VARIABILIDAD GENÉTICA DEL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH): IMPORTANCIA EN EL DESARROLLO DE VACUNAS

(GENETIC VARIABILITY OF HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS, HIV-1: ITS IMPORTANCE IN VACCINE DEVELOPMENT)

***Dr. Carlos Darío Ramírez M.**

Instituto de Biología Experimental (IBE). Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela (UCV).

RESUMEN

La extraordinaria diseminación el VIH-1 en los humanos en los últimos 40 años, representa uno de los ejemplos más dramáticos de expansión y transmisión del genoma viral. Una característica que por demás ha contribuido a la pandemia, es la extrema variabilidad genética del virus y su alta capacidad mutagénica, lo que a su vez dificulta el diseño de métodos terapéuticos o el desarrollo de vacunas. Los ensayos actuales sobre vacunas se basan en los aislados del virus, con la esperanza que los mismos puedan tener reactividad cruzada que permita proteger a los individuos contra las cepas de virus circulantes. Los análisis filogenéticos que se iniciaron a principios de 1990, revelaron que el VIH-1 puede ser dividido en diferentes clados o subtipos. Sin embargo, mucho del conocimiento que se generó estaba basado en información de los países del hemisferio occidental, donde el subtipo B es el predominante. Actualmente se conoce de al menos 24 formas genéticas circulantes del VIH-1, incluyendo 11 subtipos o sub-subtipos y 13 formas recombinantes circulantes o CRFs. Nuevas formas genéticas están siendo introducidas en el mundo, lo que representa un reto para la epidemiología molecular de la infección y el desarrollo de nuevas herramientas terapéuticas y el desarrollo de vacunas. Esta revisión presenta un panorama actualizado de la variabilidad genética del VIH-1, su distribución geográfica y las implicaciones para el desarrollo de vacunas y nuevos métodos terapéuticos.

PALABRAS CLAVE: VARIABILIDAD GENÉTICA, VIH-1, SUBTIPOS, VIRUS RECOMBINANTES, DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA.

ABSTRACT

The extraordinary dissemination the HIV-1 in the humans in the last 40 years, represents one of the most dramatic examples in expansion and transmission of the viral genome. A characteristic that excessively has contributed to the pandemic, it is the extreme genetic variability of the virus and their high mutagenic capacity, that in turn hinders the design of therapeutic methods or the development of vaccine. The current rehearsals on you vaccinate they are based on the isolated of the virus, with the hope that the same ones can have crossed reactivity that allows to protect the individuals against the circulating virus stumps. Phylogenetic analyses that began at the beginning of 1990's, revealed that the HIV-1 it can be divided in different clades or subtypes. However, much of the knowledge that was generated was based on information of the countries of the western hemisphere, where the subtype B is the predominant one. At the moment it is known of at least 24 circulating genetic forms of the HIV-1, including 11 subtypes or sub-subtypes and 13 circulating recombinantes forms or CRFs. New forms genetics are being introduced in the world, what represents a challenge for the molecular epidemiology of the infection and the development of new therapeutic tools and the development of vaccine. This review presents an up-to-date point of view of the genetic variability of the HIV-1, its geographical distribution and the implications for the development of vaccine and new therapeutic methods.

KEYWORDS: GENETIC VARIABILITY, HIV-1, SUBTYPES, RECOMBINANT VIRUS, GEOGRAPHIC DISTRIBUTION.

* Calle Suapure, Colinas de Bello Monte. Apartado 47114-1041. Caracas, Venezuela.
Telefax: (+58-212) 7535897. E-mail: cramirez@hramirez.net

Introducción

Una de las principales características del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es la extremadamente alta variabilidad genética. Se considera que tal heterogeneidad se debe a dos factores fundamentalmente. El primero de ellos ha sido la múltiple introducción de virus simianos genéticamente diversos en los humanos (Hahn y col., 2000). Se ha demostrado que numerosos primates africanos se infectan con el virus de la inmunodeficiencia simiana (VIS), y que los dos tipos virales que infectan a los humanos, el VIH-1 y el VIH-2, representan una transmisión zoonótica de dos fuentes diferentes; los chimpancés (Pan troglodytes) y los monos del género Cercocebus (Cercocebus atys), respectivamente (Gao y col., 1999; Hirsch y col., 1989; Gao y col., 1992). El segundo factor ha sido la rápida acumulación de diversidad debido a la alta tasa de error de la transcriptasa reversa y el rápido recambio de viriones entre los individuos infectados (Preston y col., 1988; Wei y col., 1995; Ho y col., 1995). Se conoce que la transcriptasa reversa es altamente recombinogénica, de manera que combinaciones genómicas radicalmente diferentes pueden ser generadas en los individuos afectados por virus genéticamente diversos (Hu y Temin, 1990).

Los análisis filogenéticos de numerosas cepas de VIH-1, aisladas de diversos orígenes geográficos, han revelado que ellas se pueden subdividir en grupos, subtipos, sub-subtipos y formas recombinantes circulantes (CRF, circulating recombinant forms) (Robertson y col., 1999, 2000). Estos autores recomiendan una revisión en la clasificación de las cepas del virus, que se basa en los siguientes aspectos:[1] la identificación de las formas recombinantes distribuidas ampliamente en poblaciones y áreas geográficas (CRFs)[2]; la re-clasificación de los subtipos E y I como CRF[3]; la validación del concepto de sub-subtipos geográficos; y[4] la necesidad de al menos tres genomas completos para la identificación nuevos subtipos, sub-subtipos y CRF.

Acta Científica
de la Sociedad
Venezolana
de Bioanalistas
Especialistas

Diversidad genética

El VIH-2 fue el primer lentivirus en el que se demostró fehacientemente los criterios zoonóticos de transmisión a los humanos (Hahn y col., 2000). De hecho, los tipos de VIH-2 que infectan a los humanos comprenden seis diferentes linajes-grupos filogenéticos (anteriormente conocidos como subtipos) conocidos como A, B, C, D y F (http://www.hiv-web.lanl.gov). Sin embargo, la pandemia mundial es causada fundamentalmente por el VIH-1 (Figura 1). La información actual sugieren que el VIH-1 comprende tres grupos distintos de virus, denominados M (Main group), O (Outlier group) y N (Non-M, Non-O) (Perrin y col., 2003; Robertson y col., 2000). El grupo M causa la mayoría de las infecciones y la enfermedad, el mismo consiste de 11 clados, denominados desde A hasta F.

La identificación de nuevos clados de VIH-1 y la confirmación de la existencia de las CRFs, subsecuentemente caracterizadas por la secuenciación completa del genoma, ha dado lugar a alteraciones en la clasificación (Robertson y col., 2000). A una escala global, las infecciones del VIH-1 son generalmente causadas por los virus del grupo M. Los virus del grupo O se limitan a personas viviendo o que epidemiológicamente están ligadas con África Central, especialmente Camerún y los países vecinos donde una alta diversidad del VIH-1 puede ser observada. Sin embargo, aun en esta área ellas representan una minoría de las infecciones por el VIH-1. Únicamente unos pocos casos de infecciones por virus del grupo N, todas en Camerún, han sido hasta el momento reportadas.

Dentro del grupo M, nueve diferentes subtipos se pueden reconocer, identificados por las letras A hasta D, F-H, y K, de los que se piensa que todos se han originado en África Central. Los subtipos forman agrupaciones (clusters) estrechamente equidistantes cada uno de otro en los árboles filogenéticos. Dentro de los subtipos A y F, se pueden distinguir sub-agrupaciones separadas, denominadas sub-subtipos A1 y A2, y F1 y F2, cada par de los sub-subtipos más estrechamente ligados entre sí que entre otros subtipos. Algunos subtipos comparten una localización geográfica, mientras que otros parecen tener un ancestro similar, como son los casos en los que se incluyen los virus del subtipo G de España y Portugal, los virus del subtipo B de Tailandia y los virus del subtipo C de áreas tan geográficamente diversas como India o Etiopía (Thomson y col., 2001; Delgado y col., 2002; Rinde de Wit y col., 2002; Esteves y col., 2002; Zewde y col., 2002; Yang y col., 2002; Sánchez-Merino y col., 2003).

Una forma recombinante o CRF se define cuando tres individuos epidemiológicamente no ligados tienen virus recombinantes inter-subtipo dentro de ellos, y el cual se identifica por la secuenciación genómica completa (alrededor de 10 kb para cada uno) (Robertson y col., 2000). La primera CRF fue identificada originalmente por análisis de la

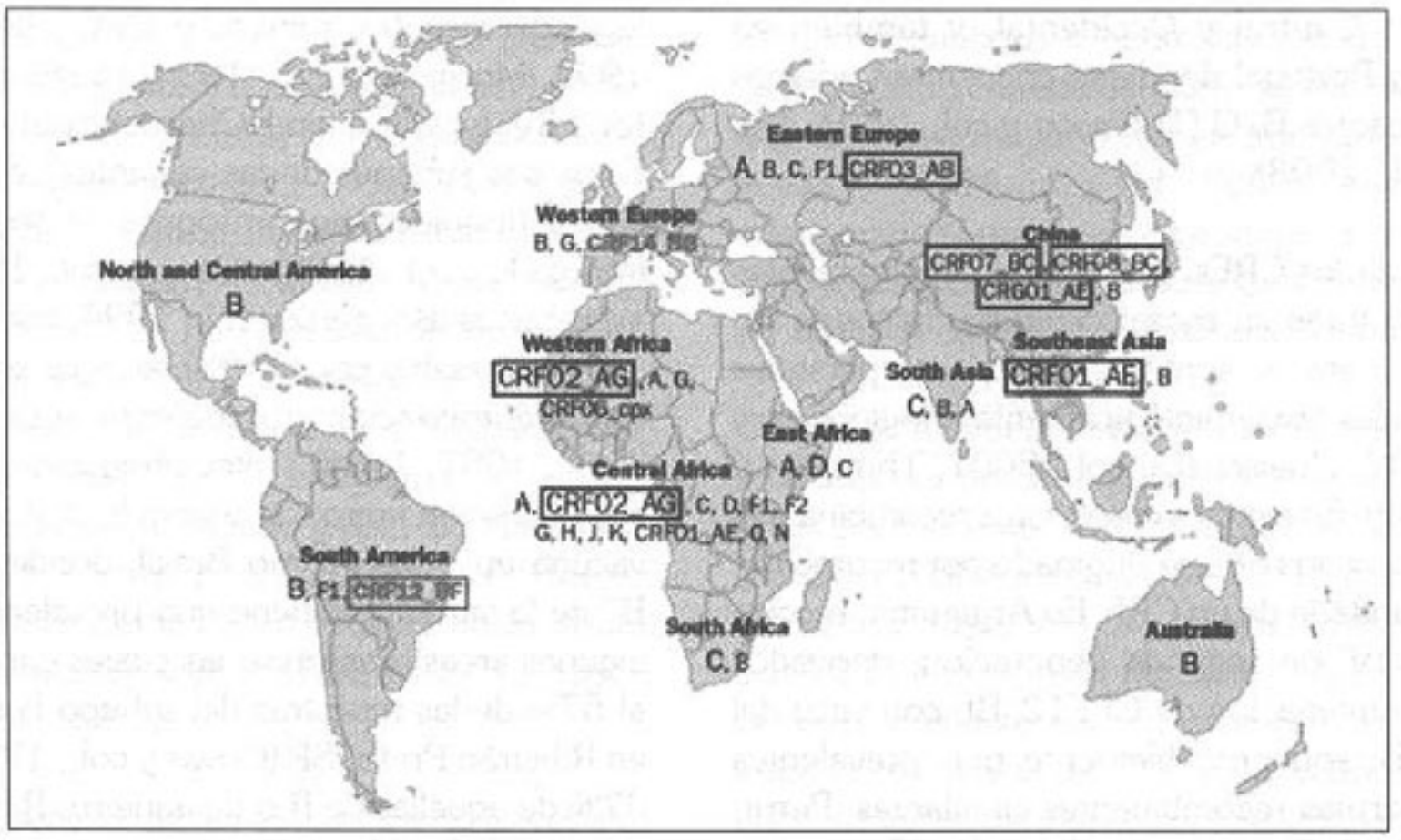


Figura 1. Distribución global del VIH. Los subtipos prevalentes y las variantes virales se indican con letras mayúsculas.

secuencia completa de virus de África Central y Tailandia. Una porción importante del genoma de este virus deriva del subtipo A, lo cual sugiere un origen por recombinación entre este subtipo y uno no identificado hasta el presente, el subtipo E. Los CRFs se identifican por números correlativos al orden de su descubrimiento seguido por las letras de los subtipos parentales (U designa a los segmentos no clasificados), o cpx (por complejos) para virus recombinantes que se piensan derivan de tres o mas subtipos parentales. Para el 2003, al menos 24 CRFs habían sido reportados, la mayoría de los cuales tienen origen africano (Swanson y col., 2003; Ramos y col., 2003; Thomson, Pérez-Álvarez y Najera, 2002). Cinco de las cuales parecen haberse originado fuera de África, en áreas donde circulan cepas parentales. La importancia de las CRFs se destaca en estudios recientes donde se demuestra que cerca de una quinta parte de las nuevas infecciones se deben a ellas (Osmanov y col., 2002).

Distribución geográfica de las variantes del VIH-1

La principal forma genética, y el primer virus identificado, fue el subtipo B, que se encuentra distribuido principalmente en Europa Central y Occidental, las Américas y Australia (Smith y col., 2003). El subtipo B es común también en varios países de Asia, África del Norte y el Medio Oriente, y entre hombres homosexuales de Sudáfrica y Rusia (Osmanov y col., 2002; Kuiken y col., 2000).

A escala mundial, las formas genética más prevalentes son los subtipos C, A (sub-subtipo A1), B, y CRF02_AG (Fig. 1). Muchas infecciones de la zona sur de África, China, India y Etiopía son causadas por el subtipo C, el cual circula pero en forma menor en Brasil y Rusia. Virus recombinantes con porciones del subtipo C son comunes en Tanzania, y dos CRFs con genomas predominantes del subtipo C, CRF07_BC y CRF08_BC, son prevalentes entre usuarios de drogas inyectadas en China (Yang y col., 2002). Los virus del subtipo A son predominantes en áreas de África Central (Kenia, Tanzania, Uganda y Ruanda) (De Cock y col., 2002), y en los países de Europa del este que anteriormente constituían la Unión Soviética (Bobkov y col., 1997), donde se transmite principalmente en adictos a las drogas por inyección. La forma genética más prevalerte en África Occidental y en partes de la Central, es la forma recombinante del virus, CRF02_AG. En el sureste de Asia circula ampliamente la forma CRF01_AE, la cual es de ancestro Centro-Africano (Cáliz y col., 1995; Magiorkinis y col., 2002; Subbarao y col., 2000). Esta variante se propagó originalmente entre prostitutas de Tailandia y más recientemente se encuentra entre drogadictos, y se ha propagado a todos los países en la vecindad, incluyendo a China, Japón y Corea (Magiorkinis y col., 2002).

El subtipo D es común en un área más localizada, especialmente en África del Este (Uganda, Tanzania y Kenia); el subtipo F (sub-subtipo F1; Triques y col., 1999), predominante en Rumania (Lukhasov y col., 1995); el subtipo G, que circula

en África Central y Occidental, y también en España y Portugal donde se encuentran además recombinantes B/G (Thomson y col., 2001; Duque y col., 2003).

Además de los CRFs, varios virus recombinantes con estructuras en mosaico únicas, han sido reportados para personas o unas pocas personas relacionadas epidemiológicamente (Magiorkinis y col., 2002; Hoelscher y col., 2001; Thomson y col., 2002). En algunos casos, virus recombinantes únicos parecen haberse originado por recombinación secundaria de un CRF. En Argentina, recombinantes BF de segunda generación, derivados de la recombinación de CRF12_BF con virus del subtipo B, son probablemente más prevalentes que las formas recombinantes circulantes (Perrin y col., 2003; Thomson y col., 2002; Thomson y col., 2000). Estos datos sugieren la posibilidad de reinfección con un subtipo diferente (Altfeld y col., 2002), y que la superinfección no es un fenómeno tan raro como se pensaba anteriormente (Valer y col., 2003). Además del subtipo B, en Suramérica se encuentran los subtipos F y C, y se han reportado recombinantes B/F en Brasil y Argentina.

Varios estudios de la epidemiología molecular del VIH-1 en Brasil mostraron el predominio del subtipo B, con la presencia de subtipos adicionales como F (Morgado y col., 1994, 1996, 1998a, Galvão-Castro y col., 1996, Tanuri y col., 1999, Brazilian Network for HIV Isolation and Characterization 2000), C (WHO 1994, Loureiro y col., 1998, Antunes 1998), D (Morgado y col., 1998a, Tanuri y col., 1999) y, más recientemente, la presencia de subtipo A (Caride y col., 2001, Guimarães y col., 2001). También se han descrito virus Recombinantes de B/F y de B/C (Sabino y col., 1994, Gao y col., 1996, Cornelissen y col., 1996, Tanuri y col., 1999, Vicente y col., 2000, Guimarães y col., 2001), además de las infecciones de subtipos duales (Janini y col., 1996, 1998, Ramos y col., 1999).

Debido al interés para propósitos de la vacuna, la mayoría de los estudios iniciales se realizaron basados originalmente en el análisis del gen de la cubierta (*env*), y, más recientemente con los genes *gag* y para las regiones de la polimerasa genómica. Además de la diversidad inter-subtipo, diferencias genéticas y antigénicas han sido descritas entre los virus del sub-tipo B" que circulan en Brasil, con la identificación de una variante del subtipo que se denominó B, el cual difiere del subtipo clásico por la presencia del motivo GWGR en la punta del "loop" V3 de la proteína gp120 de la cubierta, en lugar del distintivo molecular GPGR (Potts y col., 1993, Morgado y col., 1994, Brazilian Network for HIV Isolation and Characterization 2000). Estos dos subtipos de las variantes de B pueden ser distinguidos por enfoques tanto genéticos (Morgado y col., 1998b, Covas y col., 1998) como antigénicos (Bongertz y col., 1994, Hendry y col., 1996, Casseb y col., 1998), aunque se ha observado neutralización cruzada entre ellos (Bongertz y col., 1997, 1998). Tales observaciones son de consideración importante para la evaluación de la vacuna en países como Brasil, donde el subtipo B" de la variante B tiene una prevalencia alta en algunas áreas brasileñas, las cuales corresponden al 57% de las muestras del subtipo B detectadas en Ribeirão Preto, SP (Covas y col., 1998) y en el 37% de aquéllas de Río de Janeiro, RJ (Morgado y col., 1998a, b).

Brasil es un país grande y diferencias en el modelo de distribución del subtipo se han identificado entre las distintas regiones geográficas. De hecho, considerando que se observaron proporciones similares de subtipos B y F en un estudio dirigido en Manaos (norte de Brasil) (Vicente y col., 2000), en el sureste, varios estudios han mostrado el predominio del subtipo B (~85%) seguido por el subtipo F (~10-15%) (Morgado y col., 1994, 1998a, Tanuri y col., 1999, Brazilian Network for HIV Isolation and Characterization 2000). Es más, un predominio claro del subtipo B (> 90%), con los casos muy limitados de subtipos F y C, se observó en las muestras de VIH-1 del noroeste (Couto-Fernández y col., 1999) y centro-oeste (Stefani y col., 2000), respectivamente. La presencia del subtipo C en el sur Brasil se descubrió inicialmente en 1 de 5 muestras de VIH-1 que se colectaron en Porto Alegre, RS, en un estudio internacional de la Organización Mundial de la Salud (WHO, 1994). En un reciente análisis dirigido por el grupo de Morgado (Morgado et al, 2002), se observaron muestras del subtipo C del VIH-1 en 34% muestras infectadas que se colectaron en Porto Alegre en 1998, que contrasta fuertemente con el patrón de la distribución del subtipo del VIH-1 que se verificó para otras regiones geográficas brasileñas. Este subtipo parece estar extendiendo por todo el mundo y es la cepa más prevalente en la pandemia SIDA (Esparza y Bhamarapravati 2000).

Siguiendo el modelo brasileño, estudios de la epidemiología molecular de VIH-1 en otros países de América del Sur también mostraron el predominio del subtipo B, con la presencia de subtipos adicionales como F en Argentina, Bolivia, Uruguay, Perú, Paraguay, y Venezuela (Campodonico y col.,

1996, Marquina y col., 1996, Velarde-Dunois y col., 2000, Masciotra y col., 2000, Russel y col., 2000, Castro y col., 2003) y casos aislados de A en Chile (Desgranges y col., 1998), Perú (Russel y col., 2000) y Guyana francesa (Kazanji y col., 2001) y E en Uruguay (Artenstein y col., 1995). Es más, también se han descrito virus recombinantes de B/F y/o CRF_012 B/F en Argentina (Marquina y col., 1996, Fernández-Medina y col., 1999, Carr y col., 2001), Uruguay (Carr y col., 2001) y Venezuela (Delgado y col., 2001, Castro y col., 2001, Castro y col., 2003). Los datos de Colombia y Ecuador han mostrado hasta ahora sólo la presencia de subtipo B (Navas y col., 1999, Russel y col., 2000).

El cuadro general de los subtipos y virus recombinantes del VIH-1 que circulan en los países Suramericanos se muestran en la Figura 1. En general, un patrón de distribución muy similar se observa entre los países que ciertamente se reflejarán en estrategias similares de vacunas contra el VIH/SIDA para Suramérica.

Variabilidad genética y desarrollo de vacunas

La primera generación de conceptos para el desarrollo de una vacuna contra el VIH favoreció la respuesta inmune humoral protectora, caracterizada por la presencia de anticuerpos neutralizantes principalmente al "loop" V3 de la envoltura viral. La primera Fase del protocolo, que correspondió a una proteína recombinante de gp160 empezaron en 1987, menos de 5 años después de la identificación del virus (Dolin y col., 1991). Se siguieron varios otros protocolos también enfocándose en la proteína gp120 de la envoltura o a la proteína completa gp160, producida en diferentes sistemas celulares por distintas iniciativas de diseñadores des vacunas (revisado en Bojak y col., 2002). De hecho, la primera vacuna VIH-1 presentada en ensayo de eficacia en Fase III correspondió a este concepto de la vacuna (Francis y col., 1998). Este ensayo de eficacia está siendo conducido ahora en EE.UU. y Tailandia usando, respectivamente, subtipo de vacunas bivalentes VIH-1 gp120 B/B y B/E (Berman y col., 1999), y los primeros resultados se esperan pronto. Sin embargo, la dificultad para neutralizar aislados primarios del virus siempre era un factor limitante de éstos conceptos de la vacuna (Mascola y col., 1996), los cuales son incapaces de inducir anticuerpos contra epítopes neutralizantes altamente conservados (revisado por Moore y col., 2001). Aunque no hay ninguna correlación entre VIH-1 los subtipos y neutralización del virus, la neutralización cruzada del clado ha sido descrita en una magnitud mayor o menor por varios autores (revisado por Moore y col., 2001), reflejando de esta manera la presencia de epítopes comunes del anticuerpo, por lo menos entre las agrupaciones de los subtipos de VIH-1 y variantes del virus.

Un factor altamente relevante descrito en años recientes por muchos grupos de investigación era la asociación entre la presencia de VIH-1 y los linfocitos T citotóxicos CD8+ (CTL) y la disminución de la carga viral del plasma en la infección por VIH (revisado por Brander y Walker 1999). De hecho, una correlación negativa se demostró entre la frecuencia de CTL y la progresión de la enfermedad en los individuos infectados por el VIH (Klein y col., 1995, Musey y col., 1997). También, se observaron aumentos dramáticos en la carga viral en los macacos crónicamente infectados por SIV después del tratamiento por eliminación de los linfocitos T CD8+ que coincidencialmente disminuye con la reaparición de células CD8+ (Jin y col., 1999, Schmitz y col., 1999). Estos resultados han fortalecido la importancia de la inmunidad mediada por células en el control de la infección y la progresión de la enfermedad, lo cual condujo a un re-direccionamiento de los protocolos para la vacuna VIH y la utilización de vectores vivos capaces de inducir la presentación al MHC de péptidos antigénicos a los linfocitos-T CD8+. Además, se ha demostrado reactividad cruzada amplia a los epítopes de los CTL localizados en las regiones muy conservadas del genoma entre los subtipos del VIH-1 (Ferrari y col., 1997, Cao y col., 1997, McAdam y col., 1998), aunque se han descrito reacciones de magnitud superior para las respuestas de CTL subtipo-específicas (Rowland-Jones y col., 1998, Cao y col., 2000, Novitsky y col., 2001).

En este sentido, se han probado ya virus recombinantes de varicela y conceptos de vacunas de ADN en ensayos clínicos Fase I. Aproximaciones alternativas promisorias basadas en vectores, como el polio-virus recombinante, el virus de la encefalitis equina venezolana (VEE), BCG, la salmonela y shigela, entre otras, está bajo el desarrollo como candidatas a vacunas de VIH (revisado por Bojak y col., 2002).

Por otra parte, no se observaron respuestas CTL específicas en protocolos de voluntarios vacunados con proteínas recombinantes del VIH-1; por otro lado, una producción limitada de anticuerpos neutralizantes también fue observada cuando se administraron vacunas recombinantes del virus de

la varicela (Mulligan y Weber, 1999). Considerado la relevancia de la respuesta inmune y la inmunidad humoral mediada por células en el control del VIH, se han propuesto aproximaciones de la vacuna más prometedoras, denominadas como el régimen del primer-empujón incluyendo los conceptos de vacuna con perfiles inmunogénicos complementarios, asociado con la inclusión de componentes multi-antigénicos que consisten de genes estructurales seleccionados del VIH-1, así como los de genes regulatorios que codifican antígenos. En conjunto, estos tipos de acercamientos de la vacuna están intentando amplificar la respuesta inmune al virus, induciendo una inmunidad humoral duradera y mediada por células de carácter multi-específica capaces de prevenir la infección de VIH y/o la progresión de la enfermedad.

Desde el primer ensayo en los humanos de la vacuna VIH al final de los años ochenta, alrededor de 30 diferentes vacunas candidatas para el VIH-1 se han probado en más de 60 ensayos clínicos fase I/II (ver Bojak y col., 2002 para una actualización). La mayoría de ellos se han realizado en EE.UU. y Europa, pero otros ya se han realizado en países en desarrollo como Tailandia, China, Cuba, Uganda y Brasil (Esparza y Bhamarapravati 2000, WHO-UNAIDS Informe 2001).

Los subtipos de VIH-1 están geográficamente distribuidos, con múltiples subtipos y virus recombinantes co-circulando en muchas áreas del mundo. Todos ellos se transmiten similarmente a través del contacto sexual, la contaminación de sangre, y verticalmente de la madre al niño.

La variabilidad nucleotídica entre los subtipos del VIH-1 mostró un 20% para la cubierta, 16% para la proteína estructural *gag* y 13% para las regiones de la polimerasa genómica (Robertson et al. 1999). Esta alta variabilidad genética tiene influencia directa en la constitución antigénica de estos virus. De hecho, los análisis comparativos de las células B relevantes, las células T CD4+ y los linfocitos T- citotóxicos CD8+ (CTL) de los epítopes localizados en estas regiones mostraron un nivel importante de variabilidad en una magnitud mayor o menor entre los subtipos del VIH-1 (HIV Molecular Immunology 2000).

Es por lo tanto importante saber si las cepas circulantes del VIH-1 en los países dónde la vacuna se usará tentativamente, están genética y antigénicamente relacionadas con el prototipo de la vacuna a probarse. Para obtener este tipo de información, es necesario mantener un programa de vigilancia molecular del VIH, verificando sistemáticamente la distribución de los subtipos del VIH-1, así como la introducción de nuevas variantes.

Conclusiones y perspectivas futuras

El descubrimiento de un gran número de virus recombinantes claramente implica que la co-infección con cepas divergentes del VIH-1 no es un evento raro. Por el contrario, las infecciones duales con diferentes subtipos han sido reportadas en regiones geográficas donde co-circulan múltiples variantes (Artenstein y col., 1995; Janini y col., 1998; Peeters y col., 1999; Quiñones-Mateu y col., 1999). En cualquier región geográfica, la proporción de virus recombinantes dependerá de varios factores, entre los que se incluyen la tasa de prevalencia de los diferentes subtipos, la probabilidad que ciertos grupos de población adquieran infecciones múltiples y transmitan los virus, al igual que la eficiencia de los virus mosaico generados en estos eventos. Queda claro entonces que, la frecuencia de la recombinación está aumentando cada vez más, ya que la recombinación es un evento que una vez ocurrido no se puede deshacer, y que por lo tanto, la frecuencia de subtipos de cepas "puras" tiende a disminuir. La recombinación entre cepas diversas puede contribuir eficientemente a la emergencia de nuevas variantes virales, lo cual podría tener importantes implicaciones tanto para el diagnóstico, mediante pruebas sexológicas o moleculares, como para el tratamiento.

La epidemia de VIH/SIDA es un proceso dinámico que evoluciona rápidamente, cuya epidemiología puede ser realizada por medio de herramientas genéticas, inmunológicas y moleculares. Las infecciones actuales están principalmente asociadas con los viajeros y son causadas por subtipos no-B y CRFs, y ello incrementa la diversidad del VIH-1, especialmente en la región asiática, centro y Suramérica; lo que a su vez conlleva a la aparición de nuevas formas recombinantes.

El tratamiento de la infección por el VIH-1 ha sido revolucionado por la introducción en el mercado de la terapia antiretroviral altamente activa (HAART, highly active antiretroviral therapy). En los países donde está disponible, la misma ha reducido la mortalidad a corto plazo de los infectados, y ha incrementado la calidad de vida previniendo las enfermedades oportunísticas (Palella F y col., 1998; Hammer, 2002). Pero la emergencia de cepas mutadas del VIH-1, con resistencia a una o más clases de drogas antiretrovirales sigue siendo

una causa importante de falla en el tratamiento. La diversidad genética del VIH-1, tal y como ha sido demostrada por la secuenciación a gran escala y el esfuerzo colaborativo a nivel mundial, nos enfrenta a nuevos retos para el desarrollo de nuevos tratamientos y de vacunas, siendo necesario el desarrollo de pruebas genotípicas y fenotípicas que permitan el manejo terapéutico guiado debido a la resistencia a los medicamentos.

Referencias

1. Altfeld M, Allen T, Yu X, et al., 2002. HIV-1 superinfection despite broad CD+8 T-cell responses containing replication of the primary virus. Nature 420:434-439.
2. Antunes CV 1998. Molecular epidemiology of HIV/AIDS in southern Brazil. 12th World AIDS Conference, Geneva, June 28- July 3, abst. 61003, p.1183.
3. Artenstein AW, Coppola J, Brown AE, Carr JK, Sanders-Buell E, Galbarini E, Mascola JR, VanCott TC, Schonbrood P, McCutchan FE 1995. Multiple introductions of HIV-1 subtype E into the western hemisphere. Lancet 346 (8984): 1197-1198.
4. Bobkov A, Cheingson-Popov R, Selimova L, et al., 1997. An HIV type 1 epidemic among injecting drug users in the former Soviet Union caused by a homogeneous subtype A strain. AIDS Res Hum Retroviruses 13:1195-1201.
5. Bojak A, Deml L, Wagner R 2002. The past, present and future of HIV-vaccine development: a critical view. Drug Discov Today 7: 36-46.
6. Bongertz V, Costa CI, Guimarães ML, Soares da Costa MFG, Grinsztejn B, HEC/Fiocruz AIDS Clinical Research Group, Bastos FI, Pilotto JH, João Filho EC, Loureiro R, Chequer P, Telles PR, Galvão-Castro B, Morgado MG 1998a. HIV specific humoral immune response in Rio de Janeiro. Mem Inst Oswaldo Cruz 93: 391-398.
7. Bongertz V, Costa CI, Guimarães ML, Grinsztejn B, João Filho EC, Galvão-Castro B, Morgado MG 1998b. Neutralization susceptibility of B subtype variant B" primary HIV-1 isolates. The HEC/Fiocruz AIDS Clinical Research Group. Scand J Immunol 47: 603-608.
8. Bongertz V, Costa CI, Santos VGV, João Filho EC, Galvão-Castro B, Morgado MG, and the Hospital Evandro Chagas AIDS Clinical Res Group 1997. Correlation between susceptibility of primary HIV-1 isolates to autologous and heterologous neutralizing antibodies. AIDS 11: 969-975.
9. Brander C, and Walker BD 1999. T lymphocyte responses in HIV-1 infection: implications for vaccine development. Curr Opin Immunol 11: 451-459.
10. Brazilian Network for the HIV-1 Isolation and Characterization (Bongertz V, Bou-Habib DC, Brigido LFM, Caseiro M, Couto-Fernandez JC, Ferreira PC, Freitas CO, Galvão-Castro B, Greco D, Guimarães ML, Linhares de Carvalho MI, Morgado MG, Oliveira CAF, Osmanov S, Ramos CA, Rossini M, Sabino E, Tanuri A, Ueda M 2000. HIV-1 diversity in Brazil: genetic, biological and immunological characterization of HIV-1 strains in three potential HIV vaccine evaluation sites. J Acquir Immune Defic Syndr 23: 184-193.
11. Campodonico M, Janssens W, Heyndrickx L, Fransen K, Leonaers A, Fay FF, Taborda M, Van der Groen G, Fay OH 1996. HIV type 1 subtypes in Argentina and genetic heterogeneity of the V3 region. AIDS Res Hum Retroviruses 12: 79-81.
12. Cao H, Mani I, Vincent R, Mugerwa R, Mugyenyi P, Kanki P, Ellner J, Walker BD 2000. Cellular immunity to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) clades: relevance to HIV-1 vaccine trials in Uganda. J Infect Dis 182: 1350-1356.
13. Cao H, Kanki P, Sankalé J-L, Dieng-Sarr A, Mazzara GP, Kalams SA, Korber B, Mboup S, Walker BD 1997. Cytotoxic T-lymphocyte cross-reativity among different Human Immudefinciency virus type 1 clades: Implications for vaccine development. J Virol 71: 8615-8623.
14. Caride E, Brindeiro R, Hertogs K, Larder B, Dehertogh P, Machado E, Sá CA, Eyer-Silva WA, Sion FS, Passioni LF, Menezes JA, Calazans A, Tanuri A 2001. Drug-resistant reverse transcriptase genotyping and phenotyping B and non-B subtypes (F and A) of human immunodeficiency virus type 1 found in Brazilian patients falling HAART. Virology 275: 107-115.
15. Carr JK, Avila M, Carrillo MG, Salomon H, Hierholzer J, Watanaveeradej V, Pando MA, Negrete M, Russell KL, Sanchez J, Birx DL, Andrade R, Vinoles J, McCutchan FE 2001. Diverse BF recombinants have spread widely since the introduction of HIV-1 into South America. AIDS 15: F41-F47.
16. Casseb J, Hong MA, Gonsalez C, Brigido LF, Duarte AJ, Michael-Hendry R 1998.Two variants of HIV-1 B serotype are transmitted heterosexually in São Paulo, Brazil. Braz J Med Biol Res 31: 1243-1246.
17. Castro E, Echeverría G, Deibis L, Gonzalez de Salmen B, Dos Santos Moreira A, Guimarães ML, Bastos FI, Morgado MG 2003. Molecular epidemiology of HIV-1 in Venezuela: high prevalence of HIV-1 subtype B and identification of a B/F recombinant infection. J Acquir Immune Defic Syndr 32:338-44.
18. Castro E, Echeverría G, Deibis L, Gonzales B, Moreira AS, Morgado MG 2001. Subtype and phylogenetics analysis of HIV-1 isolates from Venezuela. The first IAS Conference on HIV pathogeneses and treatments, Buenos Aires, Argentina, July 2001.
19. Cornelissen M, Kampinga G, Zorgdrager F, Goudsmit J, the UNAIDS network for HIV isolation and characterization 1996. Human immnodeficiency virus type 1 subtypes defined by env show high frequency of recombination gag genes. J Virol 70: 8209-8212.
20. Couto-Fernandez JC, Morgado MG, Bongertz V, Tanuri A, Andrade T, Brites C, Galvão-Castro B 1999. HIV-1 subtyping in Salvador, Bahia, Brazil: a city with African sociodemographic characteristics. J Acquir Immune Defic Syndr 22: 288-2893.
21. Covas DT, Biscaro TA, Kashima S, Duarte G, Machado AA 1998. High frequency of the GWG (Pro Trp) envelope variant of HIV-1 in Southeast Brazil. J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol 19: 74-99.
22. Delgado E, Thomson MM, Villahermosa ML, et al., 2002. Identification of a newly characterized HIV-1 BG intersubtype recombinant viruses circulating recombinant form in Galicia, Spain, which exhibits a pseudotype-like virión structure. J Acquir Immune Defic Syndr 29:536-543.
23. Delgado E, Leon-Ponte M, Villahermosa ML, Cuevas MT, Deibis L, Echeverria G, Thomson MM, Perez-Alvarez L, Osmanov S, Najera R 2001. Analysis of HIV type 1 protease and reverse transcriptase sequences from Venezuela for drug resistance-associated mutations and subtype classification: a UNAIDS study. AIDS Res Hum Retroviruses 17: 753-758.
24. Desgranges C, Fillon S, Letouneur F, Buzelay L, Sepulveda C, Guzman M-A, Afani A, Barin F, Saragosti S 1998. HIV-1 subtypes in Santiago, Chile. AIDS 12: 1563-1565.
25. Dolin R, Graham BS, Greenberg SB, Tacket CO, Belshe RB, Midthun K, Clements ML, Gorse GJ, Horgan BW, Atmar RL 1991. The safety and immunogenicity of a human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) recombinant gp160 candidate vaccine in humans. NIAID AIDS Vaccine Clinical Trials Network. Ann Intern Med 114: 119-127.
26. Duque V, Holguin A, Silvestre M, González-Lahoz J, Soriano V 2003. HIV type 1 recombinant B/G subtypes circulating in Coimbra, Portugal. Clin Microbiol Infect 9:422-425.
27. Esparza J, and Bhamarapravati N 2000. Accelerating the development and future availability of HIV-1 vaccines: Why, when, where and how? The Lancet 355: 2061-2066.
28. Esteves A, Parreira R, Venenno T, et al., 2002. Molecular epidemiology of HIV type 1 infection in Portugal:

high prevalence of non-B subtypes. AIDS Res Hum Retroviruses 18:313-325.
29. Fernández-Medina D, Jansson M, Rabinovich RD, Libonatti O, Wigzell H 1999. Identification of human immunodeficiency virus type 1 subtypes B and F B/F recombinant and dual infection with these subtypes in Argentina. Scand J Infect Dis 31: 235-242.
30. Ferrari G, Humphrey W, McElrath MJ, Excler JL, Duliege AM, Clements ML, Corey LC, Bolognesi DP, Weinhold KJ 1997. Clade B-based HIV-1 vaccines elicit cross-clade cytotoxic T lymphocyte reactivities in uninfected volunteers. Proc Natl Acad Sci USA 94: 1396-1401.
31. Francis DP, Gregory T, McElrath MJ, Belshe RB, Gorse GJ, Migasena S, Kitayaporn D, Pitisuttitham P, Matthews T, Schwartz DH, Berman PW 1998. Advancing AIDSVAX to phase 3. Safety, immunogenicity, and plans for phase 3. AIDS Res Hum Retroviruses 14 (Suppl. 3): S325-331.
32. Galvão-Castro B, Couto-Fernandez JC, Mello MA, Linhares-de-Carvalho MI, Castello-Branco LR, Bongertz V, Ferreira PC, Morgado M, Sabino E, Tanuri A 1996. A nationwide effort to systematically monitoring HIV-1 diversity in Brazil: preliminary results. Brazilian Network for the HIV-1 Isolation and Characterization. Mem Inst Oswaldo Cruz 91: 335-338.
33. Gao F, Yue L, White AT, et al., 1992. Human infection by genetically-diverse SIVsm-related HIV-2 in West Africa. Nature 358: 495-499.
34. Gao F, Bailes E, Robertson DL et al. 1999. Origin of HIV-1 in the chimpanzee Pan troglodytes troglodytes. Nature 397: 436-441.
35. Gao F, Robertson DL, Morrison SG, Hui H, Craig S, Decker J, Fultz PN, Girard M, Shaw GM, Hahn BH, Sharp PM 1996. The heterosexual human immunodeficiency virus type 1 epidemic in Thailand is caused by an intersubtype (A/E) recombinant of African origin. J Virol 70: 7013-7029.
36. Guimarães M, Moreira A, Morgado M 2001. Molecular characterization of CTL epitopes among prevalent Brazilian HIV-1 subtypes. AIDS Vaccine 2001, Philadelphia, PA, USA, abstract 261.
37. Hahn B, Shaw G, De Cock, Sharp P 2000. AIDS as a zoonosis: scientific and public health implications. Science 287: 607-614.
38. Hammer M 2002. Increasing choices for HIV therapy. N Engl J Med 346:2022-2023.
39. Hendry RM, Hanson CV, Bongertz V, Morgado M, Duarte A, Casseb J, Brígido L, Sabino E, Diaz R, Galvão-Castro B 1996. Immunoreactivity of Brazilian HIV isolates with different V3 motifs. Mem Inst Oswaldo Cruz 91: 347-348.
40. Hirsch V, Olmsted R, Murphey-Corb M, Purcell, Johnson P 1989. An African primate lentivirus (SIVsm) closely related to HIV-2. Nature 339: 389-392.
41. HIV Molecular Immunology Database 2000. In BTM Korber, C Brander, BF Haynes, R Koup, C Kuiken, JP Moore, BD Walker, D Watkins (Eds.), Los Alamos National Laboratory: Theoretical Biology and Biophysics, Los Alamos, NM.
42. Ho DD, Neumann AU, Perelson AS, Chen W, Leonard JM, Markowitz M 1995. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. Nature 373: 123-126.
43. Hoelscher M, Kim B, Maboko L, et al., 2001. High proportion of unrelated HIV-1 intersubtype recombinants in the Mbeya region of southwest Tanzania. AIDS 15:1461-1470.
44. Hu WS, Temin HM 1990. Retroviral recombination and reverse transcription. Science 250: 1227-1233.
45. Janini LM, Pieniazek D, Peralta JM, Schechter M, Tanuri A, Vicente AC, dela Torre N, Pieniazek NJ, Luo CC, Kalish ML, Schochetman G, Rayfield MA 1996. Identification of single and dual infections with distinct subtypes of human immunodeficiency virus type 1 by using restriction fragment length polymorphism analysis. Virus Genes 13: 69-81.
46. Janini LM, Tanuri A, Schechter M, Peralta JM, Vicente AC, Dela Torre N, Pieniazek NJ, Luo CC, Ramos A, Soriano V, Schochetman G, Rayfield MA, Pieniazek D 1998. Horizontal and vertical transmission of human immunodeficiency virus type 1 dual infections caused by viruses of subtypes B and C. J Infect Dis 177: 227-231.
47. Jin X, Bauer DE, Tuttleton SE, Lewin S, Gettie A, Blanchard J, Irwin CE, Safrit JT, Mittler J, Weinberger L, Kostrikis LG, Zhang L, Perelson AS, Ho DD 1999. Dramatic rise in plasma viremia after CD8 (+) T cell depletion in simian immunodeficiency virus-infected macaques. J Exp Med 189: 991-998.
48. Kalish M, Baldwin A, Raktham S, et al., 1995. The evolving molecular epidemiology of HIV-1 envelope subtypes in injecting drug users in Bangkok, Thailand: implications for HIV vaccine trials. AIDS 9:851-857.
49. Kazanji M, Lavergne A, Pouliquen J-F, Magnien C, Bissuel F, Marty C, Couppie P, Talarmin A 2001. Gemetic diversity and phylogenetic analysis of human immunodeficiency virus type 1 subtypes circulating in French Guiana. AIDS Res Hum Retrovirus 17: 857-861.
50. Klein MR, van Baalen CA, Holwerda AM, Kerkhof Garde SR, Bende RJ, Keet IP, Eeftinck-Schattenkerk JK, Osterhaus AD, Schuitemaker H, Miedema F 1995. Kinetics of Gag-specific cytotoxic T lymphocyte responses during the clinical course of HIV-1 infection: a longitudinal analysis of rapid progressors and long-term asymptomatics. J Exp Med 181: 1365-1372.
51. Kuiken C, Thalallapalli R, Esklid A, De Ronde 2000. Genetic analysis reveals epidemiologic patterns in the spread of HIV. Am J Epidemiol 152: 814-822.
52. Lukashov V, Cormelissen M, Goudsmit J, et al., 1995. Simultaneous introduction of distinct HIV-1 subtypes into different six groups in Russia, Byelorussia and Lithuania. AIDS 9:435-439.
53. Magiorkinis G, Paraskevis D, Magiorkinis E, Bañadme A, Hatzakis A 2002. Reanalysis of the HIV-1 circulating recombinant form A/E (CRF01_AE): evidence of A/E/G recombination. J Acquir Immune Defic Syndr 30:124-129.
54. Marquina S, Leitner T, Rabinovich RD, Benetucci, Libonatti O, Albert J 1996. Coexistence of subtype B, F and B/F env recombinant of HIV type 1 in Buenos Aires, Argentina. AIDS Res Hum Retroviruses 12: 1651-1654.
55. Mascola JR, Louder MK, Surman SR, Vancott TC, Yu XF, Bradac J, Porter KR, Nelson KE, Girard M, McNeil JG, McCutchan FE, Birx DL, Burke DS 1996. Human immunodeficiency virus type 1 neutralizing antibody serotyping using serum pools and an infectivity reduction assay. AIDS Res Hum Retroviruses 12: 1319-1328.
56. McAdam S, Kaleebu P, Krausa P, Goulder P, French N, Collin B, Blanchard T, Whitworth J, McMichael A, Gotch F 1998. Cross-clade recognition of p55 by cytotoxic T lymphocytes in HIV-1 infection. AIDS 12: 571-579.
57. Moore JP, Parren PW, Burton DR 2001. Genetic subtypes, humoral immunity, and human immunodeficiency virus type 1 vaccine development. J Virol 75: 5721-5729.
58. Morgado MG, Guimarães ML, Galvão-Castro B 2002. HIV-1 polymorphisms: a challenge for vaccine development- A review. Mem Inst Oswaldo Cruz 97:143-150.
59. Morgado MG, Guimarães ML, Gripp CBG, Neves Jr. I, Costa CI, Santos VGV, Linhares-de-Carvalho MI, Galvão-Castro B, Bongertz V, The Hospital Evandro Chagas AIDS Clinical Research Group 1998a. High prevalence of HIV-1 subtype B and identification of an HIV-1 subtype D infection in the City of Rio de Janeiro, Brazil. J AIDS Hum Retroviruses 18: 488-494.
60. Morgado MG, Guimarães ML, Neves Jr I, Costa CI, Santos VGV, Linhares-de-Carvalho MI, Galvão-Castro B, Bongertz V 1996. Polymorphism of the predictive antigenic sites on the V3 loop of Brazilian HIV-1 subtype strains. Mem Inst Oswaldo Cruz 91: 339-342.
61. Morgado MG, Guimarães ML, Neves Jr I, Veloso VG, Linhares-de-Carvalho MI, Castello-Branco LR, Bastos FI, Castilho EA, Galvão-Castro B, Bongertz V, The Hospital Evandro Chagas AIDS Clinical Research Group 1998b. Polymorphism of the antigenically distinct HIV-1 B subtype strains. Mem Inst Oswaldo Cruz 93: 383-386.

62. Morgado MG, Sabino EC, Shpaer EG, Bongertz V, Brigido L, Guimarães MDC, Castilho EA, Galvão-Castro B, Mullins JL, Hendry RM, Mayer A 1994. V3 region polymorphism in HIV-1 from Brazil: Prevalence of subtype B strains divergent from the North American/European prototype and detection of subtype F. AIDS Res Hum Retroviruses 10: 569-575.
63. Mulligan MJ and Weber J 1999. Human trials of HIV-1 vaccines. AIDS 13 (Suppl. A): S105-112.
64. Musey L, Hughes J, Schacker T, Shea T, Corey L, McElrath MJ 1997. Cytotoxic-T-cell responses, viral load, and disease progression in early human immunodeficiency virus type 1 infection. N Engl J Med 337: 1267-1274.
65. Navas M-A, Letourneur F, Gomas E, Boshell J, Saragosti S 1999. Analysis of the V3 loop sequences from 12 HIV type 1-infected patients from Colombia, South America. AIDS Res Hum Retroviruses 15: 1141-1144.
66. Novitsky V, Rybak N, McLane MF, Gilbert P, Chigwedere P, Klein I, Gaolekwe S, Chang SY, Peter T, Thior I, Ndung'u T, Vannberg F, Foley BT, Marlink R, Lee TH, Essex M 2001. Identification of human immunodeficiency virus type 1 subtype C Gag-, Tat-, Rev-, and Nef-specific elispot-based cytotoxic T-lymphocyte responses for AIDS vaccine design. J Virol 75: 9210-9228.
67. Osmanov S, Pattou Walker N, Schwardlander B, Esparza J 2002. Estimated global distribution and regional spread of HIV-1 genetic subtypes in the year 2000. J Acquir Immune Defic Syndr 29Ñ184-190.
68. Palella F, Delaney K, Moorman A, et al., 1998. Declining morbidity and mortality among patients with advanced HIV infection. HIV Outpatient Study Investigators. N Engl J Med 338:853-860.
69. Peeters M, Liegeois F, Torimiro N, et al., 1999. Characterization of a highly replicative intergroup M/O recombinant HIV-1 virus isolated from Cameroonian patient. J Virol 73:7368-7375.
70. Perrin L, Kaiser L, Yeray S 2003. Travel and the spread of HIV-1 genetic variants. Lancet Infect Dis 3: 22-27.
71. Potts KE, Kalish ML, Lott T, Orloff G, Luo CC, Bernard MA, Alves CB, Badaro R, Suleiman J, Ferreira O, and the Brazilian Collaborative AIDS Research Group 1993. Genetic heterogeneity of the V3 region of the HIV-1 envelope glycoprotein in Brazil. AIDS 7: 1191-1197.
72. Quiñones-Mateu M, Arts EJ 1999. Recombination in HIV-1: update and implications. AIDS Rev 1:89-100.
73. Preston BD, Poiesz BJ, Loeb LA 1988. Fidelity of HIV-1 reverse transcriptase. Science 242: 1168-1171.
74. Ramos A, Nguyen L, Hu D, et al., 2003. New HIV type 1 CRF01_AE-B recombinants displaying unique distribution of breakpoints from incident infections among injecting drug users in Thailand. AIDS Res Hum Retroviruses 19:667-674.
75. Ramos A, Tanuri A, Schechter M, Rayfiel MA, Hu DJ, Cabral MC, Bandea CI, Baggs J, Pieniazek D 1999. Dual and recombinant infections: an integral part of the HIV-1 epidemic in Brazil. Emerg Infect Dis 5: 65-74.
76. Rinke de Wit T, Tsegaye A, Wolday D, et al., 2002. Primary HIV-1 subtype C infection in Ethiopia. J Acquir Immune Defic Syndr 30:463-470.
77. Robertson DL, Anderson JP, Bradac JA et al., 2000. HIV-1 nomenclature proposal. Science 288: 55-56.
78. Robertson DL, Anderson JP, Bradac JA et al., 1999. HIV-1 nomenclature proposal. Human retroviruses and AIDS 1999: a compilation and analysis of nucleic acid and amino acid sequences. In: Kuiken CL, Foley B, Hahn B, Korber B, McCutchan F, Marx PA, et al., Eds. Theoretical Biology and Biophysics Group. Los Álamos, NM: Los Álamos National Laboratory.
79. Russel KL, Carcamo C, Watts DM, Sanchez J, Gotuzzo E, Euler A, Blanco JC, Galeano A, Alava A, Mullins JI, Holmes KK, Carr JK 2000. Emerging genetic diversity of HIV-1 in South America. AIDS 14: 1785-1791.
80. Sabino E, Shpaer E, Morgado MG, Kober BT, Diaz RS, Bongertz V, Cavalcante S, Galvão-Castro B, Mullins JI, Mayer A 1994. Identification of an HIV-1 proviral genome recombinant between subtype B and F in PBMCs obtained from an individual in Brazil. J Virol 68: 6340-6346.
81. Sánchez-Merino V, Herrero C, Amorin-Nink A, Von Briesen H, López-Galíndez C 2003. Genetic analysis of culture-negative UNAIDS subtype C simples. AIDS Res Hum Retroviruses 19:49-55.
82. Schmitz JE, Kuroda MJ, Santra S, Sasseville VG, Simon MA, Lifton MA, Racz P, Tenner-Racz K, Dalesandro M, Scallon BJ, Ghrayeb J, Forman MA, Montefiori DC, Rieber EP, Letvin NL, Reimann KA 1999. Control of viremia in simian immunodeficiency virus infection by CD8+ lymphocytes. Science 283(5403): 857-860.
83. Stefani MM, Pereira GA, Martelli CM, Shindo N, Galvão-Castro B 2000. Evidence of HIV-1 genetic diversity among pregnant women with AIDS or infected with HIV-1 in Central Brazil. J Acquir Immune Defic Syndr 23: 205-207.
84. Subbarao S, Vanichseni S, Hu D, et al., 2000. Genetic characterization of incident Hlv type 1 subtype E and B Strains from a prospective cohort in injecting drug users in Bangkok, Thailand. AIDS Res Hum Retroviruses 16:699-707.
85. Swanson P, Devare S, Hackett J 2003. Full-length sequence analyses of HIV-1 isolate CM237: a CRF01_AE/B intersubtype recombinant from Thailand. AIDS Res Hum Retroviruses 19:707-712.
86. Tanuri A, Swanson P, Devare S, Berro O, Savedra A, Costa LJ, Telles JG, Brindeiro R, Schable C, Pieniazek D, Rayfield M 1999. HIV-1 subtypes among blood donors from Rio de Janeiro, Brazil. J Acq Immune Defic Syndr Hum Retr 20: 60-66.
87. Thomson MM, Pérez-Álvarez L, Nájera R 2002. Molecular epidemiology of HIV-1 genetic forms and its significance for vaccine development and therapy. Lancet Infect Dis 2:461-471.
88. Thomson M, Delgado E, Herrero I, et al., 2002. Diversity of mosaic structures and common ancestry of HIV type 1 BF intersubtype recombinant viruses from Argentina revealed by analysis of near full-length genome sequences. J Gen Virol 83:107-119.
89. Thomson M, Delgado E, Manjon N, et al., 2001. HIV-1 genetic diversity in Galicia, Spain: BG intersubtype recombinant viruses circulating among injecting drug users. AIDS 15:509-516.
90. Thomson M, Villahermosa M, Vázquez-de-Parra E, et al., 2000. Widespread circulation of a B/F intersubtype recombinant form among HIV-1 infected individuals in Buenos Aires, Argentina. AIDS 14:897-899.
91. Valer L, De Mendoza C, Soriano V 2003. HIV superinfection: clinical and biological implications. Med Clin (Barcelona) 121:192-196.
92. Velarde-Dunois KG, Guimarães M L, La Fuente C, Andrade R, Arévalo R, Pantoja S, Mariscal R, Sandoval R, Iriarte F, Chamón V, Melgar M, Carvajal R, Morgado MG 2000. Molecular characterization of human immunodeficiency virus type-1 infected individuals from Bolivia reveals the presence of two distinct genetic subtypes B and F. AIDS Res Hum Retroviruses 16: 1921-1926.
93. Triques K, Burgeois A, Saragosti S, et al., 1999. High diversity of HIV-1 subtype F strains in Central Africa. Virology 259:99-109.
94. Vicente ACP, Otsuki K, Silva NB, Castilho MC, Barros FS, Pieniazek D, Hu D, Rayfield MA, Bretas G, Tanuri A 2000. The HIV epidemic in the Amazon basin is driven by prototypic and recombinant HIV-1 subtypes B and F. J AIDS 23: 327-331.
95. Wei X, Ghosh SK, Taylor ME, et al., 1995. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. Nature 373: 117-122.
96. WHO Network for HIV Isolation and Characterization 1994. HIV-1 type 1 variation in World Health Organization-sponsored vaccine evaluation sites: Genetic screening, sequence analysis and preliminary biological characterization of selected viral strains. AIDS Res Hum Retroviruses 10: 1327-1343.
97. WHO/UNAIDS Report 2001. Future access to HIV vaccines. AIDS 15: W27-44.
98. Yang R, Xia X, Kusagawa S, Zhang C, Ben K, Takebe Y 2002. Ongoing generation of multiple forms of HIV-1 intersubtype recombinants in the Yunnan Province of China. AIDS 16:1401-1407.
99. Zewde A, Bahiru S, Sanders E, et al., HIV-1 seroprevalence and subtypes in police from Afar regional State, Ethiopia. Ethiop Med J 40(Suppl 1):1-10.