	65	67	70	I	W	Y	Q
	L	D	R	N	R	F	E		
			K		L				
Didanosine ^{5,6}			65		74				
			R		V				
			K	T	L	M			
Zalcitabine ⁷			65	69	74				
			R	D	V	V			
			K	L	Y	M			
Abacavir ⁸			65		74	115	184		
			R		V	F	V		
			K				M		
Lamivudine				65			184		
				R			V		
				K			I		
Emtricitabine ⁹				65			184		
				R			V		
				K			I		
Tenofovir ¹⁰				65					
				R					
Multi-nRTI Resistance: 69 Insertion Complex ¹¹ (affects all nRTIs currently approved by the US FDA)									
	M	A	69 ▼ K			L	T	K	
	41	62	69	70		W	Y	Q	
	L	V	Insert R			F	E		
Multi-nRTI Resistance: 151 Complex ¹² (affects all nRTIs currently approved by the US FDA except tenofovir)									
	A		V	F	F	Q			
	62		75	77	116	151			
	V		I	L	Y	M			

Mutaciones NNRTIs

Nonnucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors (NNRTIs)^{1,13}

	L	K	V	V	Y	Y	G	
Nevirapine					181	188	190	
	I	N	A	I	C	C	A	
			M		I	L		
					H			
Delavirdine		K	V		Y	Y		P
		103	106		181	188		236
	N	M			C	L		L
Efavirenz	L	K	V	V	Y	Y	G	P
			M					
	100	103	106	108	181	188	190	225
	I	N	M	I	C	L	S	H
					I		A	

Multi-NNRTI Resistance¹⁴ (affects all NNRTIs currently approved by the US FDA)

K	V	Y
		188
103	106	

Multi-NNRTI Resistance: Accumulation of Mutations¹⁵ (affects all NNRTIs currently approved by the US FDA)

L	V	Y	G	M
100	106	181	190	230

Mutaciones PIs

MUTATIONS IN THE PROTEASE GENE ASSOCIATED WITH RESISTANCE TO PROTEASE INHIBITORS^{16,17}

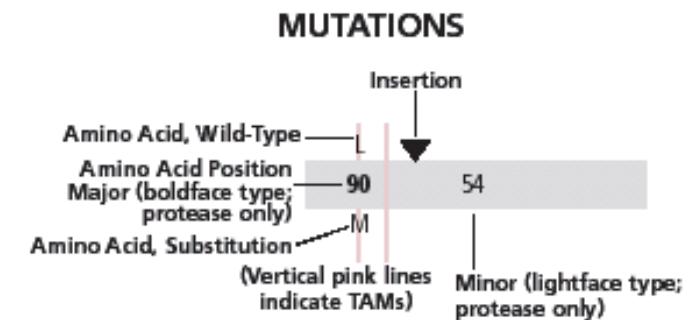
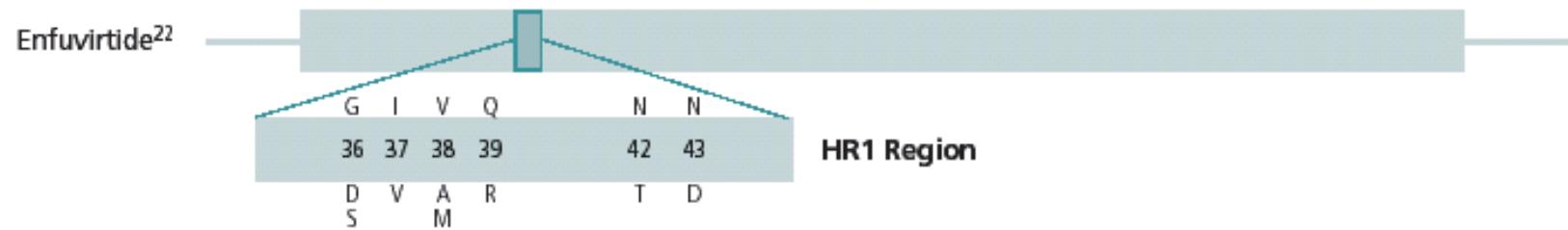
	L	K	L	V	M	M	I	A	G	V	V	I	L
Indinavir	10	20	24	32	36	46	54	71	73	77	82	84	90
	I	M	I	I	I	I	V	V	S	I	A	V	M
	R	R				L	T	A	F	T			
	V												
Ritonavir	10	20		32	33	36	46	54	71	77	82	84	90
	F	M		I	F	I	V	V	V	I	A	V	M
	I	R	R				L	T					
	V												
Saquinavir	10					48	54	71	73	77	82	84	90
	I	R				V	V	V	S	I	A	V	M
	V					L	T						
Nelfinavir ¹⁸	10		D		M	M		A		V	V	I	N
	F		N		36	46		71		77	82	84	88
	I				I	I	V	I	A	V	D	S	90
	L					L	T	V	F	T	S		
(Fos) amprenavir	10			V		M	I	I	I	G		I	L
	F			32		46	47	50	54	73		84	90
	I	R		I		I	V	V	L	S		V	M
	V					L	V						
Lopinavir/ ritonavir ¹⁹	10	20	24	32	33	46	47	50	53	54	63	71	73
	F	M	I	I	F	I	V	V	L	V	P	V	S
	I	R				L	A			L	A	T	
	V												
Atazanavir	10	20	24	32	33	36	46	48	50	54		A	G
	I	R	I	I	I	I	V	V	L	L	V	C	S
	F	M		F	L						A	V	S
	V	I		V							T		M
Tipranavir/ ritonavir (expanded access) ²⁰	10	20			L	M		I			V	I	L
	I	M			33	46		54			82	84	90
	V	L			F	I	V				A	V	M
	T										F	L	T

Multi-protease Inhibitor (PI) Resistance: Accumulation of Mutations²¹ (affects all PIs currently approved by the US FDA)

L	V	M	I	V	I	L
10	32	46	54		82	84
F	I	I	V		A	V
I	R				F	
V					C	
T					S	

Mutaciones asociadas a resistencia a inhibidores de entrada

MUTATIONS IN THE GP41 ENVELOPE GENE ASSOCIATED WITH RESISTANCE TO ENTRY INHIBITORS



Tests de resistencia

 STANFORD UNIVERSITY
HIV DRUG RESISTANCE DATABASE
A curated public database designed to represent, store, and analyze the divergent forms of data underlying HIV drug resistance.

HOME GENOTYPE-RX GENOTYPE-PHENO GENOTYPE-CLINICAL HIVdb PROGRAM

HIVdb: Genotypic Resistance Interpretation Algorithm

SeqID: Date: 25-Oct-2005

Summary Data

Sequence includes PR: codons: 1 - 99
Sequence includes RT: codons: 1 - 399
There are no insertions or deletions
Subtype and % similarity to closest reference isolate:

- PR: B (94.3%)
- RT: B (92.8%)

Drug Resistance Interpretation

PI Major Resistance Mutations: M46I, L90LM
PI Minor Resistance Mutations: K20IKM, L63P
PR Other Mutations: K55R, R57K, I64ILM, I72V

Protease Inhibitors

APV	Intermediate resistance
ATV	Intermediate resistance
IDV	Intermediate resistance
LPV	Low-level resistance
NFV	High-level resistance
RTV	Intermediate resistance
SQV	Intermediate resistance

Drug Resistance Interpretation

NRTI Resistance Mutations: M41L, E44AD, D67N, L74V, V118I, M184V, L210W, T215Y, K219N
NNRTI Resistance Mutations: L100I, K103N
RT Other Mutations: K20R, T39AT, K122E, I135T, D177N, T200I, R211K, D218E, V245T, E248D, R284KR, A288AS, I293V, P294T, E297R, L301I, I329L, A355T, G359S, T386I, K390R

Nucleoside RTI		Non-Nucleoside RTI	
3TC	High-level resistance	DLV	High-level resistance
ABC	High-level resistance	EFV	High-level resistance
AZT	High-level resistance	NVP	High-level resistance
D4T	High-level resistance		
DDI	High-level resistance		
FTC	High-level resistance		
TDF	Intermediate resistance		

 virco

Reported by:
Virco BVBA
Generaal De Wittelaan 11B 4
B-2800 Mechelen, Belgium

vircoTYPE HIV-1
powered by Virtual/Phenotype™

The Complete Resistance Analysis

Patient/Sample Details					Physician Details	
CONFIDENTIAL	Patient name	Doe, John	Sample ID	0123456	Clinic Name	
	Patient ID	ABC_123	Collection Date	June 28, 2005	Clinic Address	
	SSN	999-99-9999	Received by Virco	June 30, 2005		
	Date of birth	Jan 1, 1970	Visit			
	Gender	M	Study Name			
	Virco ID	XYZ00000000	Report Date	Jun 30, 2005	Physician Name	

SUMMARY REPORT

	DRUGS	FOLD CHANGE ¹	CUT-OFF ²	RESISTANCE ANALYSIS ³		CLINICAL NOTES <small>See p2 for details</small>	
NRTI / NRTI mutations: 41L,184V,215Y							
NRTI/NRTI	Retrovir®	Zidovudine	3.5	1.9	14.4	REDUCED RESPONSE	
	Epivir®	Lamivudine	45.3	1.1	3.7	MINIMAL RESPONSE	
	Videx®	Didanosine	1.4	1.3	3.0	REDUCED RESPONSE	
	Hivid®	Zalcitabine	1.6		3.0	SUSCEPTIBLE	
	Zerit®	Stavudine	0.9	1.1	2.2	MAXIMAL RESPONSE	
	Ziagen®	Abacavir	2.4		2.1	RESISTANT	Note 1
	Emtriva®	Emtricitabine	50.4		3.7	RESISTANT	
	Viread®	Tenofovir DF	1.2	1.0	2.0	REDUCED RESPONSE	
NNRTI mutations: None							
NNRTI	Viramune®	Nevirapine	1.3	5.2	SUSCEPTIBLE		
	Rescriptor®	Delavirdine	1.6	7.7	SUSCEPTIBLE		
	Sustiva®, Stocrin®	Efavirenz	1.0	3.4	SUSCEPTIBLE		
PI mutations: 10I,54V,58E,63P,71V,82A,90M,93L,95F							
PI	Crixivan®	Indinavir	21.5	0.8	2.2	MINIMAL RESPONSE	
	Crixivan® ; boosted	Indinavir/r	21.5	4.1 *	21.2 *	MINIMAL RESPONSE	
	Norvir®	Ritonavir	119.4		2.4	RESISTANT	
	Viracept®	Nelfinavir	30.7	1.0	1.5	MINIMAL RESPONSE	
	Invirase®, Fortovase®	Saquinavir	12.0	0.7 *	1.0 *	MINIMAL RESPONSE	
	Invirase®, Fortovase® ; boosted	Saquinavir/r	12.0	1.1 *	12.0 *	REDUCED RESPONSE	
	Agenerase®	Amprenavir	3.0	0.7	1.4	MINIMAL RESPONSE	
	Agenerase® ; boosted	Amprenavir/r	3.0	0.9	6.5	REDUCED RESPONSE	
	Lexiva®, Telzir®	Fosamprenavir	3.0		1.8	RESISTANT	Note 2
	Kaletra®	Lopinavir/r	13.6	10.0	61.6	REDUCED RESPONSE	
	Reyataz®	Atazanavir	29.8		2.0	RESISTANT	Note 2
	Aptivus®	Tipranavir	1.2		1.6	SUSCEPTIBLE	

1. Predicted Fold Change in 50% Inhibitory Concentration (IC50), relative to susceptible reference virus. 2. Cut-Off values for maximal and minimal clinical response (Clinical Cut-Off) or for normal susceptibility range in vitro (Biological Cut-Off). An asterisk indicates that these cut-offs are being further refined to improve precision. Biological Cut-Offs are printed in italic. See page 3 for definitions. 3. Resistance Analysis based on the magnitude of the Fold Change relative to the Clinical or the Biological Cut-Offs. See page 3 for definitions.

VirocNET™ version 1.10.0 VPT 3.9.00 D80503 CONFIDENTIAL Created at VIRCO Belgium on Jun 30, 2005 Page 1 of 3 Copyright Virco BVBA 2005. All rights reserved.



**Frecuentemente acudirás al laboratorio esperando
un “*Sí*” o “*No*” como respuesta, pero en muchos
casos sólo será ...**

“puede ser”



GRACIAS POR LA ATENCIÓN !

