

CAMBIOS EN LA CARGA VIRAL DEL VIH DURANTE LAS INFECCIONES RESPIRATORIAS AGUDAS EN PACIENTES INFECTADOS CON EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA.

ALICIA VILLAR-ARIAS¹
JAVIER PINILLA-MORAZA¹
PABLO LABARGA-ECHEVERRÍA¹
FRANCISCO ANTÓN BOTELLA¹
EDUARDO VILADÉS JUAN²

RESUMEN

OBJETIVO: evaluar el impacto de la infección respiratoria aguda en el nivel de carga viral de pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).

PACIENTES Y MÉTODOS: 41 pacientes infectados con el VIH fueron seguidos durante 1 año después de obtener la carga viral del VIH y linfocitos CD4 basales. Cuando presentaron síntomas de infección respiratoria aguda, los paciente fueron reevaluados con la medida de la carga viral, hemocultivos y radiografía de tórax. La carga viral fue medida de nuevo 1 y 3 meses más tarde. Se practicaron análisis estadísticos para valorar si tuvieron incrementos significativos de la carga viral durante ó después de la infección respiratoria aguda.

RESULTADOS: 11 pacientes sufrieron infecciones respiratorias agudas (1 de ellos neumonía basal derecha leve, 4 bronquitis aguda y 6 infección del tracto respiratorio superior). Los cultivos de sangre fueron negativos y en todos los casos la radiografía de torax fue normal excluyendo el paciente que sufrió la neumonía. Todos los pacientes estaban en el mismo estadio clínico y presentaban el mismo rango de linfocitos CD4 tanto al comienzo como al final del estudio. La media de carga viral fue de 6.274 copias/ml para el grupo en su conjunto, 13.390 copias/ml para aquellos con infección respiratoria aguda, y 5.043 para aquellos que no la presentaban (p no significativa).

CONCLUSIONES: en nuestro estudio no hemos encontrado incremento significativo en la carga viral, durante o en un período corto después de la infección respiratoria aguda.

1. Servicio Medicina Interna. Complejo Hospitalario "San Millán - San Pedro", c/ Autonomía de La Rioja, 3 26004 Logroño

2. Unidad de Inmunología-Hematología. Complejo Hospitalario "San Millán - San Pedro", c/ Autonomía de La Rioja, 3 26004 Logroño

Palabras clave: carga viral, infecciones respiratorias agudas, VIH.

OBJECTIVE: to evaluate the impact of Acute Respiratory Infection in patients infected by Human Immunodeficiency Virus (HIV) at a viral load

PATIENTS AND PROCEDURES: 41 patients infected by AIDS have been followed over one year after obtaining a viral load of HIV and the basal CD4 lymphocytes. When the patients showed symptoms of Acute Respiratory Infection, they were re-evaluated with the average of the viral load, blood -cultures and chest X-ray.

The viral load was evaluated again one and three months later.

Statistical analysis were made in order to know if the patients had important increases of viral load during the study or after it.

RESULTS: Eleven patients suffered from Acute Respiratory Infection (one of them, light right basal pneumonia; four of them, Acute bronchitis and six of them, an infection in the upper respiratory tract).

The blood cultures were negative and, in all cases, the chest X-ray was absolutely normal, except in the patient infected with pneumonia.

All patients were in the same clinical level and showed the same level of CD4 lymphocytes in the beginning and at the end of the test.

The average viral load was 6,274 copies/ml for all the group; 13,390 copies/ml for those patients with Acute Respiratory Infection and 5,043/ml for patients without it. CONCLUSIONS: In our study, we have not found a significant increase in viral load during and after the Acute Respiratory Infection.

Key words: viral load, Acute Respiratory Infection, HIV.

0. INTRODUCCIÓN

En la historia natural de la infección por el VIH tiene lugar un progresivo deterioro del sistema inmune debido a destrucción y disfunción de los linfocitos CD4. Esto causa una progresión de la enfermedad desde una fase aguda, que puede ser asintomática o parecerse a un síndrome mononucleósico, a una fase final de deterioro general con la aparición de infecciones oportunistas y/o neoplasias (Staprans et al, 1995).

Para el estudio de estos pacientes se han utilizado diversos parámetros biológicos como marcadores de progresión de la enfermedad: antígeno P24, neopterina, beta-2-microglobulina, el número de linfocitos CD4, etc..., todos ellos usados en la práctica diaria (Fahey et al, 1990; McDonnell et al, 1990; Fuchs et al, 1991; Phillips et al, 1991; Lifson et al, 1992). Aunque las técnicas de biología molecular para detectar RNA del HIV-1 se venían usando desde hace años (Coombs et al, 1989; Ho et al, 1989; Holodniy et al, 1991; Pan et al, 1993; Van Kerckhoven et al, 1994) fue en 1996 cuando estas técnicas comenzaron a ser usadas como marcadores pronósticos y para adoptar decisiones terapéuticas clínicas en la práctica diaria (Coombs et al, 1996; Galetto-Lacour et al, 1996; Mellors et al, 1996; O'Brien et al, 1996; Vlahov et al, 1998). En diferentes estudios se ha observado que la medida de la carga viral puede sufrir modificaciones coincidentes con infecciones intercurrentes

(Donovan et al, 1996; Nelson et al, 1996; Mole et al, 1997) ó con la administración de vacunas (O'Brien et al, 1995; Brichacek et al, 1996; Stanley et al, 1996) retornando en ocasiones a los valores previos sin conocimiento claro de como interpretar estos hallazgos, que no obstante pueden dificultar la práctica clínica diaria.

Diferentes trabajos han sido publicados sobre la incidencia de complicaciones respiratorias en paciente infectados con el VIH. En los diferentes estadios de la enfermedad las bronquitis agudas, sinusitis y neumonías son frecuentes en estos pacientes (Meduri et al, 1992; The pulmonary complications of HIV infection study group, 1993; Wallace et al, 1993; Wallace et al, 1997). Nuestro estudio tiene por finalidad descartar si en el contexto de una infección respiratoria aguda (IRA) en pacientes con VIH, existe una modificación de la carga viral con las repercusiones clínico-terapéuticas que podrían tener.

1. PACIENTES Y MÉTODOS

Estudiamos los pacientes infectados con el VIH atendidos en nuestra consulta externa que presentaron los siguientes criterios: no haber modificado su tratamiento antirretroviral en los 2 meses previos, no sufrir otra infección concomitante, no recibir tratamiento con Interferon u otros inmunomoduladores y no consumir drogas por vía parenteral. Iniciamos el estudio en octubre de 1996 y lo concluimos en enero de 1998. Los pacientes cuyo tratamiento antirretroviral fue modificado durante este periodo fueron excluidos del análisis final.

En el momento de incluir los pacientes en nuestro estudio se obtuvieron los datos acerca de sus prácticas de riesgo para la infección por VIH, su situación clínica de acuerdo a la clasificación del CDC (MMWR, 1992), su tratamiento antirretroviral (drogas y duración), número de linfocitos CD4 y carga viral del VIH.

Los pacientes fueron advertidos de que tan pronto como tuvieran claros síntomas de infección respiratoria aguda, tales como la aparición de tos ó un incremento de su tos preexistente, expectoración, dolor costal, disnea, sonidos respiratorios anormales, rinorrea ó cefalea frontal y una temperatura más alta de 37,4 (The pulmonary complications of HIV infection study group, 1993), deberían de acercarse a nuestra consulta externa para establecer el diagnóstico y administrar el tratamiento oportuno para su infección. En ese momento la evaluación clínica consistía en un examen físico completo, radiografía de tórax, radiografía de senos paranasales, hemocultivos, recuento sanguíneo completo, y la determinación de carga viral del VIH entre el 3º y el 10º día después del comienzo de los síntomas. Se instauró tratamiento antibiótico durante 10 días con una cefalosporina ó un macrólido en caso de alergia a la primera. Un mes después de finalizar el tratamiento y tres meses más tarde, se efectuaron nuevas medidas de carga viral del VIH y en este último control se realizó un recuento sanguíneo completo incluyendo linfocitos CD4.

El recuento sanguíneo fue efectuado por medio de un Technicon autoanalizador. Las poblaciones linfocitarias fueron determinadas por citometría de flujo con Orto Cithoron. Para la medida de la carga viral se utilizó el método branched DNA (Revets et al, 1996), para su realización se extrajo una muestra de sangre en un tubo con EDTA efectuándose las pruebas en un máximo de 3 horas después ultracentrifugación, congelando el plasma a -70°C para su posterior transferencia al laboratorio de referencia. Para el análisis estadístico se utilizó el SPSS paquete estadístico para Windows 95.

2. RESULTADOS

De los 41 pacientes incluidos en el estudio 22 (53,65%) fueron hombres. El promedio de edad de los pacientes fue 33,8 años (19-53). Ocho pacientes, cuyo tratamiento antirretroviral fue modificado, fueron excluidos y cuatro no acudieron al seguimiento.

Las prácticas de riesgo fueron: la adicción a drogas por vía parenteral en 27 pacientes (65,85%), seguido por prácticas heterosexuales 11 pacientes (26,83%) y receptores de hemoderivados 3 pacientes (7,32%). De acuerdo a la clasificación del CDC de 1992 (MMWR,1992), había 25 pacientes en el grupo A (9 en el subgrupo A1, 14 en A2 y 2 en A3), 12 en el grupo B (4 en el subgrupo B1, 6 en el B2 y 2 en B3) y 4 en el grupo C (1 en subgrupo C1 ,1 en C2 y 2 en C3).

El tratamiento antirretroviral fue seguido en 33 pacientes (80,49%). El promedio de tiempo que llevaban con el tratamiento antirretroviral cuando los pacientes fueron incluidos en el estudio fue de 34,3 semanas (8-148). En monoterapia con inhibidores de transcriptasa inversa estaban 8 pacientes (19,51%), en doble terapia con 2 inhibidores de transcriptasa inversa había 21 pacientes (51,22%) y con triple terapia con 2 inhibidores de transcriptasa inversa y 1 inhibidor de la proteasa 4 (9,76%). Nótese que el estudio está efectuado en los momentos en los que aún la terapia antirretroviral triple no estaba completamente extendida en nuestro medio.

De los 41 pacientes, 11 presentaron infección respiratoria aguda (Tabla 1). De estos, 6 tuvieron una infección del tracto respiratorio superior (pacientes 2,4-7 y 10), 4 bronquitis aguda (1,8,9 y 11) y 1 neumonía leve del lóbulo inferior derecho (paciente 3). Los hemocultivos fueron negativos en todos ellos y la radiografía de tórax y de senos paranasales fue normal. Sin embargo en la radiografía de tórax del paciente 3 se apreció una condensación neumónica.

Ninguno de los pacientes mostraron neutropenia en el momento de sufrir la infección respiratoria aguda y sólo los pacientes 3 y 8 sufrieron leucocitosis

TABLA 1: IRA CARACTERÍSTICAS

Paciente	Sex	Edad (años)	Estadio clínico (CDC ²⁷)	T (°C)	Duración (Días)	Tratamiento	Tratamiento Antirretroviral
1	H	40	C1	38,3	1	Cefixima	No
2	H	37	B3	38	2	Cefotaxima	AZT+ddI
3	H	40	A2	39,5	3	Cefuroxima	AZT+ddC
4	M	26	B1	37,5	2	Cefuroxima	No
5	M	35	B2	38,8	3	Cefuroxima	ddI
6	H	34	B1	38,5	2	Cefuroxima	AZT
7	M	31	A2	38,5	3	Erythromycin	ddI
8	H	23	B1	40	3	Ceftriaxona	No
9	H	37	C3	40	2	Cefuroxima	AZT+3TC+IDV
10	H	33	C2	37,5	2	Cefuroxima	AZT+ddC+SQV
11	M	32	B2	40	2	Cefotaxima	AZT+3TC+SQV

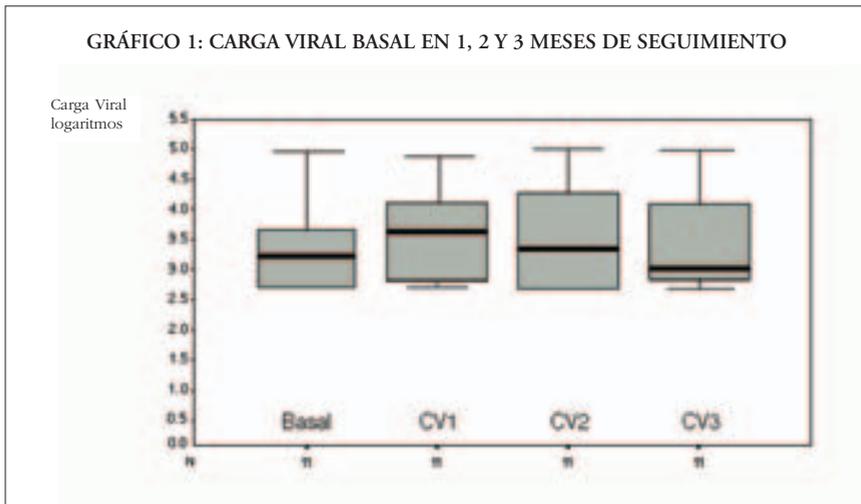
(19.550/ml y 18.330/ml respectivamente). Ninguno de los pacientes mostró progresión de la enfermedad del VIH, teniendo el mismo número de linfocitos CD4 al final del estudio.

La media de carga viral de los pacientes que mostraron infección respiratoria aguda fue 13.390 copias/ml (500-87.950 copias/ml) mientras en el resto la media de carga viral fue de 5.043 copias/ml (500-51.770 copias/ml). Tomados todos los pacientes juntos, la media de carga viral fue de 6.274 copias/ml (500-87.950 copias/ml).

La evolución de la carga viral en los pacientes que presentaron infección respiratoria aguda se muestra en la Tabla 2 y en el Gráfico 1.

TABLA 2: CARGA VIRAL (COPIAS/ml Y log) DURANTE IRA				
Paciente	Basal	CV1	CV2	CV3
1	42710 (4,63)	29450 (4,47)	101840 (5,01)	63460 (4,80)
2	2720 (3,43)	5080 (3,70)	7040 (3,85)	4530 (3,67)
3	500 (2,69)	500 (2,69)	500 (2,69)	500 (2,69)
4	500 (2,69)	820 (2,91)	500 (2,69)	745 (2,87)
5	2640 (3,42)	4110 (3,61)	1420 (3,15)	3615 (3,56)
6	1550 (3,19)	2350 (3,37)	2090 (3,32)	1040 (3,02)
7	500 (2,69)	500 (2,69)	500 (2,69)	660 (2,82)
8	87950 (4,94)	76100 (4,88)	65660 (4,81)	97995 (4,99)
9	500 (2,69)	500 (2,69)	500 (2,69)	500 (2,69)
10	7220 (3,86)	26921 (4,43)	49269 (4,69)	34916 (4,54)
11	500 (2,69)	5599 (3,71)	5157 (3,71)	832 (2,92)
Media	13390 (3,36)	13820 (3,57)	21316 (3,58)	18981 (3,51)

Carga viral basal y a los 1, 2 y 3 meses de seguimiento



En nuestro estudio no encontramos diferencias significativas entre las determinaciones basales en el momento de la infección respiratoria aguda, 1 mes después ó 3 meses más tarde ($p=0,18$).

Dos de los 11 pacientes con infección respiratoria aguda (18,18%), experimentaron un incremento en la carga viral de más 0,5 logaritmos (Saag et al, 1996; Schuurman et al, 1996). Dado que en nuestro estudio los pacientes sufrieron la infección respiratoria aguda entre las semanas 12 y 14 de la monitorización, se estudió la carga viral del resto del grupo después de 3 meses y observamos en ellos un incremento de más de 0,5 logaritmos en 6 de 23 pacientes (26,09%), sin detectar una diferencia significativa ($p>0,5$). Tres meses más tarde del final de la infección respiratoria aguda, 1 paciente (9,09%) tuvo una elevación de más de 0,5 logaritmos frente a 2 de 18 (11,11%) en el resto del grupo; de nuevo no había diferencias estadísticamente significativas ($p>0,5$).

3. DISCUSIÓN

Diferentes trabajos han descrito un incremento de la carga viral coincidiendo con la presencia de infecciones (Mole et al, 1995; Schaacker et al, 1995; Bus et al, 1996; Donovan et al, 1996; Nelson et al, 1996; Preiser et al, 1996; Mole et al, 1997). En contraposición con esto, en nuestro estudio no encontramos diferencias estadísticamente significativas durante la infección respiratoria aguda ($p=0,18$). Así, 3 pacientes tuvieron la misma carga viral, 2 experimentaron un descenso de no más de 0,5 log y 6 experimentaron un incremento de la carga viral, pero sólo 2 de ellos de más de 0,5 log, variación mínima para ser considerada relevante desde el punto de vista clínico. Sin embargo la media de carga viral permaneció estable durante y después de la infección respiratoria aguda así como los linfocitos CD4. Mole y colaboradores (1997) encontraron en 16 pacientes que sufrieron una reactivación de la infección por Herpes simple-2, un incremento de la carga viral en el momento de la reactivación. Sin embargo la media basal de carga viral fue más alta que en nuestro estudio (111.663 copias/ml) frente a (13.390 copias/ml), que podría estar relacionada con una situación clínica más avanzada de aquellos pacientes, lo cual además se confirma, porque sus linfocitos CD4 eran claramente más bajos que los de nuestro grupo (84/ml frente a 502/ml). Creemos que esta diferencia en la situación clínica entre ambos grupos estudiados justifica las diferencias entre nuestros datos y los publicados en dicho trabajo. Coincidiendo con este estudio, Donovan y colaboradores (1996) describieron un incremento de la carga viral en el contexto de infecciones oportunistas; aunque la media de carga viral era más parecida a nuestra muestra (21.000 copias/ml), los pacientes del estudio de Donovan también presentaban una situación clínica más avanzada con linfocitos CD4 claramente inferiores a los de nuestro grupo (65/ml frente a 502/ml).

Shacker y colaboradores (1995) encontraron en pacientes con una situación inmunológica mejor (media de CD4 351/ml) y más baja carga viral (promedio de 18 copias/ml) un incremento de la carga viral coincidiendo con la reactivación de infecciones por Herpes simple-2. Dado que este estudio es similar al nuestro, creemos que la diferencia en los resultados puede ser debida al diferente mecanismo inmunológico que tiene lugar cuando se produce una reactivación de una infección latente. Así mismo en el trabajo de Nelson y colaboradores (1996) en relación a pacientes con tuberculosis, observaron un incremento de la carga viral durante el curso de la enfermedad. Por otro lado Manoff y colaboradores (1996) encontraron

que en pacientes con infección por micobacterium tuberculosis latente demostrada por prueba de la tuberculina positiva, no tenían diferencia en la cuantificación de carga viral frente a los pacientes tuberculin negativos. Esta diferencia en los resultados podría también estar a favor de nuestra hipótesis.

Bush y colaboradores (1996) describen en neumonías bacterianas un incremento de la carga viral, aunque los valores no son directamente comparables con nuestros resultados ya que las determinaciones de la carga viral fueron efectuadas por métodos de laboratorio diferentes. Pensamos en cualquier caso que dado que en nuestro estudio sólo 1 paciente presentó condensación neumónica, y 4 tenían bronquitis aguda además de 6 infección de tracto respiratorio superior, nos inclinamos a creer que la diferencia en los resultados podría ser debida a que en nuestro estudio los pacientes presentaban infecciones más banales.

Otros trabajos describen la evolución de la carga viral con la administración de vacunas (Mellors et al, 1995; O'Brien et al, 1995; Staprans et al, 1995; Brichacek et al, 1996; Stanley et al, 1996; Fowke et al, 1997) y sólo en el caso de la vacuna del H.influenzae hay resultados discordantes ya que algunos autores encuentran incremento en la carga viral (Staprans et al, 1995; Stanley et al, 1996), mientras que otros no hallan variaciones (Manoff et al, 1996). Creemos que estos resultados no son directamente comparables con los nuestros ya que durante la vacunaciones la activación del sistema inmune podría ser producido por diferentes mecanismos de los que ocurren durante las infecciones agudas.

Aunque nuestro estudio no fue diseñado para ello, encontramos una mayor carga viral basal entre los pacientes que posteriormente sufrieron infección respiratoria aguda (13.390 copias/ml contra 5.043 copias/ml), datos que coinciden con el trabajo de Preiser y colaboradores (1996) en pacientes con coinfección por Leishmania. Sin embargo, al contrario que en nuestro estudio, en el trabajo de Preiser se observó un incremento de la carga viral durante la infección por Leishmania donovani.

Diferentes estudios han demostrado el importante valor pronóstico de la carga viral, por esta razón se ha convertido en determinación diaria de rutina en la práctica clínica (Coombs et al, 1996; Galetto-Lacour et al, 1996; Mellors et al, 1996; O'Brien TR et al, 1996; O'Brien WA et al, 1996; Welles et al, 1996; Mellors et al, 1997; Vlahov et al, 1998). A pesar de esto, estas variaciones en su determinación en la presencia de infecciones ó con la administración de vacunas, podrían conducir a interpretaciones erróneas de fracaso de tratamiento ó progresión de la enfermedad de los pacientes en seguimiento. Por otro lado dada la alta frecuencia de infección respiratoria en la población con VIH (Wallace et al, 1993; Wallace et al, 1997) es posible que se determine la carga viral a pacientes infectados por VIH en el contexto de estas infecciones.

Nuestros resultados sugieren que las variaciones de la carga viral respecto a valores previos en pacientes infectados por VIH y cuya determinación de carga viral se efectuó durante la infección respiratoria aguda, puede ser debida a progresión de la infección por VIH más que a interferencia de la infección respiratoria aguda en el momento de la determinación.

Dado que el tratamiento antirretroviral modifica la carga viral (Hammer et al, 1996; Hughes et al, 1997; Katzenstein et al, 1996) , aquellos pacientes cuya carga viral se modificó durante el seguimiento fueron excluidos del análisis final. Algunos autores (Staprans et al, 1995; Mole et al, 1997) interpretan que este tratamiento podría modificar la respuesta de la carga viral en las vacunaciones. Aunque nues-

tro estudio no fue diseñado para ello, no hay diferencias en los resultados respecto al tratamiento antirretroviral, ya que fueron incluidos pacientes que no recibían tratamiento y aquellos con mono, doble y triple terapia. Además las variaciones de más de 0,5 log. ocurrieron en 2 pacientes, los cuales estaban en triple terapia. Así mismo nosotros no hemos visto mayor incremento en aquellos pacientes con más alta carga viral.

Finalmente creemos importante, que futuros trabajos sean conducidos a la investigación de los acontecimientos que pueden ocurrir en pacientes infectados con VIH y que puedan alterar la carga viral en según qué circunstancias o estadios clínicos de los enfermos, para conocer de forma más precisa el valor de la carga viral en el manejo de esta enfermedad.

4. BIBLIOGRAFÍA

- Brichacek B, Swindells S, Janoff EN, Pirruccello S and Stevenson M., 1996. Increased plasma human immunodeficiency virus type 1 burden following antigenic challenge with pneumococcal vaccine. *J Infect Dis.* (174), 1191-1199.
- Bush CE, Donovan RM, Markowitz NP, Kvale P and Saravolatz LD., 1996. A study of HIV RNA viral load in AIDS patients with bacterial pneumonia. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol.* (13), 23-26.
- Coombs RW, Collier AC, Allain JP, Nikora B, Leuther M, Gjerset et al., 1989. Plasma viremia in human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med.* (321), 1626-1631.
- Coombs RW, Welles SL, Hooper C, Reichelderfer PS, D'Aquila RT, Japour AJ et al., 1996. Association of plasma human immunodeficiency virus type 1 RNA level with risk of clinical progression in patients with advanced infection. *J Infect Dis.* (174), 704-712.
- Donovan RM, Bush CE, Markowitz NP, Baxa DM and Saravolatz LD., 1996. Changes in virus load markers during AIDS-associated opportunistic diseases in human immunodeficiency virus-infected persons. *J Infect Dis.* (174), 401-403.
- Fahey JL, Taylor JMG, Detels R, Hofmann B, Melmed R, Nishanian P et al., 1990. The prognostic value of cellular and serologic markers in infection with human immunodeficiency virus type 1. *N Engl J Med.* (322), 166-172.
- Fowke KR, D'Amico R, Chernoff DN, Pottage JC, Benson CA, Sha BE et al., 1997. Immunologic and virologic evaluation after influenza vaccination of HIV-1-infected patients. *AIDS.* (11), 1013-1021.
- Fuchs D, Shearer GM, Boswell RN, Lucey DR, Cherici M, Reibnegger G et al., 1991. Negative correlation between blood cell counts and serum neopterin concentration in patients with HIV-1 infection. *AIDS.* (5), 209-212.
- Galetto-Lacour A, Yerly S, Perneger TV, Baumberger C, Hirschel B, Perrin L et al., 1996. Prognostic value of viremia in patients with long-standing human immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis.* (173), 1388-1393.
- Hammer SM, Katzenstein DA, Hughes MD, Gundacker H, Schooley RT, Haubrich AH et al., 1996. A trial comparing nucleoside monotherapy with combination therapy in HIV-infected adults with CD4 cell counts from 200 to 500 per cubic millimeter. *N Eng J Med.* (335), 1081-1090.

- Ho DD, Moudgil T and Alam M., 1989. Quantitation of human immunodeficiency virus type 1 in the blood of infected persons. *N Engl J Med.* (321), 1621-1625.
- Holodniy M, Katzenstein DA, Sengupta S, Wang AM, Casipit C, Schwartz DH et al., 1991. Detection and quantification of human immunodeficiency virus RNA in patient serum by use of polimerase chain reaction. *J Infect Dis.* (163), 862-866.
- Hughes MD, Johnson VA, Hirsch MS, Bremer JW, Elbeik T, Erice A et al., 1997. Monitoring plasma HIV-1 RNA levels in addition to CD4+ lymphocyte count improves assessment of antiretroviral therapeutic response. *Ann Intern Med.* (126), 929-938.
- Katzenstein DA, Hammer SM, Hughes MD, Gundacker H, Brooks Jackson J, Fiscus S et al., 1996. The relation of virologic and immunologic markers to clinical outcomes after nucleoside therapy in HIV-infected adults with 200 to 500 CD4 cells per cubic millimeter. *N Eng J Med.* (335), 1091-1098.
- Lifson AR, Hessel NA, Buchbinder SP, O'Malley PM, Barnhart L, Segal M et al., 1992. Serum beta-2 microglobulin and prediction of progression to AIDS in HIV infection. *Lancet.* (339), 1436-1440.
- Manoff SB, Farzadegan H, Muñoz A, Astemborski JA, Vlahov D, Rizzo RT et al., 1996. The effect of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection on human immunodeficiency virus (HIV) disease progression and HIV RNA load among injecting drug users. *J Infect Dis.* (174), 299-308.
- McDonnell KB, Chmiel JS, Poggensee L, Wn S and Phair JP., 1990. Predicting progression to AIDS: Combined usefulness of CD4 lymphocyte counts and p24 antigenemia. *Am J Med.* (89), 706-712.
- Meduri GU and Stein DS., 1992. Pulmonary manifestations of acquired immunodeficiency syndrome. *Clin Infect Dis.* (14), 98-113.
- Mellors JW, Kingsley LA, Rinaldo CR, Todd JA, Hoo BS, Kokka RP et al., 1995. Quantitation of HIV-1 RNA in plasma predicts outcome after seroconversion. *Ann Intern Med.* (122), 573-579.
- Mellors JW, Rinaldo Jr. CR, Gupta P, White RM, Todd JA and Kingsley LA., 1996. Prognosis in HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma. *Science.* (272), 1167-1170.
- Mellors JW, Muñoz A, Giorgi JV, Margolick JB, Tassoni CJ, Gupta P et al., 1997. Plasma viral load and CD4+ lymphocytes as prognostic markers of HIV-1 infection. *Ann Intern Med.* (126), 946-954.
- Mole L, Ripich S, Margolis D and Holodniy M. 1995. Plasma HIV RNA levels are increased during active Herpes simplex virus infection (Abstract). In: Program and Abstracts of the 2nd National Conference on Human Retroviruses and Related Infections, Washington D.C., January 29–February 2., 1995. Alexandria, VA: *Infectious Diseases Society of America*: A239.
- Mole L, Ripich S, Margolis D and Holodniy M., 1997. The impact of active herpes simplex virus infection on human immunodeficiency virus load. *J Infect Dis.* (176), 766-770.
- Nelson M, Whalen C, Johnson J, Nsubuga P, Hom D, Mugerwa R et al., 1996. HIV-1 viral load dynamic in a longitudinal study of HIV-1 infected patients with and without active pulmonary tuberculosis (Abstract). In: *XI International Conference on AIDS*. Vancouver. July 7-12. We.B. 414.

- O'Brien WA, Grovit-Ferbas K, Namazi A, Ovcak-Derzic S, Wang H-J, Park J et al., 1995. Human Immunodeficiency virus-type 1 replication can be increased in peripheral blood of seropositive patients after influenza vaccination. *Blood*. (86), 1082-1089.
- O'Brien TR, Blattner WA, Waters D, Eyster E, Hilgartner MW, Cohen AR et al., 1996. Serum HIV-1 RNA levels and time to development of AIDS in the Multicenter Hemophilia Cohort Study. *JAMA*. (276), 105-110.
- O'Brien WA, Hartigan PM, Martin D, Esinhart J, Hill A, Benoit S et al., 1996. Changes in plasma HIV-1 RNA and CD4+ lymphocyte counts and the risk of progression to AIDS. *N Engl J Med*. (334), 426-431.
- Pan LZ, Werner A and Levy JA., 1993. Detection of plasma viremia in human immunodeficiency virus-infected individuals at all clinical stages. *J Clin Microbiol*. (31), 283-288.
- Phillips AN, Lee CA, Elford J, Janossy G, Timms A, Bofill M et al., 1991. Serial CD4 lymphocyte counts and development of AIDS. *Lancet*. (337), 389-392.
- Preiser W, Cacopardo B, Nigro L, Braner J, Nunnari A, Doerr HW et al., 1996. Immunological findings in HIV-Leishmania coinfection. *Intervirol*. (39), 285-288.
- Reverts H, Marissens D, De Wit S, Lacor P, Clumeck N, Lauwers S et al., 1996. Comparative evaluation of NASBA HIV-1 RNA QT, AMPLICOR-HIV Monitor, and QUANTIPLEX HIV RNA Assay, three methods for quantification of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma. *J Clin Microbiol*. (34), 1058-1064.
- Revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *MMWR* 1992; 41: RR-17.
- Saag MS, Holodny M, Kuritzkes DR, O'Brien WA, Coombs R., 1996. Poscher ME et al. HIV viral load markers in clinical practice. *Nat Med*. (2), 625-629.
- Schacker T, Shaughnessy M, Barnum G and Corey L., 1995. Reactivation of HSV-2 in HIV infected persons is associated with increased levels of plasma HIV RNA (Abstract). In: Program and Abstracts of the 35th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Washington, D.C.: *American Society for Microbiology* : I235.
- Schuurman R, Descamps D, Jan Weverling G, Kaye S, Tijnagel J, Williams I et al., 1996. Multicenter comparison of three commercial methods for quantification of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma. *J Clin Microbiol*. (34), 3016-3022.
- Stanley SK, Ostrowski MA, Justement JS, Gantt K, Hedayati S, Mannix M et al., 1996. Effect of immunization with a common recall antigen on viral expression in patients infected with human immunodeficiency virus type 1. *N Engl J Med*. (334), 1222-1230.
- Staprans SI and Feinberg MB., 1995. Natural history and immunopathogenesis of HIV-1 disease. In: The medical management of AIDS. *Sande ME and Volberding PA, eds. W. B. Saunders Company, Philadelphia*. 38-64.
- Staprans SI, Hamilton BL, Follansbee SE, Elbeik T, Barbosa P, Grant RM et al., 1995. Activation of virus replication after vaccination of HIV-1-infected individuals. *J Exp Med*. (182), 1727-1737.

- The pulmonary complications of HIV infection study group., 1993. Design of a prospective study of the pulmonary complications of human immunodeficiency virus infection. *J Clin Epidemiol.* (46), 497-507.
- Wallace JM, Rao AV, Glassroth J, Hansen NI, Rosen MJ, Arakaki C et al., 1993. Respiratory illness in persons with human immunodeficiency virus infection. *Am Rev Respir Dis.* (148), 1523-1529.
- Wallace JM, Hansen NI, Lavange L, Glassroth J, Browdy BL, Rosen MJ et al., 1997. Respiratory disease trends in the pulmonary complications of HIV infection study cohort. *Am J Respir Crit Care Med.* (155), 72-80.
- Van Kerckhoven I, Franssen K, Peeters M, De Beenhouwer H, Piot P and Van der Groen., 1994. Quantification of human immunodeficiency virus in plasma by RNA PCR, viral culture, and p24 antigen detection. *J Clin Microbiol.* (32), 1669-1673.
- Vlahov D, Graham N, Hoover D, Flynn C, Bartlett JG, Margolick JB et al., 1998. Prognostic indicators for AIDS and infectious disease death in HIV-infected injection drug users. Plasma viral load and CD4 + cell count. *JAMA.* (279), 35-40.
- Welles SL, Jackson JB, Yen-Lieberman B, Demeter L, Japour AJ, Smeaton LM et al., 1996. Prognostic value of plasma human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) RNA levels in patients with advanced HIV-1 disease and with little or no prior zidovudine therapy. *J Infect Dis.* (174), 696-703.