

Origen no infeccioso del sida: ¿mito o realidad?

The non-infectious aetiology of AIDS: Myth or reality?

ZORAIDA RAMÍREZ*, FRANCISCO JAVIER DÍAZ**, FABIÁN ALBERTO JAIMES***,
MARÍA TERESA RUGELES****

Resumen

El síndrome de inmunodeficiencia adquirida, o sida, fue reconocido al principio de la década de los ochenta y hasta el momento ha causado más de 20 millones de muertes, por lo que se ha convertido en la peor pandemia de todos los siglos. Inicialmente se postularon varias hipótesis etiológicas pero en 1983, con el descubrimiento del virus de inmunodeficiencia humana (VIH), se creyó que la polémica llegaría a su fin y que este virus sería reconocido mundialmente como el agente etiológico del sida.

Sin embargo hoy, después de muchos años de investigación, aún se promueve el origen no infeccioso del sida, negando la existencia del VIH-1 y postulando como agente causal una variedad de factores tóxico-nutricionales que pueden actuar solos o

en conjunto para «estresar» el sistema inmune y producir la inmunodeficiencia grave, característica del sida. La existencia del VIH-1 y su asociación causal con el sida han sido corroboradas a lo largo de estos veinte años por diferentes grupos de investigación independientes. Además de satisfacer los postulados de Koch y los postulados clásicos de causalidad, los más de veinte millones de muertes, 42 millones de infectados, 14 millones de huérfanos y 15 mil nuevos infectados diariamente hablan por sí solos, demostrando una vez más el origen infectocontagioso del sida.

Este artículo se propone evaluar, con la información científica disponible, cada uno de los puntos que soportan la hipótesis no infecciosa del sida y mostrar cómo, el conocimiento actual del VIH-1 y de la enfermedad permite satisfacer los postulados clásicos de causalidad.

Palabras clave: VIH-1, sida, causalidad, agentes estresantes.

Infectio 2007; 11(4): 190-200

*Estudiante, décimo semestre de Medicina, joven investigadora, Grupo Inmunovirología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

**Médico, especialista en Microbiología, doctor en Virología, docente, Grupo Inmunovirología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

***Médico, magister en Epidemiología, candidato a doctor, docente, Departamento de Medicina Interna y Grupo Académico de Epidemiología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

****Bacterióloga, magister en Inmunología, doctor en Ciencias Básicas, coordinadora del Grupo Inmunovirología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

Correspondencia: María Teresa Rugeles, M.Sc., D.Sc., Calle 62 N° 52-59, torre 2, laboratorio 532, Sede de Investigaciones Universitarias, Universidad de Antioquia, Medellín. Telefax: 210 6481
mtrugel@udea.edu.co

Fecha de recepción: 02/08/2007; **fecha de aceptación:** 11/12/2007

Abstract

The acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) has been recognized for the last two and a half decades. During this time it has extended all over the world and caused more than 20 million deaths, becoming one of the largest pandemics on record. During the early years of the epidemic, several causal hypotheses were proposed. A putative etiologic agent, the human immunodeficiency virus (HIV) was discovered in 1983 and it was soon after accepted as the causal agent of AIDS. This rapid acceptance, when limited evidence was available, originated criticism that persists up to today. Arguments range from denial of HIV existence to the statement that its presence in patients is a consequence rather than a cause of AIDS. Toxic and nutritional factors acting as «immunologic stressors» have been postulated as alternate etiologic agents of the syndrome. However, during the ensuing years, a good deal of research has been done and enough data has piled about AIDS and HIV to settle the controversy. What that information tell us about the causes of AIDS? In this review we critically examine the role of HIV in AIDS using the classical criteria of causality in the light of the knowledge accumulated over the years.

Key words: HIV-1, AIDS, causality, stressor agents.

Infectio 2007; 11(4): 190-200

INTRODUCCIÓN

Al principio de la década de los ochenta, el mundo presenció la aparición de una nueva enfermedad, el síndrome de inmunodeficiencia adquirida, o sida, sobre cuya etiología se formularon diversas hipótesis de naturaleza infecciosa, tóxica, degenerativa y nutricional, entre otras. Con el descubrimiento del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) en 1983, obtenido a partir de muestras de pacientes con sida, se pudo evaluar la hipótesis de la etiología infecciosa y establecer dicho virus como agente causal de esta entidad (1,2). Posteriormente un segundo agente, el VIH-2, fue aislado de pacientes con sida en África occidental (3).

Sin embargo, algunas corrientes de pensamiento cuestionan dicha etiología y han promovido una teoría no infecciosa que ha encontrado algún eco, particularmente en los países en desarrollo. Muchas de las premisas que hacen parte de esta polémica son de un interés mayor, por el alcance e implicaciones que pueden llegar a tener en la sociedad contemporánea. Esta hipótesis alterna, que gira en torno a la inexistencia del VIH o a su asociación espuria y no causal con el sida, afirma que este síndrome es producto de desórdenes tóxico-nutricionales, «agentes estresantes» o los dos (4,5).

El objetivo de esta revisión es evaluar, con la evidencia científica disponible, cada uno de los puntos que sustentan la hipótesis no infecciosa del sida. Finalmente, se muestra cómo el conocimiento actual del VIH-1 y de la enfermedad satisfacen los postulados clásicos de causalidad.

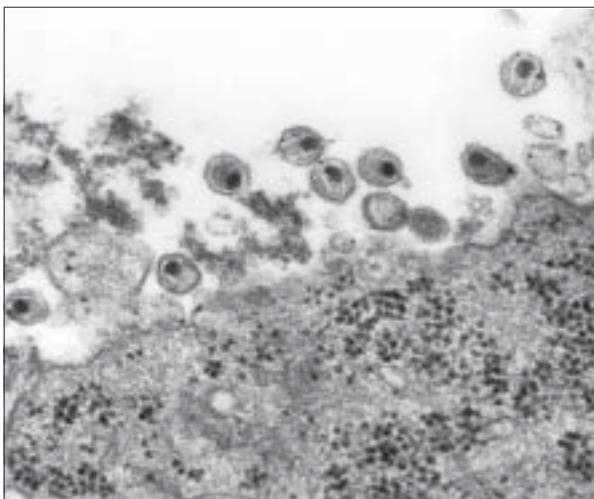
METODOLOGÍA

Se hizo una búsqueda en las bases de datos Pubmed, Medline, Ovid y Scelo, utilizando los siguientes términos: *AIDS causality, aetiological agent, Koch postulates, immunologic stressors, HIV-1, pathogenesis, transmisión, diagnosis, toxics, HAART*. Se combinaron los términos, se restringió la bibliografía a artículos originales y a algunas revisiones publicadas en los últimos seis años y en todos los grupos etáneos.

El VIH como mito

Se asegura que el VIH fue inventado por el hombre para explicar un gran número de enfermos que estaban muriendo como consecuencia de una inmunodeficiencia de origen idiopático a inicios de la década de los 80. A pesar de que el virión ha sido aislado y visualizado por microscopía electrónica en varias ocasiones por grupos de investigación independientes (figura 1) (6), se cuestiona la veracidad de las fotografías que han sido publicadas en muchos libros y revistas científicas de reconocimiento mundial (6,7).

Varios investigadores alrededor del mundo, con las más diversas metodologías, han confirmado la existencia del virus. Así mismo, los análisis filogenéticos han permitido dilucidar su origen en el virus de la inmunodeficiencia simiana del chimpan-

Figura 1

La microfotografía muestra partículas de virus aislado de un paciente. Se observan gemaciones en la superficie de la célula infectada. La foto fue obtenida en el Laboratorio de Microscopía del CDC en Atlanta, Georgia, en 1984. Corresponde a un aumento de 183.800 veces.

cé (SIVcpz) (8). Los estudios moleculares han permitido establecer la similitud entre las secuencias génicas del SIVcpz y diferentes cepas aisladas de humanos portadores del VIH-1, y postular la exposición del ser humano a sangre infectada de estos animales como la manera más probable en que ocurrió la transmisión viral entre las dos especies.

Otros agentes, como el virus linfotrópico humano de células T (HTLV-1), el virus de la inmunodeficiencia felina (FIV) y el virus de la inmunodeficiencia en muridos (MLV) también causan inmunodeficiencia en su huésped natural, además de trastornos sistémicos progresivos, neurodegenerativos y, finalmente, la muerte, y las células T y los macrófagos son las principales células blanco de su actividad viral (9). A pesar de la similitud estructural y genética de estos agentes con el VIH-1 (10), la existencia de ellos nunca ha sido cuestionada ni su asociación con otras enfermedades humanas y animales puesta en duda.

La falsedad de la fórmula VIH = sida = muerte

Se afirma que los investigadores en pro de la etiología infecciosa se equivocan al difundir la fórmula VIH=sida=muerte, argumentando que hay un gran número de personas que estando infectadas no han desarrollado el síndrome (4).

Para considerar la progresión o no de la infección por VIH-1 hacia sida, se hace necesario conocer la patogénesis viral para entender a qué está expuesto un individuo cuando contrae la infección. El curso típico de la infección por VIH-1 incluye un cuadro clínico agudo de seriedad variable, conocido como síndrome retroviral agudo (11). Este cuadro es seguido de un periodo prolongado de latencia clínica, en el cual, a pesar de no presentarse ninguna manifestación de la infección, la replicación viral se mantiene activa. Finalmente, se desarrolla un estado de inmunodeficiencia profundo, característico del sida, en el cual el individuo presenta una mayor susceptibilidad al desarrollo de enfermedades oportunistas y a ciertas neoplasias (12).

A pesar de que la mayoría de pacientes infectados por el VIH siguen este proceso, hoy se conoce que el curso de la infección sigue un patrón individual que depende de varios factores. A partir de las diferencias en su curso clínico, es posible enmarcar los individuos infectados en «grupos», dependiendo de la velocidad con que la infección progresa y, particularmente, del tiempo que tardan en desarrollar sida. Los que progresan a este estadio progresores son aquellos que muestran un deterioro gradual en el conteo de células T, y desarrollan sida en un promedio de 10 años; los que progresan rápidamente son quienes desarrollan sida en un periodo corto, en promedio de 2 a 3 años después de haber adquirido la infección; el tercer grupo comprende los individuos que permanecen con recuento normal de células T, llamados los que no progresan a largo plazo, que representan cerca del 8 al 10% de los individuos infectados con VIH-1; y, por último, están los que verdaderamente no progresan, quienes aun sin tratamiento antirretroviral no muestran deterioro inmunológico, no se les puede aislar el virus a partir del plasma y mantienen bajas copias del genoma viral (provirus) integrado al genoma celular. Estos últimos individuos representan cerca del 0,8% del total de la población infectada (13).

Algunos factores virales, inmunogenéticos y ambientales se han propuesto como responsables del control de la replicación viral y, por ende, de la velocidad con que un individuo infectado desarrolla el sida. Entre los factores inmunológicos asociados al control de la replicación viral, muy frecuentemente activos en los pacientes en los que progresa lentamente o no progresa, se destacan una respuesta inmune de tipo

celular, particularmente de células citotóxicas (14), y la presencia de anticuerpos neutralizadores tipo IgA en las mucosas, que son la principal puerta de entrada del virus al organismo (15).

La presencia de polimorfismos y mutaciones en el gen que codifica para la molécula CCR5, que es el principal correceptor viral, se han asociado también con el fenómeno de la resistencia o la susceptibilidad al VIH-1 (16). Las diferentes cepas virales, por su tropismo y patogenicidad variables, también influyen en el curso variable con que se presenta esta infección.

Entre los factores virales que influyen en la progresión lenta o en la no progresión de la enfermedad, se encuentran la carga viral y la capacidad de replicación del virus (16). Por otra parte, se ha demostrado que la diversidad genética de la población viral tiene una notable correlación con influencia en el desarrollo y progresión de la enfermedad por VIH; es decir, la homogeneidad de las variantes virales se asocia a un rápido progreso a sida.

Por el contrario, en individuos infectados con progresión lenta o ausencia de progresión, se observa una amplia diversidad genética que se acumula a través del tiempo. Otros factores virales asociados son las mutaciones o polimorfismos en los genes accesorios *Vpr*, *Vif* y *Nef*; algunos de los polimorfismos se correlacionan con una progresión lenta y bajos niveles de carga viral plasmática (13).

«El VIH si existiera,... no podría explicar las alteraciones inmunológicas, ni la patogénesis, ni las manifestaciones clínicas, ni la historia natural del sida».

Se afirma que los investigadores del sida ni siquiera conocen los mecanismos por medio de los cuales el VIH destruye el sistema inmunológico y causa el sida, y que aquello que se conoce son simples especulaciones o hipótesis que jamás han sido comprobadas (5,17,18).

La alteración inmunológica más evidente del sida es la eliminación progresiva y profunda de las células CD4+, o linfocitos T ayudadores, las cuales cumplen un papel central en el desarrollo de la respuesta celular y humoral inmune, y en la memoria inmunológica. El VIH-1 infecta, preferentemente, estas células utilizando la molécula CD4 a manera de receptor y el correceptor CCR5 o CXCR4, según el tipo de célula que va a infectar (9,10).

Aunque la forma precisa en que el VIH-1 destruye las células CD4+ no está completamente dilucidada aún, se han identificado varios mecanismos a través de los cuales el VIH-1 destruye estas células. Dichos mecanismos se pueden dividir en directos e indirectos, siendo los primeros la consecuencia directa de la infección viral. Entre los mecanismos directos se destacan la apoptosis inducida por las proteínas virales, la destrucción de células infectadas por parte de las células T citotóxicas y las células NK, y la lisis de células infectadas como consecuencia de la desestabilización de la membrana celular causada por la salida de múltiples viriones, cada uno de ellos tomando parte de la membrana celular para formar su propia envoltura (9).

Los mecanismos indirectos son los que explican la destrucción masiva de linfocitos T CD4+ no infectados, fenómeno bastante frecuente durante la infección. La apoptosis de células no infectadas, inducida por proteínas virales solubles y por citocinas secretadas por las células infectadas, ha sido claramente identificada como un proceso patogénico importante en el curso de la infección por VIH-1 (19). Además, la apoptosis como un mecanismo de autorregulación en respuesta a la activación exagerada del sistema inmune que se da durante la infección por el VIH, ha sido propuesta como fundamental en la eliminación de las células no infectadas (20).

Por último, la interacción entre la gp120 viral, expresada por las células infectadas, con la molécula CD4 de células vecinas no infectadas, induce la formación de agregados celulares y sincitios que facilitan la destrucción de células no infectadas al ser detectados por el sistema retículo endotelial (21).

«... sida, la más severa de todas las inmunodeficiencias adquiridas, siendo éste un síndrome tóxico y nutricional causado por exposiciones múltiples, repetidas y crónicas a agentes estresantes del sistema inmune»

La comunidad científica mundial que ha confirmado el origen infeccioso del sida no niega, y nunca lo ha hecho, que existen inmunodeficiencias por causas diferentes a la infección por el VIH (4,5). Está suficientemente sustentada la importancia de la desnutrición (22), la quimioterapia, el uso de diversos

fármacos inmunosupresores (23) u otro tipo de agentes «estresantes», e inclusive la presencia de inmunodeficiencias sin causa aparente conocida, como la linfocitopenia idiopática de células T, etc. (24).

De esta forma, es posible que encontremos personas negativas para VIH propensas a adquirir diversos tipos de infecciones oportunistas, debido a inmunodeficiencias adquiridas que ocasionalmente pueden ser semejantes al SIDA. Sin embargo, no existe una razón lógica para considerar que por el simple hecho de que algunas inmunodeficiencias adquiridas pueden tener otras causas, e inclusive ser multicausales, entonces un virus, en particular el VIH-1, no puede ser el agente etiológico del SIDA.

«El sida no se transmite sexualmente. La transmisión vertical del sida de la madre al feto durante el embarazo y el parto o a través de la leche materna son simples mitos o suposiciones sin ninguna evidencia objetiva. La transmisión del sida por la sangre supuestamente infectada con el VIH, tampoco es cierta» (25,26).

Varios estudios epidemiológicos han demostrado claramente la transmisión tanto homosexual como heterosexual del VIH-1 (27,28). Si bien la tasa de transmisión del VIH-1 por contacto sexual es relativamente baja (29), alrededor del 80% de las infecciones por este virus en el mundo se han adquirido por esta vía (30). La probabilidad de transmisión por cada relación sexual depende del tipo de relación, la más eficiente es la transmisión de hombre a hombre la cual tiene un riesgo entre 1 a 10 y 1 a 1.600, seguido de la transmisión de hombre a mujer la cual tiene una probabilidad de 1 a 200-1 a 2.000 y, por último, de mujer a hombre con una probabilidad de 1 a 200-1 a 10.000 (30).

El riesgo de la transmisión sexual es directamente proporcional a la carga viral del individuo infectado, y se ha podido establecer que con cargas virales menores de 1.500 copias/ml de sangre, la probabilidad de transmitir el virus es prácticamente nula. Existen otras condiciones y factores que aumentan el riesgo de transmisión, particularmente procesos inflamatorios o lesiones que pueden estar presentes en la mucosa rectal o vaginal; es por esto que la presencia de otras enfermedades de trans-

misión sexual aumenta considerablemente el riesgo de adquirir la infección por VIH-1 (30).

La transmisión vertical también ha sido claramente documentada en varios estudios con un riesgo que va de 10% a 30% (31,32). El 50% al 70% de las infecciones verticales ocurren durante el parto, mientras que 30% a 50% se adquieren de forma transplacentaria (33). El riesgo durante la lactancia varía y está cerca del 11% en los países industrializados y puede llegar al 40% en países en desarrollo (34). De nuevo, la carga viral constituye un fuerte factor de riesgo para la transmisión vertical (35). La infección transplacentaria se ha tratado de explicar no sólo por una disrupción en la barrera materno-fetal, sino también por la infección de células del trofoblasto y el sincitiotrofoblasto a partir de leucocitos infectados y, eventualmente, a partir de viriones infecciosos (36).

La infección intraparto se debe a la ruptura de la barrera placentaria o por contacto directo del bebé con sangre de la madre o con secreciones mucosas en el canal vaginal (37). La tasa de transmisión vertical se ha disminuido considerablemente, a niveles menores de 1%, con el uso de antirretrovirales en la madre, durante el parto y en el bebé recién nacido (38), con la práctica de la cesárea (33), el tratamiento de enfermedades de transmisión sexual y la sustitución de la leche materna por leche de fórmula (34).

La transmisión a partir de sangre infectada también ha sido claramente documentada (23) y es la forma de transmisión más eficiente de todas. El 90% de los individuos que recibieron una unidad de sangre posteriormente demostrada como positiva para VIH, seroconvirtieron a dicho virus (23,39). Otra evidencia que apoya esta forma de transmisión es la reducción de las tasas de infección por VIH-1 en individuos hemofílicos a partir de 1985, cuando se implementó en los bancos de sangre la tamización para anticuerpos anti-VIH de todas las unidades de sangre (40), y el uso de factores de la coagulación pasteurizados en 1986 (39).

Los usuarios de drogas intravenosas también constituyen un ejemplo claro de que el VIH-1 se transmite por sangre. La epidemia VIH/ sida está mostrando un crecimiento acelerado, y los usuarios de drogas intravenosas son un grupo particularmente afectado. Algunos estudios han demostrado una prevalencia de VIH-1 del 15,2% en usuarios de drogas

intravenosas en comparación con 5,4% en usuarios de drogas no intravenosas, en quienes las relaciones sexuales no protegidas son el principal riesgo de infección. La probabilidad de infección a través de compartir agujas contaminadas es directamente proporcional al tiempo de exposición (41).

«Las pruebas para VIH no son adecuadas».

Otro de los aspectos cuestionados tiene que ver con las pruebas de diagnóstico que se utilizan para identificar la presencia del virus en un individuo; particularmente, se cuestiona la sensibilidad y especificidad de estas pruebas (5). Se afirma que las mismas industrias farmacéuticas que fabrican y comercializan los reactivos para estas pruebas reconocen lo inapropiado de las mismas (4). Lo anterior se sustenta en que las instrucciones que vienen con los reactivos advierten: «la prueba de ELISA sola no puede ser usada para el diagnóstico del sida, ni siquiera cuando las muestras que reaccionan positivamente sugieran con alta probabilidad la presencia de anticuerpos anti-VIH-1» (4). Además, señalan que las instrucciones para Western blot especifican que esta prueba no debe ser usada como la única base para el diagnóstico de la infección por VIH-1 (4).

Las pruebas de ELISA utilizadas de rutina en el diagnóstico de las infecciones virales permiten la detección de anticuerpos contra el virus y no la presencia de partículas virales. En otras palabras, el diagnóstico de la infección se hace en forma indirecta detectando la presencia de proteínas, en este caso anticuerpos, que produce el sistema inmune en respuesta a la infección viral. Ni detectando la presencia de anticuerpos anti-VIH ni el virus mismo por diferentes pruebas de laboratorio, se puede hacer el diagnóstico del sida, ya que éste es el estado de inmunodeficiencia avanzado que presenta entidades clínicas o marcadores biológicos específicos, y no es sinónimo de infección por el VIH-1. La prueba de ELISA para VIH tiene una sensibilidad cercana al 100% y una especificidad del 99% (42). Esto significa que de cada 100 personas no infectadas sometidas a la prueba, una tendrá un resultado positivo (falso positivo).

Dadas las implicaciones de un diagnóstico positivo de VIH-1, se han empleado «pruebas confirmatorias» como el Western blot para minimizar las posibilidades de entregar resultados falsos

positivos. Los fabricantes de reactivos para Western blot señalan que el diagnóstico definitivo del VIH-1 tampoco es posible descartarlo solamente con base en esta prueba, dado que no tiene una sensibilidad del 100% (42). Esto es debido principalmente a que, al igual que en cualquier infección viral, existe un período de «ventana inmunológica» durante el cual una persona infectada puede resultar negativa en estas pruebas, lo cual en el caso de VIH-1 puede llegar a ser hasta de seis meses después de adquirir la infección (43). Este lapso de tiempo corresponde al período necesario para que el sistema inmune del individuo haga el reconocimiento del virus y produzca los anticuerpos que se detectan con las pruebas de diagnóstico que se utilizan de rutina.

«El VIH no puede ser la causa del SIDA»

Los autores en pro de la teoría tóxico-nutricional argumentan que no existen pruebas científicas que demuestren la relación causal entre el VIH-1 y el sida (4,5). Su argumentación se basa en referencias publicadas mayoritariamente antes de 1987, época en la que aunque ya se conocía la existencia del VIH-1, la investigación apenas mostraba resultados preliminares, y se caracterizaba por tener más preguntas que respuestas alrededor del síndrome VIH/ sida.

1. Estos autores afirman tener suficientes argumentos para demostrar que el VIH-1 no cumple ninguno de los requisitos epidemiológicos, biológicos, ni del sentido común para ser la causa del sida (4). Sin embargo, no se ha presentado la evidencia científica que sustente sus afirmaciones. Los criterios establecidos para determinar una asociación causal se resumen en los siguientes (44): 1) asociación estadística entre causa y efecto; 2) precedencia del factor causal; 3) dependencia de la dosis; 4) la suspensión de la causa conlleva a la desaparición del efecto, y 5) plausibilidad biológica. Veamos como se pueden aplicar estos criterios a la asociación VIH-sida.

ASOCIACIÓN ESTADÍSTICA ENTRE CAUSA Y EFECTO

Desde que se empezó a hablar del sida varias teorías se postularon como posibles causas del síndrome, pero la que más sustento tuvo fue la teoría infecciosa. La semejanza que se encontró con el ya

establecido virus linfotrópico humano de células T tipo 1 (HTLV-1), con el que compartía los mismos patrones de infección que estaban registrando los pacientes con sida (exposición a sangre infectada, contacto sexual y transmisión madre-hijo), además de la disminución de linfocitos CD4+ que ocurría con el transcurso de esta nueva patología, condujo a pensar que el agente causal del sida podría ser un virus de la familia de los HTLV 1, o sea, un retrovirus.

Para 1983, se obtuvo evidencia que un retrovirus se encontraba en pacientes con sida y «pre-sida» y que de 5% al 10% de los pacientes con HTLV-1, estaban también infectados con este nuevo retrovirus humano (1,45). Ese mismo año, investigadores del grupo de Luc Montagnier en el Instituto Pasteur en Francia lograron aislar el nuevo virus que fue originalmente llamado HTLV-III por parte del grupo de Robert Gallo del Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos y LAV por parte del grupo francés (1,46).

A partir del aislamiento viral fue posible desarrollar una prueba de laboratorio que permitiera detectar la presencia de anticuerpos contra este virus en la sangre de individuos infectados (47). Con el desarrollo de esta prueba diagnóstica ha sido posible determinar la presencia del virus en la gran mayoría de individuos que exhiben una sintomatología compatible con el sida (48).

Diferentes estudios han demostrado la presencia del VIH-1 o anticuerpos anti-VIH-1 en más del 95% de los pacientes con sida en todo el mundo (23); estos datos son el principal sustento epidemiológico para la asociación causal de VIH/sida. En forma similar, se han detectado anticuerpos contra el VIH-1 en el 90% de las personas sometidas a transfusión sanguínea que posteriormente desarrollaron sida (23,39). Por otra parte, aunque se describen falsos positivos en las pruebas de detección de anticuerpos, la probabilidad de encontrar estos resultados en individuos sin la infección es menor de 0,01 (23). En esta diferencia de proporciones (>95% Vs. <1%), aun sin ninguna clase de análisis estadístico, salta a la vista que la asociación entre VIH y sida está explicada por mucho más que el azar.

PRECEDENCIA DEL FACTOR CAUSAL

«La simple presencia del VIH en pacientes con sida no establece relación de causalidad». El VIH podría

ser una más de las infecciones oportunistas que aparecen en el sida o, alternativamente, sida y VIH podrían ser consecuencias de un tercer factor de cualquier naturaleza. Esta situación puede dilucidarse al determinar el orden de aparición de los eventos.

La mejor caracterización de la historia natural y el curso clínico de una enfermedad se obtiene a través de los estudios de cohorte, en los cuales los individuos son captados con diferentes grados de exposición a uno o varios factores de riesgo y, posteriormente, son seguidos en el tiempo hasta la aparición de desenlaces de importancia clínica y epidemiológica. La historia natural de la infección por VIH y el desarrollo del sida, así como el curso clínico de la enfermedad con el uso de la terapia antirretroviral, han sido conocidos en detalle gracias a estudios de cohorte, y específicamente en el Estudio de Cohorte Multicéntrico de Sida (49).

Este estudio reclutó hombres homosexuales y bisexuales entre 1984 y 1985 en cuatro ciudades de los Estados Unidos: Baltimore, Chicago, Pittsburgh y Los Angeles. De 4.089 participantes (58,6%) que ingresaron a la cohorte de seronegativos para VIH, 615 (15%) han hecho seroconversión (es decir, adquirieron la infección durante el seguimiento), y 299 de éstos (48,6%) han desarrollado sida (50). Así mismo, 46,8% de los individuos seroprevalentes (es decir, aquellos que ingresaron a la cohorte con infección previa por VIH) y 51,4% de los que hicieron seroconversión en el transcurso del seguimiento, han permanecido libres de enfermedades marcadoras de sida. Este porcentaje de pacientes que no progresan a sida se explica, casi en su totalidad, por el uso de la terapia antirretroviral y por los cambios individuales en el curso clínico que se mencionaron previamente.

Por otra parte, ni en esta cohorte ni en ninguna otra investigación del mundo ha sido posible demostrar casos de sida que sean seronegativos al VIH y que seroconviertan con posterioridad al desarrollo de la enfermedad. Esta precedencia de la infección a la enfermedad es uno de las evidencias más claras que soportan la causalidad del VIH en el sida (51).

Dependencia de la dosis

Hablar de una dependencia de la dosis en el fenómeno VIH/sida, era hasta hace algunos años impo-

sible puesto que no existían métodos para cuantificar el grado de infección. Sin embargo, con el desarrollo de pruebas moleculares que determinan la carga viral, es posible cuantificar el número de genomas virales por mililitro de sangre. Con este desarrollo tecnológico, se ha podido establecer que a medida que el número de partículas virales aumenta, mayor es el riesgo de desarrollar el sida en un plazo dado. Esto es debido a la relación directamente proporcional entre el aumento de la carga viral y el descenso en el número de linfocitos T CD4+ (52), que son las principales células blanco del virus. Las cargas virales bajas, a su vez, se asocian a progresión lenta o no progresión.

El Estudio de Cohorte Multicéntrico de Sida también permitió determinar de qué manera el nivel de partículas infecciosas define la probabilidad de desarrollar la inmunodeficiencia a corto plazo. Así, por ejemplo, una persona con menos de 500 copias de ARN viral por mililitro en plasma tendrá una progresión menor (5,4%) que aquellas con más de 30.000 copias por mililitro en plasma, cuya probabilidad se acerca al 80%.

Suspensión de la causa conlleva a la desaparición del efecto

Desde los inicios de la epidemia por VIH-1, los investigadores han tratado de disminuir o retardar los efectos devastadores que produce el virus sobre el sistema inmune. Actualmente, no se puede hablar de la suspensión de la causa y desaparición total del efecto, ya que la historia natural de esta infección ha demostrado que una vez el individuo adquiere la infección por el VIH-1, ésta no desaparece. Sin embargo, sí se puede hablar de una reducción de la «causa» o carga viral, que disminuye lo que llamamos «efecto», es decir, retrasa la aparición del sida en forma indefinida.

El retardo en la aparición del sida y el aumento significativo de la calidad de vida de los individuos infectados por el VIH-1 se logra gracias a la instauración de la terapia antirretroviral. Actualmente, se utiliza la terapia HAART (*highly active anti-retroviral therapy*), la cual consiste en la ingestión diaria de tres o más medicamentos antirretrovirales que se toman combinados para lograr un mejor efecto. Hasta el momento, existen cuatro clases de antirretrovirales aprobados por la *Food and Drug Administration* (FDA) de los Estados Unidos

inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de los nucleósidos, inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de los nucleósidos, inhibidores de la proteasa e inhibidores de la fusión (53).

Varios estudios han demostrado que la carga viral disminuye significativamente, una vez se inicia el tratamiento, disminuyendo el riesgo de que el paciente progrese a sida. Consecuente con lo anterior, se observa un incremento en el número de linfocitos T CD4+ que se refleja en una restauración inmunológica parcial (54). Los niveles de ARN viral en plasma durante los primeros seis meses de tratamiento con zidovudina, disminuyen hasta en 75% y, además, se observa un incremento hasta del 10% en el recuento de linfocitos T CD4+.

Después de seis a nueve meses de tratamiento se puede hablar de una supresión viral, ya que el ARN viral desciende a niveles prácticamente indetectables (<50 copias por ml) en la mayoría de las personas (55); al año, se observa un acentuado descenso del ARN viral y un incremento considerable de los linfocitos T CD4+, de 470 a 758 x 10³ células/ml en el 93% de los individuos con infección reciente (54). De igual manera, la terapia antirretro-viral en individuos con infección de larga duración también induce una recuperación significativa del número de linfocitos T CD4+ (56). Este reestablecimiento inmunológico depende tanto del aumento en número como de la funcionalidad de los linfocitos T CD4+.

PLAUSIBILIDAD BIOLÓGICA

La plausibilidad biológica de una enfermedad infecciosa puede satisfacerse con el cumplimiento de los postulados de Koch que determinan si un patógeno en particular es el agente causal de un enfermedad cuando se cumple lo siguiente: 1) el microorganismo se aísla de forma consistente de diferentes individuos con la enfermedad; 2) crece en cultivo puro *in vitro*; 3) cuando el cultivo puro es inoculado a un voluntario humano o animal susceptible, debe producirse la enfermedad típica, y 4) el microorganismo se debe poder aislar a partir del individuo en que se produjo la enfermedad experimentalmente. Estos criterios han sido utilizados exitosamente durante más de un siglo para determinar el agente etiológico de casi todas las enfermedades infecciosas conocidas, y han sido uno de los pilares que han permitido el control exitoso de muchas de ellas.

Gracias al desarrollo de los cultivos de linfocitos y otras células sanguíneas, ha sido posible obtener el aislamiento del VIH en cultivo puro a partir de diversos tejidos y líquidos corporales de pacientes con sida desde 1983 (57).

Los estudios iniciales del cultivo viral reportaron que el aislamiento viral era más frecuente a partir de células mononucleares de sangre periférica, de pacientes en estadios tempranos de la infección que en pacientes que ya habían desarrollado el sida (58). Hoy en día es posible afirmar que el aislamiento del virus a partir del cocultivo de células de un paciente con sida y células mononucleares de sangre periférica de un individuo sano ha sido posible en más del 97% de personas con anticuerpos para este virus (59).

El cultivo viral tiene una sensibilidad del 90% y la tasa de éxito es más baja con muestras de pacientes asintomáticos (60), e inclusive existe un reporte en el que se señala que el mayor porcentaje de aislamiento viral se ha hecho en pacientes con sida, anteriormente clasificación IVc de los *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) (59), y ahora, según la última clasificación de los CDC (1993), en estadio C3.

Por el contrario, en pacientes con terapia antirretroviral y con ARN viral indetectable en plasma, no ha sido posible aislar el virus (61). Miles de cepas de VIH-1 y VIH-2 se han aislado y caracterizado fenotípica y genotípicamente, algunas de las cuales se pueden obtener de colecciones como la *American Type Culture Collection* (ATCC) y sus secuencias están disponibles en bancos informativos, como GenBank o Los Álamos.

Al igual que en muchos otros virus que causan patología en humanos, por ejemplo, los de las hepatitis B y C, el criterio de inoculación y luego aislamiento del mismo agente sólo ha podido llevarse a cabo en simios. Varios primates no humanos han sido usados para estudiar la infección por VIH-1 (62). Los chimpancés inoculados raramente desarrollan una viremia en plasma, pero es posible detectar células mononucleares infectadas de sangre periférica. Así mismo, en algunos de los animales infectados se observan linfadenopatías y una erupción, que se puede diseminar hacia el tronco, las extremidades y la cara (63).

Aunque menos frecuente, también existen reportes de infección crónica en chimpancés e inclusive el desarrollo de sida con características similares

a la infección por VIH-1 en humanos, tales como: células CD4+ con recuentos menores de 200/μl, inversión de la relación CD4+:CD8+, una muy alta carga viral plasmática y linfoide, reducción importante en la expresión del receptor de interleucina 2 para células T CD4+, mayor expresión de CD38 en células T CD8+/HLA-DR+, y mayores concentraciones en suero para el factor de necrosis tumoral soluble y la b2 microglobulina (64).

Sin embargo, debido al carácter lento que tiene la infección en este tipo de animales y a consideraciones éticas, se ha optado por utilizar monos *Rhesus* que experimentan un curso de la infección más rápido (65). Los virus aislados de las muestras de sangre y de los ganglios linfáticos de los animales infectados exhiben un alto título mostrando picos entre 10⁴ y 10⁵ copias por mililitro de ARN viral, incluso once meses después de la infección.

Por otra parte, en otros primates se ha logrado transmitir la infección por VIH-2 y en algunos, producir sida (66). En babuinos, la infección con VIH-2 produjo una reducción significativa en las células CD4+, linfopenia y trombocitopenia, lo que indica que el VIH-2 tiene el potencial de causar una enfermedad similar a la causada por el VIH-1 en humanos (65).

La reproducción de la enfermedad en macacos sanos a partir del inóculo proveniente de humanos o de otros macacos previamente infectados, y su posterior aislamiento en cultivos celulares a partir de muestras de dichos animales, satisface plenamente los dos últimos postulados de Koch. Dado todo lo anterior, es claro que el VIH-1 y el VIH-2 cumplen con todos los criterios de plausibilidad biológica para ser considerados los agentes etiológicos del sida.

CONCLUSIÓN

Finalmente, la investigación virológica actual ha permitido refutar las hipótesis planteadas por la corriente disidente y aunque es claro que quedan algunas paradojas por resolver, no es cierto que la evolución y los conocimientos actuales que de una u otra manera apoyan la teoría infecciosa hayan surgido como una necesidad de refutar las objeciones de la contraparte. Las pruebas más recientes de ello, como el uso de la terapia antirretroviral y el uso de una prueba para medir la carga viral, no se desarrollaron para probar la etiología, sino para controlar la replicación viral y hacer el seguimiento de los pa-

cientes infectados y son, por consiguiente, evidencia independiente y no sesgada a favor de la teoría infecciosa.

Es por eso que consideramos que la controversia sobre la etiología del sida, justificada en los primeros años de la epidemia, debe ser reconsiderada a la luz de la evidencia científica acumulada en las últimas dos décadas. En la medida en que nuevas evidencias han demostrado la etiología viral de la enfermedad, los artículos que la debatían han ido desapareciendo de las publicaciones científicas, como puede verificarse fácilmente en una búsqueda bibliográfica. La comunidad científica ahora debe concentrarse en diseñar vacunas eficientes y en implementar terapias que mejoren la calidad de vida de quienes se encuentran infectados con VIH-1 y no puede desviar sus esfuerzos del objetivo fundamental del bienestar y la salud de los pacientes.

Agradecimientos

El presente artículo fue producido gracias al apoyo del Comité para el Desarrollo de la Investigación (CODI) de la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad de Antioquia, Estrategia de Sostenibilidad de Grupos de Investigación. Igualmente a Alyne Harrison y Erskine Palmer de los *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) de Atlanta, GA., por facilitarnos las imágenes de microscopía electrónica del VIH-1.

REFERENCIAS

1. GALLO RC. Historical essay. The early years of HIV/AIDS. *Science*. 2002;298:1728-1730.
2. GALLO RC, MONTAGNIER L. The discovery of HIV as the cause of AIDS. *N Engl J Med*. 2003;349:2283-2285.
3. CLAVEL F, MANSINHO K, CHAMARET S, ET AL. Human immunodeficiency virus type 2 infection associated with AIDS in West Africa. *N Engl J Med*. 1987;316:1180-1185.
4. GIRALDO R. SIDA y agentes estresantes. 2ª ed., Medellín: Editorial Universidad de Antioquia; 2002.
5. GIRALDO R. Los agentes estresantes inmunológicos son la verdadera causa del SIDA. En: Fundación Ciencia y Arte. Alternativas de tratamiento y prevención del SIDA como enfermedad tóxica y nutricional. Medellín, Colombia: ¿?; 2004. p.6-28.
6. BARRE-SINOSSI F. The early years of HIV research: integrating clinical and basic research. *Nature Medicine*. 2003;9:844-846.
7. LEVY JA, CONRAT H, OWNES RA. Viruses using reverse transcription during replication. En: Levy JA, Conrat H, Ownes RA, eds. *Virology*. New Jersey: ¿? 1994. p.125-52.
8. GAO F, BAILES E, ROBERTSON DL, ET AL. Origin of HIV-1 in the chimpanzee *Pan troglodytes troglodytes*. *Nature*. 1999;397:436-441.
9. LEVY JA. Pathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *Microbiol Rev*. 1993;57:183-289.
10. NISOLE S, SAIB A. Early steps of retrovirus replicative cycle. *Retrovirology*. 2004;1:9.
11. HUANG ST, LEE HC, LIU KH, LEE NY, KO WC. Acute human immunodeficiency virus infection. *J Microbiol Immunol Infect*. 2005;38:65-68.
12. PANTALEO G, GRAZIOSI C, FAUCI AS. New concepts in the immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med*. 1993;328:327-335.
13. MIKHAIL M, WANG B, SAKSENA NK. Mechanisms involved in non-progressive HIV disease. *AIDS Rev*. 2003;5:230-244.
14. CARBONE J, GIL J, BENITO JM, FERNANDEZ-CRUZ E. Decreased expression of activation markers on CD4 T lymphocytes of HIV-infected long-term non-progressors. *Aids*. 2003;17:133-134.
15. HUANG YT, WRIGHT A, GAO X, KULICK L, YAN H, LAMM ME. Intraepithelial cell neutralization of HIV-1 replication by IgA. *J Immunol*. 2005;174:4828-4835.
16. MICHAEL NL, CHANG G, LOUIE LG, ET AL. The role of viral phenotype and CCR-5 gene defects in HIV-1 transmission and disease progression. *Nat Med*. 1997;3:338-340.
17. DUESBERG PH. Human immunodeficiency virus and acquired immunodeficiency syndrome: correlation but not causation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989;86:755-764.
18. PAPADOPULOS-ELEOPULOS E, TURNER VF, PAPADIMITRIOU JM, CAUSER D, HEDLAND-THOMAS B, PAGE BA. A critical analysis of the HIV-T4-cell-AIDS hypothesis. *Genetica*. 1995;95:5-24.
19. WESTENDORP MO, FRANK R, OCHSENBAUER C, ET AL. Sensitization of T cells to CD95-mediated apoptosis by HIV-1 Tat and gp120. *Nature*. 1995;375:497-500.
20. HAZENBERG MD, OTTO SA, VAN BENTHEM BH, ET AL. Persistent immune activation in HIV-1 infection is associated with progression to AIDS. *Aids*. 2003;17:1881-1888.
21. CAO J, PARK IW, COOPER A, SODROSKI J. Molecular determinants of acute single-cell lysis by human immunodeficiency virus type 1. *J Virol*. 1996;70:1340-1354.
22. NAJERA O, GONZALEZ C, TOLEDO G, LOPEZ L, ORTIZ R. Flow cytometry study of lymphocyte subsets in malnourished and well-nourished children with bacterial infections. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2004;11:577-580.
23. O'BRIEN SJ, GOEDERT JJ. HIV causes AIDS: Koch's postulates fulfilled. *Curr Opin Immunol*. 1996;8:613-618.
24. HO DD, CAO Y, ZHU T, ET AL. Idiopathic CD4+ T-lymphocytopenia—immunodeficiency without evidence of HIV infection. *N Engl J Med*. 1993;328:380-385.
25. DUESBERG PH. Foreign-protein-mediated immunodeficiency in hemophiliacs with and without HIV. *Genetica*. 1995;95:51-70.
26. PAPADOPULOS-ELEOPULOS E, TURNER VF, PAPADIMITRIOU J, ET AL. A critique of the Montagnier evidence for the HIV/AIDS hypothesis. *Med Hypotheses*. 2004;63:597-601.
27. VERNAZZA PL, ERON JJ, FISCUS SA, COHEN MS. Sexual transmission of HIV: infectiousness and prevention. *Aids*. 1999;13:155-166.
28. PALENICEK J, FOX R, MARGOLICK J, ET AL. Longitudinal study of homosexual couples discordant for HIV-1 antibodies in the Baltimore MACS Study. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 1992;5:1204-1211.

29. GRAY RH, WAWER MJ, BROOKMEYER R, ET AL. Probability of HIV-1 transmission per coital act in monogamous, heterosexual, HIV-1-discordant couples in Rakai, Uganda. *Lancet*. 2001;357:1149-1153.
30. SHATTOCK RJ, MOORE JP. Inhibiting sexual transmission of HIV-1 infection. *Nat Rev Microbiol*. 2003;1:25-34.
31. UNAIDS. Joint united nations programme on HIV/AIDS : report on the global HIV/AIDS epidemic, June 2000. Geneva; 2000.
32. FROM THE CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. The global HIV and AIDS epidemic, 2001. *Jama*. 2001;285:3081-3083.
33. TABEI Y, SADAMASU K, MORI K, ET AL. Studies on maternal transmission of HIV-1. *Kansenshogaku Zasshi*. 1995;69:858-863.
34. MAGONI M, BASSANI L, OKONG P, ET AL. Mode of infant feeding and HIV infection in children in a program for prevention of mother-to-child transmission in Uganda. *Aids*. 2005;19:433-437.
35. SPERLING RS, SHAPIRO DE, COOMBS RW, ET AL. Maternal viral load, zidovudine treatment, and the risk of transmission of human immunodeficiency virus type 1 from mother to infant. *Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 076 Study Group*. *N Engl J Med*. 1996;335:1621-1629.
36. DOUGLAS GC, THIRKILL TL, LASALLE J. Automated quantitation of cell-mediated HIV type 1 infection of human syncytiotrophoblast cells by fluorescence in situ hybridization and laser scanning cytometry. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2001;17:507-516.
37. MOCK PA, SHAFFER N, BHADRAKOM C, ET AL. Maternal viral load and timing of mother-to-child HIV transmission, Bangkok, Thailand. Bangkok Collaborative Perinatal HIV Transmission Study Group. *Aids*. 1999;13:407-414.
38. Recommendations for use of antiretroviral drugs in pregnant HIV-1-infected women for maternal health and interventions to reduce perinatal HIV-1 transmission in the United States. *Antiretroviral clinical scenarios*: National Library of Medicine; 2002. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?rid=hstat2.section.11626>
39. GOEDERT JJ, KESSLER CM, ALEDORT LM, ET AL. A prospective study of human immunodeficiency virus type 1 infection and the development of AIDS in subjects with hemophilia. *N Engl J Med*. 1989;321:1141-1148.
40. CUMMING PD, WALLACE EL, SCHORR JB, DODD RY. Exposure of patients to human immunodeficiency virus through the transfusion of blood components that test antibody-negative. *N Engl J Med*. 1989;321:941-946.
41. RHODES T, LOWNDES C, JUDD A, ET AL. Explosive spread and high prevalence of HIV infection among injecting drug users in Togliatti City, Russia. *Aids*. 2002;16:F25-31.
42. ABBOTT DIAGNOSTICS DIVISION. Enzimoimunoanálisis de micropartículas (MEIA) para la detección cualitativa de anticuerpos frente al virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (grupos M y O) y/o tipo 2 (VIH-1/VIH-2) en suero o plasma humano; 2003.
43. BACHMANN MF, ZINKERNAGEL RM. Neutralizing antiviral B cell responses. *Annu Rev Immunol*. 1997;15:235-270.
44. GRAY-DONALD K, KRAMER MS. Causality inference in observational vs. experimental studies. An empirical comparison. *Am J Epidemiol*. 1988;127:885-892.
45. GOEDERT J, GALLO RC. Epidemiological evidence that HTLV-III is the AIDS agent. *Eur J Epidemiol*. 1985;1:155-159.
46. MONTAGNIER L. Historical essay. A history of HIV discovery. *Science*. 2002;298:1727-1728.
47. NEURATH AR, STRICK N, SPROUL P, ET AL. Radioimmunoassay and enzyme-linked immunoassay of antibodies to the core protein (P24) of human T-lymphotropic virus (HTLV III). *J Virol Methods*. 1985;11:75-86.
48. AIUTI F, ROSSI P, SIRIANNI M, ET AL. IgM and IgG antibodies to human T cell lymphotropic retrovirus (HTLV-III) in lymphadenopathy syndrome and subjects at risk for AIDS in Italy. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1985;291:165-166.
49. KINGSLEY LA, DETELS R, KASLOW R, ET AL. Risk factors for seroconversion to human immunodeficiency virus among male homosexuals. Results from the Multicenter AIDS Cohort Study. *Lancet*. 1987;1:345-349.
50. KINGSLEY LA, ZHOU SY, BACELLAR H, ET AL. Temporal trends in human immunodeficiency virus type 1 seroconversion 1984-1989. A report from the Multicenter AIDS Cohort Study (MACS). *Am J Epidemiol*. 1991;134:331-339.
51. KASLOW RA, PHAIR JP, FRIEDMAN HB, ET AL. Infection with the human immunodeficiency virus: clinical manifestations and their relationship to immune deficiency. A report from the Multicenter AIDS Cohort Study. *Ann Intern Med*. 1987;107:474-480.
52. O'BRIEN WA, HARTIGAN PM, MARTIN D, ET AL. Changes in plasma HIV-1 RNA and CD4+ lymphocyte counts and the risk of progression to AIDS. *Veterans Affairs Cooperative Study Group on AIDS*. *N Engl J Med*. 1996;334:426-431.
53. YENI PG, HAMMER SM, HIRSCH MS, ET AL. Treatment for adult HIV infection: 2004 recommendations of the International AIDS Society-USA Panel. *Jama*. 2004;292:251-265.
54. KAUFMANN GR, ZAUNDERS JJ, CUNNINGHAM P, ET AL. Rapid restoration of CD4 T cell subsets in subjects receiving antiretroviral therapy during primary HIV-1 infection. *Aids*. 2000;14:2643-2651.
55. YERLY S, PERNEGER TV, HIRSCHL B, ET AL. A critical assessment of the prognostic value of HIV-1 RNA levels and CD4+ cell counts in HIV-infected patients. The Swiss HIV Cohort Study. *Arch Intern Med*. 1998;158:247-252.
56. DANIEL N, CHARMETEAU B, GRABAR S, ET AL. Use of well-defined HIV-derived epitopes to evaluate CD4(+) and CD8(+) T cell responses in patients with chronic HIV-1 infection treated with HAART. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2004;20:827-835.
57. GALLO RC, SALAHUDDIN SZ, POPOVIC M, ET AL. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science*. 1984;224:500-503.
58. LEVY JA, SHIMABUKURO J. Recovery of AIDS-associated retroviruses from patients with AIDS or AIDS-related conditions and from clinically healthy individuals. *J Infect Dis*. 1985;152:734-738.
59. COOMBS RW, COLLIER AC, ALLAIN JP, ET AL. Plasma viremia in human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med*. 1989;321:1626-1631.
60. SCHÜPBACH J, GALLO R. Human Retroviruses. En: *Specter S, Hodinka R, Young S, eds. Clinical Virology Manual-3rd ed. Washington DC; 2000: 513-560.*
61. FINZI D, HERMANKOVA M, PIERSON T, ET AL. Identification of a reservoir for HIV-1 in patients on highly active antiretroviral therapy. *Science*. 1997;278:1295-1300.
62. HAROUSE JM, GETTIE A, TAN RC, BLANCHARD J, CHENG-MAYER C. Distinct pathogenic sequela in rhesus macaques infected with CCR5 or CXCR4 utilizing SHIVs. *Science*. 1999;284:816-819.
63. SHIBATA R, HOGGAN MD, BROSCIUS C, ET AL. Isolation and characterization of a syncytium-inducing, macrophage/T-cell line-tropic human immunodeficiency virus type 1 isolate that readily infects chimpanzee cells in vitro and in vivo. *J Virol*. 1995;69:4453-4462.
64. O'NEIL SP, NOVEMBRE FJ, HILL AB, ET AL. Progressive infection in a subset of HIV-1-positive chimpanzees. *J Infect Dis*. 2000;182:1051-1062.
65. LOCHER CP, WITT SA, HERNDIER BG, ET AL. Increased virus replication and virulence after serial passage of human immunodeficiency virus type 2 in baboons. *J Virol*. 2003;77:77-83.
66. APETREI C, GORMUS B, PANDREA I, ET AL. Direct inoculation of simian immunodeficiency virus from sooty mangabeys in black mangabeys (*Lophocebus aterrimus*): first evidence of AIDS in a heterologous African species and different pathologic outcomes of experimental infection. *J Virol*. 2004;78:11506-11518.