

Tesis Doctoral

Epidemiología molecular de HIV, HBV, HCV y HTLV-1/2 en población de trabajadores sexuales hombres y trans (travestis, transexuales o transgénero) de Argentina

dos Ramos Farias, María Sol

2011

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

dos Ramos Farias, María Sol. (2011). Epidemiología molecular de HIV, HBV, HCV y HTLV-1/2 en población de trabajadores sexuales hombres y trans (travestis, transexuales o transgénero) de Argentina. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:

dos Ramos Farias, María Sol. "Epidemiología molecular de HIV, HBV, HCV y HTLV-1/2 en población de trabajadores sexuales hombres y trans (travestis, transexuales o transgénero) de Argentina". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2011.

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Química Biológica

**Epidemiología molecular de HIV, HBV, HCV y HTLV-1/2 en población de
trabajadores sexuales hombres y trans (travestis, transexuales o transgénero) de
Argentina.**

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el
área de Química Biológica.

Lic. María Sol dos Ramos Farías

Directora de Tesis: Dra. María Mercedes Ávila

Consejera de Estudios: Dra. Verónica García

Lugar de trabajo: Centro Nacional de Referencia para el Sida, Departamento de
Microbiología, Parasitología e Inmunología, Facultad de Medicina, UBA.

Buenos Aires
2011

Epidemiología molecular de HIV, HBV, HCV y HTLV-1/2 en población de trabajadores sexuales hombres y trans (travestis, transexuales o transgénero) de Argentina.

El objetivo general de esta tesis fue aportar conocimiento sobre las infecciones de transmisión sexual (ITS) en poblaciones de alta vulnerabilidad y en las que la información era casi inexistente como son los hombres trabajadores sexuales (HTS) y trans (travestis, transexuales o transgénero, hombre a mujer) trabajadoras sexuales (TTS). La incidencia de HIV fue mayor en TTS que en HTS (10,7 y 2,3 por 100 personas-año, respectivamente). Las TTS (N= 273) mostraron una prevalencia significativamente mayor que los HTS (N= 114) de HIV (34,1 vs. 11,4%), HBV (40,2 vs. 22,0%) y *Treponema pallidum* (50,4 vs. 20,4%). Las prevalencias de HCV y HTLV-1/2 no fueron significativamente diferentes entre TTS y HTS (HCV: 4,5 y 6,1%; HTLV-1/2: 1,8 y 1,0%, respectivamente).

Las variantes de HIV más frecuentes fueron el subtipo B y la recombinante BF. En el caso de HBV, se detectó una muestra de genotipo F, dos muestras de genotipo A y una de genotipo C. Respecto al HCV, se detectaron cinco muestras con genotipo 1, tres con genotipo 3 y tres con genotipo 4.

Además, en un grupo de TTS fue posible determinar la prevalencia de HPV y *Chlamydia trachomatis* y sus variantes. Las TTS resultaron positivas para HPV en 111/114 casos y para *C. trachomatis* en 5/113 casos. Los genotipos más frecuentes de HPV fueron el 16, 42, 81 y 58 (el primero y el último de alto riesgo oncogénico). En las muestras positivas para *C. trachomatis* se detectaron dos con genotipo D, una con genotipo E y una con genotipo L2 correspondiente a linfogranuloma venéreo.

La alta prevalencia de ITS y la alta incidencia de HIV demuestran la gran vulnerabilidad de estas poblaciones e indican la urgente necesidad de implementar estrategias preventivas y de facilitar el acceso a programas de salud para las mismas.

Palabras clave: hombres y trans trabajadores sexuales, infecciones de transmisión sexual, epidemiología molecular, HIV, HBV, HCV, HTLV-1/2, HPV, *C. trachomatis*, *T. pallidum*.

Molecular epidemiology of HIV, HBV, HCV and HTLV-1/2 among trans (male to female transvestites, transsexuals, or transgender) and male sex workers populations in Argentina.

The general objective of this thesis was to generate knowledge on sexually transmitted infections among highly vulnerable groups which information is scarce, namely male sex workers (MSW) and male-to-female trans sex workers (TSW).

HIV incidence among TSW was higher than MSW (10.7 and 2.3 per 100 person-years respectively).

TSW (N= 273) showed a significantly higher prevalence of HIV (34.1 vs. 11.4%), HBV (40.2 vs. 22.0%) and *Treponema pallidum* (50.4 vs. 20.4%) than MSW (N= 114). HCV and HTLV-1/2 prevalence was not significantly different among TSW and MSW (HCV: 4.5 and 6.1%; HTLV-1/2: 1.8 and 1.0% respectively).

The most frequently found HIV variants were subtype B and BF recombinant. Regarding HBV, one genotype F was detected as well as two genotype A samples and one genotype C. HCV detected types were one genotype 1, three genotype 3 and three genotype 4.

Besides, it was possible to determine HPV and *Chlamydia trachomatis* prevalence and variants in one group of TSW. TSW tested positive for HPV in 111/114 cases and for *C. trachomatis* in 5/113 cases. The most frequent HPV genotypes were 16, 42, 81 y 58 (the first and the last corresponding to high risk or oncogenic types). Among *C. trachomatis* positive samples two genotypes D, one genotype E and one genotype L2 (*Lymphogranuloma venereum* type) were detected.

The high prevalence of STIs and the high incidence of HIV demonstrate the great vulnerability of these high risk populations and indicate the urgent need for preventive strategies on intervention and facilitation of access to healthcare programs.

Key words: male sex workers and male-to-female trans sex workers, sexually transmitted infections, molecular epidemiology, HIV, HBV, HCV, HTLV-1/2, HPV, *C. trachomatis*, *T. pallidum*.

A la Dra. María Mercedes Ávila por abrirme las puertas del CNRS, por haberme proporcionado la guía y las herramientas necesarias para comenzar mi carrera profesional, por darme la oportunidad de desarrollar esta tesis, y por su incansable dedicación.

Al Dr. Horacio Salomón, Director del CNRS, y a todo el personal por sus enseñanzas y apoyo.

Al Dr. Daniel Rabinovich por estar siempre bien dispuesto a responder preguntas y a hacer chistes!

A las Dras. Mirna Biglione y Liliana Martínez Peralta por haberme ayudado en distintos aspectos de la realización de este trabajo.

A la Dra. Mercedes Weissenbacher por sus valiosísimos consejos y correcciones.

A la Dra. María de los Ángeles Pando, parte fundamental de esta tesis, gracias por tus consejos, orientación y evaluación crítica.

Al Dr. Mauricio Carobene por su guía y su valioso aporte en el estudio.

A la Dra. Lucila Cassino y el Lic. Federico Bolcic por su ayuda con las hepatitis.

Al Dr. Jorge Quarleri por sus correcciones.

A la Dra. María Alejandra Picconi, el Dr. Jorge Rey y el Dr. Marcelo Rodríguez Fermepín por su buena predisposición y el tiempo dedicado durante el desarrollo de este trabajo.

A AMMAR, ATTTA y NEXO por todo lo que me han enseñado en estos años.

A Noe García, Caro Berini, Yami Eirin, Constanza Espada y Ceci Delfino por haber compartido el día a día, por darme una mano cuando lo necesité y celebrar las metas cumplidas.

A Ale y Franco por los divertidos momentos compartidos.

Este estudio se pudo llevar a cabo gracias al apoyo financiero de:

- Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)
- Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires,
- Naval Medical Research Center Detachment en Lima, Perú (NMRCD).

A mis padres por su apoyo, siempre.

i. Abreviaturas.....	10
I. Introducción.....	12
I. 1. Virus de la Inmunodeficiencia Humana (HIV).....	12
I.1.1. Reseña histórica.....	12
I.1.2. Origen y diversidad del HIV.....	12
I.1.3. Estructura viral.....	14
I.1.4. Replicación viral.....	16
I.1.5. Vías de transmisión del HIV.....	18
I.1.6. Historia natural de la infección por HIV	20
I.1.7. Diagnóstico de infección por HIV	22
I.1.8. Epidemiología del HIV en el mundo.....	23
I.1.9. Epidemiología del HIV en Argentina.....	25
I.1.10. Poblaciones más vulnerables a la infección por HIV.....	26
I.1.10.1. Trabajadores sexuales.....	27
I.1.10.2. Hombres trabajadores sexuales.....	28
I.1.10.3. Trans trabajadoras sexuales.....	28
I.1.11. Epidemiología molecular del HIV.....	29
I.1.11.1. Variabilidad viral.....	29
I.1.11.2. Subtipos y recombinantes virales. Distribución geográfica.	31
I.1.11.3. Epidemiología molecular del HIV en Argentina.....	31
I.1.12. Infecciones de transmisión sexual y HIV/Sida.....	33
I.2. Virus de la Hepatitis B (HBV)	34
I.3. Virus de la Hepatitis C (HCV)	36
I.4. Virus Linfotrópico T-Humano Tipo 1 y 2 (HTLV-1/2)	38
I.5. <i>Treponema pallidum</i>	41
I.6. Virus Papiloma Humano (HPV)	43
I.7. <i>Chlamydia trachomatis</i>	45
II. Objetivos	47
II. 1. Objetivo general.....	47
II. 2. Objetivos específicos	47

III. Materiales y métodos.....	48
III.1. Población estudiada.....	48
III.2. Consideraciones éticas.....	48
III.3. Reclutamiento de los participantes.....	48
III.4. Obtención de datos epidemiológicos.....	49
III.5. Obtención y procesamiento de las muestras de sangre.....	49
III.6. Diagnóstico de infección por HIV	49
III.7. Diagnóstico de infección por HBV.....	50
III.8. Diagnóstico de infección por HCV.....	50
III.9. Diagnóstico de infección por HTLV.....	50
III.10. Diagnóstico de infección por <i>Treponema pallidum</i>.....	51
III.11. Estimación de incidencia de HIV.....	51
III.12. Obtención y procesamiento de las muestras de mucosa anal.....	51
III.13. Diagnóstico de infección por HPV.....	52
III.14. Diagnóstico de infección por <i>Chlamydia trachomatis</i>	52
III.15. Análisis estadístico.....	52
III.16. Análisis molecular de muestras HIV positivas.....	53
III.16.1. Extracción y amplificación de ácidos nucleicos	53
III.16.2. Secuenciación nucleotídica.....	56
III.16.3. Subtipificación.....	57
III.17. Análisis molecular de muestras HBV positivas.....	57
III.17.1. Extracción y amplificación de ácidos nucleicos	57
III.17.2. Secuenciación nucleotídica.....	58
III.17.3. Genotipificación.....	58
III.18. Análisis molecular de muestras HCV positivas.....	59
III.18.1. Extracción y amplificación de ácidos nucleicos	59
III.18.2. Secuenciación nucleotídica.....	60
III.18.3. Genotipificación del HCV.....	60
III.19. Análisis molecular de muestras HTLV-1/2 positivas.....	61
III.19.1. Extracción y amplificación de ácidos nucleicos	61
III.19.2. Secuenciación nucleotídica.....	62

III.19.3. Análisis filogenético de las muestras HTLV-1 y HTLV-2 positivas.....	62
III.20. Genotipificación de HPV.....	62
III.21. Genotipificación de <i>Chlamydia trachomatis</i>.....	63
IV. Resultados.....	65
IV.1. Demografía de la población de estudio	67
IV.2. Prácticas sexuales.....	67
IV.3. Trabajo sexual.....	67
IV.4. Consumo de sustancias	68
IV.5. Conocimiento sobre HIV/Sida.....	69
IV.6. Prevalencias de ITS e incidencia de HIV en trans y hombres trabajadores sexuales.....	69
IV.6.1. Prevalencias en TTS.....	69
IV.6.2. Prevalencias en HTS.....	70
IV.6.3. Incidencia de HIV	72
IV.6.4. Coinfecciones en TTS.....	72
IV.6.5. Coinfecciones en HTS.....	74
IV.6.6. Comparación de las coinfecciones entre los grupos.....	74
IV.7. Análisis molecular de muestras HIV positivas.....	75
IV.8. Análisis molecular de muestras HBV positivas.....	83
IV.9. Análisis molecular de muestras HCV positivas.....	83
IV.10. Análisis molecular de muestras HTLV-1/2 positivas.....	86
IV.11. Genotipificación de HPV.....	89
IV.12. Genotipificación de <i>Chlamydia trachomatis</i>	91
V. Discusión.....	92
V.1. Prevalencias de ITS e incidencia de HIV en trans y hombres trabajadores sexuales.....	93
V.1.1 Prevalencia e incidencia de HIV	93
V.1.2. Prevalencia de <i>Treponema pallidum</i>	95
V.1.3. Prevalencia de HBV.....	95
V.1.4. Prevalencia de HCV.....	96
V.1.5. Prevalencia de HTLV-1/2.....	96

V.1.6. Prevalencia de HPV.....	96
V.1.7. Prevalencia de <i>Chlamydia trachomatis</i>	97
V.1.8. Coinfecciones.....	97
V.2. Epidemiología molecular de HIV.....	98
V.3. Epidemiología molecular de HBV.....	100
V.4. Epidemiología molecular de HCV.....	100
V.5. Epidemiología molecular de HTLV-1/2.....	100
V.6. Genotipificación de HPV.....	101
V.7. Genotipificación de <i>Chlamydia trachomatis</i>.....	103
VI. Conclusiones.....	104
VII. Referencias.....	105
VIII. Publicaciones.....	115

ADN: ácido desoxirribonucleico

AMMAR: Asociación de Mujeres Meretrices de la Argentina

ANMAT: Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica

ARN: ácido ribonucleico

ARV: Virus Relacionado al Sida (*AIDS Related Virus*)

ATL: Leucemia a Células T del adulto (*Adult T cell leukemia*)

ATTTA: Asociación de Travestis, Transexuales y Transgénero de Argentina

CDC: Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (*Center for Disease Control*)

CNRS: Centro Nacional de Referencia para el Sida

CRF: formas recombinantes circulantes (*circulating recombinant forms*)

ELISA: enzimoimmunoensayo (*Enzyme-linked immunosorbent assay*)

ETS: enfermedades de transmisión sexual

FDA: *Food and Drug Administration*

FTA-abs: prueba de absorción de anticuerpos treponémicos fluorescentes (*Fluorescent Treponemal Antibody absorption*)

HAM/TSP: mielopatía asociada al HTLV-1 o paraparesis espástica tropical (*HTLV-1 associated myelopathy, tropical spastic paraparesis*)

HBcAg: antígeno del *core* de HBV

HBsAg: antígeno de superficie de HBV

HBV: Virus de la Hepatitis B (*Hepatitis B Virus*)

HCV: Virus de la Hepatitis C (*Hepatitis C Virus*)

HIV: Virus de la Inmunodeficiencia Humana (*Human Immunodeficiency Virus*)

HMA: ensayo de movilidad de heteroduplex (*Heteroduplex Movility Assay*)

HPV: Virus Papiloma Humano (*Human Papiloma Virus*)

HSH: hombres que tienen sexo con hombres

HTLV-1/2: Virus Linfotrópico T-Humano Tipo 1 y 2 (*Human T-Cell Lymphotropic Virus Types 1 and 2*)

HTLV-3: Virus Linfotrópico T-Humano Tipo 3 (*Human T Lymphotropic Virus Type 3*)

HTS: hombres trabajadores sexuales

ITS: infecciones de transmisión sexual

LAV: Virus Asociado a Linfadenopatía (*Lymphadenopathy Associated Virus*)
LGV: linfogranuloma venéreo
LTR: secuencias terminales repetitivas (*long terminal repeat*)
MTS: mujeres trabajadoras sexuales
ONUSIDA: Programa Conjunto de la Naciones Unidas sobre HIV/Sida
ORF: marco abierto de lectura (*open reading frame*)
PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa (*Polymerase Chain Reaction*)
RFLP: Polimorfismos de Longitud de Fragmento de Restricción (*Restriction Fragment Length Polymorphism*).
Sida: Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida
SIV: Virus de la Inmunodeficiencia Simiana (*Simian Immunodeficiency Virus*)
STARHS: Algoritmo de Testeo Serológico para Seroconversión Reciente (*Serological Testing Algorithm for Recent HIV Seroconversion*)
TBE: buffer solución de tris- borato-EDTA
TR: transcriptasa reversa
TS: trabajadores sexuales
TTS: trans (travestis, transexuales o transgénero hombre a mujer) trabajadoras sexuales
UCNIs: usuarios de cocaína no inyectable
UDIs: usuarios de drogas inyectables
URF: forma única recombinante (*unique recombinant form*)
UTR: región no codificante (*untranslated region*)
UV: luz ultravioleta
VDRL: *Venereal Disease Research Laboratory*
WB: Western Blot

I.1. Virus de la Inmunodeficiencia Humana (HIV)

I.1.1. Reseña histórica

A fines de 1981, comenzó a observarse un aumento en la incidencia de enfermedades inusuales en adultos jóvenes, principalmente en hombres que tenían sexo con hombres (HSH), tales como infecciones por *Pneumocystis carinii* (actualmente denominado *Pneumocystis jirovesi*), el sarcoma de Kaposi y linfadenopatías persistentes [1, 2].

Aunque no había sido identificado el agente etiológico, pronto quedó claro que todos los pacientes sufrían una disminución progresiva de linfocitos T CD4+ y, como resultado, desarrollaban enfermedades infecciosas y tumorales que normalmente eran controladas por el sistema inmune. Al conjunto de manifestaciones clínicas se lo denominó Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (Sida) [3].

Durante 1983 distintos grupos de trabajo propusieron tres virus como agentes etiológicos del Sida: el LAV (*Lymphadenopathy Associated Virus*), el HTLV-3 (*Human T Lymphotropic Virus Type 3*) y el ARV (*AIDS Related Virus*) [4-6]. Estudios posteriores revelaron que la morfología de estos tres virus era muy similar entre sí y coincidía con la del género Lentivirus de la familia *Retroviridae* [7]. Se determinó que los tres aislamientos correspondían al mismo agente viral, siendo designado en 1986 como *Human Immunodeficiency Virus* (HIV) por el Comité Internacional de Taxonomía de Virus.

En 1986, Françoise Clavel, Montagnier y colaboradores describieron un tipo distinto de HIV, prevalente en ciertas regiones de África Occidental, al que denominaron HIV-2 [8].

I.1.2. Origen y diversidad del HIV

El origen de los dos tipos de HIV, HIV-1 y HIV-2, se encontró en África Central. Se cree que allí evolucionaron de lentivirus que infectan otras especies de primates sin causar enfermedad evidente. Dos eventos de transmisión zoonótica del Virus de la Inmunodeficiencia Simiana (SIV, del inglés, *Simian Immunodeficiency Virus*) habrían ocurrido en forma separada. Uno de ellos, desde chimpancés (*Pan troglodytes troglodytes*), habría dado origen al HIV-1, y el otro desde monos mangabeye gris (*Cercocebus atys atys*) habría originado al HIV-2. La infección con cualquiera de los dos tipos de HIV lleva al Sida. Sin embargo, las cepas de HIV-2 son menos patogénicas y

han quedado geográficamente restringidas principalmente al África Occidental. Por el contrario, las cepas del tipo más virulento, HIV-1, se han dispersado en todo el mundo causando la pandemia de Sida [9].

El HIV-2 se diferencia en los subtipos A, B, C, D y E, siendo el A y el B los más frecuentes. Las infecciones por HIV-2 fuera de África Oriental y el Caribe son poco frecuentes, aunque se han notificado casos aislados en el resto del mundo, incluso en Argentina [10, 11].

El análisis filogenético de HIV-1 y de virus de primates no humanos relacionados sugiere que hubo tres eventos de transmisión independientes a comienzos del siglo XX que generaron tres grupos de HIV-1: *major* o *main* (M, entre 1884 y 1924), *outlier* (O, entre 1890 y 1940), y *nonmajor* y *nonoutlier* (N, entre 1948 y 1977) [12].

El grupo M, de mayor circulación, ha sido subdividido en nueve subtipos (A, B, C, D, F, G, H, J y K), en sub-subtipos indicados con números (A1, A2 y A3, F1 y F2) y, hasta el momento, en 49 formas recombinantes circulantes (CRFs, del inglés, *circulating recombinant forms*) [13].

La variación genética dentro de un subtipo puede ser del 15-20% mientras que la variación entre subtipos es generalmente del 25-30%. Los subtipos del HIV-1 presentan entre sí algunas diferencias en su comportamiento biológico y en su distribución geográfica [14, 15]. En América y Europa predomina el subtipo B, aunque otros subtipos fueron introducidos por la inmigración y los viajes. En nuestro país, los subtipos B y F y recombinantes B/F son los más frecuentes, aunque se han encontrado otros subtipos y recombinantes como BCF además de los descritos en esta tesis [16-21]. En África se encuentran todos los subtipos del grupo M y se han informado casos pertenecientes al grupo O y N.

Las CRFs son el resultado de la recombinación entre subtipos dentro de un huésped con infección doble, quien transmite las formas recombinantes a otras personas. La progenie recombinante se clasifica como CRF si es identificada en tres o más personas que no tienen relación epidemiológica entre sí y, si no, se describen como formas recombinantes únicas (URFs, del inglés, *unique recombinant forms*) [22].

En esta tesis nos referiremos al HIV-1 como HIV con fines prácticos.

Diversos estudios de la secuencia nucleotídica del genoma viral revelaron que debido a su alta tasa de mutación y de recombinación genómica existe una gran variabilidad

entre distintos aislamientos. Esta variabilidad se hace presente, no sólo entre aislamientos de distintos pacientes, sino también, entre distintos aislamientos de un mismo paciente a través del tiempo.

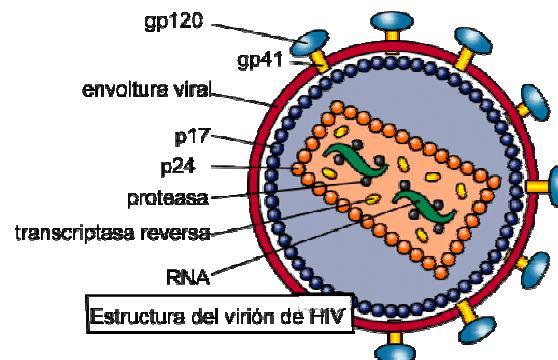
I.1.3. Estructura viral

El virión de HIV es una partícula esférica de aproximadamente 100 nm de diámetro. Está formado por una envoltura lipídica, proveniente de la membrana de la célula huésped, en la cual se encuentran espículas que atraviesan la bicapa lipídica. Estas espículas, formadas por dos glicoproteínas virales, la gp41 y la gp120, poseen una importante función en la entrada del virus a la célula huésped (Figura 1a).

Por dentro de la envoltura lipídica se encuentra la cápside externa, un poliedro de 60 caras triangulares, constituida por la proteína p17. Esta cápside contiene al core viral formado por una segunda cápside de proteína p24 que contiene al genoma viral, 2 proteínas estructurales (p7 y p9) y 3 no estructurales (integrasa, proteasa y transcriptasa reversa), asociadas al mismo.

El genoma del HIV está constituido por dos cadenas de ARN monocatenario de aproximadamente 9,2 kb y de polaridad positiva. Cada cadena codifica para los tres genes característicos de los retrovirus (*gag*, *pol* y *env*) y para otros 6 genes que codifican para proteínas auxiliares (*tat* y *rev*) y accesorias (*nef*, *vif*, *vpr* y *tat*). Algunos de los genes mencionados se encuentran solapados entre sí, lo que permite el empleo de los 3 marcos de lectura para codificar las distintas proteínas. Ambas cadenas empiezan y terminan en dos secuencias terminales repetitivas (LTR, *Long Terminal Repeats*) (Figura 1b) [23].

(a)



(b)

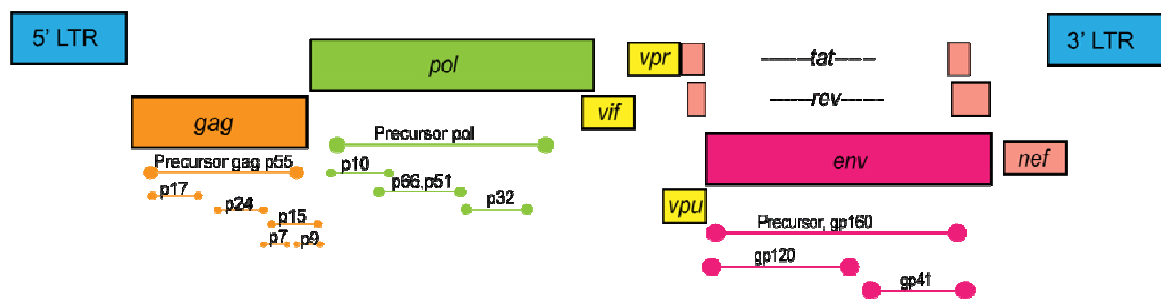


Figura 1. Representación esquemática del Virus de la Inmunodeficiencia Humana.

(a) Estructura de la partícula viral y (b) genoma viral

Los tres primeros productos de traducción, que codifican proteínas estructurales o enzimas, son inicialmente sintetizados como poliproteínas precursoras que luego son procesadas por proteasas virales o celulares y formarán parte del virión. El precursor de Gag de 55 kD es clivado en las proteínas de la matriz (p17), de la cápside (p24), de la nucleocápside (p7) y proteínas p6. La autocatálisis de la poliproteína Gag-Pol (160 kD) da lugar a la proteasa, a la transcriptasa reversa (TR) y a la integrasa. La acción de una proteasa celular convierte al precursor glicosilado de Env (160 kD) en la proteína de superficie (120 kD) y la de transmembrana (41 kD). Las otras seis proteínas (Vif, Vpr, Tat, Rev, Vpu y Nef) son producto de la traducción de RNAs mensajeros que sufrieron *splicing* [23].

Se han descrito además 6 genes que codifican para proteínas reguladoras. Tat es una proteína activadora de la transcripción; Rev es esencial para la expresión viral; Nef, entre otras funciones, aumenta la infectividad de los viriones; Vpr facilita la infección de

células en reposo; Vpu aumenta la brotación de las partículas virales; Vif aumenta la infectividad de la progenie viral [24, 25].

Una vez integrado al genoma celular, el ADN proviral se encuentra flanqueado por LTR, generados durante el proceso de transcripción reversa. Los LTR contienen sitios de unión para proteínas celulares que pueden activar la transcripción viral y que también están bajo el control de señales virales. La compleja regulación del HIV le permite al virus establecer latencia celular, responder rápidamente a varias señales y sintetizar altos niveles de proteínas virales y viriones [26].

I.1.4. Replicación viral

El ciclo de replicación de HIV es complejo y su duración y desarrollo depende de la célula blanco y el nivel de activación de la misma [27]. Al comienzo de la infección el virus accede a distintos tipos celulares sin causar daño inmediato, pero la entrada a las células puede estimular cascadas de señalización intracelulares que facilitarían la replicación viral [28, 29]. El ciclo replicativo comprende eventos tempranos, que conducen a la integración del genoma viral en el genoma de la célula huésped, y eventos tardíos que resultan en la formación de nuevos viriones.

El ciclo replicativo del HIV comienza con la unión del virus a la célula huésped. Dicha unión es específica y se inicia con la interacción de la glicoproteína gp120, presente en la membrana viral, con el receptor CD4 de la célula huésped. Siguiendo a esta unión ocurre un cambio conformacional en la glicoproteína que no es suficiente para la generación de una estructura de fusión. La misma se produce con la unión a receptores de quimoquinas, como el CXCR4 o el CCR5, presentes en las células del huésped que intervienen como co-receptores en esta unión. El proceso de fusión ocurre por formación de un poro a través del cual el core viral pasa al citoplasma [30, 31]. Las proteínas del *core* permanecen asociadas al ARN viral hasta el inicio de la retrotranscripción. La retrotranscripción es llevada a cabo por la TR, la cual transcribe una cadena de ADN sobre una de las cadenas de ARN, dando lugar a un híbrido ADN/ARN. El ARN es luego degradado por la misma enzima, que posteriormente

genera una segunda cadena de ADN de polaridad positiva, como copia de la primera. A diferencia de otras enzimas ADN polimerasas, la TR no posee actividad de lectura de

prueba (o *proof-reading*), siendo esta característica una de las principales fuentes de variabilidad del HIV. Una vez concluida la transcripción reversa, el complejo proteico junto con la molécula de ADN doble cadena conforman el complejo de pre-integración que está involucrado en el transporte del ADN viral al núcleo y posterior integración del genoma viral al genoma celular. En el núcleo, el ADN bicatenario puede ser integrado por acción de la enzima integrasa viral (provirus) en zonas del genoma celular ricas en genes y transcripcionalmente activas [32, 33] o puede permanecer como ADN no integrado en forma lineal o circularizada.

Una vez que el genoma del HIV se ha integrado al genoma celular, la expresión de los genes virales queda bajo el control del promotor LTR. Este promotor posee secuencias reguladoras a las que se unen diversas proteínas virales y celulares. Luego del comienzo de la transcripción, la proteína viral Tat se une a su región blanco en el LTR aumentando la tasa de transcripción.

Cuando la célula es activada, el provirus inicia la síntesis de los ARN mensajeros que tendrán a cargo la traducción a proteínas y de los ARN que formarán parte de la progenie viral. Las proteínas de envoltura, clivadas y glicosiladas, se ubican en la membrana de la célula huésped. Por otro lado, las proteínas estructurales se ensamblan con el ARN viral cerca de la membrana celular y adquieren la envoltura durante la brotación. La brotación del nuevo virión puede producirse de forma lenta, conservando la integridad celular, o de forma rápida, provocando la lisis de la célula huésped [23]. El ciclo replicativo del HIV puede observarse en la Figura 2.

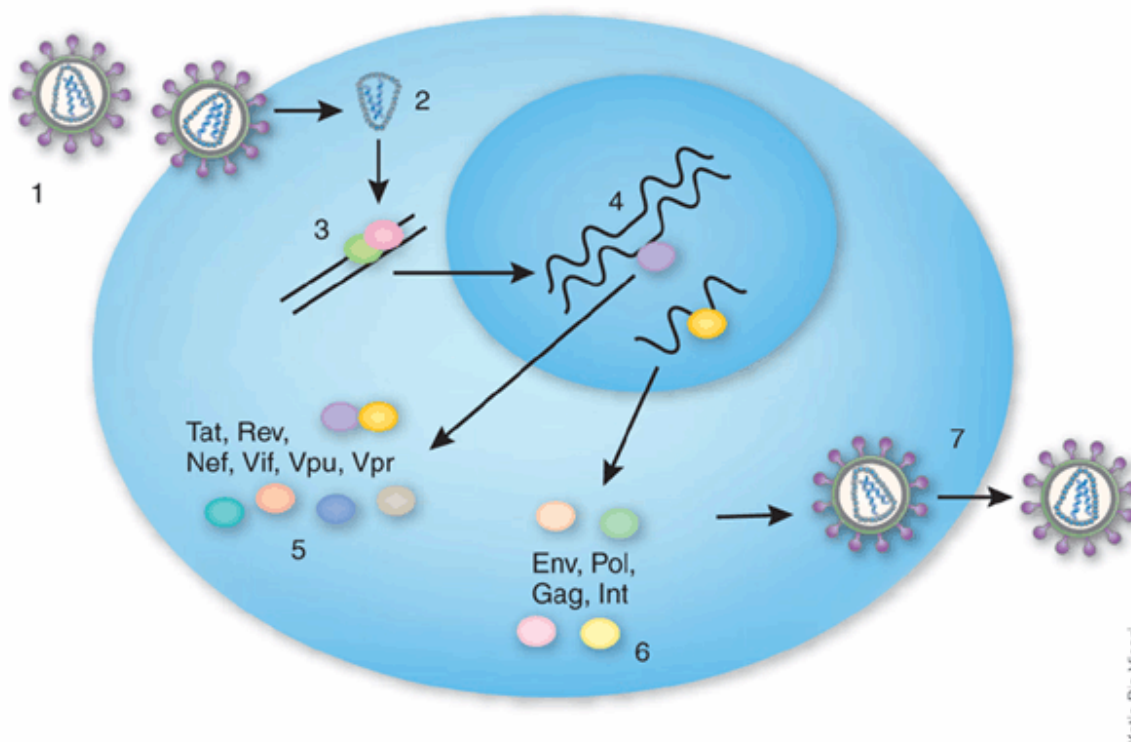


Figura 2. Esquema del ciclo de replicación del HIV: (1) Unión del HIV al receptor CD4, al co-receptor CCR5 o CXCR4 e internalización. (2) Desnudamiento del virus. (3) Transcripción reversa. (4) Integración al ADN genómico del huésped. (5) Expresión de proteínas tempranas de los ARN mensajeros. (6) Expresión de los ARN mensajeros tardíos que codifican para las proteínas estructurales Env, Gag, Pol y la integrasa. (7) Empaquetamiento del ARN genómico y liberación de las partículas virales. Figura tomada de Rossi *et al*, 2007 [34].

I.1.5. Vías de transmisión del HIV

Si bien se ha detectado al HIV en todos los fluidos y secreciones humanas, solo se han establecido tres formas de transmisión de la infección: sexual, parenteral y vertical (de madre a hijo). La probabilidad de transmisión varía dependiendo tanto de factores virológicos (cantidad y tipo de inóculo viral) como del huésped.

La transmisión sexual es la causa de la mayoría de los casos de infección por HIV en todo el mundo. En particular, las relaciones sexuales anales son la forma más eficiente para la transmisión sexual del HIV. Esto podría deberse a que la mucosa del recto tiene mayor cantidad de receptores para el HIV, a que es más fácilmente traumatizada y a que carece de la inmunidad humoral presente en las secreciones cervicovaginales [35]. La pareja receptiva (hombre o mujer) presenta, en este tipo de relación, una superficie

de exposición mayor y recibe mayor cantidad de fluidos infecciosos por lo que se encuentra en mayor riesgo que la pareja insertiva [36].

Según datos de los últimos años (2007-2009) a nivel nacional, las relaciones heterosexuales sin protección han sido la causa del 48,5% de las infecciones en hombres y del 87,5% en mujeres. Mientras que las relaciones homosexuales han originado el 35,9% de las infecciones en hombres [37].

La vía de transmisión parenteral incluye la inoculación de sangre infectada o hemoderivados, trasplante de órganos o maniobras con instrumentos punzocortantes, entre los cuales se incluye la práctica de compartir agujas y jeringas por parte de los usuarios de drogas inyectables (UDIs). Los últimos datos en nuestro país estiman que el 4,8% de las infecciones en hombres se deben a esta vía mientras que en mujeres sería el 1,5% [37].

La mayor eficiencia de infección (95%, [38]) se da por transfusión con sangre contaminada aunque actualmente este es un evento poco frecuente dado que la sangre es previamente analizada para este patógeno.

En Argentina, la Ley Nacional de Sida N° 23.798 implementada desde el año 1990, declara obligatoria la detección del virus y de sus anticuerpos en sangre humana destinada a transfusión, elaboración de plasma y otros derivados sanguíneos de origen humano para cualquier uso terapéutico, así como también en los órganos destinados para trasplantes humanos [39]. Por esta razón, solamente el 0,3-0,4% de las infecciones en ambos sexos fueron transmitidas por esta vía [37].

La transmisión vertical es el origen de la infección en más del 90% de los casos de infección en los niños menores de 15 años. En ausencia de intervenciones profilácticas adecuadas, aproximadamente el 25-30% de las madres transmite el virus a su descendencia. En el 25% de las madres transmisoras la infección ocurre durante el embarazo, y en el 75% restante durante el período perinatal. En el caso de la lactancia, el riesgo de transmisión puede ser del 35% al 45% [40]. Desde 1994 el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (*Center for Disease Control, CDC*) recomienda el tratamiento antirretroviral para toda mujer embarazada con infección por HIV y para el lactante [41]. La institución de este protocolo y la práctica de cesárea programada ha disminuido la transmisión de madre a hijo de un 25% al 2% en los países desarrollados [42]. Si bien desde 1995 se comenzó a implementar en nuestro

país, recién en 1997, fue recomendado por el Programa Nacional de Sida [43]. En la actualidad se ofrece este tratamiento en forma gratuita en todo el país. Por otro lado, se recomienda como medida preventiva de la transmisión, el no amamantamiento de los bebés nacidos de madres infectadas. Del total de infecciones en hombres, el 2,1% se produjo por transmisión vertical mientras que entre las mujeres este porcentaje fue de 3,6% 2007-2009 [37].

I.1.6. Historia natural de la infección por HIV

El curso de la infección por HIV se puede dividir en tres períodos: etapa aguda (o primoinfección), etapa asintomática y etapa sintomática (Sida) (Figura 3).

La etapa aguda puede definirse como el periodo entre la adquisición del HIV hasta la seroconversión. Al inicio de la infección, el virus infecta a los linfocitos T CD4+ de memoria del tejido linfoide asociado a mucosas, reduciendo esta población celular, y alcanzando un alto grado de replicación viral, diseminación y un alto pico de viremia. Consecuentemente, se produce una caída del número de linfocitos T CD4+ en sangre periférica y nódulos linfáticos [44]. Generalmente la viremia decae en unas pocas semanas por acción de la respuesta inmune celular, ya que el número de células CD8+ específicas aumenta antes que los anticuerpos neutralizantes puedan ser detectados. La reducción de la viremia plasmática coincide con el ascenso del nivel de linfocitos T CD4+. El resultado de esta etapa es el desarrollo de reservorios virales y de daños irreparables en el sistema inmune y es el período en que el huésped tiene mayor probabilidad de transmitir el virus [45]. Un 50% de los pacientes en seroconversión pueden presentar síntomas clínicos similares a los de una mononucleosis infecciosa [46].

Unos seis meses después de la primoinfección, el paciente entra en la fase asintomática en la cual la viremia generalmente se reduce a niveles bajos, con pequeños picos oscilantes y comienza una reducción lenta y progresiva en el número absoluto de linfocitos T CD4+. El grado de viremia en esta fase de la infección es un predictor directo de la rapidez de la progresión de la enfermedad. Este período posee una duración promedio, sin tratamiento, de 10 años. La medición de la carga viral plasmática y el número de linfocitos T CD4+ en circulación son los marcadores utilizados como predictores de la evolución de la infección. Si bien inicialmente la

población viral es homogénea, posteriormente se diversifica generando una innumerable cantidad de cuasiespecies y dando origen a variantes de escape a la neutralización y a la acción de los linfocitos T citotóxicos CD8+.

Finalmente, el último estadio de la infección, está caracterizado por un bajo recuento de linfocitos T CD4+, debajo de 200/ml, y un aumento en la carga viral. También se observa una disminución en el número total de linfocitos citotóxicos CD8+. En los nódulos linfáticos, la replicación viral aumenta con la consecuente destrucción de las células linfoides y de la arquitectura normal del tejido linfoide [47]. El colapso del sistema inmune conduce a una mayor susceptibilidad para contraer infecciones oportunistas y neoplasias. La media de supervivencia en esta etapa en ausencia de terapia antirretroviral es de 12 a 18 meses [48].

Diversos patógenos se han descrito como agentes etiológicos de enfermedades oportunistas, incluyendo virus, bacterias, hongos, helmintos y otros parásitos. La inmunosupresión, tanto a nivel celular como humoral, puede tener diferentes consecuencias para el hospedador dependiendo de su magnitud, incluyendo facilitación de la ocurrencia de estas infecciones, el aumento de la relación enfermedad/infección, alteraciones en las manifestaciones clínicas o exacerbación del curso de infección, entre otras [49].

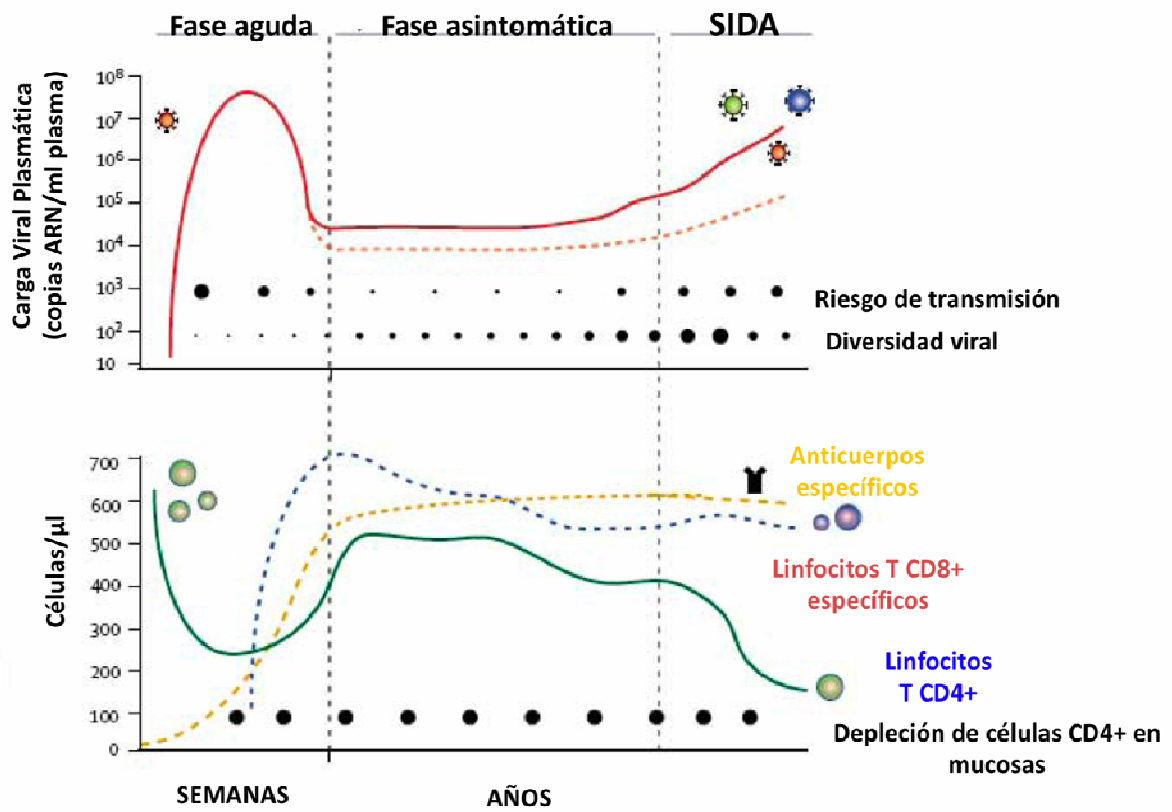


Figura 3. Curso natural de la infección por HIV-1. La etapa aguda se caracteriza por altos niveles de carga viral, descenso en el recuento de células CD4+ y ausencia de anticuerpos específicos. A medida que aparecen los linfocitos T CD8+, la viremia disminuye. La diversidad viral aumenta a lo largo del desarrollo de la enfermedad. El riesgo de transmisión es mayor cuando se establece la infección, durante las primeras semanas, y luego cuando la viremia vuelve a subir en la etapa de Sida. La depleción de células CD4+ a nivel de las mucosas es constante a lo largo de la infección y no se recupera. Figura adaptada de Simon *et al*, 2006 [50].

I.1.7. Diagnóstico de infección por HIV

El diagnóstico temprano de los pacientes infectados por HIV permite, no solo el tratamiento temprano, sino también la prevención de posibles futuras transmisiones. El diagnóstico de infección en adultos se realiza por métodos indirectos de detección de anticuerpos. El diagnóstico serológico se realiza con dos pruebas de tamizaje distintas, ELISA (enzimoinmunoensayo, *Enzyme-linked immunosorbent assay*) y/o aglutinación, con una sensibilidad y especificidad del 98 al 99%. Si las dos técnicas de tamizaje dan un resultado no reactivo la muestra se informa como negativa. Si por el contrario, se obtiene un resultado reactivo en alguna de las dos pruebas o en las dos, se somete la

muestra a una prueba confirmatoria. La técnica de Western Blot (WB) es la más comúnmente utilizada como ensayo confirmatorio debido a su alta especificidad.

La prueba de detección de anticuerpos puede ser inadecuada como método diagnóstico en ciertas situaciones, como en las primeras semanas de la infección (período ventana), cuando el virus se encuentra circulando en la sangre y los anticuerpos no son aún detectables.

I.1.8. Epidemiología del HIV en el mundo

El último reporte de ONUSIDA (Programa Conjunto de la Naciones Unidas sobre HIV/Sida) indica que en 2009, a nivel global, unas 33,3 millones de personas vivían con HIV (Figura 4). Unos 2,6 millones de personas habían contraído la infección y murieron 1,8 millones de individuos por causas relacionadas al Sida durante ese año. La incidencia a nivel mundial disminuyó un 19% desde 1999, año en que la misma había alcanzado su máximo valor [51].

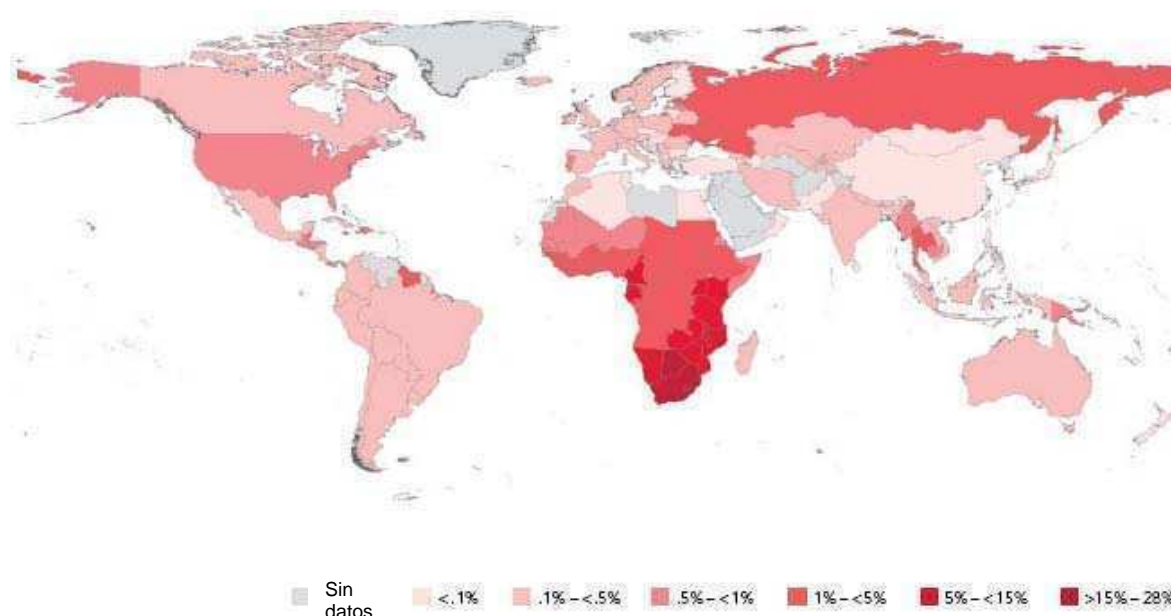


Figura 4. Prevalencia global de HIV, 2009 [51].

África subsahariana sigue siendo la región más afectada por la epidemia de HIV/Sida, el 67,5% de las personas viviendo con HIV son de esta región. Por otro lado, la

prevalencia de HIV es muy variable según la zona, tomando valores menores al 1% y llegando al 28% en África del Sur.

En Asia la epidemia parece haberse estabilizado en los últimos años, aunque en algunos países, como Pakistán, ha aumentado la incidencia debido al uso de drogas inyectables.

También debido al uso de drogas inyectables en Europa del Este y Asia Central, el número de personas viviendo con HIV se ha triplicado desde el año 2000.

El Caribe muestra prevalencias variables según el país, siendo Cuba el país con la menor prevalencia (0,1%) y Bahamas la más alta (3,1%) de la región. Junto con el África subsahariana son las únicas dos regiones del mundo donde el número de mujeres infectadas supera al de los hombres.

En América del Norte, Europa Central y del Oeste la prevalencia continúa aumentando principalmente debido al sexo sin protección en HSH, aunque el uso de drogas inyectables y el sexo comercial sin protección también contribuyen a esta tendencia.

Oriente Medio y Norte de África muestran prevalencias, nuevas infecciones y muertes relacionadas al Sida en aumento.

En Oceanía, donde la prevalencia es baja, el número de personas infectadas se ha duplicado desde 2001 pero el número de nuevas infecciones está en disminución desde ese año. En esta región, la epidemia está impulsada principalmente por la transmisión sexual. Las infecciones nuevas han aumentado en los últimos años en la población HSH en Australia y Nueva Zelanda.

La epidemia en América Central y del Sur ha variado poco en los últimos años. El número de personas infectadas continúa aumentando debido a la baja disponibilidad de tratamiento antiretroviral. La mayoría de las epidemias en esta región se concentran principalmente en HSH. Un tercio de las personas infectadas en esta región vive en Brasil [51].

La actualización epidemiológica de ONUSIDA 2008 reporta que la transmisión de HIV en América Latina ocurre principalmente entre HSH y trabajadores sexuales (TS). El sexo sin protección se ha vuelto la principal vía de transmisión de HIV en Argentina, con una estimación de 4/5 nuevos diagnósticos en 2005 atribuidos a esta vía [52]. Aproximadamente el 80% de todos los casos de Sida reportados de 2001 a 2007 fueron

atribuidos a transmisión sexual. Entre los hombres, cerca del 30% de los casos resultó de relaciones homosexuales y el 40% de relaciones heterosexuales.

I.1.9. Epidemiología del HIV en Argentina

Los primeros casos de Sida en la Argentina fueron informados al Ministerio de Salud de la Nación a fines del año 1982 y correspondían a individuos masculinos que presentaban como antecedente el haber mantenido relaciones sexuales con otros hombres en las ciudades de Nueva York, Miami o San Francisco. Las características clínicas y epidemiológicas de estos pacientes eran semejantes a las que se describían en el resto del mundo [53]. En el año 1987, ante el aumento de casos detectados, se vio la necesidad de establecer un marco formal, dentro del ámbito de la salud pública, donde pudiera coordinarse el área de HIV/Sida, creándose entonces el Programa Nacional de Sida y enfermedades de transmisión sexual (ETS), sobre el ya existente Programa de ETS. El Programa Nacional es el organismo responsable, entre otras cosas, del análisis de la situación y tendencia de la epidemia en todo el ámbito nacional. Los resultados de esta vigilancia epidemiológica son periódicamente publicados en el Boletín sobre el Sida en la Argentina.

La epidemia de HIV en la Argentina, como en casi todos los países latinoamericanos, continúa siendo de tipo “concentrada”, concepto que se aplica a aquellas epidemias en las que la proporción de personas infectadas en la población joven y adulta es menor al 1%, pero mayor al 5% en algunos subgrupos (como HSH, TS, trans (travestis, transexuales y transgénero hombre a mujer) y UDIs) [37].

A través de estudios de prevalencia, de información demográfica y la producida por los Servicios de Salud, se puede estimar que en la Argentina viven hoy alrededor de 130 mil personas infectadas por el HIV, la mitad de las cuales desconoce su condición.

La incidencia se ha mantenido estable en los últimos años. Cada año, el Ministerio de Salud de la Nación recibe notificaciones de alrededor de 5.000 nuevos diagnósticos de infección por HIV. La tasa de mortalidad relacionada al Sida también se ha mantenido estable en alrededor de 35 por millón de habitantes desde la implementación de la triple terapia en 1996.

La epidemia continúa afectando principalmente los grandes conglomerados urbanos en todas las ciudades capitales del país. El 70% de la epidemia se concentra en la provincia de Buenos Aires, en la ciudad de Buenos Aires, en Santa Fe y en Córdoba.

La razón hombre/mujer en infecciones por HIV es estable desde mediados de la década y se ubicó en 1,7 varones por cada mujer diagnosticada en el período 2007-2009.

Las relaciones sexuales desprotegidas siguen siendo la principal vía de transmisión del virus. En el período 2007-2009, el 88% de los varones y el 84% de las mujeres diagnosticadas se habían infectado de ese modo. En el caso de los varones, el 49% lo hizo en una relación heterosexual, en tanto el 36% lo hizo en una relación desprotegida con otro varón. Además continúan descendiendo las transmisiones por uso compartido de material para consumo de drogas inyectables y los diagnósticos de infección por transmisión vertical [37].

I.1.10. Poblaciones más vulnerables a la infección por HIV

La epidemia de HIV/Sida está fuertemente vinculada a los comportamientos de las personas lo cual hace que el análisis de toda la población como un grupo homogéneo dificulte la posibilidad de aproximarse a la comprensión real del problema. Al estudiar la prevalencia de infección por HIV a través del tiempo, se deben definir grupos de población de la mayor homogeneidad posible en cuanto a sus comportamientos vinculados al riesgo de la transmisión del HIV.

De acuerdo a la definición de ONUSIDA, la vulnerabilidad es consecuencia de factores sociales que influyen negativamente en la capacidad del individuo para ejercer control sobre su propia salud [54].

Dentro de estos grupos se destacan como más vulnerables por sus comportamientos de riesgo, los HSH, los hombres, mujeres y trans TS, los UDIs y los pacientes con infecciones de transmisión sexual (ITS).

Estudios realizados por el Centro Nacional de Referencia para el Sida (CNRS) desde 1998 a 2011 mostraron alta seroprevalencia de HIV en estos grupos: 10,3- 13,8% en HSH [55, 56], 1,9- 3,2% en mujeres trabajadoras sexuales (MTS) [56, 57], 44,3% en UDIs [58], 6,3% usuarios de cocaína no inyectable (UCNIs) [59], 17,1% en pacientes con tuberculosis [60], 7,2% en pacientes que asistieron a hospitales de Buenos Aires por consultas de ITS [61].

I.1.10.1. Trabajadores sexuales

Los TS han sido definidos por ONUSIDA como mujeres, hombres y trans adultos y jóvenes que reciben dinero o bienes a cambio de sus servicios sexuales, ya sea de forma regular u ocasional, y que pueden definir o no conscientemente estas actividades como generadoras de ingresos [62].

El trabajo sexual es clandestino e ilegal en la mayoría de las sociedades, lo que hace difícil calcular el número de personas que se dedican a él. Existen distintas categorías de trabajo sexual tanto entre hombres, como en mujeres y trans: las personas que espontáneamente se definen como TS y dedican la mayor parte de su tiempo al mismo, las personas que ocasionalmente tienen sexo a cambio de dinero o bienes (drogas, comida, etc.) y las personas que son forzadas al trabajo sexual. Estas categorías difieren entre sí en cuanto a la frecuencia del trabajo sexual, el entorno en el cual tienen lugar los contactos, la posición socioeconómica, el nivel de educación, etc. Estas diferencias hacen que los riesgos de contraer una ITS y el acceso a los servicios de salud también sean distintos [62]. Desde el principio de la epidemia de HIV/Sida se han documentado tasas significativamente más altas de infección por HIV entre las poblaciones implicadas en el trabajo sexual que en casi ningún otro grupo de población, y los estudios recientes siguen confirmando esta tendencia entre las mujeres, los varones y las trans profesionales del sexo. Estas altas prevalencias podrían estar dadas por las múltiples parejas sexuales, el uso irregular de condón, el uso de drogas inyectables, la marginalidad y violencia asociadas y las coinfecciones con otras ITS [63]. En un mundo donde la mayoría de las infecciones por HIV se transmiten por vía sexual, los TS y sus clientes corren el mayor riesgo debido principalmente al gran número de parejas sexuales. Aunque la relación entre trabajo sexual y vulnerabilidad ha sido reconocida desde el principio de la epidemia, las encuestas indican que los TS tienen un acceso inadecuado a los servicios de prevención y se cree que el acceso al tratamiento adecuado, cuidado y contención es aún más limitado. Hasta el momento, la respuesta a la epidemia ha dedicado insuficiente atención y recursos para hacer frente al HIV y al trabajo sexual, dado que se ha invertido menos del 1% de la financiación mundial para la prevención del HIV en el trabajo sexual [64]. Los estudios confirman que en muchos países los TS tienen tasas de infección por HIV más altas que en otras poblaciones.

Las leyes, políticas, prácticas discriminatorias y las actitudes de estigmatización social llevan a esconder el trabajo sexual dificultando el esfuerzo por alcanzar a los TS con programas de prevención, tratamiento, cuidado y contención.

Los TS suelen tener un acceso insuficiente a los servicios de salud, preservativos, profilaxis post-exposición luego de tener sexo sin protección o de una violación, tratamiento para ITS y para drogodependencia y otros servicios de reducción de daños, protección de violencia y condiciones de trabajo abusivas, y apoyo social y legal [64].

I.1.10.2. Hombres trabajadores sexuales

Hasta el momento sólo existe una estimación de la seroprevalencia de HIV y otras ITS en hombres trabajadores sexuales (HTS) aunque en ese trabajo no se realizó una convocatoria específica para este grupo sino que estaba dirigida a HSH y se obtuvo el dato del porcentaje de esos HSH que realizaba trabajo sexual [55].

I.1.10.3. Trans (travestis, transexuales y transgénero hombre a mujer) trabajadoras sexuales

Actualmente, según la presidenta de ATTTA, se definen como TRANS a todas aquellas personas que desde temprana edad, generalmente al inicio de la adolescencia, construyen una identidad de género distinta a la biológica. En este trabajo las personas trans participantes fueron analizadas como un solo grupo.

Vale aclarar que la travesti es una persona que gusta vestir con ropa del sexo opuesto (en este caso, de mujer), está conforme con su sexo de nacimiento y no desea cambiar su cuerpo por medio de hormonas ni por reasignación de sexo por métodos quirúrgicos; la transexual aspira a someterse a una reasignación de sexo por vía quirúrgica, está en desacuerdo con sus genitales y hará todo lo posible por cambiarlos; y la transgénero es un estado “intermedio” entre travesti y transexual.

Desde el inicio de la epidemia de HIV/Sida hasta nuestros días, el modelo médico epidemiológico ha reunido en una única categoría, la homosexual, una diversidad de identidades socio-sexuales con características de morbimortalidad bien diferentes. Entre ellas, una de las más afectadas es la población trans debido a una compleja interacción entre cuestiones relacionadas con su vulnerabilidad social, junto a políticas públicas de salud que han minimizado su peso relativo en la epidemia [65].

Esta población se encuentra en una situación de alta vulnerabilidad por su marginalidad, bajo nivel de escolaridad y fuerte estigmatización social que unido a las condiciones de su trabajo sexual se asocian a una alta prevalencia de HIV/Sida. Al desafiar las prácticas y representaciones que son socialmente aceptadas sobre la sexualidad, el género, el cuerpo, las relaciones afectivas, la constitución de la familia y el trabajo, las personas trans se convierten en blanco de una fuerte discriminación y estigmatización social. Este marco les dificulta el acceso a un trabajo distinto del trabajo sexual, que en esa situación pareciera ser la única opción.

Hasta el 2006 no existían datos cualicuantitativos que permitieran estimar el peso de las trans trabajadoras sexuales (TTS) en la epidemia de HIV en Argentina. En 2009, en base a datos obtenidos en el Centro de Prevención, Asesoramiento y Diagnóstico del Hospital Ramos Mejía, se reportó una prevalencia de HIV de 27,6% [66]. Sin embargo, dicho trabajo no involucró una convocatoria abierta dirigida específicamente a esta población.

I.1.11. Epidemiología molecular del HIV

I.1.11.1. Variabilidad viral

La epidemia mundial de HIV/Sida involucra múltiples subtipos, cada uno con una distribución geográfica específica. Además, existe una gran cantidad de formas recombinantes, algunas de las cuales tienen una amplia circulación y son tan importantes en la epidemia como los subtipos de los cuales derivan.

La diversidad del HIV es la resultante de tres fuerzas que actúan en forma independiente: alta tasa de replicación, introducción frecuente de mutaciones y recombinación [67]. En un individuo infectado sin tratamiento antirretroviral, se producen aproximadamente 10 billones de partículas virales por día. La TR introduce en promedio una mutación por ciclo replicativo. Por lo tanto, cada una de las 9200 bases que componen el genoma puede mutar cada día. Sumado a esto, dado que la TR utiliza en forma alternativa ambas cadenas de ARN al sintetizar el ADN proviral, este termina siendo un mosaico de los ARN iniciales. Se estima que por genoma por ciclo de replicación, la TR cambia de cadena molde unas 2,8 veces [68]. Como resultado, este virus no tiene una secuencia definida sino que existe como cuasiespecies donde no hay dos moléculas iguales.

Dado que los individuos infectados pueden reinfectarse, puede ocurrir recombinación entre dos cepas dando lugar a nuevas variantes del virus (Figura 5). En una célula infectada por dos cepas de HIV, pueden empaquetar una hebra de RNA de cada cepa al generarse la progenie viral. Cuando estos viriones infecten otra célula, puede ocurrir recombinación dado que la TR utilizará ambas cadenas generando un mosaico de las cepas parentales. La recombinación permite un aumento más rápido de la diversidad viral que la acumulación de mutaciones durante la replicación [69].

La heterogeneidad genética del HIV le permite adaptarse rápidamente a la respuesta inmune del huésped, a la disponibilidad de células blanco y a la terapia antirretroviral, lo cual puede llevar a un aumento en la patogenicidad e infectividad y a una disminución de la susceptibilidad a los antivirales [70].

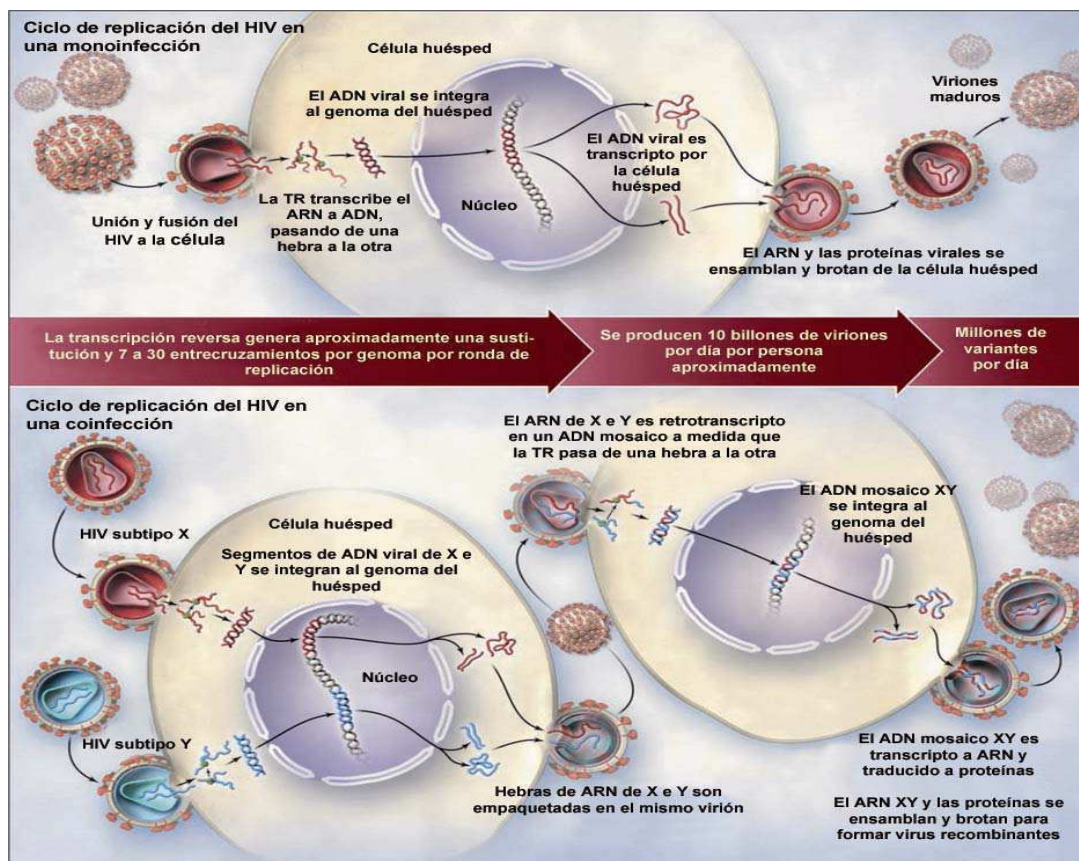


Figura 5. Evolución de la diversidad del HIV durante el típico ciclo de vida viral y creación de recombinantes en el contexto de coinfección con dos subtipos. TR, transcriptasa reversa [22].

I.1.11.2. Subtipos y recombinantes virales. Distribución geográfica.

La extensa variabilidad que presenta el HIV es un desafío para el desarrollo de vacunas, reactivos de diagnóstico y drogas antivirales. Por ello, para contribuir al desarrollo y control de los mismos, es importante la caracterización de los subtipos y CRFs y el conocimiento de su distribución geográfica (Figura 6). La clasificación molecular del HIV es una herramienta valiosa para el monitoreo de la epidemia a escala mundial debido al impacto que la diversidad podría tener en la transmisibilidad y/o en la patogenicidad del virus [71-73].

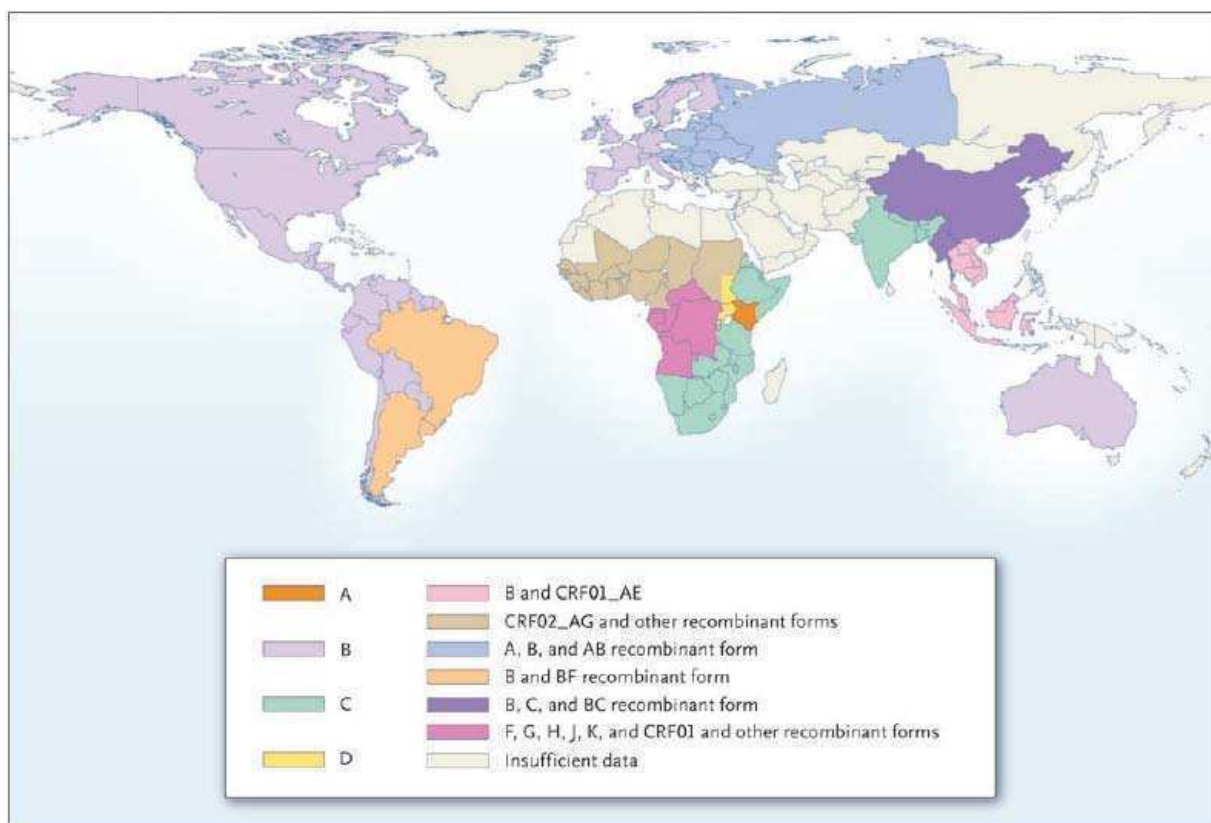


Figura 6. Distribución mundial actual de subtipos y formas recombinantes de HIV [22].

I.1.11.3. Epidemiología molecular del HIV en Argentina

A principios de la década del 90 se realizó en Argentina el primer estudio basado en secuenciación nucleotídica parcial del genoma de HIV. Si bien en aquel momento no se habían definido los subtipos hoy conocidos, todas las secuencias obtenidas poseían un patrón similar al subtipo B [74]. A partir del año 1996, nuevos estudios de secuencias

parciales del genoma de HIV identificaron subtipos F y recombinantes B/F [19, 75-78]. Si bien estos trabajos demostraron la presencia de nuevos subtipos y recombinantes (F y B/F) hasta entonces no descritos en el país, no permitieron establecer con qué frecuencia se encontraban en la población.

En 1999, se realizó en el CNRS un estudio de subtipificación de HIV en población heterosexual. Este estudio, en primer lugar realizado por la técnica de HMA (del inglés, *Heteroduplex Mobility Assay*), mostró una alta prevalencia de subtipo F en población de hombres y mujeres heterosexuales (76% F y 24% B) [16]. La secuenciación parcial de genomas identificados como subtipo F por la técnica de HMA, mostró que en realidad eran recombinantes B/F. La secuenciación de genomas completos de estos recombinantes B/F de pacientes de Argentina junto con otros provenientes de Uruguay, mostró la existencia de una nueva CRF, la CRF12_BF [79]. Por otro lado, estudios realizados en muestras provenientes de UDIs mostraron una total predominancia de recombinantes B/F [17]. Trabajos posteriores en niños hijos de madres HIV positivas, nacidos en la década del 80, demostraron la presencia de recombinantes B/F desde el año 1986, sugiriendo que las recombinantes que circulan en nuestro país tienen un origen más antiguo del que se pensaba inicialmente [80]. En muestras enviadas al CNRS para determinar la presencia de variantes resistentes al tratamiento antirretroviral entre 2001-2003, se encontró una frecuencia de B (51%) y B/F (48%) similar. También se encontró una muestra subtipo F, una recombinante BC y dos recombinantes A2D [81]. En HSH se reportó la presencia de subtipo B predominantemente, luego B/F [21, 82]. En MTS se encontró una mayor prevalencia de recombinantes B/F y, en menor proporción, subtipo B. Se encontró subtipo C y una coinfección B/BF [20] y una recombinante BCF [21]. Un reporte sobre muestras de diagnósticos recientes de 2003-2005 mostró una mayor prevalencia de recombinantes B/F (57%) seguida por subtipo B (39%). El mismo trabajo encontró subtipo C y recombinantes BC, A2D, CRF06_cpx, BD, BK y BA [83]. Estos resultados muestran que la epidemiología molecular del HIV en la Argentina presenta una estructura compleja y cambiante. Los estudios realizados sugerirían que el recombinante B/F está ampliamente distribuido en la población y que la proporción en que B o B/F se presentan en las distintas poblaciones es variable.

I.1.12. Infecciones de transmisión sexual y HIV/Sida

En el transcurso de la epidemia de HIV/Sida se observó que diversos grupos de población, donde la prevalencia de HIV es más elevada que en la población general, poseen asimismo altas prevalencias de algunas infecciones que comparten las vías de transmisión con el HIV. Esto ocurre porque las ITS y el HIV facilitan la infección el uno del otro [84-86]. Las ITS aumentan el riesgo de adquisición y de transmisión del HIV. Los individuos infectados con ITS tienen un riesgo 2-5 veces mayor de adquirir HIV que los no infectados si se exponen al virus por vía sexual. Por otro lado, si un individuo HIV positivo tiene además alguna ITS, es más probable que transmita el HIV a través de contacto sexual que otras personas HIV positivas [86]. Este aumento en la susceptibilidad a la infección por HIV puede explicarse por dos mecanismos. Las úlceras genitales (causadas, por ejemplo, por sífilis o herpes) disrumen la integridad de la mucosa del tracto genital generando una puerta de entrada al HIV. Además, la inflamación que resulta de las úlceras genitales o de las ITS no ulcerativas (por ejemplo, en la infección por clamidia) aumenta la concentración de células en las secreciones genitales que son blancos de la infección por HIV (CD4+).

Dentro de las infecciones virales se destacan los virus de las hepatitis virales B (HBV) y C (HCV), el Virus Linfotrópico T-Humano Tipo 1 y 2 (HTLV-1/2) y el Herpes Simplex [46]. Dentro de las ITS bacterianas más prevalentes en nuestro medio se destacan sífilis y clamidias [61].

Se ha descrito que muchas de estas enfermedades infecciosas ven afectado su curso evolutivo en presencia del HIV, y también que algunas de estas enfermedades infecciosas intervienen en la evolución de la infección por HIV/Sida.

Diversos estudios epidemiológicos realizados en la Ciudad de Buenos Aires y sus alrededores por el CNRS mostraron la importancia del estudio de las ITS dado que se encontraron altas prevalencias de infección en diferentes poblaciones: mujeres gestantes y sus parejas sexuales, [87]; UDIs, [58]; UCNIIs [59], HSH [55, 56], MTS [56, 57].

Dados los antecedentes expuestos, en esta Tesis se estudió, además de la prevalencia de HIV, las prevalencias de hepatitis B y C, HTLV-1/2 y *Treponema pallidum* en las poblaciones de HTS y TTS. Estas cuatro ITS comparten las mismas vías de transmisión, sexual, parenteral y de madre a hijo; aunque su probabilidad de

transmisión es distinta. Además, en un grupo de TTS fue posible estimar la prevalencia de infección por HPV y *Chlamydia trachomatis*.

I.2. Virus de la Hepatitis B (HBV)

El HBV fue descubierto en los años sesenta [88, 89] y ha sido clasificado en la familia *Hepadnaviridae*. El HBV infecta células hepáticas preferentemente aunque pequeñas cantidades de su ADN ha sido encontrado en riñones, páncreas y células mononucleares.

La infección por HBV lleva a un amplio espectro de enfermedades hepáticas desde hepatitis aguda (incluyendo falla hepática fulminante) a hepatitis crónica, cirrosis y carcinoma hepatocelular [90].

Una de las características de la infección por HBV es la producción no sólo de la partícula viral infectiva (o partícula de Dane) sino también de otros dos tipos de partículas, esféricas y filamentosas, que no son infectivas. Todas estas partículas expresan el antígeno de superficie (HBsAg) y circulan en la sangre, permitiendo el diagnóstico mediante su detección por enzimoimmunoensayo. La partícula de Dane tiene una envoltura que contiene al HBsAg y rodea a la nucleocápside compuesta por el antígeno del core (HBcAg) que forma un complejo con la polimerasa viral y el ADN genómico. Dicho ADN es parcialmente bicatenario y está unido a la polimerasa viral en forma covalente desde el extremo 5' de la cadena negativa. En el genoma del HBV se distinguen cuatro marcos abiertos de lectura (del inglés ORF, *open reading frame*) que se solapan parcialmente: ORF P de la polimerasa viral, ORF S (proteínas preS1, preS2, S), ORF C (proteínas del HBc y HBe) y el ORF X del HBxAg (proteína HBx con múltiples funciones) [24].

Dado que la replicación del HBV involucra una transcripción reversa y que la polimerasa viral carece de función *proofreading*, se generan errores con mucha mayor frecuencia de lo que suele ocurrir en otros virus a ADN. Sin embargo, la posibilidad de que aparezcan mutantes viables está restringida por el hecho que la mayoría de las secuencias genómicas participa en dos ORF. De esta forma, una mutación produce variaciones fenotípicas en dos proteínas diferentes con la consiguiente alteración en su capacidad funcional [24].

El material más infectivo es la sangre del paciente infectado y, en menor medida, el semen y otros fluidos o secreciones. La principal vía de transmisión es la exposición percutánea y de mucosas a fluidos corporales infectados. El ingreso por vía parenteral se puede producir especialmente mediante transfusiones de sangre o derivados o bien por compartir el equipo de inyección entre UDIs. El virus también se transmite por vía sexual y vertical. Dado que el HBV conserva su viabilidad durante períodos de 7 o más días en superficies ambientales, es posible también la transmisión indirecta mediante objetos inanimados [91].

El diagnóstico específico de infección por HBV se obtiene mediante la detección de marcadores de laboratorio específicos, incluyendo antígenos virales y/o sus anticuerpos específicos, que en algunos casos tienen además valor pronóstico. El HBsAg es el marcador más importante y comúnmente usado porque su presencia en suero indica infección activa con HBV ya sea ésta de forma aguda o crónica. Si concomitantemente se detecta IgM anti-HBc se sugiere entonces una infección reciente, aunque puede ser igualmente detectada ante episodios de reactivación durante una infección crónica. Por otro lado la persistencia de HBsAg por más de 6 meses sugiere una infección crónica. La ausencia de HBsAg en presencia de IgG anti-HBc sugiere una infección previa. Existe, además, otra entidad clínica de infección por este virus que se caracteriza por presencia de viremia y ausencia de HBsAg detectable. A esta se la denomina hepatitis B oculta y suele presentarse en pacientes cuyo único marcador serológico es anti-HBc aunque también se ha reportado en pacientes que sólo tienen anticuerpos anti-HBs e incluso en aquellos sin marcadores serológicos para HBV. Aun lejos de conclusiones definitivas en sus implicancias, se ha avanzado notablemente en su conocimiento [92-94].

La infección por HBV es la décima causa de mortalidad mundial. Se estima que existen 2 billones de personas infectadas en todo el mundo y que 350 millones sufren de infección crónica. La distribución de la infección por HBV varía ampliamente a lo largo del mundo. En áreas donde la prevalencia es alta (mayor al 8%), como en países del extremo sudeste asiático, China y África, la infección crónica por HBV es común y usualmente adquirida en forma perinatal o en la niñez [95]. Por el contrario en los países de baja prevalencia (menor al 2%), entre los que se incluyen Australia, Argentina y países de Europa Central y América del Norte, solo una minoría de la población entra

en contacto con el virus, como resultado de transmisión sexual y/o parenteral entre adultos jóvenes. En las áreas no endémicas, hasta el 5% de los infectados evolucionan hacia la cronicidad y, entre ellos, el 10% desarrollará un hepatocarcinoma [24].

Desde el año 1987 el número de casos ha declinado en todo el mundo a causa de la inmunización de las poblaciones más vulnerables y el control de sangre en donantes.

La secuenciación del genoma de HBV ha permitido identificar 8 genotipos de este virus (denominados A-H), con distinta distribución geográfica, cada uno agrupando variantes cuya divergencia es menor al 8%. Recientemente se han descrito dos posibles nuevos genotipos I y J en Asia [96-98]. Por otro lado, se sabe que los genotipos del HBV difieren también en sus propiedades patogénicas, incluyendo la potencialidad de evolucionar a una infección persistente crónica, la severidad del curso de la infección incluyendo la factibilidad de conducir hacia cáncer hepático, su respuesta al tratamiento [99].

En cuanto a los genotipos encontrados en Argentina, entre los pacientes con hepatitis B aguda, predomina el genotipo F (65,2%) y el genotipo D es poco frecuente (4,3%) mientras que entre los individuos con hepatitis B crónica se encontró una distribución homogénea de genotipos A (26,8%), D (31,7%) y F (36,6%) y baja frecuencia de genotipos B (1,2%) y C (3,7%) [100].

La coinfección entre HBV y HIV es común debido a que ambos virus comparten las vías de transmisión, aunque es de resaltar que el HBV es transmitido más eficientemente.

El curso evolutivo de la infección por HBV se ve afectado por la infección con HIV. Si bien la tasa de resolución de la infección por HBV es alta (>90%) en adultos inmunocompetentes, el 20% de los adultos con infección por HIV desarrollan infección crónica luego de exponerse al HBV [101].

Además, la infección por HBV en personas infectadas con HIV aumenta el riesgo de cirrosis, de enfermedad hepática terminal y de muerte por enfermedad hepática, sobre todo en pacientes con bajo número de CD4 [102].

I.3. Virus de la Hepatitis C (HCV)

El HCV fue identificado en Estados Unidos en 1989 como el mayor causante de hepatitis postransfusional no-A, no-B [103].

Su blanco natural son los hepatocitos y, posiblemente, los linfocitos B [104]. La infección se vuelve crónica en la amplia mayoría de los casos y la mayoría de ellos, lleva a hepatitis y algún grado de fibrosis. Las complicaciones severas y la muerte generalmente ocurren en personas con cirrosis, la cual se estima que se produce en el 15-20% de las personas infectadas [105]. La infección por HCV es una de las principales causas de trasplante hepático [106].

El HCV es un Flavivirus cuyo genoma es ARN simple cadena con un único marco abierto de lectura y dos regiones no codificantes (del inglés, *untranslated regions* (UTRs)). Codifica para una poliproteína que luego es clivada dando lugar al menos a diez proteínas estructurales y no estructurales. La región 5' no codificante (5'UTR) es esencial para la traducción, lo que explica que su secuencia se encuentre altamente conservada entre los diferentes aislamientos del virus.

EL HCV es diez veces más infectivo que el HIV en contacto con sangre, siendo los UDIs y los receptores de hemoderivados particularmente susceptibles a la coinfección. La vía transfusional ha decrecido en su incidencia desde la introducción de pruebas de tamizaje para la detección de anticuerpos específicos anti-HCV en bancos de sangre. En contraste, la transmisión de HCV por vía sexual ocurre significativamente menos frecuentemente que la del HIV y el HBV. Por lo tanto, HCV es raro en la población de HSH. Sin embargo, se han reportado brotes de hepatitis C aguda entre HSH HIV-positivos sin antecedentes de uso de drogas inyectables, indicando claramente que el HCV puede ser transmitido sexualmente [107]. El riesgo de transmisión probablemente depende del número de parejas sexuales y del tipo de prácticas sexuales que pueden conllevar mayor lesión de la mucosa [108].

La vía de transmisión vertical tiene una frecuencia del 3-5% y está determinada principalmente por el nivel de viremia de la madre [109].

El diagnóstico etiológico de la infección se basa en la detección de anticuerpos circulantes por la técnica de ELISA. Si éste resulta positivo, se demuestra la exposición al HCV, pero no se distingue entre hepatitis aguda, resuelta o crónica. La hepatitis crónica por HCV se diagnostica por la detección de la viremia de HCV por un período igual o mayor a los 6 meses.

Se estima que aproximadamente 130-170 millones de personas se encuentran infectadas por el HCV a nivel mundial [110]. La prevalencia de HCV varía en distintas

partes del mundo, con una mayor incidencia en los países del hemisferio oriental comparados con el occidental. En nuestro país la prevalencia en donantes de sangre en 2007 era de 0,75% según el Centro Nacional Red de Laboratorios [111]. Sin embargo, ciertos grupos de individuos, como UDIs, presentan un riesgo incrementado de adquirir esta infección independientemente de la localización geográfica [112].

El HCV se caracteriza por una gran variabilidad genética. Se han descrito al menos siete genotipos (denominados 1-7) y más de 67 subtipos diferentes de HCV [113, 114]. El estudio del genotipo infectante ayuda a predecir el resultado de la terapia e influencia la elección del régimen terapéutico [105]. En cuanto a la ubicación geográfica, se ha observado que algunos genotipos se han dispersado globalmente (1a, 1b, 2a, 2c, 3a), mientras que otros sólo han sido encontrados en determinadas regiones (4, 5a y 6a) [115]. En nuestro país, un reporte del año 2000 sobre 246 aislamientos de HCV muestra una prevalencia de 53,5% para el genotipo 1 (23,5% subtipo 1a/c y 30% 1b), 23% para el genotipo 2 (19% subtipo 2a/c y 4% subtipo 2b/c) y 8,6% para el genotipo 3 [116].

La historia natural de la infección por HCV se encuentra acelerada en pacientes con HIV, hay un aumento en la progresión a cirrosis, enfermedad hepática descompensada, carcinoma hepatocelular y muerte.

Sobre la base de la eficiencia relativa de la transmisión, la prevalencia de la coinfección con HCV depende de la vía de transmisión del HIV, variando desde 10-14% entre personas que reportan exposición sexual de alto riesgo a 85-90% entre aquellos que reportan ser UDIs [117].

I.4. Virus Linfotrópico T-Humano Tipo 1 y 2 (HTLV-1/2)

La leucemia de células T en adultos se describió por primera vez en 1977 en Japón [118]. Desde entonces ha sido detectada en otras regiones del mundo que incluyen áreas en Oriente, noreste de América del Sur y África Central. Los estudios epidemiológicos demostraron una clara asociación con la presencia de un retrovirus, conocido actualmente como el virus de la leucemia de las células T humanas tipo 1 (HTLV-1). Posteriormente, se demostró que el HTLV-1 también estaba relacionado con enfermedades neurológicas, tales como la paraparesia espástica tropical o mielopatía

[119]. Asimismo, en 1982 se aisló un virus relacionado con el HTLV-1 a partir de un paciente con leucemia de células pilosas, que se denominó HTLV-2 [120].

El HTLV pertenece a la familia *Retroviridae*, género *Deltaretrovirus*, que agrupa los virus exógenos que se caracterizan por la presencia de dos genes reguladores (*tax* y *rex*) que codifican para proteínas no estructurales importantes en la expresión del genoma y por carecer de oncogenes reconocidos pese a ser virus transformantes [121]. Los virus linfotrópicos que infectan células T en el hombre (HTLV-1, HTLV-2, HTLV-3 y HTLV-4) son retrovirus que exhiben características comunes a los demás integrantes de la familia, tales como tener genoma de ARN diploide, organizado en tres genes estructurales principales (*gag-pol-env*), dos LTR idénticas y poseer la enzima TR.

El HTLV-1 tiene un tropismo predominante por linfocitos CD4+ mientras que el HTLV-2 suele infectar linfocitos CD8+.

El HTLV-1 es el causante etiológico de una enfermedad neurológica llamada mielopatía asociada al HTLV-1 o paraparesia espástica tropical (HAM/TSP), y una de naturaleza hematológica denominada Leucemia a Células T del Adulto (ATL) aunque la mayoría de los portadores de éste virus permanecen asintomáticos a lo largo de sus vidas [118, 119, 122-124].

El número restringido de individuos portadores del HTLV-2 con una enfermedad específica, no ha permitido una demostración epidemiológica de un papel etiológico definitivo para este virus en casos de malignidad en humanos.

El HTLV-1/2 se transmite de madre a hijo, por contacto sexual, por vía parenteral y por trasplante de órganos [125]. En condiciones naturales la transmisión del HTLV-1/2 es por células infectadas, y muy raramente por virus libre [126]. Estudios epidemiológicos realizados en Japón demostraron que en áreas endémicas de HTLV-1, la transmisión madre-hijo ocurre principalmente por leche materna [127]. Hino y colaboradores [128] establecieron que se infectan alrededor del 25% de niños de madres seropositivas que amamantan por más de 12 meses, mientras que solo un 2-5% de los niños nacidos de madres infectadas pero que fueron alimentadas por leche artificial lo hacen. Es probable que en el último caso la transmisión viral se haya realizado por vía transplacentaria o perinatal.

Se dispone de escasos datos que permitan determinar la importancia de la transmisión vertical del HTLV-2, pese a que su presencia ha sido confirmada en la leche materna

de madres infectadas [127]. En cambio, la infección por HTLV-2 después de una transfusión de productos sanguíneos celulares contaminados ha sido bien documentada [129]. Asimismo, se ignora si la mayor prevalencia de HTLV-2 en UDIs respecto al HTLV-1, se debe a una mayor eficiencia de transmisión o a una más temprana introducción del virus en esta población.

El algoritmo para el diagnóstico serológico es similar al del HIV. Se utilizan pruebas de tamizaje tales como ELISA y aglutinación de partículas. Estos métodos no distinguen los tipos 1 y 2. El diagnóstico diferencial se realiza con la técnica de WB, siendo necesario recurrir a la técnica de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa, del inglés *Polymerase Chain Reaction*) en los casos de muestras con resultado indeterminado.

El HTLV-1 se encuentra diseminado en gran parte del mundo afectando aproximadamente entre 15 y 25 millones de personas. Existen regiones endémicas con cifras muy elevadas ($\geq 15\%$) para esta infección en Japón y en algunas áreas de África [130]. Se encontraron endemias con cifras intermedias (5-14%) en el Caribe y algunas regiones de África Occidental, y con cifras bajas ($<5\%$) en Australia y algunos países latinoamericanos como Colombia, Perú, Panamá, Brasil, Chile y Argentina [131-134]. Se estima que el HTLV-2 infecta alrededor de 3 a 5 millones de personas en el mundo y ha sido demostrado que, al igual que el HTLV-1, es endémico en diferentes partes del mundo. Entre los grupos de poblaciones humanas afectadas por el HTLV-2, se encuentran poblaciones de aborígenes del continente americano donde el virus se presenta en forma naturalmente endémica [135].

En Argentina, las infecciones por HTLV-1/2 son endémicas en las áreas del noroeste (provincia de Jujuy) y noreste (región chaqueña) entre aborígenes Tobas y Wichis [136, 137].

Comparando secuencias genómicas de virus de distintas regiones del mundo se demostró cierta variabilidad genética que, aunque escasa comparada con HIV, es suficiente para establecer diferentes subtipos virales relacionados geográficamente.

El HTLV-1 se divide filogenéticamente en siete subtipos: Cosmopolita (a), África Central (b y d), Melanesia (c), Zaire (e), Gabón (f) y Camerún (g) [138-140]. El subtipo Cosmopolita se ha diseminado por todo el mundo y está compuesto por 5 subgrupos: A a E [139]. A su vez, el HTLV-2 se divide en cuatro subtipos, a, b, c y d, [32]. El subtipo a

es el que se encuentra en mayor proporción en UDIs mientras que el b es hallado más frecuentemente en pueblos originarios del continente americano. El subtipo c fue descrito únicamente en aborígenes de Brasil y actualmente se lo incluye en el subtipo a [141]. El subtipo d ha sido caracterizado a partir de un pigmeo Bambuti de Zaire en África [142].

Las prevalencias de coinfección HTLV1/2-HIV difieren en distintas poblaciones y regiones del mundo y para cada virus. El HTLV-1 es más frecuente en personas HIV positivas del Hemisferio Sur mientras que el tipo 2 tiene mayor frecuencia en el Hemisferio Norte. Aunque existe cierta controversia en los resultados, el HTLV-1 pareciera acelerar la progresión clínica al Sida y acortaría el tiempo de sobrevivencia. Por otro lado, la coinfección con HTLV-2 disminuiría la progresión al Sida [143].

1.5. *Treponema pallidum*

La sífilis es una enfermedad infecciosa con afectación sistémica causada por el *Treponema pallidum*. Las primeras epidemias de esta enfermedad registradas ocurrieron en 1495 en Italia. A pesar de contar con un tratamiento eficaz desde los años 40, hay muchos aspectos de la historia natural y del manejo de la enfermedad que siguen generando controversia [144].

El *Treponema pallidum* es una espiroqueta altamente contagiosa. Su estructura básica consiste en un filamento axial incluido en un cilindro helicoidal de citoplasma. El filamento es morfológicamente similar al flagelo bacteriano y le otorga movilidad.

La entrada del *T. pallidum* al organismo ocurre probablemente a través de microtraumas y la transmisión sexual suele ocurrir desde las lesiones en una mucosa durante la sífilis primaria o secundaria [145].

La enfermedad tiene distintos estadios. La sífilis primaria se caracteriza por la aparición de, generalmente, una única lesión llamada chancro. La misma aparece en el lugar por el que el *T. pallidum* entró al cuerpo. En este estadio se pueden recuperar treponemas de las lesiones. El chancro perdura por unas 3-6 semanas y se cura sin tratamiento aunque la falta del mismo permite la progresión al segundo estadio. Este se caracteriza por la aparición de erupciones en la piel y lesiones en las mucosas. Durante este estadio es posible demostrar la presencia de treponemas en sangre y otros tejidos. También puede haber otros síntomas (fiebre, dolor de cabeza, etc). Los signos y

síntomas de esta etapa se curan con o sin tratamiento pero sin este, la enfermedad avanzará al siguiente estadio. Tras la sífilis secundaria, el paciente entra en un período de latencia durante el cual el diagnóstico sólo se puede hacer mediante pruebas serológicas. Este período se divide en estadio de latencia temprano (dentro de los dos años de ocurrida la infección) y estadio de latencia tardío. En esta etapa, las espiroquetas que han continuado su reproducción durante años, se acumulan en paquetes de lesión en diversos tejidos como huesos, piel, tejido nervioso, corazón y arterias. A estas lesiones se las denomina gomas y son muy destructivas. Las lesiones en el sistema nervioso central generan una enfermedad neurológica llamada neurosífilis y otros trastornos que pueden comprender tabes dorsal, paresia general y atrofia óptica. Por otra parte, las lesiones del corazón, de las válvulas cardíacas y de la aorta pueden conducir a aneurismas, valvulopatía cardíaca y aortitis. La sífilis terciaria se ve con menos frecuencia hoy que en el pasado, debido a la detección temprana y al tratamiento adecuado.

La sífilis se transmite por contacto directo con una lesión, que suele estar presente en los genitales externos, vagina, ano o recto pero también puede encontrarse en los labios o la boca. En el 95% de los casos el *Treponema* se transmite por prácticas sexuales. El riesgo de adquirir sífilis de una persona infectada por práctica sexual es del 30 al 50%; las posibilidades varían según la morfología y distribución de las lesiones. Un paciente es más infeccioso al principio de la enfermedad y gradualmente la infectividad disminuye con el paso del tiempo. La sífilis congénita se produce con más frecuencia cuando el feto se infecta *in útero*, aunque es posible la infección del neonato al pasar por el canal del parto. La sífilis adquirida por transfusión es actualmente infrecuente debido al examen serológico de los donantes [146].

La sífilis tiene distribución mundial, variando la incidencia con la distribución geográfica y el entorno socioeconómico.

A nivel mundial unas 12 millones de personas por año adquieren sífilis. En muchos países desarrollados, la prevalencia de sífilis alcanzó en los 90 los valores más bajos registrados. Sin embargo, desde 1999 se han reportado pequeñas epidemias en HSH. Estas epidemias se propagaron a otras áreas y llevaron al resurgimiento de la sífilis en muchos países [147].

Las pruebas serológicas utilizadas como diagnóstico se dividen entre aquellas que detectan los anticuerpos no treponémicos (reagínicos) y los treponémicos (específicos). Los anticuerpos reagínicos son de tipo IgG e IgM dirigidos frente a un antígeno lipóideo que es el resultado de la interacción de *T. pallidum* con los tejidos del huésped (cardiolipina, colesterol, lecitina). Aunque pueden tener resultados falsos positivos, son los mejores métodos de diagnóstico serológico en la sífilis latente temprana y en la tardía y son ampliamente utilizados por ser los de más bajo costo. La VDRL (*Venereal Disease Research Laboratory*) es una de las pruebas no treponémicas más utilizada. La prueba de VDRL es un buen marcador de infección en fase aguda y para el control de la respuesta al tratamiento ya que permite obtener resultados cuantitativos. En cuanto a las pruebas treponémicas específicas se destacan la hemaglutinación o la prueba de absorción de anticuerpos treponémicos fluorescentes (del inglés, *fluorescent treponemal antibody absorption* (FTA-abs))[144].

La sífilis en pacientes infectados con HIV presenta cierto número de problemas característicos. Es más probable un curso más prolongado y maligno con mayor compromiso orgánico, erupciones cutáneas más atípicas y floridas y neurosífilis debido al impacto del HIV sobre el sistema inmune celular del huésped. Por otro lado se ha descrito que las úlceras genitales causadas por la infección treponémica facilitan la infección y la transmisión de HIV.

I.6. Virus Papiloma Humano (HPV)

Las verrugas en la piel y los genitales ya eran conocidas por los griegos y los romanos. La primera prueba inequívoca sobre la naturaleza viral de las verrugas provino de experimentos de transmisión con filtrados libres de células en 1907 en Italia. En 1949 Strauss *et al.* aisló al HPV como una forma microcristalina [148]. En los años 70 la diversidad de tipos de papilomavirus se volvió evidente [149].

Los HPV son un grupo diverso de virus ADN, sin envoltura, perteneciente a la familia *Papillomaviridae* [150]. Como todos los virus de esta familia, los HPV sólo establecen infecciones productivas en el epitelio estratificado de la piel y mucosas.

Se han identificado alrededor de 200 tipos diferentes de HPV. Todos los HPV son epiteliotrópicos y pueden dividirse según su capacidad de infectar queratinocitos cutáneos o de la mucosa. Aquellos que infectan las mucosas pueden a su vez dividirse

en tipos de alto o bajo riesgo. Los tipos de bajo riesgo llevan al desarrollo de neoplasias benignas, como verrugas y condiloma acuminado, mientras que los de alto riesgo pueden llevar a neoplasias malignas como el cáncer cervical [151]. Quince tipos de HPV han sido clasificados como de alto riesgo (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 y 82), 3 como de probable alto riesgo (26, 53 y 66) y 12 fueron clasificados como de bajo riesgo (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 y CP6108) [152].

El genoma de todos los tipos de HPV tienen 8 ORFs que se expresan de ARNs mensajeros policistrónicos que se transcriben de una única hebra de ADN. Estos 8 ORFs pueden ser subdivididos en genes tempranos y tardíos. Los ORFs tardíos, (del inglés, *late*, L) codifican para las proteínas L1 y L2 que componen la cápside [151].

El ORF de L1 es el gen más conservado del genoma y, por lo tanto, ha sido utilizado para identificar los tipos de HPV. Se define un nuevo tipo cuando el gen L1 difiere en más del 10% del tipo más cercano [150].

Los HPVs que infectan la zona anogenital son la ITS más común dado que se transmiten muy fácilmente, presumiblemente a través de heridas microscópicas en la superficie del epitelio producidas durante las relaciones sexuales. Existen reportes de transmisión no sexual del HPV a través de fomites ambientales o transmisión vertical. Pero estas vías son claramente menos importantes que la sexual [153, 154].

Comparado con el cáncer cervical, el cáncer anal es una enfermedad rara en la población general. Sin embargo, su incidencia (1/100.000 personas-año) está aumentando, tanto en hombres como mujeres, a una tasa del 2% anual. En grupos de alto riesgo, como los HSH, el cáncer anal es frecuente. En los HSH la incidencia se estimaba en 37/100.000 personas-año antes de la epidemia de HIV.

Mientras el HPV 16 es la causa de aproximadamente el 50% de los cánceres cervicales, el mismo tipo origina más del 70% de los cánceres anales [155].

En cuanto al efecto de la coinfección HIV-HPV, la disminución de la respuesta inmune específica para HPV asociada a la infección por HIV podría permitir la persistencia de la neoplasia intraepitelial de alto grado y daría el tiempo suficiente para la acumulación de los cambios genéticos necesarios para la progresión al cáncer [156].

Actualmente, se están estudiando las consecuencias clínicas de la detección de HPV anal. Por esto, no existen todavía recomendaciones internacionales sobre el diagnóstico [157].

Desde hace pocos años, existen dos vacunas de HPV aprobadas por la FDA (*Food and Drug Administration*) y el ANMAT (Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica) para prevenir la neoplasia intraepitelial cervical y otras enfermedades anogenitales atribuibles a los genotipos presentes en las vacunas (tipos 6, 11, 16 y 18) para mujeres de 9-26 años [158]. Estudios posteriores mostraron que la vacunación reduciría el riesgo de cáncer anal en hombres por lo cual, desde el 2010, la FDA incluyó en sus recomendaciones a los hombres del mismo rango etéreo [159].

I.7. *Chlamydia trachomatis*

El orden *Chlamydiales* comprende a las bacterias que son parásitos intracelulares obligados que infectan células eucariotas y tienen un ciclo de replicación bifásico. Al inicio de este ciclo, el cuerpo elemental metabólicamente inactivo pero infeccioso es endocitado por la célula eucariota y reside en un cuerpo de inclusión en el citoplasma. Allí se transforma en el cuerpo reticulado que es metabólicamente activo y no es infeccioso. Este cuerpo se divide por fisión binaria y se transforma en la forma infecciosa antes de ser liberado de la célula [160].

Los patógenos humanos se agrupan en la familia *Chlamydiaceae*, dentro de la cual *Chlamydia trachomatis* produce una variedad de patologías en el humano: infecciones oculares (tracoma, paratracoma, conjuntivitis neonatal), respiratorias (neumonía intersticial del lactante) e infecciones de transmisión sexual (como las uretritis no gonocócicas, cervicitis y el linfogranuloma venéreo, LGV) donde la infección se transmite por contacto sexual vaginal, oral o anal con una pareja infectada.

Dentro de las infecciones de transmisión sexual, *Chlamydia trachomatis* es el agente bacteriano más frecuente en todo el mundo. La infección con *C. trachomatis* se produce en los epitelios cilíndricos monoestratificados, en la mayoría de los casos en el tracto urogenital, pero también en el recto, orofaringe o conjuntiva.

Al igual que las infecciones urogenitales, la mayoría de las infecciones rectales permanecen asintomáticas [161]. Sin embargo, una infección rectal asintomática con *C.*

trachomatis puede contribuir a la transmisión del HIV debido al estado inflamatorio que se produce [85].

En general, las infecciones causadas por genotipos no-LGV, genotipos D-K, dan pocos o ningún síntoma y no producen reacciones inmunes detectables [162]. Por otro lado, las infecciones producidas por los genotipos L1-L3 resultan en una infección invasiva, sintomática y ulcerativa llamada LGV. Es altamente recomendable diferenciar una infección por *C. trachomatis* tipo LGV de una que no lo es, dado que la primera requiere tratamiento antibiótico más prolongado [163]. En nuestro país existe, hasta el momento, un solo reporte describiendo los genotipos de *Chlamydia trachomatis* [164]. El mismo se realizó en adultos sintomáticos, encontrando la siguiente distribución de genotipos en muestras uretrales de hombres (N=42): E (45,2%), D (16,8%), F (11,9%), G (9,5%), I (9,5%), y K (7,1%). No se encontraron genotipos de LGV.

Según el CDC, el diagnóstico de la infección anal en personas que practican sexo anal receptivo puede hacerse con una muestra de hisopado rectal [165]. La FDA no ha aprobado aún una técnica de detección de *C. trachomatis* sobre este tipo de muestra pero en las publicaciones se utilizan técnicas de amplificación de ácidos nucleicos [166-169].

II.1. Objetivo general

Estudiar las características socio demográficas y epidemiológicas y conocer la caracterización molecular de infecciones de transmisión sexual en hombres trabajadores sexuales (HTS) y trans (travestis, transexuales o transgénero hombre a mujer) trabajadoras sexuales (TTS) de Argentina.

II.2. Objetivos específicos

1. Estimar la prevalencia e incidencia de HIV en hombres y trans trabajadores sexuales.
2. Estimar las prevalencias de HBV, HCV, HTLV-1/2 y *T. pallidum*. Asimismo, determinar la frecuencia de coinfección entre estos patógenos y con HIV.
3. Estimar la asociación de infección por HIV, HBV, HCV, HTLV-1/2 y *T. pallidum* con factores sociodemográficos y de riesgo específicos de las dos poblaciones.
4. Caracterizar a nivel molecular HIV, HBV, HCV, HTLV-1/2 presentes en estas poblaciones.
5. Estimar la prevalencia de HPV en trans trabajadoras sexuales.
6. Caracterizar a nivel molecular los genotipos de HPV presentes en esta población.
7. Estimar la prevalencia de *Chlamydia trachomatis* en trans trabajadoras sexuales.
8. Caracterizar a nivel molecular los genotipos de *Chlamydia trachomatis* presentes en esta población.

III.1. Población estudiada

Se realizó un estudio de corte transversal con un muestreo de conveniencia de hombres trabajadores sexuales (HTS) y trans (travestis, transexuales o transgénero hombre a mujer) trabajadoras sexuales (TTS) mayores de 18 años de edad.

Aquellos individuos previamente diagnosticados para los patógenos en estudio no fueron excluidos de este trabajo. El estudio comenzó en Octubre de 2006 y finalizó en Diciembre de 2009 e incluyó siete ciudades de Argentina: Ciudad Autónoma de Buenos Aires, La Plata, Córdoba, Mendoza, Rosario, Santiago del Estero y Viedma.

III.2. Consideraciones éticas

Esta investigación fue revisada por el Comité de Ética Internacional Independiente de Nexo AC (IRB 00005349 - Nexo AC IRB #1 – Biomedical - FWA00010341) y fue implementada cumpliendo las regulaciones federales que gobiernan la protección de seres humanos. Se siguieron las normas nacionales e internacionales para investigaciones biomédicas que involucran seres humanos (CIOMS, 2002).

III.3. Reclutamiento de los participantes

Las muestras analizadas en este estudio provienen de voluntarios HTS y TTS que fueron específicamente convocados por las siguientes organizaciones no gubernamentales: AMMAR (Asociación de Mujeres Meretrices de la Argentina), ATTTA (Asociación de Travestis, Transexuales y Transgénero de Argentina) y Nexo AC (que trabaja principalmente con HSH). En cada ciudad, los TS fueron identificados por sus pares, invitados a participar en el estudio y se les ofreció testeo y asesoramiento sobre ITS. A todos los participantes se les explicó el propósito del estudio durante el primer encuentro y aquellos que decidieron participar fueron invitados a firmar el consentimiento informado. Luego de firmar el documento, los participantes fueron entrevistados por un par capacitado o por un trabajador social utilizando una encuesta estandarizada específica para cada grupo. En el mismo encuentro se realizó la extracción de sangre. Los resultados fueron vinculados a la encuesta por un código numérico que preservaba la confidencialidad y anonimato.

Los participantes fueron invitados a regresar dos semanas después para recibir los resultados de serología de HIV, *T. pallidum*, HBV y HCV y el asesoramiento post-test. Los

individuos con diagnóstico positivo fueron referidos a centros médicos para recibir una adecuada evaluación y tratamiento. Se ofreció tratamiento a aquellos participantes con infección actual por *T. pallidum*.

Durante los últimos 18 meses del estudio, a las TTS que asistían a Nexo AC se les ofreció el testeo para HPV y *Chlamydia trachomatis*, y la vacuna de HBV. Si la participante resultaba ser positiva para HBV, se reevaluó el esquema de vacunación.

III.4. Obtención de datos epidemiológicos

La encuesta se administró con el fin de obtener datos sociodemográficos (vivienda, nivel de estudios, estado civil, etc.), de comportamiento (uso de preservativo con pareja estable, años de trabajo sexual, número de clientes, uso de preservativo en el trabajo, consumo de alcohol y drogas, etc.) y conocimiento sobre HIV/Sida de cada participante (vías de transmisión, riesgo en ciertas prácticas sexuales, etc.).

III.5. Obtención y procesamiento de las muestras de sangre

Muestras de sangre anticoagulada y sin anticoagular fueron colectadas en condiciones estériles siguiendo los protocolos estándar y las precauciones de seguridad.

El transporte de las muestras se realizó según las normas de bioseguridad vigentes (Leyes Nacionales 23.798 y 24.051).

A partir de una muestra de 10 ml de sangre entera anticoagulada con EDTA, se recuperó el plasma por centrifugación a 1.900 rpm por 10 minutos y se conservó a -80°C. Además se guardó sangre entera anticoagulada a -80°C.

Las muestras de sangre coagulada fueron centrifugadas bajo las mismas condiciones, se recuperó el suero y se guardó a -20°C.

III.6. Diagnóstico de infección por HIV

El mismo se realizó en el Centro Nacional de Referencia para el Sida (CNRS), Facultad de Medicina, UBA.

El tamizaje de HIV se realizó por ELISA (Enzygnost Anti-HIV 1/2 Plus ELISA, Dade Behring, Alemania) y aglutinación de partículas (BIO-RAD, Fujirebio Diagnostics, Inc, Japón). Las muestras reactivas por ambas o alguna de las dos técnicas fueron subsecuentemente confirmadas por WB (NEW LAV BLOT I, Bio-Rad Laboratories, Inc,

WA, EEUU). El resultado de WB se consideró positivo si estaban presentes dos de las bandas correspondientes a p24, gp41 o gp120/160. El mismo se consideró indeterminado si otras bandas diferentes de aquellas tres resultaban reactivas y fue negativo si no se revelaba ninguna banda.

III.7. Diagnóstico de infección por HBV

El diagnóstico se realizó con la colaboración de la División de Enfermedades de Transmisión Transfusional, Hospital de Clínicas José de San Martín, Universidad de Buenos Aires.

Los marcadores de infección por HBV, antígeno de superficie (HBsAg) y anticuerpos anti-core (anti-HBc), fueron evaluados por ELISA (HBsAg (V2) ABBOTT AxSYM SYSTEM; Core AxSYM SYSTEM ABBOTT, Wiesbaden, Alemania). Con propósitos epidemiológicos, una muestra fue considerada positiva para HBV si se encontró al menos uno de los marcadores.

III.8. Diagnóstico de infección por HCV

El diagnóstico se realizó con la colaboración de la División de Enfermedades de Transmisión Transfusional, Hospital de Clínicas José de San Martín, Universidad de Buenos Aires.

Los anticuerpos para HCV fueron evaluados por ELISA (HCV versión V3.0, ABBOTT AxSYM SYSTEM; Wiesbaden, Alemania).

III.9. Diagnóstico de infección por HTLV

El mismo se realizó en el CNRS, Facultad de Medicina, UBA.

El tamizaje de anticuerpos se realizó por ELISA (BioELISA HTLV-1+2 4.0, BioKit, Barcelona, España) y por aglutinación de partículas (Serodia HTLV-1, Fujirebio, Tokyo, Japón). Las muestras reactivas por al menos una de las técnicas fueron confirmadas por WB (HTLV blot 2.4, Genelabs Diagnostics, Science Park, Singapur).

Con fines confirmatorios, aquellas muestras que resultaron indeterminadas o HTLV no tipificadas por WB fueron sometidas a una *nested*-PCR casera altamente sensible y específica para dos genes del provirus (*pol* y *tax*) [170, 171].

III.10. Diagnóstico de infección por *Treponema pallidum*

El diagnóstico se realizó con la colaboración del Servicio de Inmunología Clínica, Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.

El diagnóstico de infección por *T. pallidum* (infección pasada o presente) fue realizado por ensayos no treponémicos y treponémicos (*Venereal Disease Research Laboratory* (VDRL), Wiener Laboratorios, SAIC, Rosario, Argentina; *Treponema Pallidum Hemagglutination Assay* (TPHA), Biokit SA, Barcelona, España). En resultados discordantes se utilizó un ensayo de inmunofluorescencia indirecta (*Fluorescent Treponemal Antibody-Absorption* (FTA-abs), Inmunofluor Biocientífica SA, Argentina).

III.11. Estimación de incidencia de HIV

El mismo se realizó en el CNRS, Facultad de Medicina, UBA.

La incidencia de infección por HIV fue estimada por el Algoritmo de Testeo Serológico para Seroconversión Reciente (*Serological Testing Algorithm for Recent HIV Seroconversion*, STARHS) como se describe en otros trabajos [172, 173]. El test consiste en un enzimoimmunoensayo modificado que permite la identificación de infecciones recientes (tiempo de infección menor a 4–6 meses previos a la colección de la muestra).

III.12. Obtención y procesamiento de las muestras de mucosa anal

Debido a cuestiones metodológicas, el testeo de HPV y *C. trachomatis* sólo fue ofrecido a participantes TTS que asistieron a Nexo AC. Aquellas que aceptaron tomar la muestra, fueron instruidas para la auto-colección de la misma. El cepillado anal se realizó con un cepillo endocervical (Medisul, Argentina) el cual fue luego agitado en un tubo conteniendo PBS estéril. Se quitó el cepillo y el tubo fue centrifugado a 1.500 rpm por 10 minutos. Se descartó el sobrenadante y se mantuvo el pellet a -20°C hasta su procesamiento. Las células se rompieron por digestión con proteinasa K y se testeó el gen de la β -globina por PCR para confirmar la presencia de ADN.

III.13. Diagnóstico de infección por HPV

El diagnóstico se realizó con la colaboración del Servicio Virus Oncogénicos, Laboratorio Nacional y Regional de Referencia de HPV-OPS/OMS, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas-ANLIS “Dr. Malbrán”.

La detección de HPV se realizó utilizando una PCR con cebadores genéricos de HPV GP5+ y GP6+ marcados con biotina [174]. Estos cebadores flanquean una región de aproximadamente 140pb en la región L1 del genoma viral. Los productos de amplificación fueron analizados en un gel de agarosa teñido con bromuro de etidio, visualizados con UV y fotografiados.

III.14. Diagnóstico de infección por *Chlamydia trachomatis*

El diagnóstico se realizó con la colaboración del Laboratorio de Inmunología Clínica, Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.

La detección de *C. trachomatis* se realizó por amplificación del gen *ompA* usando una PCR *semi-nested* [168]. Se amplificó un fragmento de aproximadamente 1kb usando los cebadores SERO1A y SERO2A. Como controles positivo y negativo se utilizaron el ADN de *C. trachomatis* L2/BU/434, (provisto por Sezione di Microbiologia DMCSS, Università degli Studi di Bologna, Bologna, Italia) y células sin infectar, respectivamente. La PCR *semi-nested* se realizó con los mismos reactivos y condiciones exceptuando los cebadores, que en este caso fueron el SERO2A y un cebador *nested*: PCTM3. Los productos de la segunda ronda de PCR fueron chequeados en un gel de agarosa teñido con bromuro de etidio. Esta PCR *semi-nested* detecta desde uno hasta 10 unidades formadoras de inclusión.

III.15. Análisis estadístico

Los datos sociodemográficos, de comportamiento y conocimiento sobre HIV/Sida obtenidos en la encuesta fueron ingresados en una base de datos utilizando el programa SPSS 15.0. La prevalencia se calculó a partir de la proporción de casos reactivos sobre el total de la población estudiada. Para cada valor de prevalencia se calculó su correspondiente intervalo de confianza del 95%. Posteriormente se realizó un análisis univariado de las variables incluidas en la base de datos. Como medidas de resumen se utilizaron medidas de tendencia central con su correspondiente medida de

dispersión. Para variables continuas se utilizó la mediana y el rango intercuartil. Para variables categóricas se utilizó la proporción y el intervalo de confianza del 95%. A fin de determinar la asociación entre variables, se utilizaron distintos métodos estadísticos. Las variables categóricas se analizaron utilizando el test de chi cuadrado o Fisher. Para los contrastes de variables que implicaron variables continuas y categóricas se utilizaron el test de T o el de Mann-Whitney según la distribución que siguieran los datos.

III.16. Análisis molecular de muestras HIV positivas

III.16.1. Extracción y amplificación de ácidos nucleicos:

Se extrajo el ARN a partir de plasma utilizando un kit comercial (QIAamp Viral RNA Mini Kit, QIAGEN, Hilden, Alemania).

Amplificación del gen *pol*

La amplificación se realizó por medio de una estrategia de transcripción reversa seguida por una *nested*-PCR utilizando cebadores específicos para el gen *pol* (Tabla 1). La transcripción reversa se realizó utilizando la enzima *Superscript II* (Invitrogen) y el cebador RT3.1 (25µM). El ciclado consistió en una incubación de 5 minutos a 65°C para permitir el pegado del cebador al templado, luego se bajó rápidamente la temperatura a 4°C y se agregó el resto de los reactivos para la transcripción reversa (50 minutos a 42°C y, finalmente, 15 minutos a 70°C). La *nested*-PCR consistió en una primera ronda de PCR con la enzima *AmpliTaq Pol* (5U/µl) (Biosystems SA) y los cebadores 5CP1 (25µM) y RT3.1 (25µM). El ciclado consistió en 3 minutos a 95°C, y luego el primer ciclo a 95°C por 15 segundos seguido por 15 segundos a 56°C y 1,4 minutos a 72°C, este ciclo se repitió cinco veces y luego se cicló 30 veces de la siguiente manera: 15 segundos a 90°C, 15 segundos a 56°C y 1.4 minutos a 72°C. Finalmente, 10 minutos a 72°C. La segunda PCR se realizó en tres reacciones en paralelo con 3 juegos de cebadores y la enzima *AmpliTaq Pol* (5U/µl) (Biosystems SA). Las combinaciones de cebadores utilizadas fueron 1F/6B, A35/NE1 y RT3208F/RT3798R, todos en concentración (25µM). El ciclado fue el mismo utilizado para la primera PCR. Todas las reacciones de amplificación se realizaron en un termociclador EPPENDORF *Mastercycler gradient*. El control negativo fue agua y el positivo fueron muestras que habían amplificado en el protocolo habitual del CNRS. Los productos de amplificación

se visualizaron en un gel de agarosa 1% teñido con Bromuro de Etidio 0,5g/ml utilizando un marcador de peso molecular de 1000pb (Fermentas) en solución buffer de tris- borato-EDTA (TBE) 1X. La corrida duró unos 30 minutos y se realizó a 100 volts. Luego se visualizaron las bandas en un transiluminador con UV. El tamaño esperado de los fragmentos fue de 479pb (1F/6B), 805pb (A35/NE1) y 592pb (RT3208F/RT3798R).

Tabla 1. Cebadores utilizados en la amplificación de la región *pol* de muestras HIV positivas

Reacción	Cebadores	Posición en HXB2	Secuencia 5' → 3'
transcripción reversa/ 1º PCR	RT3.1	3859-3830	GCTCCTACTATGGGTTCTTTCTCTAACTGG
1º PCR	5CP1	1981-2008	GAAGGGCACACAGCCAGAAATTGCAGGG
2º PCR	1F	2142-2162	CAGACCAGAGCCAACAGCCCC
2º PCR	6B	2620-2601	CATTGTTTAACTTTTGGGCC
2º PCR	A35	2529-2564	ATTGGTTGCACTTTAAATTTTCCCATTAGCCCTATT
2º PCR	NE1	3333-3301	CCACTAACTTCTGTATGTCATTGACAGTCCAGC
2º PCR	RT3208F	3208-3229	AACATCAGAAAGAACCTCCATT
2º PCR	RT3798R	3798-3777	CAAACCTCCACTCAGGAATCCA

Amplificación del gen *gag*

La retro-transcripción se llevó a cabo a partir del producto de extracción utilizando *M-MLV reverse transcriptase* (Invitrogen) con *random primers* (150ng/μl). Se realizó una primera incubación por 5 minutos a 65°C y se pasó a hielo. Luego se agregó el resto de los reactivos para la transcripción reversa (90 minutos a 37°C y 15 minutos a 70°C).

La PCR se realizó con la enzima *Taq Pol* (Invitrogen) y los cebadores H1G777 (25μM) y H1P202 (25μM) (Tabla 2). El ciclado consistió en 5 minutos a 95°C y luego se cicló 34 veces de la siguiente manera: 15 segundos a 95°C, 30 segundos a 55°C y 40 segundos a 72°C. Finalmente, 10 minutos a 72°C. El control negativo fue agua y el positivo el plásmido NL4-3.

Los productos de amplificación se visualizaron en un gel de agarosa 1% teñido con Bromuro de Etidio 0,5g/ml utilizando un marcador de peso molecular de 1000pb (Fermentas) en TBE 1X. La corrida duró unos 30 minutos y se realizó a 100 volts. Luego se visualizaron las bandas en un transiluminador con UV. El tamaño esperado del fragmento fue de 1121pb.

Tabla 2. Cebadores utilizados en la amplificación de la región *gag* de muestras HIV positivas

Cebadores	Posición en HXB2	Secuencia 5' → 3'
H1G777	1231-1255	TCACCTAGAACTTTGAATGCATGGG
H1P202	2352- 2328	CTAATACTGTATCATCTGCTCCTGT

Amplificación de los genes *vif-vpr-tat*

Se utilizó el mismo ADN copia para amplificar esta región mediante una *nested-PCR* utilizando la enzima *Taq Pol* (Invitrogen).

Para la primera ronda se utilizaron los cebadores *Vproutfw* (25µM) y *Vproutrv* (25µM) (Tabla 3). El ciclado consistió en 5 minutos a 95°C y luego se cicló 34 veces de la siguiente manera: 15 segundos a 95°C, 30 segundos a 55°C y 40 segundos a 72°C. Finalmente, 10 minutos a 72°C. El control negativo fue agua y el positivo el plásmido NL4-3.

La segunda ronda de PCR se realizó de la misma forma con los cebadores *Vprinfw* y *Vprinrv* (Tabla 3). Los productos de amplificación se visualizaron en un gel de agarosa 1% teñido con Bromuro de Etidio 0,5g/ml utilizando un marcador de peso molecular de 1000pb (Fermentas) en TBE 1X. La corrida duró unos 30 minutos y se realizó a 100 volts. Luego se visualizaron las bandas en un transiluminador con UV. El tamaño esperado del fragmento fue de 314pb

Tabla 3. Cebadores utilizados en la amplificación de la región *vif-vpr-tat* de muestras HIV positivas

Reacción	Cebadores	Posición en HXB2	Secuencia 5'→3'
1º PCR	Vproufw	5446-5468	CAAGCAGGACATAACAAGGTAGG
1º PCR	Vproutrv	5989-5968	TCTCCGCTTCTTCCTGCCATAG
2º PCR	Vprinfw	5545-5565	CTGACAGAGGACAGATGGAAC
2º PCR	Vprinrv	5859-5840	GGCTCTAAGTTAGGATCTAC

III.16.2. Secuenciación nucleotídica

Secuenciación del gen *pol*

Se realizó la secuenciación en forma directa y automática en ambos sentidos para la región genómica mencionada (ABI PRISM® 3100/3100-Avant Genetic Analyzer, Applied Biosystems). Para esto, el fragmento obtenido con los cebadores 1F/6B en la *nested*-PCR se secuenció con los cebadores 2A y 6B (Tabla 4). Para el obtenido con el par A35/NE1, se utilizaron los cebadores A35 y BR y 5A y NE1. Por último, el fragmento obtenido con RT3208F/RT3798R se secuenció con los mismos cebadores (Tabla 1). Todos los cebadores fueron utilizados en concentración 4µM. En cada caso, la reacción de secuenciación se realizó utilizando el kit *BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kits* (Applied BioSystems).

Tabla 4. Cebadores utilizados en la secuenciación del gen *pol* en muestras HIV positivas

Cebadores	Posición en HXB2	Secuencia 5'→3'
2A	2261-2279	CACTCTTTGGCAACGACCC
BR	3003-3019	GGTGATCCTTTCCATCC
5A	2871-2890	GTACTGGATGTGGGTGATGC

Secuenciación del gen *gag*

Se siguió el mismo protocolo que con *pol*, con los cebadores H1G777 y H1P202.

Secuenciación de los genes *vif-vpr-tat*

Se siguió el mismo protocolo que con *pol*, con los cebadores Vprinfw y Vprinrv.

III.16.3. Subtipificación

Las secuencias obtenidas fueron ensambladas y editadas con el programa Sequencher 4.8. Se analizaron las mutaciones en forma visual.

Los subtipos se determinaron por Simplot versión 3.5.1 y fueron confirmados por *jumping profile Hidden Markov Model* (jpHMM, disponible en <http://jphmm.gobics.de/>) y/o en NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/genotyping/formpage.cgi>).

III.17. Análisis molecular de muestras HBV positivas

Con el objeto de analizar los genotipos de HBV, se seleccionaron del total de muestras positivas para HBV aquellas muestras de pacientes que pudieran estar cursando la infección. Con este fin, además de considerar los resultados obtenidos de HBsAg y anti-HBc, se ensayó la presencia de anti-HBs dado que este marcador indica resolución de la infección. Por estas razones, sólo se procesaron las muestras que cumplieron con el siguiente criterio: anti-HBc positivo y anti-HBs negativo, y todas aquellas con HBsAg positivo. De esta forma se buscó identificar casos de hepatitis B oculta.

III.17.1. Extracción y amplificación de ácidos nucleicos:

Se extrajo el ADN por el método de lisis alcalina. Se realizó una *nested*-PCR con la enzima *Taq Pol* (Invitrogen) y los cebadores específicos para la región *pol* (Tabla 5). La primera ronda de PCR se hizo con los cebadores KPHBV8 (20µM) y BRHB4 (20µM). El ciclado consistió en una primera incubación a 94°C por 5 minutos y luego 40 ciclos compuestos por una primera etapa de 1 minuto a 94°C, luego 1 minuto a 55°C y 2 minutos a 72°C, la elongación final se realizó a 72°C por 10 minutos. La segunda ronda de PCR se realizó utilizando los cebadores FS1 (20µM) y RS4 (20µM). El ciclado consistió en una primera incubación a 94°C por 15 minutos y luego 35 ciclos compuestos por una primera etapa de 1 minuto a 94°C, luego 45 segundos a 55°C y 1 minuto a 72°C, la elongación final se realizó a 72°C por 10 minutos. El control negativo

fue agua y el positivo fueron muestras que habían amplificado previamente. Los productos de amplificación se visualizaron en un gel de agarosa 1% teñido con Bromuro de Etidio 0,5g/ml utilizando un marcador de peso molecular de 1000pb (Fermentas) en TBE 1X. La corrida duró unos 30 minutos y se realizó a 100 volts. Luego se visualizaron las bandas en un transiluminador con UV. El tamaño esperado de los fragmentos era de 589pb.

Tabla 5. Cebadores utilizados en la amplificación de la región *pol* de muestras HBV positivas

Reacción	Cebadores	Posición en AF297622	Secuencia 5' → 3'
1º PCR	KPHBV8	3179- 3198	CCTCAGGCCATGCAGTGGAA
1º PCR	BRHBV4	1263- 1284	GCTAGGAGTTCCGCAGTATGGA
2º PCR	FS1	400-420	TCCTCTTCATCCTGCTGCTAT
2º PCR	RS4	968-989	GACATACTTTCCAATCAATAGG

III.17.2. Secuenciación nucleotídica

Idem HIV, utilizando los cebadores FS1 y RS4.

III.17.3. Genotipificación

Las secuencias consenso fueron alineadas junto a secuencias de los distintos genotipos de HBV (A-H), obtenidas del GenBank utilizando el programa ClustalX v1.83 y editadas con el programa Bioedit v7.0.9.0 [175]. Se realizó un árbol de distancia obtenido por Neighbor-Joining (NJ) con el modelo de Kimura-2 parámetros para establecer el genotipo de HBV de cada uno de los aislamientos. El soporte de las ramas se evaluó mediante el análisis de remuestreo o *bootstrap*. Los valores se asignaron luego de 100 remuestreos por NJ utilizando el programa ClustalX v1.83.

III.18. Análisis molecular de muestras HCV positivas

III.18.1. Extracción y amplificación de ácidos nucleicos:

La extracción del ARN se llevó a cabo con TRIZOL (Invitrogen, EEUU) en todas las muestras de los pacientes con serología reactiva para el HCV, siguiendo las instrucciones recomendadas por el fabricante. La retro-transcripción se llevó a cabo utilizando la enzima *M-MLV reverse transcriptase* (Invitrogen) con *random primers* (150ng/μl). Se comenzó con una incubación de la muestra y los cebadores por 5 minutos a 65°C que luego se pasó a hielo. A continuación se agregó el resto de los reactivos y se incubó 90 minutos a 37°C y 15 minutos a 70°C. Luego se realizó una *nested-PCR* de la región 5'UTR (no codificante) (Tabla 6). La primera ronda de PCR se realizó con la enzima *Taq Pol* (Invitrogen) y los cebadores sentido (250ng/μl) y antisentido (250ng/μl). El ciclado empezó con una incubación a 94°C por 5 minutos y luego con 35 ciclos compuestos por 45 segundos a 94°C, 45 segundos a 55°C y 45 segundos a 72°C, con una extensión final a 72°C por 10 minutos. La segunda ronda de PCR se realizó con la misma enzima y los cebadores interno sentido (250ng/μl) e interno antisentido (250ng/μl). El ciclado de la segunda ronda empezó con una incubación a 94°C por 5 minutos y luego con 35 ciclos compuestos por 45 segundos a 94°C, 45 segundos a 53°C y 45 segundos a 72°C, con una extensión final a 72°C por 10 minutos. Los productos de amplificación se visualizaron en un gel de agarosa 1% teñido con Bromuro de Etidio 0,5g/ml utilizando un marcador de peso molecular de 1000pb (Fermentas) en TBE 1X. La corrida duró unos 30 minutos y se realizó a 100 volts. Luego se visualizaron las bandas en un transiluminador con UV. El tamaño esperado de los fragmentos era de 250pb.

Tabla 6. Cebadores utilizados en la amplificación de la región 5'UTR de muestras HCV positivas

Reacción	Cebadores	Posición en H77	Secuencia 5'→ 3'
1º PCR	Cebador sentido	45-64	CGTTGAGGAACTACTGTCTT
1º PCR	Cebador antisentido	321-349	ATACTCGAGGTGCACGGTCTAGACCT
2º PCR	Cebador interno sentido	63-82	TTCACGCAGAAAGCGTCTAG
2º PCR	Cebador interno antisentido	288-313	CACTCTCGAGCACCCCTATCAGGCAGT

III.18.2. Secuenciación nucleotídica

Ídem HIV, con los cebadores interno sentido e interno antisentido.

III.18.3. Genotipificación del HCV

Las secuencias consenso fueron alineadas junto a secuencias de los distintos genotipos de HCV (1 a,b; 2 a; 3 a,b; 4 a,d; 5 a; 6 a), obtenidas del GenBank utilizando el programa ClustalX v1.83 y editadas con el programa Bioedit v7.0.9.0 [175]. Se realizó un árbol de distancia obtenido por Neighbor-Joining (NJ) con el modelo de Kimura-2 parámetros para establecer el genotipo de HCV de cada uno de los aislamientos. El soporte de las ramas se evaluó mediante el análisis de remuestreo o *bootstrap*. Los valores se asignaron luego de 100 remuestreos por NJ utilizando el programa ClustalX v1.83. El genotipo fue confirmado por NCBI:

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/genotyping/formpage.cgi>)

III.19. Análisis molecular de muestras HTLV-1/2 positivas

III.19.1. Extracción y amplificación de ácidos nucleicos:

Se extrajo el ADN a partir de células mononucleares de sangre periférica utilizando un kit comercial (QIAamp DNA extraction kit, QIAGEN, Hilden, Alemania).

Luego, se amplificó una región del LTR (no codificante) del provirus de todas las muestras con el objetivo de obtener las secuencias para el análisis filogenético [135, 176] mediante una *nested*-PCR. En el caso de muestras HTLV-1 positivas, la primera ronda de PCR se realizó con la enzima *Go Taq* (Promega) y los cebadores 8200LA (10 μ M) y 3Vext (10 μ M) (Tabla 7). El ciclado empezó con una incubación a 95°C por 15 minutos y luego con 35 ciclos compuestos por 30 segundos a 95°C, 30 segundos a 55°C y 1 minuto a 72°C, con una extensión final a 72°C por 7 minutos. La segunda ronda de PCR se realizó con los cebadores 8200LA (10 μ M) y 3Vint (10 μ M) (Tabla 7). El ciclado de la segunda ronda fue el mismo de la primera.

Para la primera ronda de amplificación de muestras HTLV-2 positivas se utilizó el mismo protocolo pero con los cebadores BSQF6 (10 μ M) y BSDR3 (10 μ M) (Tabla 8). En la segunda ronda se utilizó el mismo protocolo pero con los cebadores BSQF2 (10 μ M) y BSDR4 (10 μ M) (Tabla 8).

Los productos de amplificación se visualizaron en un gel de agarosa 1,2% teñido con Bromuro de Etidio 0,5g/ml utilizando un marcador de peso molecular de 1000pb (Fermentas) en TBE 1X. La corrida duró unos 30 minutos y se realizó a 100 volts. Luego se visualizaron las bandas en un transiluminador con UV. El tamaño esperado de los fragmentos era de 528pb en el caso de HTLV-1 y de 665pb en el caso de HTLV-2.

Tabla 7. Cebadores utilizados en la amplificación una región del LTR de muestras HTLV-1 positivas

Reacción	Cebadores	Posición	Secuencia 5'→3'
1 ^o y 2 ^o PCR	8200LA	8196-8219	CTCACACGGCCTCATACAGTACTC
1 ^o PCR	3Vext	8759-8742	CGCAGTTCAGGAGGCACCRM
2 ^o PCR	3Vint	8724-8699	GAACGCRACCTCAACCGGCRYGGATGG

Tabla 8. Cebadores utilizados en la amplificación en la amplificación una región del LTR de muestras HTLV-2 positivas

Reacción	Cebadores	Posición	Secuencia 5' → 3'
1º PCR	BSQF6	8224-8247	CAGGGCGAGTCATCGACCCAAAAG
1º PCR	BSDR3	8936-8913	GAAGACAATGCTCCTAGGGCGGGC
2º PCR	BSQF2	8253-8274	ACCGTCTCACACAAACAATCCC
2º PCR	BSDR4	8918-8902	GCGGGCCTGCCTATAGCGATG

III.19.2. Secuenciación nucleotídica

Ídem HIV, con los cebadores 8200LA y 3Vint en el caso de HTLV-1 y los cebadores BSQF2 y BSDR4 para HTLV-2.

III.19.3. Análisis filogenético de las muestras HTLV-1 y HTLV-2 positivas

Las secuencias consenso fueron alineadas junto a secuencias de los distintos genotipos de HTLV-1 (subtipos: Cosmopolita (a) subgrupos: A-E, África Central (b y d) y Melanesia (c)) o HTLV-2 (subtipos, a, b, c y d) utilizando el programa ClustalX v1.83 y editadas con el programa Bioedit v7.0.9.0 [175].

Se realizó un árbol de distancia obtenido por Neighbor-Joining (NJ) con el modelo de Kimura-2 parámetros para establecer el genotipo de HTLV-1 o HTLV-2 de cada uno de los aislamientos. El soporte de las ramas se evaluó mediante el análisis de remuestreo o *bootstrap*. Los valores se asignaron luego de 100 remuestreos por NJ utilizando el programa ClustalX v1.83.

III.20. **Genotipificación de HPV**

La genotipificación se realizó con la colaboración del Servicio Virus Oncogénicos, Laboratorio Nacional y Regional de Referencia de HPV-OPS/OMS, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas-ANLIS “Dr. Malbrán”, bajo la dirección de la Dra. María Alejandra Picconi.

Las muestras positivas para la PCR con GP fueron genotipificadas por *Reverse Line Blot Hybridization* utilizando sondas específicas de genotipo de HPV: 6, 11, 16, 18, 26,

31, 33, 34, 35, 39, 40, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 61, 66, 68, 70, 71, 72, 73, 81, 82, 83, 84 y CP6108 [174]. Las reacciones positivas fueron reveladas por quimoluminiscencia utilizando los reactivos según las recomendaciones del fabricante (Amersham™ ECL™ Detection Reagents, GE Healthcare, Little Chalfont, Reino Unido). Como controles positivos, se utilizó el ADN de células CaSki y HeLa (conteniendo las secuencias de HPV 16 y 18 respectivamente); se utilizó agua como control negativo (sin templado de ADN).

III.21. Genotipificación de *Chlamydia trachomatis*

La genotipificación se realizó con la colaboración del Laboratorio de Inmunología Clínica, Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, bajo la dirección del Dr. Marcelo Rodríguez Fermepín.

La genotipificación de *C. trachomatis* fue realizada mediante RFLP (del inglés, *Restriction Fragment Length Polymorphism*) en todas las muestras PCR positivas [169].

Se digirió el producto de amplificación del gen *ompA* de cada muestra con la enzima AluI. Para ello se preparó una mezcla de reacción conteniendo 1 UI de la enzima, solución tamponada de reacción (Promega) 1X y agua ultrapura en cantidad suficiente para completar 5 µl por tubo de reacción en el caso de que el producto a digerir se encontrara en baja concentración, o 10 µl por tubo si el producto estuviera más concentrado. Se añadió la muestra correspondiente a cada tubo de reacción en un volumen de 10 o 15 µl, dependiendo de la concentración del producto de amplificación del gen *ompA*. Se incubaron los tubos en estufa a 37°C durante 4 horas, y se frenó la digestión trasladándolos a -20°C luego de ese lapso.

Se preparó un gel de poliacrilamida al 12%, empleando 4 ml de solución al 30% de acrilamida : Bis-acrilamida 29:1, 4 ml de agua destilada, 2 ml de solución tamponada TBE 5X, 70 µl de persulfato de amonio al 10% en agua, y 4 µl de TEMED.

Una vez polimerizado correctamente el gel, se sembraron 10 µl de la mezcla de digestión de cada muestra por calle, mezclados con 2 µl de solución colorante (Promega), y se realizó una corrida electroforética a 80 volts durante 90 minutos aproximadamente. Se tiñó el gel en una solución diluida de bromuro de etidio.

Los patrones de bandas resultantes para cada muestra se visualizaron en un transiluminador con luz UV. En aquellos casos en los que los patrones obtenidos con

Alul no permitieron diferenciar entre dos o más genotipos, se emplearon otras enzimas como EcoRI, CfoI, HinfI o DdeI. En cada caso, a la mezcla de reacción se le añadió o no seroalbúmina bovina y se modificaron los tiempos de incubación de acuerdo con las recomendaciones asociadas a cada enzima.

IV.1. Demografía de la población de estudio

El estudio incluyó una población de 273 TTS y 114 HTS provenientes de distintas ciudades tal como se describen en la Tabla 9.

Tabla 9. Número de participantes por ciudad argentina (2006-2009)

Ciudad	TTS	HTS
Ciudad Autónoma de Buenos Aires	166	34
La Plata	22	51
Córdoba	50	2
Mendoza	-----	13
Rosario	5	-----
Santiago del Estero	30	13
Viedma	-----	1
Total	273	114

TTS: Trans Trabajadoras Sexuales; HTS: Hombres Trabajadores Sexuales

Dado que no se observaron diferencias significativas entre las ciudades con alto número de participantes y que algunas ciudades tenían un bajo número, no se estratificó por ciudad.

Como se observa en la Tabla 10, ambas poblaciones tuvieron una mediana de edad cercana a los 30 años. La mayoría de los participantes eran argentinos. Entre las TTS la segunda nacionalidad más frecuente fue Perú mientras que entre los HTS ésta fue Paraguay. La mayoría de los participantes vivía en casa o departamento y, en menor proporción, en hoteles o pensiones. Cerca de un 2% vivía en la calle.

La mitad de los participantes tenía un nivel de educación igual o mayor a secundario. La mayoría eran solteros y algunos declararon tener “unión libre” con su pareja. El 4% de los HTS estaban casados. Un 6,7% de las TTS tenía hijos mientras que fue del 26,3% en HTS ($p < 0,001$). Alrededor del 20% reportó tener otro trabajo, el cual era estable en el 27,7% de las TTS y en el 56% de los HTS. La mayoría de los participantes no tenía cobertura médica privada u obra social.

Tabla 10. Características sociodemográficas de los participantes

		TTS	HTS
Edad (mediana en años) (RIC)		29 años (24-35)	27 años (22-33)
Nacionalidad argentina		75,8 % (207/273)	84,2 % (96/114)
Vivienda	Casa/departamento	70,4 % (190/270)	77,7 % (87/112)
	Hotel/pensión	16,7 % (45/270)	10,7 % (12/112)
	Situación de calle	1,9 % (5/270)	2,7 % (3/112)
	Otros	11 % (30/270)	8,9 % (10/112)
Educación ≥ secundario		54,9 % (150/273)	53,1 % (60/113)
Estado civil	Soltera/o	90,4 % (246/272)	85,1 % (97/114)
	Unión libre	7,4 % (20/272)	3,5 % (4/114)
	Casada/o	0,7 % (2/272)	6,1 % (7/114)
Hijos		6,7 % * (18/270)	26,3 % * (30/114)
Tiene otro trabajo		17,6 % (47/267)	21,4 % (24/112)
Otro trabajo estable		27,7 % (13/47)	56 % (14/25)

TTS: Trans Trabajadoras Sexuales; HTS: Hombres Trabajadores Sexuales. * $p < 0,001$

IV.2. Prácticas sexuales

La mayoría (95%) de las TTS y la mitad de los HTS tuvo su primera relación sexual con un hombre ($p<0,001$), siendo este encuentro consensuado en la mayoría de los casos (90%). La mediana de edad fue de 13-14 años en ambos grupos. El 25% de las TTS y el 15% de los HTS reportó haber sufrido abuso sexual en algún momento de su vida.

Alrededor de un tercio de los participantes tenía pareja estable. La mitad de los HTS que tenían pareja estable, era con una mujer. El 65% de las TTS y el 75% de los HTS declararon uso irregular (“a veces” o “nunca”) del preservativo con su pareja estable siendo la confianza en su pareja la causa más frecuente de no usarlo.

El 45% de las TTS y el 25% de los HTS declaró haber tenido ITS previamente ($p<0,001$), siendo sífilis la más frecuente (70%).

IV.3. Trabajo sexual

En la Tabla 11 se describen las características más relevantes del trabajo sexual. Las razones más frecuentes de inicio del trabajo sexual fueron la situación económica y el desempleo. Un 15% de las TTS declaró haber sido abandonada por su familia como causa del inicio de esta actividad. La mediana de los años en el trabajo sexual fue de 6,5 entre TTS y de 4 entre HTS ($p<0,001$). El 80% de las TTS y el 60% de HTS ($p<0,001$) utilizaba la calle como lugar de contacto con los clientes. El número de clientes semanales fue de 20 en TTS y de 10 entre HTS ($p<0,001$). La mayoría de las TTS (90%) prefería clientes hombres mientras que en el caso de los HTS este número fue menor al 70% ($p<0,001$). Aproximadamente un 8% en ambos grupos no tenía ninguna preferencia sobre el género de sus clientes.

Las TTS habían sido arrestadas más frecuentemente que los HTS ($p<0,001$).

En cuanto al uso de preservativo en el trabajo, un 35% de las TTS y un 18% de los HTS declararon usarlo irregularmente (“a veces” o “nunca”) ($p<0,001$).

Tabla 11. Características del trabajo sexual

	TTS	HTS	<i>p</i>
Razones de inicio en el trabajo sexual	Situación económica (231/267)	86,5 % (92/112)	
	Desempleo (202/266)	75,9 % (74/112)	
	Abandonada/o por su familia (43/266)	16,2 % (7/112)	0,015
Años en el trabajo sexual (mediana en años) (RIC)	6 (3-14,75)	4 (1,87-7)	<0,001
Calle como lugar de trabajo sexual	75,2 % (203/270)	59,5 % (66/111)	<0,001
Número de clientes semanales (mediana) (RIC)	20 (10-36)	9,5 (5-19,2)	<0,001
Preferencia clientes hombres	90,2 % (203/225)	66,3 % (61/92)	<0,001
Detenidas/os	67,9 % (182/268)	43,8 % (49/112)	<0,001
Uso irregular de preservativo en el trabajo	35,4 % (95/268)	17,7 % (20/113)	<0,001

TTS: Trans Trabajadoras Sexuales; HTS: Hombres Trabajadores Sexuales.

IV.4. Consumo de sustancias

Alrededor del 65% de los participantes declaró consumir alcohol, siendo el consumo diario reportado en el 7% de los casos. El 20-30% de los participantes declaró que el consumo de alcohol facilita su trabajo. Alrededor del 80% sostuvo que su consumo nunca influye en el uso de preservativo en el trabajo.

En cuanto al uso de drogas ilegales, el 30-35% declaró su consumo. Las drogas más frecuentemente declaradas fueron marihuana y cocaína. Alrededor del 50% consideró que su uso facilita su trabajo. Solamente el 2% de las TTS y el 6% de los HTS

declararon ser usuarios de drogas inyectables. Alrededor del 70% declaró que el uso de drogas nunca influye en el uso de preservativo en el trabajo.

IV.5. Conocimiento sobre HIV/Sida

Alrededor del 75% de los participantes desconocía la diferencia entre HIV y Sida o tenía un concepto erróneo. La mayoría tenía conocimiento sobre las vías de transmisión del HIV. Las fuentes de información sobre HIV/Sida más frecuentes (70%) fueron campañas oficiales en el caso de las TTS y medios masivos en el caso de los HTS. El 70% de las TTS declaró haber recibido información de AMMAR o ATTTA mientras que este número fue del 40% en los HTS.

Cuando se les preguntó qué posibilidad tenían de infectarse con HIV el 7% de las TTS y el 22% de los HTS respondieron “ninguna” ($p < 0,001$) mientras que alrededor del 15% en ambos grupos consideró que la posibilidad era alta.

Aproximadamente el 80% de las TTS y el 60% de los HTS había sido previamente testeado para el HIV ($p < 0,001$). De ellos, el 70% de las TTS y el 90% de los HTS tenían un resultado no reactivo mientras que el 10% de las TTS y el 7% de los HTS desconocían el resultado por no haberlo retirado.

Al buscar asociaciones estadísticamente significativas entre los diagnósticos de ITS y los resultados de la encuesta sólo se encontró asociación entre el uso regular del preservativo con la pareja estable cuando la participante TTS era HIV positiva. Sin embargo, no se encontró relación entre el uso de preservativo en el trabajo y el estado serológico HIV positivo.

Cuando se analizaron los resultados de los diagnósticos, se encontró que la prevalencia de sífilis entre las TTS HIV positivas fue del 61,2%, mientras que la misma en la población total fue de 50,4% ($p = 0,017$).

IV.6. Prevalencias de ITS e incidencia de HIV en trans y hombres trabajadores sexuales

IV.6.1. Prevalencias en TTS

La serología de HIV fue positiva en el 34,1% de las muestras mientras que la prevalencia de HBV fue 40,2%. Entre los participantes HBV positivos, sólo cinco fueron

positivos para HBsAg. La serología de HCV fue positiva en el 4,5%. La prevalencia de HTLV fue de 1,8%. Se detectó infección por *T. pallidum* en 50,4% (Tabla 12).

Durante los últimos 18 meses del estudio, de 140 TTS de Buenos Aires que asistieron a Nexo AC, 119 aceptaron tomarse la muestra de cepillado anal. Al buscar infección por HPV en estas 119 muestras, 5 resultaron negativas para β -globina, quedando 114 muestras evaluables. De estas, el 97,4% fueron positivas (Tabla 12).

El diagnóstico de infección por *C. trachomatis* se realizó en 113 muestras de cepillado anal de TTS. De ellas, 4,4% fueron positivas (Tabla 12).

El análisis de los datos de comportamiento mostró que no hubo diferencias significativas en el uso de preservativo en las relaciones sexuales anales y la serología de HIV, dado que el 55,7% de los participantes HIV negativos y el 61,9% de los HIV positivos declararon no usarlo nunca.

IV.6.2. Prevalencias en HTS

La prevalencia de HIV en HTS fue 11,4%. La prevalencia de HBV fue 22%, con solo una muestra positiva para HBsAg. La prevalencia de HCV fue 6,1% y la de HTLV fue del 1%. Se detectó infección por *T. pallidum* en el 20,4 % (Tabla 12).

Las prevalencias de HIV, HBV y *T. pallidum* fueron significativamente mayores en TTS comparadas con HTS ($p<0,001$, $p<0,05$ y $p<0,001$, respectivamente) (Tabla 12).

Tabla 12. Prevalencia de infecciones de transmisión sexual en trans y hombres trabajadores sexuales en Argentina, 2006-2009.

	TTS		HTS		P
	n/N	% (95%IC)	n/N	% (95%IC)	
HIV	93/273	34,1 (28,7-39,9)	13/114	11,4 (6,7-18,7)	<0,001
HBV	106/264	40,2 (34,4-46,2)	18/82	22,0 (14,3-32,1)	<0,05
HCV	12/264	4,5 (2,5-7,9)	5/82	6,1 (2,3-13,8)	NS
HTLV	4/220	1,8 (0,49-4,59)	1/99	1,0 (0,02-5,5)	NS
<i>Treponema pallidum</i>	130/258	50,4 (44,3-56,4)	23/113	20,4 (13,9-28,8)	<0,001
HPV	111/114	97,4 (92,2-99,4)	NR	NR	—
<i>Chlamydia trachomatis</i>	5/113	4,4 (1,45-10,0)	NR	NR	—

TTS: Trans Trabajadoras Sexuales; HTS: Hombres Trabajadores Sexuales; HIV: Virus de la Inmunodeficiencia Humana; HBV: Virus de la Hepatitis B; HCV: Virus de la Hepatitis C; HTLV: Virus Linfotrópico T-Humano; HPV: Virus Papiloma Humano. NR: No Realizado. NS: diferencia no significativa.

IV.6.3. Incidencia de HIV

La incidencia de HIV fue estimada por el método de STARHS mencionado en la metodología. La incidencia en TTS fue 10,7 por 100 personas-año (95%IC 3,8- 17,7; 85 muestras HIV positivas de un grupo de 259 TTS).

Por otro lado, la incidencia en HTS fue de 2,3 por 100 personas-año (95%IC 0- 6,7; 13 muestras HIV positivas de un grupo de 112 HTS).

IV.6.4. Coinfecciones en TTS

Los resultados de las coinfecciones en TTS pueden ser analizados o bien en los 218 participantes en los que se evaluaron los cinco agentes (HBV, HCV, HIV, HTLV y *T. pallidum*) o bien entre los 113 voluntarios en los que se evaluaron los siete agentes (HBV, HCV, HIV, HTLV, HPV, *T. pallidum* y *C. trachomatis*) dado que la prevalencia de cada uno de los cinco patógenos no difiere significativamente entre los dos grupos.

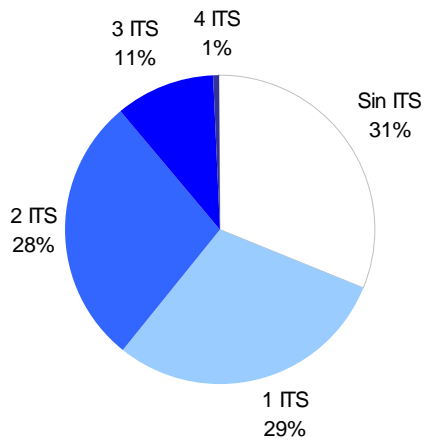
Cuando se analizan los resultados de coinfecciones en 218 TTS se observa que el 70% de ellas mostraron al menos una infección (Figura 7a). La frecuencia de uno o dos patógenos fue cercana al 30% en cada caso. La monoinfección más frecuente fue *T. pallidum* (12%) y la coinfección más frecuente fue HBV-*T. pallidum* (12%) seguida por HBV-HIV-*T. pallidum* (8%) y HIV-*T. pallidum* (8%) (Figura 7b).

Se observó una mayor prevalencia de infección por *T. pallidum* en aquellas TTS HBV (63,4%) o HIV positivas (61,2%) ($p= 0,001$, $p= 0,017$, respectivamente).

Al considerar las 113 participantes en las que se evaluaron los siete agentes (Figura 8), la monoinfección más frecuente fue HPV (24%) y la coinfección más frecuente fue HBV-HPV (14%) seguida por HBV- HPV-*T. pallidum* (12%).

Figura 7. Coinfecciones en 218 TTS en las que se evaluaron los cinco agentes (HBV, HCV, HIV, HTLV y *T. pallidum*).

a. Frecuencia del número de ITS



b. Frecuencia de agentes coinfectantes

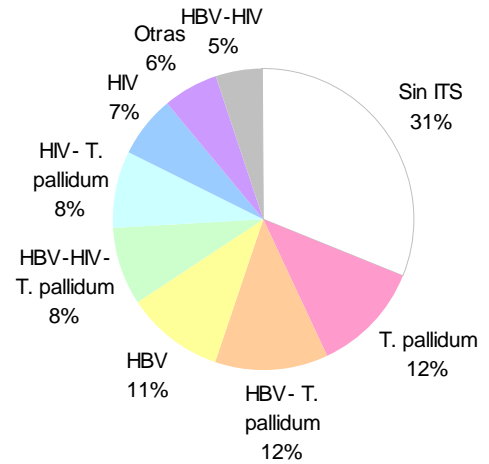
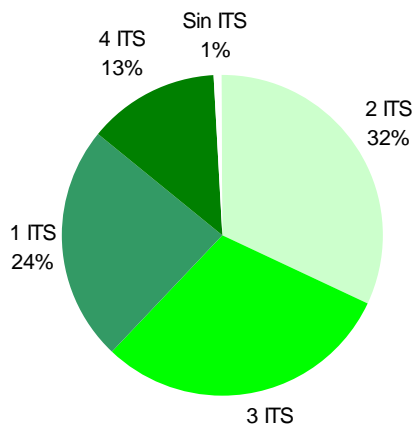
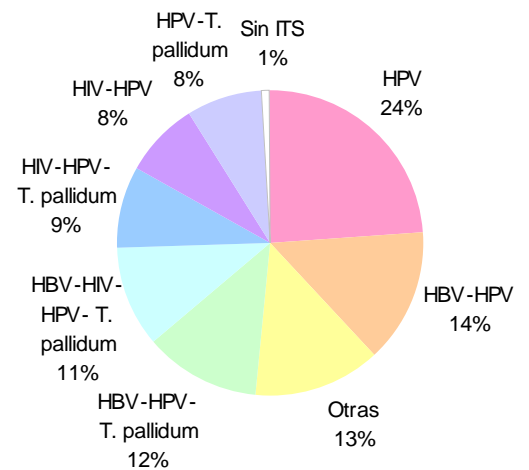


Figura 8. Coinfecciones en 113 TTS en las que se evaluaron los siete agentes (HBV, HCV, HIV, HTLV, HPV, *T. pallidum* y *C. trachomatis*).

a. Frecuencia del número de ITS



b. Frecuencia de agentes coinfectantes



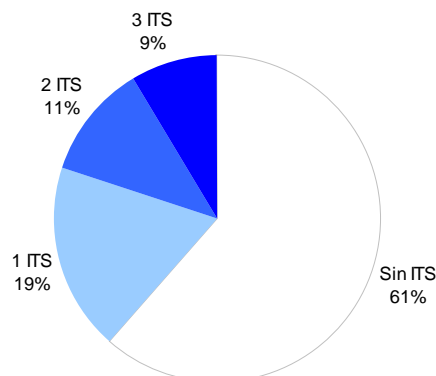
IV.6.5. Coinfecciones en HTS

Se obtuvieron los resultados de coinfecciones de los 80 HTS en los que se evaluaron los cinco agentes (Figura 9). Casi el 40% de ellos presentó al menos una infección. La frecuencia de infección con un patógeno fue cercana al 20% y la de dos agentes fue del 10% (Figura 9a). La monoinfección más frecuente fue *T. pallidum* (10%) mientras que la coinfección más frecuente fue HBV-*T. pallidum* (8%) (Figura 9b).

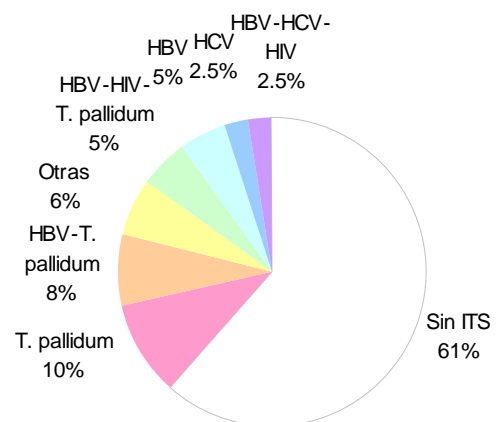
Los HTS HIV positivos mostraron una mayor prevalencia de HBV (70%, $p=0,001$) así como una mayor prevalencia de *T. pallidum* (60%, $p=0,013$). Los HTS HBV positivos mostraron una mayor prevalencia de *T. pallidum* (55,6%, $p=0,002$).

Figura 9. Coinfecciones en 80 HTS en los que se evaluaron los cinco agentes (HBV, HCV, HIV, HTLV y *T. pallidum*).

a. Frecuencia del número de ITS



b. Frecuencia de agentes coinfectantes



IV.6.6. Comparación de las coinfecciones entre los grupos

Con el objeto de poder comparar con el grupo de HTS, los resultados de las coinfecciones se analizan con las 218 TTS (Figura 7). Cuando se compara el número de ITS, la frecuencia de una o más ITS fue significativamente mayor en TTS (69% vs. 39%, $p<0,001$) (Figuras 7a y 9a).

Cuando se analizan los agentes infectantes (Figuras 7b y 9b), *T. pallidum* fue la mono infección más frecuente, HBV-*T. pallidum* fue la infección doble más frecuente, seguida por la infección triple por HBV-HIV-*T. pallidum* en ambos grupos.

IV.7. Análisis molecular de muestras HIV positivas

La primera aproximación del estudio de los subtipos de HIV se realizó considerando la región de *pol*. Luego, se realizó la subtipificación de las otras dos regiones (*gag* y *vif-vpr-tat*) con dos objetivos: corroborar el subtipo encontrado en *pol* y realizar un análisis estructural de las proteínas codificadas por cada región según el subtipo al que pertenecían.

Respecto al primer objetivo, se encontró que algunas muestras clasificadas como subtipo B puro correspondían a formas recombinantes BF (Tablas 13 y 14).

Tabla 13. Subtipos de HIV en TTS

Subtipo	<i>pol</i>	<i>pol</i> + <i>gag</i> o <i>vif-vpr-tat</i>
B	25	22
BF	30	33
C	3	3
F	1	1
AB	1	1
Total		60

Tabla 14. Subtipos de HIV en HTS

Subtipo	<i>pol</i>	<i>pol</i> + <i>gag o vif-vpr-tat</i>
B	8*	5
BF	5	8*
Total		13

* indica que una muestra con subtipo B en *pol* no pudo ser subtipificada en las otras regiones y una muestra subtipo BF en *gag-vif-vpr-tat* no pudo ser subtipificada en *pol*.

El análisis estructural de las proteínas codificadas por cada región según el subtipo al que pertenecían se realizó en 28 muestras de TTS (28/60) de las que se obtuvieron las secuencias de las 3 regiones genómicas. El análisis de la distribución por subtipos mostró la siguiente composición: subtipo B: 8; subtipo C: 2; recombinantes BF: 17; recombinante AB: 1.

Se analizaron comparativamente las secuencias primarias de las proteínas codificadas por cada región estudiada: *gag* (cápside (CA), nucleocápside (NC) y P6), *pol* (proteasa (PR)) y *vif-vpr-tat* (Vpr) de subtipo B (n=8) y BF (n=17).

Análisis comparativo de la cápside (aa 25-231)

El análisis se realizó teniendo en cuenta los dominios N y C terminal de la proteína. Los mismos están involucrados en la unión a proteínas celulares y en la dimerización, respectivamente [177, 178]. En la Tabla 15 se muestran las diferencias encontradas entre las secuencias analizadas.

Análisis comparativo de la nucleocápside (aa 1-55)

Las secuencias de nucleocápside fueron analizadas en el contexto de los aminoácidos relevantes para la formación y mantenimiento de la estructura secundaria (Tabla 16). Ésta proteína se caracteriza por presentar dos microdominios del tipo “dedo de Zinc o *Zinc Finger*”, cuya función principal es la de reconocimiento y unión del genoma viral (ARN) y proteínas celulares [179, 180].

Tabla 15. Análisis comparativo de la cápside (aa 25-231) de recombinantes BF o de subtipo B.

		Recombinantes BF	Subtipo B
Dominio N terminal (DNT, aa 1-146)	aa 71	E71D: 11/17 (64,7%) E71: 1/17 (5,9%) ND: 5/17	E71: 5/8 (62,5%) ND: 3/8
	aa 92 *	P92: 10/17 (58,8%) A92: 3/17 (17,6%) ND: 4/17	A92: 5/8 (62,5%) ND: 3/8
	aa 116	Q 116: 12/17 (70,6%) A116: 1/17 (5,9%) G116: 1/17 (5,9%) ND: 3/17	A116: 2/8 (25%) G116: 6/8 (75%)
	aa 120	S120: 12/17 (70,6%) N120: 1/17 (5,9%) H120: 1/17 (5,9%) ND: 3/17	S120: 1/8 (12,5%) N120: 1/8 (12,5%) H120: 6/8 (75%)
	aa 124	V124: 12/17 (70,6%) I124: 2/17 (11,8%) ND: 3/17	I124: 8/8 (100%)
Dominio C terminal (DCT, aa 147-231) Dimerización	aa 169	F169: 12/17 (70,6%) Y169: 2/17 (11,8%) I169: 1/17 (5,9%) ND: 2/17	Y169: 8/8 (100%)
		N183/E187: 5/17 (29,4%)	N183/E187: 8/8 (100%)
		N183G/E187D: 9/17 (52,9%)	N183/E187/A92: 5/8 (62,5%)
		N183G/E187D/A92P: 6/17 (35,3%)	N183/E187/N.D: 3/8 (37,5%)

aa: aminoácido; ND: no determinada. En negrita se indica la variante *wild type* según la referencia HXB2.

* indica que el aa 92 está comprendido en el dominio de unión de Ciclofilina A (*CyPA binding loop*)

⁸⁷HAGPIA⁹².

Tabla 16. Análisis comparativo de la nucleocápside (aa 1-55) de recombinantes BF o de subtipo B.

		Recombinantes BF	Subtipo B
Zinc Finger I (aa 15-28)	aa 15	C15: 15/17 (88,2%) ND: 2/17	C15: 8/8 (100%)
	aa 18	C18: 14/17 (82,35%) G18: 1/17 (5,9%) ND: 2/17	C18: 8/8 (100%)
	aa 23	H23: 14/17 (82,35%) E23: 1/17 (5,9%) ND: 2/17	H23: 7/8 (87,5%) ND: 1/8
	aa 28	C28: 14/17 (82,35%) E28: 1/17 (5,9%) ND: 2/17	C28: 4/8 (50%) ND: 3/8 F28: 1/8 (12,5%)
Zinc Finger II (aa 36-49)	aa 36	C36: 13/17 (76,5%) V36: 1/17 (5,9%) ND: 3/17	C36: 4/8 (50%) ND: 4/8
	aa 39	C39: 14/17 (82,35%) ND: 3/17	C39: 5/8 (62,5%) ND: 3/8
	aa 44	H44: 13/17 (76,5%) T44: 2/17 (11,8%) ND: 2/17	H44: 5/8 (75%) ND: 3/8
	aa 49	C49: 16/17 (94,1%) ND: 1/17	C49: 7/8 (85,5%) ND: 1/8

aa: aminoácido; ND: no determinado. En negrita se indica la variante *wild type* según la referencia HXB2. Los aa G18 y E 23 se encontraron en la misma muestra.

Análisis comparativo de Gag P6 (aa 1-52)

El análisis de Gag P6 (Tabla 17) se circunscribió a las secuencias aminoacídicas presentes en las α -hélice I (aa 14-18) y α -hélice II (aa 33-45) involucradas en la interacción con Vpr [181, 182].

Tabla 17. Análisis comparativo de los aminoácidos de Gag P6 (aa 1-52) de recombinantes BF o de subtipo B.

		Recombinantes BF	Subtipo B
α-hélice I (aa 14-18)	aa 14-18	SFRFG: 3/17 (17,6%) SFGFG: 12/17 (70,6%) SFSFG: 1/17 (5,8%) ND: 1/17	SFRFG: 6/8 (75%) SFSFG: 1/8 (12,5%) SFKFG: 1/8 (12,5%)
	aa 34-37	ELYP: 4/17 (23,5%) GLYP: 4/17 (23,5%) GQYP: 5/17 (29,4%) DLYP: 1/17 (5,9%) GPYP: 1/17 (5,9%) ND: 2/17	ELYP: 5/8 (62,5%) GLYP: 1/8 (12,5%) EMYP: 1/8 (12,5%) TLPP: 1/8 (12,5%)
	aa 41-45	LKSLF: 13/17 (76,4%) LRS LF: 1/17 (5,9%) INSSF: 1/17 (5,9%) ND: 2/17	LKSLF: 5/8 (62,5%) LRS LF: 3/8 (37,5%)

aa: aminoácido; ND: no determinado. En negrita se indica la variante *wild type* según la referencia HXB2.

Análisis comparativo de la proteasa (aa 1-99)

Las secuencias de la proteasa fueron analizadas en busca de mutaciones de resistencia a drogas antirretrovirales y respecto de posiciones aminoacídicas relacionadas con su funcionalidad (Tabla 18). ²⁵DTG²⁷ es el sitio activo y sus flanqueantes, Q7, L33, N37, L63, C67, H69 y ⁸⁶GRN⁸⁸, modulan su conformación y especificidad [183].

Tabla 18. Análisis comparativo de la proteasa (aa 1-99) de recombinantes BF o de subtipo B.

	Recombinantes BF	Subtipo B
aa 25-27	DTG: 17/17 (100%)	DTG: 8/8 (100%)
aa 7	Q7: 17/17 (100%)	Q7: 8/8 (100%)
aa 33	L33: 16/17 (94,1%) I33: 1/17 (5,9%)	L33: 7/8 (87,5%) V33: 1/8 (12,5%)
aa 37	N37: 16/17 (94,1%) T37: 1/17 (5,9%)	N37: 3/8 (37,5%) T37: 1/8 (12,5%) T37: 1/8 (12,5%) E37: 3/8 (37,5%)
aa 63	L63: 9/17 (52,9%) P63: 5/17 (29,4%) C63: 1/17 (5,9%) T63: 1/17 (5,9%) S63: 1/17 (5,9%)	L63: 3/8 (29,4%) P63: 3/8 (37,5%) ND: 2/8
aa 67	C67: 17/17 (100%)	C67: 6/8 (75%) S67: 1/8 (12,5%) ND: 1/8
aa 69	H69: 15/17 (88,2%) Y69: 1/17 (5,9%) Q69: 1/17 (5,9%)	H69: 7/8 (87,5%) ND: 1/8
aa 86-88	GRN: 17/17 (100%)	GRN: 8/8 (100%)
Mutaciones de resistencia	aa 36	No se detectaron mutaciones de resistencia a drogas antirretrovirales.
	aa 82	
	aa 90	

aa: aminoácido; ND: no determinado. En negrita se indica la variante *wild type* según la referencia HXB2. Los aa I33 y T37 se detectaron en la misma muestra, al igual que los aa V33 y T37.

Análisis comparativo de Vpr (aa 1-96)

El análisis (Tabla 19) incluyó los dominios relacionados con el transporte nuclear y la incorporación al virión (α -hélice I), el fenómeno de oligomerización (α -hélice II), la promoción de la replicación viral en células quiescentes, la transactivación del promotor viral y la oligomerización (α -hélice III), la estabilidad de la proteína y la alteración del ciclo celular (extremo carboxi-terminal) [184, 185].

Tabla 19. Análisis comparativo de los aminoácidos de Vpr (aa 1-96) de recombinantes BF o de subtipo B.

		Recombinantes BF	Subtipo B
α-hélice I (aa 17-33)	aa 28	N28: 14/17 (82,3%) S28: 2/17 (11,8%) K28: 1/17 (5,9%)	N28: 3/8 (37,5%) S28: 4/8 (50%) A28: 1/8 (12,5%)
	aa 37	P37: 11/17 (64,7%) M37: 1/17 (5,9%) T37: 2/17 (11,8%) ND: 3/17	P37: 1/8 (12,5%) T37: 1/8 (12,5%) V37: 3/8 (37,5%) L37: 1/8 (12,5%) A37: 1/8 (12,5%) G37: 1/8 (12,5%)
α-hélice II (aa 39-50)	aa 41	S41: 11/17 (64,7%) G41: 4/17 (23,5%) ND: 2/17	S41: 1/8 (12,5%) G41: 6/8 (75%) N41: 1/8 (12,5%)
	aa 45	H45: 12/17 (70,6%) Y45: 3/17 (17,6%) ND: 2/17	H45: 3/8 (37,5%) Y45: 5/8 (62,5%)
	aa 48	N48: 12/17 (70,6%) E48: 1/17 (5,9%) D48: 1/17 (5,9%) A48: 1/17 (5,9%) ND: 2/17	E48: 8/8 (100%)

Tabla 19 (continuación). Análisis comparativo de los aminoácidos de Vpr (aa 1-96) de recombinantes BF o de subtipo B.

	Recombinantes BF	Subtipo B
α-hélice III (aa 55-77)	aa 55 E55: 14/17 (64,7%) ND: 3/17	A55: 6/8 (75%) T55: 2/8 (25%)
	aa 63 I63: 9/17 (52,9%) M63: 5/17 (29,4%) ND: 3/17	I63: 3/8 (37,5%) M63: 2/8 (25%) V63: 2/8 (25%) T63: 1/8 (12,5%)
	aa 77 H77: 10/17 (58,8%) Q77: 2/17 (11,8%) R77: 2/17 (11,8%) ND: 3/17	Q77: 5/8 (62,5%) R77: 3/8 (37,5%)
Carboxi-terminal (aa 78-96)	aa 84 I84: 12/17 (70,6%) T84: 1/17 (5,9%) M84: 1/17 (5,9%) ND: 3/17	I84: 3/8 (37,5%) T84: 1/8 (12,5%) M84: 1/8 (12,5%) N.D: 1/8 (12,5%) L84: 1/8 (12,5%) S84: 1/8 (12,5%)
	aa 85 R85: 11/17 (64,7%) P85: 2/17 (11,8%) L85: 1/17 (5,9%) ND: 2/17	R85: 3/8 (37,5%) P85: 2/8 (25%) Q85: 3/8 (37,5%)
	aa 89 V89: 8/17 (47%) A89: 3/17 (17,6%) T89: 2/17 (11,8%) G89: 1/17 (5,9%) I89: 1/17 (5,9%) ND: 2/17	A89: 4/8 (50%) T89: 3/8 (37,5%) S89: 1/8 (12,5%)

aa: aminoácido; ND: no determinado. En negrita se indica la variante *wild type* según la referencia HXB2.

IV.8. Análisis molecular de muestras HBV positivas

De las 106 muestras con HBsAg y/o anti-HBc positivos de TTS, 31 cumplieron con el criterio de selección de muestras descrito en Materiales y Métodos, siendo tres de ellas, además, HBsAg positivas. De las 31 muestras, sólo fueron positivas en la PCR las tres que tenían HBsAg. Como se muestra en la Figura 10, una fue genotipo C y las otras dos fueron genotipo A2.

De las 18 muestras con HBsAg y/o anti-HBc positivos de HTS, 13 tenían anti-HBc positivo y anticuerpos anti-HBs negativo de las cuales sólo una era, además, HBsAg positivo. De estas muestras, solo resultó positiva en la PCR aquella HBsAg positiva y, al genotipificarla, resultó ser F1 (Figura 10).

No se detectaron casos de hepatitis B oculta entre las muestras con patrón serológico “anti-HBc aislado” (n=40).

IV.9. Análisis molecular de muestras HCV positivas

De las 12 muestras con serología positiva para HCV de TTS, siete muestras resultaron positivas en la RT-PCR. De ellas, tres correspondieron al genotipo 1, dos al genotipo 3 y dos al genotipo 4 como se muestra en la Figura 11.

De las cinco muestras con serología positiva para HCV de HTS, cuatro fueron positivas en la RT-PCR. De ellas, dos correspondieron al genotipo 1, una al 3 y una al 4 (Figura 11).

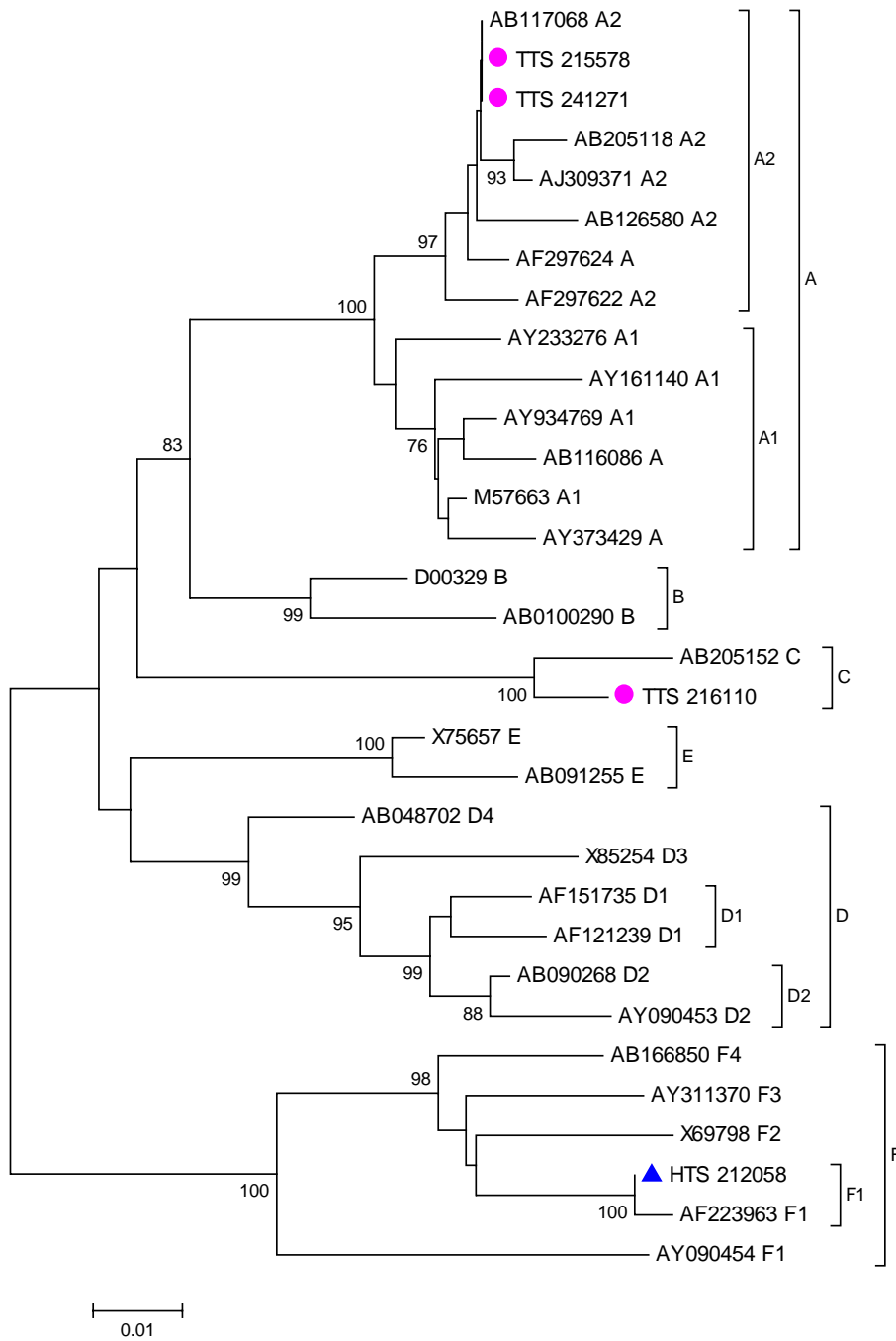


Figura 10. Árbol filogenético obtenido por neighborjoining de la región *poI* de HBV.

Los círculos indican coinfección con HIV y los triángulos indican que son HIV-. El color fucsia indica que es TTS y el azul, que es HTS.

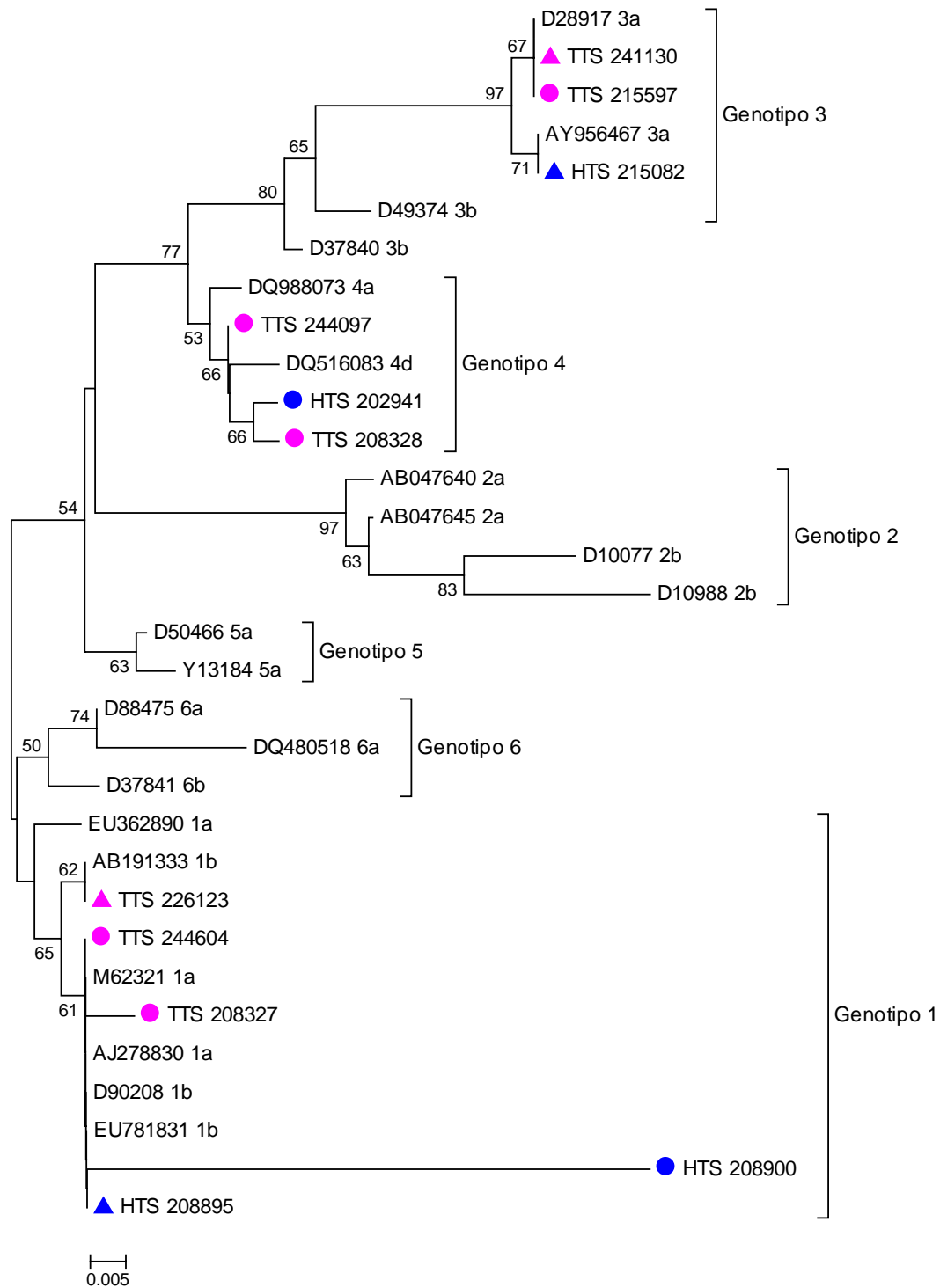


Figura 11. Árbol filogenético obtenido por neighborjoining de la región 5'UTR de HCV.

Los círculos indican coinfección con HIV y los triángulos indican que son HIV-. El color fucsia indica que es TTS y el azul, que es HTS. La participante 208328 fue la única que declaró ser UDI y la TTS 208327 fue la única que reportó haber recibido una transfusión.

IV.10. Análisis molecular de muestras HTLV-1/2 positivas

De las cuatro muestras de TTS HTLV-1/2 positivas por WB, por la PCR diagnóstica una resultó ser HTLV-1 y las otras tres fueron HTLV-2. En el caso de la única muestra de HTS HTLV-1/2 positiva, en la PCR resultó ser HTLV-2. Al realizar la secuenciación para el estudio filogenético, en el caso de las cuatro muestras HTLV-2 solo dos muestras pudieron tipificarse dado que en un caso la muestra fue insuficiente para continuar con su estudio y en el otro caso no se logró su amplificación durante la secuenciación.

En la Figura 12 se muestra el árbol obtenido por Neighborjoining para la muestra HTLV-1.

En la Figura 13 se muestra el árbol obtenido por Neighborjoining para las dos muestras HTLV-2 que pudieron ser tipificadas. La filogenia muestra que ambas correspondieron al subtipo b.

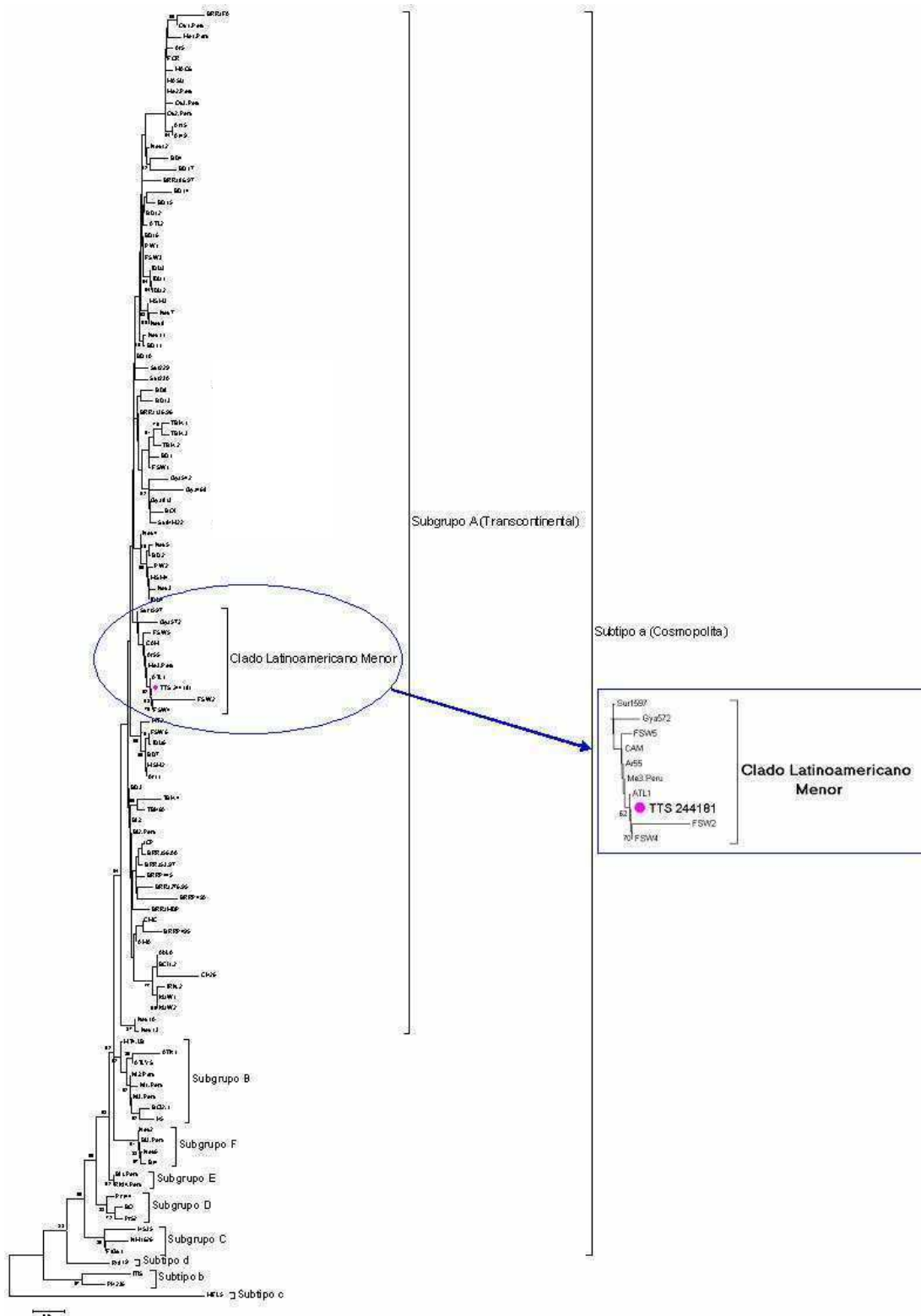


Figura 12. Árbol filogenético obtenido por Neighborjoining de la región LTR de HTLV-1. El círculo indica coinfección con HIV.

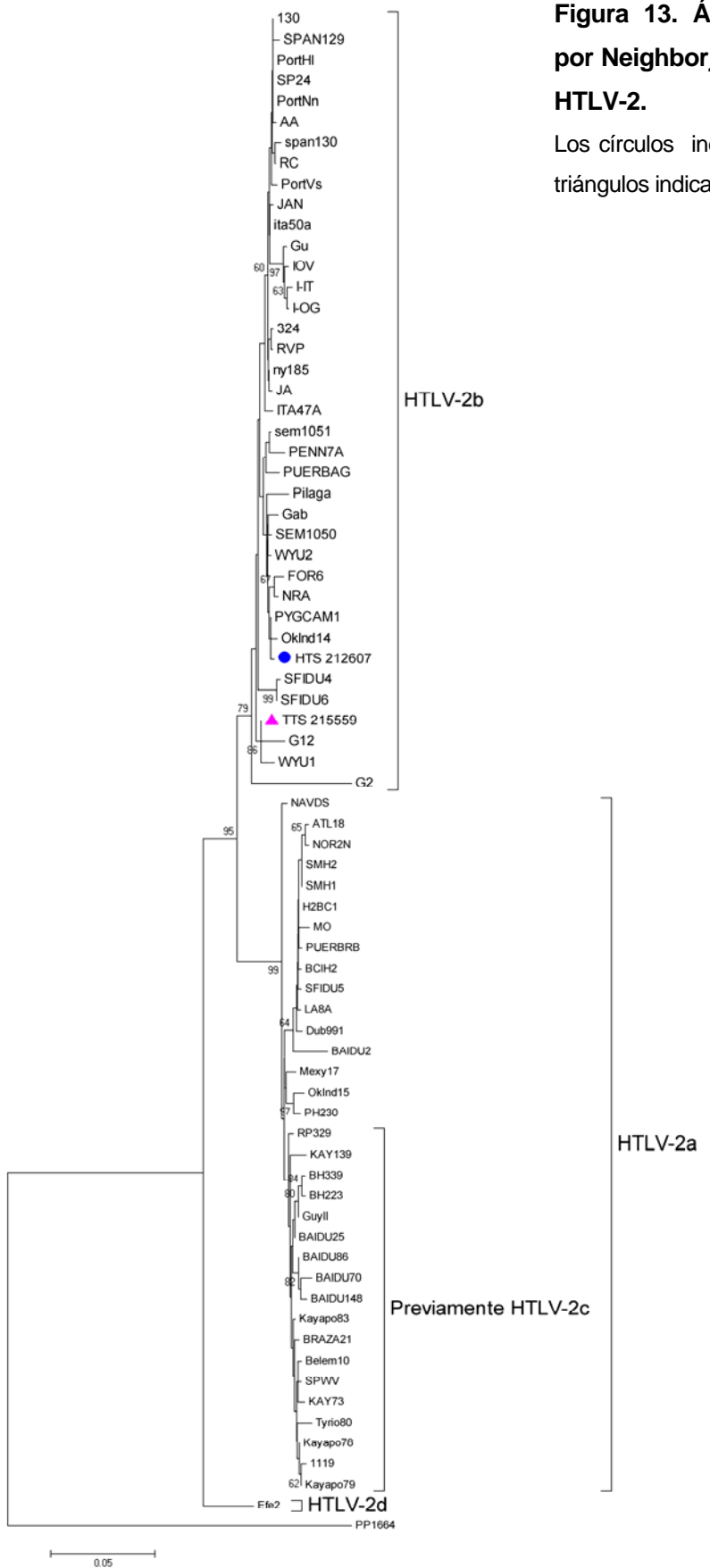


Figura 13. Árbol filogenético obtenido por Neighborjoining de la región LTR de HTLV-2.

Los círculos indican coinfección con HIV y los triángulos indican que son HIV negativos.

IV.11. Genotipificación de HPV

En 8 de las 111 muestras positivas para HPV no se pudo determinar el genotipo infectante. De las 103 restantes, el 70,8% (73/103) tuvo más de un genotipo y un 94,5% de estas (69/73) presentó al menos un genotipo de alto riesgo. La prevalencia de genotipos de alto riesgo en las 103 muestras fue 82,5% (85/103). En la Figura 13 se muestran los genotipos más frecuentes. Además, se encontraron los siguientes genotipos con frecuencias menores al 10%: 40 y **73** (9,7%), **33** y 70 (7,8%), **45**, **52**, 83 y 102 (6,8%), **35** (5,8%), 44, **59**, 72 (4,85%), 53, 54 y **82** (3,9%), **68** (1,9%), 26, 55, 62, 97 y CP6108 (0,97%) (en negrita se indican los genotipos de alto riesgo).

La frecuencia del número de genotipos se describe en la Figura 14. La mediana del número de genotipos por individuo fue 2 (RIC 1–4) y la mediana del número de tipos de alto riesgo fue 1 (RIC 1–2). En una muestra llegaron a encontrarse 10 genotipos diferentes. Se encontró un mayor número de genotipos en muestras de individuos más jóvenes.

Las tasas de infección por HPV fueron similares en participantes HIV positivos (100%) y en HIV negativos (95,8%). Aunque la diferencia no fue significativa, se encontró un mayor número de genotipos coinfectantes en individuos HIV positivos (73,8% vs. 60,8%). Sin embargo, el 46,2% de los participantes HIV positivos tuvo entre 4-9 genotipos de HPV mientras que entre los HIV negativos este porcentaje fue de 18,8% ($p= 0,006$).

La prevalencia de genotipos de alto riesgo y la frecuencia de cada genotipo de alto riesgo fueron similares entre individuos HIV positivos y HIV negativos (79,5% y 84,4%). En cuanto a los genotipos de bajo riesgo, el HPV 81 y el HPV 11 mostraron una mayor frecuencia entre participantes HIV positivos (30,8% vs. 9,4%, $p= 0,01$, y 20,5% vs. 4,7%, $p= 0,02$, respectivamente).

Cuando se analizó el uso de preservativo en relación al número de genotipos de HPV, no se encontró asociación dado que el 60% de los participantes con un solo genotipo y el 56,9% de aquellos con más de un tipo declararon no usar nunca preservativo en las relaciones sexuales anales.

Figura 13. Genotipos de HPV más frecuentemente detectados en 103 muestras de cepillado anal de TTS.

Cada genotipo se consideró en forma independiente

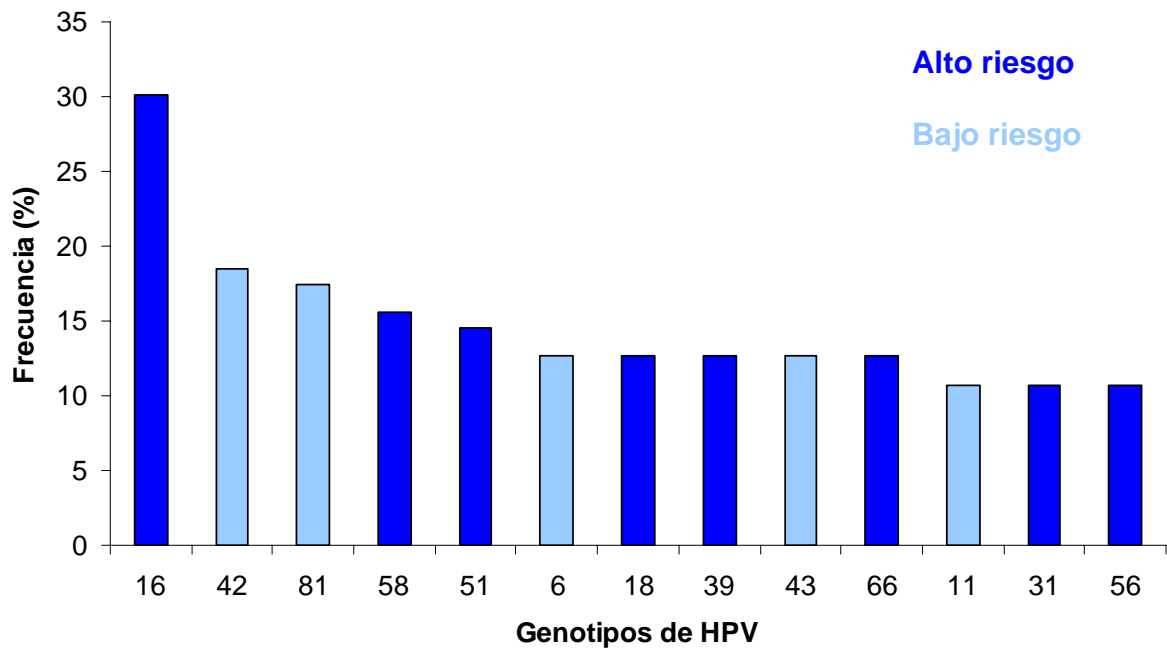
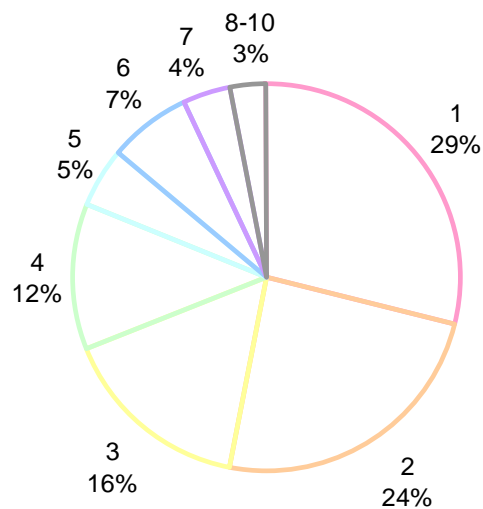


Figura 14. Frecuencia del número de genotipos de HPV detectados en 103 muestras de cepillado anal de TTS.



IV.12. Genotipificación de *Chlamydia trachomatis*

De las cinco muestras positivas para este patógeno, una fue no tipificable, se encontraron dos con genotipo D, una con genotipo E y en una de ellas se detectó un genotipo de linfogranuloma venéreo (L2).

El monitoreo de la epidemia del HIV resulta indispensable para la toma de decisiones en el ámbito de la salud pública. A fin de poder enfocar correctamente las campañas preventivas para la infección por HIV y otras ITS es necesario poder identificar los grupos humanos más vulnerables, así como también conocer sus características y necesidades particulares. Este trabajo se propuso entonces incrementar el conocimiento epidemiológico de la infección por HIV y otras ITS en Argentina, como así también estudiar aspectos moleculares de los virus circulantes en dos poblaciones vulnerables: hombres trabajadores sexuales (HTS) y trans trabajadoras sexuales (TTS), poco estudiadas hasta el momento. Los estudios previos realizados en Argentina describen en general aspectos epidemiológicos realizados en personas que espontáneamente solicitaban asistencia médica y no se disponía de datos en poblaciones reclutadas en convocatoria abierta.

Los trabajadores sexuales comprenden una gran diversidad de personas: mujeres, hombres y trans, con vulnerabilidades muy diferentes y que trabajan en una gran variedad de ámbitos y en forma ocasional o periódica, no siempre identificándose como trabajadores sexuales. El grado de marginación en que su vida se desarrolla y las características propias de su trabajo hacen de ellos un grupo de riesgo en todo lo referente al cuidado de su salud.

Es sabido que existen múltiples factores que influyen en estas conductas de riesgo. Entre estos factores se destacan la marginalización y la vulnerabilidad por su condición laboral. Estas condiciones limitan, entre otras cosas, las posibilidades de negociación de preservativo exponiéndolos a múltiples ITS. Por otro lado, también ven limitado el acceso a la salud, dejándolos al margen de la prevención y control de enfermedades [55, 186, 187].

El presente estudio revela diversas situaciones relacionadas con vulnerabilidad entre los trabajadores sexuales de Argentina.

Las personas trans especialmente, se encuentran en un importante estado de vulnerabilidad en todos los aspectos de su salud ya que generalmente, debido a la marginalidad en la cual se ven inmersas, no recurren con la frecuencia debida o necesaria a los centros médicos. En este sentido, solo en los últimos años se han comenzado a realizar estudios que muestran la magnitud de la epidemia de HIV/Sida en este sector de la población.

Los resultados de este trabajo muestran que las características del comportamiento sexual de las dos poblaciones estudiadas son diferentes. Si consideramos los datos obtenidos de la encuesta, hay algunos puntos a tener en cuenta que pueden explicar las diferencias observadas en las prevalencias de ITS en cada población y más aún los datos de incidencia de HIV observados. En cuanto a la historia de ITS, las TTS declararon haber tenido ITS previas con mayor frecuencia. Las TTS llevaban más tiempo en el trabajo sexual, utilizaban la calle como lugar de trabajo de manera más frecuente o única, declararon un mayor número de clientes semanales y tenían una mayor preferencia por clientes de sexo masculino que los HTS. También se observaron diferencias significativas respecto del uso de preservativo en el trabajo sexual entre ambos grupos dado que las TTS lo utilizaban con menor frecuencia. Sin embargo, a pesar de declarar un menor cuidado, las TTS parecían tener más conciencia del riesgo de infección que corren y, de hecho, hubo más TTS que se habían realizado el test de HIV previamente.

V.1. Prevalencias de ITS e incidencia de HIV en trans y hombres trabajadores sexuales

V.1.1 Prevalencia e incidencia de HIV

El primer estudio realizado en Buenos Aires en 105 TTS que se acercaron a realizarse el diagnóstico de HIV a un Centro de Prevención, Asesoramiento y Diagnóstico de la Ciudad de Buenos Aires, publicado en 2009, mostró una prevalencia de HIV del 27,6% [66]. Esta prevalencia es similar a la reportada en el presente trabajo (34,1%). Un reporte de 2003 realizado en Montevideo mostró una frecuencia significativamente menor, pero igualmente muy alta, de infección por HIV en esta población (21,5%) [188]. Estos estudios muestran claramente el gran impacto que la epidemia de HIV/Sida tiene en esta población en la región del cono sur. Como un ejemplo más de la vulnerabilidad de este grupo, se puede citar un reporte realizado por el Hospital Muñiz donde se mostró un foco de tuberculosis multirresistente entre trans residentes en un hotel (que funcionaba a su vez como residencia y lugar de trabajo sexual) de la Ciudad de Buenos Aires. La mitad de las trans que tenían tuberculosis se hallaban infectadas por HIV,

teniendo un curso evolutivo de la enfermedad desfavorable que llevó a la muerte a un alto porcentaje de ellas [189].

Mientras tanto, la prevalencia de HIV en HTS (11,4%) no difiere significativamente de aquella reportada previamente en HSH (13,8%) [55]. Por otro lado, si se observa una diferencia significativa al comparar la prevalencia de HIV de TTS y HTS con aquella mucho menor de mujeres trabajadoras sexuales (3,2%) [57].

La observación de que la prevalencia de HIV en TTS es mayor que la de HTS en Argentina no coincide con el meta-análisis reportado por Operario *et al.*, 2008, en el cual TTS y HTS tenían la misma probabilidad de ser HIV positivos [190].

Los estudios de prevalencia permiten conocer aquellos subgrupos de la población donde se concentran la mayor cantidad de caso de individuos infectados por HIV. Sin embargo, a fin de determinar la dinámica de la epidemia se deben realizar estudios de incidencia. Estos estudios implican el seguimiento a largo plazo de cohortes de grupos en riesgo para la infección por HIV, que resulta altamente costoso y la mayoría de las veces, difícil de llevar a cabo con una retención que valide el estudio. La poca "visibilidad" de estos grupos impide que sean fácilmente contactados y su seguimiento a largo plazo. La metodología de estimación de incidencia a partir de muestras de estudios de corte transversal ha surgido como una alternativa muy utilizada, que permite obviar esta dificultad. Estas metodologías utilizan un *test* de ELISA modificado de baja sensibilidad (*Detune*) que permite detectar si la infección ocurrió en los últimos 6 meses [172]. Con esta metodología se realizó hace varios años el primer estudio de estimación de incidencia de HIV en varios grupos vulnerables de la Ciudad de Buenos Aires mostrando valores de incidencia cercanos al 7% para HSH, 3% para usuarios de cocaína no inyectable y 1% en mujeres trabajadoras sexuales, no encontrándose casos de infección reciente en los usuarios de drogas inyectables [173].

La incidencia de HIV observada en TTS en este estudio (9,7/100 personas-año) fue muy alta, reforzando la severidad de la epidemia en este grupo. Esta fue más alta que la incidencia observada en HTS (2,3/100 personas-año) y que aquella reportada en HSH en 2006 (6,7/100 personas-año), la estimada por Viñoles *et al.*, 2005 y en TTS en Uruguay (6,03/100 personas-año) [173, 191]. Estos datos demuestran la importancia de este grupo en la dinámica actual de la epidemia de HIV/Sida dado su contacto con la

población de “hombres heterosexuales” que utilizan sus servicios sexuales, los cuales son un nexo con la población de mujeres.

V.1.2. Prevalencia de *Treponema pallidum*

A pesar de la existencia de un tratamiento gratuito y fácil de administrar en Argentina, la prevalencia de *T. pallidum* (50,4%) fue extremadamente alta en TTS confirmando los resultados de Toibaro *et al.*, 2009, (42%) [66]. Dado que los HTS (20,4%) en este estudio y las MTS en otro trabajo (45,7%) mostraron también una alta prevalencia, la infección por *T. pallidum* no es un asunto de salud pública exclusivo del grupo TTS [57]. Estas estadísticas evidencian la falta de acceso o el acceso inadecuado al sistema de salud que sufren los trabajadores sexuales en general.

V.1.3. Prevalencia de HBV

Un trabajo previo sobre ITS en HSH en Buenos Aires reportó una prevalencia de HBV del 37,7%, mientras que un estudio de cohorte encontró una prevalencia de 24% [55, 192]. La prevalencia de HBV encontrada en el primer estudio no difiere significativamente de la encontrada en TTS (40,2%) en el presente trabajo pero si de la encontrada en HTS (22%, $p=0,007$). A su vez, los resultados de la cohorte no difieren significativamente de los encontrados en HTS pero si de los encontrados en TTS ($p<0,001$). Además del tiempo transcurrido entre el reclutamiento de participantes en estos trabajos (2000-2001 y 2003-2004), un mejor acceso a la salud que seguramente tienen los HTS, podrían explicar la menor prevalencia.

Al comparar los resultados obtenido en las dos poblaciones, la prevalencia de HBV encontrada en TTS fue significativamente más alta que la de HTS aunque es importante destacar que ambas son muy altas. Debido a esto, es imperativo llegar a más TTS y HTS con una vacunación temprana en el contexto de un programa bien diseñado. Es de remarcar que en este estudio solamente el 30% de las participantes que recibieron la primera dosis de la vacuna de HBV volvieron para la segunda. En Argentina, la vacunación para HBV ha estado disponible desde 1982 y se recomendó para todas las personas con alto riesgo de infección por HBV como, entre otros, los HSH, UDIs, heterosexuales con múltiples parejas sexuales o con ITS, y parejas sexuales de personas portadoras de HBV. Sin embargo, recién desde el año 2000 la vacunación

contra el HBV es obligatoria para niños y preadolescentes [193]. Un estudio previo mostró que solamente el 7% de una cohorte de HSH había sido vacunado previamente contra el HBV [192]. La mayoría de los HSH de ese estudio simplemente desconocían el riesgo de contraer HBV o la existencia de una vacuna. Sin embargo, cuando se les ofreció la vacuna, en esa ocasión, cerca del 90% completó el esquema de vacunación.

V.1.4. Prevalencia de HCV

A diferencia de los otros patógenos testeados, la prevalencia de HCV en TTS (4,5%) y HTS (6,1%) fue relativamente baja. Russi *et al.*, 2003, reportó una prevalencia de HCV similar en TTS de Uruguay [188]. En trabajos previos realizados en HSH de Buenos Aires, se encontraron prevalencias de 0,8% y de 1,9% [55, 192]. Ambas prevalencias difieren significativamente de las reportadas en el presente trabajo ($p < 0,001$ respecto del primer trabajo y $p = 0,04$ del segundo). Al comparar las prevalencias obtenidas en TTS y en HTS entre sí, la diferencia entre ambas poblaciones no fue significativa. Dada la baja probabilidad de transmisión sexual del HCV, es posible que un mayor número de UDIs hayan formado parte de la muestra aunque no se declararon como tales, dado que solo dos HTS (ambos HCV negativos) y dos TTS (una de ellas HCV positiva) reportaron ser UDIs.

V.1.5. Prevalencia de HTLV-1/2

Si bien no existen datos previos sobre la prevalencia de HTLV-1/2 en TTS y HTS, existe un reporte en HSH en Buenos Aires que estimó una prevalencia de 0,3% y otro realizado en MTS en Argentina que encontró una prevalencia de 1,6% [55, 57]. Al realizar la comparación estadística de estos resultados con los obtenidos en esta Tesis (TTS 1,8% y HTS 1,0%) no se encontraron diferencias significativas entre las prevalencias.

V.1.6. Prevalencia de HPV

Este es el primer estudio que reporta la prevalencia de HPV (97,4%) en TTS tanto en Argentina como en el resto del mundo. Contrariamente a otros reportes, y dada la altísima prevalencia encontrada, la frecuencia de infección con HPV fue similar en individuos HIV positivos y negativos [194, 195]. La prevalencia de infección anal por

HPV en TTS HIV positivas no difirió significativamente de aquella reportada en HSH HIV positivos (97,9% y 95%) [196, 197]. Por el contrario, la prevalencia de infección anal por HPV en TTS HIV negativas (98,5%) fue significativamente ($p < 0,001$) mayor que la reportada en HSH HIV negativos (17,6%, 32,8%, 57%) [198-200] y en hombres heterosexuales inmunocompetentes (24,8%) [201], demostrando la alta exposición de las TTS más allá de su estado serológico para HIV. Se asume que la infección por HPV se adquiere tempranamente luego del inicio de la actividad sexual mientras que la infección por HIV puede ser adquirida un tiempo después. Mientras la inmunosupresión asociada a la infección por HIV se mantenga al mínimo, hay un buen control de la replicación de HPV y la enfermedad anogenital es leve aún cuando haya varios genotipos de HPV infectando [156]. Sin embargo, Chin-Hong *et al.* 2009 encontraron que la infección anal con HPV está asociada a un mayor riesgo de infección por HIV y que este riesgo aumenta significativamente con un mayor número de tipos de HPV [194]. Vale remarcar que, si bien a las participantes se les ofrecía consultar gratuitamente a un proctólogo de Nexo AC, solamente tres TTS lo hicieron, no encontrándose signos relacionados a la infección por HPV. La detección de HPV no tiene valor pronóstico sin los datos clínicos pertinentes. Las personas HPV positivas deberían controlarse periódicamente debido al riesgo que implica tener una infección con este virus dado que la detección temprana de una lesión mejora el pronóstico.

V.1.7. Prevalencia de *Chlamydia trachomatis*

La prevalencia de infección anal por *C. trachomatis* en TTS (4,4%) fue mayor que la prevalencia observada (1,85%) en muestras genitales de adultos sintomáticos para ITS, de ambos sexos, en Argentina, pero fue similar a la prevalencia reportada recientemente en una población de HSH de Estados Unidos (6,8%) [202, 203]. Un reporte sobre TTS de Indonesia mostró una prevalencia de *C. trachomatis* del 3.8%, muy similar a la encontrada en este trabajo [204]. Este es el primer reporte conocido de infección por *C. trachomatis* en TTS en Argentina.

V.1.8. Coinfecciones

Treponema pallidum fue la monoinfección más frecuente. En cuanto a la prevalencia de coinfecciones entre los cinco patógenos estudiados (HBV, HCV, HIV, HTLV y *T.*

pallidum) en todos los voluntarios, la detección de ITS en TTS casi duplicó la encontrada en HTS. La asociación entre HIV, HBV y *T. pallidum* fue frecuente en ambas poblaciones. La interacción entre HIV y otros patógenos debería ser tomada en cuenta dado que la progresión a la enfermedad puede verse dramáticamente alterada.

Cuando se compara el número de ITS, la frecuencia de una o más ITS fue significativamente mayor en TTS (69% vs. 39%, $p < 0,001$).

Cuando se analizan los agentes infectantes (Figuras 7b y 9b), *T. pallidum* fue la infección más frecuente, HBV-*T. pallidum* fue la infección doble más frecuente seguida por la infección triple por HBV-HIV-*T. pallidum* en ambos grupos.

V.2. Epidemiología molecular de HIV

Como se ha reportado en trabajos previos, el subtipo B y las recombinantes BF son las variantes con mayor frecuencia en nuestro país [20, 21, 81-83]. Esto se vió reflejado en los resultados aquí reportados dado que estas variantes también fueron las más frecuentes en TTS y HTS. Llamativamente, se encontraron tres variantes C, un subtipo F puro y un recombinante AB. Si bien se han reportado algunos casos previamente, su frecuencia es muy baja en nuestro país. De hecho, entre los trabajos previos mencionados, se han reportado seis muestras subtipo C, un subtipo F puro un recombinante AB.

Los resultados obtenidos del análisis de las secuencias aminoacídicas correspondientes a Gag mostraron diferencias entre los grupos de secuencias confeccionados de acuerdo al subtipo al que pertenecían (B o BF) a nivel de la cápside. Dado que esta proteína juega un rol importante en el proceso de ensamblado y organización estructural del virión, las variaciones observadas podrían tener impacto funcional sobre la misma. Las secuencias BF presentaron cambios en la posición 92 (A92P), relacionada con la unión de la proteína celular Ciclofilina A, 183 y 187 (N183G, E187D), ambas involucradas en la dimerización.

El análisis de las posiciones aminoacídicas involucradas en la formación y mantenimiento de las estructuras tipo “dedos de zinc” de nucleocápside (C15, C18, H23, C28, C36, C39, H44, C49) mostró una elevada conservación en ambos grupos de secuencias, resaltando su importancia biológica.

Las secuencias de la región P6 mostraron una mayor heterogeneidad en el grupo de secuencias subtipo BF que en el grupo subtipo B. Las diferencias entre estos grupos se observaron a nivel de las dos α -hélices, y en particular en las regiones involucradas en la interacción con Vpr. Puesto que la incorporación de Vpr al virión está mediada, al menos en parte, por la interacción entre la α -hélice I de la misma y P6, al analizar la composición de aminoácidos de dicha estructura secundaria se observaron cambios frecuentes en las posiciones T19 y N28 asociados a cambios en P6, lo que permite hipotetizar que esta asociación podría tener relación con el mecanismo de incorporación de Vpr al virión.

Numerosos cambios aminoacídicos distintivos de cada grupo de secuencias se observaron en Vpr, siendo la α -hélice III la más afectada por dichos cambios, seguida de la α -hélice II y el extremo carboxi-terminal. Como se expusiese anteriormente, éstas regiones han sido adscriptas a varias funciones importantes de la proteína durante el ciclo de replicación viral, como son la oligomerización y estabilidad de la proteína, la promoción de la replicación viral en células quiescentes, la transactivación del promotor viral y la alteración del ciclo celular. El impacto y magnitud de los cambios observados sobre las funciones proteicas y en última instancia la capacidad replicativa del virus son parámetros que deberán ser evaluados con ensayos *in vitro*, y cuyos resultados pueden significar un gran aporte en el conocimiento de la biología replicativa viral, la transmisión, la patogénesis y la epidemiología de la infección por HIV.

Los resultados del análisis de la proteasa viral mostraron una elevada conservación de dicha proteína, esencial para la replicación viral, con ligeras variaciones entre los grupos en estudio. Se observaron mutaciones de resistencia a drogas antirretrovirales entre las secuencias subtipo BF. Además, se detectaron cambios en posiciones reportadas como responsables de la especificidad de la proteína que los porta (33 y 37) entre las secuencias B (n=1; 12,5%) y las BF (n=1; 5,8%) [183].

En resumen, el análisis realizado en su conjunto mostró diferencias entre la secuencia primaria de proteínas de gran relevancia estructural y funcional de variantes virales subtipo B y BF, pudiendo estas ser evidencias de diferencias evolutivas y replicativas de los subtipos estudiados, que deberán someterse a un análisis futuro más profundo.

V.3. Epidemiología molecular de HBV

Solamente se detectó ADN de HBV en aquellas muestras con HBsAg, no encontrándose casos de infección oculta. Debido a la alta frecuencia del genotipo F en nuestro país, era esperable encontrar el genotipo F1 [100]. Las dos muestras que presentaron genotipo A2 eran también HIV positivas, condición asociada a dicho genotipo [205]. Por otro lado, debido a la baja frecuencia del genotipo C en nuestro país fue llamativo encontrarlo entre las pocas muestras con infección activa [100].

V.4. Epidemiología molecular de HCV

Debido a la baja tasa de limitación de la infección aguda, alrededor del 70-75% de las muestras con anticuerpos para HCV tienen ARN detectable [206]. En este trabajo el 65% de las muestras con anticuerpos para HCV fue ARN positivo. La diferencia puede deberse a que algunas muestras fueran falsos positivos en la serología o a que los pacientes tuvieran viremia fluctuante y se encontraran en un período de viremia indetectable.

En cuanto a los genotipos encontrados, las muestras con genotipo 1 eran esperables dado que es el más frecuente. El genotipo 3 tiene una menor frecuencia, pero aún así se encontraron dos muestras con el mismo. Las dos muestras con genotipo 4 se condicen con un aumento en su prevalencia y con que ambas eran además HIV-positivas [207].

V.5. Epidemiología molecular de HTLV-1/2

De los individuos HTLV-1/2 positivos ninguno declaró haber usado drogas inyectables ni haber recibido transfusiones según los datos obtenidos de la encuesta. Por lo cual, las otras vías de transmisión a considerar son la sexual y la vertical. Algunos de los casos provenían de áreas endémicas para el HTLV-1, como Perú o la provincia de Entre Ríos, donde fueran reportados donantes de sangre seropositivos y otros eran originarios de zonas endémicas para el HTLV-2, como Paraguay [208, 209]. Una probable transmisión por vía sexual no debe ser descartada en un HTS y dos TTS debido a que eran también HIV positivos y coinfectados con *T. pallidum* o HBV.

Al analizar los resultados obtenidos de la filogenia, se encontró una muestra correspondiente a una TTS de origen peruano cuyo HTLV-1 resultó pertenecer al subtipo Cosmopolita (a) / subgrupo Transcontinental (A) descrito por Van Dooren *et al* 1998, corroborando datos que lo describían como mayoritario en Sudamérica [139,

210]. Esta muestra agrupó junto a referencias de mujeres trabajadoras sexuales y un caso de ATL, provenientes de diferentes ciudades del país. En el caso del HTS HTLV-2b positivo de origen peruano, dado que Perú no es zona endémica para HTLV-2 y que no declaró uso de drogas inyectables, lo más probable es que se haya infectado por tener relaciones sexuales desprotegidas con personas con antecedentes de riesgo para este tipo viral [211]. El hecho de que el HTS sea también HIV positivo, sustenta esta hipótesis. El otro caso de HTLV-2b correspondió a una TTS HIV negativa originaria de Entre Ríos. A pesar de que Entre Ríos no es zona endémica, se han detectado allí casos de ambos tipos de HTLV (comunicación personal Dra. Mirna Biglione) por lo cual no podría descartarse una transmisión vertical además de la sexual.

Por último, las otras dos muestras HTLV-2 que no pudieron ser estudiadas correspondieron a una TTS HIV negativa originaria de Paraguay y a una TTS HIV positiva de Perú. En el primer caso, es conocido que el HTLV-2 es endémico en Paraguay por lo que el individuo podría haberse contagiado por vía vertical además del contacto sexual con un individuo infectado. En cambio, el segundo caso, como se dijo previamente, nació en Perú donde este retrovirus ha sido detectado esporádicamente.

V.6. Genotipificación de HPV

En este trabajo, la coinfección con cuatro a nueve genotipos de HPV fue más frecuentemente encontrada en TTS HIV positivas. Estos resultados sugerirían que la inmunosupresión podría producir una pérdida de la inmunidad específica para HPV y una reactivación de infecciones preexistentes indicando una incapacidad para erradicar la infección [212]. Otra explicación posible es que los individuos HIV positivos sean más propensos a conductas de alto riesgo y, por lo tanto, estén más expuestos a la infección por HPV. El análisis preliminar de las encuestas mostró que los individuos más jóvenes tenían un mayor número de genotipos aunque no se encontró una asociación significativa. La frecuencia de uso de preservativo para el trabajo sexual no estuvo asociada a la edad ni a los años en el trabajo sexual. Tampoco se encontró asociación entre tener una pareja estable y el número de genotipos coinfectantes. El uso de preservativo no estuvo asociado ni al estado serológico para HIV ni al número de tipos de HPV.

El espectro de genotipos de HPV fue similar en TTS HIV positivas y negativas, siendo el tipo más frecuente el HPV 16. La genotipificación mostró que 1/3 de las participantes fueron positivas para HPV 16 (solo o coinfectando), el cual es considerado responsable de más del 70% de los cancer anales [155]. Es bien sabido que la tasa de *clearance* es mayor para los tipos no oncogénicos de HPV. En particular se ha reportado que el HPV 16 tiende a persistir, lo cual está fuertemente asociado a la progresión a lesiones de alto grado [213, 214]. El HPV 16 puede ser eliminado en forma menos eficiente por el sistema inmune, sin embargo, la infección/reinfección por HPV ha sido recientemente asociada con la actividad sexual, sugiriendo que la inmunidad natural no juega un rol importante en el control de las reinfecciones [201, 215]. Esta puede ser una explicación de la razón de que el HPV 16 sea el genotipo oncogénico más frecuente en la población de TTS, más allá del estado serológico para HIV. Los únicos datos sobre los genotipos de HPV encontrados en Argentina, en 987 exudados cérvico-vaginales de Entre Ríos mostraron que los tipos más frecuentes fueron el HPV 16 (15%) y el HPV 81 (6%) [216]. Estos dos genotipos fueron también los más frecuentes en TTS aunque la prevalencia de cada uno fue significativamente mayor en TTS ($p = 0.005$). Un reporte sobre genotipos de HPV en HSH en Argentina, utilizando la misma metodología que en el presente trabajo, mostró que los tipos más frecuentes fueron HPV 16 (24%), HPV 6 (23%), HPV 11 (18%), 18, 33 y 58 (10%) demostrando que el espectro de genotipos de HPV pareciera variar de una población a otra, aunque el HPV 16 es siempre el más frecuente [217]. Entre las TTS HIV positivas la frecuencia de coinfección con diferentes genotipos de HPV (79,5%) fue similar a aquella reportada en HSH HIV positivos [197, 218]. La frecuencia de coinfección con seis o más tipos de HPV fue menor en el presente trabajo (20,5% vs. 42%, $p = 0,018$) [197]. La media del número de genotipos y la media del número de tipos de alto riesgo por muestra fueron ambas menores en el presente trabajo que en Pokomandy *et al* 2009, (2 vs. 5 y 1 vs. 3 respectivamente) [218]. Entre las TTS HIV negativas, la frecuencia de la coinfección con distintos genotipos de HPV (65,6%) fue mayor que la reportada en HSH HIV negativos (45%; $p = 0,0023$) y aquella encontrada en hombres heterosexuales inmunocompetentes (34,5%, $p = 0,0014$) [198, 201]. El impacto de la infección con múltiples tipos sobre la persistencia de un genotipo dado o en la progresión a anormalidades intraepiteliales no

ha sido establecido aún. Sin embargo, Palefsky *et al* 2005 encontró un mayor riesgo de neoplasia intraepitelial anal al aumentar el número de genotipos de HPV [197].

V.7. Genotipificación de *Chlamydia trachomatis*

En este estudio, realizado con muestras de cepillado anal, se encontró un muy bajo número de muestras positivas (n=5). Las altas prevalencias de las otras ITS estudiadas en TTS hace pensar que esta forma de toma de muestra (autotoma) puede no ser la más apropiada para el diagnóstico de infección por *Chlamydia trachomatis*, aunque la calidad de la muestra obtenida demostró ser aceptable dada la cantidad de muestras positivas para HPV

Al comparar los resultados obtenidos con los genotipos encontrados en Buenos Aires por Gallo Valet *et al* 2010, en ambos se hallaron genotipos D y E pero sólo en el presente trabajo se encontró el genotipo L2, destacando la importancia de la vigilancia en esta población de altísima exposición dado que el genotipo L2 es típico de linfogranuloma venéreo [164]. Este genotipo da una infección sistémica y es más frecuentemente hallado en hisopados anales que en otras muestras genitales.

En otro trabajo realizado en muestras anorectales de HSH en Estados Unidos se encontró que los genotipos E y D fueron los más frecuentes no encontrándose genotipos LGV [219]. Trabajos en HSH de otros países también han detectado al genotipo D dentro de los más frecuentes [220, 221].

Las prevalencias de HIV, HBV, HPV y *T. pallidum* reportadas en este trabajo son alarmantes. Dado el difícil acceso a la mayoría de las poblaciones vulnerables, los HTS y TTS son poco estudiados en Argentina. Las altas prevalencias de infección observadas en este trabajo evidencian tanto la vulnerabilidad como la susceptibilidad a las ITS de estas dos poblaciones. Particularmente alarmantes fueron las tasas de infección significativamente más altas en TTS. Desde hace mucho tiempo este grupo ha sufrido discriminación y estigmatización. El trabajo sexual las lleva a una situación de marginalización social. A su vez, la marginalización puede llevar a la práctica del trabajo sexual. Esta exclusión social y el aislamiento dificultan el acceso a los servicios de salud así como a los programas de prevención de HIV/Sida que deberían ser diseñados para alcanzarlos. Además, la mayoría de los clientes de las TTS son hombres que se consideran heterosexuales y tienen parejas mujeres, por lo tanto puede que estén actuando como un puente epidemiológico entre TTS y la población de mujeres. Se deberían tener consideraciones similares en relación a los HTS dado que ellos declararon involucrarse sexualmente tanto con hombres como con mujeres.

Si bien las variantes de HIV más frecuentes fueron el subtipo B y la recombinante BF, es de remarcar el hallazgo de otros subtipos o recombinantes de muy escasa frecuencia como los subtipos F y C puros y un recombinante AB.

Fue llamativa la detección de un genotipo C de HBV además del genotipo F y del genotipo A. Respecto al HCV y debido a la alta frecuencia, era esperable encontrar genotipo 1, no así el genotipo 3. La detección del genotipo 4 se condice con el aumento de su prevalencia.

Llama la atención que casi la totalidad de las TTS estudiadas fueran HPV positivas, siendo los genotipos más frecuentes el 16, 42, 81 y 58, dos de ellos de alto riesgo de cáncer. De las muestras positivas para *C. trachomatis* se detectaron genotipo D y E y es de remarcar la presencia de un genotipo correspondiente a linfogranuloma venéreo.

Confirmando la idea de que el HIV y otras ITS están principalmente presentes en subpoblaciones específicas, el presente trabajo resalta la urgente necesidad de intervenciones de prevención y la facilitación del acceso a programas de salud dirigidos a un amplio espectro de subpoblaciones de las cuales los HTS y las TTS deberían ser parte.

1. CDC: **Kaposi's sarcoma and Pneumocystis pneumonia among homosexual men--New York City and California.** *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1981, **30**:305-308.
2. CDC: **From the Centers for Disease Control and Prevention. Pneumocystis pneumonia--Los Angeles, 1981.** *Jama* 1996, **276**:1020-1022.
3. Fauci AS: **Biodefence on the research agenda.** *Nature* 2003, **421**:787.
4. Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J, Dauguet C, Axler-Blin C, Vezinet-Brun F, Rouzioux C, et al: **Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS).** *Science* 1983, **220**:868-871.
5. Gallo RC, Sarin PS, Gelmann EP, Robert-Guroff M, Richardson E, Kalyanaraman VS, Mann D, Sidhu GD, Stahl RE, Zolla-Pazner S, et al: **Isolation of human T-cell leukemia virus in acquired immune deficiency syndrome (AIDS).** *Science* 1983, **220**:865-867.
6. Levy JA, Hoffman AD, Kramer SM, Landis JA, Shimabukuro JM, Oshiro LS: **Isolation of lymphocytopathic retroviruses from San Francisco patients with AIDS.** *Science* 1984, **225**:840-842.
7. Ratner L, Gallo RC, Wong-Staal F: **HTLV-III, LAV, ARV are variants of same AIDS virus.** *Nature* 1985, **313**:636-637.
8. Clavel F, Guetard D, Brun-Vezinet F, Chamaret S, Rey MA, Santos-Ferreira MO, Laurent AG, Dauguet C, Katlama C, Rouzioux C, et al.: **Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS.** *Science* 1986, **233**:343-346.
9. Anastassopoulou CG, Kostrikis LG: **Global genetic variation of HIV-1 infection.** *Curr HIV Res* 2006, **4**:365-373.
10. Ariyoshi K, Schim van der Loeff M, Cook P, Whitby D, Corrah T, Jaffar S, Cham F, Sabally S, O'Donovan D, Weiss RA, et al: **Kaposi's sarcoma in the Gambia, West Africa is less frequent in human immunodeficiency virus type 2 than in human immunodeficiency virus type 1 infection despite a high prevalence of human herpesvirus 8.** *J Hum Virol* 1998, **1**:193-199.
11. Libonatti O, Avila M, Zlatkes R, Pampuro S, Peralta LM, Rud E, Wainberg M, Salomon H: **First report of HIV-2 infection in Argentina.** *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1998, **18**:190-191.
12. Tebit DM, Arts EJ: **Tracking a century of global expansion and evolution of HIV to drive understanding and to combat disease.** *Lancet Infect Dis* 2011, **11**:45-56.
13. Alamos L: **HIV sequence database.** 2011.
14. Easterbrook PJ, Smith M, Mullen J, O'Shea S, Chrystie I, de Ruiter A, Tatt ID, Geretti AM, Zuckerman M: **Impact of HIV-1 viral subtype on disease progression and response to antiretroviral therapy.** *J Int AIDS Soc* 2010, **13**:4.
15. Kiwanuka N, Robb M, Laeyendecker O, Kigozi G, Wabwire-Mangen F, Makumbi FE, Nalugoda F, Kagaayi J, Eller M, Eller LA, et al: **HIV-1 viral subtype differences in the rate of CD4+ T-cell decline among HIV seroincident antiretroviral naive persons in Rakai district, Uganda.** *J Acquir Immune Defic Syndr* 2010, **54**:180-184.
16. Avila MM, Pando MA, Carrion G, Peralta LM, Salomon H, Carrillo MG, Sanchez J, Maulen S, Hierholzer J, Marinello M, et al: **Two HIV-1 epidemics in Argentina: different genetic subtypes associated with different risk groups.** *J Acquir Immune Defic Syndr* 2002, **29**:422-426.
17. Espinosa A, Vignoles M, Carrillo MG, Sheppard H, Donovan R, Peralta LM, Rossi D, Radulich G, Salomon H, Weissenbacher M: **Intersubtype BF recombinants of HIV-1 in a population of injecting drug users in Argentina.** *J Acquir Immune Defic Syndr* 2004, **36**:630-636.
18. Gomez Carrillo M, Salomón H, Pando M, Ávila M: **Distribución de subtipos y recombinantes del HIV. Situación en la Argentina.** *Medicina (Buenos Aires)* 2001, **61**:881-889.
19. Marquina S, Leitner T, Rabinovich RD, Benetucci J, Libonatti O, Albert J: **Coexistence of subtypes B, F, and as B/F env recombinant of HIV type 1 in Buenos Aires Argentina.** *AIDS Res Hum Retroviruses* 1996, **12**:1651-1654.
20. Pando MA, Eyzaguirre LM, Carrion G, Montano SM, Sanchez JL, Carr JK, Avila MM: **High genetic variability of HIV-1 in female sex workers from Argentina.** *Retrovirology* 2007, **4**:58.
21. Pando MA, Eyzaguirre LM, Segura M, Bautista CT, Marone R, Ceballos A, Montano SM, Sanchez JL, Weissenbacher M, Avila MM, Carr JK: **First report of an HIV-1 triple recombinant of subtypes B, C and F in Buenos Aires, Argentina.** *Retrovirology* 2006, **3**:59.
22. Taylor BS, Sobieszczyk ME, McCutchan FE, Hammer SM: **The challenge of HIV-1 subtype diversity.** *N Engl J Med* 2008, **358**:1590-1602.

23. Fields B: *Fields Virology*. Fifth Edition edn. Philadelphia. New York. : Lippincott-Raven Publishers. ; 2007.
24. Basualdo J, Coto C, De Torres R: *Microbiología Biomédica*. 2da Edición edn: Editorial Atlante S.R.L; 2006.
25. Levy J: *HIV and the pathogenesis of AIDS*. 2nd Edition edn. Washington DC, USA.: ASM Press; 1998.
26. Cohen P, Sande M, Volberding P: *AIDS Knowledge Base Textbook on HIV Disease*. 3rd Edition edn. Boston Little Brown & Co; 1998.
27. Coffin JH, SE; Varmus, HE.: *Retroviruses*.: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1997.
28. Balabanian K, Harriague J, Decrion C, Lagane B, Shorte S, Baleux F, Virelizier JL, Arenzana-Seisdedos F, Chakrabarti LA: **CXCR4-tropic HIV-1 envelope glycoprotein functions as a viral chemokine in unstimulated primary CD4+ T lymphocytes**. *J Immunol* 2004, **173**:7150-7160.
29. Cicala C, Arthos J, Selig SM, Dennis G, Jr., Hosack DA, Van Ryk D, Spangler ML, Steenbeke TD, Khazanie P, Gupta N, et al: **HIV envelope induces a cascade of cell signals in non-proliferating target cells that favor virus replication**. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002, **99**:9380-9385.
30. Eckert DM, Kim PS: **Mechanisms of viral membrane fusion and its inhibition**. *Annu Rev Biochem* 2001, **70**:777-810.
31. Platt EJ, Durnin JP, Kabat D: **Kinetic factors control efficiencies of cell entry, efficacies of entry inhibitors, and mechanisms of adaptation of human immunodeficiency virus**. *J Virol* 2005, **79**:4347-4356.
32. Bushman F, Lewinski M, Ciuffi A, Barr S, Leipzig J, Hannenhalli S, Hoffmann C: **Genome-wide analysis of retroviral DNA integration**. *Nat Rev Microbiol* 2005, **3**:848-858.
33. Mitchell RS, Beitzel BF, Schroder AR, Shinn P, Chen H, Berry CC, Ecker JR, Bushman FD: **Retroviral DNA integration: ASLV, HIV, and MLV show distinct target site preferences**. *PLoS Biol* 2004, **2**:E234.
34. Rossi JJ, June CH, Kohn DB: **Genetic therapies against HIV**. *Nat Biotechnol* 2007, **25**:1444-1454.
35. Baggaley RF, White RG, Boily MC: **HIV transmission risk through anal intercourse: systematic review, meta-analysis and implications for HIV prevention**. *Int J Epidemiol* 2010, **39**:1048-1063.
36. Levy JA: **The transmission of HIV and factors influencing progression to AIDS**. *Am J Med* 1993, **95**:86-100.
37. ETS DdSy: **Boletín sobre el VIH-sida en la Argentina**. (Ministerio de Salud PdIN ed., vol. 27; 2010.
38. CDC: **CDC Management of possible sexual, injection drugs use or ever non occupational exposure to HIV**. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1998, **43**:1-14.
39. **Ley Nacional de SIDA Nro 23.798**.
40. Brahmabhatt H, Kigozi G, Wabwire-Mangen F, Serwadda D, Sewankambo N, Lutalo T, Wawer MJ, Abramowsky C, Sullivan D, Gray R: **The effects of placental malaria on mother-to-child HIV transmission in Rakai, Uganda**. *Aids* 2003, **17**:2539-2541.
41. Connor EM, Sperling RS, Gelber R, Kiselev P, Scott G, O'Sullivan MJ, VanDyke R, Bey M, Shearer W, Jacobson RL, et al.: **Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 076 Study Group**. *N Engl J Med* 1994, **331**:1173-1180.
42. Mahy M, Stover J, Kiragu K, Hayashi C, Akwara P, Luo C, Stanek K, Ekpini R, Shaffer N: **What will it take to achieve virtual elimination of mother-to-child transmission of HIV? An assessment of current progress and future needs**. *Sex Transm Infect* 2010, **86 Suppl 2**:ii48-55.
43. Programa Nacional de Lucha contra los Retrovirus del Humano y SIDA MdSyAS: **Boletín sobre el Sida en la República Argentina**. 1997.
44. Hel Z, McGhee JR, Mestecky J: **HIV infection: first battle decides the war**. *Trends Immunol* 2006, **27**:274-281.
45. Cohen MS, Gay CL, Busch MP, Hecht FM: **The detection of acute HIV infection**. *J Infect Dis* 2010, **202 Suppl 2**:S270-277.
46. Benetucci J: *Sida y Enfermedades Asociadas. Diagnóstico, clínica y tratamiento*. 2da edición. edn: Fundación de Ayuda al Inmunodeficiente (FUNDAI). 2001.
47. van Grevenynghe J, Halwani R, Chomont N, Ancuta P, Peretz Y, Tanel A, Procopio FA, Shi Y, Said EA, Haddad EK, Sekaly RP: **Lymph node architecture collapse and consequent modulation of FOXO3a pathway on memory T- and B-cells during HIV infection**. *Semin Immunol* 2008, **20**:196-203.

48. Phillips AN, Elford J, Sabin C, Bofill M, Janossy G, Lee CA: **Immunodeficiency and the risk of death in HIV infection.** *Jama* 1992, **268**:2662-2666.
49. Young LS: **Infection in the compromised host.** *Hosp Pract (Off Ed)* 1981, **16**:73-84.
50. Simon V, Ho DD, Abdool Karim Q: **HIV/AIDS epidemiology, pathogenesis, prevention, and treatment.** *Lancet* 2006, **368**:489-504.
51. UNAIDS: **UNAIDS REPORT ON THE GLOBAL AIDS EPIDEMIC 2010.** 2010.
52. UNAIDS: **AIDS Epidemic update 2007.** 2007:1-54.
53. Estevez ME, Bruno S, Sen L, Scaglione C, Diez RA, Musso AM: **[Acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) with Kaposi's sarcoma in homosexuals in Argentina].** *Medicina (B Aires)* 1983, **43**:477.
54. UNAIDS: **Expanding the global response to HIV/AIDS through focused action. Reducing risk and vulnerability: definitions, rationale and pathways.** 1998.
55. Pando MA, Bautista CT, Maulen S, Duranti R, Marone R, Rey J, Vignoles M, Eirin ME, Biglione MM, Griemberg G, et al: **Epidemiology of human immunodeficiency virus, viral hepatitis (B and C), treponema pallidum, and human T-cell lymphotropic I/II virus among men who have sex with men in Buenos Aires, Argentina.** *Sex Transm Dis* 2006, **33**:307-313.
56. Pando MA, Gomez-Carrillo M, Vignoles M, Rubio AE, dos Ramos Farias MS, Vila M, Rossi D, Ralon G, Marone R, Reynaga E, et al: **Incidence of HIV type 1 infection, antiretroviral drug resistance, and molecular characterization in newly diagnosed individuals in Argentina: A Global Fund Project.** *AIDS Res Hum Retroviruses* 2011, **27**:17-23.
57. Pando MA, Berini C, Bibini M, Fernandez M, Reinaga E, Maulen S, Marone R, Biglione M, Montano SM, Bautista CT, et al: **Prevalence of HIV and other sexually transmitted infections among female commercial sex workers in Argentina.** *Am J Trop Med Hyg* 2006, **74**:233-238.
58. Weissenbacher M, Rossi D, Radulich G, Sosa-Estani S, Vila M, Vivas E, Avila MM, Cuchi P, Rey J, Peralta LM: **High seroprevalence of bloodborne viruses among street-recruited injection drug users from Buenos Aires, Argentina.** *Clin Infect Dis* 2003, **37 Suppl 5**:S348-352.
59. Rossi D, Radulich G, Muzzio E, Naveira J, Sosa-Estani S, Rey J, Griemberg G, Friedman SR, Martinez-Peralta L, Weissenbacher M: **Multiple infections and associated risk factors among non-injecting cocaine users in Argentina.** *Cad Saude Publica* 2008, **24**:965-974.
60. Pando MA, De Salvo C, Bautista CT, Eyzaguirre L, Carrion G, Feola M, Lado I, Hoffman M, Biglione MM, Carr JK, et al: **Human immunodeficiency virus and tuberculosis in Argentina: prevalence, genotypes and risk factors.** *J Med Microbiol* 2008, **57**:190-197.
61. Weissenbacher M, Casco R, Reboredo G, Benetucci J, Bermejo A, Losso M, Cahn P, Rodríguez E, Casiro A, Sosa Estani S, Martínez Peralta L: **Prevalence of HIV and STI in five hospitals from Buenos Aires, Argentina.** . In *8th World STI/AIDS Congress Punta del Este, Uruguay.*; 2003
62. UNAIDS: **Sex work and HIV/Aids.** pp. 1-20; 2002:1-20.
63. UNAIDS: **AIDS Epidemic update 2003.** 2003:1-48.
64. UNAIDS: **UNAIDS Guidance Note on HIV and Sex Work.** pp. 1-32; 2009:1-32.
65. Barreda V, I. V: *Prevención de VIH y travestismo: un escenario de categorías en crisis.* Lima, Perú.; 2006.
66. Toibaro JJ, Ebsenrtejin JE, Parlante A, Burgoa P, Freyre A, Romero M, Losso MH: **[Sexually transmitted infections among transgender individuals and other sexual identities].** *Medicina (B Aires)* 2009, **69**:327-330.
67. Kijak GH, McCutchan FE: **HIV diversity, molecular epidemiology, and the role of recombination.** *Curr Infect Dis Rep* 2005, **7**:480-488.
68. Zhuang J, Jetzt AE, Sun G, Yu H, Klarmann G, Ron Y, Preston BD, Dougherty JP: **Human immunodeficiency virus type 1 recombination: rate, fidelity, and putative hot spots.** *J Virol* 2002, **76**:11273-11282.
69. Smith DM, Richman DD, Little SJ: **HIV superinfection.** *J Infect Dis* 2005, **192**:438-444.
70. Blackard JT, Cohen DE, Mayer KH: **Human immunodeficiency virus superinfection and recombination: current state of knowledge and potential clinical consequences.** *Clin Infect Dis* 2002, **34**:1108-1114.
71. Bennett D: **HIV [corrected] genetic diversity surveillance in the United States.** *J Infect Dis* 2005, **192**:4-9.
72. Hu DJ, Dondero TJ, Rayfield MA, George JR, Schochetman G, Jaffe HW, Luo CC, Kalish ML, Weniger BG, Pau CP, et al: **The emerging genetic diversity of HIV. The importance of global surveillance for diagnostics, research, and prevention.** *Jama* 1996, **275**:210-216.
73. Tatt ID, Barlow KL, Nicoll A, Clewley JP: **The public health significance of HIV-1 subtypes.** *Aids* 2001, **15 Suppl 5**:S59-71.

74. Gomez Carrillo M, Piccardo C, Libonatti O: **[Molecular analysis of the principal neutralization epitope (V3 loop) of human immunodeficiency virus type 1 in Argentina]**. *Rev Argent Microbiol* 1992, **24**:91-101.
75. Campodonico M, Janssens W, Heyndrickx L, Fransen K, Leonaers A, Fay FF, Taborda M, Van der Groen G, Fay OH: **HIV type 1 subtypes in Argentina and genetic heterogeneity of the V3 region**. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1996, **12**:79-81.
76. Fernandez-Medina D, Jansson M, Rabinovich RD, Libonatti O, Wigzell H: **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* 1999, **31**:235-242.
77. Masciotra S, Livellara B, Belloso W, Clara L, Tanuri A, Ramos AC, Baggs J, Lal R, Pieniazek D: **Evidence of a high frequency of HIV-1 subtype F infections in a heterosexual population in Buenos Aires, Argentina**. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2000, **16**:1007-1014.
78. Thomson MM, Villahermosa ML, Vazquez-de-Parga E, Cuevas MT, Delgado E, Manjon N, Medrano L, Perez-Alvarez L, Contreras G, Carrillo MG, et al: **Widespread circulation of a B/F intersubtype recombinant form among HIV-1-infected individuals in Buenos Aires, Argentina**. *Aids* 2000, **14**:897-899.
79. Carr JK, Avila M, Gomez Carrillo M, Salomon H, Hierholzer J, Watanaveeradej V, Pando MA, Negrete M, Russell KL, Sanchez J, et al: **Diverse BF recombinants have spread widely since the introduction of HIV-1 into South America**. *Aids* 2001, **15**:F41-47.
80. Gomez Carrillo M, Avila M, Hierholzer J, Pando M, Martinez PL, McCutchan FE, Carr JK: **Mother-to-child HIV type 1 transmission in Argentina: BF recombinants have predominated in infected children since the mid-1980s**. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2002, **18**:477-483.
81. Gomez-Carrillo M, Quarleri JF, Rubio AE, Carobene MG, Dileria D, Carr JK, Salomon H: **Drug resistance testing provides evidence of the globalization of HIV type 1: a new circulating recombinant form**. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2004, **20**:885-888.
82. Segura M, Sosa Estani S, Marone R, Bautista CT, Pando MA, Eyzaguirre L, Sanchez JL, Carr JK, Montano SM, Weissenbacher M, Avila MM: **Buenos Aires cohort of men who have sex with men: prevalence, incidence, risk factors, and molecular genotyping of HIV type 1**. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2007, **23**:1322-1329.
83. Dileria DA, Gomez AM, Lourtau L, Marone R, Losso MH, Salomon H, Gomez-Carrillo M: **HIV type 1 genetic diversity surveillance among newly diagnosed individuals from 2003 to 2005 in Buenos Aires, Argentina**. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2007, **23**:1201-1207.
84. Cohen MS: **HIV and sexually transmitted diseases: lethal synergy**. *Top HIV Med* 2004, **12**:104-107.
85. Fleming DT, Wasserheit JN: **From epidemiological synergy to public health policy and practice: the contribution of other sexually transmitted diseases to sexual transmission of HIV infection**. *Sex Transm Infect* 1999, **75**:3-17.
86. Wasserheit JN: **Epidemiological synergy. Interrelationships between human immunodeficiency virus infection and other sexually transmitted diseases**. *Sex Transm Dis* 1992, **19**:61-77.
87. de los Angeles Pando M, Biglione MM, Toscano MF, Rey JA, Russell KL, Negrete M, Gianni S, Martinez-Peralta L, Salomon H, Sosa-Estani S, et al: **Human immunodeficiency virus type 1 and other viral co-infections among young heterosexual men and women in Argentina**. *Am J Trop Med Hyg* 2004, **71**:153-159.
88. Blumberg BS, Alter HJ, Visnich S: **A "New" Antigen in Leukemia Sera**. *Jama* 1965, **191**:541-546.
89. Dane DS, Cameron CH, Briggs M: **Virus-like particles in serum of patients with Australia-antigen-associated hepatitis**. *Lancet* 1970, **1**:695-698.
90. Liang TJ: **Hepatitis B: the virus and disease**. *Hepatology* 2009, **49**:S13-21.
91. Lee WM: **Hepatitis B virus infection**. *N Engl J Med* 1997, **337**:1733-1745.
92. de la Fuente RA, Gutierrez ML, Garcia-Samaniego J, Fernandez-Rodriguez C, Lledo JL, Castellano G: **Pathogenesis of occult chronic hepatitis B virus infection**. *World J Gastroenterol* 2011, **17**:1543-1548.
93. Romero M, Madejon A, Fernandez-Rodriguez C, Garcia-Samaniego J: **Clinical significance of occult hepatitis B virus infection**. *World J Gastroenterol* 2011, **17**:1549-1552.
94. Said ZN: **An overview of occult hepatitis B virus infection**. *World J Gastroenterol* 2011, **17**:1927-1938.
95. Lavanchy D: **Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging prevention and control measures**. *J Viral Hepat* 2004, **11**:97-107.
96. Olinger CM, Jutavijittum P, Hubschen JM, Yousukh A, Samounry B, Thammavong T, Toriyama K, Muller CP: **Possible new hepatitis B virus genotype, southeast Asia**. *Emerg Infect Dis* 2008, **14**:1777-1780.

97. Osiowy C, Kaita K, Solar K, Mendoza K: **Molecular characterization of hepatitis B virus and a 9-year clinical profile in a patient infected with genotype I.** *J Med Virol* 2010, **82**:942-948.
98. Tatematsu K, Tanaka Y, Kurbanov F, Sugauchi F, Mano S, Maeshiro T, Nakayoshi T, Wakuta M, Miyakawa Y, Mizokami M: **A genetic variant of hepatitis B virus divergent from known human and ape genotypes isolated from a Japanese patient and provisionally assigned to new genotype J.** *J Virol* 2009, **83**:10538-10547.
99. Pujol FH, Navas MC, Hainaut P, Chemin I: **Worldwide genetic diversity of HBV genotypes and risk of hepatocellular carcinoma.** *Cancer Lett* 2009, **286**:80-88.
100. Pezzano SC, Torres C, Fainboim HA, Bouzas MB, Schroder T, Giuliano SF, Paz S, Alvarez E, Campos RH, Mbayed VA: **Hepatitis B virus in Buenos Aires, Argentina: genotypes, virological characteristics and clinical outcomes.** *Clin Microbiol Infect* 2011, **17**:223-231.
101. Hadler SC, Judson FN, O'Malley PM, Altman NL, Penley K, Buchbinder S, Schable CA, Coleman PJ, Ostrow DN, Francis DP: **Outcome of hepatitis B virus infection in homosexual men and its relation to prior human immunodeficiency virus infection.** *J Infect Dis* 1991, **163**:454-459.
102. Koziel MJ, Peters MG: **Viral hepatitis in HIV infection.** *N Engl J Med* 2007, **356**:1445-1454.
103. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M: **Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome.** *Science* 1989, **244**:359-362.
104. Zignego AL, Ferri C, Monti M, LaCivita L, Giannini C, Careccia G, Giannelli F, Pasero G, Bombardieri S, Gentilini P: **Hepatitis C virus as a lymphotropic agent: evidence and pathogenetic implications.** *Clin Exp Rheumatol* 1995, **13 Suppl 13**:S33-37.
105. Lauer GM, Walker BD: **Hepatitis C virus infection.** *N Engl J Med* 2001, **345**:41-52.
106. Mendez-Sanchez N, Gutierrez-Grobe Y, Kobashi-Margain RA: **Epidemiology of HCV infection in Latin America.** *Ann Hepatol* 2010, **9 Suppl**:27-29.
107. van de Laar T, Pybus O, Bruisten S, Brown D, Nelson M, Bhagani S, Vogel M, Baumgarten A, Chaix ML, Fisher M, et al: **Evidence of a large, international network of HCV transmission in HIV-positive men who have sex with men.** *Gastroenterology* 2009, **136**:1609-1617.
108. Vogel M, Bieniek B, Jessen H, Schewe CK, Hoffmann C, Baumgarten A, Kroidl A, Bogner JR, Spengler U, Rockstroh JK: **Treatment of acute hepatitis C infection in HIV-infected patients: a retrospective analysis of eleven cases.** *J Viral Hepat* 2005, **12**:207-211.
109. Arshad M, El-Kamary SS, Jhaveri R: **Hepatitis C virus infection during pregnancy and the newborn period--are they opportunities for treatment?** *J Viral Hepat* 2011, **18**:229-236.
110. Baldo V, Baldovin T, Trivello R, Floreani A: **Epidemiology of HCV infection.** *Curr Pharm Des* 2008, **14**:1646-1654.
111. Laboratorios CNRd; 2007.
112. Memon MI, Memon MA: **Hepatitis C: an epidemiological review.** *J Viral Hepat* 2002, **9**:84-100.
113. Kuiken C, Simmonds P: **Nomenclature and numbering of the hepatitis C virus.** *Methods Mol Biol* 2009, **510**:33-53.
114. Simmonds P, Bukh J, Combet C, Deleage G, Enomoto N, Feinstone S, Halfon P, Inchauspe G, Kuiken C, Maertens G, et al: **Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes.** *Hepatology* 2005, **42**:962-973.
115. Bostan N, Mahmood T: **An overview about hepatitis C: a devastating virus.** *Crit Rev Microbiol* 2010, **36**:91-133.
116. Quarleri JF, Robertson BH, Mathet VL, Feld M, Espinola L, Requeijo MP, Mando O, Carballal G, Oubina JR: **Genomic and phylogenetic analysis of hepatitis C virus isolates from argentine patients: a six-year retrospective study.** *J Clin Microbiol* 2000, **38**:4560-4568.
117. Sulkowski MS: **Viral hepatitis and HIV coinfection.** *J Hepatol* 2008, **48**:353-367.
118. Uchiyama T, Yodoi J, Sagawa K, Takatsuki K, Uchino H: **Adult T-cell leukemia: clinical and hematologic features of 16 cases.** *Blood* 1977, **50**:481-492.
119. Poesz BJ, Ruscetti FW, Gazdar AF, Bunn PA, Minna JD, Gallo RC: **Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 1980, **77**:7415-7419.
120. Kalyanaraman VS, Sarngadharan MG, Robert-Guroff M, Miyoshi I, Golde D, Gallo RC: **A new subtype of human T-cell leukemia virus (HTLV-II) associated with a T-cell variant of hairy cell leukemia.** *Science* 1982, **218**:571-573.
121. Coffin JM, Essex M, Gallo R, Graf TM, Hinuma Y, Hunter E, Jaenisch R, Nusse R, Oroszlan S, Svoboda J, et al: **Family Retroviridae.** *In Virus Taxonomy Sixth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses* 1995, :193-204.

122. Blattner WA, Saxinger C, Riedel D, Hull B, Taylor G, Cleghorn F, Gallo R, Blumberg B, Bartholomew C: **A study of HTLV-I and its associated risk factors in Trinidad and Tobago.** *J Acquir Immune Defic Syndr* 1990, **3**:1102-1108.
123. Gessain A, Barin F, Vernant JC, Gout O, Maurs L, Calender A, de The G: **Antibodies to human T-lymphotropic virus type-I in patients with tropical spastic paraparesis.** *Lancet* 1985, **2**:407-410.
124. Yamaguchi K, Kumagai T, Asou N, Lee SY, Kiyokawa T, Yoshioka R, Takatsuki K: **[Smoldering adult T-cell leukemia--HTLV-I has also an etiologic role in the diseases other than ATL].** *Rinsho Ketsueki* 1986, **27**:670-676.
125. Weber T, Hunsmann G, Stevens W, Fleming AF: **Human retroviruses.** *Baillieres Clin Haematol* 1992, **5**:273-314.
126. Levine PH, Blattner WA: **The epidemiology of diseases associated with HTLV-I and HTLV-II.** *Infect Dis Clin North Am* 1987, **1**:501-510.
127. Lal RB, Gongora-Biachi RA, Pardi D, Switzer WM, Goldman I, Lal AF: **Evidence for mother-to-child transmission of human T lymphotropic virus type II.** *J Infect Dis* 1993, **168**:586-591.
128. Hino S, Yamaguchi K, Katamine S, Sugiyama H, Amagasaki T, Kinoshita K, Yoshida Y, Doi H, Tsuji Y, Miyamoto T: **Mother-to-child transmission of human T-cell leukemia virus type-I.** *Jpn J Cancer Res* 1985, **76**:474-480.
129. Hjelle B, Scalf R, Swenson S: **High frequency of human T-cell leukemia-lymphoma virus type II infection in New Mexico blood donors: determination by sequence-specific oligonucleotide hybridization.** *Blood* 1990, **76**:450-454.
130. Mueller N, Tachibana N, Stuver SO, Okayama A, Ishizaki J, Shishime E, Murai K, Shioiri S, Tsuda K: **Epidemiological Perspectives of HTLV-1.** *Human Retrovirology: HTLV* 1990:281-293.
131. Cartier L, Araya F, Castillo JL, Zaninovic V, Hayami M, Miura T, Imai J, Sonoda S, Shiraki H, Miyamoto K, et al.: **Southernmost carriers of HTLV-I/II in the world.** *Jpn J Cancer Res* 1993, **84**:1-3.
132. Gabbai AA, Bordin JO, Vieira-Filho JP, Kuroda A, Oliveira AS, Cruz MV, Ribeiro AA, Delaney SR, Henrard DR, Rosario J, et al.: **Selectivity of human T lymphotropic virus type-1 (HTLV-1) and HTLV-2 infection among different populations in Brazil.** *Am J Trop Med Hyg* 1993, **49**:664-671.
133. Reeves WC, Levine PH, Cuevas M, Quiroz E, Maloney E, Saxinger WC: **Seroepidemiology of human T cell lymphotropic virus in the Republic of Panama.** *Am J Trop Med Hyg* 1990, **42**:374-379.
134. Zaninovic V, Sanzon F, Lopez F, Velandia G, Blank A, Blank M, Fujiyama C, Yashiki S, Matsumoto D, Katahira Y, et al.: **Geographic independence of HTLV-I and HTLV-II foci in the Andes highland, the Atlantic coast, and the Orinoco of Colombia.** *AIDS Res Hum Retroviruses* 1994, **10**:97-101.
135. Switzer WM, Pieniazek D, Swanson P, Samdal HH, Soriano V, Khabbaz RF, Kaplan JE, Lal RB, Heneine W: **Phylogenetic relationship and geographic distribution of multiple human T-cell lymphotropic virus type II subtypes.** *J Virol* 1995, **69**:621-632.
136. Biglione M, Gessain A, Quiruelas S, Fay O, Taborda MA, Fernandez E, Lupo S, Panzita A, de The G: **Endemic HTLV-II infection among Tobas and Matacos Amerindians from north Argentina.** *J Acquir Immune Defic Syndr* 1993, **6**:631-633.
137. Biglione M, Pizarro M, Crespo O, Severich I, Martinez Peralta L, Libonatti O, Mercedes Avila M, Astarloa L: **High prevalence of HTLV-I infection in Argentinian blood donors: a new HTLV-I-endemic area?** *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1999, **20**:101-102.
138. Proietti FA, Carneiro-Proietti AB, Catalan-Soares BC, Murphy EL: **Global epidemiology of HTLV-I infection and associated diseases.** *Oncogene* 2005, **24**:6058-6068.
139. Van Dooren S, Gotuzzo E, Salemi M, Watts D, Audenaert E, Duwe S, Ellerbrok H, Grassmann R, Hagelberg E, Desmyter J, Vandamme AM: **Evidence for a post-Columbian introduction of human T-cell lymphotropic virus [type I] [corrected] in Latin America.** *J Gen Virol* 1998, **79 (Pt 11)**:2695-2708.
140. Wolfe ND, Heneine W, Carr JK, Garcia AD, Shanmugam V, Tamoufe U, Torimiro JN, Prosser AT, Lebreton M, Mpoudi-Ngole E, et al: **Emergence of unique primate T-lymphotropic viruses among central African bushmeat hunters.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005, **102**:7994-7999.
141. Lewis M, Novoa P, Hall W: **Isolation, characterization and complete nucleotide sequence of a distinct Brazilian subtype of human t-cell lymphotropic virus type II.** In *VIII International Conference on Human Retrovirology: HTLV; Rio de Janeiro, Brasil.* 1997
142. Goubau P: **HTLV-II in Africa.** In *VIII International Conference on Human Retrovirology:HTLV; Rio de Janeiro, Brasil.* 1997

143. Brites C, Sampalo J, Oliveira A: **HIV/human T-cell lymphotropic virus coinfection revisited: impact on AIDS progression.** *AIDS Rev* 2009, **11**:8-16.
144. Farhi D, Dupin N: **Origins of syphilis and management in the immunocompetent patient: facts and controversies.** *Clin Dermatol* 2010, **28**:533-538.
145. Lee V, Kinghorn G: **Syphilis: an update.** *Clin Med* 2008, **8**:330-333.
146. Singh AE, Romanowski B: **Syphilis: review with emphasis on clinical, epidemiologic, and some biologic features.** *Clin Microbiol Rev* 1999, **12**:187-209.
147. Peterman TA, Furness BW: **The resurgence of syphilis among men who have sex with men.** *Curr Opin Infect Dis* 2007, **20**:54-59.
148. Strauss MJ, Shaw EW, et al.: **Crystalline virus-like particles from skin papillomas characterized by intranuclear inclusion bodies.** *Proc Soc Exp Biol Med* 1949, **72**:46-50.
149. zur Hausen H: **Papillomaviruses in the causation of human cancers - a brief historical account.** *Virology* 2009, **384**:260-265.
150. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H: **Classification of papillomaviruses.** *Virology* 2004, **324**:17-27.
151. Conway MJ, Meyers C: **Replication and assembly of human papillomaviruses.** *J Dent Res* 2009, **88**:307-317.
152. Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, Snijders PJ, Meijer CJ: **Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer.** *N Engl J Med* 2003, **348**:518-527.
153. Czegledy J: **Sexual and non-sexual transmission of human papillomavirus.** *Acta Microbiol Immunol Hung* 2001, **48**:511-517.
154. Schiffman M, Castle PE: **Human papillomavirus: epidemiology and public health.** *Arch Pathol Lab Med* 2003, **127**:930-934.
155. Palefsky JM: **Human papillomavirus-related disease in men: not just a women's issue.** *J Adolesc Health* 2010, **46**:S12-19.
156. Palefsky J: **Biology of HPV in HIV infection.** *Adv Dent Res* 2006, **19**:99-105.
157. **HPV Screening** [<http://www.cdc.gov/hpv/Screening.html>]
158. Palefsky J: **Can HPV vaccination help to prevent anal cancer?** *Lancet Infect Dis* 2010, **10**:815-816.
159. **December 22, 2010 Approval Letter - Gardasil** [<http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/Vaccines/ApprovedProducts/ucm238074.htm>]
160. Cevenini R, Donati M, Sambri V: **Chlamydia trachomatis - the agent.** *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2002, **16**:761-773.
161. Imai H, Nakao H, Shinohara H, Fujii Y, Tsukino H, Hamasuna R, Osada Y, Fukushima K, Inamori M, Ikenoue T, Katoh T: **Population-based study of asymptomatic infection with Chlamydia trachomatis among female and male students.** *Int J STD AIDS* 2010, **21**:362-366.
162. Perine P: *Lymphogranuloma venereum* 3 edition edn. New York McGraw-Hill; 1999.
163. de Vries HJ, Smelov V, Middelburg JG, Pleijster J, Speksnijder AG, Morre SA: **Delayed microbial cure of lymphogranuloma venereum proctitis with doxycycline treatment.** *Clin Infect Dis* 2009, **48**:e53-56.
164. Gallo Vaulet L, Entrocassi C, Corominas AI, Rodriguez Fermepin M: **Distribution study of Chlamydia trachomatis genotypes in symptomatic patients in Buenos Aires, Argentina: association between genotype E and neonatal conjunctivitis.** *BMC Res Notes* 2010, **3**:34.
165. Workowski KA, Berman SM: **Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2006.** *MMWR Recomm Rep* 2006, **55**:1-94.
166. Bachmann LH, Johnson RE, Cheng H, Markowitz L, Papp JR, Palella FJ, Jr., Hook EW, 3rd: **Nucleic acid amplification tests for diagnosis of Neisseria gonorrhoeae and Chlamydia trachomatis rectal infections.** *J Clin Microbiol* 2010, **48**:1827-1832.
167. Kent CK, Chaw JK, Wong W, Liska S, Gibson S, Hubbard G, Klausner JD: **Prevalence of rectal, urethral, and pharyngeal chlamydia and gonorrhea detected in 2 clinical settings among men who have sex with men: San Francisco, California, 2003.** *Clin Infect Dis* 2005, **41**:67-74.
168. Lan J, Walboomers JM, Roosendaal R, van Doornum GJ, MacLaren DM, Meijer CJ, van den Brule AJ: **Direct detection and genotyping of Chlamydia trachomatis in cervical scrapes by using polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism analysis.** *J Clin Microbiol* 1993, **31**:1060-1065.
169. Sayada C, Denamur E, Orfila J, Catalan F, Elion J: **Rapid genotyping of the Chlamydia trachomatis major outer membrane protein by the polymerase chain reaction.** *FEMS Microbiol Lett* 1991, **67**:73-78.
170. Heneine W, Khabbaz RF, Lal RB, Kaplan JE: **Sensitive and specific polymerase chain reaction assays for diagnosis of human T-cell lymphotropic virus type I (HTLV-I) and**

- HTLV-II infections in HTLV-I/II-seropositive individuals.** *J Clin Microbiol* 1992, **30**:1605-1607.
171. Tuke PW, Luton P, Garson JA: **Differential diagnosis of HTLV-I and HTLV-II infections by restriction enzyme analysis of 'nested' PCR products.** *J Virol Methods* 1992, **40**:163-173.
172. Janssen RS, Satten GA, Stramer SL, Rawal BD, O'Brien TR, Weiblen BJ, Hecht FM, Jack N, Cleghorn FR, Kahn JO, et al: **New testing strategy to detect early HIV-1 infection for use in incidence estimates and for clinical and prevention purposes.** *Jama* 1998, **280**:42-48.
173. Vignoles M, Avila MM, Osimani ML, de Los Angeles Pando M, Rossi D, Sheppard H, Sosa-Estani S, Benetucci J, Maulen S, Chiparelli H, et al: **HIV seroincidence estimates among at-risk populations in Buenos Aires and Montevideo: use of the serologic testing algorithm for recent HIV seroconversion.** *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006, **42**:494-500.
174. van den Brule AJ, Pol R, Fransen-Daalmeijer N, Schouls LM, Meijer CJ, Snijders PJ: **GP5+/6+ PCR followed by reverse line blot analysis enables rapid and high-throughput identification of human papillomavirus genotypes.** *J Clin Microbiol* 2002, **40**:779-787.
175. Hall T: **BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT.** *Nucl Acids Symp Ser* 1999, **41**:95-98.
176. Meertens L, Rigoulet J, Mauclore P, Van Beveren M, Chen GM, Diop O, Dubreuil G, Georges-Goubot MC, Berthier JL, Lewis J, Gessain A: **Molecular and phylogenetic analyses of 16 novel simian T cell leukemia virus type 1 from Africa: close relationship of STLV-1 from *Allenopithecus nigroviridis* to HTLV-1 subtype B strains.** *Virology* 2001, **287**:275-285.
177. Mascarenhas AP, Musier-Forsyth K: **The capsid protein of human immunodeficiency virus: interactions of HIV-1 capsid with host protein factors.** *Febs J* 2009, **276**:6118-6127.
178. Mateu MG: **The capsid protein of human immunodeficiency virus: intersubunit interactions during virus assembly.** *Febs J* 2009, **276**:6098-6109.
179. Mirambeau G, Lyonnais S, Gorelick RJ: **Features, processing states, and heterologous protein interactions in the modulation of the retroviral nucleocapsid protein function.** *RNA Biol* 2010, **7**:724-734.
180. Muriaux D, Darlix JL: **Properties and functions of the nucleocapsid protein in virus assembly.** *RNA Biol* 2010, **7**:744-753.
181. Salgado GF, Marquant R, Vogel A, Alves ID, Feller SE, Morellet N, Bouaziz S: **Structural studies of HIV-1 Gag p6ct and its interaction with Vpr determined by solution nuclear magnetic resonance.** *Biochemistry* 2009, **48**:2355-2367.
182. Zhu H, Jian H, Zhao LJ: **Identification of the 15FRFG domain in HIV-1 Gag p6 essential for Vpr packaging into the virion.** *Retrovirology* 2004, **1**:26.
183. Huang L, Li Y, Chen C: **Flexible catalytic site conformations implicated in modulation of HIV-1 protease autoprocessing reactions.** *Retrovirology* 2011, **8**:79.
184. Morellet N, Roques BP, Bouaziz S: **Structure-function relationship of Vpr: biological implications.** *Curr HIV Res* 2009, **7**:184-210.
185. Pandey RC, Datta D, Mukerjee R, Srinivasan A, Mahalingam S, Sawaya BE: **HIV-1 Vpr: a closer look at the multifunctional protein from the structural perspective.** *Curr HIV Res* 2009, **7**:114-128.
186. Cahn P PH, Casiro A.: **Análisis de la demanda espontanea de un consultorio externo de SIDA en la Ciudad de Buenos Aires.** *Medicina (B Aires)* 1998, **48**:125-131.
187. Pando Mde L, Maulen S, Weissenbacher M, Marone R, Duranti R, Peralta LM, Salomon H, Russell K, Negrete M, Sosa Estani S, et al: **High human immunodeficiency virus type 1 seroprevalence in men who have sex with men in Buenos Aires, Argentina: risk factors for infection.** *Int J Epidemiol* 2003, **32**:735-740.
188. Russi JC, Serra M, Vinales J, Perez MT, Ruchansky D, Alonso G, Sanchez JL, Russell KL, Montano SM, Negrete M, Weissenbacher M: **Sexual transmission of hepatitis B virus, hepatitis C virus, and human immunodeficiency virus type 1 infections among male transvestite commercial sex workers in Montevideo, Uruguay.** *Am J Trop Med Hyg* 2003, **68**:716-720.
189. Palmero D, Ritacco V, Ruano S, Ambroggi M, Cusmano L, Romano M, Bucci Z, Waisman J: **Multidrug-resistant tuberculosis outbreak among transvestite sex workers, Buenos Aires, Argentina.** *Int J Tuberc Lung Dis* 2005, **9**:1168-1170.
190. Operario D, Soma T, Underhill K: **Sex work and HIV status among transgender women: systematic review and meta-analysis.** *J Acquir Immune Defic Syndr* 2008, **48**:97-103.
191. Vinales J, Serra M, Russi JC, Ruchansky D, Sosa-Estani S, Montano SM, Carrion G, Eyzaguirre LM, Carr JK, Olson JG, et al: **Seroincidence and phylogeny of human immunodeficiency virus infections in a cohort of commercial sex workers in Montevideo, Uruguay.** *Am J Trop Med Hyg* 2005, **72**:495-500.

192. Segura M, Bautista CT, Marone R, Sosa Estani S, Rey J, Montano SM, Griemberg G, Weissenbacher M, Avila MM: **HIV/STI co-infections, syphilis incidence, and hepatitis B vaccination: the Buenos Aires cohort of men who have sex with men.** *AIDS Care* 2010, **22**:1459-1465.
193. Infectología. CNd: **Consenso sobre vacunas: Vacunas contra hepatitis B y vacunas antipoliomielíticas. Estrategias para su implementación.** . *Arch Argent Pediatr* 2000, **98**:138-152.
194. Chin-Hong PV, Husnik M, Cranston RD, Colfax G, Buchbinder S, Da Costa M, Darragh T, Jones D, Judson F, Koblin B, et al: **Anal human papillomavirus infection is associated with HIV acquisition in men who have sex with men.** *Aids* 2009, **23**:1135-1142.
195. Kreuter A, Wieland U: **Human papillomavirus-associated diseases in HIV-infected men who have sex with men.** *Curr Opin Infect Dis* 2009, **22**:109-114.
196. de Pokomandy A, Rouleau D, Ghattas G, Vezina S, Cote P, Macleod J, Allaire G, Franco EL, Coutlee F: **Prevalence, clearance, and incidence of anal human papillomavirus infection in HIV-infected men: the HIPVIRG cohort study.** *J Infect Dis* 2009, **199**:965-973.
197. Palefsky JM, Holly EA, Efirdc JT, Da Costa M, Jay N, Berry JM, Darragh TM: **Anal intraepithelial neoplasia in the highly active antiretroviral therapy era among HIV-positive men who have sex with men.** *Aids* 2005, **19**:1407-1414.
198. Chin-Hong PV, Vittinghoff E, Cranston RD, Buchbinder S, Cohen D, Colfax G, Da Costa M, Darragh T, Hess E, Judson F, et al: **Age-Specific prevalence of anal human papillomavirus infection in HIV-negative sexually active men who have sex with men: the EXPLORE study.** *J Infect Dis* 2004, **190**:2070-2076.
199. Nielson CM, Flores R, Harris RB, Abrahamsen M, Papenfuss MR, Dunne EF, Markowitz LE, Giuliano AR: **Human papillomavirus prevalence and type distribution in male anogenital sites and semen.** *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007, **16**:1107-1114.
200. van der Snoek EM, Niesters HG, Mulder PG, van Doornum GJ, Osterhaus AD, van der Meijden WI: **Human papillomavirus infection in men who have sex with men participating in a Dutch gay-cohort study.** *Sex Transm Dis* 2003, **30**:639-644.
201. Nyitray A, Nielson CM, Harris RB, Flores R, Abrahamsen M, Dunne EF, Giuliano AR: **Prevalence of and risk factors for anal human papillomavirus infection in heterosexual men.** *J Infect Dis* 2008, **197**:1676-1684.
202. Fermepin MR, Entrocassi AC, Sauka DH, Vaulet ML, Corominas AI: **Chlamydia trachomatis serovars in Buenos Aires, Argentina: predominance of serovar E in ophthalmia neonatorum.** *Sex Transm Dis* 2007, **34**:1041.
203. Moncada J, Schachter J, Liska S, Shayevich C, Klausner JD: **Evaluation of self-collected glans and rectal swabs from men who have sex with men for detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae by use of nucleic acid amplification tests.** *J Clin Microbiol* 2009, **47**:1657-1662.
204. Joesoef MR, Gultom M, Irana ID, Lewis JS, Moran JS, Muhaimin T, Ryan CA: **High rates of sexually transmitted diseases among male transvestites in Jakarta, Indonesia.** *Int J STD AIDS* 2003, **14**:609-613.
205. Quarleri J, Moretti F, Bouzas MB, Laufer N, Carrillo MG, Giuliano SF, Perez H, Cahn P, Salomon H: **Hepatitis B virus genotype distribution and its lamivudine-resistant mutants in HIV-coinfected patients with chronic and occult hepatitis B.** *AIDS Res Hum Retroviruses* 2007, **23**:525-531.
206. Lavanchy D, Mayerat C, Morel B, Schneider P, Zufferey C, Gonvers JJ, Pecoud A, Frei PC: **Evaluation of third-generation assays for detection of anti-hepatitis C virus (HCV) antibodies and comparison with presence of HCV RNA in blood donors reactive to c100-3 antigen.** *J Clin Microbiol* 1994, **32**:2272-2275.
207. Bolcic F, Jones LR, Laufer N, Quarleri J: **Molecular characterization of hepatitis C virus genotype 4 sequences in HIV-coinfected patients from Argentina.** *J Med Virol* 2011, **83**:935-940.
208. Ferrer JF, Esteban E, Dube S, Basombrio MA, Segovia A, Peralta-Ramos M, Dube DK, Sayre K, Aguayo N, Hengst J, Poiesz BJ: **Endemic infection with human T cell leukemia/lymphoma virus type IIB in Argentinean and Paraguayan Indians: epidemiology and molecular characterization.** *J Infect Dis* 1996, **174**:944-953.
209. Quispe NC, Feria EB, Santos-Fortuna Ede L, Caterino-de-Araujo A: **Confirming the presence of HTLV-1 infection and the absence of HTLV-2 in blood donors from Arequipa, Peru.** *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2009, **51**:25-29.
210. Gastaldello R, Iniguez AM, Otsuki K, Lamas G, Balangero M, Barbas MG, Mangano A, Sen L, Maturano E, Remondegui C, et al: **HTLV type 1 genetic types among native descendants in Argentina.** *AIDS Res Hum Retroviruses* 2008, **24**:1139-1146.

211. Berini C EM, Dilernia D, Pando MA, Weissenbacher M, Biglione M. : **Predominance of HTLV-2 subtype b in urban populations of Argentina.** *Journal of Virology* 2011, **enviado**.
212. Vajdic CM, van Leeuwen MT, Jin F, Prestage G, Medley G, Hillman RJ, Stevens MP, Botes LP, Zablotska I, Tabrizi SN, Grulich AE: **Anal human papillomavirus genotype diversity and co-infection in a community-based sample of homosexual men.** *Sex Transm Infect* 2009, **85**:330-335.
213. Franco EL, Villa LL, Sobrinho JP, Prado JM, Rousseau MC, Desy M, Rohan TE: **Epidemiology of acquisition and clearance of cervical human papillomavirus infection in women from a high-risk area for cervical cancer.** *J Infect Dis* 1999, **180**:1415-1423.
214. Kjaer SK, Frederiksen K, Munk C, Iftner T: **Long-term absolute risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 or worse following human papillomavirus infection: role of persistence.** *J Natl Cancer Inst* 2010, **102**:1478-1488.
215. Trottier H, Ferreira S, Thomann P, Costa MC, Sobrinho JS, Prado JC, Rohan TE, Villa LL, Franco EL: **Human papillomavirus infection and reinfection in adult women: the role of sexual activity and natural immunity.** *Cancer Res* 2010, **70**:8569-8577.
216. Matos E, Loria D, Amestoy GM, Herrera L, Prince MA, Moreno J, Krunfly C, van den Brule AJ, Meijer CJ, Munoz N, Herrero R: **Prevalence of human papillomavirus infection among women in Concordia, Argentina: a population-based study.** *Sex Transm Dis* 2003, **30**:593-599.
217. Pando M MR, Balan I, Dolezal C, Squiquera L, Picconi A, Gonzales J, Rey J, Fernandez Toscano M, Rodriguez Fermepin M, Gallo Vaulet L, Carballo Dieguez A, Avila MM. : **HIV and STI prevalence among men who have sex with men (MSM) recruited through respondent driven sampling (RDS) in Buenos Aires, Argentina.** In *AIDS Vaccine 2009*. Paris, France: Retrovirology; 2009.
218. Pokomandy A, Rouleau D, Ghattas G, Vezina S, Cote P, Macleod J, Allaire G, Franco EL, Coutlee F: **Prevalence, clearance, and incidence of anal human papillomavirus infection in HIV-infected men: the HIVIRG cohort study.** *J Infect Dis* 2009, **199**:965-973.
219. Geisler WM, Morrison SG, Bachmann LH: **Absence of lymphogranuloma venereum strains among rectal Chlamydia trachomatis outer membrane protein A genotypes infecting women and men who have sex with men in Birmingham, Alabama.** *Sex Transm Dis* 2008, **35**:856-858.
220. Quint KD, Bom RJ, Quint WG, Bruisten SM, van der Loeff MF, Morre SA, de Vries HJ: **Anal infections with concomitant Chlamydia trachomatis genotypes among men who have sex with men in Amsterdam, the Netherlands.** *BMC Infect Dis* 2011, **11**:63.
221. Twin J, Moore EE, Garland SM, Stevens MP, Fairley CK, Donovan B, Rawlinson W, Tabrizi SN: **Chlamydia trachomatis genotypes among men who have sex with men in Australia.** *Sex Transm Dis* 2011, **38**:279-285.