ARTIGO ORIGINAL / *ORIGINAL ARTICLE*

Caracterização do subtipo de vírus da imunodeficiência humana (VIH 1) nos doentes com seguimento no Hospital de Curry Cabral

Characterization of HIV 1 subtypes at Hospital Curry Cabral, in Lisbon

/ B. Flor de Lima[1] / S. Lino[2] / M.J. Manata[3] / M. Machado[3,4] / F. Maltez[3,5]

[1] Interna complementar de Doenças Infecciosas
[2] Especialista de Doenças Infecciosas
[3] Assistente hospitalar graduada(o) de Doenças Infecciosas
[4] Chefe de serviço de Medicina Interna
[5] Diretor do serviço de Doenças Infecciosas do Hospital de Curry Cabral, Centro Hospitalar de Lisboa Central

Correspondência:
B. Flor de Lima
Morada: Rua da Beneficiência nº8
1069- 166 Lisboa
Portugal
email: barbara.flordelima@gmail.com

Artigo recebido em
2013-5-6

Artigo aceite para publicação em
2013-7-18

/ Resumo

Introdução: No início da pandemia da infeção por VIH, verificou-se uma prevalência do subtipo B do vírus nos países ocidentais. No entanto, com o aumento da migração para a Europa, sobretudo a partir dos países de África e do sudoeste Asiático, a epidemiologia molecular da infeção por VIH 1 na Europa ocidental tem-se vindo a modificar com aumento da prevalência de infeções por subtipos não B.
Métodos: Revisão dos resultados dos testes de genotipagem do VIH 1 realizados no Laboratório de Virologia do Hospital de Curry Cabral, de 1 agosto de 2011 a 31 de julho de 2012. De um total de 309 testes de genotipagem realizados neste período, foram incluídos nesta análise 213 testes (71 foram excluídos por serem de doentes sem seguimento neste hospital). A análise genotípica foi realizada através do TRUGENE HIV-1® Kit, com deteção de mutações genómicas na região da protease e transcriptase reversa, codificadas no gene pol.
Resultados: A maioria dos doentes é do sexo masculino (71%) e com uma média de idades de 42 anos (18-82 anos). Cerca de 30% dos doentes são imigrantes, sendo os principais países de origem Angola (7%), Guiné-Bissau (6%) e Brasil (5%). O motivo da realização do teste de genotipagem foi por insucesso terapêutico em 56% dos doentes. Quarenta e quatro por cento dos doentes têm subtipo B do VIH 1, seguindo-se o subtipo G (25%) e a forma recombinante AG (10%). O subtipo B está associado a mutações/polimorfismos no teste de genotipagem de doentes sem Terapêutica Anti-retrovírica TARVc ($p<0.001$). Dos doentes sem TARV, apenas 28 (30%) não tinham qualquer mutação/polimorfismo no teste de genotipagem. Quatro doentes tinham mutações de resistência de alto grau à nevirapina e ao efavirenz.
Conclusões: Neste estudo a maioria (56%) dos doentes estão infetados por VIH 1 de subtipo não B, sendo o subtipo G o mais prevalente (25%). A resistência primária a inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa foi encontrada apenas em 4 doentes (4%). O conhecimento do genotipo viral e das mutações associadas a resistência aos anti-retrovíricos é fundamental para o tratamento adequado dos doentes com infeção por VIH 1.

Palavras-chave: Subtipo de VIH 1; Resistência primária; Teste de genotipagem.

/ Abstract

Introduction: *In the beginning of HIV pandemic there was a prevalence of subtype B in Western countries. However, with migrant population through Europe, there is an increasing prevalence of non-B HIV subtypes. The main goal was to characterize HIV subtypes at a referral hospital.*
Methods: *The HIV genotype tests done at Hospital de Curry Cabral (Lisbon), from 1st August 2011 until 31st July 2012 were revised. From a total of 309, 213 genotype tests were included. The genotypic analysis was done through TRUGENE HIV-1® Kit.*
Results: *the majority of patients were male sex (71%) with a mean age of 42 years (18-82 years). Almost 30% were immigrants. The test was done because of virologic failure in 56% and as initial evaluation in 44%. 44% of patients had B subtype HIV virus, followed by G subtype (25%) and AG recombinant (10%). B subtype was associated with test mutations or polymorphisms in patients without antiretroviral therapy ($p<0.001$), but was not associated with previous schemes in those on antiretroviral therapy ($p>0.05$). From those patients without antiretroviral therapy only 28 (30%) had no mutations or polymorphisms in the genotype test. Primary resistance to NNRTIs was found in 4 patients (4%), with high grade mutations to nevirapine and efavirenz.*
Conclusions: *the majority of the patients (56%) were infected with a non-B HIV subtype, being G subtype the most prevalent (25%). It is emerging primary resistance to antiretroviral therapy, mainly to NNRTIs. The knowledge of HIV subtype and its associated mutations conferring antiretroviral therapy resistance is of paramount importance for a successful treatment.*

Keywords: *HIV 1 subtype; Genotype test; Primary resistance.*

/ Introdução

A diversidade do vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (VIH 1) deu origem a múltiplos subtipos e formas recombinantes. O principal grupo do VIH 1 (grupo M) diversificou-se num grande número de variantes, incluíndo nove subtipos (A-D, F-H, J-K), seis subtipos (A1-A4, F1-F2), e múltiplas (>50) formas recombinantes circulantes (FRC) e centenas de formas recombinantes únicas (FRU). Variantes do VIH 1 estão continuamente a ser introduzidas na população, devido à mobilidade e migração de pessoas[1]. Globalmente, a maioria das infecções por VIH 1 são pelos subtipos A,B,C, FRC-01AE e FRC-02AG[2].

A distribuição dos subtipos é importante uma vez que estes podem influenciar a evolução da infecção por VIH 1 [3]. Apesar da terapêutica anti-retrovírica ser eficaz contra todos os subtipos, estudos recentes sugerem padrões diferentes de resistência à terapêutica anti-retrovírica TARVc entre os diversos subtipos[1].

Portugal apresenta uma das mais altas prevalências da infecção por VIH na Europa. Até 31 de dezembro de 2011 foram notificados 41.035 casos. Por razões históricas, económicas e sociais, nomeadamente a proximidade cultural a ex-colónias africanas (Angola e Moçambique), à Ásia (Índia) e à América do Sul (Brasil), a epidemiologia da infeção por VIH é peculiar em Portugal[4, 5].

Recentemente, têm emergido vírus com mutações de resistência, mesmo em doentes sem TARVc prévia, constituindo assim um problema importante de saúde pública[6-8]. Estima-se

que na Europa um em cada 10 doentes sem história de TARV infetados pelo VIH 1 seja portador de pelo menos uma mutação associada a resistência[9]. Num estudo realizado em Portugal, verificou-se uma prevalência de cerca de 8% de estirpes víricas com mutações associadas a resistência à TARVc em doentes "drug naive" [5].

Os objectivos do estudo foram caracterizar o subtipo de VIH1 dos doentes com seguimento num hospital de referência, e avaliar as mutações/polimorfimos identificadas no teste de genotipagem em doentes "drug naive" sem TARVc.

/ Métodos

Na Figura 1 está esquematizado o desenho do estudo. De um total de 309 testes de genotipagem realizados de 1 de agosto de 2011 a 31 de julho de 2012, no Hospital de Curry Cabral (Laboratório de Virologia), foram excluídos 71 por serem de doentes sem seguimento neste hospital e 25 por outras razões. Foram incluídos 213 testes de genotipagem, tendo a análise genotípica do VIH 1 sido realizada atráves do TRUGENE HIV-1® Kit, com deteção de mutações genómicas na região da protease e da trascriptase reversa, codificadas no gene pol. Foram registados os diversos subtipos e formas recombinantes, as mutações aos análogos nucleosideos (INTR) e não-nucleosideos (INNTR) inibidores da transcriptase reversa, em doentes sem terapêutica anti-retrovírica. A interpretação das mutações foi realizada pelo HIV Drug resistance database® acedido através do site: http://hivdb.stanford.edu/.

Foram revistos os processos clínicos dos doentes, com registo das características demográficas (nome, idade, país de origem) e das características clinicas relativas à infeção por VIH 1, nomeadamente modo de transmissão, valores de linfócitos T CD4+, T CD8+, relação T CD4+/T CD8+, esquemas de terapêutica anti-retrovírica anteriores e atual, co-infeção por Vírus da Hepatite C/B (VHC/VHB), manifestações oportunistas prévias, e co-morbilidades (Hipertensão arterial, Diabetes Mellitus II).

Foi feita a análise estatística através do SPSS® (versão 18)- Teste Chi-quadrado e associação linear, com nível de significância de 0.05.

/ Resultados

Características demográficas

A maioria dos doentes incluídos no estudo é do sexo masculino (n=151, 71%) e com média de idades de 42 anos (18 - 82 anos). Cerca de 29% (n=62) são imigrantes, sendo os principais países de origem Angola (n=12, 7%), Guiné-Bissau (n=13, 6%), Brasil (n=11, 5%) e Moçambique (n=7, 3%).

Características clínicas

O diagnóstico de infeção por VIH 1 foi efectuado em média há 8 anos, tendo o diagnóstico sido realizado entre 1989 e 2012. A via de transmissão foi heterossexual em 110 doentes (56%), pela utilização de drogas endovenosas em 62 doentes (29%), homossexual em 38 doentes (18%), e numa minoria, transfusional (n=3, 1%). A mediana de linfócitos T CD4+ e T CD8+ é de 287 e 1039 células/mm3, respectivamente. A média da relação T CD4+/T CD8+ é de 0.298.

À data de realização do teste de genotipagem, cerca de 32% dos doentes (n=72) estavam sob TARVc, na maioria dos casos com má adesão e posterior falência virológica; 69 doentes (32%) iniciaram TARVc após a realização do mesmo, com boa adesão; 23 doentes (7%) não tinham critérios para início de TARVc.

Cerca de 26% dos doentes (n=55) tinham coinfecção pelo vírus da hepatite C (VHC) e 5% (n=10) coinfecção pelo vírus da hepatite B (VHB). Trinta e dois por cento (32%) dos doentes (n= 68) tiveram

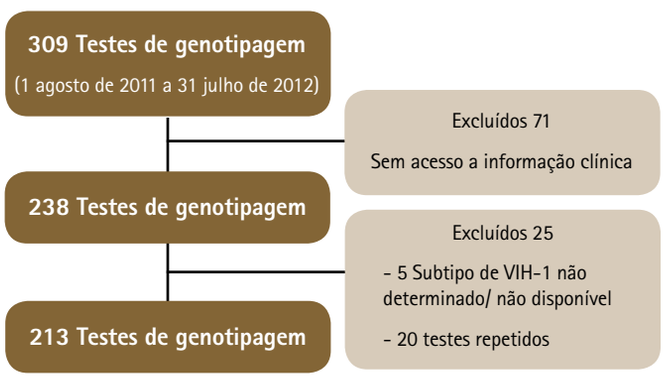


Figura 1: Seleção dos testes de genotipagem

pelo menos uma manifestação oportunista, sendo a tuberculose a mais prevalente (n=55, 25%), seguindo-se a pneumocistose (n=14, 7%), a toxoplasmose (n=10, 5%) e o Sarcoma de Kaposi (n=5, 2%).

Teste de genotipagem

O motivo de realização do teste foi a falência virológica na maioria dos casos (n=121, 57%). Nos restantes o teste foi realizado na avaliação inicial do seguimento em consulta ou em internamento.

Cerca de 44% (n=95) dos doentes têm subtipo B do VIH 1, seguindo-se o subtipo G (n=53, 25%), a forma recombinante A/G (n=22, 10%) e o subtipo C (n=12, 6%). Em 8% dos doentes (n=17) verificam-se outras formas recombinantes, sendo que um doente (<0.5%) tem a forma recombinante BG.

Na tabela 1 está descrita a relação dos vários subtipos de VIH 1 com o país de origem, com o modo de transmissão e com os fatores imunológicos.

Relação do subtipo do VIH 1 com o país de origem dos doentes

Verificou-se uma associação significativa entre o subtipo B do VIH 1 e a nacionalidade portuguesa (p=0.002, teste chi-quadrado), e a

nacionalidade brasileira (p=0.01, teste exacto de Fisher). A maioria dos doentes provenientes da Guiné-Bisau (n=9, 64%) não tinham subtipo AG, apesar de se ter verificado uma associação entre estes últimos (p=0.008, Teste exacto de Fisher). Os doentes provenientes de Moçambique estavam associados positivamente ao subtipo C de vírus (p<0.001, teste exato de Fisher).

Relação do subtipo do VIH 1 com o modo de transmissão da infeção

Na maioria dos doentes (n=51, 57%), o subtipo B não se associou de forma estatisticamente significativa à transmissão heterossexual do VIH-1 p=0.028 (teste chi-quadrado), nem à transmissão homossexual, p<0.001 (teste chi-quadrado). Nos doentes com subtipo C (n=10, 83%) a via de transmissão foi mais frequentemente heterossexual, p=0.026 (teste chi-quadrado). A história de utilização de drogas endovenosas no passado não se associou de forma estatisticamente significativa a nenhum dos subtipos de VIH-1 encontrados no estudo (p>0.05).

Relação do subtipo do VIH-1 com co- infeções e comorbilidade

A maioria dos doentes com subtipo G (n=32, 63%) não tinham coinfeção pelo vírus da hepatite C (VHC) (p=0.034, teste chi-quadrado). Os doentes com subtipo C (n=12, 100%) não estavam coinfetados por VHC, sendo este resultado estatisticamente significativo (p=0.039, teste exacto de Fisher). Não se verificou nenhuma relação estatisticamente significativa entre os diversos subtipos do VIH 1 com a coinfecção por vírus da hepatite B (VHB) (p>0.05).

TABELA I – ASSOCIAÇÃO ENTRE OS SUBTIPOS DE VIH-1 E CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E CLÍNICAS.

Subtipo VIH-1	País de origem		Via de transmissão VIH		Imunologia	
B n=90	**Portugal** n=74 (49%)	**p=0.002**[1]	**SexualHT** n=39(35%)	**p=0.028**[1]	CD4+>200 n=55(44%)	p=0.546[1]
	Angola tn=2 (14%)	**p=0.028**[1]	**SexualHM** n=27(71%)	**p<0.001**[1]	CD8+>800 n=53(41%)	p=0.583[1]
	Guiné-Bissau n=0	**p=0.001**[1]	UDEV n=23(37%)	p=0.329[1]	CD4+/CD8+>1 n=3(60%)	p=0.652[2]
	Moçambique n=2(29%)	p=0.701[2]	Transfusão n=1(33%)	p=1.000[2]	HLA B5701 n=6 (67%)	p=0.163[2]
	Brasil n=9 (82%)	**p=0.010**[2]				
G n= 51	Portugal n=38(25%)	p=0.515[1]	SexualHT n=28(25%)	p=0.648[1]	CD4+>200 n=29(23%)	p=0.762[1]
	Angola n=4 (29%)	p=0.146[2]	**SexualHM** n=3(8%)	**p=0.011**[1]	CD8+>800 n=29(22%)	P=0.484[1]
	Guiné-Bissau n=4(29%)	p=0.746[2]	UDEV n=19(31%)	p=0.142[1]	CD4+/CD8+>1 n=0	p=0.341[2]
	Moçambique n=0	p=0.2012	Transfusão n=1(33%)	p=0.562[2]	HLA B5701 n=1 (11%)	p=0.690[2]
	Brasil n=1(9%)	p=0.466[2]				
AG n=22	Portugal n=13(0.1%)	p=0.198[1]	SexualHT n=14(13%)	p=0.253[1]	CD4+>200 n=10(8%)	p=0.183[1]
	Angola n=0	p=0.370[2]	SexualHM n=2(5%)	p=0.381[2]	CD8+>800 n=11(8%)	P=0.262[1]
	Guiné-Bissau n=5(36%)	**p=0.008**[2]	UDEV n=6(10%)	p=0.841[1]	CD4+/CD8+>1 n=1(20%)	p=0.423[2]
	Moçambique n=0	p=1.000[2]	Transfusão n=0	p=1.000[2]	HLA B5701 n=1 (11%)	p=1.000[2]
	Brasil n=0	p=0.609[2]				
C n=12	**Portugal** n=4(3%)	**p=0.006**[2]	**SexualHT** n=10 (9%)	**p=0.026**[1]	CD4+>200 n=7(6%)	p=1.000[2]
	Angola n=3(21%)	**p=0.035**[2]	SexualHM n=1 (3%)	p=0.698[2]	CD8+>800 n=10(8%)	p=0.133[2]
	Guiné-Bissau n=1(7%)	p=0.568[2]	UDEV n=1(2%)	p=0.187[2]	CD4+/CD8+>1 n=0	p=1.000[2]
	Moçambique n=4(57%)	**p<0.001**[2]	Transfusao n=0	p=1.000[2]	HLA B5701 n=0	p=1.000[2]
	Brasil n=0	p=1.000[2]				
Outros RC n=17	Portugal n=10 (7%)	p=0.272[2]	SexualHT n=10(9%)	p=0.564[1]	CD4+>200 n=12(10%)	p=0.299[1]
	Angola n=2 (17%)	p=0.309[2]	SexualHM n=3(8%)	p=1.000[2]	CD8+>800 n=13 (10%)	p=0.174[1]
	Guiné-Bissau n=1(7%)	p=1.000[2]	UDEV n=5 (8%)	p=1.000[2]	CD4+/CD8+>1 n=0	p=1.000[2]
	Moçambique n=1(14%)	p=0.446[2]	Transfusão n=0	p=1.000[2]	HLA B5701 n=1 (11%)	p=0.539[2]
	Brasil n=1(9%)	p=1.000[2]				

1- Teste chi-quadrado 2- Teste exacto de Fisher

As percentagens (%) acima descritas estão em relação com o valor total do item analisado na coluna. Outros RC – outros recombinantes; Sexual HT – heterossexual; Sexual HM – homossexual, UDEV – utilização de drogas endovenosas

Não se verificou nenhum associação significativa entre o subtipo de VIH 1 e a história pregressa de manifestações oportunistas associadas ou fatores de risco cardiovascular como hipertensão arterial essencial, diabetes mellitus II ou cardiopatia isquémica prévia (p>0.05).

Mutações

Na tabela 2. estão descritas as mutações/polimorfismos encontrados nos testes de genotipagem dos doentes sem TARVc (n=92, 43%), tendo o mesmo sido realizado na avaliação inicial da doença por VIH. Destes, em 28 doentes (32%) não foi identificada qualquer mutação ou polimorfismo. Em 4 doentes (4%) foram identificadas mutações de alto grau de resistência aos INNTR, nomeadamente as mutações K103N (n=2) e G190A/S (n=2). O polimorfismo mais frequentemente observado foi a M36I, polimorfismo no codão 36 do gene da protease, presente em 40% dos doentes.

/ Discussão

Na população de doentes estudada o subtipo não B do VIH 1 foi mais frequente (56%), sendo o subtipo G o mais prevalente (25%), resultado que é concordante com outro estudo realizado em Portugal [5]. A mesma concordância se verificou com a proporção de subtipos recombinantes (18%, n=39), apesar da metodologia utilizada ter limitações na identificação dos mesmos [5]. Na Europa, tem-se verificado igualmente a mesma tendência, apesar de numa percentagem inferior (25%) [10] [11].

O subtipo AG e o subtipo A têm sido amplamente descritos na transmissão do VIH 1 na Guiné-Bissau[12]. Contudo, a maioria dos doentes provenientes da Guiné-Bissau, incluídos no presente estudo, não tinham o subtipo AG, provavelmente pelo facto de terem emigrado há muito tempo, podendo a infeção por VIH 1 já ter sido adquirida em Portugal. Contudo, não foi estudado o padrão de transmissão do vírus e a sua relação com o tempo de residência em Portugal e a nacionalidade do parceiro sexual. Um doente (<0.5%) tinha a

TABELA 2. MUTAÇÕES/POLIMORFISMOS DETETADOS NOS TESTES DE GENOTIPAGEM EM DOENTES SEM TARV (N=92).

Antecedentes Patológicos	Prevalência de mutações na população estudada
Inibidores da Transcriptase Reversa n=32	
K10E/I Não classificada	n=1 (3%)
V901V Não Classificada	n=2 (6%)
K103N Resistência alto grau NVP e EFV	n=2 (6%)
E138A Polimorfismos que pode diminuir susceptibilidade ETR e RPV em combinação com outras mutações de resistência INNTR	n=5 (16%)
E138G Mutação não-polimórfica associada a terapêutica com ETR e diminui a susceptibilidade à ETR e RPV em 2-3x	n= 1 (3%)
G190A Resistência de alto grau à NVP e intermédia ao EFV	n=1 (3%)
G190S Resistência alto grau NVP e EFV	n=1 (3%)
V179D/E ~1% em doentes sem terapêutica com INNTR. Reduz susecptibilidade à NVP e EFV em 2x. Pode diminuir susceptibilidade à ETR associada a outras mutações.	n=2 (6%)/ n=1 (3%)
V90I Polimorfismo comum que é selecionado pela ETR e RPV. Reduz a suscetibilidade à ETR quando associada a outras mutações de resistência aos INNRT.	n=1 (3%)
V106I Polimorfismo comum. Sinergismo com a mutação V179D na redução da susceptibilidade a NVP, EFV e possivelmente ETR	n=8 (25%)
V108I Reduz a susceptibildiade à NVP e EFV em 2x	n=1 (3%)
V118I ~2% doentes não tratados. Facilita menor susceptibilidade a INTR associada a TAMs	n=4 (13%)
T215S Não diminui a susceptibilidade aos INTR, mas surge de um vírus que tinha a mutação T215Y/F.	n=1 (3%)
Inbidores da protease (IP) n=109	
A71T/V Polimorfismos que ocorrem em 2-3% dos doentes sem TARVc	n=3 (3%)/ n=4 (4%)
L10I/V; L10F Mutações minor. Estão associadas a resistência à maioria dos IP quando estão presentes outras mutações. A mutação L10I/V ocorre entre 5-10% dos doentes não tratados. A mutação L10F é uma mutação não polimórfica, que se associa a suscetibilidade diminuida aos Ips com exeção do ATV/r, SQV/r e TPV/r.	n=9 (8%)/ n=5 (5%); n=1 (1%)
L90M Mutação major. Diminui a suscetibilidade ao NFV, SQV/r e ATV/r. Quando estão presentes outras mutações, diminui a susceptibilidade ao FPV/r e LPV/r.	n=1 (1%)
L33V Polimorfismo. Sem relação com terapêutica com IP ou resistência aos fármacos.	n=1 (1%)
K20I/R Mutações selecionadas, muito comumente pelo NFV. K20I é não-polimórfica. K20R é uma mutação muito polimórfica; pouca contribuição para diminuição da suceptibilidade aos IPs.	n=27 (25%)/ n=6 (6%)
M36I/L Fracamente associada a resistência aos IPs nos vírus do sub-tipo B, quando associada a outras mutações. A Mutação M26L é incomum e de significado incerto.	n=44 (40%)/ n=4 (4%)
V11I Mutação minor/selecionada. Fraca associação a diminuição da suscetibilidade ao FPV/r e DRV/r.	n=2 (2%)
T74S Associada a suscetibilidade diminuída ao NFV. Ocorre em 5% dos doentes com sub-tipo de vírus C não tratados.	n=1 (1%)
E34Q Não classificada	n=1 (1%)

NVP – Nevirapina, EFV – *Efavirenz*, RPV – Rilpivirina, INNTR – inibidores não-nucleosídeos da transcriptase reversa, ATV/r – Atazanavir potenciado com ritonavir, DRV/r – Darunavir potenciado com ritonavir, FPV/r – fosamprenavir, LPV/r – lopinavir potenciado com ritonavir, potenciado com ritonavir, NFV – Nellfinavir, SQV/r – saquinavir potenciado com ritonavir, IP – inibidores da protease

forma recombinante BG, que foi descrita pela primeira vez em Portugal, em 2002 [13].

Verificou-se elevada prevalência de mutações/polimorfismos nos testes de genotipagem do VIH 1, em doentes sem TARvc, enquanto que em apenas 32% se identificou infeção por estirpe selvagem de VIH1, ou seja, não se identificaram mutações genotípicas. Contudo, em 4% dos doentes as estirpes víricas identificadas apresentavam resistência de alto grau a INNTR. Num estudo realizado em Portugal em 2003,em cerca de 8% dos doentes foram identificadas estirpes víricas com mutações associadas a resistência a INNTR. [5] A percentagem mais baixa encontrada no presente estudo poderá traduzir uma tendência para a diminuição da transmissão de vírus associados a resistência, relacionado eventualmente com estratégias atuais de terapêutica mais eficazes. Em nenhum doente foram identificadas mutações associadas com resistência a IP. Verificou-se, também, associação entre o subtipo B de VIH-1 e a presença de mutações/polimorfismos.

O presente estudo apresenta algumas limitações, nomeadamente, a não realização de análise genética e de estudo de pelo menos dois genes na caracterização do subtipo de vírus, o facto de compreender apenas a avaliação de testes de genotipagem efetuados durante 1 ano e, tendo em conta a metodologia utilizada de revisão retrospetiva dos processos clínicos, a dificuldade de análise de aspetos epidemiológicos pela falta de registo de informação clínica nos mesmos.

O conhecimento do genotipo viral e das mutações associadas a resistência aos anti-retrovíricos é fundamental para o tratamento adequado dos doentes com infeção por VIH. A realização do teste de genotipagem é custo-efetiva quando a transmissão de vírus com resistência é superior a 1 a 5%. Em conclusão, a realização de testes de genotipagem está recomendada na avaliação inicial de todos os doentes, assim como quando ocorre falência do tratamento anti-retrovírico [14]

/ Bibliografia

1. Lessells, R., Katzenstein, DK. and de Oliveira, T.. "Are subtype differences important in HIV drug resistance?" *Curr Opin Virol* 2012; 2(5): 636-643.

2. Tebit, D. and Arts EJ.. "Tracking a century of global expansion and evolution of HIV to drive understanding and to combat the disease." *Lancet Infect Dis* 2011, Jan 11(1):45-56.

3. Kiwanuka, N.L., Robb, M., Kigozi, et al.. "Effect of human immunodeficiency virus Type 1 (HIV-1) subtype on disease progression in persons from Rakai, Uganda, with incident HIV-1 infection." *J Infect Dis* 2008; 197(5): 707-13.

4. Departamento de Doenças Infecciosas Unidade de Referência e Vigilância Epidemiológica. Infeção VIH/SIDA: "A Situação em Portugal a 31 de Dezembro de 2011." Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP, 2012. Documento VIH/SIDA nº 143: 5-21.

5. Palma, AC., Araújo, F., Duque, V.; Borges, F., Paixão, MT., Camacho, R.. "Portuguese SPREAD Network., Molecular epidemiology and prevalence of drug resistance-associated mutations in newly diagnosed HIV-1 patients in Portugal." *Infect Genet Evol* 2007; 7(3): 391-8.

6. Yaotsè, DA., Nicole, V., Roch, NF., Mireille, PD., Eric, D. and Martine, P., "Genetic characterization of HIV-1 strains in Togo reveals a high genetic complexity and genotypic drug-resistance mutations in ARV naive patients." *Infect Genet Evol* 2009; 9(4): 646-52.

7. Boden, D., Hurley, A., Zhang, L., et al.. "HIV-1 drug resistance in newly infected individuals." *JAMA* 1999; 282(12): 1135-41.

8. Sprinz, E., Netto, EM., Patelli, M., et al.. "Primary antiretroviral drug resistance among HIV type 1-infected individuals in Brazil." *AIDS Res Hum Retroviruses* 2009; 25(9): 861-7.

9. Wensing AM., van de Vijver DA., Angarano G., et al.. "Prevalence of drug-resistant HIV-1 variants in untreated individuals in Europe: implications for clinical management." *J Infect Dis* 2005; 192(6): 958-66.

10. Chaix, M., Seng, R., Frange, P., et al., "for the ANRS PRIMO Cohort Study Group. Increasing HIV-1 Non-B Subtype Primary Infections in Patients in France and Effect of HIV Subtypes on Virological and Immunological Responses to cART." *Clin Infect Dis* 2013; 56(6):880-7.

11. Bannister, W., Ruiz, L., Loveday, et al., "EuroSIDA Study Group. HIV-1 subtypes and response to combination antiretroviral therapy in Europe." *Antivir Ther* 2006; 11(6): 707-15.

12. Esbjörnsson, J., Mild, M., Månsson, F., Norrgren, H. and Medstrand, P.. "HIV-1 molecular epidemiology in Guinea-Bissau, West Africa: origin, demography and migrations." *PLoS One* 2011;6(2):e17025.

13. Duque, V., Holguín, A., Silvestre, M., González-Lahoz, J. and Soriano, V.. "Human immunodeficiency virus type 1 recombinant B/G subtypes circulating in Coimbra, Portugal." *Clin Microbiol Infect* 2003; 9(5): 422-5.