

# Variabilidad genética del VIH-1 en Cuba y sus implicaciones para la transmisión y la progresión clínica

Madeline Blanco, Liuber Y. Machado, Héctor Díaz, Nancy Ruiz, Dania Romay, Eladio Silva

## RESUMEN

**Introducción** Los estudios serológicos y moleculares del VIH-1 en Cuba han mostrado muy baja prevalencia de seropositividad, pero una diversidad genética creciente, atribuible a la introducción de muchas variantes del virus procedentes de diferentes áreas, al intercambio de tales variantes entre personas VIH-1 positivas con varias rutas coincidentes de infección y otros factores de riesgo epidemiológicos en la población seropositiva. La alta variabilidad genética del VIH-1 observada en Cuba tiene implicaciones posibles para la transmisión y la progresión clínica.

**Objetivo** Estudiar la variabilidad genética para los genes estructurales *env*, *gag* y *pol* del VIH-1 en Cuba; determinar la prevalencia de los subtipos B y no B según las variables epidemiológicas y de comportamiento y determinar si existe una relación entre la variabilidad genética y la transmisibilidad, y entre la variabilidad genética y la progresión clínica de la enfermedad en personas que viven con VIH/SIDA.

**Métodos** Mediante el uso de dos ensayos moleculares (ensayo de movilidad heterodúplex y secuenciación de ácidos nucleicos), se caracterizaron los genes estructurales en 590 personas con VIH-1 (480 hombres y 110 mujeres), que representa el 3.4% de los individuos seropositivos existentes en Cuba el 31 de diciembre de 2013. Se condujo un muestreo no aleatorizado, proporcional a la prevalencia del VIH-1 en cada provincia. Las relaciones entre los resultados

moleculares y los factores virales, las características de los hospederos, y las variables clínicas, epidemiológicas y de comportamiento de los pacientes se estudiaron en relación con la epidemiología molecular, la transmisión y el análisis de la progresión.

**Resultados** A partir del análisis molecular de los tres genes estructurales del VIH-1 se clasificaron 297 muestras como pertenecientes al subtipo B (50.3%), 269 como subtipos no B (45.6%) y 24 fueron no tipables. El subtipo B prevaleció en general, y en los hombres en aquellos que tienen sexo con hombres. Los subtipos no B prevalecieron en mujeres y en hombres heterosexuales, y mostraron múltiples variantes circulantes y formas recombinantes. La transmisión sexual fue la forma predominante de infección para todos, a lo largo de Cuba se encontraron los subtipos B y no B. No se encontró asociación entre los subtipos y la transmisión o la progresión clínica, aunque la proporción de muertes fue superior para el subtipo B. Entre los fallecidos durante el período del estudio, no existieron diferencias entre los subtipos en el tiempo promedio transcurrido entre el diagnóstico del VIH o el diagnóstico de sida y el fallecimiento.

**Conclusiones** Nuestros resultados sugieren que los subtipos B y no B de VIH-1 encontrados en Cuba no difieren en cuanto a transmisibilidad y progresión clínica de la enfermedad.

**Palabras clave** VIH-1, sida, epidemiología molecular, transmisibilidad, progresión clínica, subtipos, formas recombinantes circulantes, patogénesis, Cuba

## INTRODUCCIÓN

Desde la descripción en 1984 de la primera persona infectada con el virus de la inmunodeficiencia humana tipo uno (VIH-1), la pandemia ha afectado a más de 150 países. En el 2013, la UNAIDS reportó 34.2 millones de personas que viven con VIH en el mundo.[1]

Los esfuerzos substanciales realizados durante las tres décadas pasadas para desarrollar una vacuna efectiva contra el VIH no han dado resultados aún, y las dificultades científicas, sociales y éticas siguen siendo retos mayores para los investigadores médicos. Sin embargo, el tratamiento combinado con 4 familias de antirretrovirales –que inhiben la replicación del VIH mediante la acción sobre diferentes dianas de su mecanismo– ha permitido que la infección por VIH se convierta en una enfermedad crónica con una calidad de vida aceptable.[2]

El VIH, un lentivirus que pertenece a la familia *Retroviridae*, es un retrovirus complejo que difiere de otros virus por su extraordinaria variabilidad, expresada en grupos, subtipos, sub-subtipos, formas recombinantes circulantes (FRC) y formas recombinantes únicas (FRU). A pesar de su gran variabilidad, el análisis filogenético de numerosos aislamientos de VIH procedentes de diversos orígenes geográficos ha permitido su clasificación en cuatro grupos filogenéticos diferentes: M, O, N y P. El grupo M incluye la mayoría de las variantes responsables de la pandemia global: los subtipos A, B, C, D, F, G, H, J y K y los subtipos A1, A2,

A3, A4, A5, F1 y F2. Hasta el presente, se han descrito 61 FRCs, así como múltiples FRUs.[3]

La diversidad del VIH es el resultado combinado de varias fuerzas que actúan por separado: a) la frecuente introducción de mutaciones por la reverso transcriptasa (debido a errores y a la falta de acciones correctivas); b) la alta velocidad de replicación o la alta velocidad de recambio in vivo; c) la presión selectiva ejercida por la respuesta inmune; d) la presión terapéutica y e) la recombinación genética como parte del mecanismo de replicación del retrovirus.[4,5]

La diversidad genética del VIH debe ser estudiada no sólo para discernir su origen y comprender su epidemiología molecular, sino también para monitorear la aparición de nuevas variantes que puedan ser más transmisibles o patogénicas, así como por sus implicaciones para el diagnóstico molecular y serológico en el laboratorio, los cambios en los patrones de resistencia a los medicamentos antirretrovirales, y el desarrollo de una vacuna efectiva.[5]

La pronta caracterización genética del VIH-1 en Cuba demostró la circulación de varias variantes virales: los subtipos A, B, C, D, F, G y H del grupo M. Subsecuentemente, se ha observado un incremento gradual en la diversidad, con la aparición de nuevos subtipos y formas recombinantes causada por una mezcla de los subtipos que contribuyeron originalmente a la epidemia en Cuba.[6-14]

## Artículo original

En 1997, Kanki demostró la presencia de FRCs en muestras procedentes de los bancos de suero colectados en la década de 1980 (cuando los hallazgos moleculares sólo consideraban subtipos puros).[15] Este resultado sugiere que la recombinación no es un fenómeno reciente, sino que se remonta a la década de 1980, cuando la tecnología de secuenciación de ácidos nucleicos para los estudios genómicos completos aún no estaba disponible. No fue sino hasta finales de la década de 1990 que se reportó la circulación de múltiples subtipos y de sus recombinaciones.[2,5]

Esto mismo pudo haber ocurrido en Cuba, y la diversidad ciertamente ha aumentado. Los primeros estudios tuvieron por objetivo el gen *envelope* (*env*), por ser el más importante para la respuesta inmune y para los estudios hacia la obtención de vacunas; subsecuentemente, se estudiaron los genes *gag* y *pol*, este estudio reveló la circulación de otros subtipos y FRCs. No fue sino hasta el 2001 que comenzó en Cuba la discusión sobre la presencia de HIV mosaicos.[9] Las investigaciones posteriores mostraron varias formas complejas y un aumento de FRCs en la población seropositiva.[10-14]

Mientras que a nivel mundial ha crecido el interés en la asociación entre la variabilidad genética del VIH-1 con la transmisibilidad y la progresión clínica de la enfermedad; pocos estudios han comparado exitosamente los subtipos debido a que la información clínica y epidemiológica necesaria sobre los pacientes y sus contactos no está disponible fácilmente. Factores tales como el estigma y la discriminación pueden introducir sesgos en la información disponible; los pacientes, por ejemplo, pueden ser reticentes a reportar múltiples compañeros sexuales lo que dificulta la trazabilidad de los contactos para el monitoreo epidemiológico.[5,6]

Los estudios serológicos y moleculares en Cuba muestran una baja prevalencia de seropositividad, pero indican una creciente variabilidad genética con implicaciones epidemiológicas.[6-14] Nuestros objetivos, por lo tanto, fueron estudiar la variabilidad genética de los genes estructurales *env*, *pol* y *gag* en Cuba; determinar la prevalencia de los subtipos B y no B de acuerdo con las variables epidemiológicas y de comportamiento; y establecer si existen relaciones entre la variabilidad genética y la transmisión y entre esta variabilidad y la progresión clínica de la enfermedad en las personas que viven con VIH/SIDA en Cuba.

### MÉTODO

**Diseño y población** Este es un estudio descriptivo, con un universo formado por 17 625 personas seropositivas al VIH-1 en Cuba entre enero 1, 2008 y diciembre 31, 2012. La población de estudio comprendió 590 personas (480 hombres y 110 mujeres) en edades entre 14 y 70 años, esta población representa el 3.3% de todos los individuos seropositivos en Cuba. La selección se realizó mediante muestreo no aleatorio, proporcional a la prevalencia de VIH por provincia, se incluyeron muestras que cumplieron los criterios de inclusión hasta que la cuota asignada se satis-

fizo. La Tabla 1 muestra el universo y la población de estudio por provincia y los totales.[1,16]

**Criterios de inclusión** Se eligieron los individuos seropositivos al VIH-1 con infección confirmada por métodos serológicos, de ambos sexos, de cada una de las quince provincias de Cuba y del municipio especial Isla de la Juventud, que voluntariamente aceptaron participar y suministrar la información epidemiológica necesaria.

**Ética** Los procedimientos se efectuaron de acuerdo con los estándares éticos del Ministerio de Salud Pública (MINSAP) y el Ministerio de Ciencia Tecnología y Medio Ambiente, de acuerdo con los principios de la declaración de Helsinki. El protocolo de estudio fue aprobado por el comité de ética del Laboratorio Nacional de Referencia de Sida (LNR) del Programa Nacional ITS-VIH/SIDA. En el momento de la toma de muestras para el estudio molecular, cada paciente suministró su consentimiento informado por escrito y llenó un cuestionario epidemiológico. Los procedimientos para el manejo de la información sobre los pacientes aseguraron la confidencialidad de las identidades de los participantes.

**Toma de muestras y extracción de ácidos nucleicos** Se realizó la extracción de 10 ml de sangre periférica mediante venopunción con anticoagulante (EDTA 0.2 mmol/L, pH 7.2). Las muestras se procesaron en las 24 horas siguientes a la extracción. Para obtener el material genético se utilizaron dos procedimientos: el primer método, para obtener ADN mediante gradiente de Ficoll (GE Healthcare, Suecia), extracción con fenol-cloroformo-alcohol isoamílico (Sigma-Aldrich, EE.UU.) y precipitación en alcohol absoluto (Merck KGaA Alemania);[17,18] el segundo procedimiento para obtener ADN o ARN utilizó el *High Viral Nucleic Acid Kit* (Roche Diagnostics, GmbH, Alemania) según las instrucciones del productor. El primer procedimiento se utilizó para todas las muestras caracterizadas por el ensayo de movili-

Tabla 1: Distribución del universo y de la población estudiada por provincia

Provincia	Universo de PVS*	% de universo por provincia	PVS estudiadas	% PVS estudiado por provincia	% del universo estudiado
Pinar del Río	507	2.9	21	3.6	4.1
Mayabeque	510	2.9	18	3.1	3.5
Artemisa	430	2.4	15	2.5	3.5
La Habana	9318	52.8	392	66.4	4.2
Matanzas	519	2.9	31	5.3	6.0
Villa Clara	1110	6.3	42	7.1	3.8
Cienfuegos	434	2.5	7	1.2	1.6
Sancti Spíritus	398	2.3	8	1.4	2.0
Ciego de Ávila	425	2.4	7	1.2	1.6
Camagüey	691	3.9	7	1.2	1.0
Las Tunas	392	2.2	3	0.5	0.8
Holguín	758	4.2	11	1.9	1.5
Granma	749	4.3	6	1.0	0.8
Santiago de Cuba	931	5.3	11	1.9	1.2
Guantánamo	296	1.7	6	1.0	2.0
Isla de la Juventud	157	0.9	5	0.8	3.2
Total, Cuba	17625	100.0	590	100.0	3.3

Fuente: Laboratorio Nacional de Referencia/Programa Nacional ITS-VIH-SIDA

\* PVS: Personas con VIH-SIDA

dad heterodúplex *env/gag*, y el segundo, para todas las muestras caracterizadas mediante secuenciación automática de ácidos nucleicos de los genes *env/pol*.

**Estudios moleculares** Se emplearon dos métodos para el genotipaje molecular. Desde el 2008 hasta el 2010, el ensayo de movilidad heterodúplex (HMA, por sus siglas en inglés) se utilizó para los genes *env* y *gag* utilizando el kit de subtipaje HMA (NIH AIDS Research and Reference Reagent Program, EE.UU.).[19, 20] El ADN proviral se amplificó mediante PCR anidado para los genes *gag* y *env*. Para el gen de la envoltura, se utilizaron los cebadores ED5/ED12 y ES7/ES8 o ED31/ED33. Estos cebadores reconocen un fragmento del gen *env* que codifica la región V1-V5 de gp120.[20] Para el gen *gag* se utilizaron los cebadores H1G777/H1P202 y H1Gag1584/g17. Estos cebadores reconocen un fragmento del gen *gag*. [21] Los heterodúplex se formaron entre las muestras y los estándares de referencia. El reconocimiento de dos fragmentos de ADN generó formaciones heterodúplex que fueron analizadas por electroforesis en gel de poliacrilamida. Las movi­lidades relativas en el gel reflejaron su homología.[20-21] Se determinó la distancia genética entre secuencias y subtipos para los genes *env/gag*.

En el 2011 y en el 2012 se utilizó la secuenciación automática de ácidos nucleicos de los genes *env* y *pol*, de acuerdo con los procedimientos descritos por Thompson[22] y por Quarleri.[23]

La carga viral plasmática se determinó en cada muestra para definir el número de copias de ARN/mL de plasma, como criterio para la amplificación del material genético. Se utilizó el test COBAS AmpliPrep/COBAS TaqManHIV-1 (Roche Diagnostics, GmbH, Alemania), según las especificaciones de los fabricantes. Para el gen *env* (fragmento C2-V3-C3), el ADN proviral se amplificó mediante PCR anidada con el uso de los cebadores externos ED5/ED12 y de los cebadores internos ED31/ED33. [20] Para el gen *pol*, se utilizaron cebadores para fragmentos de proteasa y de reverso transcriptasa; el par RT3.1/5'CP como cebadores externos y tres conjuntos (1F/6B, A35/NE1 y RT3208F/RT3798R) como cebadores internos.[23] El producto purificado obtenido por PCR se secuenció directamente con el Quick Start Kit (Beckman Coulter, EE.UU.) según las instrucciones del fabricante, en un secuenciador automático CEQ 8800 (Beckman Coulter, EE.UU.).

**Análisis filogenético** Las secuencias resultantes de los genes *pol* y *env* se ensamblaron y se editaron usando el programa Sequencher 4.0.5 (Gene Codes Corp, EE.UU.). El alineamiento de secuencias múltiples se efectuó con el programa Muscle (MEGA6.0, EE.UU.). Para comparar los resultados con las secuencias de referencia de cada uno de los subtipos contenidas en las bases de datos del Laboratorio Nacional Los Álamos, se aplicó un BLAST (*Basic Local Alignment Sequence Tool*, una herramienta para la alineación local básica).[24] El análisis filogenético se efectuó con la versión 6.0 del programa MEGA.[25] El árbol filogenético se construyó mediante el método de similitud según vecinos cercanos (*neighbor joining methods*), y la distancia genética se calculó según los dos parámetros de Kimura.[26] Los valores de *boot strapping* se calcularon sobre la base de 1 000 réplicas. El análisis de los intersubtipos recombinantes y los puntos calientes de recombinación se efectuó mediante *boot scanning*, con el programa SimPlot versión 3.5.1.[26]

**Variab­les** Las principales variables fueron el subtipo (A, B, C, D, F, G, H, J y K), el sub-subtipo (A1, A2, A3, A4, A5, F1 y F2), FRC y FRU.[24]

Se analizó la distribución de las variables secundarias de acuerdo con el sexo, la preferencia sexual (hombres que tienen sexo con hombres: HSH; heterosexual: HT), lugar donde se infectó y lugar de residencia (Cuba, provincia, región). Los siguientes datos se analizaron según el subtipo (B, no B): transmisión de la enfermedad, progresión clínica (tiempo medio de sobrevida en años y tiempo promedio libre de sida en años, evaluados mediante conteo de CD4 y de carga viral plasmática, según datos provenientes de SIDATRAT, Instituto de Medicina Tropical Pedro Kouri).[27]

Para el análisis molecular epidemiológico, se consideraron los datos correspondientes al genotipaje y a la identificación clínico-epidemiológica de los pacientes: año del diagnóstico, edad, sexo (hombre, mujer), subtipo de gen *env*, subtipo de gen *gag*, subtipo de gen *pol*, muerte por sida, provincia, fecha y lugar probable de infección, fecha de diagnóstico, fecha en que fue clasificado como sida, fecha de muerte, y orientación sexual (HT, HSH). Los datos se tomaron de la base de datos PACIENTE del Programa Nacional de Epidemiología (PNE) del MINSAP.

El análisis de la distribución geográfica se efectuó a nivel nacional, provincial y regional. Las provincias se agruparon en tres regiones: Occidente (Pinar del Río, Mayabeque, Artemisa, La Habana, Matanzas e Isla de la Juventud), Centro (Villa Clara, Cienfuegos, Sancti Spiritus, Ciego de Ávila, y Camagüey) y Oriente (Las Tunas, Holguín, Granma, Santiago de Cuba y Guantánamo).

Para asociar la variabilidad con la transmisibilidad de los subtipos B y no B, se analizaron tres variables: contactos reportados, contactos estudiados y contactos positivos (datos obtenidos de la base de datos CONTACTOS, PNE/MINSAP).

Para asociar la progresión clínica de la enfermedad en los subtipos B y no B, se estudiaron cuatro lapsos de tiempo (en años): de la probable fecha de infección (PFI) a la fecha en que el paciente fue diagnosticado con sida (FxsIDA); de la fecha del diagnóstico de VIH (FxBVIH) a FxsIDA; de PFI o FxBVIH a la fecha de muerte; y de FxsIDA a la fecha de muerte (datos obtenidos de la base de datos PACIENTE, PNE/MINSAP).

También se tomaron en consideración las variables de la base de datos que complementan el análisis de la progresión clínica de la enfermedad: concretamente, personas que desarrollaron la enfermedad (sida), personas que murieron, personas vivas, clasificación de los pacientes en progresores rápidos (PR), progresores típicos (PT), y progresores lentos (PL). El conteo de células CD4+ en porcentaje y valor absoluto, se utilizó para clasificar los pacientes como PR, cuando el conteo de células CD4+ fue <300 entre 1 y 3 años; PT, de 4 a 9 años y PL, ≥10 años. Otra variable analizada fue la carga viral (CV), para la que se tomaron como valores de línea base ≥1 000 ARN copias/mL o 3.0 log en plasma entre 1 y 3 años, 4 y 9 años y ≥10 años, respectivamente. [28] (datos obtenidos de SIDATRAT).[27]

En el grupo de pacientes clasificados como PR, fue necesario considerar si participaban otras condiciones epidemiológicas o de comportamiento que favorecieran la transmisión y la progresión clínica de la enfermedad. Las condiciones estudiadas

## Artículo original

fueron >5 compañeros sexuales reportados en el curso de la vida, el uso intravenoso de drogas, relaciones sexuales en curso con parejas o contactos seropositivos, edad >40 años al momento de la infección primaria (base de datos PACIENTE, PNE/MINSAP).

**Análisis** Para comparar medias y proporciones, se utilizaron métodos paramétricos y métodos no paramétricos y los estadígrafos Z y chi cuadrado respectivamente. Se confeccionaron tablas actuariales para el análisis de la progresión clínica y sobrevida mediante el análisis de Kaplan-Meier y el test de *log rank*. Para el procesamiento de datos se utilizó el programa Statistica 8.0 (StatSoft, EE.UU.) y para el análisis epidemiológico de los datos tabulados, el programa EPIDAT 3.1 (España).[16,29] El nivel de significación estadística de todos los ensayos fue  $p \leq 0.05$ . Los subtipos B y no B se compararon para cada una de las variables secundarias descritas anteriormente.

### RESULTADOS

De las 17 625 personas seropositivas al VIH-1 en el período de estudio, se estudiaron aislamientos procedentes de 590. De ellos, 566 (96%) pudieron ser tipados para dos o tres genes estructurales *env/gag* o *env/pol*, mediante uno de los métodos utilizados para la caracterización: 297 (50.3%) del subtipo B y 269 (45.5%) del subtipo no B; 24 (4.1%) no pudieron ser tipados (Tabla 2).

**Hallazgos moleculares y datos clínicos epidemiológicos** La relación entre los subtipos B y no B y la orientación sexual fue la siguiente: el subtipo B fue más frecuente en hombres (252/456; 55.3%) que en mujeres (45/110; 40.9%), una diferencia altamente significativa ( $p < 0.001$ ). De forma similar, el análisis de la orientación sexual encontró el subtipo B como más frecuente en HSH (232/401; 57.9%) que en HT (65/165; 39.4%), una asociación altamente significativa ( $p < 0.001$ ).

Las personas estudiadas se infectaron con VIH-1 en doce países; la mayoría en Cuba (subtipo B: 277; 93.3% y subtipo no B: 249; 92.6%). Las infecciones ocurrieron en 6 países africanos (República del Congo, Etiopía, Suráfrica, Zambia, Guinea, Angola) y Estados Unidos, Canadá, España, Costa Rica y Brasil. Cinco personas, todos marineros, no reportaron el lugar de la infección.

Los subtipos observados en el estudio e introducidos en Cuba fueron: A, B, C, D, F, G, H, ADK, A/AG, FRC02 y FRC18. La distribución de los subtipos B y no B en Cuba se muestra en la Tabla 3. Ambos subtipos, B y no B, se encontraron en todo el país. Se hallaron algunas diferencias en las proporciones de los subtipos B y no B entre las provincias, pero no existieron diferencias significativas por regiones (Tabla 3).

El análisis de la transmisión de los subtipos B y no B aparece en la Tabla 4. Las personas con subtipo B reportaron un mayor número de contactos, de ellos, el 75.2% pudo ser estudiado para confirmar el diagnóstico serológico de VIH-1. De las

personas con subtipos no B, fue posible estudiar el 90.5% de los contactos reportados. No existió diferencia significativa entre los subtipos B y no B en cuanto al cociente entre contactos positivos y contactos estudiados ( $p = 0.269$ ). Se realizó un análisis similar para los subtipos no B y los FRCs encontrados con mayor frecuencia en la muestra estudiada; nuevamente, no se encontró diferencia significativa.

**Tabla 2: Subtipos y formas recombinantes de los genes *env/gag/pol* del VIH-1 (n=590)**

Subtipos y formas recombinantes <i>env/gag env/pol</i>	n	%
B	297	50.3
No B	269	45.6
C	35	5.9
A	37	6.3
G	38	6.4
D	20	3.4
H	6	1.0
A/D	29	4.9
FRC19_cpx	23	3.9
FRC 20, 23, 24 B/G	12	2.0
FRC18_cpx	10	1.7
B/D	10	1.7
FRC01AE	2	0.3
FRC02 AG	8	1.4
FRU	39	6.6 (0.2–1.2)
(A/B-4, A/G-2, A/AG-5, C/D-2, A/AE-3, C/G-1, U/H-7, D/H-1, U/B-1, U/E-1, GD/A-1, BD/A-1, DB/B-1, D/UD/H-1, BU/B-1, UB/B-1, GD/H-1, GBGB/G-2, UK/A-3)		
No tipable	24	4.1
Total	590	100.0

FRC: formas recombinantes circulantes FRU: formas recombinantes únicas

**Tabla 3: Distribución de los subtipos B y no B de VIH-1 por provincia y por región**

Provincia (n)	Subtipo B		Subtipos no B		Región
	Provincial n	Regional n (%)	Provincial n	Regional n (%)	
Pinar del Río	21	14	7		
Mayabeque	18 <sup>a</sup>	8	9		
Artemisa	15	8	7		
La Habana	392 <sup>a</sup>	196	174	211 (78.4)	Occidente
Matanzas	31	19	12		
Isla de la Juventud	5	3	2		
Villa Clara	42	16	26		
Cienfuegos	7	4	3		
Sancti Spíritus	8	1	7	41 (15.2)	Centro
Ciego de Ávila	7	5	2		
Camagüey	7	4	3		
Las Tunas	3	1	2		
Holguín	11	6	5		
Granma	6 <sup>a</sup>	2	3	17 (6.3)	Oriente
Santiago de Cuba	11	8	3		
Guantánamo	6	2	4		
Total	590 <sup>a</sup>	297	269		$p = 0.173^b$

<sup>a</sup>24 no tipables: 1 en Mayabeque, 22 en La Habana, 1 en Granma <sup>b</sup>chi cuadrado

**Tabla 4: Transmisión de subtipos B y no B, seguimiento de contactos (n = 566)**

Subtipo	Casos	Contactos reportados	Contactos estudiados	Contactos positivos	% positivos entre contactos estudiados
Subtipo B	297	1533	1153 (75.2%)	394	34.2
Subtipos no B	269	1416	1282 (90.5%)	410	32.0
p = 0.269 (estadígrafo z)					
<b>Subtipo no B</b>					
A	37	219	161	55	34.2
C	35	158	100	35	35.0
G	38	244	188	71	37.8
D	20	96	83	32	38.6
A/D	29	145	113	44	38.9
p = 0.976*					

\*chi cuadrado

**Tabla 5: Progresión clínica (tiempo libre de sida) para los subtipos B y no B (n = 566)**

Comparación del tiempo promedio libre de sida en años						
Subtipo	Libre de sida		sida		Tiempo (años) PFI-FxSIDA Media (DE)	Tiempo (años) FxVIH-FxSIDA Media (DE)
	Total	%	Total	%		
B (n = 297)	116	39.1	181	60.9	6.09 (4.32)	3.95 (3.08)
No B (n = 269)	126	46.8	143	53.2	6.91 (4.66)	4.14 (3.42)
p = 0.062 <sup>a</sup>					p = 0.270 <sup>b</sup>	p = 0.450 <sup>b</sup>
Sobrevida (años)						
Subtipo	Vivos		Fallecidos por sida		Tiempo (años) FxVIH-muerte Media (DE)	Tiempo (años) FxSIDA-muerte Media (DE)
	Total	%	Total	%		
B (n = 297)	222	74.7	75	25.3	6.31 (4.72)	2.46 (2.31)
No B (n = 269)	235	87.4	34	12.6	8.08 (5.38)	3.36 (2.82)
p < 0.001 <sup>a</sup>					p = 0.064 <sup>b</sup>	p = 0.116 <sup>b</sup>

FxVIH: fecha del diagnóstico con VIH FxSIDA: fecha de clasificación con SIDA  
 PFI: probable fecha de infección <sup>a</sup>chi cuadrado  
<sup>b</sup>Análisis de supervivencia de Kaplan-Meier, test *log-rank*

**Tabla 6: Progresión clínica de los subtipos, mediante el conteo de las células CD4 y los niveles de carga viral plasmática (n = 566)**

Progresión a CD4 <300	Subtipo B		Subtipos no B		Valor p <sup>a</sup>
	Total	%	Total	%	
Progresor rápido	174	58.6	139	51.6	0.254
Progresor típico	91	30.6	97	36.1	
Progresor lento	32	10.8	33	12.3	
Total	297		269		
Tiempo en alcanzar carga viral >1000 copias/mL	Subtipo B		Subtipos no B		Valor p <sup>a</sup>
	Total	%	Total	%	
1-3 años	137	46.1	120	44.6	0.929
4-9 años	116	39.1	109	40.5	
≥10 años	44	14.8	40	14.9	
Total	297		269		

<sup>a</sup>chi cuadrado

La Tabla 5 muestra el análisis de la progresión clínica de la enfermedad para ambos subtipos, dependiendo de si la persona hubiera desarrollado sida o no en el momento del análisis. No hubo diferencias significativas entre ambos grupos. Para cada grupo se realizó otro análisis de la progresión de la enfermedad que consideró el tiempo transcurrido, en años, desde PFI hasta FxSIDA. La diferencia entre los dos grupos no fue significativa.

El mismo análisis también se efectuó para PFI hasta FxVIH: el tiempo promedio entre PFI y FxVIH para todos los pacientes incluidos en el estudio se estimó en 2.4 años. El análisis del tiempo en años desde FxVIH hasta FxSIDA dio resultados similares, con una diferencia no significativa de menos de un año entre las personas con subtipo B y las personas con subtipo no B.

En cuanto a la progresión de la enfermedad (Tabla 5), falleció una mayor proporción de personas infectadas con el subtipo B que con el subtipo no B (25.2% vs. 12.6%, respectivamente). Esta fue una diferencia significativa. En los tiempos de sobrevida entre las personas con subtipos B y no B no se encontró diferencia estadísticamente significativa. Con respecto al tiempo desde FxSIDA hasta la muerte, la esperanza de vida de las personas con el subtipo B fue un año más corta que la de las personas con los subtipos no B, pero la diferencia no fue estadísticamente significativa.

En lo que concierne a la velocidad de progresión, mediante el conteo de CD4, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los subtipos B y no B, ni se observaron diferencias entre ambos grupos cuando analizamos el tiempo transcurrido para alcanzar una carga viral >1 000 copias/mL (Tabla 6).

Cuando se analizaron las variables epidemiológicas y de comportamiento en el grupo de pacientes PR (174 con subtipo B y 139 no B), frecuentemente se observaron varios factores en el mismo paciente. No se encontraron diferencias significativas entre pacientes con subtipos B y no B con respecto a tener uno o más factores de riesgo, aunque se encontraron algunas diferencias para factores individuales (Tabla 7).

De estas variables, la que mostró la mayor diferencia fue tener un número de compañeros sexuales mayor que cinco. Estas diferencias fueron significativas para el subtipo B en comparación con el subtipo no B. En este estudio el subtipo B se asoció con el grupo de más alto riesgo, hombres con orientación sexual HSH. En muchos pacientes, la existencia de más de cinco compañeros sexuales coexistió con otros factores de riesgo, tales como el uso intravenoso de drogas, que estuvo presente en 21.4% (63/313), sin que existieran diferencias entre los subtipos (la prevalencia global del uso intravenoso de drogas en la muestra fue 13.4%; 79/590). La tendencia entre los pacientes con subtipo no B fue a tener relaciones estables con compañeros

## Artículo original

sexuales seropositivos, aunque la diferencia no alcanzó significación estadística (Tabla 7).

Todos los pacientes mayores de 40 años en el momento de la infección tuvieron una rápida progresión de la enfermedad; el 22.4% de los progresores rápidos con subtipo B y el 31.7% de los progresores rápidos con subtipo no B tenían más de 40 años en el momento de la infección; la diferencia entre los subtipos no fue estadísticamente significativa (Tabla 7).

**Tabla 7: Factores de riesgo en los progresores rápidos con subtipos B y no B (n = 313)**

Variables	Subtipo B n = 174	Subtipos no B n = 139	Valor p
	n (%)	n (%)	
Factor de riesgo $\geq 1$	133 (76.4)	98 (70.5)	0.290
Parejas sexuales >5	97 (55.7)	52 (37.4)	0.002
Uso de drogas intravenosas	40 (23.0)	27 (19.4)	0.532
Relaciones sexuales estables con seropositivos	26 (14.9)	32 (23.0)	0.093
Edad >40 años en el momento de infección primaria	39 (22.4)	44 (31.7)	0.087

## DISCUSIÓN

A la altura de diciembre de 2012, el Programa Nacional VIH/SIDA de Cuba había registrado 19 781 personas con un diagnóstico seropositivo de VIH-1 desde 1986. Aunque la baja prevalencia de la infección por VIH (0.2%) en Cuba ubica nuestra epidemia como una de las menores del mundo,[1] la epidemia muestra alta diversidad genética de subtipos FRCs y FRUs, ya que las condiciones favorables para la coinfección y la superinfección han conducido a la recombinación entre subtipos que se observa en nuestra historia epidemiológica y molecular.[6-14]

Mediante el uso de dos tecnologías de ácidos nucleicos, HMA *env/gag* y secuenciación de ácidos nucleicos de tres de los genes estructurales del VIH-1, este estudio corroboró lo antes mencionado y encontró predominantemente el subtipo B, pero también demostró que virtualmente todos los subtipos no B estaban en circulación, así como muchas variantes recombinantes correspondientes a subtipos reportados en estudios previos.

Estos resultados se relacionan con los orígenes de las variantes de VIH-1 introducidas en Cuba: la convivencia durante años de personas con VIH/SIDA en sanatorios, el hecho de que coincidieran varias rutas de infección y los factores de riesgo epidemiológico y de comportamiento en la población seropositiva —todos contribuyen a la alta variabilidad genética de VIH-1 observada en Cuba.[9,10]

El subtipo B se encontró con más frecuencia que cualquiera de los subtipos no B. En los inicios de la epidemia de VIH, el subtipo B —que prevalecía en los países de Europa del Este y en los Estados Unidos— era considerado el subtipo predominante globalmente, posiblemente debido a que la mayoría de los estudios moleculares se habían efectuado en esos países desarrollados.[30] Pero la distribución mundial de las variantes virales de VIH-1 ha cambiado. Hoy, el subtipo B se encuentra en solo el 10% de las nuevas infecciones de VIH globalmente; los subtipos no B y FRCs[31-35] dan cuenta del otro 90%. En Cuba, sin embargo, el subtipo B es responsable de la mayoría de las

infecciones en la población seropositiva, como se ha demostrado consistentemente desde los primeros estudios de caracterización molecular. Esto puede explicarse por el hecho de que el subtipo B tuvo su efecto fundador en HSH, la población en mayor riesgo epidemiológico y que constituye la mayoría en nuestra epidemia, aunque se ha observado un incremento gradual en los subtipos no B y FRCs en los años recientes.[12-14]

El sexo masculino predominó tanto en los grupos con el subtipo B como con el subtipo no B debido a que la epidemia de sida en Cuba ha ocurrido principalmente entre hombres (80%), y de ellos, 89% son HSH.[36] El subtipo B se asocia en Cuba con el sexo masculino y con HSH, mientras que los subtipos no B se asocian con mujeres y con la orientación heterosexual.

En los inicios de la epidemia en Cuba en la década de 1980, el subtipo B se estableció entre los hombres, principalmente HSH.[7] Los subtipos no B, por otra parte, tuvieron su efecto fundador entre personas heterosexuales. Las diferentes variantes virales se introdujeron en Cuba por personas (principalmente hombres heterosexuales) que adquirieron la infección en varios países africanos y que a su regreso, transmitieron la infección a sus parejas sexuales femeninas, lo que explica el predominio de la orientación sexual de tipo HT.[7,8] Las mujeres son más vulnerables a adquirir ambos subtipos, B y no B, debido a la alta proporción de hombres seropositivos con prácticas bisexuales.[1,27] Estas condiciones epidemiológicas aún describen nuestra epidemia después de 20 años, con predominio del subtipo B sobre los subtipos no B con sus múltiples formas recombinantes.

Nuestra investigación también profundizó en las características moleculares de la epidemia cubana, ya que el 93% de las muestras provinieron de personas infectadas en Cuba. Sin embargo, encontramos variantes introducidas desde varios países, lo que suministra evidencias de los subtipos introducidos en Cuba a partir de África, Europa y América del Norte y del Sur.[6-14]. Se observó también que ambos subtipos B y no B están distribuidos por todo el país.

El análisis de la transmisión demostró que los subtipos B y no B se han transmitido en iguales proporciones en la población seropositiva estudiada. De acuerdo con Zhang en 2007, la transmisión de VIH-1 puede depender de la forma genética o de la presencia de recombinación debido a cambios en las propiedades de los virus involucrados y en las características moleculares y genéticas de ambos virus. En este estudio, sin embargo, no se encontró asociación entre los subtipos genéticos y la transmisibilidad.[37] La transmisibilidad también puede depender de otros factores, como el nivel de carga viral en el plasma, ya que los niveles elevados de carga viral de VIH promueven una rápida progresión a sida y un incremento en la transmisibilidad a los contactos subsecuentes.[28] Jennes sugiere que algunos subtipos, como el subtipo C se transmiten más eficientemente por vía perinatal que los subtipos B, A y D.[33] Kouyos en 2010 observó que los subtipos no B (A, C, D) se habían adaptado a la transmisión heterosexual, mientras que el subtipo B mostraba una transmisión eficiente entre HSH y drogadictos por vía intravenosa.[32,38] Esos resultados son consistentes con el nuestro de que el subtipo B predomina en hombres y entre ellos, en HSH, y el subtipo no B predomina en mujeres con orientación heterosexual.


Aunque no hay datos publicados sobre la prevalencia del uso intravenoso de drogas en Cuba, la prevalencia general de 13.4% y entre los progresores rápidos de 21.4% que encontramos es, sin dudas, mucho mayor que en la población general.

El estudio de la progresión de la enfermedad entre los infectados con los subtipos B y no B no encontró diferencias, después de analizar el estado del sistema inmune (células CD4) en los pacientes clasificados como PR, TP y PL. Más aún, el nivel de ARN viral en plasma o carga viral, que refleja el grado de replicación del virus, no encontró diferencias relacionadas con el subtipo en cuanto a la progresión de la enfermedad. Estos parámetros están relacionados porque la disminución en el conteo de células CD4 está determinado por la elevación de la concentración de ARN viral en plasma.[28,34,39]

Los resultados del análisis de la progresión mostraron además una mayor proporción de muertes en los pacientes con el subtipo B. Aunque los intervalos de tiempo de la fecha probable de infección a la fecha de diagnóstico, de la fecha de diagnóstico a la fecha del desarrollo de sida y a la de muerte fueron más cortos en los pacientes con subtipo B, estas diferencias no alcanzaron una significación estadística. La proporción de pacientes que desarrollaron sida tampoco fue significativamente diferente entre los subtipos. Al mismo tiempo, el subtipo B mostró una asociación significativa con otros factores de riesgo como el pertenecer al sexo masculino, la orientación sexual de tipo HSH y el tener muchas parejas sexuales. Es posible que estos factores jugaran un papel en la mayor proporción de muertes entre los pacientes infectados con el subtipo B, ya que no hay evidencias que sugieran que el subtipo B sea más letal que otros subtipos. Este aspecto requiere más investigación, incluyendo un análisis estadístico multivariado.

Estas observaciones son consistentes con las reportadas por otros autores que sugieren que la transmisión de la enfermedad y su progresión dependen de muchos factores, tales como la susceptibilidad del hospedero (polimorfismo de los correceptores de quimocina),[40] la genética (los genotipos del sistema HLA), el sistema inmune (una respuesta inmune directa al VIH),[41] la edad del paciente en el momento de la seroconversión,[42] las coinfecciones con otras variantes de VIH o con otros agentes virales como los virus de la hepatitis B y C,[43,44] la variabilidad genética del VIH,[45,46] las características de la cepa viral (de lesiones en el gen *nef*),[40] y su habilidad para replicarse.[47] todas ellas pueden influir en la rapidez de la progresión del VIH. Es decir, tanto los factores genéticos como los virales (entre los que el subtipo viral es solo uno) pueden ser influyentes.

## CONCLUSIONES

Este estudio contribuyó a la comprensión de la epidemiología molecular del VIH en Cuba y suministró al Programa Nacional ITS/VIH/SIDA información sobre las variantes virales circulantes y su comportamiento en la población seropositiva, de importancia para el manejo de la epidemia que muestra gran variabilidad. El estudio también demostró la presencia de subtipos y formas recombinantes introducidas en Cuba procedentes de varios países en un elevado porcentaje de la población cubana seropositiva, así como la distribución a lo largo del país de los subtipos B y no B como las formas recombinantes. Los hallazgos sugieren que en Cuba los subtipos B y no B no difieren en cuanto a transmisibilidad; la cuestión de la progresión clínica de la enfermedad en cada subtipo amerita posteriores investigaciones. Aunque la prevalencia del VIH-1 en Cuba es baja, su gran diversidad genética crea un escenario complejo para el establecimiento de estrategias nacionales, la vigilancia a la resistencia a los medicamentos antirretrovirales y el uso de futuras vacunas. 

## REFERENCIAS

1. United Nations. UNAIDS Global Report, UNAIDS Report on the global AIDS Epidemic, 2013 [Internet]. New York: United Nations; 2013 [cited 2013 Jan 11]. Disponible en: [http://www.unaids.org/en/dataanalysis/knowyourresponse/countryprogressreports/2013countries/CUB\\_narrativeverport\\_2013](http://www.unaids.org/en/dataanalysis/knowyourresponse/countryprogressreports/2013countries/CUB_narrativeverport_2013)
2. Kijak GH, McCutchan FE. HIV diversity, molecular epidemiology and the role of recombination. *Curr Infect Dis.* 2005 Nov;7(6):480–8.
3. Plantier JC, Leoz M, Dickerson JE, De Oliveira F, Cordonnier F, Lemée V, et al. A new human immunodeficiency virus derived from gorillas. *Nat Med.* 2009 Aug;15(8):871–2.
4. Nájera R, Delgado E, Pérez L, Thomson M. El papel de la recombinación genética en el desarrollo de la pandemia del sida. *Investig Clín Farm.* 2005;2(1):9–22.
5. Requejo HI. Worldwide molecular epidemiology of HIV. *Rev Saude Publica.* 2006 Apr;40(2):331–45.
6. Díaz HM, Lubian AL, Blanco M, Rolo F, Martínez N, Nibot C. Transmissibility and disease progression in group of individuals infected with different HIV-1 subtypes in Cuba. *Proceedings of the 15th International AIDS Conference*; 2004 Jul 11–15; Bangkok, Thailand. Bangkok: MEDIMOND International S.r.l. Monduzzi editore; 2004. ISBN 88-7587-065-9.
7. Rolo FM, Miranda L, Wainberg MA, Gu Z, Lobaina L, Noa E, et al. Envelope V3 region sequences of Cuban HIV-1 isolates. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retroviro.* 1995 Jun 1;9(2):123–5.
8. Gómez CE, Iglesias E, Perdomo W, Rolo F, Blanco M, Lobaina L, et al. Isolates from four different HIV type 1 clades circulating in Cuba. Identified by DNA sequence of the C2–V3 region. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2001 Jan 1;17(1):55–8.
9. Cuevas MT, Ruibal I, Villahermosa ML, Díaz HM, Delgado E, Parga EV, et al. High HIV-1 genetic diversity in Cuba. *AIDS* 2002 Aug;16(12):1643–53.
10. Pérez L, Thomson M, Bleda MJ. HIV Type 1 Molecular Epidemiology in Cuba: High Genetic Diversity, Frequent Mosaicism, and Recent Expansion of BG Intersubtype Recombinant Forms. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2006; 22(8):724–33.
11. Resik S, Lemey P, Ping LH, Kouri V, Joanes J, Pérez J, et al. Limitations to contact tracing and phylogenetic analysis in establishing HIV type 1 transmission networks in Cuba. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2007 Mar;23(3):347–56.
12. Pérez L, Alvarez LP, Carmona R, Aragonés C, Delgado E, Thomson MM, et al. Genotypic resistance to antiretroviral drug in patients infected with several HIV type 1 genetic forms in Cuba. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2007 Mar;23(3):407–14.
13. Machado LY, Blanco M, Dubed M, Díaz HM, Ruiz NM, Váldez N, et al. HIV type 1 genetic diversity in newly diagnosed Cuban patients. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2012 Aug;28(8):956–60.
14. Machado LY, Dubed M, Díaz H, Ruiz N, Romay D, Váldez N, et al. Transmitted HIV type 1 drug resistance in newly diagnosed Cuban patients. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2013 Feb;29(2):411–4.
15. Kanki PJ, Peeters M, Guéye-Ndiaye A. Virology of HIV-1 and HIV-2: implications for Africa. *AIDS.* 1997;11 Suppl B:S33–42.
16. Rosner B, Rosner R. *Fundamentals of biostatistics.* 5th ed. Massachusetts: Duxbury Press; 1999.
17. Boyum A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Isolation of mononuclear cells by one centrifugation, and granulocytes by combining centrifugation and sedimentation at 1 g. *Scand J Clin Lab Invest Suppl.* 1968;97:77–89.
18. Jackson DP, Hayden JD, Quirke P. Extraction of nucleic acid from fresh and archival material. In: McPherson MJ, Quirke P, Taylor GR, editors. *PCR: A Practical Approach Series.* Oxford: IRL Press; 1991. 280 p.
19. Powell RL, Urbanski MM, Nyambi PN. A heteroduplex assay for the rapid detection of dual Human Immunodeficiency Virus Type 1 infections. *J Virol Methods.* 2008 Apr;149(1):20–7.
20. Manigart O, Boeras DI, Karita E, Hawkins PA, Vwalika C, Makombe N, et al. A gp41-based heteroduplex mobility assay provides rapid and accurate assessment of intrasubtype epidemiological linkage in HIV type 1 heterosexual transmission pairs. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2012 Dec;28(12):1745–55.
21. Heyndrickx L, Janssens W, Zekeng L, Musonda

- R, Anagonou S, Van der Auwera G, et al. Simplified strategy for detection of recombinant human immunodeficiency virus type 1 group M isolates by gag/env heteroduplex mobility assay. Study Group on Heterogeneity of HIV Epidemics in African Cities. *J Virol*. 2000 Jan;74(1):363–70.
22. Thomson M, Casado G, Posada D, Sierra M, Nájera R. Identification of novel complex circulating recombinant form (CRF18\_cpx) of Central African origin in Cuba. *AIDS*. 2005 Jul 22;19(11):1155–63.
  23. Quarleri JF, Rubio A, Carobene M, Turk G, Vignoles M, Harrigan RP, et al. HIV type 1 BF recombinant strains exhibit different pol gene mosaic patterns: descriptive analysis from 284 patients under treatment failure. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2004 Oct;20(10):1100–7.
  24. Los Álamos National Laboratory database [Internet]. Los Álamos: Los Álamos National Laboratory (US); c2006–2009. HIV Databases; [updated 2015 Jun; cited 2013 Jan 11]. Disponible en: [www.hiv.lanl.gov](http://www.hiv.lanl.gov)
  25. Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol Biol Evol*. 2007 Aug;24(8):1596–9.
  26. Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J Mol Evol*. 1980 Dec;16(2):111–20.
  27. Aragonés C, Campos JR, Pérez D, Martínez A, Pérez J. SIDATRA: Informatics to improve HIV/AIDS care. *MEDICC Rev*. 2012 Oct;14(4):5–9.
  28. Lodi S, Phillips A, Touloumi G, Geskus R, Meyer L, Thiébaud R, et al. Time from human immunodeficiency virus seroconversion to reaching CD4+ cell count thresholds <200, <350, and <500 Cells/mm<sup>3</sup>: assessment of need following changes in treatment guidelines. *Clin Infect Dis*. 2011 Oct;53(8):817–25.
  29. Armitage P, Armitage EN, Berry G. Estadística para la investigación biomédica. 2nd ed. Barcelona: Doyma Press; 1992. Spanish.
  30. Kapaata A, Lyagoba F, Ssemwanga D, Magambo B, Nanyonjo M, Levin J, et al. HIV-1 subtype distribution trends and evidence of transmission clusters among incident cases in a rural clinical cohort in southwest Uganda, 2004–2010. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2013 Mar;29(3):520–7.
  31. Huang A, Hogan JW, Istrail S, Delong A, Katzenstein DA, Kantor R. Global analysis of sequence diversity within HIV-1 subtypes across geographic region. *Future Virol*. 2012 May;7(5):505–17.
  32. Kouyos RD, von Wyl V, Yerly S, Böni J, Taffé P, Shah C, et al. Molecular epidemiology reveals long-term changes in HIV type 1 subtype B transmission in Switzerland. *J Infect Dis*. 2010 May 15;201(10):1488–97.
  33. Jennes W, Kyongo J, Vanhommerig E, Camara E, Coppens S, Seydi M. Molecular Epidemiology of HIV-1 Transmission in a Cohort of HIV-1 Concordant Heterosexual Couples from Dakar, Senegal. *PLoS One* 2012;7(5):e37402. DOI:10.1371/journal.pone.0037402
  34. Yebraa G, de Mulder M, Martín L, Pérez-Cachafeiro S, Rodríguez C, Labarga P, et al. Sensitivity of seven HIV subtyping tools differs among subtypes/recombinants in the Spanish cohort of naïve HIV-infected patients (CoRIS). *Antiviral Res*. 2011 Jan;89(1):19–25.
  35. Ssemwanga D, Nsubuga RN, Mayanja BN, Lyagoba F, Magambo B, Yirrell D, et al. Effect of HIV-1 subtypes on disease progression in rural Uganda: a prospective clinical cohort study. *PLoS One*. 2013 Aug 12;8(8):e71768. DOI: 10.1371/journal.pone.0071768.
  36. Gorry C. Cuba's National HIV/AIDS Program. *MEDICC Rev*. 2011 Apr;13(2):5–8.
  37. Zhang X, Wang C, Hengwei W, Li X, Li D, Ruan Y, et al. Risk factors of HIV infection and prevalence of co-infections among men who have sex with men in Beijing, China. *AIDS*. 2007 Dec;21Suppl 8:S53–7.
  38. Chun HM, Carpenter RJ, Macalino GE, Crum-Cianflone NF. The role of sexually transmitted infections in HIV-1 progression: a comprehensive review of the literature. *J Sexually Transmitted Dis [Internet]*. 2013 [cited 2014 Feb 15]; [about 16 p]. Disponible en: <http://downloads.hindawi.com/journals/jstd/2013/176459.pdf>
  39. Keller M, Lu Y, Lalonde R, Klein M. Slower clinical progression in antiretroviral-naïve African immigrants compared to Haitian and Canadian patients in a universal health care system. In: Program and abstracts of the 15th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; 2008 Feb 3–6; Boston, Massachusetts. Abstract 528.
  40. Goetz MB, Leduc R, Kostman JR, Labriola AM, Lie Y, Weidler J, et al. Relationship between HIV coreceptor tropism and disease progression in persons with untreated chronic HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2009 Mar 1;50(3):259–66.
  41. Castro-Nallar E, Crandall K, Pérez-Losada M. Genetic diversity and molecular epidemiology of HIV transmission. *Future Virol*. 2012;7(3):239–52.
  42. Kouyos RD, von Wyl V, Yerly S, Böni J, Rieder P, Joos B, et al. Ambiguous nucleotide calls from population-based sequencing of HIV-1 are a marker for viral diversity and the age of infection. *Clin Infect Dis*. 2011 Feb 15;52(4):532–9.
  43. Sharp PM, Hahn B. The evolution of HIV-1 and the origin of AIDS. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2010 Aug 27;365(1552):2487–94.
  44. Easterbrook P, Smith M, Mullen J, O'Shea S, Chrystie I, de Ruiter A, et al. Impact of HIV-1 viral subtype on disease progression and response to antiretroviral therapy. *J Int AIDS Soc*. 2010 Feb 3;13:4. DOI: 10.1186/1758-2652-13-4.
  45. Araujo AF, Brites C, Monteiro-Cunha J, Santos LA, Galvão-Castro B, Alcántara L. Lower prevalence of human immunodeficiency virus type 1 Brazilian subtype B found in Northeastern Brazil with slower progression to AIDS. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2010;26(11):1249–54.
  46. Manak M, Sina S, Anekella B, Hewlett I, Sanders-Buell E, Ragupathy V, et al. Pilot Studies for Development of an HIV Subtype Panel for Surveillance of Global Diversity. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2012 Jun;28(6):594–606.
  47. Daar ES, Kesler KL, Wrin T, Petropoulos CJ, Bates M, Lail A, et al. HIV-1 pol replication capacity predicts disease progression. *AIDS*. 2005 Jun 10;19(9):871–7.

## LOS AUTORES

**Madeline Blanco de Armas**, (autora para correspondencia: [madeniba@infomed.sld.cu](mailto:madeniba@infomed.sld.cu)) licenciada en bioquímica, especialista en biología molecular. Doctora en ciencias de la salud. Laboratorio de Biología Molecular del Laboratorio de Investigaciones del Sida (LISIDA), La Habana, Cuba.

**Liuber Y. Machado Zaldivar**, licenciado en bioquímica. Especialista en biología molecular. Laboratorio de Biología Molecular, LISIDA, La Habana, Cuba.

**Héctor Díaz Torres**, especialista en medicina interna. Máster en ciencias en infectología, Doctor en ciencias de la salud. Laboratorio de Diagnóstico y Confirmación, LISIDA, La Habana, Cuba.

**Nancy Ruiz Gutiérrez**, licenciada en biología. Especialista en biología molecular. Laboratorio de Biología Molecular, LISIDA, La Habana, Cuba.

**Dania Romay Franchy**, técnica, Laboratorio de Biología Molecular, LISIDA, La Habana, Cuba.

**Eladio Silva Cabrera**, microbiólogo. Doctor en ciencias veterinarias, Subdirector general, LISIDA, La Habana, Cuba.

*Enviado: Noviembre 22, 2013*

*Aprobado: Septiembre 30, 2015*

*Conflictos de intereses: ninguno*

*Citación recomendada: Blanco M, Machado*

*L Y, Díaz H, Ruiz N, Romay D, Silva E.*

*Variabilidad genética del VIH-1 en Cuba*

*y sus implicaciones para la transmisión*

*y la progresión clínica. MEDICC Rev.*

*2015Oct;17(4) Disponible en: <http://www>*

*.medicc.org/mediccreviewindex*

*.php?issue=37&id=500&a=va*