

Seroprevalencia del Virus de Inmunodeficiencia Humana del tipo recombinante en pacientes atendidos en diferentes nosocomios de la ciudad de Guayaquil, periodo enero 2010 – diciembre 2012

Seroprevalence of recombinant human immunodeficiency virus in patients treated in different hospitals of the city of Guayaquil, period January 2010 - December 2012

Diego Vásquez-Cedeño¹, Andrés Molina-Riofrío²

¹Médico epidemiólogo, Coordinador de Egreso, Carrera de Medicina, Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, Ecuador

²Médico adjunto, Carrera de Medicina, Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, Ecuador

RESUMEN

Introducción: la creciente prevalencia de la infección por VIH/SIDA va de la mano con la aparición de variables filogenéticas de este agente etiológico. En la actualidad, el análisis filogenético de los aislamientos del VIH-1 a partir de muestras provenientes de los cinco continentes han determinado la existencia de alrededor de 43 subtipos de virus recombinantes en todo el mundo.

Objetivo: determinar la prevalencia de virus recombinante que afecta a la población guayaquileña VIH/SIDA positiva.

Metodología: estudio retrospectivo, analítico, prevalente, descriptivo. Los pacientes fueron atendidos en nosocomios cuales cuentan con Clínica del SIDA. Las muestras fueron procesadas en el Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública. No se empleó cálculo muestral.

Resultados: de los 55 pacientes que en el periodo de estudio fueron derivados al hospital de infectología, se incluyó a 27 al estudio por motivos logísticos. En cuanto al género de pacientes, femenino 51%, masculino 40%. En cuanto a grupos etarios, menores de edad 11%; de 18 a 30 años, 22%; de 31 a 40 años, 25%; de 51 a 65 años, 2%. Subtipo B presentó prevalencia del 92%, y el CRF02-AG 8%.

Conclusión: debido al tamaño de la muestra recolectada tendríamos solo proyecciones de un escenario en el cual el virus recombinante no constituye un virus frecuente dentro de la población guayaquileña, y su pequeña prevalencia no es tampoco responsable de la resistencia farmacológica, contradiciendo los principios de variabilidad genética. La autoría sugiere en próximas investigaciones epidemiológicas al respecto, incluir un circuito nacional de nosocomios con Clínicas del SIDA, a fin de disminuir un potencial sesgo poblacional.

Palabras clave: agentes antirretrovirales, filogenia, VIH-1 recombinante subtipo CRF02 AG, VIH seroprevalencia

ABSTRACT

Introduction: the increasing prevalence of HIV/AIDS goes hand in hand with the emergence of phylogenetic variables of this etiologic agent. Currently, phylogenetic analysis of HIV-1 isolates from samples from five continents have determined the existence of about 43 subtypes of the recombinant virus worldwide.

Objective: to determine the prevalence of a recombinant viral subtype that affects the population of the city of Guayaquil that is HIV/AIDS positive.

Methodology: a retrospective, analytical, prevalent, descriptive study. Patients were treated in nosocomial which have AIDS Clinic. The samples were processed at the National Institute of Public Health Research. No sample calculation was used.

Results: of the 55 patients in the study period were referred to the infectious diseases hospital was included only 27 to study for logistical reasons. Regarding gender of patients, 51% female, 40% male. As for age groups, children 11%; 18 to 30 years, 22%; 31 to 40 years, 25%; from 51 to 65, 2%. Subtype B presented a prevalence of 92%, and CRF02-AG 8%.

Conclusion: due to the size of the sample collected would only projections of a scenario in which the recombinant virus is not a common virus in the Guayaquil population, and its small prevalence is not responsible for drug resistance, contradicting the principles of genetic variability. The authorship suggests that in future epidemiological research in this regard should include a national circuit with nosocomial AIDS Clinics, in order to reduce potential bias population.

Keywords: anti-retroviral Agents, HIV-1 recombinant subtype CRF02 AG, HIV seroprevalence, phylogeny

Recibido 08/09/13; Revisado 23/09/13; Aceptado 20/11/13

¹Correspondencia: Dr. Diego Vásquez Cedeño
Conflicto de intereses: ninguno declarado

Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, Avenida Carlos Julio Arosemena Tola Km 1.5, Guayaquil
Teléfono: (593-4) 220-6951

Correo electrónico: diego.vasquez@cu.ucsg.edu.ec

© 2013 Revista MedPre

Cómo citar este artículo: Vásquez-Cedeño D, Molina-Riofrío A. Seroprevalencia del Virus de Inmunodeficiencia Humana del tipo recombinante en pacientes atendidos en diferentes nosocomios de la ciudad de Guayaquil, periodo enero 2010 – diciembre 2012. MedPre. 2013 Diciembre;3(2):48-53

INTRODUCCIÓN

La creciente prevalencia de la infección por VIH/SIDA va de la mano con la aparición de variables filogenéticas de este agente etiológico. La evidencia científica actual señala esta variabilidad genética del VIH como responsable en la patogénesis, fácil transmisibilidad y rápida progresión a SIDA, así como también en la aplicabilidad y eficacia de las pruebas diagnósticas y en la aparición de resistencia del virus a las drogas antirretrovirales (ARV).^{1,2}

Por consiguiente, la tipificación molecular se constituye en una poderosa herramienta epidemiológica para monitorear los cambios genéticos del virus y su relación con todas las variables mencionadas, en particular con su distribución geográfica y demográfica que permite seguir el curso de las epidemias de VIH-1 a nivel mundial.³ En la actualidad, el análisis filogenético de los aislamientos del VIH-1 (más prevalente en sudamérica) a partir de muestras provenientes de los cinco continentes han permitido identificar los distintos subtipos genéticos, los cuales han sido clasificados en cuatro diferentes grupos: M (Main), O (Outlier), N (no-M no-O) y P, encontrándose además alrededor de 43 subtipos recombinantes en todo el mundo.^{1,2,4,5}

El grupo M, que incluye el 95% de los aislamientos virales, se ha dividido en nueve subtipos y éstos, en sub-subtipos (A1, A2, A3, A4, B, C, D, F1, F2, G, H, J y K), en base a la variación de los genes *env*, *pol* y *gag* así como también la secuencia completa del genoma, mostrando cada uno de ellos un patrón único de distribución geográfica.^{1,2,4,5} En el Ecuador, un estudio realizado por el Instituto de Enfermedades Tropicales del Área Médica Naval de los Estados Unidos de América (NMRCD, por sus siglas en inglés) en colaboración con el Subproceso de Virología del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública demostró la presencia del subtipo B del VIH-1.⁶

En relación a la presencia de virus recombinantes, en Sudamérica, la CRF12_{BF} (mutación recombinante) ha llegado a ser prevalente en la población heterosexual y en los niños infectados verticalmente en Argentina, Brasil y Uruguay. Otras CRF como las B/C, C/B, B/F, F/D y una triple B/C/F también han sido reportadas.^{1,5,7}

Uno de los mecanismos más frecuentes, responsables en la génesis de resistencia, es aquella ocasionada a partir de análogos de los nucleósidos.⁸ Éstos inhiben la transcriptasa

inversa de VIH, por un mecanismo de competición para con el sustrato o nucleósido natural correspondiente. Su fosforilación intracelular precoz da por terminada la transcripción, una vez unida a la cadena. El VIH se defiende contra estas drogas al desarrollar mutaciones cuales logran diferenciar entre los nucleósidos originales y los farmacológicos, o bien a partir de un incremento de la pirofosforólisis.⁹

Por otro lado, existe además una resistencia no análoga a nucleósidos, no por competencia.¹⁰ En ésta existe una inhibición de la transcriptasa inversa en donde no se compete contra ningún sustrato, debido a que se trabaja sobre el centro catalítico de la transcriptasa. De esta forma se hace imposible la formación del complejo enzima-fármaco. Para tal resistencia, basta una única mutación puntual. Así, se demuestra el alto poder de la variabilidad genética sobre la resistencia antirretroviral.¹¹

Además, se cuenta con inhibidores de la proteasa. Éstos detienen la proteasa viral a través de un mecanismo de competencia directa para con el sustrato en el sitio activo catalítico.¹² Los mecanismos de resistencia a estos fármacos están relacionados con mutaciones que inducen cambios en el centro activo del enzima que hacen que se prefiera la poliproteína viral al fármaco en sí.¹³ Otro mecanismo se debe a cambios en los puntos de corte de la proteasa y, aunque estos cambios por sí solos no producen resistencia, en ocasiones mejoran la cinética de la proteasa que ya había incorporado mutaciones de resistencia previa; es decir, mejoran la aptitud de un virus resistente.¹⁴

En Ecuador se ha reportado la presencia de virus recombinantes de manera incipiente.⁶ El objetivo del estudio es determinar la prevalencia de virus recombinante que afecta a la población guayaquileña VIH/SIDA.

METODOLOGÍA

El presente es un estudio retrospectivo, analítico descriptivo, de prevalencia. Se seleccionó pacientes de ambos géneros, VIH positivos, quienes fueron atendidos en las Clínicas del SIDA de diferentes nosocomios guayaquileños, siendo: Hospital Infectológico José Daniel Rodríguez, Hospital Abel Gilbert Pontón y Maternidad Mariana de Jesús, cuyas muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Microbiología y Virología del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI).

Entre los criterios de inclusión para la admisión como paciente miembro del presente estudio, se encuentran: pacientes mayores de 18 años de edad quienes ofrecieran su consentimiento verbal respecto a la participación en dicho estudio; pacientes menores de edad con consentimiento verbal de la participación en el estudio, por parte de sus padres; y aquellos con confirmación diagnóstica serológica de VIH positivo. Entre los criterios de exclusión se destaca la procedencia u atención hospitalaria en nosocomios fuera de los anteriormente citados.

Se prescindió del cálculo muestral, debido a que se cuenta con criterios de inclusión y exclusión, además de lo limitada de la muestra per sé. La información fue obtenida a través de ficha de recolección de datos; muestra de plasma previo consentimiento informado respecto a la participación en el estudio; cuantificación de la carga viral por PCR; y genotipificación por sistema de «Trugene».

Entre las variables necesarias para una correcta tabulación de la información a recolectar, se tomó en cuenta la historia clínica, cualitativa, identificación hospitalaria cifrada; edad: cuantitativa, medida en años; género: cualitativa, sexo biológico, bien sea masculino o femenino; resistencia a drogas: cualitativa; droga(s) en particular; subtipo viral: cualitativo, descripción de subtipo viral. La información fue procesada en el programa Microsoft Excel ® 2007.

RESULTADOS

El presente estudio contó con un universo de cincuenta y cinco pacientes. De estos pacientes, ocho fueron excluidos por carecer del consentimiento verbal propio, cinco por ser menores de edad quienes carecieron del consentimiento verbal de los padres, y quince por ser atendidos en nosocomios cuales no dispusieran de una Clínica del SIDA, es decir, Hospital Infectológico José Daniel Rodríguez, Hospital de Especialidades Guayaquil y Maternidad Mariana de Jesús. En total, la muestra fue de veintisiete pacientes.

Del total de pacientes admitidos al estudio, catorce correspondieron al género femenino, constituyendo el 51% de la muestra, mientras que once al género masculino, un 40%. En dos casos no se reportó el género, un 7%, dado que no se contó con este dato, ni con el nombre del individuo del cual poder inferir el género o sexo biológico.

En cuanto al rango etario, tres pacientes, 11.11%, fueron menores de edad; seis pacientes, 22.22%, se encontraban dentro del rango de dieciocho a treinta años; siete pacientes, 25.93%, se encontraban dentro del rango de treinta y uno a cuarenta años; no existió paciente alguno dentro del rango comprendido de cuarenta y uno a cincuenta años, al igual que en aquellos adultos mayores; dos pacientes fue el total hallado dentro del rango comprendido de cincuenta y uno a sesenta y cinco años de edad, 7.41%. No se reportó la edad en nueve de los pacientes admitidos, 33.33% (Gráfico 1).

Finalmente, respecto a la prevalencia del virus VIH recombinante, se encontró la variante CRF02_AG en dos pacientes, 7.40% de los casos, en comparación con los demás veinticinco pacientes quienes presentaron el tradicional subtipo B, un 92.59% del total de la muestra (Gráfico 2). De los primeros, aquellos con un promedio de sensibilidad farmacológica sobre las veinte drogas investigadas microbiológicamente, fue de 16.04/20, mientras que aquella en los dos casos del subtipo CRF02_AG fue del 18.5/20 (Tabla 1 y 2).

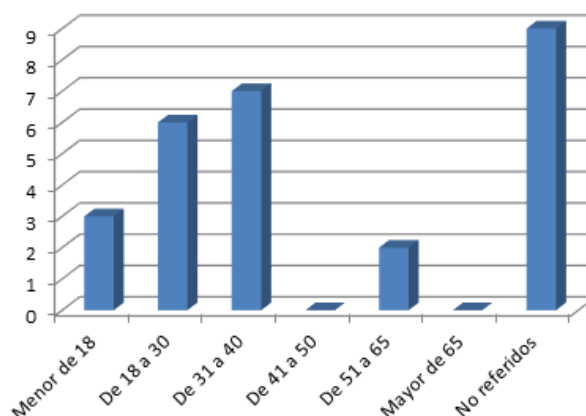


Gráfico 1. Descripción demográfica de la muestra en función de los grupos etarios. *Elaborado por: autores*

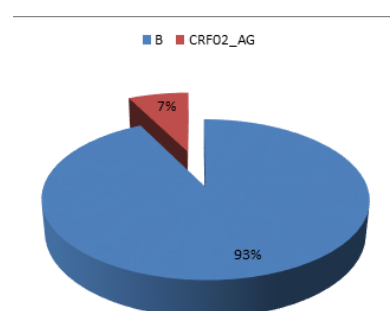


Gráfico 2. Prevalencia de subtipos de virus VIH *Elaborado por: autores*

Tabla 1. Descripción detallada de las variables poblacionales

CÓDIGO	EDAD	GÉNERO	RESISTENCIA A DROGAS														SUBTIPO VIRAL						
			3TC	ABC	AZT	D4T	DDI	FTC	TDF	EFV	DLV	ETR	NVP	ATV	DRV	FPV	IDV	LPV/r	NFV	SQV	TPV	APV	
129	35	F	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	B
724	31	F	R	NR	NR	NR	NR	NR	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	B
1082	31	F	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	B
2080	29	F	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	B
2319	25	F	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	B
2900	36	M	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	B
3244	8	M	R	NR	NR	NR	NR	NR	R	R	R	NR	NR	NR	NR	PR	NR	R	PR	NR	NR	NR	B
3245	2	F	R	NR	PR	NR	NR	NR	R	R	NR	NR	NR	NR	PR	R	PR	R	PR	PR	PR	PR	B
3246	3	M	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	B
3700	N/R	F	PR	PR	NR	NR	NR	PR	R	R	R	PR	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	B
32047	23	F	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	CRF02_AG
29743	27	M	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	R	R	PR	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	B
27334	39	M	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	NR	R	PR	R	R	NR	PR	R	R	B
27199	31	F	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	B
30832	N/R	M	R	PR	R	R	R	PR	R	R	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	B
30029	N/R	F	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	B
27746	N/R	M	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	B
27130	N/R	M	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	R	NR	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	B
25324	29	M	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	R	NR	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	B
24199	N/R	F	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	PR	PR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	B
22808	N/R	N/R	R	NR	NR	NR	NR	NR	R	R	R	NR	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	B
22662	N/R	N/R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	B
24571	55	M	R	R	NR	NR	NR	R	R	R	R	PR	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	B
29102	52	M	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	R	NR	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	B
27745	N/R	F	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	R	NR	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	B
26856	19	F	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	R	NR	R	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	CRF02_AG
26691	34	F	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	PR	NR	NR	NR	NR	B

NR: no resistente; R: resistente; PR: probablemente resistente
Elaborado por: autores

Tabla 2. Descripción de la susceptibilidad o resistencia farmacológica de los diferentes pacientes, y promedio por subtipos. *Elaborado por: autores*

CÓDIGO	NO RESISTENTE O SUSCEPTIBLES	PROBABLEMENTE RESISTENTE	RESISTENTE	TOTAL
129	20	0	0	20
724	15	0	0	15
1082	17	0	0	17
2080	20	0	0	20
2319	20	0	0	20
2900	17	0	0	17
3244	12	2	2	16
3245	8	7	7	22
3246	20	0	0	20
3700	11	5	5	21
32047	20	0	0	20
29743	16	1	1	18
27334	3	2	2	7
27199	20	0	0	20
30832	11	2	2	15
30029	20	0	0	20
27746	20	0	0	20
27130	17	0	0	17
25324	17	0	0	17
24199	17	3	3	23
22808	15	0	0	15
22662	20	0	0	20
24571	12	1	1	14
29102	17	0	0	17
27745	17	0	0	17
26856	17	0	0	17
26691	19	1	1	21
PROMEDIO				
B	16,04	0,96	0,96	17,96
CRF02_AG	18,5	0	0	18,5

DISCUSIÓN

El presente estudio de prevalencias ha demostrado una relación pareja de la exposición viral en relación a los géneros expuestos, 1.2:1, lo cual también se evidencia en otros estudios semejantes.¹⁵⁻¹⁷ No llama la atención dentro de la estadística descriptiva, los rangos etarios. La población joven económicamente productiva sigue presentando la más alta frecuencia de infección contra VIH/SIDA, de treinta y uno a cuarenta años, siete casos, seguido de veintiuno a treinta años, seis casos. Entre ambos grupos etarios, los niños y la ancianidad presentan cifras bajas, como bien es de esperarse.^{18,19}

En Ecuador, el VIH recombinante no constituye un subtipo prevalente, 7.4% de los casos, a diferencia de otras regiones en el mundo como Nigeria, en donde la tasa es superior al 50%.²⁰ Así mismo, un estudio inglés²⁰ reveló datos coincidentes para con los del presente estudio. En éstos, el subtipo B no deja de ser un grupo frecuente, el de mayor prevalencia ($n = 394$), mientras que el subtipo recombinante CRF02_AG constituye una fracción ($n = 25$). El mismo estudio invita a comparar tales resultados con poblaciones argentinas,^{21,22} semejantes regionalmente a la nuestra. Sin embargo, se esperaría que la susceptibilidad farmacológica estuviere presente en el grupo B y no en el CRF02_AG, siendo lo contrario. A pesar de la ironía de los resultados expuestos, la causa puede darse en que solo se incluyó a dos pacientes con este subtipo.

CONCLUSIONES

El VIH recombinante podría no constituirse en el virus frecuente dentro de la población guayaquileña pero al no tener una muestra más numerosa no podríamos llegar a esta conclusión certera, además su pequeña prevalencia en esta muestra no es tampoco responsable de la resistencia farmacológica, contradiciendo los principios de variabilidad genética. La autoría sugiere en próximas investigaciones epidemiológicas al respecto, incluir un circuito nacional de nosocomios con Clínicas del SIDA, a fin de disminuir un potencial sesgo poblacional.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Requejo H. Worldwide Molecular Epidemiology of HIV. Rev Saúde Pública 2006;40(2):331-45.
2. Thomson MM, Pérez-Alvarez L, Nájera R. Molecular epidemiology of HIV-1 genetic forms and its significance for vaccine development and therapy. Lancet Infect Dis. 2002 Aug;2(8):461-71.
3. Eyer-Silva WA, Bello G, Morgado MG. Molecular evidence that human immunodeficiency virus type 1 dissemination in a small Brazilian city was already taking place in the early 1990s. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2007 Aug;102(5):647-9.
4. Yang C, Pieniazek D, Owen SM, Fridlund C, Nkengasong J, Mastro TD, et al. Detection of phylogenetically diverse human immunodeficiency virus type 1 groups M and O from plasma by using highly sensitive and specific generic primers. J Clin Microbiol. 1999 Aug;37(8):2581-6.
5. Taylor BS, Sobieszczyk ME, McCutchan FE, Hammer SM.

- The challenge of HIV-1 subtype diversity. *N Engl J Med.* 2008 Apr 10;358(15):1590-602.
6. Hierholzer J, Montano S, Hoelscher M, Negrete M, Hierholzer M, Avila MM, et al. Molecular Epidemiology of HIV Type 1 in Ecuador, Peru, Bolivia, Uruguay, and Argentina. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2002 Dec 10;18(18):1339-50.
7. Cerqueira DM, Amorim RM, Silva RR, Camara GN, Brígido MM, Martins CR. Antiretroviral resistance and genetic diversity of human immunodeficiency virus type 1 isolates from the Federal District, Central Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2004 Dec;99(8):877-82.
8. Raymond S, Delobel P, Mavigner M, Cazabat M, Souyris C, Encinas S, et al. Genotypic Prediction of Human Immunodeficiency Virus Type 1 CRF02-AG Tropism. *J Clin Microbiol.* Jul 2009; 47(7): 2292–2294.
9. Sagoe KW, Dwidar M, Adiku TK, Arens MQ. HIV-1 CRF 02 AG polymerase genes in Southern Ghana are mosaics of different 02 AG strains and the protease gene cannot infer subtypes. *Virol J.* 2009 Feb 26;6:27.
10. Leoz M, Feyertag F, Charpentier C, Delaugerre C, Wirден M, Lemee V, Plantier JC. Characterization of CRF56_cpx, a new circulating B/CRF02/G recombinant form identified in MSM in France. *AIDS.* 2013 Sep 10;27(14):2309-12.
11. Balla-Jhagjhoorsingh SS, Willems B, Heyndrickx L, Vereecken K, Corti D, Lanzavecchia A, et al. Neutralization of plasma vs. antibodies: the HJ16, HGN194 and HK20 comparisons. *AIDS Res Hum Retrovir.* 2011 Oct;27(10):A118.
12. Damond F, Avettand-Fenoel V, Collin G, Roquebert B, Plantier JC, Ganon A, et al. Evaluation of an upgraded version of the Roche Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan HIV-1 test for HIV-1 load quantification. *J. Clin. Microbiol.* 2010 Apr;48(4):1413-6.
13. Monleau M, Faihun F, Affolabi D, Afangnihoun A, Boillot F, Anagonou S, et al. Antiretroviral drug resistance in HIV-1 infected patients receiving antiretroviral treatment in routine clinics in Cotonou, Benin. *J AIDS HIV Res.* 2011;3(6):114-20.
14. Wirден M, Tubiana R, Marguet F, Leroy I, Simon A, Bonmarchand M, et al. Impact of discrepancies between the Abbott realtime and cobas TaqMan assays for quantification of human immunodeficiency virus type 1 group M non-B subtypes. *J. Clin. Microbiol.* 2009 May;47(5):1543-5.
15. Djoko CF, Wolfe ND, Vidal N, Tamoufe U, Montavon C, LeBreton M, et al. HIV type 1 pol gene diversity and genotypic antiretroviral drug resistance mutations in Malabo, Equatorial Guinea. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2010 Sep;26(9):1027-31.
16. Ragupathy V, Zhao J, Wang X, Wood O, Lee S, Burda S, et al. Comparative analysis of cell culture and prediction algorithms for phenotyping of genetically diverse HIV-1 strains from Cameroon. *AIDS Res Ther.* 2009 Nov 25;6:27.
17. Rangel HR, Garzaro D, Gutiérrez CR, Vásquez L, Guillen G, Torres JR, et al. HIV diversity in Venezuela: predominance of HIV type 1 subtype B and genomic characterization of non-B variants. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2009 Mar;25(3):347-50.
18. Pyne MT, Holzmayer V, John Hackett J, Hillyard DR. Analysis of HIV subtype prevalence and geographic distribution in a large U.S. population. 16th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; Montreal, Canada. Feb 8–11;2009; Poster #292.
19. Easterbrook PJ, 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.
20. Dumans AT, Soares MA, Machado ES, Hué S, Brindeiro RM, Pillay D, et al. Synonymous genetic polymorphisms within Brazilian human immunodeficiency virus Type 1 subtypes may influence mutational routes to drug resistance. *J Infect Dis.* 2004 Apr 1;189(7):1232-8.
21. Carobene MG, Rubio AE, Carrillo MG, Maligne GE, Kijak GH, Quarleri JF, et al. Differences in frequencies of drug resistance-associated mutations in the HIV-1 pol gene of B subtype and BF intersubtype recombinant samples. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2004;35:207
22. Ong LY, Razak SN, Lee YM, Sri La Sri Ponnampalavanar S, Syed Omar SF, Azwa RI, et al. Molecular diversity of HIV-1 and surveillance of transmitted drug resistance variants among treatment Naïve patients, 5 years after active introduction of HAART in Kuala Lumpur, Malaysia. *J Med Virol.* 2014 Jan;86(1):38-44.