

UNOFFICIAL TRANSLATION

This document has been translated from its original language using DeepL Pro (AI translation technology) in order to make more content available to HIV Justice Academy users. We acknowledge the limitations of machine translation and do not guarantee the accuracy of the translated version.

No copyright infringement is intended. If you are the copyright holder of this document and have any concerns, please contact academy@hivjustice.net.

TRADUCTION NON OFFICIELLE

Ce document a été traduit de sa langue d'origine à l'aide de DeepL Pro (une technologie de traduction en ligne basée sur l'intelligence artificielle) pour offrir aux utilisateurs de HIV Justice Academy une plus grande sélection de ressources. Nous sommes conscients des limites de la traduction automatique et ne garantissons donc pas l'exactitude de la traduction.

Aucune violation des droits d'auteur n'est intentionnelle. Si vous êtes le détenteur des droits d'auteur associés à ce document et que sa traduction vous préoccupe, veuillez contacter academy@hivjustice.net.

TRADUCCIÓN NO OFICIAL

Este documento fue traducido de su idioma original usando DeepL Pro (una aplicación web basada en inteligencia artificial) a fin de facilitar la lectura del contenido para los usuarios de la HIV Justice Academy. Reconocemos las limitaciones de las traducciones realizadas a través de este tipo de tecnología y no podemos garantizar la precisión de la versión traducida.

No se pretende infringir los derechos de autor. Si usted es el titular de los derechos de autor de este documento y tiene alguna duda, pónganse en contacto con academy@hivjustice.net.

НЕОФИЦИАЛЬНЫЙ ПЕРЕВОД

Этот документ был переведен с языка оригинала с помощью DeepL Pro (технологии перевода на основе искусственного интеллекта), чтобы обеспечить доступ пользователей Академии правосудия по ВИЧ к большему объему контента. Мы отдаем себе отчет в ограниченных возможностях машинного перевода и не гарантируем точности переведенной версии документа

Мы не имели намерения нарушить чьи-либо авторские права. Если вам принадлежат авторские права на этот документ, и у вас имеются возражения, пожалуйста, напишите нам на адрес academy@hivjustice.net

El análisis filogenético como herramienta forense en las investigaciones sobre la transmisión del VIH

Ana B. Abecasis^{a,b}, Marta Pingarilho^a y Anne-Mieke Vandamme^{a,b}

Dado que el VIH es un virus que evoluciona rápidamente, las secuencias genómicas del VIH de varios individuos pueden utilizarse para investigar si pertenecen a una red de transmisión. Desde el tristemente célebre "caso del dentista de Florida" a principios de la década de 1990, los análisis filogenéticos se han utilizado de forma recurrente en los tribunales como herramienta forense en las investigaciones sobre la transmisión del VIH, por ejemplo en los casos en los que uno o varios denunciados alegan que un acusado les ha infectado ilegalmente con el VIH. Estos casos pueden surgir tanto en el contexto de las leyes penales específicas del VIH -en los países en los que la transmisión de la infección por el VIH está específicamente tipificada como delito- como en el contexto de las leyes generales, por ejemplo, aplicando las leyes de agresión física o sexual a los casos relacionados con el VIH. Aunque el análisis filogenético como técnica forense para la investigación de la transmisión del VIH se ha convertido en algo habitual en varios países, las metodologías aún no se han estandarizado, lo que a veces da lugar a conclusiones injustificadas. En esta revisión bibliográfica, revisamos las investigaciones de casos judiciales de VIH publicadas en la literatura científica, así como los aspectos metodológicos importantes para la aplicación y estandarización de los métodos de análisis filogenético como herramienta forense. Las metodologías filogenéticas están mejorando rápidamente, de tal manera que, más recientemente, la relación filogenética, la direccionalidad de la transmisión y la cronología de los nodos en el árbol se utilizan para evaluar si el análisis filogenético de la transmisión es consistente o contradictorio con las acusaciones. Se constata que ha habido una falta de coherencia entre los métodos utilizados en las investigaciones de los casos judiciales y que es esencial definir las directrices que deben utilizar los expertos forenses filogenéticos en los casos de transmisión del VIH en los tribunales. Copyright © 2018 Wolters Kluwer Health, Inc. Todos los derechos reservados.

AIDS 2018, 32:543- 554

Palabras clave: tribunal, forense, VIH, filogenética, transmisión

Introducción

- (1) El rápido ritmo evolutivo del VIH permite estudiar las redes de transmisión de la infección por el VIH-1.
- (2) La investigación de la transmisión del VIH como herramienta forense es frecuente. Puede ocurrir en el contexto del derecho penal o civil, ya sea en virtud de una ley específica sobre el VIH o no.
- (3) Los temas candentes que se debaten actualmente en el contexto de las investigaciones forenses sobre la transmisión del VIH son

si se puede determinar la dirección de la transmisión, si se pueden excluir los vínculos intermedios y si puede aportar pruebas sobre el momento de la transmisión del VIH.

La divergencia genética del VIH es tan grande, que un mismo individuo alberga un enjambre de virus genéticamente ligeramente diferentes: "cuasiespecies" [1]. Durante la transmisión, una o unas pocas de estas variantes del virus se transmiten y

^aGlobal Health and Tropical Medicine (GHTM), Instituto de Higiene y Medicina Tropical/Universidade Nova de Lisboa (IHMT/ UNL), Lisboa, Portugal, y^b Clinical and Epidemiological Virology, Department of Microbiology and Immunology, Rega Institute for Medical Research, Clinical and Epidemiological Virology, KU Leuven - University of Leuven, Leuven, Belgium. Correspondencia a Ana B. Abecasis, PhD, MD, PharmD, Global Health and Tropical Medicine (GHTM), Instituto de Higiene e Medicina Tropical/Universidade Nova de Lisboa (IHMT/UNL), Lisboa, Portugal.

Correo electrónico: ana.abecasis@ihmt.unl.pt

Recibido: 26 de junio de 2017; revisado: 27 de noviembre de 2017; aceptado: 11

de diciembre de 2017. DOI:10.1097/QAD.0000000000001728

ISSN 0269-9370 Copyright © 2018 Wolters Kluwer Health, Inc. Todos los derechos reservados.
Copyright © 2018 Wolters Kluwer Health, Inc. Todos los derechos reservados.

posteriormente divergen en el individuo recién infectado, de manera que los individuos epidemiológicamente vinculados nunca tienen el mismo virus [2]. Esta enorme variación genética se ha utilizado con éxito para la investigación a escala epidémica, para estudiar la historia evolutiva y la filogeografía [3,4], y a escala local, para estudiar las redes de transmisión de pacientes con VIH-1 [5,6].

La inferencia filogenética se ha convertido en una forma estándar de caracterizar las redes de transmisión del VIH-1. Esto puede utilizarse para entender la transmisión, para ayudar a desarrollar mejores iniciativas de prevención de salud pública [5,6] o para estudiar la transmisión de la resistencia a los medicamentos [7]. Además, se ha utilizado en los tribunales como parte de las pruebas en los intentos de demostrar, o refutar, la transmisión entre el acusado y el denunciante.

Los casos de investigaciones sobre la transmisión del VIH se producen en el marco del derecho penal o del derecho civil. El derecho penal se ocupa de los delitos y del castigo legal de los mismos. El derecho civil se ocupa de las disputas entre individuos, entre organizaciones y/o entre ambos. En el derecho civil, el resultado implica principalmente una indemnización por daños y perjuicios, y/o un requerimiento judicial; en el derecho penal, el acusado es declarado inocente o culpable, y si es culpable se le impone una pena privativa o no privativa de libertad, a menudo acompañada de una condena pública a través de los medios de comunicación y, a veces, el registro de por vida de los delincuentes sexuales (en las jurisdicciones en las que los procesos relacionados con el VIH se consideran agresiones sexuales). Las leyes penales relacionadas con este tema varían de un país a otro. Los procesamientos pueden producirse en virtud de leyes específicas sobre el VIH (unos 70 países tienen leyes penales específicas sobre el VIH) o en virtud de leyes penales generales o de salud pública, como la puesta en peligro, el envenenamiento, la agresión física o sexual e incluso el asesinato. Se sabe que al menos 32 países han aplicado leyes generales o de salud pública, y tres (Australia, Dinamarca y Estados Unidos) han aplicado tanto leyes penales específicas del VIH como generales [8,9]. En los casos penales que abordan las acusaciones de transmisión del VIH-1, a veces se recurre a la ciencia forense del VIH para probar tanto el momento como la dirección de la transmisión, a fin de demostrar que el acusado infectó al denunciante y que el acusado era consciente de su diagnóstico seropositivo en el momento de la supuesta transmisión [10].

La tecnología de perfiles de ADN se ha utilizado con éxito para relacionar a los sospechosos con las escenas del crimen; identificar a las víctimas de accidentes, desastres y guerras o exonerar a los presos condenados por error, ya que el genoma humano permanece relativamente inalterado durante nuestra vida. Sin embargo, en el caso de los individuos infectados por el VIH-1, el problema se vuelve mucho más difícil, ya que cada paciente alberga una cuasi-especie de cepas virales que evolucionan dinámicamente. La diferencia entre los virus de dos

individuos vinculados epidemiológicamente depende de muchos factores y aún no puede predecirse de forma fiable. Sin embargo, la inferencia filogenética intenta recapturar la epidemiología molecular de los virus. Cuando se pueden extraer hipótesis a priori basadas en el contacto

que el tratamiento puede prevenir la transmisión [12,13], también es importante determinar si el acusado era infeccioso en el momento del suceso. Nosotros

rastreo, los análisis filogenéticos pueden utilizarse para sacar conclusiones limitadas sobre los vínculos epidemiológicos entre los individuos implicados, en el contexto de la relación de los virus con los controles locales adecuados. En consecuencia, el análisis filogenético se ha utilizado recurrentemente como técnica forense para investigar si la relación entre los virus que infectan a un conjunto de individuos es compatible o está en contradicción con que el virus haya pasado directamente entre ellos [10].

Sin embargo, existen dudas sobre el análisis filogenético, en particular sobre si puede indicar la dirección de la transmisión, el momento de la transmisión del VIH y si se pueden excluir los vínculos intermedios [10,11]. El establecimiento del momento de la infección, en particular, es muy relevante, ya que uno de los requisitos del estado mental requerido (*mens rea*), por ejemplo la imprudencia, que debe probarse, es que la infección tuvo lugar después de que el acusado conociera su estado seropositivo. En casos más recientes se han utilizado análisis filogenéticos y de genética de poblaciones para estimar una ventana temporal aproximada de la infección.

Más allá de los fines de investigación, los análisis filogenéticos en los tribunales implican un cuidado adicional y riguroso respecto a lo que los resultados pueden probar en un caso concreto cuando se procesa a un acusado. En este contexto, esta revisión refina casos de tribunales de todo el mundo, de importancia crucial para la ciencia forense del VIH. Dado que los análisis filogenéticos para investigar las transmisiones se están extendiendo por todo el mundo, deben aplicarse las normas más rigurosas al uso adecuado de esas técnicas en los tribunales. En el material complementario (Suppl. 1, <http://links.lww.com/QAD/B207>) se ofrece una descripción de todos los casos publicados. Aunque las investigaciones sobre la transmisión del VIH en el ámbito forense se han vuelto muy comunes, la publicación científica de dichas investigaciones está disminuyendo, dada la falta de novedad. Por ello, muchos de los casos notificados ya no son tan recientes.

En los tribunales, los resultados de los análisis filogenéticos deben ponerse en el contexto de otros tipos de pruebas

La investigación filogenética es sólo uno de los muchos pasos necesarios para enmarcar lo que se puede concluir del árbol filogenético: es decir, concluir si el árbol es consistente con las acusaciones o las contradice. Otros dos aspectos muy importantes son la determinación del periodo ventana de la infección a partir de los resultados serológicos o moleculares, y la realización de un rastreo exhaustivo de los contactos para rastrear otras posibles fuentes de infección que deben incluirse en el análisis. Dado

No hemos podido encontrar datos sobre este tipo de pruebas en los artículos analizados, por lo que no podemos comentar cómo se han utilizado para la interpretación de los resultados filogenéticos.

Una topología específica de un solo árbol es compatible con varios escenarios de transmisión alternativos

Es imposible saber con certeza que se han tomado muestras de todas las personas implicadas en la red de transmisión. Si faltan eslabones debe evaluarse mediante el rastreo de contactos, y éstos dependen de los testimonios del acusado y del denunciante, así como de otros posibles testigos. Por lo tanto, al reconstruir un historial de transmisión a partir de un árbol filogenético en el contexto de las investigaciones forenses, nunca se debe dar por sentado que se conocen todos los vínculos. Los denunciantes tienen que recordar o estar dispuestos a revelar completamente todos los contactos de riesgo [14].

Los resultados del análisis filogenético deben interpretarse con cautela, tanto si se utiliza la secuenciación de poblaciones, como si se trata de clones múltiples o la secuenciación de próxima generación (NGS). Cuando se utiliza la secuenciación de poblaciones, si el análisis filogenético muestra que las dos cepas investigadas están más relacionadas entre sí que con las cepas de control, todos los escenarios alternativos son también plausibles (Fig. 1):

- (1) El acusado fue infectado por el demandante, no al revés;
- (2) hay un tercero con una cepa viral similar, que vincula al acusado y al denunciante;
- (3) tanto el denunciante como el acusado fueron infectados por uno o más terceros con cepas virales similares;

- (4) el demandante ya era seropositivo y fue reinfectado con otra cepa, ya sea por el acusado o por un tercero [10].

En muchos de los casos aquí revisados (Tabla 1 y Suppl. 1, <http://links.lww.com/QAD/B207>), el cluster monofilético era significativo y las investigaciones judiciales sugerían que se podían excluir los contactos intermedios, mientras que no se podían identificar otros contactos de riesgo. A menudo no se describió cómo se realizó el rastreo de contactos, en parte porque los que realizan el rastreo de contactos no son los mismos que los que realizan el análisis filogenético. Sin embargo, a menudo está claro que se utilizaron otras pruebas para apoyar o descartar la hipótesis de transmisión (por ejemplo, el momento de la seroconversión, el examen físico, el estado del VIH de otros miembros de la familia, los testimonios de otros individuos) [15-18].

La filogenética puede utilizarse para exonerar a los individuos

Hay ejemplos en los que la información presente en la topología del árbol se utilizó para exonerar a los individuos. En el caso de infección nosocomial descrito en [19], en el que dos enfermeras eran una fuente potencial de infección de un paciente, el virus de la enfermera 1 se agrupó significativamente en un clúster separado. El análisis filogenético fue crucial para excluir a la enfermera 1 como fuente. Además, la topología del árbol reconstruido en [20] se utilizó como prueba contra la transmisión de un cirujano infectado por el VIH-1 a su paciente. En efecto, parece lógico exonerar a los acusados que se agrupan significativamente separados del denunciante. Sin embargo, cuanto mayor sea el tiempo transcurrido desde los hechos, mayor será la probabilidad de que la transmisión posterior separe los virus que infectan a los vinculados

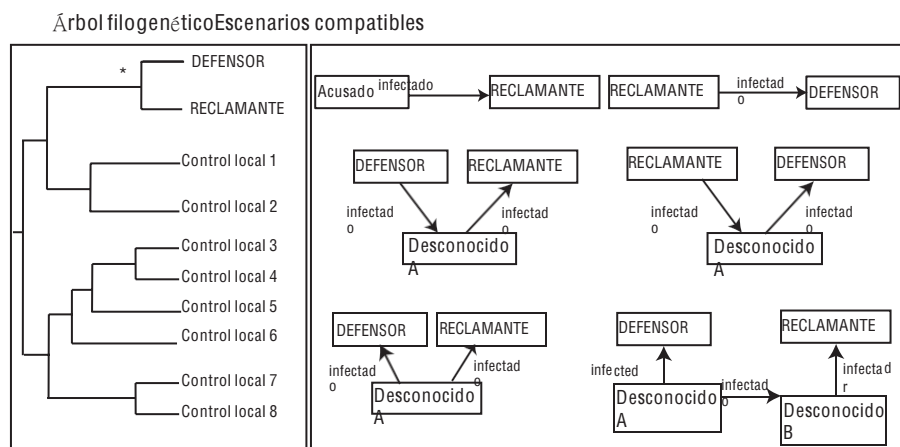


Fig. 1. Árbol filogenético hipotético para una investigación sobre la transmisión del VIH. Cuando el acusado y el denunciante forman un conglomerado monofilético que recibe un apoyo significativo, no se pueden excluir escenarios alternativos. Dado que

no es posible realizar un muestreo completo de todos los pacientes con VIH (o, al menos, de la población epidemiológicamente relevante que se encuentra cerca de las partes investigadas), es imposible saber si (y cuántos) otros individuos pertenecen a la misma cadena de transmisión. *Apoyo estadísticamente significativo de ese clúster.

Tabla 1. Lista de investigaciones de transmisión en las que se utilizó el análisis filogenético como técnica forense.

Contexto forense	Tipo de caso	Localización de contactos	Filogenética método	Genómica regiones	Criterios de selección de los controles	Análisis del genoma firmas	Resultado	Sentencia	Publicación y fecha
Primer dentista de Florida caso	Epidemiológico investigación	1100 pacientes examinados (7 que se encuentre infectado)	MP	env	Dos clínicas de VIH situadas en un radio de 90 millas del dentista	Sí	Las pruebas no permitieron descartar la hipótesis de transmisión	-	Ou <i>et al.</i> (1992) [24]
Caso de violación en Suecia	Caso penal	NAML	, MP y NJ	gag, pol	Misma región geográfica, mismo riesgo grupo	Sí	La evidencia no permitió descartar la hipótesis de la transmisión	Condenado	Albert (1993, 1994) [15,18]
Caso de transfusión de sangre Epidemiológico	investigación	416 pacientes	examinados Distancia por pares, ML, MP y NJ	cepas de VIH-1 gag10	10, aisladas principalmente en Estados Unidos	No	Pruebas contra la transmisión	-	Holmes (1993) [20] Jaffe (1994) Suppl. 1, http://links.lww.com/QAD/B207 - [6]
Primer caso de dentista en Florida	Epidemiológico investigación	1279 pacientes examinados (7 infectados)	MP	env	Dos clínicas de VIH situadas a menos de 90 millas del dentista	No	La evidencia no permitió descartar la hipótesis de la transmisión	-	DeBry (1995) [27]
Primer caso de dentista en Florida	Investigación epidemiológica	1100 pacientes examinados (7 infectados)	Estimación del cladograma y análisis anidados	env	clínicas de VIH situadas a menos de 90 millas del dentista	No	La evidencia no permitió descartar la hipótesis de la transmisión	-	Crandall (1995) Suppl. 1, http://links.lww.com/QAD/B207 - [4]
Ginecólogo/obstetra del Reino Unido	Investigación epidemiológica	Pacientes a los que el médico infectado había realizado procedimientos quirúrgicos en los 10 años anteriores; 475 personas más que pidieron hacerse la prueba después de conocer el caso	Por parejas distancia, ML, NJ	env	Miembro femenino VIH-1 positivo del mismo "círculo sexual"; un par de transmisión establecido entre hombres y mujeres; un trío de transmisión establecido; secuencias públicas de referencia	No	Pruebas contra la transmisión	-	Arnold (1995) Suppl. 1, http://links.lww.com/QAD/B207 - [8] Hochuli (1995) Suppl. 1, http://links.lww.com/QAD/B207 - [9]
Brote de la prisión de Glenochil	Investigación epidemiológica	De los 378 reclusos que estuvieron encarcelados durante el periodo de la encuesta, 227 (60%) aceptaron asesoramiento y 162 (43%) a una prueba del VIH	MLgag	, env	Dos internos anteriores de esa prisión que fueron fuentes putativas del brote, esposa de uno de los internos, pacientes escoceses no relacionados, subtipo B no relacionado	No	Hay pruebas que apoyen un brote en la prisión derivadas de una única fuente	-	Taylor (1995), BMJ [53] Yirrell (1997) [54]
Infección entre el paciente y el cirujano	Investigación epidemiológica	3004 pacientes que habían realizado procedimientos quirúrgicos con el cirujano después del momento en que se infectó	Por parejas distancia, NJ, ML	env, gag	Secuencias de referencia de diferentes VIH-1 subtipos	No	La evidencia no permitió descartar la hipótesis de la transmisión	-	Blanchard (1998) Suppl. 1, http://links.lww.com/QAD/B207 - [11]
Caso de abuso sexual en Alemania	Causa penal	NA	NJ	gag, env	Información no disponible	No	Evidencia no permitió descartar la hipótesis de la transmisión	El acusado confesó el crimen tras ser confrontado con los datos; no hay información sobre la sentencia judicial	Banaschack (2000) [16]
Caso de cirugía en París	Epidemiológico investigación	2 enfermeras seropositivas del personal quirúrgico	ML y MP	pol	los individuos infectados con envHIV-1 de la misma zona geográfica	Sí	Evidencia contra la transmisión de la enfermera 1; no hay evidencia contra la transmisión de la enfermera 2	-	Goujon (2000) [19]

Transmisión temeraria del VIH en Australia	Causa penal s pruebas no permitieron descartar la hipótesis de transmisión	Contactos sexuales de los sospechosos y contacto imprudente	Distancia entre el acusado y los otros ML, MP y NJ	gag, env	Los pacientes de la misma zona geográfica	Sí [21]			
Transmisión imprudente del VIH en Glenochil		Caso penal mismo análisis del brote de la prisión de Glenochil, utilizado en un segundo caso judicial	MLgag	, env	This fue el mismo análisis del brote de la prisión de Glenochil, utilizado en un segundo caso judicial	noEvidencia	no permitió descartar la hipótesis de la transmisión	5 años de prisión	Bird (2001) [56]
Caso del entrenador de Dinamarca entrenados por el		Caso criminal 10 chicos sospechoso	ML, MP y NJgag	, pol, env	14 infectados con VIH-1 no relacionados individuos de la misma zona geográfica que representan diferentes grupos de riesgo de transmisión	SíLa evidencia	no permitió descartar la hipótesis de la transmisión	Acusado condenado a 6 años de prisión	Machuca (2001) [17]

C
o
p
y
r
i
g
h
t
©
2
0
1
8
W
o
l
t
e
r
s
K
l
u
w
e
r
H
e
a
l
t
h
I
n
c.
T
o
d
o
s
l
o
s
d
e
r
e
c
h
o
s

Cuadro 1 (continuación)

Contexto forense	Tipo de caso	Localización de contactos	Filogenética método	Genómica regiones	Criterios de selección de los controles	Análisis de genómico firmas	Resultado	Sentencia	Publicación y fecha
Luisiana	Causa penal gastroenterólogo	Todos los contactos sexuales del acusado	MP, ME, Bayesiano	pol, env	32 controles seleccionados del mismo área metropolitana local	No	Las pruebas no permitieron descartar la hipótesis de transmisión	Acusado condenado a 50 años para intento de segundo-asesinato en grado de tentativa	Metzker (2002) Suppl. 1, http://links.lww.com/QAD/B207 - [27]
Agresión sexual durante la causa penal profesional actividades	NA	NA	ML, Bayesiano, Estadística Parsimonia Redes	env, pol	Controles recogidos de dos locales hospitales basados en criterios epidemiológicos zona geográfica, momento de la infección, grupo de edad y riesgo b10 base de datos de controles BLAST por denunciante	No	Las pruebas no permitieron descartar la hipótesis de transmisión	-	Lemey (2005) [28]
Libia médico extranjero caso del personal	Caso criminal	NA	ML y Bayesiano MCMC, Molecular Análisis del reloj	gag	Secuencias públicas de referencia más cercanas a las secuencias de los infectados por el VIH niños, seleccionados mediante BLAST	No	Apoyo a la larga duración transmisión nosocomial en el hospital	Todos los acusados fueron liberados	de Oliveira (2006) [46]
El caso de Washington y dos casos penales Caso de Texas	Caso criminal	Ningún otro contacto	NJ, ML, Bayesiano	pol, env	Controles locales y Genbank secuencias más cercanas a las secuencias de los casos, seleccionados mediante BLAST	No	Las pruebas no permitieron descartar la hipótesis de transmisión	Texas: Acusado acusado de intencionalmente, a sabiendas y causando imprudentemente "grave" corporal lesión" a 6 mujeres socios; El caso de Washington: Acusado de la acusación con la intención de infligir "grandes daños corporales daño" a 17 mujeres socios	Scaduto (2010) [44]
Fiestas sexuales en El Países Bajos	Caso criminal	Las personas que asisten a la reuniones privadas y fiestas sexuales organizadas por los tres sospechosos	NJ, Bayesiano	env, pol	Secuencias de referencia representativas de la epidemia holandesa de VIH, generado a partir del plasma sanguíneo de pacientes externos infectados por el subtipo B visitando el Academic Medical Centro en Amsterdam, El Países Bajos, entre 2005 y 2009	No	Las pruebas no permitieron descartar la hipótesis de transmisión	Acusados condenados (no está claro en el literatura lo que eran los cargos)	van der Kuyl (2011) [45]
Lactancia materna compartida Epidemiológico investigación	Epidemiológico	Familia del bebé	ML, Bayesiano	pol	100 cepas del subtipo C del mismo zona geográfica (Estado Libre Provincia, Sudáfrica)	No	Las pruebas no permitieron descartar la hipótesis de transmisión	-	Goedhals (2012) [29]
Anestesiista valenciano	Epidemiológico investigación	Todos los pacientes que tenían operado en los 2 hospitales donde el sospechoso trabajaba	NJ, ML	NS5B, E1-E2	44 muestras de personas infectadas con VHC-1a en la ciudad de Valencia que no estaban relacionados con el brote, basado en la epidemiológica, cuya sueros habían sido almacenados a -80 °C en hospitales locales. Estas muestras se utilizaron como controles locales	No	Las pruebas no permitieron descartar la hipótesis de transmisión	Acusado condenado por profesional mala praxis	González-Candelas F (2013) [47]
Compartir la manicura instrumentos	Epidemiológico investigación	NA	Bayesiano, Molecular Análisis del reloj	env, pol	Los pacientes de la misma zona geográfica región; secuencias de referencia de bases de datos públicas	Sí (análisis de DRM)	Las pruebas no permitieron descartar la hipótesis de transmisión de la fuente sospechosa	-	Matsuda (2014) [48]
Yunnan sexual transmisión	Causa penal	NA	Distancia entre pares, NJ, Bayesiano,	gag, pol, env	Controles locales seleccionados de individuos en función de	No	Las pruebas no permitieron descartar la hipótesis de	NA	Chen (2015) Suppl. 1, http://links.lww.com/

La narración completa de los casos se encuentra en el material suplementario, <http://links.lww.com/QAD/B207>, donde el caso se enumera según el tipo de acusación y se identifica con el contexto forense de la columna 1 mencionado en negrita. En la tabla, los casos están ordenados por fecha de publicación, los más antiguos primero. BLAST, herramienta básica de búsqueda de asignación local; DRM, mutación de resistencia a fármacos; MCMC, cadena de markov monte carlo; ML, máxima verosimilitud; MP, máxima parsimonia; NA, no disponible; NJ, unión de vecinos.

individuos, como se puede apreciar en [21]. En ese caso, un lapso de tiempo de más de 2 años dio lugar potencialmente a la separación de un vínculo directo por transmisión ulterior.

Los posibles factores de confusión en los análisis filogenéticos, como la evolución convergente, deben considerarse y corregirse en las investigaciones forenses

Un factor de confusión que influye en la topología es la evolución convergente o paralela, como se ilustra en [22]. Al reconstruir una cadena de transmisión de pacientes tratados, Lemey *et al.* encontraron que el análisis filogenético basado en el gen *pol* era incompatible con la historia de transmisión conocida. Sin embargo, tras eliminar las posiciones de los codones asociadas a la resistencia a los fármacos, la filogenia se hizo compatible con la historia de la transmisión. Al contrario que el *pol*, los resultados generados a partir del alineamiento del gp41 eran totalmente compatibles con la historia de la transmisión. De hecho, algunas de las muestras habían sido tomadas tras el fracaso de la terapia, y la diferencia entre el árbol de *pol* y *env* podría atribuirse a la presión selectiva de los fármacos que dio lugar a un patrón de evolución paralelo. Desde ese artículo, las mutaciones de resistencia a los fármacos suelen eliminarse de los alineamientos de *pol* antes de realizar los análisis filogenéticos de las investigaciones de transmisión. Otros factores que pueden conducir a una evolución convergente son el tipo de antígenos leucocitarios humanos de los pacientes y la adaptación del VIH a los anticuerpos neutralizantes que actúan sobre *el env* [23,24].

Los análisis de los grupos de transmisión del VIH-1 deben situarse en el contexto de la epidemia local

Un grupo de transmisión del VIH-1 se ha definido como un conjunto de secuencias del VIH-1 que se agregan de forma no aleatoria, vinculadas a su epidemiología [25]. Incluso cuando dos individuos están vinculados filogenética y epidemiológicamente, esta evidencia por sí sola no puede demostrar que la persona A infectó a la persona B. La cantidad de variación genética entre las cepas de VIH de la persona que transmitió la infección y la persona que la recibió depende de muchos factores, como el tiempo transcurrido desde la infección, la terapia tomada, la presión inmunitaria y los posibles eventos posteriores de sobreinfección. Por lo tanto, la topología y las distancias evolutivas de un árbol que une al acusado y al denunciante deben situarse en el contexto de la epidemia. La inclusión de los controles en los análisis, junto con cualquier persona identificada en el rastreo de contactos, y eventualmente otras infecciones vinculadas conocidas, es de vital importancia para traducir el vínculo filogenético presente en un grupo de transmisión reconstruido en un vínculo epidemiológico significativo.

El primer caso del dentista de Florida ya utilizó

controles locales y rastreo de contactos. Sin embargo, fue criticado por cómo se seleccionaron los controles: se tomaron muestras en clínicas que

no estaban lo suficientemente cerca del entorno potencial de transmisión [26-28]. A raíz de este caso, la mayoría de los estudios coincidieron en que el conjunto de controles debía contener el mayor número posible de secuencias locales sin relación directa conocida con el caso. Los criterios para las cepas de los controles locales fueron, en la mayoría de los casos, el mismo origen geográfico, el mismo grupo de riesgo o el mismo subtipo que el demandante y que el demandado, a menudo conjuntos diferentes si estos criterios eran distintos entre ambas partes.

Más recientemente, se ha convertido en una práctica común incluir también las secuencias más similares disponibles públicamente seleccionadas como controles de la base de datos, utilizando la búsqueda BLAST [29,30]. El objetivo es encontrar secuencias que se agrupen con la secuencia de consulta, y dado que una secuencia de agrupación potencial no es necesariamente la más similar, es habitual añadir al menos 10 secuencias más similares por secuencia de consulta [31]. Esto se debe a que el poder de exonerar al acusado, si efectivamente no fue la fuente de la infección, depende de lo cerca que estén las cepas de control de las cepas del caso. Cuanto más cercanas sean las cepas de control, más probable será que las cepas del acusado y del denunciante se separen en el árbol si no están vinculadas. Sin embargo, en la mayoría de los casos mencionados (Tabla 1), esto no se hizo o no se informó (no disponible).

A menudo es difícil obtener controles pertinentes si no se han depositado secuencias locales en las bases de datos públicas. Entonces, los científicos forenses tienen que recurrir al muestreo de la población local infectada, lo que plantea cuestiones éticas. La creación de bases de datos nacionales que contengan secuencias e información anónima limitada de todos los pacientes con VIH-1 muestreados es un esfuerzo de salud pública en muchos países; sin embargo, no todos los consorcios están dispuestos a compartir sus datos, en parte para evitar su uso en casos judiciales.

Los controles utilizados hasta ahora son epidemiológicamente y temporalmente relevantes para las partes investigadas. En algunos estudios, se utilizó el rastreo de contactos para definir el conjunto de controles; en otros, se definió en base a criterios de grupo de riesgo o geográficos o de subtipo, pero lo más frecuente es que no se mencione el uso de búsquedas BLAST. Por lo tanto, los controles incluidos en los análisis se seleccionaron utilizando criterios inconsistentes.

El análisis de la región genómica *del pol* tiene ventajas sobre el uso de otras regiones genómicas para las investigaciones judiciales

En la Tabla 1, enumeramos las regiones genómicas utilizadas para los análisis realizados en diferentes

investigaciones de casos judiciales. La mayoría de los casos utilizan *env*; algunos combinan el análisis de *env* con el de otra región genómica, ya sea *gag* o *pol*. Sólo un caso analizó tres regiones genómicas (*gag*, *env* y *pol*) [17]. Leitner *et al.* [32] llegaron a la conclusión de que la precisión de la topología del árbol reconstruido dependía más de la

et al.

cantidad de información genética que se tiene en cuenta que en los métodos de reconstrucción filogenética utilizados. Al investigar la cadena de transmisión sueca, en la que participaron nueve pacientes, descubrió que el fragmento genómico V3 generaba unas reconstrucciones de la historia filogenética más precisas que el fragmento p17. Sin embargo, la combinación de los dos conjuntos de datos V3 p p17 generó resultados aún mejores [33]. También Holmes *et al.* [20] establecieron que p17 es una región genómica epidemiológicamente informativa que debe utilizarse en los casos de transmisión.

Lemey y Vandamme [34] llevaron a cabo una investigación sistemática de la región genética más adecuada para reconstruir tres clusters de transmisión conocidos, realizando un análisis filogenético de fragmentos genéticos extraídos de un alineamiento del genoma completo de los clusters de transmisión junto con secuencias de control. El enfoque de la ventana deslizante mostró que, mientras que algunos clusters estaban muy apoyados en algunas regiones, otros no estaban apoyados en absoluto en la misma región. El único resultado consistente fue que cuanto más grande era la región, más fiable era la reconstrucción. *pol* parecía ser particularmente consistente para todos los clusters de transmisión investigados, siempre que el fragmento utilizado fuera lo suficientemente grande. Sin embargo, como se ha descrito anteriormente, al utilizar *pol* es necesario eliminar las posiciones relacionadas con la resistencia. El análisis de *pol* también proporciona una ventaja para seleccionar las secuencias de control de , ya que muchas secuencias disponibles de las pruebas de resistencia a los fármacos proceden de *pol*. Sin embargo, muchos de los casos aquí revisados se realizaron antes de la era de las pruebas rutinarias de resistencia a los fármacos.

Estas observaciones abogan por el análisis de dos regiones para obtener la mayor información posible. Además, se puede evaluar la recombinación potencial de .

Deben utilizarse diferentes métodos de reconstrucción filogenética, como medida para evaluar la dependencia de los resultados del método utilizado

La subtipificación, la alineación de secuencias múltiples, la reconstrucción filogenética y el análisis genético de poblaciones son pasos importantes en las investigaciones forenses. Existen varios algoritmos de alineación [35], pero para las investigaciones sobre la transmisión del VIH, y en particular para *el pol*, el nivel de complejidad de las alineaciones es muy bajo, y todos los algoritmos han demostrado un buen rendimiento [36]. Para la reconstrucción filogenética, se ha demostrado que los métodos de distancia, especialmente los de unión de vecinos, funcionan mejor que los métodos de parsimonia, mientras que los métodos ML funcionan mejor que los de distancia. En cualquier caso, el uso de un modelo correcto para

estimar las distancias evolutivas ha demostrado ser importante para generar el árbol correcto [37-39]. A pesar de ser mucho más lenta, la estimación bayesiana parece funcionar mejor que cualquier otro método. Sin embargo, las probabilidades posteriores parecen sobreestimar la fiabilidad de los clados, mientras que

En general, se considera que el soporte bootstrap es demasiado conservador. Sin embargo, contradiciendo estudios anteriores que informaban de que la estimación bayesiana tenía un mejor rendimiento que la ML, Wertheim *et al.* [40] encontraron que la topología del árbol libre de tiempo de la ML estaba sorprendentemente más cerca del árbol verdadero que la distribución posterior de los árboles bayesianos, pero las comparaciones entre los árboles ML con bootstrap y la distribución posterior de los árboles bayesianos mostraron que eran cuantitativamente similares [37,40-44]. Pattengale *et al.* [45] analizaron el número de réplicas bootstrap ML necesarias para alcanzar la convergencia y encontraron que este número depende en gran medida del conjunto de datos. En sus análisis de los "criterios de parada", el número de réplicas consideradas suficientes suele variar entre 100 y 500. Del mismo modo, la longitud de las ejecuciones de Markov Chain Monte Carlo necesarias para el análisis bayesiano es muy variable en función del conjunto de datos.

Muchos de los estudios aquí descritos no utilizaron el enfoque bayesiano para la estimación filogenética, muy probablemente porque dichas investigaciones se realizaron cuando aún se requería mucho tiempo. Sin embargo, en la mayoría de los casos se utilizaron al menos dos métodos diferentes, lo que permite eludir cualquier exceso o defecto de conservadurismo de los diferentes enfoques filogenéticos. Lo ideal es que todos los métodos sean concordantes, pero si los dos métodos más fiables, el ML y el bayesiano, son discordantes, hay que tener cuidado al interpretar los resultados.

Investigación filogenética de la dirección de la transmisión sólo puede realizarse en el contexto de la secuenciación de próxima generación o de múltiples clones (o muestras) que representen las cuasiespecies virales de los pacientes

En los casos en los que la transmisión está respaldada por pruebas filogenéticas y de otro tipo, se plantean otras cuestiones importantes, como la dirección de la transmisión, directa o indirecta, y el momento de la transmisión. Para estas investigaciones más complejas, es importante recurrir a métodos de secuenciación más complejos que el de Sanger, como la NGS o la secuenciación de múltiples clones y/o muestras. La dirección de la transmisión, en particular, sólo puede investigarse cuando se dispone de múltiples cepas virales del denunciante y del acusado. Estas son algunas

representación de las cuasiespecies presentes en cada paciente y no sólo de la cepa viral predominante. Además, la dirección de la transmisión se evalúa con mayor fiabilidad cuando se dispone de múltiples muestras, y especialmente de muestras tempranas. Al mismo tiempo, cualquier discrepancia entre las muestras tempranas y las tardías podría descubrir la sobreinfección, si se puede excluir la contaminación y la mezcla de muestras.

En teoría, es posible proporcionar pruebas moleculares de la dirección de la transmisión (de la fuente al receptor) si un

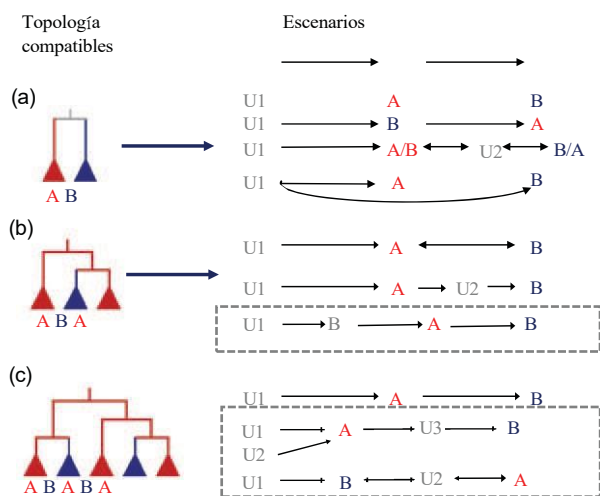


Fig. 2. Clases de señal topológica al estimar la dirección de transmisión según Romero-Severson *et al.* y los correspondientes escenarios compatibles. Los escenarios compatibles dentro de los recuadros punteados no han sido descritos por Romero-Severson *et al.* y han sido identificados aquí, basándose en los casos judiciales descritos previamente. Cuando están coloreados en gris, indican individuos no muestreados (U1, U2, U3 y B). Cuando el hospedador A (rojo) está vinculado epidemiológicamente al hospedador B (azul), las poblaciones de virus resultantes tras el muestreo pueden relacionarse entre sí de forma que (a) ambas poblaciones sean monofiléticas (MM): Si se observa una relación MM, no se puede afirmar la dirección de la transmisión: A puede haber infectado a B o viceversa, A y B pueden estar vinculados a través de un huésped intermediario U2 (no muestreado 2), o tanto A como B pueden haber sido infectados por una fuente común U1 (no muestreado 1). (b) uno es parafilético y el otro monofilético (PM): Según Romero-Severson, si se observa una relación PM, es indicativo de que, o bien el huésped A (parafilético) infectó al huésped B (monofilético), o bien el huésped A infectó a un huésped intermedio U2, que a su vez infectó al huésped B. Sin embargo, identificamos otro escenario posible: B y A se han estado infectando mutuamente en una relación a largo plazo, pero se carece de una población de virus anterior de B y, por lo tanto, A es parafilético respecto a B. (c) uno es parafilético y el otro polifilético respecto al primero (PP). Según Romero-Severson, si se observa una relación PP, es indicativo tanto de la dirección de la transmisión como de la transmisión directa, por ejemplo que A infectó a B, sin que haya huéspedes intermediarios implicados. Sin embargo, identificamos escenarios alternativos, basados en un caso judicial holandés [48]: en una red de individuos, donde varios individuos se han estado infectando mutuamente, por ejemplo en fiestas sexuales y/o donde al menos un individuo transmite una infección dual a varios otros. En este caso, A podría haber infectado a U3 con una infección dual y U3 infectaría entonces a B (por lo tanto, transmisión indirecta por U2 no muestreado) o, de nuevo,

un solo virus [46]. Este argumento fue utilizado en [47], junto con

con pruebas de rastreo de contactos, no sólo sobre la direccionalidad de la transmisión, sino también argumentando que hubo una transmisión directa entre el acusado y varios denunciantes. Del mismo modo, Romero-Severson *et al.* [11] aportaron recientemente pruebas a partir de simulaciones de que una relación filogenética parafilética-monofilética observada se corresponde con un alto nivel de confianza en que la direccionalidad de la infección es del socio parafilético al monofilético, sin excluir un posible tercer contacto entre ambos. Se puede argumentar que este razonamiento no es necesariamente válido si pueden haber ocurrido múltiples eventos de transmisión de ida y vuelta, por ejemplo cuando la relación entre el acusado y el denunciante duró un periodo considerable. Esto es especialmente cierto cuando

B podría haber sido no muestreado antes en el tiempo y, por lo tanto, B podría haber infectado a A y luego viceversa, o hay una relación compleja entre U1, A y B y potencialmente incluso otro U2. Adaptado con permiso [11].

Se observa una relación parafilética (Fig. 2). La parafilia es el resultado de un importante cuello de botella genético a la hora de establecer una infección productiva a un receptor, ya que la mayoría (> 75%) de las infecciones productivas derivan de un

Se dispone de las primeras muestras del denunciante pero no del acusado (Fig. 2b).

Sin embargo, es posible excluir una dirección de transmisión a partir del establecimiento de la ventana temporal de infección. Si las ventanas temporales no se solapan, el que se infecta más tarde no puede ser la fuente de la infección.

Un reciente estudio de modelización afirma que se puede demostrar la transmisión directa si se observa una relación parafilética-polifilética entre la fuente y el receptor

Además, una relación parafilética-polifilética podría indicar no sólo la direccionalidad de la transmisión desde la pareja parafilética a la polifilética anidada, sino también que la transmisión se produjo directamente desde la fuente (parafilética) al receptor (polifilético) [11] (Fig. 2). Sin embargo, estos resultados deben interpretarse con cautela, ya que: por lo general, sólo una variante establece la nueva infección, lo que da lugar a una relación parafilética-monofilética, en cuyo caso no puede probarse la transmisión directa; las simulaciones -como las utilizadas aquí- requieren supuestos que no son necesariamente ciertos en el contexto de un caso judicial y las afirmaciones sólo se probaron en tres escenarios diferentes de transmisión conocidos que implican sólo a dos individuos. Los casos que acaban en los tribunales no suelen ser sencillos, sino que pueden implicar a individuos en una relación, de manera que no se puede excluir la transmisión de ida y vuelta. Entonces, la direccionalidad en la relación parafilética-monofilética puede invertirse, dependiendo de las variantes muestreadas o desaparecidas. Asimismo, se conocen varios casos judiciales en los que varios individuos participan en una red sexual en la que el virus se transmite repetidamente en la red, y varios de los individuos podrían incluso estar sobreinfectados. Además, estas conclusiones sólo son aplicables en los casos en los que se dispone de diferentes clones y/o muestras de la población viral de cada paciente. Este escenario ideal no está disponible en la mayoría de los casos judiciales descritos en la literatura, y a menudo los clusters de transmisión implican a varios individuos, aunque sólo se investiguen dos de ellos (por ejemplo, [48]).

La discordancia entre el tiempo de los nodos en un árbol y el tiempo de transmisión se ilustra elegantemente en un artículo de

Todavía no es posible estimar con seguridad el momento de la transmisión utilizando modelos de reloj molecular

Establecer la cronología de determinados nodos en el árbol es muy relevante para inferir si el árbol es compatible con que la infección tenga lugar en torno a la época de los acontecimientos descritos en los cargos. El tiempo transcurrido desde la infección se ha identificado previamente como una variable importante en los análisis de este tipo [27]. La determinación de la ventana temporal de la infección por VIH-1 debe hacerse a partir de las pruebas de laboratorio, pero puede acotarse mediante el análisis filogenético. Esta ventana temporal es importante en el ámbito judicial por varias razones:

- (1) Saber si el acusado estaba realmente infectado en el momento de los hechos descritos en los cargos;
- (2) Confirmar que el denunciante estaba infectado en la época de los hechos descritos en los cargos;

Hay tres casos publicados [49-51] en los que se estimó el momento de la infección, utilizando metodologías similares: estimación estricta o relajada del reloj molecular utilizando el marco BEAST [52]. En 1993, se descubrió que, aunque asumir un reloj molecular estricto permite inferir árboles precisos para conjuntos de datos similares a un reloj, cuando los conjuntos de datos violan la suposición de reloj, el rendimiento de la reconstrucción del árbol es extremadamente pobre [53]. Más recientemente, Wertheim *et al.* [40] evaluaron la precisión de diferentes supuestos de reloj en las estimaciones de árboles filogenéticos y mostraron que los modelos de reloj relajados, en particular los modelos de reloj exponencial y lognormal relajados, eran más precisos que los modelos de reloj estricto y los modelos bayesianos o ML sin tiempo para inferir la filogenia correcta. Es importante destacar que los modelos de reloj estricto estimaron sistemáticamente filogenias menos precisas que los modelos libres de tiempo y que asumir un reloj molecular estricto en datos que no son de reloj puede disminuir severamente la precisión de la estimación del árbol [40]. Del mismo modo, al igual que con la dirección de transmisión, la precisión de la estimación de una ventana temporal de transmisión a partir de la información filogenética mejora cuando se dispone de múltiples clones/muestras.

En cuanto al momento de la transmisión, hay que tener en cuenta que un árbol filogenético construido a partir de secuencias genéticas virales es un árbol de genes, no un árbol de transmisión [54]. La(s) variante(s) transmitida(s) suele(n) ser anterior(es) a la fecha de transmisión y, a la inversa, algunas variantes transmitidas pueden haber desaparecido de la quasis viral después de la transmisión. Por lo tanto, el tiempo hasta el ancestro común más reciente de un clado que une las variantes del receptor con las del donante no tiene por qué coincidir con el evento de transmisión. Esto se denomina intervalo de pretransmisión (Fig. 3).

no puede utilizarse a nivel individual [57]. Sin embargo, en ninguno de los casos penales descritos se utilizó ese tipo de metodología. El uso de la NGS en el contexto de los casos penales puede ser importante para estimar el momento de la infección: un estudio reciente indicó que la diversidad genética calculada a partir de los datos de la NGS permite una estimación más precisa de los tiempos de coalescencia, lo que puede dar información sobre el momento de la infección, incluso muchos años después

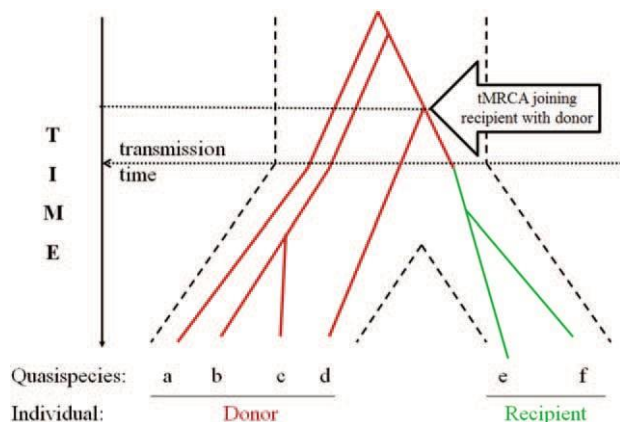


Fig. 3. Intervalo de pretransmisión. Cuando se utilizan las secuencias genéticas para construir árboles filogenéticos, el árbol resultante es un árbol genético. Este árbol puede utilizarse para reconstruir acontecimientos históricos como un evento de transmisión; sin embargo, el momento del nodo en el que se unen el donante y el receptor no coincide necesariamente con el evento de transmisión. Incluso cuando sólo se transmitió una variante, el momento de ese nodo puede ser anterior al evento de transmisión (adaptado con permiso de [55]).

Vrancken *et al.* [56], quienes demostraron que en la historia de transmisión conocida que se estudiaba, los virus ancestrales se transmitían de forma preferente y esto provocaba incoherencias entre el intervalo de tiempo de transmisión conocido y el que se estimaba en la genealogía. Paradójicamente, en el contexto de un modelo de reloj molecular, una persistencia preferente de las cepas de virus ancestrales tras la transmisión puede dar lugar a linajes fuente-receptor más similares de lo esperado en función de su tiempo de transmisión y sesgar las estimaciones del tiempo de divergencia hacia tiempos más recientes [56]. En algunos de los casos descritos [49,51], el tiempo estimado de los nodos en los árboles filogenéticos reconstruidos se ha utilizado como estimación del periodo ventana de infección. Además, González-Candelas *et al.* [50] descubrieron que las mayores incoherencias encontradas entre la cronología estimada de la infección a partir del árbol y las estimaciones derivadas de forma independiente por la fiscalía durante el juicio correspondían a pacientes infectados al principio y al final del brote, lo que indica que las estimaciones del reloj molecular podrían no ser lo suficientemente robustas, especialmente en los extremos de la distribución temporal de los nodos del árbol filogenético.

También es posible estimar el periodo de ventana de la infección basándose en otras pruebas, como el recuento de avidéz o de ambigüedad, o incluso en algoritmos multiensayo, y se ha demostrado que tiene un rendimiento fiable a nivel de población, aunque

infección. Las estimaciones más precisas de los tiempos de coalescencia se obtuvieron utilizando la distancia media entre pares o la entropía del sitio basada en las posiciones del tercer codón en el gen *pol*, donde la diversidad viral aumenta aproximadamente de forma lineal durante al menos 8 años después de la infección [58].

La reconstrucción filogenética se utiliza en los tribunales en el contexto de otros tipos de pruebas. Por lo tanto, el análisis filogenético es sólo uno de los pasos necesarios para la investigación, por sí solo nunca puede excluir la presencia de hipotéticos terceros implicados. Revisamos el

El uso de datos de salud pública en este tipo de investigaciones judiciales plantea importantes cuestiones éticas que deben debatirse

El brote de la prisión de Glenochil, analizado en Suppl. 1, [http:// links. lww. com/QAD/B207](http://links.lww.com/QAD/B207) [59,60] condujo a la primera prosecución de la transmisión del VIH en Escocia, los datos y las muestras del brote de la prisión se aprovecharon para construir un caso contra un antiguo recluso, que fue declarado culpable de transmitir el VIH de forma imprudente a una pareja sexual femenina [61]. Este caso planteó importantes cuestiones éticas, ya que ilustró cómo se pueden utilizar los datos de salud pública en los tribunales y subrayó la necesidad de establecer normas de privacidad. Desde ese caso, se han hecho algunos avances en la comunicación entre la salud pública y los funcionarios de justicia, como el diseño de las mejores leyes que comprometan el daño al individuo y el daño a la salud pública.

La penalización de la transmisión del VIH-1 compromete la salud pública general cuando las personas con riesgo de infección evitan el diagnóstico, especialmente porque muchas leyes y procesos no necesitan demostrar la transmisión, sino que se basan en acusaciones de no revelar el estado seropositivo conocido o prohíben la exposición potencial o percibida al VIH durante las relaciones sexuales [62]. Este uso excesivamente amplio del derecho penal no es recomendado por los principales organismos mundiales, como el Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida [63] y la Comisión Mundial sobre el VIH y la Ley [64].

Ahora que las nuevas técnicas mejoran el poder de la filogenética para acotar el origen de una infección, el rastreo de contactos y la filogenética se utilizan cada vez más en la sanidad pública para localizar a los supertransmisores y tratarlos para evitar la transmisión en curso [65,66]. Los organismos de salud pública están muy preocupados por cómo se utilizará esto en los casos judiciales. En una reunión reciente del consorcio Phylogenetics And Networks for Generalized HIV Epidemics in Africa se debatieron las cuestiones éticas de sobre cómo hacer públicas las secuencias de cohortes, entre ellas la de evitar la exposición de los pacientes de las cohortes a los procesos judiciales [67].

Conclusión

casos publicados en los que se utilizó el análisis filogenético en el contexto de las investigaciones forenses sobre la transmisión del VIH. Éstos reflejan la práctica del pasado. Es difícil establecer a partir de estas fuentes cómo se realiza actualmente el análisis filogenético en el contexto forense. Los primeros casos recibieron mucha más atención que los más recientes, y la mayoría de los casos publicados datan de hace muchos años.

La investigación epidemiológica y el rastreo de contactos fueron el paso inicial de la mayoría de los casos aquí revisados (Tabla 1). La investigación epidemiológica proporciona información sobre las secuencias de control que deben incluirse, y el rastreo de contactos mediante entrevistas permite rastrear otras fuentes potenciales de infección. Cuando el análisis filogenético indica que las dos cepas de VIH investigadas no están relacionadas, las pruebas filogenéticas por sí solas se han considerado lo suficientemente sólidas como para excluir la posibilidad de una transmisión directa. Es importante destacar que estas investigaciones se han utilizado para exonerar a los sospechosos. Por otro lado, cuando el análisis filogenético indica que las dos cepas del VIH son monofiléticas, se ha considerado como una prueba que, junto con los datos epidemiológicos y otros tipos de pruebas, ha contribuido a las condenas en los tribunales.

Resulta significativo que ninguno de los estudios enumerados aquí informara de que no se pudiera concluir nada a partir de los datos recogidos. Sin embargo, pensamos que, en algunos contextos en los que no se ha realizado una investigación epidemiológica adecuada, el experto en filogenética puede testificar y decir que no hay suficiente información para sacar conclusiones. En un gran número de casos no se ha podido llegar a una conclusión sólida, incluso cuando las cepas del caso se agrupan, y esto suele deberse a la falta de pruebas suficientes y a la ausencia de una investigación epidemiológica adecuada [47,51].

Otro aspecto importante es la determinación del periodo ventana de la infección a partir de los resultados serológicos o moleculares reales. Esto no suele ser tarea del experto en filogenética, pero las pruebas recientes indican que la determinación del ancestro común más reciente de los nodos en los árboles contribuye a entender el momento de la infección. En algunos casos se ha utilizado esta información [49]. Además, con la generalización de los métodos de NGS, la evaluación de la dirección de la transmisión y los vínculos intermedios puede ser posible a través de la filogenética y utilizarse como prueba en los tribunales. Sin embargo, estos métodos siguen siendo objeto de debate. Por lo tanto, la fiabilidad de estas estimaciones, especialmente en el contexto de los casos judiciales, debe ser investigada y validada más ampliamente, antes de comenzar a ser utilizada de forma rutinaria en los tribunales.

En resumen, las investigaciones filogenéticas han demostrado ser útiles para el análisis de la transmisión del VIH en el ámbito forense y muchos avances prometedores en la investigación podrían potenciar su

uso en casos futuros. Al mismo tiempo, su uso en contextos de salud pública preocupa cada vez más a los organismos de salud pública, ya que sus mejores herramientas para rastrear las fuentes de

et al.

infección para tratarlos y prevenir nuevas infecciones puede utilizarse contra estas fuentes en los tribunales. Este conflicto entre la salud individual y la pública se está debatiendo ampliamente en y es de esperar que dé lugar a un equilibrio aceptable en las futuras leyes.

Agradecimientos

A.B.A. realizó la revisión de la literatura y diseño, escribió y revisó el artículo. M.P. realizó la revisión de la literatura y escribió el artículo. A.-M.V. realizó la revisión de la literatura y diseño, escribió y revisó el artículo.

A.B.A. recibió el apoyo de la Fundación para la Ciencia e Tecnología (FCT) a través del Programa Investigador FCT.

M.P. fue financiado por los Fondos Europeos a través de la beca "Bio- Molecular and Epidemiological Surveillance of HIV Transmitted Drug Resistance, Hepatitis Co-Infections and Ongoing Transmission Patterns in Europe (BEST HOPE) (proyecto financiado a través de HIVERA: Harmonizing Integrating Vitalizing European Research on HIV/ Aids, beca 249697) y por FCT (Proyecto MigrantHIV; beca PTDC/DTP-EPI/7066/2014). El Centro de Salud Global y Medicina Tropical está financiado a través de la FCT (UID/ Multi/04413/2013). El presente trabajo ha sido financiado en parte por el Fonds voor Wetenschappelijk Onderzoek Vlaanderen (subvención G.0692.14), por la KU Leuven (Program Financing no PF/10/018) y por el proyecto VIROGENESIS que recibe financiación del programa de investigación e innovación Horizonte 2020 de la Unión Europea bajo el acuerdo de subvención número 634650.

Conflictos de intereses

No hay conflictos de intereses.

Referencias

1. Goodenow M, Huet T, Saurin W, Kwok S, Sninsky J, Wain-Hobson S. Los aislados de VIH-1 son cuasiespecies que evolucionan rápidamente: evidencia de mezclas virales y sustituciones de nucleótidos preferidas. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1989; 2:344-352.
2. Rambaut A, Posada D, Crandall KA, Holmes EC. Las causas y consecuencias de la evolución del VIH. *Nat Rev Genet* 2004; 5:52-61.
3. Faria NR, Rambaut A, Suchard MA, Baele G, Bedford T, Ward MJ, et al. HIV epidemiology. La propagación temprana y el encendido epidémico del VIH-1 en poblaciones humanas. *Science* 2014; 346:56-61.
4. Pybus OG, Suchard MA, Lemey P, Bernardin FJ, Rambaut A, Crawford FW, et al. Unificación de la epidemiología espacial y la evolución molecular de las epidemias emergentes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109:15066-15071.
5. Bezemer D, Cori A, Ratmann O, van Sighem A, Hermanides HS, Dutilh BE, et al. Dispersión de la epidemia de VIH-1 en hombres que tienen sexo con hombres en los Países Bajos: un modelo matemático combinado y un análisis filogenético. *PLoS Med* 2015; 12:e1001898discusión e1001898.
6. Ragonnet-Cronin M, Lycett SJ, Hodcroft EB, Hue' S, Fearnhill E, Brown AE, et al. La transmisión de los subtipos de VIH no

7. Pineda-Pen̄a A-C, Schrooten Y, Vinken L, Ferreira F, Li G, Trovaˆo NS, *et al.* Tendencias y predictores de la resistencia a los medicamentos transmitida (TDR) y grupos con TDR en una epidemia local de VIH-1 en Bélgica. *PLoS One* 2014; 9:e101738.
8. Bernard EJ, Cameron S. *Global trends in HIV criminalization [Abstract THPED428]*. Durban: 21st International AIDS Conference; 2016, <http://programme.aids2016.org/Abstract/Abstract/7264>.
9. Red mundial de personas que viven con el VIH (GNPp). *GNPR. Informe de escaneo de la criminalizaci3n global 2010*. Red Mundial de Personas que Viven con el VIH (GNPp); 2010.
10. Bernard EJ, Azad Y, Vandamme AM, Weait M, Geretti AM. HIV forensics: pitfalls and acceptable standards in the use of phylogenetic analysis as evidence in criminal investigations of HIV transmission. *HIV Med* 2007; 8:382-387.
11. Romero-Severson EO, Bulla I, Leitner T. Phylogenetically resolving epidemiologic linkage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016; 113:2690-2695.
12. Cohen MS, Chen YQ, McCauley M, Gamble T, Hosseinipour MC, Kumarasamy N, *et al.* Prevenci3n de la infecci3n por VIH-1 con terapia antirretroviral temprana. *N Engl J Med* 2011; 365:493-505.
13. Eshleman SH, Hudelson SE, Redd AD, Wang L, Debes R, Chen YQ, *et al.* Análisis de la vinculaci3n genética del VIH de las parejas inscritas en el ensayo de la Red de Ensayos de Prevenci3n del VIH 052. *J Infect Dis* 2011; 204:1918-1926.
14. Abecasis AB, Geretti AM, Albert J, Power L, Weait M, Vandamme A-M. La ciencia en los tribunales: el mito de la huella digital del VIH. *Lancet Infect Dis* 2011; 11:78-79.
15. Albert J, Wahlberg J, Leitner T, Escanilla D, Uhlen M. Analysis of a rape case by direct sequencing of the human immunodeficiency virus type 1 pol and gag genes. *J Virol* 1994; 68:5918-5924.
16. Banaschak S, Werwein M, Brinkmann B, Hauber I. Human immunodeficiency virus type 1 infection after sexual abuse: value of nucleic acid sequence analysis in identifying the offender. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am* 2000; 31:1098-1100.
17. Machuca R, J3rgensen LB, Theilade P, Nielsen C. Investigaci3n molecular de la transmisi3n del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 en un caso criminal. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001; 8:884-890.
18. Albert J, Wahlberg J, Uhlen M. Forensic evidence by DNA sequencing. *Nature* 1993; 361:595-596.
19. Goujon CP, Schneider VM, Grofti J, Montigny J, Jeantils V, Astagneau P, *et al.* Los análisis filogenéticos indican una transmisi3n atípica de enfermera a paciente del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1. *J Virol* 2000; 74:2525-2532.
20. Holmes EC, Zhang LQ, Simmonds P, Rogers AS, Brown AJ. Investigaci3n molecular de la infecci3n por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) en un paciente de un cirujano infectado por el VIH. *J Infect Dis* 1993; 167:1411-1414.
21. Birch CJ, McCaw RF, Bulach DM, Revill PA, Carter JT, Tomnay J, *et al.* Análisis molecular de las cepas del virus de la inmunodeficiencia humana asociadas a un caso de transmisi3n criminal del virus. *J Infect Dis* 2000; 182:941-944.
22. Lemey P, Derdelinckx I, Rambaut A, Van Laethem K, Dumont S, Vermeulen S, *et al.* Huella molecular de la preselecci3n de fármacos en una cadena de transmisi3n del virus de la inmunodeficiencia humana. *J Virol* 2005; 79:11981-11989.
23. Holmes EC, Zhang LQ, Simmonds P, Ludlam CA, Brown AJ. Evoluci3n convergente y divergente de la secuencia en la glicoproteina de la envoltura de superficie del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 dentro de un único paciente infectado. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89:4835-4839.
24. Matthews PC, Leslie AJ, Katzourakis A, Crawford H, Payne R, Prendergast A, *et al.* Las huellas de HLA en el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 están asociadas con polimorfismos interclados y agrupaciones filogenéticas intracladas. *J Virol* 2009; 83:4605-4615.
25. Hassan AS, Pybus OG, Sanders EJ, Albert J, Esbj3rnsson J. Defini3n de grupos de transmisi3n del VIH-1 basados en datos de secuencia. *AIDS Lond Engl* 2017; 31:1211-1222.
26. Ou CY, Ciesielski CA, Myers G, Bandea CI, Luo CC, Korber BT, *et al.* Molecular epidemiology of HIV transmission in a dental practice. *Science* 1992; 256:1165-1171.
27. Smith TF, Waterman MS. El caso continuo del dentista de Florida. *Science* 1992; 256:1155-1156.

28. DeBry RW, Abele LG, Weiss SH, Hill MD, Bouzas M, Lorenzo E, *et al.* ¿Transmisión dental del VIH? *Nature* 1993; 361:691.
29. Lemey P, Van Dooren S, Van Laethem K, Schrooten Y, Derdelinckx I, Goubau P, *et al.* Pruebas moleculares de transmisiones múltiples del VIH-1 en un caso criminal. *AIDS Lond Engl* 2005; 19:1649-1658.
30. Goedhals D, Rossouw I, Hallbauer U, Mamabolo M, de Oliveira T. La leche contaminada de la bondad humana. *Lancet Lond Engl* 2012; 380:702.
31. Paraschiv S, Banica L, Nicolae I, Niculescu I, Abagiu A, Jipa R, *et al.* Dispersión epidémica del VIH y el VHC en una población de usuarios de drogas inyectables rumanos coinfectados en . *PLoS One* 2017; 12:e0185866.
32. Leitner T, Albert J. Reconstrucción de las cadenas de transmisión del VIH-1 con fines forenses. *AIDS Rev* 2000; 24:241-251.
33. Leitner T, Escanilla D, Franze'n C, Uhle'n M, Albert J. Reconstrucción precisa de una historia de transmisión conocida del VIH-1 mediante el análisis del árbol filogenético . *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93:10864-10869.
34. Lemey P, Vandamme A-M. Explorando las secuencias del genoma completo para el apoyo filogenético de los eventos de transmisión del VIH-1. *AIDS Lond Engl* 2005; 19:1551-1552.
35. Abecasis A, Vandamme AM, Lemey P. Sequence alignment in HIV computational analysis. En: *HIV Sequence Compendium 2006/2007*. Leitner T, Foley B, Hahn BH, Marx P, McCutchan F, Mellors J, *et al.* (editores). Los Álamos, Nuevo México: Theoretical Biology and Biophysics Group, Los Alamos National Laboratory.
36. Bahr A, Thompson JD, Thierry J-C, Poch O. BAIIBASE (Benchmark Alignment dataBASE): enhancements for repeats, transmembrane sequences and circular permutations. *Nucleic Acids Res* 2001; 29:323-326.
37. Hall BG. Comparación de las precisiones de varios métodos filogenéticos utilizando secuencias de proteínas y ADN. *Mol Biol Evol* 2005; 22:792-802.
38. Kuhner MK, Felsenstein J. A simulation comparison of phylogenetic algorithms under equal and unequal evolutionary rates. *Mol Biol Evol* 1994; 11:459-468.
39. Nei M. Phylogenetic analysis in molecular evolutionary genet-ics. *Annu Rev Genet* 1996; 30:371-403.
40. Wertheim JO, Sanderson MJ, Worobey M, Bjork A. Relaxed molecular clocks, the bias-variance trade-off, and the quality of phylogenetic inference. *Syst Biol* 2010; 59:1-8.
41. Alfaro ME, Zoller S, Lutzoni F. ¿Bayes o bootstrap? A simulation study comparing the performance of Bayesian Markov chain Monte Carlo sampling and bootstrapping in assessing phylogenetic confidence. *Mol Biol Evol* 2003; 20:255-266.
42. Douady CJ, Delsuc F, Boucher Y, Doolittle WF, Douzery EJP. Comparison of Bayesian and maximum likelihood bootstrap measures of phylogenetic reliability. *Mol Biol Evol* 2003; 20:248-254.
43. Cummings MP, Handley SA, Myers DS, Reed DL, Rokas A, Winka K. Comparing bootstrap and posterior probability values in the four-taxon case. *Syst Biol* 2003; 52:477-487.
44. Erixon P, Svennblad B, Britton T, Oxelman B. Reliability of Bayesian posterior probabilities and bootstrap frequencies in phylogenetics. *Syst Biol* 2003; 52:665-673.
45. Pattengale ND, Alipour M, Bininda-Emonds ORP, Moret BME, Stamatakis A. ¿Cuántas réplicas bootstrap son necesarias? *J Comput Biol J Comput Mol Cell Biol* 2010; 17:337-354.
46. Kariuki SM, Selhorst P, Arie'n KK, Dorfman JR. El cuello de botella de la transmisión del VIH-1. *Retrovirology* 2017; 14:22.
47. Scaduto DI, Brown JM, Haaland WC, Zwickl DJ, Hillis DM, Metzker ML. Source identification in two criminal cases using phylogenetic analysis of HIV-1 DNA sequences. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107:21242-21247.
48. van der Kuyl AC, Jurriaans S, Back NKT, Sprenger HG, van der Werf TS, Zorgdrager F, *et al.* Grupo inusual de infecciones duales por VIH tipo 1 en Groningen, Países Bajos. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2011; 27:429-433.
49. de Oliveira T, Pybus OG, Rambaut A, Salemi M, Cassol S, Ciccozzi M, *et al.* Molecular epidemiology: HIV-1 and HCV sequences from Libyan outbreak. *Nature* 2006; 444:836-837.
50. Gonzalez-Candelas F, Bracho MA, Wrobel B, Moya A. Evolución molecular en los tribunales: análisis de un gran brote de virus de la hepatitis C de una fuente evolutiva. *BMC Biol* 2013; 11:76.
51. Matsuda EM, Coelho LPO, Pimentel VF, Onias HB, Brígido LF de M. Un caso de transmisión del VIH-1 posiblemente asociado al cuidado de la manicura. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2014; 30:1150-1153.
52. Drummond AJ, Suchard MA, Xie D, Rambaut A. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Mol Biol Evol* 2012; 29:1969-1973.
53. Huelsenbeck J, Hillis DM. Éxito de los métodos filogenéticos en el caso de cuatro taxones. *Syst Biol* 1993; 42:247-264.
54. Romero-Severson E, Skar H, Bulla I, Albert J, Leitner T. El tiempo y el orden de los eventos de transmisión no se reflejan directamente en la filogenia de un patógeno. *Mol Biol Evol* 2014; 31:2472-2482.
55. Vandamme AM. Conceptos básicos de la evolución molecular. En: Lemey P, Salemi M, Vandamme AM, editores. *The phylogenetic handbook: a practical approach to phylogenetic analysis and hypothesis testing*. New York: Cambridge University Press; 2009.
56. Vrancken B, Rambaut A, Suchard MA, Drummond A, Baele G, Derdelinckx I, *et al.* La dinámica de la población genealógica del VIH-1 en una gran cadena de transmisión: puenteadando dentro y entre las tasas evolutivas del huésped. *PLoS Comput Biol* 2014; 10:e1003505.
57. Cousins MM, Konikoff J, Sabin D, Khaki L, Longosz AF, Laeyendecker O, *et al.* Comparación de dos medidas de diversidad del VIH en algoritmos de multiensayo para la estimación de la incidencia del VIH. *PLoS One* 2014; 9:e101043.
58. Puller V, Neher R, Albert J. Estimación del tiempo de infección del VIH-1 a partir de la diversidad de secuencias de próxima generación. *PLoS Comput Biol* 2017; 13:e1005775.
59. Taylor A, Goldberg D, Emslie J, Wrench J, Gruer L, Cameron S, *et al.* Brote de infección por VIH en una prisión escocesa. *BMJ* 1995; 310:289-292.
60. Yirrell DL, Robertson P, Goldberg DJ, McMenamin J, Cameron S, Leigh Brown AJ. Investigación molecular del brote de VIH en una prisión escocesa. *BMJ* 1997; 314:1446-1450.
61. Bird SM, Brown AJ. Criminalización de la transmisión del VIH: implicaciones para la salud pública en Escocia. *BMJ* 2001; 323:1174-1177.
62. ONUSIDA. *Informe de la reunión de expertos sobre los aspectos científicos, médicos, jurídicos y de derechos humanos de la penalización de la no revelación, exposición y transmisión del VIH, 31 de agosto - 2 de septiembre de 2011*. ONUSIDA; 2012.
63. ONUSIDA; PNUD. *Informe de política: criminalización de la transmisión del VIH. Ginebra, julio de 2008; Nota de orientación del ONUSIDA: poner fin a la penalización excesivamente amplia de la no revelación, la exposición y la transmisión del VIH: consideraciones científicas, médicas y jurídicas fundamentales*. Ginebra: ONUSIDA; 2013.
64. Comisión Mundial sobre el VIH y la Ley. El VIH y la ley: Riesgos, derechos y salud. Comisión Global sobre el VIH y la Ley, 2012. <https://hivlawcommission.org/>.
65. Wertheim F O, Kosakovsky Pond S L, Forgione L A, Mehta S R, Murrell B, Shah S, *et al.* Redes sociales y genéticas de transmisión del VIH-1 en la ciudad de Nueva York. *PLoS Pathog* 2017; 13:e1006000.
66. Lin H, He N, Zhou S, Ding Y, Qiu D, Zhang T, *et al.* Rastreo conductual y molecular de contactos sexuales de riesgo en una muestra de hombres chinos infectados por el VIH que tienen sexo con hombres. *Am J Epidemiol* 2013; 177:343-350.
67. Cohen J. La localización de la propagación del VIH en África plantea riesgos. *Ciencia* 2017; 356:568-569.