

## Variabilidad genética de la infección por VIH en usuarios de drogas.

Contreras, Gerardo y Nájera, Rafael

Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III.

### Resumen

El uso de drogas por vía intravenosa (UDI) constituye una causa importante de transmisión del VIH en los países industrializados, habiéndose descrito en los últimos años la aparición de una serie de recombinantes intersubtipo, que se han extendido con rapidez entre ellos y que pueden afectar al diagnóstico y al tratamiento y por tanto al seguimiento de los pacientes, denominadas formas recombinantes circulantes (FRC). Es necesario tener en cuenta sus características para el mejor conocimiento de la epidemiología del VIH en los UDIs.

### Palabras clave

Drogas, VIH, Variabilidad.

### Summary

Intravenous drug using is one important cause of HIV-1 transmission in developed countries. Different circulating recombinant forms (CRF) have been described mainly among intravenous drug users, spreading with high efficiency among them. They can affect HIV testing and treatment and consequently the follow-up of the patients, being consequently very convenient, to know the molecular epidemiology of the circulating strains in a geographical area.

### Key words

Drogas, VIH, Variabilidad.

## INTRODUCCIÓN

Debido a que el opio no necesita prácticamente manipulación, se usó como analgésico desde la antigüedad. Ya en los textos egip-

cios clásicos se describe su empleo para aliviar el dolor de las incisiones de abscesos. Sus propiedades fueron bien conocidas por griegos y romanos, así Homero narra en la Odissea que, cuando Menelao relataba a Telémaco

### Correspondencia a:

Rafael Nájera. Instituto de Salud Carlos III. Ctra. de Majadahonda a Pozuelo, nº 2. Majadahonda - Madrid.  
E-mail: rafael.najera@isciü.es



sus recuerdos de los soldados muertos en la guerra de Troya, los acompañantes se pusieron a llorar y entonces Helena "mezcló con el vino una droga que tenía el poder de quitar la aflicción y el aguijón de la ira y de desterrar todos los recuerdos dolorosos. Quien la hubiera tomado disuelta en vino no podría derramar una sola lágrima ese día ni siquiera por la muerte de su madre y de su padre, ni aunque clavaran una espada a su hermano o a su propio hijo y él lo estuviera viendo". La nepentá, ese filtro mágico que daba paz a los dioses y que usó Helena, era probablemente opio con alcohol.

En el año 55 DC. Nerón empleó opiáceos para matar a Británico. En esos años Plinio el Viejo comentaba que los romanos empleaban opio para tratar la elefantiasis, carbunco, desordenes hepáticos, epilepsia y mordeduras de serpientes

Durante el siglo XVI los médicos empiezan a generalizar el consumo de opio. Fue Paracelso el que acuñó el término "láudano" para designar unas píldoras que eran mezcla de opio con beleño, perlas de coral machacadas y otro tipo de sustancias a veces exóticas. Cristóbal Acosta hizo la primera advertencia, sobre su uso en su tratado sobre las drogas de las Indias del Este: "tiene el efecto de embrutecer al consumidor y si lo usa descuidadamente, lo mata".

En el siglo XVII se describe por Sydenham, el láudano que lleva su nombre y que se generaliza en el XVIII, llegando su uso hasta el siglo XX. Era una mezcla de opio con azafrán, canela y clavo, disuelta en vino de Jerez o de Canarias. Por otra parte, algunos médicos alemanes de la misma época estaban más preocupados por las formas de aplicación de los fármacos. Así, Wren y Boyle fueron los primeros que inyectaron opio en perros con

una pluma de ave ahuecada, y Ludwig consiguió obtener una sustancia cristalina, disolviendo opio en ácido acético que, seguramente era morfina, aunque hubo que esperar hasta 1804 para que se volviera a descubrir.

Ya a mediados del siglo diecinueve Lafargue de St Emilion, que padecía una neuralgia facial, decidió aplicarse morfina, directamente en el nervio, empleando una lanceta de las usadas para la vacunación. Poco más tarde, Woods, usando la jeringuilla que había inventado Gabriel Pravaz, para la coagulación de aneurismas, generalizó el uso de la droga, en inyección intradérmica, como una forma de anestesia local y Hunter inicia su uso, de forma subcutánea, para conseguir efectos generalizados. Durante las guerras que siguieron, en la segunda mitad del siglo diecinueve, el empleo de la jeringuilla, tanto la de Pravaz como otros modelos que surgieron posteriormente, se generalizaron para la inyección intravenosa.

La prohibición del opio para fumar, a principios del siglo veinte llevó al consumo de heroína entre los muchos adictos que habían adquirido el hábito con el empleo generoso de la morfina durante las anteriores contiendas. Esta droga podía fumarse, siendo esta la forma de consumo entre las personas que no tenían medios para proveerse de jeringuillas, entonces muy caras.

Ya se había conseguido la droga, la peor forma de administrarla y la adicción a ella. Solamente faltaba un agente para completar el desastre. Este llegó, parece ser, alrededor de 1930, cuando el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) infecta al hombre, aunque el primer suero infectado que se ha podido estudiar data de 1959, demostrándose la presencia de anticuerpos específicos y posteriormente amplificándose el material genético (1).



## VIH/SIDA. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

Desde el comienzo de la epidemia producida por el VIH, el consumo de drogas por vía parenteral, se ha mostrado como una de las causas que más activamente intervienen en su diseminación, en los países industrializados. Habitualmente se asocia con la práctica de la drogadicción intravenosa en la que la transmisión del virus se produce al compartir jeringuillas o los instrumentos que se usan para preparar la droga, por los residuos sanguíneos que quedan en ellos. Pero la drogadicción interviene de otras maneras, ya que aunque la vía de transmisión no sea por compartir agujas y jeringas, puede influir en la transmisión. Se ha visto (2) que en los fumadores de crack, incluidos en programas de cambio de jeringuillas, el porcentaje de individuos seropositivos a VIH no descendía, hecho probablemente relacionado con prácticas sexuales de riesgo, sin protección.

Es frecuente que los usuarios de droga intravenosa (UDIs), aunque conozcan su estado de seropositivos a VIH, practiquen el sexo sin protección, principalmente con su pareja. Las mujeres consumidoras de droga son, habitualmente jóvenes, están en edad fértil y pueden transmitir a sus hijos la infección. A veces, cambian sexo por droga para mantener su hábito o el de su pareja. Según datos del CDC, en Estados Unidos el 36% del total de casos de SIDA se presenta en UDIs, mientras que en mujeres, si se contabilizan los casos de SIDA, debidos al uso de drogas por vía endovenosa, junto con las que han contraído la enfermedad por ser parejas sexuales de UDIs infectados por VIH alcanza el 58% de todas las infectadas.

En España, según la publicación "Vigilancia del SIDA en España del Centro Nacional de Epidemiología. Plan Nacional Sobre el SIDA, al 31 de diciembre de 2001", de los 62.219 casos de SIDA que se habían producido desde el comienzo de la epidemia el 64,9% había sido en UDIs, el 13,7% por prácticas sexuales entre homo-bisexuales masculinos; el 13,3% heterosexuales, el 1,8% por haber recibido sangre o hemoderivados infectados por VIH, el 1,4% eran niños nacidos de madres seropositivas quedando un 4,9% en los que no se ha podido establecer la vía de transmisión.

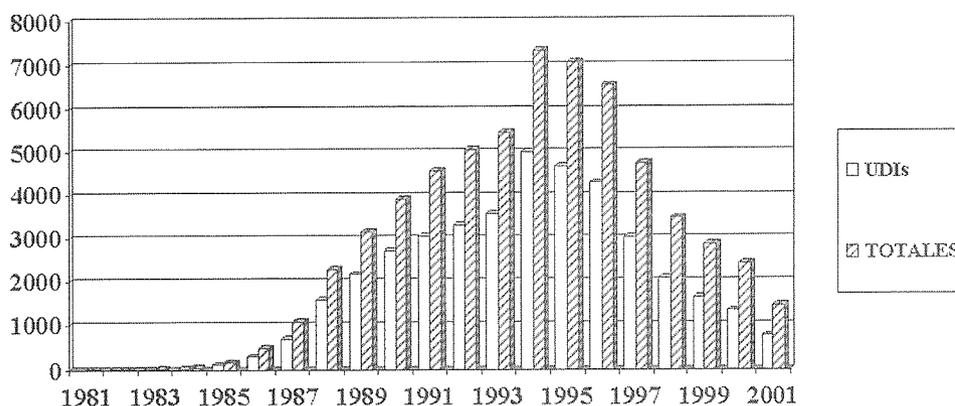
El número de casos nuevos de SIDA declarados el año pasado, 2001, es de 1465, cifra que se estima es el 64% de los realmente acaecidos, puesto que las comunicaciones de los casos se hace con retraso. La causa más frecuente en ellos sigue siendo la drogadicción intravenosa pues ha supuesto el 52,2% del total. Esta mayor frecuencia de infección por compartir los elementos empleados en la drogadicción se da tanto en hombres, 53%, como en mujeres que es de 48%. Sin embargo, esta tasa, en ellas, se ha acercado mucho el porcentaje de las que se han infectado por prácticas heterosexuales sin protección que ha alcanzado el 40% del total.

Si bien el número de casos nuevos de SIDA en España, tanto totales como los debidos a las prácticas de drogadicción, viene disminuyendo progresivamente (ver Figura 1) desde 1994 en el que hubo 7.354 totales y 5.000 en UDIs. Sin embargo, en el mundo en su conjunto, se ha incrementado, al haber irrumpido más recientemente, en muchos países, tanto el consumo de droga como los hábitos de hacerlo por vía intravenosa y compartir el material de inyección. En 1992 habían declarado casos de SIDA en UDIs, 80 países y en 1999 lo hicieron 136(3). Además



FIGURA 1

CASOS NUEVOS DE SIDA EN ESPAÑA POR AÑO.  
TOTALES Y EN UDIs (31-12-2001)



Datos del Centro Nacional de Epidemiología

este fenómeno se ha producido en zonas que, como China, tiene una gran densidad de población, por lo que el número de infecciones puede ser insospechado. De hecho, se estima que en estos países ya hay unos cinco millones de personas que utilizan la vía intravenosa para mantener su hábito y, en algunos casos con gran prevalencia de infección por VIH. En Mytkyina, capital del estado de Kachin en Myanmar (4) se encontró entre los UDIs una prevalencia de infección por VIH del 91%. En países de la antigua Unión Soviética, por ejemplo, se ha descrito recientemente una prevalencia del 65% en Odessa(5).

### VARIABILIDAD DEL VIH. NUEVOS VIRUS, SUBTIPOS Y RECOMBINANTES EN ADICTOS A DROGAS

Estos nuevos focos epidémicos se están caracterizando, además de por su extensión, por la rapidez con que se difunden y por la aparición de virus con genomas que les pueden conferir características especiales como una posible capacidad replicativa aumentada o resistencia a las fármacos antirretrovirales, además de dificultar los trabajos de diagnóstico, de detección de resistencias y la producción de una vacuna eficaz.



**FIGURA 2**

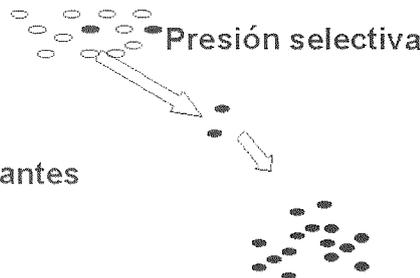
**Generación y selección de variantes virales en infección por HIV-1**

**Alto recambio viral:  $10^{10}$  nuevos viriones/día**

**2.6 días. Tiempo de recambio total**

**Errores de la transcriptasa inversa:  $\sim 1$  base/genoma/ciclo**

**Quasiespecies**



**Selección de variantes**

En la mayor parte de los casos de SIDA en el mundo, el agente causal es VIH-1 pero, fundamentalmente en países del África occidental, se producen infecciones por VIH-2. La aparición de estos virus tiene concordancias geográficas con dos virus simios distintos, el SIVcpz del chimpancé y el SIVsm del mangabey tiznado (6,7). Estudios filogenéticos han aportado suficientes datos como para que se considere a las primeras infecciones, como zoonosis transmitidas al hombre desde los monos, al ser estos animales cazados para su consumo como alimentos, dándose la posibilidad de inóculos de su sangre en los que se pudo producir la transmisión del virus.

El VIH-1 es, a su vez, un conjunto de formas víricas diferentes. El primero que se conoció y que ha producido la mayor parte de las infecciones, fue el llamado grupo M (main, principal). Al avanzar los métodos de

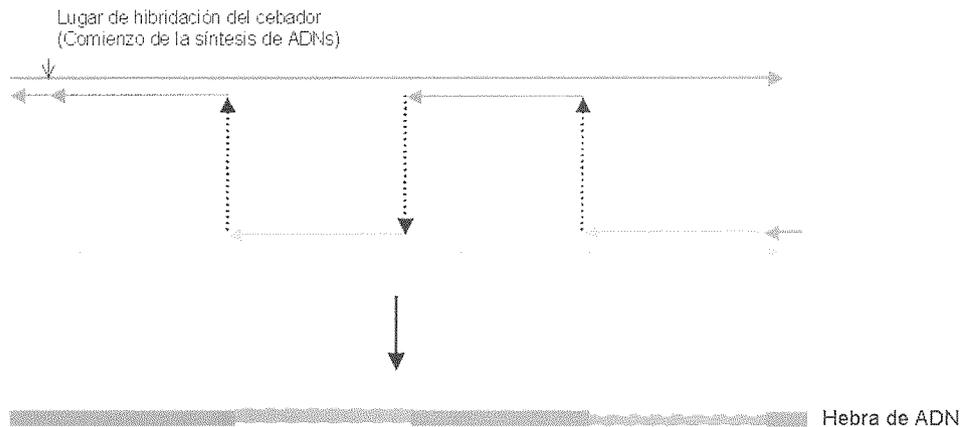
secuenciación, teniendo en cuenta la proximidad de las secuencias genéticas, se han descrito otros dos grupos distintos, el grupo "O" (outlier; externo) y, mas tarde, el N (no M-no-O, New) que, probablemente procedan de distintas inoculaciones a partir de los chimpancés (ver Figura 2).

La aparición de resistencias naturales (8,9) o de cepas víricas resistentes seleccionadas por la presión de los fármacos empleados en los tratamientos, se produce por la infidelidad de la transcriptasa (10) inversa capaz de cambiar nucleótidos en el momento de transcribir el ARN viral a ADN. Dada la rapidez con que se produce la replicación vírica, la posibilidad de virus con mutaciones se da con mucha frecuencia. Luego, bien sea por la presión de los fármacos o porque sea una cepa



FIGURA 3

Saltos de la transcriptasa inversa entre las dos hebras de ARN



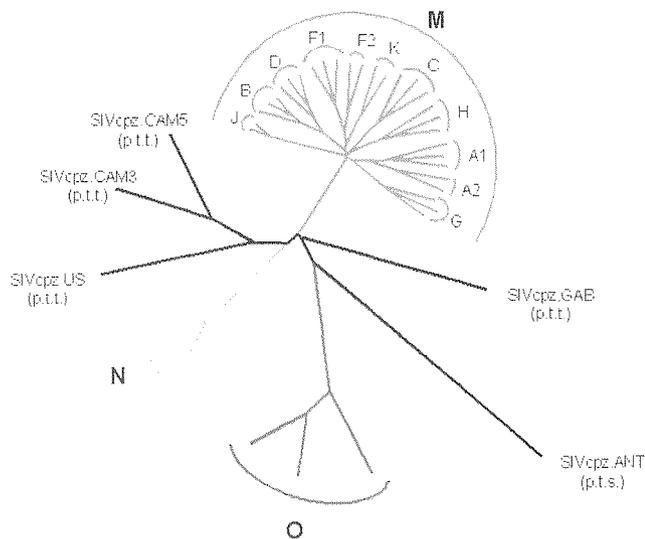
con una dinámica de replicación superior; se convertirá en cepa mayoritaria (ver Figura 3).

Esta variabilidad del VIH ha llevado también a una gran diversificación del virus. Estudios basados en la secuencia del *env* permitieron clasificar, dentro del grupo M, a diez diferentes subtipos nominados con letras que van desde la A hasta la K. Estudios posteriores sobre el genoma completo han demostrado que el E y el I no deben ser considerados como tales, puesto que, en realidad, se trata de cepas recombinantes entre subtipos. Para que se determine que un virus es un nuevo subtipo, hace falta que se diferencie de los otros en más de un 50% del genoma (11). En algunos casos, en el subtipo A y en el F, se ha visto que, habiendo diferencias, estas no llegan a alcanzar ese 50% por lo que se les ha denominado como sub-subtipos, A<sub>1</sub>-A<sub>2</sub> y F<sub>1</sub>-F<sub>2</sub> respectivamente.

Estas cepas recombinantes se pueden producir porque el VIH tiene en su núcleo dos hebras de ARN. Si se da la circunstancia de que un individuo se infecta por virus de dos subtipos distintos, cuando coinciden los dos dentro de una célula, la transcriptasa inversa, cuando está copiando el código genético, puede saltar de la hebra del virus de un tipo a la del otro alternativamente, formándose un genoma híbrido (ver Figura 4) que pudiera conferir, en algunos casos, mayor patogenicidad, eficacia en la transmisión o resistencias a los antirretrovirales, pudiendo dificultar los trabajos de diagnóstico de la infección y el diseño de vacunas. Cuando estos nuevos virus se transmiten y son detectados en más de tres pacientes, entre los que no se encuentra relación epidemiológica, se dice que estamos ante una forma recombinante circulante nueva. Estas formas recombinantes



**FIGURA 4**  
Arbol filogenético de los grupos y subtipos del VIH-1



circulantes, se designan como CRF, de la sigla en inglés de "Circulating Recombinant Form", seguida de un número correlativo, según el momento de su descripción, así CRF01\_AE hasta 14, pero que en realidad son 13, ya que la número 9 no se ha llegado a describir; al menos, por el momento.

En estudios realizados en Galicia (12) se han encontrado una gran diversidad de subtipos no B así como recombinantes intersubtipo que suponen una prevalencia del 4,9%. Del total de casos nuevos estudiados en el año 2001 la incidencia de estos virus es del 17,3%. Si se tiene en cuenta la vía de transmisión, se observa que el subtipo G y una nueva forma recombinante circulante, la CRF14\_BG, (13), descrita recientemente por nosotros, predomina entre los adictos a drogas por vía

intravenosa lo que nos indicaría la rápida difusión de estos virus en este colectivo (ver Figura 5).

Se ha visto que el 15% de todas las infecciones producidas en el mundo, se producen por cepas recombinantes. En Rusia y Ucrania, donde el modo de transmisión del VIH es fundamentalmente por drogadicción intravenosa, el 83% de las cepas estudiadas pertenecen al subtipo A (14) habiéndose detectado recombinantes AB, de la CRF03\_AB. También se han encontrado subtipos E y recombinantes de la CRF01\_AE en Tailandia (15) y en Malasia (16) en porcentajes que oscilan alrededor del 35% de los usuarios de droga intravenosa. En la India se ha detectado el subtipo C a pesar de la poca incidencia que este modo de transmi-



FIGURA 5

Distribución geográfica de las formas genéticas recombinantes del VIH-1



sión tiene aún entre esta población. En Argentina cepas de CRF14\_BF (17,18) se instauran con mayor rapidez, a medida que la epidemia se difunde, cada día con mayor número de usuarios de drogas intravenosas, alcanzando ya el 39% de los casos, que superan el 33% que supone la transmisión heterosexual (ver Figura 6).

## REPERCUSIÓN DE LA VARIABILIDAD VÍRICA EN SALUD PÚBLICA

A parte de las posibilidades que ofrecen los estudios genéticos en la vigilancia epidemiológica de la epidemia, hay dos aspectos en los que la variabilidad del virus puede tener gran repercusión como son el diagnóstico de la enfermedad y la instauración de una terapia adecuada.

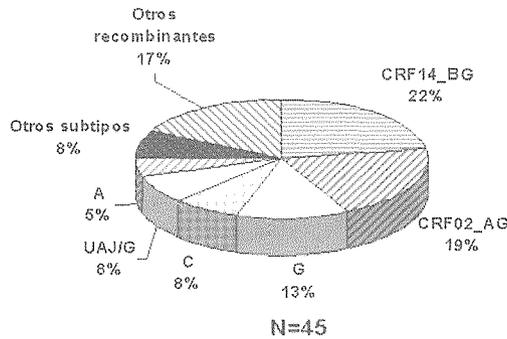
Los métodos de diagnóstico más empleados son los que tratan de detectar la presencia de anticuerpos específicos frente a VIH en el suero. Al principio, se hacía primero un método de "screening" que consistía en una prueba con la que se intentaba fijar estos anticuerpos a las proteínas obtenidas de un lisado viral completo. Cuando estas pruebas eran reactivas y dado que en muchos casos se trataba de positivos falsos, se recurría a pruebas de confirmación más específicas como el "western-blot". Cuando la primera prueba era positiva y la de confirmación era "indeterminada" pero con un patrón claro, se sospechaba que la infección podía estar producida por VIH-2.

Para soslayar tantos positivos falsos en las pruebas de "screening" se sustituyó el lisado viral por antígenos recombinantes o por péptidos sintéticos. Al estar fabricados por unos veinte aminoácidos, que reproducen las pro-



FIGURA 6

Formas genéticas de los subtipos no B en Galicia (España)



Subtipos	CRFs
A 2	02_AG 8
C 3	05_DF 1
F1 1	12_BF 1
G 5	14_BG 9

teínas más frecuentes, puede que no reconozcan las correspondientes a cepas minoritarias, como pasaba con el tipo 0, dando lugar a diagnósticos negativos falsos. Según un estudio comparativo con seis equipos aprobados por la FDA parece que todos son capaces de detectar infecciones por los subtipos A-G, J y del grupo O (19). Se ha observado así mismo reactividad cruzada entre las cepas más divergentes del grupo N y los antígenos de las pruebas para el grupo M.

Sin embargo, se han encontrado diferencias importantes en el tiempo que pasa desde la infección hasta que se consigue la detección de anticuerpos, lo que se denomina periodo de ventana. Entre el subtipo B y el E, se ha visto que este periodo ventana varía entre 155 y 270 días respectivamente (20). Es necesario tener en cuenta estas variacio-

nes para garantizar el diagnóstico correcto de la infección.

Otra prueba que se realiza para el diagnóstico temprano de la infección y que se puede ver afectada, es la PCR. Para realizarla es necesario que los oligonucleótidos que se emplean para iniciar la reacción se unan perfectamente a sus complementarios en el genoma del virus. Si son distintos subtipos esta unión puede no realizarse y no se producirá amplificación dando un resultado negativo falso.

Con respecto a la incidencia que esta variabilidad del virus puede tener sobre la eficacia de los tratamientos hay dos aspectos a considerar:

Por una parte está el control de la eficacia de los fármacos que se estén empleando. Uno



de los parámetros que más se emplea para conocer esta eficacia es la carga viral. La técnica para determinarla puede requerir, como en la PCR, una amplificación de zonas del genoma, por lo que se puede ver afectada de la misma forma que hemos analizado anteriormente. El resultado es que, no amplifica y podemos pensar, de forma equivocada, que los tratamientos están siendo eficaces.

Con respecto a las resistencias a los antirretrovirales, se ha descrito que el subtipo G sería menos sensible a los inhibidores de proteasa (21), mientras que con respecto a los otros subtipos no se han encontrado diferencias significativas, aún cuando hay que considerar que los estudios sobre virus no-B son muy escasos. Sí se ha visto que, en general, las mutaciones secundarias son más frecuentes en los subtipos no-B que en los B y, a su vez, aún más en ciertos recombinantes íntersubtipo. De todas formas, se necesitan más estudios para poder juzgar la posible importancia de los distintos subtipos en la presencia de mutaciones de resistencia a los fármacos existentes.

En conclusión, podemos decir que la infección por VIH en los países industrializados es alta o muy alta, extendiéndose en los últimos años a países en vías de desarrollo, pero en los que la práctica de inyección de drogas por vía parenteral se va adoptando de forma cada vez más frecuente. Por otra parte, en algunos países se están propagando virus de subtipos no-B, diferentes a los que circulaban previamente y que en muchas ocasiones presentan una capacidad de transmisión aparentemente mayor que los B, por lo que se imponen, representando, en algunos países proporciones superiores al 50%. Son escasos los estudios sobre estos nuevos virus, por lo que habrá que ampliarlos para poder establecer con certeza su importancia en cuanto a transmisibilidad, patogenicidad, respuesta a

los métodos diagnósticos, resistencias a los antirretrovirales y su importancia para el desarrollo de vacunas.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Korber, B.; Muldoon, M.; Theller, J.; et al. Timing the ancestor of the HIV-1 pandemic strains. *Science* (2000) 288:1789-1796.
- 2.- Deren, S.; Robles, R.; Andia, J.; et al. Trends in HIV seroprevalence and needle sharing among puerto rican drugs injectors in Puerto Rico and New York. *J AIDS* 2001; 26:164-169
- 3.- United Nations Economic and Social Council. World Situation with regard to drug abuse E/CN.7/2000/4. Available at [http://www.undcp.org/cnd\\_session\\_43.html](http://www.undcp.org/cnd_session_43.html).
- 4.- Morineau, G.; Prazuk, T. Drug Related behaviour in a high HIV prevalence rate population at Mykykina drug treatment centre, Kachin state, northern Myanmar/Burma. *AIDS* (2000); 14:2203-2204.
- 5.- Dehne, K.L.; Pokrovskiy, V.; Kobvshcha, Y.; et al. Update on the epidemics of HIV and other sexually transmitted infections in the newly independent states of the former Soviet Union. *AIDS* (2000); 14 (suppl. S75-S84)
- 6.- Hirsch, V.M.; Olmsted, R.A.; Murphey-Cob, M.; et al. An African primate lentivirus (SIVsm) closely related to HIV-2. *Nature* (1989), 336: 389-392.
- 7.- Gao, F.; Bailes, E.; Robertson, D.L.; et al. Origin of HIV-1 in the chimpanzee. *Pan troglodytes troglodytes*. *Nature* (1999), 397: 436-441.
- 8.- Nájera, I.; Richman, D.D.; Olivares, I. et al. Natural occurrence of drug resistance mutations in the reverse transcriptase of human immunodeficiency virus type 1 isolates. *AIDS Res Hum Retroviruses* (1994); 10:1479-1485.



- 9.- Nájera, I.; Holguín, A.; Quiñones-Mateu M.E., et al. *pol* gen quasispecies of human immunodeficiency virus: mutations associated with drug resistance in virus from patients undergoing no drug therapy. *J Virol* (1995); 69: 23-31.
- 10.- Temin, H.M. Retrovirus variation and reverse transcription: abnormal strand transfers result in retrovirus genetic variation. *Proc Natl Acad Sci USA* (1993), 90: 6900-6903.
- 11.- Robertson, D.L.; Anderson, J.P.; Bradac, J.A.; et al. HIV-1 nomenclature proposal. *Science* 2000; 288: 55-57.
- 12.- Pérez Alvarez, L.; Carmona, R.; Villahermosa, M.L. et al. Alta incidencia de nuevos diagnósticos de infección por VIH-1 de subtipos no-B y formas recombinantes en Galicia. VI Reunión Nacional sobre el SIDA. 13-15 de marzo de 2002. Cáceres.
- 13.- Delgado, L.; Thomson, M.M.; Villahermosa, M.L.; et al. Identification of a newly characterized HIV-1 BG intersubtype circulating recombinant form in Galicia, Spain, which exhibits a pseudotype-like virion structure. *J AIDS* (2002); 29: 536-543.
- 14.- Littsola, K.; Holm, K.; Bobkov, A. et al. An AB recombinant and its parental HIV type 1 strains in the area of former soviet union. Low requirements for sequence identity in recombination. *AIDS Res Hum Retroviruses* (2000); 16, 11: 1047-1053.
- 15.- Kitayaporn, D.; Vanichseni, S.; Mastro, T.D.; et al. Infection with HIV-1 subtypes B and E in injecting drug users screened for enrollment into a prospective cohort in Bangkok, Thailand. *AIDS Res Hum Retroviruses*. (1998); 19, (3): 289-95.
- 16.- Beyrer, C.; Vancott, T.C.; Peng, N.K.; et al. HIV type 1 subtypes in Malaysia, determined with serologic assays: 1992-1996. *AIDS Res Hum Retroviruses*. (1998); 20 (14): 1687-91.
- 17.- Thomson, M.; Villahermosa, M.L.; Vázquez de Parga, E.; et al. Widespread circulation of a B/F intersubtype recombinant form among HIV-1-infected individuals in Buenos Aires, Argentina. *AIDS*. (2000); 14: 897-9.
- 18.- Thomson, M.; Delgado, E.; Herrero, I.; et al. Diversity of mosaic structures and common ancestry of human immunodeficiency virus type 1 BF intersubtype recombinant viruses from Argentina revealed by analysis of near full-length genome sequences. *J Gen Virol* (2000); 283: 107-119.
- 19.- Koch, W.H.; Sullivan, P.S.; Roberts, C.; et al. Evaluation of United States licensed human immunodeficiency virus immunoassays for detection of group M viral variants. *J Clin Microbiol* (2001), 39: 1017-1020.
- 20.- Parekh, B.S.; Hu, D.J.; Vanichseni, S.; et al. Evaluation of a sensitive/less-sensitive testing algorithm using the 3A11-LS assay for detecting recent HIV seroconversion among individuals with HIV-1 subtype B or E in Thailand. *AIDS Res Hum Retroviruses* (2001), 17: 453-458.
- 21.- Descamps, D.; Apetrei, C.; Collin, G. et al.; Naturally occurring decreased susceptibility of HIV-1 subtype G to protease inhibitors. *AIDS* (1998); 12: 1109-11.

### Agradecimientos

A la Dra. Lucía Pérez Álvarez, Dra. Elena Delgado y Dr. Miguel Thomson por su amabilidad facilitándonos las figuras 2 a 6.

Al Plan Nacional sobre el SIDA con cuya ayuda se han podido realizar varios de los trabajos cuyos datos se reflejan en este texto.