Biomédica 2026;46:303-23
https://doi.org/10.7705/biomedica.7970

Artículo original

Diversidad genética y resistencia antirretroviral del virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1 en personal militar peruano a los 12 y a los 18 meses de seguimiento

Jonathan Guerrero[1], Dilan Suárez[2], Carlos Augusto Yabar[2,3]

[1] Laboratorio de Biomedicina y Microbiología, Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú
[2] Laboratorio de Virus de Transmisión Sexual, Unidad de Virología, Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú
[3] Facultad de Medicina Humana, Universidad de San Martín de Porres, Lima, Perú

Introducción. Se desconocen los factores que afectan la diversidad genética y las mutaciones de resistencia al tratamiento antirretroviral del virus de la inmunodeficiencia humana en personal militar.
Objetivo. Describir los factores que afectan la variabilidad genética y la resistencia a los antirretrovirales del virus de la inmunodeficiencia humana en población militar durante un año de seguimiento.
Materiales y métodos. Se incluyeron 52 militares peruanos infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana y con terapia antirretroviral. Luego, se comparó la diversidad genética, los subtipos genéticos, los eventos de recombinación y el perfil de resistencia que ocurrieron en los genes de la proteasa y la transcriptasa inversa durante 12 y 18 meses de seguimiento, considerando las características socio-epidemiológicas de los participantes.
Resultados. Se observó uso intermitente del preservativo (37 %), contacto con trabajadoras sexuales (17 %) y antecedentes de infecciones de transmisión sexual (56 %). La tasa de diversidad genética (π) se elevó de 0,30 a 0,45, mientras que los subtipos genéticos y formas recombinantes no cambiaron significativamente. De 11 muestras que evidenciaron cambios significativos de nucleótidos, 5 presentaron mutaciones de resistencia. Finalmente, el análisis bivariado demostró que a mayor edad de los sujetos, mayor asociación significativa con una diferencia del perfil de resistencia después de un intervalo de 12 meses o más.
Conclusión. Se demuestra que después de 12 y 18 meses de seguimiento, el virus de la inmunodeficiencia humana que infecta un grupo de personal militar peruano sufrió cambios de su diversidad genética y de perfil de resistencia, los cuales se asociaron con la edad de los participantes.

Palabras clave: VIH; conducta sexual; antirretrovirales; evolución molecular; variación genética; Perú

Genetic diversity and antiretroviral resistance of human immunodeficiency virus type 1 in Peruvian military personnel during one year of follow-up

Introduction. The factors affecting genetic diversity and antiretroviral therapy resistance mutations in human immunodeficiency virus (HIV) type 1 in military personnel are unknown.
Objective. To describe the factors affecting genetic variability and resistance to HIV antiretrovirals in the military population during one year of follow-up.
Materials and methods. Fifty-two Peruvian military personnel living with HIV and receiving antiretroviral therapy were recruited. Genetic diversity, genetic subtypes, recombination events, and resistance profile occurring in protease and reverse transcriptase genes were compared at 12 and 18 month follow-up, taking into account the socio-epidemiological characteristics of the participants.
Results. Intermittent condom use (37%), contact with sex workers (17%) and a history of sexually transmitted infections (56%) were observed. The genetic diversity index (π) increased from 0.30 to 0.45, while genetic subtypes and recombinant forms did not change significantly. Of eleven samples with significant nucleotide changes, five showed resistance mutations. Finally, bivariate analysis showed that increasing subject age was significantly associated with a difference in resistance profile after an interval of 12 months or more.
Conclusions. We show that, after at 12 and 18 month of follow-up, HIV-infecting a population of Peruvian military subjects underwent changes in its genetic diversity and resistance profile, which were associated with the chronological age of the participants.

Keywords: HIV; sexual behaviour; anti-retroviral agents; evolution, molecular; genetic variation; Perú

Recibido: 19/09/2024
Revisado: 17/07/2025
Aceptado: 29/09/2025
Publicado: 30/09/2025

Citación:
Guerrero J, Suárez D, Yabar CA. Diversidad genética y resistencia antirretroviral del virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1 en personal militar peruano a los 12 y a los 18 meses de seguimiento. Biomédica 2026;46:303-23. https://doi.org/10.7705/biomedica.7970

Correspondencia:
Carlos Augusto Yabar, Avenida Defensores del Morro 2268, Chorrillos, Lima, Perú
cyabarv@usmp.pe

Contribución de los autores:
Carlos Augusto Yabar: concepción del estudio Jonathan Guerrero, Dilan Suárez-Agüero y Carlos Augusto Yabar: recopilación y análisis de los datos, y redacción del manuscrito

Financiación:
El presente proyecto ha sido financiado con fondos del Instituto Nacional de Salud de Perú.

Conflicto de intereses:
Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

Uso de herramientas de inteligencia artificial:
No se usó inteligencia artificial en el artículo

HIV/sida es un problema de salud pública que afecta a más de 23 millones de personas en todo el mundo, cobrando la vida de cerca de 40,4 millones de personas (1). El surgimiento y desarrollo de la terapia antirretroviral ha permitido mejorar la calidad de vida de estos pacientes (2), reduciendo significativamente la tasa de mortalidad de la enfermedad (3), principalmente en los países con mayor prevalencia. Sin embargo, el incremento de la resistencia pretratamiento y la resistencia adquirida ha afectado significativamente la efectividad de la terapia antirretroviral, provocando el surgimiento de cepas resistentes de HIV (4).

En Perú, la infección por HIV/sida continúa siendo un importante problema de salud pública, con una prevalencia del 0,23 % en la población general, concentrada principalmente en la población de hombres que tienen sexo con otros hombres y de mujeres trabajadoras sexuales (5).

En el 2008, el Ministerio de Salud de Perú estableció la prueba de genotipificación de HIV para la vigilancia de la resistencia a nivel nacional (6). Gracias a esta prueba, no solo se ha logrado caracterizar la resistencia adquirida y transmitida del HIV en este país (7,8), sino también identificar los nuevos subtipos y formas recombinantes que circulan en los sujetos con comportamiento sexual de riesgo (9,10).

Con relación a este último punto, diferentes estudios han comparado los genotipos de HIV que circulan entre los grupos con conducta sexual de riesgo, demostrando que esta característica no solo afecta la diversidad genética del HIV (11-13) sino también el perfil de resistencia a la terapia antirretroviral (9,14-17). Esto, probablemente, se debe a que la conducta sexual de riesgo promueve la transmisión de variantes genéticas de manera diferencial, trayendo como consecuencia la generación de formas recombinantes circulantes (18). Estas formas tienen un gran impacto epidemiológico, porque son capaces de combinar las características de resistencia a la terapia antirretroviral proveniente de las especies de HIV-1 que le dieron origen, lo que genera la aparición de cepas resistentes (19,20).

Si bien algunos estudios sobre análisis filogenético y epidemiología molecular han revelado que existen grupos humanos con conducta de alto riesgo, tales como hombres homosexuales, mujeres transgénero, trabajadoras sexuales femeninas e incluso, usuarios de drogas intravenosas (16,17,21,22) que cumplen un rol importante en la transmisión del virus, existen muy pocos estudios realizados a partir de personal militar.

Esta población, en particular, se caracteriza por su asociación con factores psicosociales tales como trauma, abuso sexual y preponderancia por demostrar su masculinidad, lo que, en su conjunto, conduce también a prácticas sexuales de alto riesgo de infección por HIV (23-25). Estas características convierten a la población militar en reservorios epidemiológicos críticos capaces de facilitar la introducción y circulación de nuevas variantes genéticas y formas recombinantes del HIV, así como a contribuir a la diseminación de genotipos resistentes a la terapia antirretroviral.

En concordancia con los estudios socio-epidemiológicos, diferentes investigaciones a nivel molecular revelaron una alta frecuencia de contagios con HIV del subtipo B y diferentes formas recombinantes de HIV en sujetos militares destacados a diferentes países o que tuvieron contacto sexual con trabajadoras sexuales femeninas (26-30). Sin embargo, estos estudios corresponden a países cuyas características culturales y socio-epidemiológicas difieren de la realidad peruana.

Asimismo, nuestro equipo de investigación realizó un estudio piloto a partir de una población de 11 militares peruanos, con el fin de conocer su perfil de resistencia molecular del HIV y los subtipos circulantes, demostrando que los 11 pacientes estaban infectados con HIV del subtipo B, con la presencia de dos casos de resistencia a los inhibidores de proteasa y los inhibidores nucleósidos de la transcriptasa inversa (31). Si bien este estudio fue el primero en corroborar la variante genética y el patrón de resistencia que afectó a un grupo de militares peruanos, es probable que, después de casi 20 años, nuevas variantes genéticas y genotipos resistentes podrían estar siendo introducidas en el país.

Además, la evidencia molecular disponible en sujetos militares es escasa, ya que los estudios publicados sobre militares peruanos son limitados en tamaño y diseño (transversal) que, si bien brinda una mirada amplia de las características genéticas del virus, no nos permite hacer un seguimiento a lo largo del tiempo que ayude a determinar las nuevas variantes, las formas recombinantes o los genotipos resistentes que van apareciendo, en concordancia con la descripción de la actual conducta sexual de riesgo.

En ese sentido, el presente estudio plantea un análisis longitudinal a partir de un grupo de militares peruanos para determinar si, en un intervalo de tiempo de aproximadamente 1 año, el HIV sufre cambios genéticos significativos, y si estos cambios se ven afectados por la presencia de nuevos subtipos, formas recombinantes, eventos de cuellos de botella, perfil de resistencia o por las características socio-epidemiológicas de los sujetos de investigación.

Materiales y métodos

El estudio contempló la inclusión de 52 militares de sexo masculino, mayores de 18 años, provenientes del Hospital Militar Central (Lima, Perú), quienes firmaron un consentimiento informado para participar en el estudio.

El estudio y el documento de consentimiento informado fueron aprobados por el Comité Institucional de Ética en Investigación del Instituto Nacional de Salud del Perú, bajo el código OT-033-18. La primera toma de muestras de los participantes se hizo entre marzo del 2015 y noviembre del 2017, y la segunda, entre junio del 2016 y marzo del 2018.

El estudio siguió un diseño longitudinal con tomas de muestras a los 12 y a los 18 meses, considerando lo siguiente:

Criterios de inclusión

- Personal militar en actividad o en retiro, perteneciente a cualquiera de los tres institutos armados del Perú (Ejército, Marina o Fuerza Aérea),
- diagnóstico confirmado de infección por HIV-1,
- mayores de 18 años,
- participación voluntaria y firma del consentimiento informado,
- suficiente cantidad y calidad de plasma o sangre total y
- disponibilidad, al menos, de dos muestras seriadas con un intervalo aproximado de un año para permitir el análisis longitudinal.

Criterios de exclusión

- Sujetos con tratamientos antirretrovirales interrumpidos en los últimos seis meses antes de la segunda toma de muestra,
- participantes que no completen el seguimiento longitudinal o que no cuenten con una segunda muestra,
- sujetos con datos socio-epidemiológicos incompletos, esenciales para correlacionar las conductas de riesgo con los análisis moleculares y
- participantes que rechacen continuar en el estudio en cualquier momento.

Recolección de la muestra

Se tomó por triplicado un volumen de 6 ml de sangre venosa obtenido del antebrazo derecho o izquierdo mediante punción, utilizando una aguja hipodérmica insertada a un tubo de extracción de sangre al vacío con anticoagulante (EDTA). La sangre fue almacenada a temperatura ambiente en cajas de tecnopor que luego se trasladaron al Instituto Nacional de Salud de Perú para su registro y codificación en el área de recepción y obtención de la muestra.

Los tres tubos de sangre con 6 ml de cada paciente fueron empleados para diferentes procedimientos. El primer tubo se utilizó para determinar la carga viral; el segundo se procesó para el recuento de linfocitos CD4.

El tercer tubo de sangre se utilizó para los procedimientos moleculares, para lo cual la muestra fue separada en dos partes: la primera, de 1 ml, para el análisis de HIV proviral de sangre total, el cual fue colocado en un criovial debidamente rotulado y almacenado a -80 ºC. La segunda se utilizó para la separación del plasma y subsecuente análisis de HIV circulante en sangre. Para tal efecto, la sangre se centrifugó a 4000 RPM por 10 minutos a temperatura ambiente. El sobrenadante fue dividido en alícuotas de 1,5 ml en dos crioviales de 2 ml y se almacenó a -80 ºC hasta su posterior uso.

Extracción del material genético

Para la extracción del ARN o ADN proviral, se tomaron 200 µl de sangre periférica o plasma siguiendo las instrucciones recomendadas por el fabricante del kit comercial Thermo Scientific™ GeneJET. La muestra fue sometida a una solución de lisis para la liberación del material genético, seguida de lavados con etanol al 70 % y soluciones tampón de lavado.

El ácido nucleico fue removido de las columnas de purificación provistas por el kit mediante centrifugación utilizando un tampón con inhibidor de ARNasas como diluyente. Los crioviales con el material genético se almacenaron a -80 ºC para los análisis siguientes. Además, se incluyó como ADN de control de la PCR a la cepa de referencia HXB2, subtipo B.

Reacción en cadena de la polimerasa

Para la amplificación del gen *gag* se siguieron las especificaciones descritas anteriormente (30), que constan de dos rondas de amplificación. En la primera ronda, se preparó la mezcla de reacción que contenía concentraciones finales de los siguientes componentes: solución tampón de reacción de PCR II (10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, pH 8,3); 2,5 mM de $MgCl_2$; 0,8 mM de mezcla de trifosfatos de deoxinucleótidos (200 µM de dATP, dGTP, dCTP y dTTP); 0,2 pmoles de los cebadores H1G777 y H1P202; 0,25 U de

enzima Taq ADN polimerasa (Applied Biosystem™) y 100 ng de ADN molde. Las condiciones de los ciclos fueron: 35 ciclos de 94 °C por 30 s, 50 °C por 30 s y 72 °C por 2 minutos y 1 ciclo final de 72 °C por 7 minutos y, por último, una temperatura de almacenaje de 4 °C.

En la segunda ronda de PCR anidada (*nested* PCR), se mezclaron concentraciones finales de los siguientes reactivos: solución tampón de reacción de PCR (10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, pH 8,3); 2,5 mM de $MgCl_2$; 0,8 mM de mezcla de trifosfatos de deoxinucleótidos (200 µM de dATP, dGTP, dCTP y dTTP); 0,4 pmoles de los cebadores H1Gag1584 y g17; 0,25U de enzima Taq ADN polimerasa (Applied Biosystemµ) y 2 µl de reacción de la primera ronda.

Las condiciones de los ciclos fueron: tres ciclos iniciales de 94 °C por 1 minuto, 50 °C por 1 minuto y 72 °C por 1 minuto, seguido de 32 ciclos de 94 °C por 30 s, 45 °C por 30 s y 72 °C por 2 minutos. Se realizó una extensión final de 72 °C por 7 minutos y, finalmente, se programó una temperatura de almacenaje a 4 °C.

Para la amplificación del gen *pol (prt-tr)* se siguieron los procedimientos que reportamos anteriormente (10), los cuales consistieron en un ensayo de PCR y PCR anidada para la amplificación de un fragmento de 1700 pb (primera ronda) y de 1500 pb (segunda ronda).

En la primera ronda, se preparó una mezcla con concentraciones finales de los siguientes componentes: solución tampón de reacción 1X (10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, pH 8,3); 1,5 mM de $MgCl_2$; 0,8 mM de mezcla de dNTP (200 µM de dATP, dGTP, dCTP y dTTP); 0,5 pmol del cebador RT-21; 0,5 pmol del cebador 1243; 1 pmol del cebador MAW-26 y 1,25 U de enzima Taq polimerasa. Las condiciones de amplificación fueron las siguientes: 1 ciclo inicial de desnaturalización de 94 ºC por 2 minutos, 40 ciclos de 94 ºC por 15 s, 55 ºC por 20 s, 72 ºC por 2 minutos y un ciclo de extensión final de 72 ºC por 10 minutos.

En la segunda ronda de PCR, se utilizaron concentraciones finales de los siguientes reactivos: solución tampón de reacción 1X (10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, pH 8,3); 1,5 mM de $MgCl_2$; 0,8 mM de mezcla de dNTPs (200 µM de dATP, dGTP, dCTP y dTTP); 0,2 pmol del cebador PRO-1, 0,1 pmoles de RT-20 y 0,1 pmoles de 1205 y 1,25 U de enzima Taq polimerasa.

Las condiciones de amplificación fueron las siguientes: desnaturalización inicial de 94 ºC por 2 minutos, 35 ciclos de 94 °C por 15 s, 63 ºC por 20 s y 72 °C por 2 minutos, una extensión final de 72 ºC por 10 minutos y, finalmente, una temperatura de almacenaje de 4 ºC. Todos los productos de PCR fueron visualizados por electroforesis, siendo de 460 pb para el gen *gag* y de 1200 pb para *pol*.

Secuenciación de ADN

Se secuenciaron los genes *gag* y *pol* utilizando el analizador genético ABI 3500 XL y el kit BigDye Terminator™, versión 3.1, Cycle Sequencing. Para tal propósito, se añadieron 10 ng de ADN en una mezcla de 20 µl de reacción que contenía 4 µl de BigDye, 1X de la solución tampón de secuenciación BigDye y 0,25 pmol de cebadores.

Para la secuenciación de la región *gag*, se utilizaron los cebadores. H1Gag1584 y g17, y para *pol* (*prt-tr*), los cebadores. MAW-46, DSPR, PSR2, RT-a, RT-y, RT-b y HXB2-89.

La reacción de secuenciación se sometió a 96 °C por 1 minuto, 25 ciclos de 96 °C por 10 s, 50 °C por 5 s y 60 °C por 4 minutos. Luego, los productos se mezclaron con una solución de precipitación fría que contenía 3M de acetato de sodio de pH 5,4 y 78 % de etanol. La mezcla se incubó entre 20 °C y 25 °C por 20 minutos y luego se centrifugó a 2000*g* por 30 minutos. Después de un proceso de lavado con 70 % de alcohol, la mezcla se centrifugó a 2000*g* por 15 minutos y los productos se secaron entre 20 °C y 25 °C por 20 minutos. A continuación, los productos de secuenciación se desnaturalizaron con 15 µl de formamida pura y 95 °C por 2 minutos. Finalizada la desnaturalización, se colocó la placa en el analizador genético ABI 3500 XL.

Determinación de la carga viral y recuento de CD4-CD8

Para la determinación de la carga viral, se realizó una prueba de PCR en tiempo real usando el equipo COBAS Ampliprep™ y COBAS Taqman HIV-1™ (Roche) mientras que para el recuento de CD4-CD8-CD3 se llevó a cabo por citometría de flujo usando un equipo FACSCoun™ y FACSCanto II™ (Beckton Dickinson).

Análisis bioinformático

Se utilizó el programa SeqScape, versión 2.7, para el análisis y ensamblaje de las secuencias. Los consensos se exportaron en formato FASTA para su posterior alineamiento y construcción de los árboles filogenéticos en el programa MEGA, versión 10.1.

Para la selección del modelo de sustitución nucleotídica, se recurrió al *software* JmodelTest, versión 2.1.10, el cual mostró al modelo GTR+G como el más apropiado para el análisis de ambos genes.

Para la concatenación de los genes *gag-pol*, se recurrió al programa BioEdit, versión 7.2.5 (https://bioedit.software.informer.com/7.2/), el cual permitió determinar la diversidad genética entre el primer (T_1) y el segundo tiempo (T_2) (T_1 frente a T_2).

Para la determinación de los eventos de recombinación, se utilizaron las plataformas *website* COMET HIV-1, versión 2.2 (https://comet.lih.lu/index.php?cat=hiv1), REGA HIV-1, versión 3.0 (http://dbpartners.stanford.edu:8080/RegaSubtyping/stanford-hiv/typingtool/), jpHMM HIV-1 (http://jphmm.gobics.de/submission_hiv) y RIP, versión 3.0 (https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/RIP/RIP.html).

Para la determinación del perfil de resistencia, se recurrió al programa *HIV Drug Resistance* de Stanford University (https://hivdb.stanford.edu/). Las mutaciones asociadas a la resistencia fueron identificadas utilizando el algoritmo de interpretación del mencionado programa, con base en los listados de resistencia de la *International Antiviral Society* de Estados Unidos y de la Organización Mundial de la Salud (WHO *HIV Drug Resistance List*), los cuales constituyen los estándares internacionales para diferenciar las mutaciones de resistencia relevantes de los polimorfismos naturales.

Análisis estadístico

Se recurrió a la prueba de la tasa relativa de Tajima (32,33) para el análisis de la diversidad genética a nivel de nucleótido (π), el número de cambios no sinónimos y sinónimos (dN-dS), la tasa de transversiones y transiciones y el cálculo de la D de Tajima para la determinación del equilibrio neutral de evolución.

Se realizó la prueba exacta de Fisher mediante análisis bivariado para el cálculo de χ^2 y de p. Asimismo, se hizo el análisis de varianza (ANOVA) para determinar la frecuencia de la resistencia a los antirretrovirales en ambos intervalos de tiempo.

Resultados

Se incluyeron 52 participantes, de los cuales, el 80,8 % (42/52) tenía más de 40 años; 45 (86,5 %) declararon ser heterosexuales, 3 (5,8 %), bisexuales y 1 (1,9 %), homosexual. Asimismo, el 82,7 % (43/52) negó haber tenido contacto sexual con trabajadoras sexuales, el 67,3 % (35/52) afirmó usar siempre el preservativo y el 19,2 % (10/52) manifestó haber contraído alguna infección de transmisión sexual (cuadro 1).

Durante T_1, el 19,2 % (10/52) de los participantes tuvo viremia cuantificable, de los cuales 8 superaron el umbral de más de 200 copias/ml (criterio clínico de falla virológica); en contraste, en T_2 se evidenció una mejoría sustancial, ya que solo el 11,5 % (6/52) de los militares tenía carga viral detectable, de los cuales 3 tenían valores compatibles con falla virológica.

Cuadro 1. Características socio-epidemiológicas, inmunológicas y virológicas de los militares peruanos de Lima y Callao durante el período 2015-2018

Característica	n	%
Edad (años)		
< 30	3	5,8
30-39	7	13,5
40-50	16	30,8
>50	26	50,0
Tiempo desde el diagnóstico de HIV (años)		
0 a 10	23	44,2
11 a 20	18	34,6
> 20	3	5,8
Sin dato	8	15,4
Sexo		
Masculino	52	100,0
Femenino	0	0,0
Comportamiento sexual		
Heterosexual	45	86,5
Homosexual	1	1,9
Bisexual	3	5,8
Sin datos	3	5,8
Contacto sexual con trabajadoras sexuales		
Sí	8	15,4
No	43	82,7
Sin datos	1	1,9
Consumo de drogas recreativas		
Sí	1	1,9
No	50	96,2
Sin datos	1	1,9
Uso del preservativo		
Siempre	35	67,3
Algunas veces	7	**13,5**
Nunca	0	0,0
Sin datos	10	19,2
Presencia de otras infecciones de transmisión sexual		
Sí	10	19,2
No	29	55,8
Sin datos	13	25,0
Cambio de tratamiento antirretrovirales		
Sí	13	25,0
No	39	75,0
Recuento de CD4 (células/ul)		
T_1	532,29	NA
T_2	580,3	NA
Carga viral (copias/ml)		
T_1	3905,32	NA
T_2	5262,29	NA

NA: no aplica

Cuadro 2. Parámetros de diversidad genética de los marcadores *gag* y *pol* del HIV en ambos tiempos

Tiempo	Fragmento analizado	m	S	π	dN/dS	Transc/ Transv	D
Primer tiempo (T_1)	*gag-pol*	46	226	0,030833	0,252232	0,057391	-1,690728
Segundo tiempo (T_2)	*gag-pol*	46	201	0,045609	0,36612	0,083305	-1,650451

m: número de secuencias; S: número de sitios segregantes; dN/dS: tasa entre cambios no sinónimos (dN) y sinónimos (dS); Transc/Transv: tasa entre transiciones y transversiones, π: diversidad a nivel de nucleótidos; D: prueba de Tajima

Diversidad genética

De las muestras recolectadas (N = 52), se lograron amplificar y secuenciar 46 (88 %) muestras de HIV correspondiente a la región *gag-pol*. A partir de este grupo, se analizó la diversidad genética de la población de HIV entre T_1 y T_2 de la recolección de muestras, de la región concatenada *gag-pol,* utilizando la prueba D de Tajima (cuadro 2).

De acuerdo con los resultados, se identificó un incremento de la tasa de diversidad genética (π) de 0,30 a 0,45, en los índices de cambios no sinónimos y sinónimos (dN-dS) de 0,25 a 0,36 y en la tasa de transversiones y transiciones de 0,057 a 0,083. El valor de la D de Tajima para ambos tiempos fue negativo, y también se observó un incremento de -1,69 a -1,65 entre T_1 y T_2.

Por otro lado, se hizo el análisis filogenético para comparar los subtipos genéticos de HIV entre los dos tiempos establecidos. Según la distribución de los clados filogenéticos, las muestras de HIV entre T_1 y T_2 formaron conglomerados (*clusters*) monofiléticos o con estrecha relación filogenética, por lo que no se observó ningún evento de infección mixta de HIV en la población estudiada. Asimismo, el 99 % (51/52) de las muestras de HIV se identificaron como de subtipo B; sin embargo, se detectó que la muestra con el código PM62 mostraba relación filogenética con una cepa de referencia del subtipo A (figura 1).

Un siguiente análisis mediante el aplicativo REGA HIV *Subtyping tool* de Stanford University permitió la identificación de eventos de recombinación intergénico (*gag* y *pol*) e intragénico (*gag* o *pol*), y se hallaron formas recombinantes de tipo BD, BF y AG (cuadro 3). En general, se identificaron seis formas recombinantes en T_1 y cinco en T_2.

En T_2 se observó que tres formas recombinantes revirtieron al subtipo B puro, mientras que cuatro aparecieron *de novo* y dos cepas de HIV se mantuvieron en su forma recombinante original.

Mutaciones de resistencia

En T_1, se observó que L90M era la mutación más frecuente (4,3 %), asociada con la resistencia a múltiples inhibidores de proteasas, mientras que en T_2, las mutaciones principales fueron D30N (6,5 %) y, nuevamente, L90M (4,3 %).

Por otro lado, para los inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa inversa se destaca la mutación K103K/N (6,5 %) en T_1, que confiere resistencia de alto nivel a efavirenz y nevirapina; para T_2 se detectaron K103N y P225P/H (4,3 % cada una).

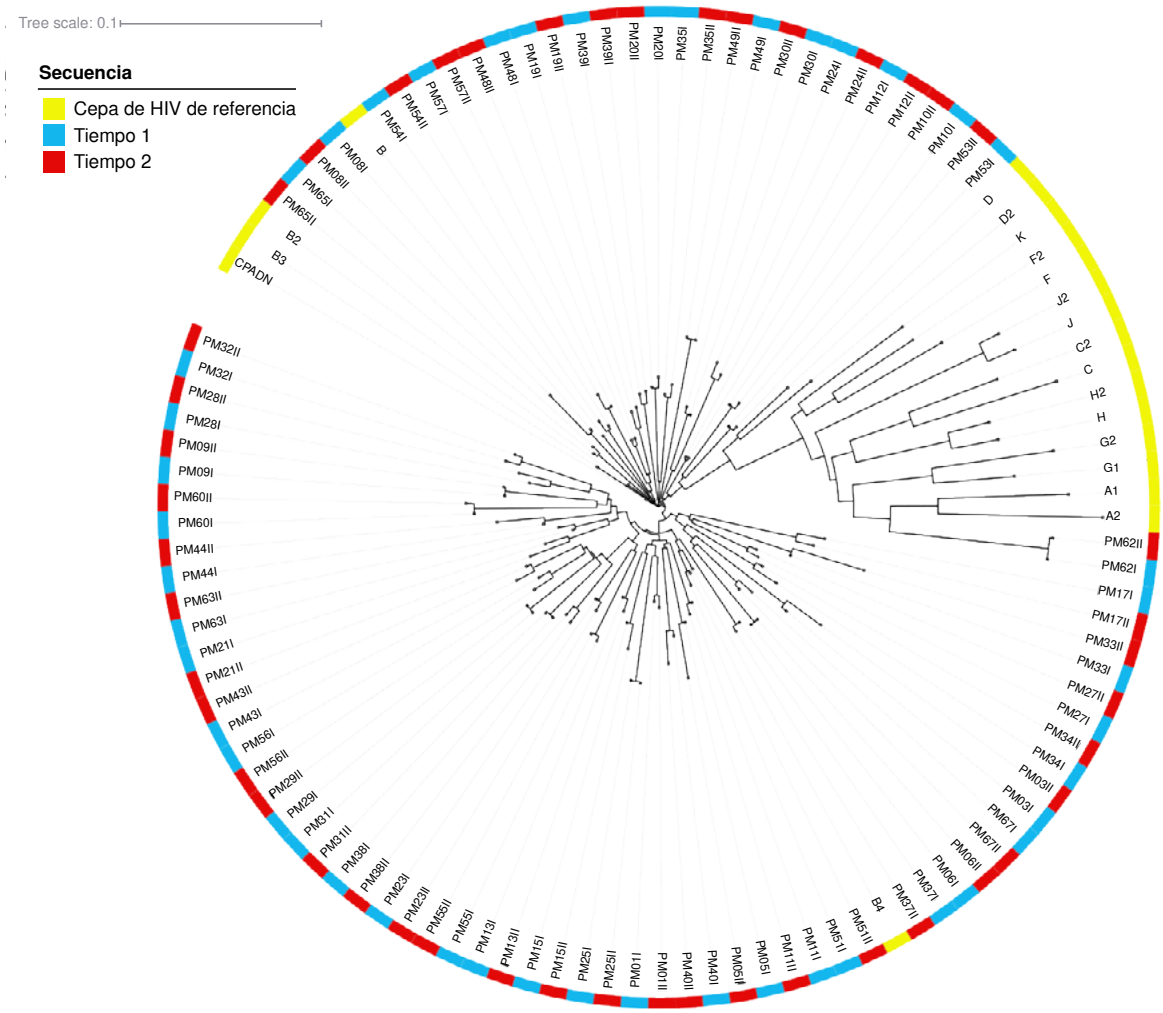


Figura 1. Árbol filogenético de los genes concatenados (Gag-Pol) del HIV-1

Cuadro 3. Casos de HIV que presentaron recombinación en el intervalo de tiempo inicial (T1) y final (T2)

Código	Subtipo según análisis filogenético	Evento de recombinación		Subtotal recombinaciones n (%)	
		T_1	T_2	T_1	T_2
PM008		B/F	B/F	1	1
PM010	B	-	B/D	0	1
PM013	B	-	B/F	0	1
PM019	B	B/F	-	1	0
PM023	B	B/F	-	1	0
PM024	B	-	B/D	0	1
PM043	B	-	B/D	0	1
PM049	B	B/F	-	1	0
PM062	A	Formas recombinantes circulantes 02_AG	Formas recombinantes circulantes 02_AG	1	1
Total, recombinaciones T_1: n (%)				5 (10,9)	-
Total, recombinaciones T_2: n (%)				-	6 (13,0)

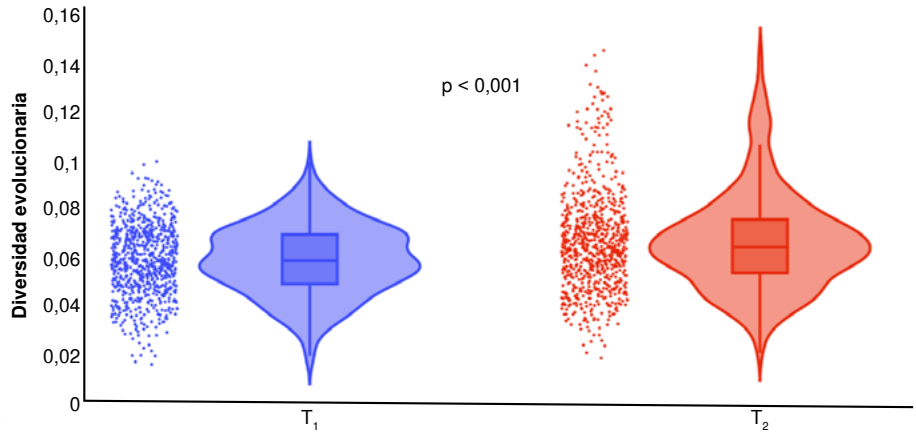


Figura 2. Gráfico en violín que muestra las estimaciones de la divergencia evolutiva sobre pares de secuencias dentro de grupos entre el tiempo 1 (T_1) y tiempo 2 (T_2). Los análisis evolutivos se realizaron utilizando MEGA (versión 6) y visualización mediante la herramienta de gráficos en línea de Plotly (https://chart-studio.plot.ly). Las estadísticas de comparación del grupo se calcularon mediante la prueba U de Mann-Whitney.

Finalmente, para los inhibidores nucleósidos de la transcriptasa inversa, en T_1 se identificaron las mutaciones L210L/W y M184V (8,7 % cada una), mientras que en T_2 se volvió a detectar M184V (8,7 %) y D67N (6,5 %).

Todas las mutaciones mencionadas como resistentes corresponden a variantes establecidas en las listas oficiales (IAS-USA, WHO, Stanford HIVdb) y no se consideran polimorfismos naturales del subtipo B, predominante en la población militar.

Análisis de divergencia evolutiva

Se determinó la divergencia evolutiva de las muestras entre los pares de secuencias de los grupos analizados entre T_1 y T_2. De acuerdo con los datos obtenidos de la prueba U de Mann-Whitney, la divergencia evolutiva de la población analizada entre ambos tiempos fue significativa ($p < 0,01$) (figura 2). Asimismo, se hizo la comparación de los cambios de nucleótidos de cada uno de los casos entre T_1 y T_2. De acuerdo con los resultados, 8 de 46 (17,4 %) muestras presentaron divergencias significativas (cuadro 4).

Análisis de frecuencia de mutaciones y perfil de resistencia del VIH

Se hizo un análisis de frecuencias respecto a los cambios de mutaciones de resistencia, recombinación, cambios en el perfil de resistencia y casos de disminución de linfocitos CD4 entre T_1 y T_2 (cuadro 5). Para ello, se calculó la frecuencia de estas variables entre el grupo de muestras que presentaron cambios significativos de nucleótidos en comparación con las demás. De acuerdo con los resultados obtenidos, se observó que el grupo de muestras que presentaron cambios significativos de nucleótidos tenían una mayor frecuencia de cambios de mutaciones de resistencia y del perfil de resistencia (62,5 %) (5/8) que las demás muestras de HIV, mientras que el 28,1 % (9/32; n = 9) de las muestras que no presentaron cambios significativos de nucleótidos experimentaron una disminución de los valores de linfocitos CD4.

Para el análisis del perfil de resistencia por familias de inhibidores del HIV-1, se demostró que los inhibidores nucleósidos de la transcriptasa inversa presentaron las frecuencias más elevadas de resistencia en los dos tiempos evaluados. Dentro de este grupo, el abacavir fue el antirretroviral con mayor proporción de resistencia, y se incrementó del 21,7 % en T_1 al 23,9 % en T_2.

Le siguieron la lamivudina y la emtricitabina, ambas con una frecuencia del 21,7 % en los dos tiempos.

Para el caso de los inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa inversa, la nevirapina registró el mayor nivel de resistencia con el 17,4 % en T_1, y disminuyó al 15,2 % en T_2; el efavirenz presentó una resistencia del 15,2 % en los dos momentos del estudio.

Finalmente, entre los inhibidores de proteasas se observó un incremento general de resistencia en T_2, con excepción de dos fármacos: el nelfinavir, cuya resistencia descendió del 13 al 8,7 % y el tipranavir-ritonavir, que permaneció estable en el 4,3 % para los dos tiempos.

Cuadro 4. Análisis de cambios de nucleótidos de las muestras de HIV de militares peruanos entre T_1 y T_2

		Genes concatenados *gag-pol*						
N°	**Código**	**Tiempo 1**	**Tiempo 2**	**Cepa HXB289**	**Divergencia**	**Sitios idénticos**	**χ^2**	**p**
1	PM001	6	5	37	0	1429	0,09	0,76302
2	PM003	6	10	59	1	1299	1,00	0,31731
3	PM005	0	34	66	0	1498	34,00	**0,00000**
4	PM006	0	0	98	0	1522	0,00	1,00000
5	PM008	5	21	45	0	1374	9,85	**0,00170**
6	PM009	0	1	77	0	1395	1,00	0,31731
7	PM010	1	2	44	0	1266	0,33	0,5637
8	PM011	1	7	46	0	1470	4,50	**0,03389**
9	PM012	2	2	39	0	1556	0,00	1,00000
10	PM013	1	5	35	0	1426	2,67	0,10247
11	PM015	2	8	48	0	1416	3,60	0,05778
12	PM017	13	12	64	1	1415	0,04	0,84148
13	PM019	7	10	34	0	1323	0,53	0,46685
14	PM020	5	1	62	1	1373	2,67	0.10247
15	PM021	7	16	36	0	970	3,52	0,06057
16	PM023	1	4	57	1	1534	1,80	0,17971
17	PM024	7	4	64	1	1418	0,82	0,36571
18	PM025	6	2	93	0	1509	2,00	0,1573
19	PM027	7	5	51	0	1375	0,33	0,5637
20	PM028	15	19	52	0	1444	0,47	0,49272
21	PM029	0	0	88	0	1416	0,00	1,00000
22	PM030	0	4	47	0	1439	4,00	**0,0455**
23	PM031	0	1	63	0	1368	1,00	0,31731
24	PM032	9	4	77	0	1362	1,92	0,16552
25	PM033	2	45	83	0	1488	39,34	**0.00000**
26	PM034	10	5	43	1	1199	1,67	0,19671
27	PM035	3	6	66	0	1514	1,00	0,31731
28	PM037	0	3	82	1	1497	3,00	0,08326
29	PM038	5	6	55	1	1366	0,09	0,76302
30	PM039	7	6	61	0	1427	0,08	0,78151
31	PM040	4	17	57	1	1517	8,05	**0,00456**
32	PM043	9	4	72	0	1484	1,92	0,16552
33	PM044	3	24	58	1	1319	16,33	**0,00005**
34	PM048	5	3	36	0	1483	0,50	0,4795
35	PM049	0	1	85	0	1463	1,00	0,31731
36	PM051	7	2	43	0	1532	2,78	0,09558
37	PM053	1	2	64	0	1510	0,33	0,5637
38	PM054	5	2	42	1	1052	1,29	0,25684
39	PM055	3	1	71	0	1498	1,00	0,31731
40	PM056	7	16	73	0	1467	3,52	0,06057
41	PM057	7	2	57	0	1406	2,78	0,09558
42	PM060	0	5	91	0	1496	5,00	0,**02535**
43	PM062	3	4	146	1	1317	0,14	0,70546
44	PM063	2	8	50	1	1521	3,60	0,05778
45	PM065	6	3	53	0	1507	1,00	0,31731
46	PM067	8	4	56	2	1472	1,33	0,24821

Nota: los códigos y valores de p de las muestras con diferencias significativas de diversidad genética a nivel de nucleótidos entre T_1 y T_2 se resaltan en negrita.

Cuadro 5. Comparación de los casos con cambios significativos y no significativos de nucleótidos entre T_1 y T_2 en función de los eventos de recombinación, mutaciones de resistencia y disminución del recuento de CD4

Tipo de caso	Total de mutaciones de resistencia a terapia antirretroviral: n (%)	Eventos de recombinación n (%)	Cambios en el perfil de resistencia n (%)	Casos con disminución de linfocitos CD4 n (%)
Significativo (p < 0,05) (n = 8)	5 (62,50)	0	5 (62,50)	0
No significativo (p > 0,05) (n = 32)	10 (31,25)*	6 (18,75)*	9 (28,13)*	9 (28,13)**

* Se excluyeron del análisis 5 muestras sin resultado de secuenciación del gen la transcriptasa inversa.
** Se excluyeron del análisis 2 muestras sin resultados de recuento de linfocitos CD4.

Cuadro 6. Análisis de asociación de las variables socio-epidemiológicas con la diversidad nucleotídica y el perfil de resistencia de HIV entre el tiempo 1 y el tiempo 2

Variables	Total	Diferencia de nucleótidos en dos tiempos (n)		p*	Diferencia del perfil de resistencia en dos tiempos (n)		p*
		No	Sí		No	Sí	
Edad (años)				No significativo			< 0,01
< 30	3	2	1		3	0	
30 - 39	6	6	0		5	1	
40-50	18	13	5		15	3	
> 50	18	13	5		6	12	
Comportamiento sexual	43	33	10	No significativo	29	14	No significativo
Bisexual	2	2	0		2	0	
Heterosexual	40	30	10		27	13	
Homosexual	1	1	0		0	1	
Contacto sexual con trabajadoras sexuales	46	35	11	No significativo	30	16	No significativo
Sí	1	1	0		1	0	
No	45	34	11		29	16	
Uso de drogas recreativas	45	34	11	No significativo	29	16	No significativo
Sí	1	1	0		1	0	
No	44	33	11		28	16	
Uso de preservativo		25	9	No significativo	23	11	No significativo
Sí	33	24	9		22	11	
No	1	1	0		1	0	
Infecciones de transmisión sexual	38	28	10	No significativo	25	13	No significativo
Sí	7	4	3		3	4	
No	31	24	7		22	9	
Cambio de tratamiento	41	32	9	No significativo	27	14	No significativo
Sí	4	3	1		3	1	
No	37	29	8		24	13	
Disminución del recuento de células CD4	43	33	10	No significativo	29	14	No significativo
Sí	12	11	1		9	3	
No	31	22	9		20	11	
Incremento de la carga viral	44	35	9	No significativo	29	15	No significativo
Sí	14	11	3		7	7	
No	30	24	6		22	8	

* Prueba exacta de Fisher para datos de recuento

Asociación de factores socio-epidemiológicos y virales en T_1 y T_2

Se hizo un análisis bivariado con el fin de conocer si algún factor socio-epidemiológico se asociaba con el polimorfismo genético de nucleotídicos o con los cambios en el nivel de resistencia entre los dos tiempos analizados. De acuerdo con los datos del cuadro 6, hubo cambios significativos del perfil de resistencia del HIV a los 12 y a los 18 meses de seguimiento, según la edad de los participantes, principalmente en aquellos sujetos con más de 50 años.

Discusión

La presente investigación describe los cambios genéticos y de resistencia molecular a la terapia antirretroviral experimentados por el HIV a los 12 y a los 18 meses de seguimiento en una cohorte de militares peruanos. Considerando el tiempo de análisis, presumimos que el virus podría haber

experimentado cambios genéticos debido a factores intrínsecos (mutaciones generadas por errores de la transcriptasa inversa, sistema APOBC3 o «artefactos» del propio experimento) y a factores extrínsecos (factores socio-epidemiológicos, terapia antirretroviral) de la infección virus-huésped.

Si bien el estudio de los factores intrínsecos escapa de los objetivos de este estudio, no hemos detectado casos de hipermutación en las muestras analizadas. Además, hemos consignado el uso de la ADN polimerasa de alta fidelidad con el fin de evitar mutaciones derivadas de los procedimientos experimentales (artefactos).

Con relación a la determinación de si algún factor extrínseco podría estar relacionado con los cambios en la diversidad genética y en la resistencia, además de analizar las características genéticas del HIV, hemos recabado información socio-epidemiológica sobre la conducta sexual de riesgo de la población militar seleccionada. De acuerdo con este análisis, se encontró evidencia de conducta bisexual, contacto con mujeres trabajadoras sexuales, uso inconsistente del preservativo y presencia de infecciones de transmisión sexual en más del 19 % de los participantes, lo que demuestra la existencia de conducta sexual de riesgo.

En concordancia con nuestros hallazgos, una reciente investigación reveló que en militares norteamericanos con HIV, el uso del preservativo también había sido inconsistente (53 %) con una incidencia de infecciones de transmisión sexual similar a la de nuestro estudio (18,9 %) (23).

La incidencia de infecciones de transmisión sexual es consecuencia de una evidente conducta sexual de riesgo, la cual se ha demostrado que es más frecuente en la población militar que en la civil (34). Esto podría deberse a que en la población militar existen factores psicosociales como el abuso de alcohol, el trauma sexual militar, los trastornos de la salud mental (23,24), además de una fuerte presión colectiva por demostrar masculinidad, lo que, en su conjunto, conduce a un mayor número de parejas sexuales ocasionales e incremento de la frecuencia de infecciones de transmisión sexual (25).

La conducta sexual de riesgo también ocasiona la presencia de infecciones mixtas o superinfecciones con diferentes cepas de HIV (35), lo cual tiene un efecto adverso sobre el estado inmunológico del paciente (36,37) y, posiblemente, sobre su respuesta a la terapia antirretroviral (38). Para evidenciar estos eventos, hemos comparado las características genéticas de las cepas de HIV en dos intervalos de tiempo separados, al menos, por un año, con el fin de dilucidar si estos virus mantienen o no una relación filogenética a partir de un mismo paciente.

Nuestros hallazgos revelan que las cepas virales formaron grupos monofiléticos entre las variantes virales analizadas entre T_1 y T_2, lo cual sugiere ausencia de reinfección o superinfección mixta con nuevas variantes genéticas. Se observó un incremento del promedio de linfocitos CD4 desde T_1 a T_2, lo cual es consistente con la baja carga viral y la ausencia de casos de reinfección de cepas de HIV.

Si bien para determinar posibles superinfecciones de HIV se requieren mayores análisis moleculares como la realización de ensayos de movilidad de heterodúplex, clonación y secuenciación (39), o secuenciación de última generación (40), el análisis de secuencias mediante filogenia también puede ser de utilidad en la práctica de rutina para identificar conductas sexuales de

riesgo (41), lo cual revela el potencial de la biología molecular para develar eventos de superinfecciones a pesar de no disponer de mayor información socio-epidemiológica.

Por otro lado, hemos demostrado que el subtipo B fue la variante predominante durante los dos tiempos de análisis. Esto es coherente con el hecho de que el subtipo B ha sido la principal variante que circula en el Perú desde hace más de 20 años (9,42). Sin embargo, también hemos detectado una nueva forma recombinante de tipo CRF02_AG (subtipo A para el gen *gag* y AG por el gen *pol*), la cual ha sido previamente reportada en otros países sudamericanos como Brasil, Ecuador, Venezuela y Argentina (43-46). Los análisis previos de esta variante revelaron una alta identidad con las cepas virales provenientes de la Guyana Francesa (9); sin embargo, se requiere continuar con la vigilancia de subtipos de HIV para determinar si el nexo epidemiológico de esta variante corresponde a uno o más países de la región, reforzando que el ingreso de estas variantes está vinculado a la movilidad internacional o a contactos con redes sexuales amplias, reiterando la necesidad de fortalecer la vigilancia molecular en la población militar, dado su frecuente desplazamiento geográfico.

Asimismo, hemos llevado a cabo el análisis de la selección evolutiva de las muestras estudiadas mediante la determinación de los cambios a nivel de polimorfismo genético. Para ello, hemos utilizado el test de Tajima con el fin de calcular D, cuyos valores negativos sugieren la presencia de eventos de cuello de botella (33), mientras que la presencia de valores dN/dS menores de 1 detectada en la población (cuadro 2) sugiere un proceso de presión de selección purificadora (47). Si bien D mostró valores negativos, lo que sugiere un aparente cuello de botella, hemos recurrido al análisis de los datos socio-epidemiológicos y clínicos de los participantes para obtener información relevante al respecto.

En primera instancia, se sabe que el 100 % de los participantes llevan recibiendo terapia antirretroviral por largos períodos (entre 10 y 20 años, no se presentan los datos) con favorable supresión de la carga viral. Esto sugiere que los periodos prolongados de exposición a la terapia antirretroviral podrían estar favoreciendo la reducción de la carga viral y, concomitantemente, la presencia de eventos de cuello de botella en HIV. De hecho, se ha demostrado que, mediante el uso del raltegravir en ensayos *in vitro*, se promovió la diversidad genética de cepas de HIV, con subsecuente reducción del tamaño efectivo de la población viral y cuello de botella (48).

Por otro lado, el análisis de un grupo de pacientes con menos de 1 año de terapia antirretroviral reveló la ausencia de eventos de cuellos de botella en HIV-1 y que la diversidad genética había sido nula o mínima en las regiones *gag-pro-pol* (49). Estos datos en su conjunto revelan que, tanto la acción del medicamento antiviral, como el período o intervalo de tiempo que toma el virus para evolucionar, podrían ejercer conjuntamente una presión de selección sobre las variantes de HIV analizadas en este estudio.

Con relación a esto último, hemos demostrado diferencias significativas ($p < 0,05$) en la diversidad genética del HIV analizado en T_1 frente a T_2 en ocho muestras a los 12 y a los 18 meses de seguimiento. Nuestros hallazgos contrastan con otro estudio que reveló que, a partir de un grupo de 20 sujetos con terapia antirretroviral continuo, el HIV no había experimentado ningún cambio significativo en su diversidad genética a lo largo de cinco años de seguimiento (50).

Si bien algunas consideraciones de diseño metodológico y experimental podrían influir en los resultados obtenidos, también es importante considerar la presencia de uno o más factores externos que podrían haber ejercido una presión de selección del HIV, incrementando la variabilidad genética de los genotipos virales analizados en el presente estudio.

En nuestro análisis de prevalencia de mutaciones de resistencia, en función de los casos de HIV que presentaron cambios significativos de nucleótidos (cuadro 4), se logró identificar que en estas cepas virales se presentó una mayor frecuencia de mutaciones de resistencia y cambios en el perfil de resistencia en comparación con aquellas variantes que no presentaron cambios significativos. Estos hallazgos sugieren que la terapia antirretroviral habría generado cambios en el perfil de resistencia de los participantes mediante la selección de mutaciones puntuales, afectando la variabilidad genética del HIV, hecho que habría ocurrido inmediatamente después de T_2. Es importante señalar que, con relación a este último punto, solo el 25 % de los sujetos cambiaron de terapia antirretroviral (cuadro 1), lo que sugiere que otro factor externo adicional habría influido sobre la presencia de estos cambios.

Al respecto, nuestro análisis de variables socio-epidemiológicas reveló que la variable asociada con el cambio de perfil de resistencia del HIV fue la edad (principalmente sujetos mayores de 39 años). Resulta interesante que los ocho casos asociados con un cambio significativo de la variabilidad genética del HIV entre T_1 y T_2 se presentaron en pacientes con edades superiores a los 39 años (no se presentan los datos). Estos hallazgos sugieren que el cambio de perfil de resistencia del HIV en la población estudiada no se ajustó necesariamente con el cambio de esquema terapéutico, sino que podría asociarse con factores subyacentes circunscritos con la edad del sujeto.

Así pues, es posible que la farmacocinética de algunos antirretrovirales haya estado parcialmente alterada por la edad, tal como se observó con el tenofovir, cuya vida media en el ambiente intracelular fue menor en los pacientes pediátricos y en los jóvenes que en la población de adultos, lo que revela una mayor concentración del fármaco a nivel plasmático y una menor tolerabilidad renal en adultos (51). Esto también podría explicar la baja adhesión y concomitantemente el desarrollo de la resistencia a los antirretrovirales.

Por tanto, la efectividad del tenofovir en esta población de adultos militares podría haberse visto alterada por una baja adhesión debido a alta exposición, toxicidad renal y presentación de síntomas, razón por la cual, algunos autores recomiendan que la administración de este fármaco se dé bajo vigilancia renal en mayores de 65 años (52-55).

Además, casi la mitad de la población de militares se caracterizó por tener entre 11 y 20 años de haber sido diagnosticados con infección por HIV (cuadro 1), con una media de 12 años de diagnóstico para los sujetos mayores de 39 años (no se presentan los datos). Este tiempo de infección, sumado al tiempo de tratamiento, sugiere que el ADN proviral de los sujetos analizados podría haber sufrido cambios relacionados con la diversidad genética y la resistencia a la terapia antirretroviral. Al respecto, se ha demostrado que, durante el transcurso del tiempo, el ADN proviral en los sujetos con terapia antirretroviral se mantiene más estable y persiste en el ADN del huésped, en comparación con aquellos sin terapia antirretroviral, en

quienes la replicación activa del virus genera un ambiente menos favorable para la estabilización del provirus y lleva a su degradación (56).

Asimismo, un estudio demostró que, a pesar de que la carga viral se logra mantener a bajos niveles, el virus continúa evolucionando, afectando de manera importante su variabilidad genética a nivel de cuasiespecies (57). Estos datos en conjunto podrían explicar por qué el ADN proviral de estos individuos con mayor tiempo de diagnóstico y tratamiento es más variable, lo cual se relaciona también con los cambios en el perfil de resistencia según el tiempo.

Con relación a la población civil peruana con HIV, se ha documentado que la diversidad genética del virus y la aparición de resistencia están más estrechamente relacionadas con las interrupciones de la terapia antirretroviral, la falta de adhesión y el uso previo de esquemas subóptimos, revelando frecuencias relevantes de resistencia transmitida y adquirida que se asocian con la historia de exposición a antirretrovirales, con brechas de adhesión y manejo clínico (7,58). Asimismo, los estudios clínicos de pacientes con falla virológica en el Perú han demostrado que la resistencia frecuentemente se asocia con los años de tratamiento, los cambios previos de esquema y las demoras en el cambio de terapia tras la falla virológica (58,59).

Sin embargo, en nuestro estudio, en el que la población militar presentó evidente supresión virológica, el HIV también presentó cambios genéticos significativos asociados con la edad. Esta diferencia sugiere que el HIV que afecta este tipo de población puede presentar patrones evolutivos particulares debido a la historia de terapia antirretroviral más prolongada, mayor estabilidad en los esquemas terapéuticos, menor interrupción del tratamiento, pero mayor prevalencia de factores de riesgo conductuales y psicosociales que afectan la adhesión y la exposición al HIV (59,60).

Además, los hallazgos de este estudio muestran evidencias virológicas a nivel molecular que podrían ser relevantes para proponer un mejor manejo clínico de la infección por HIV tales como: 1) vigilancia más estrecha en los mayores de 39 años, considerando a la edad como un factor predictor temprano de los cambios en la resistencia; 2) monitoreo renal rutinario, principalmente porque los antirretrovirales (como el caso de tenofovir) muestran aumentos de la exposición cuando disminuye la función renal; 3) evaluación personalizada de adhesión a la terapia antirretroviral, principalmente en los sujetos mayores que 39 años; y 4) incorporación de la vigilancia molecular longitudinal mediante la genotipificación periódica, contribuyendo a la anticipación de fallas terapéuticas y a diseñar cambios de esquema basados en evidencia genotípica y clínica (54,55,61-63).

En conclusión, hemos demostrado que el HIV que infecta militares que han recibido por largo tiempo terapia antirretroviral y con carga viral suprimida, presenta eventos de cuello de botella y diversidad genética, cuya diferencia de nucleótidos entre un tiempo y el otro llega a ser significativa, principalmente en aquellos casos en los que se observaron cambios del perfil de resistencia a los antirretrovirales, la cual se asocia con un incremento en la edad del sujeto.

En esa misma línea, la evidencia disponible apoya que la edad (mediante la disminución de la función renal y los cambios farmacocinéticos de los antirretrovirales) contribuye a modular la exposición a antirretrovirales y, por ende, a la selección de mutaciones de resistencia.

Cabe resaltar que la mayoría de los estudios revisados documentan efectos de farmacocinética clínicamente relevantes en edades más avanzadas que las analizadas en nuestra cohorte; sin embargo, nuestros hallazgos también sugieren que existe un papel combinado de edad, tiempo acumulado de terapia antirretroviral y factores clínicos y conductuales, que podrían alterar estos efectos, y que, en consecuencia, deberían ser considerados de aquí en adelante, para un mejor manejo clínico del paciente.

Por otro lado, es importante señalar que una de las principales limitaciones de este estudio fue el reducido tamaño muestral, por lo tanto, los resultados no pueden ser considerados representativos para la población militar peruana con HIV. Sin embargo, el diseño longitudinal sobre las características genéticas del HIV ha permitido hallar evidencias socio-epidemiológicas, clínicas y moleculares que podrían ser útiles para mejorar las estrategias de la terapia antirretroviral en función del tiempo, principalmente para el monitoreo de la resistencia por medio del perfil genotípico del virus.

Asimismo, se ha logrado caracterizar la evolución del HIV mediante la identificación de los subtipos y las formas recombinantes emergentes. Además, se consiguió hacer el seguimiento de la resistencia a los antirretrovirales a lo largo del tiempo, lo que podría servir como antecedente para futuros estudios enfocados en otros grupos con diferente comportamiento sexual de riesgo.

Dada la escasez de estudios previos en población castrense con HIV, los hallazgos constituyen una contribución significativa para determinar los factores que promueven la evolución molecular del HIV, y su impacto sobre la salud de estos pacientes.

Agradecimientos

Al Instituto Nacional de Salud de Perú por financiar el presente estudio.

A los analistas del Laboratorio de Referencia Nacional de Virus de Transmisión Sexual del Instituto Nacional de Salud de Perú por su invaluable apoyo en la ejecución de los experimentos.

A Rafael Rodríguez Bayona del Hospital Militar Central de Lima por permitir el reclutamiento de los participantes del presente estudio.

A Martha Vergara Espinoza por su apoyo incondicional.

A Pablo López del Ponce por su invaluable colaboración en el análisis filogenético y estadístico.

Referencias

1. World Health Organization. HIV and AIDS: key facts. Geneva: WHO; 2024. Fecha de consulta: 26 de noviembre del 2025. Disponible en: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hiv-aids
2. Oguntibeju OO. Quality of life of people living with HIV and AIDS and antiretroviral therapy. HIVAIDS Auckl NZ. 2012;4:117-24. https://doi.org/10.2147/HIV.S32321
3. Zhao Y, Wu Z, McGoogan JM, Shi CX, Li A, Dou Z, *et al.* Immediate antiretroviral therapy decreases mortality among patients with high CD4 counts in China: A nationwide, retrospective cohort study. Clin Infect Dis. 2018;66:727-34. https://doi.org/10.1093/cid/cix878
4. Pennings PS. HIV drug resistance: problems and perspectives. Infect Dis Rep. 2013;5(Suppl 1):e5. https://doi.org/10.4081/idr.2013.s1.e5

5. Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades. Boletín mensual: Situación epidemiológica del VIH/SIDA en el Perú. Lima: Ministerio de Salud del Perú; 2018. Fecha de consulta: 26 de noviembre del 2025. Disponible en: https://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/vih/Boletin_2018/diciembre.pdf

6. Ministerio de Salud del Perú. Perú es el primer país de la región que evaluará la resistencia del virus del VIH/SIDA. Fecha de consulta: 26 de noviembre del 2025. Disponible en: https://www.gob.pe/institucion/minsa/noticias/39799-peru-es-el-primer-pais-de-la-region-que-evaluara-la-resistencia-del-virus-del-vih-sida

7. Yabar CA, Vilcarino GF, Espetia S, Yaya MG, Salinas G, García-Fernández L, *et al*. Transmitted resistance in HIV-1 of patients from nine departments of Peru. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2021;38:77-82. https://doi.org/10.17843/rpmesp.2021.381.5527

8. Yabar CA, Vilcarino G, Yaya M, Espetia S, Acuña M, Mamani E, *et al*. Multiple resistance and unusual mutations from HIV-1 infecting Peruvian patients with highly active antiretroviral therapy. HIV AIDS Res J. 2018;1:7922.

9. Yabar CA, Vilcarino GF, Espetia S, Lujan F, Vásquez-Domínguez A, Yaya M, *et al*. Social, epidemiological, and virological characteristics from Peruvian subjects living with HIV-1/AIDS with different sexual risk behavior. AIDS Res Hum Retroviruses. 2022;38:288-99. https://doi.org/10.1089/AID.2021.0067

10. Yabar CA, Acuña M, Gazzo C, Salinas G, Cárdenas F, Valverde A, *et al*. New subtypes and genetic recombination in HIV type 1-infecting patients with highly active antiretroviral therapy in Peru (2008-2010). AIDS Res Hum Retroviruses. 2012;28:1712-22. https://doi.org/10.1089/AID.2012.0040

11. Ávila MM, Pando MA, Carrion G, Peralta LM, Salomon H, Carrillo MG, *et al*. Two HIV-1 epidemics in Argentina: different genetic subtypes associated with different risk groups. J Acquir Immune Defic Syndr. 2002;29:422-6. https://doi.org/10.1097/00126334-200204010-00015

12. Vrancken B, Baele G, Vandamme AM, van Laethem K, Suchard MA, Lemey P. Disentangling the impact of within-host evolution and transmission dynamics on the tempo of HIV-1 evolution. AIDS Lond Engl. 2015;29:1549-56. https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000000731

13. Yábar VC, Salvatierra FJ, Quijano GE. Variabilidad del gen de la envoltura del VIH-1 en tres grupos humanos con diferentes conductas sexuales de riesgo para adquirir ITS-VIH. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 2007;24:202-10.

14. Pingarilho M, Pimentel V, Miranda MNS, Silva AR, Diniz A, Ascenção BB, *et al*. HIV-1-transmitted drug resistance and transmission clusters in newly diagnosed patients in Portugal between 2014 and 2019. Front Microbiol. 2022;13:823208. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.823208

15. Frentz D, van de Vijver D, Abecasis A, Albert J, Hamouda O, Jørgensen L, *et al*. Patterns of transmitted HIV drug resistance in Europe vary by risk group. PloS One. 2014;9:e94495. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094495

16. Gorbach PM, Drumright LN, Javanbakht M, Pond SL, Woelk CH, Daar ES, *et al*. Antiretroviral drug resistance and risk behavior among recently HIV-infected men who have sex with men. J Acquir Immune Defic Syndr. 2008;47:639-43. https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e3181684c3d

17. Kozal MJ, Amico KR, Chiarella J, Cornman D, Fisher W, Fisher J, *et al*. HIV drug resistance and HIV transmission risk behaviors among active injection drug users. J Acquir Immune Defic Syndr. 2005;40:106-9. https://doi.org/10.1097/01.qai.0000159666.95455.d2

18. Lau KA, Wong JJL. Current trends of HIV recombination worldwide. Infect Dis Rep. 2013;5(Suppl 1):e4. https://doi.org/10.4081/idr.2013.s1.e4

19. Rambaut A, Posada D, Crandall KA, Holmes EC. The causes and consequences of HIV evolution. Nat Rev Genet. 2004;5:52-61. https://doi.org/10.1038/nrg1246

20. Tebit DM, Nankya I, Arts EJ, Gao Y. HIV diversity, recombination and disease progression: how does fitness "fit" into the puzzle? AIDS Rev. 2007;9:75-87.

21. Gore DJ, Schueler K, Ramani S, Uvin A, Phillips G, McNulty M, *et al*. HIV response interventions that integrate hiv molecular cluster and social network analysis:A systematic review. AIDS Behav. 2022;26:1750-92. https://doi.org/10.1007/s10461-021-03525-0

22. Long JE, Tordoff DM, Reisner SL, Dasgupta S, Mayer KH, Mullins JI, *et al*. HIV transmission patterns among transgender women, their cisgender male partners, and cisgender MSM in

Lima, Peru: A molecular epidemiologic and phylodynamic analysis. Lancet Reg Health Am. 2022;6:100121. https://doi.org/10.1016/j.lana.2021.100121

23. Noiman A, Macalino G, Won SH, Byrne M, Deiss R, Haw NJ, *et al*. Sexual risk behaviors associated with sexually transmitted infections in a US military population living with HIV after the repeal of «Don't Ask, Don't Tell». AIDS Patient Care STDS. 2020;34:523-33. https://doi.org/10.1089/apc.2020.0095
24. Evans MW, Borrero S, Yabes J, Rosenfeld EA. Sexual behaviors and sexually transmitted infections among male veterans and nonveterans. Am J Mens Health. 2017;11:791-800. https://doi.org/10.1177/1557988317698615
25. Apolaya-Segura M, Cárcamo-Cavagnaro C. Influencia del servicio militar voluntario sobre el comportamiento sexual de una población de jóvenes. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 2013;30:386-92.
26. De la Cruz Ku G, Rojas Contreras C, Chambergo-Michilot D, Torres-Roman JS, Príncipe-Meneses FS, Rioja Torres F, *et al*. HIV therapy adherence and outcomes in Peruvian military personnel over a 30-year period. Electron J Gen Med. 2023;20:em443. https://doi.org/10.29333/ejgm/12776
27. García-Fernández L, Novoa R, Huamán B, Benites C. Continuo de la atención de personas que viven con VIH y brechas para el logro de las metas 90-90-90 en Perú. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2018;35:385-93.
28. Cho YK, Kim JE, Foley BT. High prevalence of non-B HIV-1 subtypes in overseas sailors and prostitutes in Korea. AIDS Res Hum Retroviruses. 2018;34:347-53. https://doi.org/10.1089/AID.2017.0238
29. Singer DE, Bautista CT, O'Connell RJ, Sanders-Buell E, Agan BK, Kijak GH, *et al*. HIV infection among U.S. Army and Air Force military personnel: Sociodemographic and genotyping analysis. AIDS Res Hum Retroviruses. 2010;26:889-94. https://doi.org/10.1089/aid.2009.0289
30. Tovanabutra S, Brodine SK, Mascola JR, Sankale JL, Sanders-Buell E, Kim B, *et al*. Characterization of complete HIV type 1 genomes from non-B subtype infections in U.S. military personnel. AIDS Res Hum Retroviruses. 2005;21:424-9. https://doi.org/10.1089/aid.2005.21.424
31. Yabar VC, Chavez HP, Varas HZ, Rodriguez BR. Identificación molecular de mutaciones puntuales relacionadas con resistencia a drogas en VIH-1 de pacientes peruanos. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 2006;23:149-57.
32. Yabar CA, Salvatierra J, Quijano E. Polymorphism, recombination, and mutations in HIV type 1 gag-infecting Peruvian male sex workers. AIDS Res Hum Retroviruses. 2008;24:1405-13. https://doi.org/10.1089/aid.2008.0130
33. Tajima F. Statistical analysis of DNA polymorphism. Idengaku Zasshi. 1993;68:567-95. https://doi.org/10.1266/jjg.68.567
34. Boyer CB, Gaydos CA, Geller AB, Garges EC, Vermund SH. Sexually transmitted infections in the u.s. military: a sexual health paradigm to address risk behaviors, unintended pregnancy, alcohol use, and sexual trauma. Mil Med. 2022;187:140-3. https://doi.org/10.1093/milmed/usab407
35. Poudel KC, Poudel-Tandukar K, Yasuoka J, Jimba M. HIV superinfection: another reason to avoid serosorting practice. Lancet Lond Engl. 2007;370:23. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61033-2
36. Allen TM, Altfeld M. HIV-1 superinfection. J Allergy Clin Immunol. 2003;112:829-35. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2003.08.037
37. Cornelissen M, Pasternak AO, Grijsen ML, Zorgdrager F, Bakker M, Blom P, *et al*. HIV-1 dual infection is associated with faster CD4+ T-cell decline in a cohort of men with primary HIV infection. Clin Infect Dis. 2012;54:539-47. https://doi.org/10.1093/cid/cir849
38. Chakraborty B, Kiser P, Rangel HR, Weber J, Mirza M, Marotta ML, *et al*. Can HIV-1 superinfection compromise antiretroviral therapy? AIDS Lond Engl. 2004;18:132-4. https://doi.org/10.1097/00002030-200401020-00019
39. Manigart O, Courgnaud V, Sanou O, Valéa D, Nagot N, Meda N, *et al*. HIV-1 superinfections in a cohort of commercial sex workers in Burkina Faso as assessed by an autologous heteroduplex mobility procedure. AIDS Lond Engl. 2004;18:1645-51. https://doi.org/10.1097/01.aids.0000131333.30548.db

40. Luan H, Han X, Yu X, An M, Zhang H, Zhao B, *et al*. dual infection contributes to rapid disease progression in men who have sex with men in China. J Acquir Immune Defic Syndr. 2017;75:480-7. https://doi.org/10.1097/QAI.0000000000001420

41. Cornelissen M, Jurriaans S, Kozaczynska K, Prins JM, Hamidjaja RA, Zorgdrager F, *et al*. Routine HIV-1 genotyping as a tool to identify dual infections. AIDS Lond Engl. 2007;21:807-11. https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e3280f3c08a

42. Russell KL, Carcamo C, Watts DM, Sanchez J, Gotuzzo E, Euler A, *et al*. Emerging genetic diversity of HIV-1 in South America. AIDS Lond Engl. 2000;14:1785-91. https://doi.org/10.1097/00002030-200008180-00014

43. Delatorre EO, Bello G, Eyer-Silva WA, Chequer-Fernandez SL, Morgado MG, Couto-Fernandez JC. Evidence of multiple introductions and autochthonous transmission of the HIV type 1 CRF02_AG clade in Brazil. AIDS Res Hum Retroviruses. 2012;28:1369-72. https://doi.org/10.1089/AID.2011.0381

44. Carrion G, Hierholzer J, Montano S, Alava A, Perez J, Guevara A, et *al*. Circulating recombinant form CRF02_AG in South America. AIDS Res Hum Retroviruses. 2003;19:329-32. https://doi.org/10.1089/088922203764969537

45. Rangel HR, Garzaro D, Gutiérrez CR, Vásquez L, Guillen G, Torres JR, *et al*. HIV diversity in Venezuela: predominance of HIV type 1 subtype B and genomic characterization of non-B variants. AIDS Res Hum Retroviruses. 2009;25:347-50. https://doi.org/10.1089/aid.2008.0241

46. Fernández MF, Golemba MD, Terrones C, Paradiso P, Nassif JC, Bologna R, *et al*. Short communication: Emergence of novel A/G recombinant HIV-1 strains in Argentina. AIDS Res Hum Retroviruses. 2015;31:293-7. https://doi.org/10.1089/AID.2014.0196

47. Castro-Nallar E, Pérez-Losada M, Burton GF, Crandall KA. The evolution of HIV: inferences using phylogenetics. Mol Phylogenet Evol. 2012;62:777-92. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.11.019

48. Fun A, Leitner T, Vandekerckhove L, Däumer M, Thielen A, Buchholz B, *et al*. Impact of the HIV-1 genetic background and HIV-1 population size on the evolution of raltegravir resistance. Retrovirology. 2018;15:1. https://doi.org/10.1186/s12977-017-0384-z

49. Kearney MF, Spindler J, Shao W, Yu S, Anderson EM, O'Shea A, *et al*. Lack of detectable HIV-1 molecular evolution during suppressive antiretroviral therapy. PLOS Pathog. 2014;10:e1004010. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004010

50. Abdi B, Nguyen T, Brouillet S, Desire N, Sayon S, Wirden M, *et al*. No HIV-1 molecular evolution on long-term antiretroviral therapy initiated during primary HIV-1 infection. AIDS Lond Engl. 2020;34:1745-53. https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000002629

51. Baheti G, King JR, Acosta EP, Fletcher CV. Age-related differences in plasma and intracellular tenofovir concentrations in HIV-1-infected children, adolescents and adults. AIDS Lond Engl. 2013;27:221-5. https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e32835a9a2d

52. Schoen JC, Erlandson KM, Anderson PL. Clinical pharmacokinetics of antiretroviral drugs in older persons. Expert Opin Drug Metab Toxicol. 2013;9:573–88. https://doi.org/10.1517/17425255.2013.781153

53. Stader F, Courlet P, Kinvig H, Battegay M, Decosterd LA, Penny MA, *et al*. Effect of ageing on antiretroviral drug pharmacokinetics using clinical data combined with modelling and simulation. Br J Clin Pharmacol. 2021;87:458-70. https://doi.org/10.1111/bcp.14402

54. De Sousa Mendes M, Chetty M. Are standard doses of renally-excreted antiretrovirals in older patients appropriate? A PBPK study comparing exposures in the elderly population with those in renal impairment. Drugs R D. 2019;19:339-50. https://doi.org/10.1007/s40268-019-00285-0

55. Kearney BP, Yale K, Shah J, Zhong L, Flaherty JF. Pharmacokinetics and dosing recommendations of tenofovir disoproxil fumarate in hepatic or renal impairment. Clin Pharmacokinet. 2006;45:11152. https://doi.org/10.2165/00003088-200645110-00005

56. Brooks K, Omondi FH, Liang RH, Sudderuddin H, Jones BR, Joy JB, *et al*. Proviral turnover during untreated hiv infection is dynamic and variable between hosts, impacting reservoir composition on ART. Front Microbiol. 2021;12:719153. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.719153

57. Gantner P, Morand-Joubert L, Sueur C, Raffi F, Fagard C, Lascoux-Combe C, *et al*. Drug resistance and tropism as markers of the dynamics of HIV-1 DNA quasispecies in blood

cells of heavily pretreated patients who achieved sustained virological suppression. J Antimicrob Chemother. 2016;71:751-61. https://doi.org/10.1093/jac/dkv395

58. Matos AF, Juárez LH. Caracterización epidemiológica, clínica y laboratorial de pacientes con infección por el VIH/SIDA en tratamiento antirretroviral con falla virológica y exploración de factores asociados en un hospital nacional de III nivel-Lima, Perú 2010-2017 (tesis). Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2018. Fecha de consulta: 26 de noviembre del 2025. Disponible en: https://repositorio.upch.edu.pe/entities/publication/670e5588-2d9f-44e6-a6ae-caa28c5366eb

59. Romero SRM, Ortiz LM. Perfil genómico de resistencia a medicamentos antirretrovirales en pacientes infectados por el VIH/SIDA con falla virológica en un hospital de nivel III-Lima, Perú; 2017-2023 (tesis). Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2024. Fecha de consulta: 26 de noviembre del 2025. Disponible en: https://repositorio.upch.edu.pe/entities/publication/eb47c15c-7317-4683-9008-353dea544c18

60. Barrera-Espinoza RW, Gómez-Gonzales WE, Girón-Vargas A, Arana-Escobar M, Nieva-Villegas LM, Gamarra-Bustillos C, *et al*. Factores asociados a la no adherencia al tratamiento antirretroviral en personas con VIH/SIDA. Horiz Med (Lima). 2021;21:e1498. https://doi.org/10.24265/horizmed.2021.v21n4.09

61. Stader F, Courlet P, Decosterd LA, Battegay M, Marzolini C. Physiologically-based pharmacokinetic modeling combined with Swiss HIV Cohort Study data supports no dose adjustment of bictegravir in elderly individuals living with HIV. Clin Pharmacol Ther. 2021;109:1025-9. https://doi.org/10.1002/cpt.2178

62. Toledo T, Castro T, Oliveira VG, Veloso VG, Grinsztejn B, Cardoso SW, *et al*. Pharmacokinetics of antiretroviral drugs in older people living with HIV: a systematic review. Clin Pharmacokinet. 2023;62:1219-30. https://doi.org/10.1007/s40262-023-01291-x

63. Coulter JR, Geretti AM, Dunn DT, *et al*. Effects of age on antiretroviral plasma drug concentration in HIV-infected subjects undergoing routine therapeutic drug monitoring. J Antimicrob Chemother. 2013;68:1354-60. https://doi.org/10.1093/jac/dkt038