



INSTITUTO DE HIGIENE E
MEDICINA TROPICAL
DESDE 1902

Universidade Nova de Lisboa
Instituto de Higiene e Medicina Tropical

Origem da infeção do VIH-1 na população imigrante de
países de língua portuguesa acompanhada em Portugal

Giordano Avancini Sole

**DISSERTAÇÃO PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM
SAÚDE PÚBLICA E DESENVOLVIMENTO**

Abril, 2022



INSTITUTO DE HIGIENE E
MEDICINA TROPICAL
DESDE 1902

Universidade Nova de Lisboa
Instituto de Higiene e Medicina Tropical

Origem da infeção do VIH-1 na população imigrante de
países de língua portuguesa acompanhada em Portugal

Autor: Giordano Avancini Sole

Orientador: Victor Pimentel

Coorientador: Ana Abecasis

Dissertação apresentada para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção
do grau de Mestre em Saúde Pública e Desenvolvimento.

Resumo

Introdução: Estima-se que 37,7 milhões de pessoas vivam com o vírus da imunodeficiência humana (VIH), e embora muitos esforços tenham sido tomados este continua a ser um problema de saúde pública. Grande parte dos diagnósticos realizados na Europa são de migrantes oriundos de países com epidemia generalizada, como países da África Subsaariana e da América Latina. Em Portugal, dos diagnósticos que apresentam a informação do país de origem 40,4% são migrantes. O VIH apresenta diversos subtipos que diferem de acordo com a distribuição geográfica. A fim de identificar indivíduos em grupos de transmissão relacionados (clusters), métodos filogenéticos como as redes de transmissão são utilizados e proporcionam avaliação da propagação de vírus como o VIH, revelando epidemias que possuem origem em outros países. A elaboração de redes de transmissão do VIH-1 em migrantes de países de língua portuguesa – do Brasil ou de Países Africanos de Língua Oficial Portuguesa (PALOPs) – pode auxiliar a melhor compreender a origem da infeção nesta população.

Objetivo: Explorar a ligação epidemiológica do VIH-1 a fim de avaliar as características da dinâmica de clusters de transmissão filogenéticos, bem como identificar a possível origem da infeção do VIH-1 na população imigrante de Países de Língua Portuguesa acompanhada em Portugal.

Materiais e métodos: Estudo transversal e descritivo. Foram coletadas sequências genómicas, dados sociodemográficos e clínicos de 772 imigrantes VIH-1 positivos acompanhados em Portugal entre 2001 e 2017. A construção dos clusters de transmissão do VIH-1 foi realizada com a aplicação de inferência filogenética de 772 sequências de imigrantes, além de 12.709 sequências de controlo de fundo global e 2.973 sequências controlo portuguesas, totalizando 16.454 indivíduos que foram cruzados com dados demográficos e clínicos. Os clusters de transmissão foram definidos com suporte de ramo >90% (SH-test), distância genética <3,5%, e a origem da infeção dos clusters foi determinada quando mais de 66% das amostras pertenciam a uma mesma origem geográfica. Modelos de regressão logística foram utilizados para avaliar os fatores associados às redes de transmissão na população do estudo.

Resultados: Houve 306 (39,6%) imigrantes incluídos em clusters de transmissão. A proporção diferiu significativamente por região de origem: do total de imigrantes do Brasil 54% estavam em clusters contra 36% dos PALOPs ($p<0.0001$); o subtipo B correspondeu a 52% das infeções, seguido pelo G (43%) e CRF02_AG (32%) ($p<0.001$). Outros fatores relacionados a pertencer a um cluster de transmissão incluíram a contagem de linfócitos TCD4⁺ >500 células/mm³, ser originário do Brasil e o ano da amostra. Os imigrantes brasileiros representaram a maioria dos clusters do subtipo B, cujas infeções (40,6%) foram provenientes de portugueses. Imigrantes PALOPs representaram a maioria das infeções dos subtipos G e CRF02_AG, com a origem das transmissões ocorrendo na comunidade de imigrantes (53% e 80%), respetivamente.

Conclusão: De acordo com o país de origem dos imigrantes a viver em Portugal a aquisição da infeção do VIH-1 é divergente. Os resultados podem contribuir na construção da rede de transmissão do VIH-1 em imigrantes de Portugal e auxiliar na monitorização da epidemia de VIH-1 e prevenir novas infeções deste vírus em migrantes.

Palavras-chave: VIH-1; imigrantes; epidemiologia molecular; clusters de transmissão.

Abstract

Introduction: It is estimated that 37.7 million people are living with the human immunodeficiency virus (HIV), and although many efforts have been taken it remains a public health problem. Most of the diagnoses carried out in Europe are from migrants from countries with a generalized epidemic, such as countries in Sub-Saharan Africa and Latin America. In Portugal, of the diagnoses that present information on origin, 40.4% are migrants. HIV has several subtypes that differ according to geographic distribution. In order to identify individuals in related transmission groups, phylogenetic methods such as transmission networks are used and provide assessment of the spread of viruses such as HIV, revealing epidemics that originate in other countries. The elaboration of HIV-1 transmission networks in Portuguese-speaking migrants – from Brazil or from Portuguese-speaking African Countries (PALOPs) – can help to better understand the origin of the infection in this population.

Objective: Explore the epidemiological link of HIV-1 in order to assess the characteristics of the dynamics of phylogenetic transmission clusters, as well as identify the possible origin of HIV infection involving immigrants of Portuguese-speaking countries monitored in Portugal.

Design/methods: Cross-sectional and descriptive study. Genomic sequences, sociodemographic and clinical data were collected from 772 HIV-1 positive immigrants followed in Portugal between 2001 and 2017. The construction of HIV-1 transmission clusters was carried out by applying phylogenetic inference from 772 sequences from immigrant patients, in addition to of 12,709 global background control sequences and 2,973 Portuguese control sequences, totaling 16,454 patients who were crossed over with demographic and clinical data. Transmission clusters were defined with branch support >90% (SH-test), genetic distance <3.5%, and the origin of infection of clusters was determined when more than 66% of patients belonged to the same geographic origin. Logistic regression models were used to assess factors associated with transmission networks in the study population.

Results: There were 306 (39.6%) immigrants included in transmission clusters. The proportion differed significantly by region of origin: of the total number of immigrants from Brazil, 54% were in clusters against 36% of PALOPs ($p<0.0001$); subtype B corresponded to 52% of infections, followed by G (43%) and CRF02_AG (32%) ($p<0.001$). Other factors related to belonging to a transmission cluster included being naive, $CD4^+$ T lymphocytes count >500 cells/mm³, being Brazilian migrant, and sample year. Brazilian migrants represented the majority of subtype B clusters, whose infections (40.6%) were from Portuguese. PALOP immigrants accounted for the majority of infections of subtypes G and CRF02_AG, with the origin of transmissions occurring in the immigrant community (53% and 80%), respectively.

Conclusion: According to the country of origin of immigrants living in Portugal, the acquisition of HIV-1 infection is different. The results can contribute to the construction of the HIV-1 transmission network in migrants from Portugal and help to monitor the HIV epidemic and prevent new HIV infections in migrants.

Keywords: HIV-1; migrants; molecular epidemiology; transmission clusters.

Índice

1.Introdução.....	1
1.1.Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH).....	1
1.2.Perfil do VIH na Europa	3
1.3.VIH em Portugal.....	6
1.4.VIH em Países Lusófonos.....	10
1.4.1.Brasil.....	10
1.4.2.PALOPs da África Oriental e da África Meridional	10
1.4.3.PALOPs da África Ocidental e Central	11
1.5.Estrutura do VIH.....	12
1.6.Ciclo de replicação do VIH.....	15
1.7.Origem do VIH e diversidade genética.....	16
1.7.1.Distribuição global dos subtipos, CRFs e URFs do VIH-1	17
1.7.2.Distribuição regional dos subtipos, CRFs e URFs do VIH-1 ..	19
1.7.3.Distribuição dos subtipos, CRFs e URFs do VIH-1 em Portugal.....	20
1.8.Terapia antirretroviral.....	22
1.9.Resistência a ARV.....	25
1.9.1.TARV e resistência a ARV em Portugal	25
1.10.Redes de transmissão de VIH.....	27
1.10.1.Construção de redes de transmissão.....	27
1.10.2.Utilização das redes de transmissão.....	28
2.Objetivos.....	29
2.1.Objetivo geral.....	29
2.2.Objetivos específicos.....	29
3.Materiais e métodos	30
3.1.Desenho e população do estudo.....	30
3.2.Determinação dos subtipos do VIH-1	30
3.3.Análises filogenéticas e redes de transmissão	30
3.4.Análise da resistência a medicamentos antirretrovirais	31
3.5.Análise estatística.....	31
3.6.Origem da infeção baseada em clusters de transmissão	32
4.Resultados.....	34
4.1.Dados sociodemográficos e clínicos.....	34
4.2.Inferência da transmissão de cluster.....	36
4.3.Preditores dos clusters de transmissão molecular	43

4.4. Perfil da distribuição das infeções de VIH-1 entre imigrantes acompanhados em Portugal.....	45
4.4.1. Subtipo B.....	45
4.4.2. Subtipo G.....	45
4.4.3. CRF02_AG.....	46
5. <i>Discussão e conclusões</i>	48
6. <i>Referências bibliográficas</i>	51

Lista de Abreviaturas

3TC - Lamivudina

ABC - Abacavir

ADN - Ácido Desoxirribonucleico

APV - Amprenavir

ARN - Ácido ribonucleico

ARV - Antirretrovirais

ATZ - Atazanavir

AZT - Zidovudina

CHLO - Centro Hospitalar Lisboa Ocidental

CRFs Formas recombinantes circulantes

d4T - Estavudina

ddC - Zalcitabina

ddI - Didanosina

EEE –Espaço Económico Europeu

EVG - Elvitegravir

FTC - Emtricitabina

HAART - Terapia antirretroviral de alta potência

HET – Heterossexuais

HSH – Homens que fazem sexo com homens

IDV - Indinavir

II - Inibidores da Integrase

IQR - Intervalo interquartil

LPV - Lopinavir

LTR – Repetição terminal longa

ML - máxima verossimilhança (do inglês *maximum-likelihood*)

MRCA - Ancestral comum mais recente

NFV - Nelfinavir

NNRTIs - Inibidores não nucleosídeos da Transcriptase Reversa

NRTIs- Inibidores nucleosídeos da Transcriptase Reversa

OMS - Organização Mundial da Saúde

PALOPs – Países Africanos de Língua Oficial Portuguesa

PI - Inibidores da Protease
pol - gene da polimerase viral
PR - protease
RAL - Raltegravir
RT - Transcriptase reversa
RTV - Ritonavir
SIDA – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
SQV - Saquinavir
TARV - Terapia Antirretroviral
TDF - Tenofovir disoprovil fumarato
TDR - Resistência transmitida a medicamentos
TMC114 - Darunavir
TPV - Tipranavir
UE - União europeia
URFs - Formas recombinantes únicas
VIH - Vírus da Imunodeficiência Humana
VIS - Vírus da imunodeficiência Símia

1. Introdução

1.1. Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH)

O vírus da imunodeficiência humana (VIH) é o agente etiológico da SIDA (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida) e caracteriza-se por induzir uma supressão imunológica a longo prazo nos indivíduos infectados como resultado da depleção dos linfócitos TCD4⁺, o que acarreta na emergência de doenças oportunistas (1).

Atualmente, estima-se que 37,7 milhões de pessoas vivam com VIH-1 em todo mundo (Figura 01), e destas 10,2 milhões não estão a realizar tratamento. Em 2020 foram 1,5 milhões de novas infeções de VIH e 680 mil mortes relacionadas à SIDA (2). No continente africano especula-se que 25,4 milhões de pessoas vivam com o VIH (3), e a região da África Subsaariana, epicentro da epidemia de SIDA, corresponderia a 60% das novas infeções (UNAIDS 2021) (2).

Frente às necessidades de estabelecer novos objetivos para o tratamento do VIH, em 2016 a Assembleia Geral das Nações Unidas concluiu que para que a SIDA deixasse de ser uma ameaça à saúde pública até o ano de 2030, algumas medidas que incluíam a implementação da meta 90-90-90; a redução em todo o mundo de pessoas infectadas para números inferiores a 500.000 por ano; a diminuição mortes relacionadas à SIDA para menos de 500.000 por ano e a eliminação do estigma e da discriminação relacionados ao VIH; deveriam ser realizadas até o ano de 2020 (4).

A meta 90-90-90 tinha como finalidade identificar que 90% de todas as pessoas que vivem com o VIH soubessem seu status serológico, 90% de todas as pessoas com diagnóstico de infeção pelo VIH recebessem a terapia antirretroviral e 90% de todas as pessoas que recebessem a terapia antirretroviral tivessem a supressão viral até o ano de 2020. Ao alcançar esta meta, pelo menos 73% de toda a população que vive com o vírus teria supressão viral, e ao atingir estes objetivos até 2020, chegaria ao fim a epidemia de SIDA até o ano de 2030 (5).

O último relatório da UNAIDS, referente aos dados de 2020, conclui que apesar das metas 90-90-90 não terem sido atingidas ao final do período proposto, os resultados foram positivos: até aquele momento 84% das pessoas que viviam com o VIH sabiam seu status; 87% das pessoas diagnosticadas com o vírus estavam a receber a terapia antirretroviral e 90% das pessoas em tratamento tinham a supressão viral (2).

Mesmo a constante redução em quase um terço do número de mortes causadas pela SIDA e a incidência anual mais baixa desde 1989, atingir as metas propostas permanecem desafiadoras (6), assim o VIH permanece ainda como um problema de saúde pública.

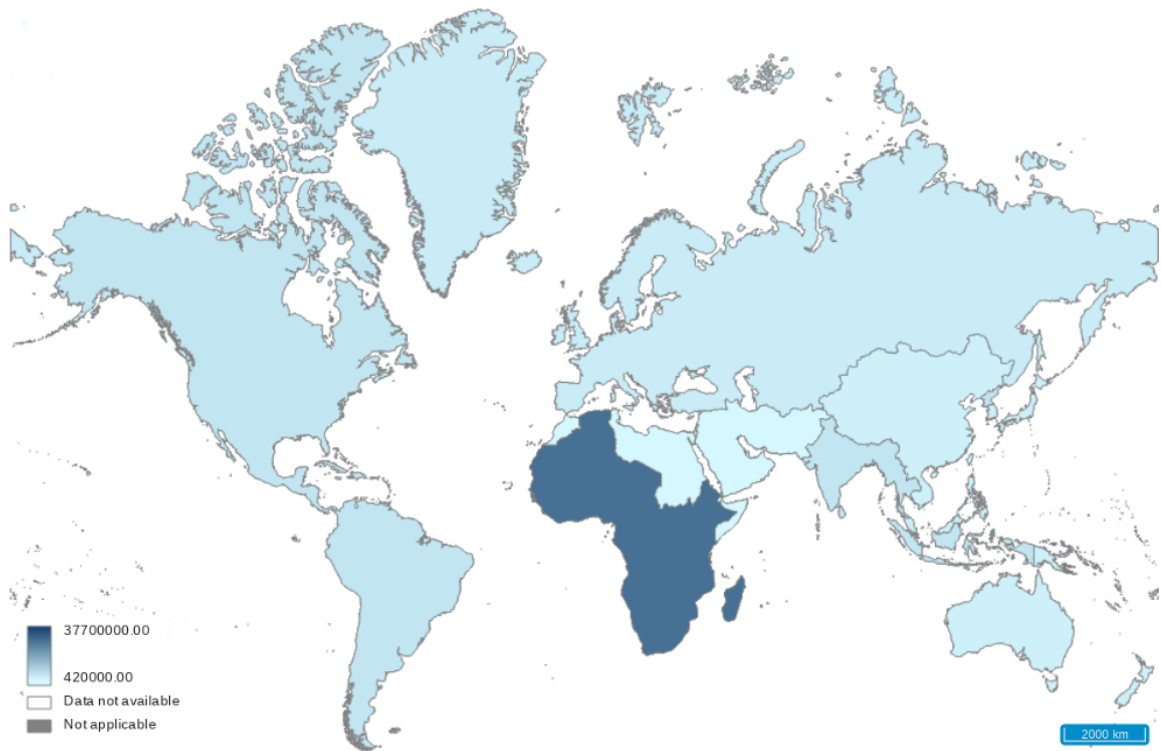


Figura 01 - Representação geográfica das infecções relacionadas ao VIH

Fonte: WORLD HEALTH ORGANIZATION. THE GLOBAL HEALTH OBSERVATORY. [Internet]. 2022 [citado 8 de março de 2022]; Disponível em: <https://www.who.int/data/gho/data/indicators/indicator-details/GHO/estimated-number-of-people--living-with-hiv> (acesso: 08/03/2022).

1.2. Perfil do VIH na Europa

De acordo com o último relatório da Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2020 foram notificados um total de 104.765 novos diagnósticos de VIH em 46 países que pertencem ao continente europeu, correspondendo a uma taxa de 11,8/100.000 habitantes. Desde o início da década de 1980 até os dias atuais, o número acumulado de diagnósticos de VIH soma 2.222.249 na Região (7).

Ao analisarmos a União Europeia/Espaço Económico Europeu (UE/EEE) em 2020, foram notificados 14.971 novos diagnósticos, e uma taxa de 3,7/100.000 habitantes (7). As informações estratificadas pelas diferentes variáveis avaliadas neste relatório da OMS, encontram-se descritas abaixo.

Sexo e Idade

As informações relacionadas ao sexo dos indivíduos envolvidos nos novos diagnósticos da EU/EEE, evidenciaram que 11.348 eram homens enquanto 3.496 eram mulheres, resultando em uma proporção de homens para mulheres de 3,2:1 (7).

A faixa etária de 30-39 anos apresentou a maioria dos diagnósticos de VIH em geral (32%) e em todos os grupos de transmissão, a média geral de idade do diagnóstico foi de 38,9 anos. Homens que fazem sexo com homens (HSH) apresentaram menor média de idade (37 anos) do que infetados por uso de drogas injetáveis (38,9 anos) ou por transmissão heterossexual (HET) (40,7 anos no total, 38,8 em mulheres e 42,8 em homens) (7).

Modo de Transmissão

Os dados cujo modo de transmissão era conhecido evidenciou o sexo entre homens como o mais comum, representando 53,1% de todos os casos. A origem desses casos revela que 59% destes foram atribuídos ao país do relator; 13% à América Latina e Caribe; 5,6% à Europa Oriental e 4% à Europa Ocidental (7).

O sexo entre homens e mulheres é o segundo meio mais comum de transmissão com 40,6% dos diagnósticos relatados. Destes, 8% são originários de países da Europa Central e 6% da América Latina e Caribe (7).

A utilização de drogas injetáveis foi responsável por 5% das infecções; <1 % foi atribuído à transmissão vertical, parto ou amamentação; 0,2% à transfusão de sangue e cinco casos por infecção hospitalar (7).

O modo de transmissão não era conhecido em 29,6% dos novos diagnósticos (7).

Linfócitos TCD4⁺

A contagem de linfócitos TCD4⁺ realizadas nas amostras informadas compreendeu 64% dos indivíduos diagnosticados em 23 países da EU/EEE em 2020. Desse total, 51% apresentaram contagem inferior a 350 células/mm³, indicando diagnóstico tardio, sendo 31% destes com contagem de linfócitos TCD4⁺ inferior a 200 células/mm³, sugerindo estágio avançado da infecção (7).

Quando analisada a população de HSH, 16% dos diagnósticos apresentavam perfil de infecções em estágio avançado, enquanto 29% infecções recentes (7).

Ao observar indivíduos com diagnóstico tardio, as maiores proporções foram entre mulheres (53%); adultos mais velhos (58% da faixa etária 40-49 anos e 66% em pessoas com mais de 50 anos); homens ou mulheres infectados através de sexo heterossexual (64% e 57% respetivamente); indivíduos infectados pelo uso de drogas injetáveis (52%); as população de migrantes do sul e sudeste da Ásia (66%), África Subsaariana (63%) e Europa Central e Oriental (55%) (7). Ao compararmos com os dados de 2019, houve aumento dos diagnósticos tardios nessas populações de migrante (8).

Os grupos que apresentaram menores proporções de diagnóstico tardio foram das faixas etárias mais jovens (28% dos 15-24 anos), HSH (41%) e migrantes países da Europa Ocidental (41%) (7).

Migrantes

As informações relacionadas ao país de nascimento, nacionalidade ou região de origem dos novos diagnósticos na UE/EEE, indicam que 44% dos diagnósticos que possuíam informação de origem foram de pessoas originárias de fora do país declarante (7).

Grande parte deste percentual é composta por migrantes de países com epidemia generalizada de VIH: 15% originárias da África Subsaariana, 9,5% da América Latina e Caribe, 8,6% de outros países da Europa Central e Oriental e 3,4% da Europa Ocidental, indivíduos de outras regiões com epidemia generalizada somaram 7,5% (7).

Do total de migrantes recém diagnosticados com VIH, 16% relataram diagnóstico prévio em outro país (7).

1.3. VIH em Portugal

Em Portugal, de 1983 até o final do ano de 2019, foram diagnosticados 61.433 casos de infeções por VIH, com 22.835 destes alcançando o estágio de SIDA e 15.213 óbitos de pessoas infetadas com o VIH neste mesmo período, dos quais 10.905 atingiram o estágio de SIDA (9).

Segundo inquéritos serológicos realizados pelo Ministério da Saúde, ao final do ano de 2018 havia 41.305 indivíduos infetados pelo VIH a viver em Portugal (9).

De acordo com o último boletim epidemiológico, 778 novos casos de infeção por VIH foram reportados durante o ano de 2019, resultando em uma taxa de novos diagnósticos de 7,6/100.000 habitantes (9). As informações estratificadas pelas diferentes variáveis avaliadas neste último documento, encontram-se descritas abaixo.

Sexo e Idade

Os dados relacionados ao sexo dos indivíduos diagnosticados revelaram que 69,3% eram do sexo masculino, cuja idade média no diagnóstico foi de 38 anos. A população feminina correspondeu a 37,7% dos novos casos, com média de idade de 40 anos. A razão de homens para mulheres foi de 2,3:1 novos casos (9).

A idade de todos os indivíduos no momento do diagnóstico era igual ou superior a 15 anos, a idade mediana foi de 38 anos. A faixa etária dos 25-49 anos correspondeu a 64,8% dos novos diagnósticos, enquanto 24,2% dos casos eram de indivíduos acima dos 50 anos (9).

Quando analisada a orientação sexual, HSH apresentaram em 45,6% idade inferior a 30 anos no momento do diagnóstico, enquanto heterossexuais estavam representados nessa idade em 15,2% (9).

A faixa etária que relatou em maior proporção ter sido infetada através de sexo homossexual foi a de 15-29 que informou em 65,2% dos casos, enquanto 34,9% dos novos diagnósticos de pessoas heterossexuais foram em indivíduos com 50 anos ou mais, o que representa 80,3% de todos os casos desse grupo etário (9).

Modo de transmissão

Do total de novos diagnósticos em que havia a informação sobre o modo de transmissão, a maioria foi através de sexo heterossexual (57,8%), seguida por homossexual (39,5%), e por fim a utilização de drogas injetáveis (2,1%) (9).

A maioria dos homens foi infetada por sexo entre homens do que através de sexo heterossexual (54,9% *versus* 39,3%), enquanto as mulheres reportaram expressivamente infecção por sexo heterossexual (92,5%) (9).

Linfócitos TCD4⁺

As informações sobre a contagem de linfócitos TCD4⁺ estavam presentes na maioria dos novos diagnósticos (77,9%). O diagnóstico tardio representou 49,7% dos casos, cujos valores de linfócitos TCD4⁺ foram inferiores a 350 células/mm³. Os homens representam a maioria destes casos (51,2%), e a transmissão através de sexo heterossexual foi a mais relatada (56,7%) (9).

A infecção avançada representou 30,9% dos novos diagnósticos, cujos indivíduos apresentaram contagens de linfócitos TCD4⁺ inferiores a 200 células/mm³ na primeira consulta, sendo em 37% dos relatos por infecção heterossexual (9).

Tipo de VIH

Do total de novos diagnósticos em que havia a informação sobre o tipo de VIH relacionado à infecção (97,7%), quase a totalidade (96,7%) eram do VIH-1, apenas 24

infecções eram devidas ao VIH-2, sendo a maioria mulheres (83,3%), pessoas com mais de 50 anos (66,6%) e nascidos em Guiné-Bissau (75%) (9).

SIDA

Em Portugal foram diagnosticados 172 novos casos de SIDA em 2019, a maioria (68%) ocorreu no momento do diagnóstico do VIH, nos demais (32%) foi observada a evolução para SIDA de indivíduos previamente diagnosticados com VIH (9).

No mesmo ano, foram informados 197 óbitos relacionados ao VIH, sendo que 46,2% foram devidos a evolução para o estágio da SIDA (9).

Imigrantes

Os dados relacionados à origem estavam presentes em 761 casos, destes 59,6% eram de pessoas nascidas em Portugal (9).

Os diagnósticos relacionados aos imigrantes apontam que 328 indivíduos relataram ter nascido fora de Portugal, destes 51,2% de pessoas originárias de países da África Subsaariana, enquanto 39,9% da América Latina (9).

A maioria dos novos casos de VIH em imigrantes é composta por mulheres (52,3%), destas 84% de países africanos, enquanto 37,7% eram homens e destes 58,6 de países da América Latina (9).

Quando estratificado para as formas de transmissão, a maioria das mulheres infetadas através de sexo heterossexual era de países da África Subsaariana (46,5%), enquanto a população de homens era de portugueses (62,7%). A infeção por utilização de drogas injetáveis, assim como a infeção através de sexo homossexual, foi maior em portugueses. Ao analisar a naturalidade de HSH imigrantes, a grande maioria (83,7%) era de países da América Latina, maioritariamente Brasil (9).

A análise dos dados acumulados de 2003 evidenciou que a maioria dos novos casos de VIH são de indivíduos nascidos em Portugal (72,8%). Do total de imigrantes, a maioria é da África Subsaariana (71,2%) e destes quase a totalidade (97%) é de pessoas originárias de Países Africanos de Língua Oficial Portuguesa (PALOPs). Os dados de 2009 a 2018 indicaram uma diminuição nos novos diagnósticos de VIH em portugueses e em nascidos em países da África Subsaariana, ao passo que houve um aumento de diagnósticos de pessoas nascidas na América Latina (9).

1.4. VIH em Países Lusófonos

1.4.1. Brasil

Estima-se que no ano de 2020 ocorreram 100.000 novas infeções pelo VIH na América Latina (2). O Brasil compreenderia 32.701 novos diagnósticos desse total e 29.917 casos de SIDA (10).

Entre os anos de 2007 e 2021 foram realizadas 381.793 notificações de casos de VIH. Os dados cumulativos de 1980 até 2021 somam 1.045.355 casos de SIDA no Brasil. A taxa de deteção de SIDA no Brasil diminuiu em 35,7% desde o ano de 2012 até 2020 (22 *versus* 14,1/100.000 habitantes). A taxa de mortalidade tendo SIDA como causa diminuiu em 30,6% entre os anos de 2014 e 2020 (10).

1.4.2. PALOPs da África Oriental e da África Meridional

A região da África oriental e da África Meridional continua a ser a mais afetada pelo VIH. Ao reunir os dados de todos os países dessa região (PALOPs e não-PALOPs) é observado mais da metade da população (55%) a viver com o VIH, sendo dois terços da população infantil. Entretanto, é a região que apresentou a maior diminuição no número de novas infeções, com redução de 43% na população adulta e de 64% em crianças (0-14 anos) entre os anos de 2010-2020 (2).

Angola

Estima-se que 340.000 pessoas estariam a viver com o VIH em Angola no ano de 2020. O número de novas infeções foi de 22 mil novas infeções e 16 mil mortes relacionadas ao VIH (2).

Moçambique

Em 2020 havia 2.100.000 pessoas infetadas pelo VIH em Moçambique. As novas infeções somam 98 mil ao passo que o número de mortes relacionadas ao VIH foi de 38

mil. Na última década houve diminuição de 33% nas novas infeções e diminuição de 42% das mortes relacionadas ao VIH (2).

1.4.3. PALOPs da África Ocidental e Central

Apesar de apresentar melhora em questões relacionadas ao VIH, a epidemia permanece como uma ameaça pública. A pandemia causada pela COVID-19 acabou por interromper muitos serviços de saúde pública, inclusive os relacionados ao VIH (2).

Cabo Verde e São Tomé e Príncipe

As informações disponibilizadas pela UNAIDS indicam 2.600 pessoas a viver com VIH em Cabo Verde, e menos de 1.000 indivíduos infetados em São Tomé e Príncipe (11).

Guiné-Bissau

Ao menos 37 mil pessoas estariam a viver com o VIH em Guiné-Bissau em 2020. Novas infeções somariam 1.700 casos e o número de mortes relacionadas ao VIH seria de 1.500. Os dados reportados sugerem uma diminuição de 49% nas novas infeções bem como uma diminuição de 29% nas mortes relacionadas ao vírus (2).

1.5. Estrutura do VIH

A partícula do VIH é semelhante para o VIH-1 e VIH-2. O vírus é envolvido por uma bicamada fosfolipídica. As partículas virais recém libertas de células infetadas têm entre 100 e 120 nm de diâmetro. O envelope possui glicoproteínas de superfície (gp120) ancoradas à bicamada lipídica por meio de interações com a proteína transmembranar (gp41), formando complexos trímeros (Figura 02) (12).

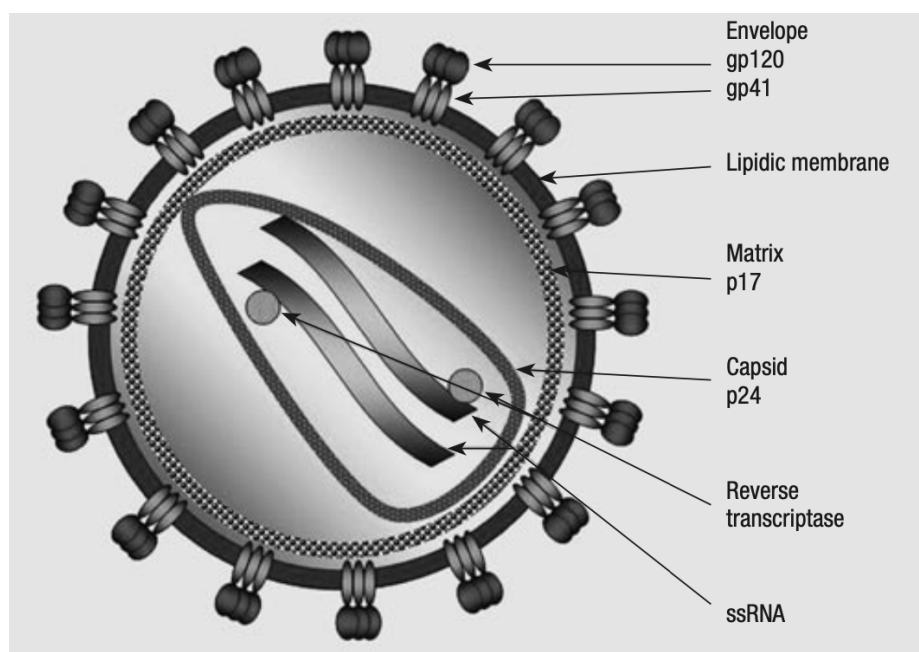


Figura 02 - Estrutura da partícula viral do VIH (12)

Fonte: Fanales-Belasio E, Raimondo M, Suligoi B, Buttò S. HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. Ann Ist Super Sanita. 2010;46(1):5–14.

O vírus apresenta duas fitas simples de ácido ribonucleico (ARN) de polaridade positiva com aproximadamente 9,3kb. O genoma do VIH codifica 16 proteínas virais que desempenham papéis essenciais durante o ciclo biológico do vírus e caracteriza-se pela presença dos genes principais *gag*, *pol* e *env* (Figura 03). Estes genes têm funções específicas: *gag* codifica proteínas estruturais do núcleo (p24, p7 e p6) e da matriz (p17), *env* codifica glicoproteínas do envelope viral (gp120 e gp41) que reconhecem recetores

da superfície celular, e o gene *pol* é responsável pelas enzimas da replicação viral transcriptase reversa (RT), integrase (IN), protease (PR) e RNase H) (12).

Há ainda outros genes acessórios e reguladores que estão envolvidos durante o processo de replicação viral. As proteínas acessórias do VIH-1 modificam o ambiente local nas células infetadas para garantir persistência, replicação, disseminação e transmissão viral e estão envolvidas com as várias formas de resistência antiviral mediada por células (12).

O gene *tat* é o transativador da expressão génica, codifica a proteína Tat, que promove a expressão dos genes do VIH logo após a infeção que ocorre através da ligação ao elemento TAR (sequência alvo para transativação viral, o sítio de ligação para a proteína Tat e para proteínas celulares) que ativa a iniciação e alongamento da transcrição do promotor LTR (repetição terminal longa, é a sequência de ácido desoxirribonucleico (ADN) que contém importantes regiões reguladoras) o que evita que a transcrição e poliadenilação sejam interrompidas prematuramente (12,13).

O gene *rev*, juntamente com o gene *tat*, é um dos dois fatores reguladores virais essenciais e codifica a proteína Rev está relacionada com a exportação do ARN genómico e mensageiro (12,13).

Vpr é a proteína viral R, que é incorporada ao virião e está envolvida no acesso do ADN transcrito reverso ao núcleo em células que não se dividem, parada do crescimento celular, transativação de genes celulares e indução de diferenciação celular (12,13).

O gene Vpx desempenha função homóloga ao Vpr no VIH-2, e os vírus que apresentam Vpx também possuem Vpr. Este gene aparentemente é resultado do evento de duplicação do gene Vpr por recombinação (12,13).

Vpu é a proteína viral U, e é exclusiva ao VIH-1. Está relacionado à degradação de CD4 no retículo endoplasmático e à libertação do virião da membrana plasmática de células infectadas pelo VIH-1 (12,13).

A proteína Vif, é o fator de infectividade viral, e é codificada pelo gene vif. Ela está relacionada com o aumento da infectividade das partículas virais, entretanto não está envolvida com a produção delas (12,13).

A proteína Nef desempenha a função de transdução de sinal celular e a regulação negativa do recetor CD4 na superfície celular (relacionada à brotação do vírus nos estágios finais do ciclo de replicação do vírus) (12,13).

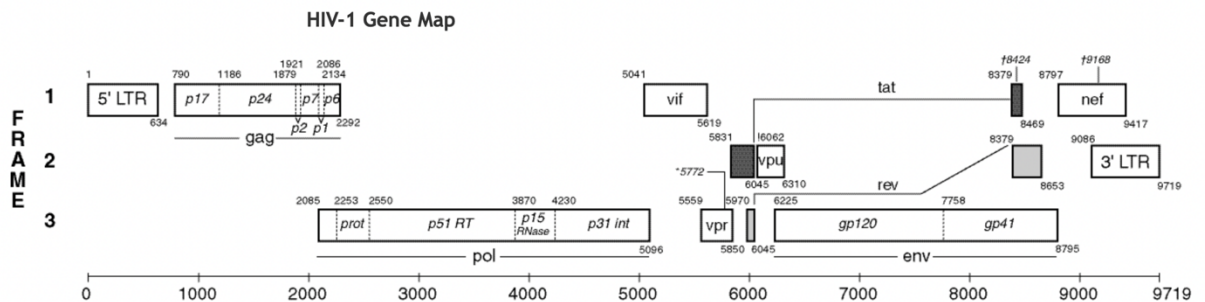


Figura 03 – Estrutura genómica do VIH-1 (13).

Fonte: Landmarks of the HIV genome [Internet]. [citado 01 de abril de 2022]. Disponível em: <https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/MAP/landmark.html> (Acesso: 01/04/2022).

1.6. Ciclo de replicação do VIH

A entrada do VIH pode ser dividida nos eventos de adsorção viral à célula e fusão (12). A ligação inicia quando o complexo trimérico do envelope constituído pela gp120 liga-se à molécula CD4, uma glicoproteína que está presente principalmente na superfície celular de linfócitos T. Ocorre uma mudança estrutural que torna possível a ligação com recetores de quimiocinas na membrana celular. Os principais recetores utilizados pelo VIH são o CXCR4 e o CCR5. Esta ligação leva à exposição do peptídeo de fusão da gp41 e então há fusão das membranas e a entrada do capsídeo viral (12). O nucleocapsídeo viral é libertado no citosol celular e o ARN viral é retrotranscrito em cADN e então em ADN dupla fita pela ação da transcriptase reversa e RNase H (12). Após a síntese do ADN viral de dupla fita no citoplasma, há a associação deste à integrase viral e outras proteínas, formando um complexo estável de nucleoproteína. A integrase é uma recombinase de ADN especializada que é incorporada ao vírus durante a biogênese das partículas de uma célula infetada. No núcleo, ocorre a integração de uma cópia de ADN do genoma viral no cromossomo da célula (12).

A célula é ativada, na sequência a transcrição do ADN pró-viral em ARN mensageiro (ARN-m) acontece, resultando na síntese de proteínas reguladoras do VIH que permitirão a formação de partículas virais maduras (12).

O ARN viral é exportado do núcleo para o citoplasma e traduzido para produzir o precursor da poliproteína Gag, o precursor da poliproteína GagPol, as glicoproteínas do envelope viral e as proteínas virais reguladoras e acessórias. Esses precursores são direcionados para a membrana plasmática, onde ocorre a montagem das poliproteínas Gag e GagPol. A poliproteína Gag medeia todos os eventos essenciais na montagem do virião, já o evento de brotamento, que liberta o virião da membrana plasmática, é mediado pelos complexos endossomais de transporte do hospedeiro (12).

A protease viral cliva moléculas precursoras de gp 160 em gp 120 e gp41. A ação desta enzima também dá origem às proteínas p24, p17, p9 e p7, tornando a partícula viral madura e infecciosa (12).

1.7. Origem do VIH e diversidade genética

O primeiro relato de SIDA ocorreu em 1981 nos Estados Unidos. A investigação conduziu à descoberta e isolamento do VIH-1 dois anos depois, e trouxe ao conhecimento que o vírus estava presente na população heterossexual da África Central e Oriental (14).

O VIH pertence ao gênero lentivírus, da família *Retroviridae* (12). O VIH teve sua origem no vírus da imunodeficiência símia (VIS), através de diversas transmissões zoonóticas (evento de transmissão entre espécies) de primatas não humanos para humanos na África Ocidental e Central. Acredita-se que a transmissão entre espécies foi derivada de atividades de captura, caça, comércio e domesticação de primatas. O VIS pode ser encontrado em mais de 40 espécies diferentes de primatas não humanos, tendo cada espécie um vírus específico (15).

Diversas linhagens de VIH foram geradas a partir das transmissões zoonóticas (15). À diversidade genética do VIH-1 foi proposto um sistema de classificação baseado em grupos, subtipos, sub-subtipos e formas recombinantes circulantes (CRFs) e formas recombinantes únicas (URFs). O VIH-1 compreende os grupos M (Migratório/Main), N (non-M, non-O), O (outlier) e, mais recentemente, grupo P (16–18). Os isolados do VIH-1 pertencentes ao grupo M, responsável por 95% das infecções no mundo, são classificados em dez subtipos: A-D, F-H, J-L, entre os quais a distância genética varia entre 25 e 35%, mas pode chegar a 42%. Dentro de um subtipo, a variação no nível de aminoácidos é da ordem de 8-17%, mas pode chegar a 30%, dependendo dos subtipos e regiões do genoma examinadas (19).

Os primeiros indícios da infecção de VIH em humanos foram identificados em amostras de soro e de biópsia de linfonodo datadas de 1959 e 1960, respetivamente, em Kinshasa na República Democrática do Congo. As estimativas indicam que o grupo M do VIH-1 é a linhagem mais antiga do vírus em humanos, tendo surgido entre as primeiras três décadas de 1900, a transferência entre espécies é inferida entre os anos de 1853 e 1900 (15).

Até o momento, são descritas 118 CRFs, além de milhares de URFs, encontradas em apenas um indivíduo infetado, com potencial de propagação epidêmico pouco conhecido. As análises de grandes números de CRFs e URFs do VIH-1, para os quais foram determinadas sequências completas do genoma, permitiram o mapeamento das distribuições de pontos em que haveria maior chance de recombinação através do genoma do grupo M do VIH-1. Estas distribuições parecem não ser aleatórias (19).

O VIH-1 exibe uma franca variabilidade genética, reflexo da alta taxa de replicação (10^8), partículas /dia em condições não inibitórias, recombinação homóloga e alta taxa de mutação relativos a erros cometidos pela ARN polimerase ARN dependente que carece de atividade exonucleásica revisora 3'-5' durante a replicação viral (20).

A diversidade do VIH afeta praticamente todos os aspetos da pandemia deste vírus. Há diversos métodos utilizados para mensurar a diversidade, que incluem o conhecimento da evolução viral ao longo do tempo e sua dispersão em diferentes localidades. Tal diversidade tem implicações na progressão e transmissão do vírus, diagnóstico da infeção e medição da carga viral, resposta à terapia antirretroviral (TARV) e resistência aos antirretrovirais (ARV), além da resposta imunológica e o desenvolvimento de vacinas (15).

1.7.1. Distribuição global dos subtipos, CRFs e URFs do VIH-1

Existe uma grande heterogeneidade na distribuição global dos subtipos e sub-subtipos do VIH-1 (15).

No ano de 2004, metade das infeções globais de VIH-1 eram relacionadas ao subtipo C, enquanto 12% eram do subtipo A e 10% do B. As infeções do subtipo A eram predominantes nos países da África Central e Oriental, em países do Leste Europeu que anteriormente constituíam a União Soviética. O subtipo B é o predominante nas regiões Ocidental e Central da Europa, América do Norte, em países da América Central e do Sul, Caribe, Austrália, Norte da África e Oriente Médio (21).

O mapeamento da distribuição global dos subtipos, CRFs e URFs do VIH-1 durante os anos de 2010 a 2015, evidenciou que o subtipo C era o predominante com 46,6% das infeções globais, seguido pelo subtipo B (12,1%), subtipo A (10,3%), CRF02_AG (7,7%), CRF01_AE (5,3%); subtipo G (4,6%), subtipo D (2,7%) e os subtipos F,H,J e K juntos somaram 0,9%; outros CRFs somaram 3,7%; URFs somaram 6,1%. A proporção dos subtipos variou durante as diferentes décadas (Figura 04) (22).

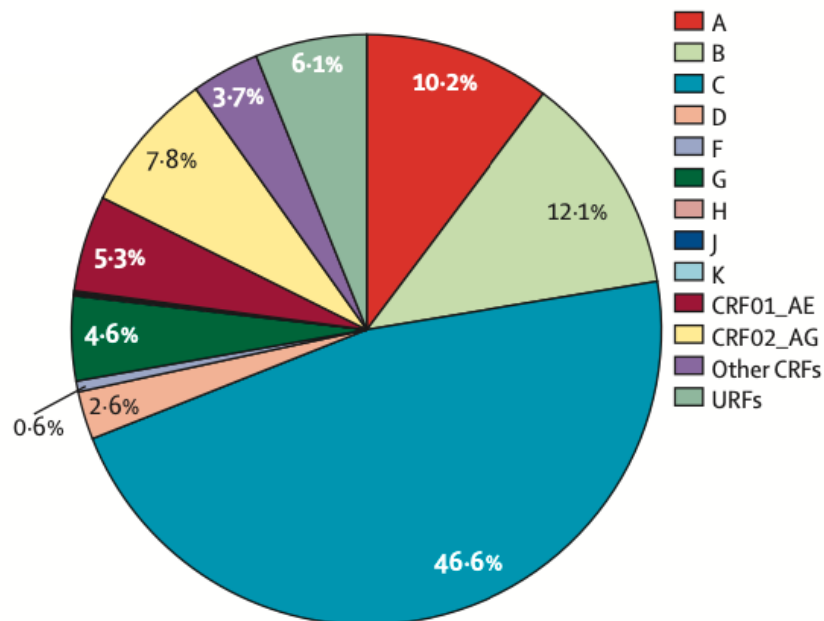


Figura 04 - Distribuição global dos subtipos, CRFs e URFs do VIH-1 entre os anos de 2010-2015 (22).

Fonte: Hemelaar J, Elangovan R, Yun J, Dickson-Tetteh L, Fleminger I, Kirtley S, et al. Global and regional molecular epidemiology of HIV-1, 1990-2015: a systematic review, global survey, and trend analysis. Lancet Infect Dis. fevereiro de 2019;19(2):143–55.

1.7.2. Distribuição regional dos subtipos, CRFs e URFs do VIH-1

Quando analisadas por regiões durante os anos de 2010 a 2015, a África Central teve a maior diversidade apresentando todos os subtipos de VIH-1 e muitos CRFs e URFs, possui a maior percentagem de URFs (21,3%) de qualquer região, contribuindo com total de 46,8% de recombinantes (Figura 05) (22).

África Ocidental apresentou maior predomínio de CRF02_AG (46,2%) e do Subtipo G (26,8%) do que qualquer outra região, a percentagem de URFs de 15,5% contribuiu para um total de 68,4% de recombinantes. O subtipo A esteve presente em 53,4% do total de infeções da África Oriental, seguido pelo subtipo C (14,8%), D (16,8%) e URFs (12,6%) (22).

África Meridional, Etiópia e o sul da Ásia (Índia) apresentaram a maioria das infeções causadas pelo subtipo C (89%) (22).

A Europa Central e Ocidental, América do Norte, Caribe, América Latina e Oceania apresentaram a predominância do subtipo B em 75% das infeções (22).

Europa Oriental e Ásia Central tiveram mais de 50% das infeções causadas pelo subtipo A, e a presença relevante do subtipo B e outros CRFs (22).

No Oriente Médio e norte da África, as infeções foram predominantemente por CRFs em 59,8% e pelo subtipo B (28,9%). No sudeste e leste da Ásia, as infeções foram predominantemente pelo CRF01_AE, com total de recombinantes de 80% (22).

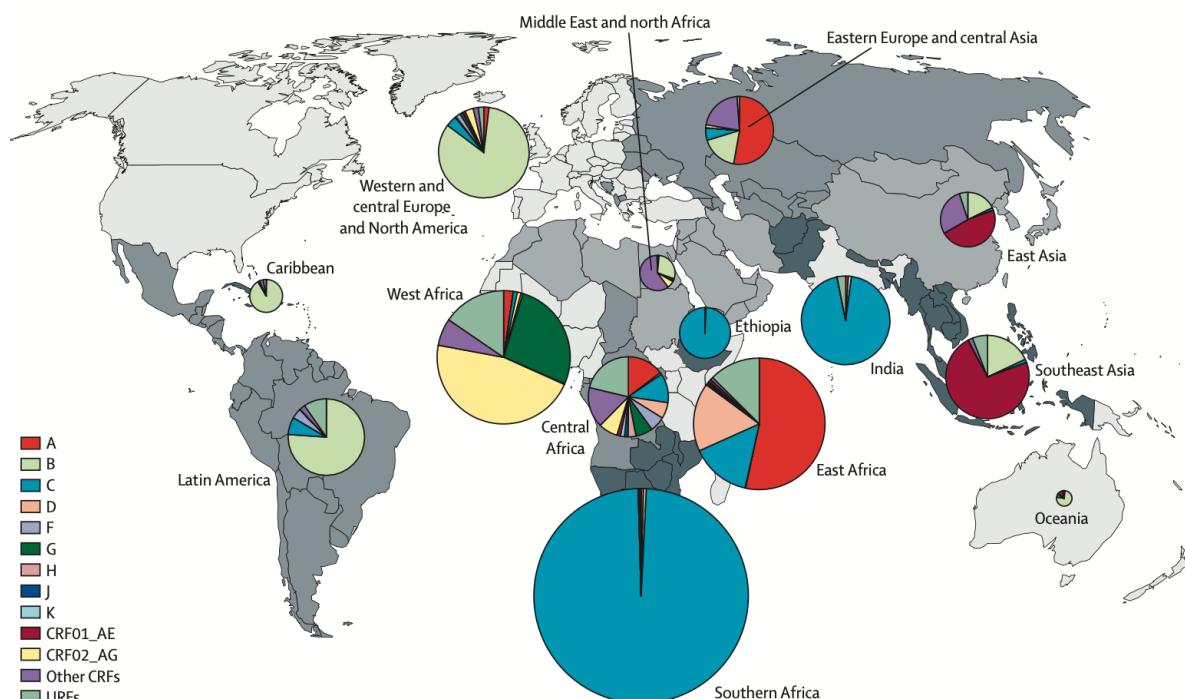


Figura 05 - Distribuição regional dos subtipos de VIH, CRFs e URFs entre os anos de 2010 e 2015 (22).

Fonte: Hemelaar J, Elangovan R, Yun J, Dickson-Tetteh L, Fleminger I, Kirtley S, et al. Global and regional molecular epidemiology of HIV-1, 1990-2015: a systematic review, global survey, and trend analysis. *Lancet Infect Dis.* fevereiro de 2019;19(2):143–55.

1.7.3. Distribuição dos subtipos, CRFs e URFs do VIH-1 em Portugal

A epidemiologia molecular dos diferentes subtipos de VIH-1 e CRFs na Europa tornou-se mais heterogênea nos últimos anos (20). O subtipo B é o mais predominante (69,4%), seguido do subtipo C (7,0%), A (3,5%), CRF02_AG (3,2%), G (2,9%), CRF06_cpx (2,8%) e CRF01_AE (1,7%). Os países com maior prevalência dos subtipos não-B foram: Roménia (85,4%), Irlanda (68,2%), Luxemburgo (67,2%), Portugal (63,0%), Bulgária (62,5%), Chipre (61,1%), Finlândia (57,1%), Grécia (54,0%), Reino Unido (50,4%) e Suécia (49,2%) (20).

Em Portugal, dados analisados entre os anos 2006 e 2012, ajudaram a construir o padrão de distribuição dos subtipos do VIH-1 e indicaram que o mais frequente é o

subtipo B (48,3%), seguido do G (26,5%), C (9,1%), A (6,1%), F (5,4%) e CRFs (4,2%) (23).

Dados analisados entre os anos de 2001 e 2017 também evidenciaram os subtipos B e G como os mais prevalentes em portugueses (44% e 31%, respetivamente), seguidos por URFs (11,2%), CRF02_AG (4,0%), C (3,4%), F1 (3,1%), A (2,7%), D (0,4%) e outros (0,1%) (Figura 06) (24).

O perfil molecular entre imigrantes acompanhados em Portugal evidenciou que CRF02_AG foi o mais predominante (23,6%), seguido pelos recombinantes (16,8%), G (16,0%), C (15,8%), B (15,4%), A (5,1%), F1 (4,6%), D (1,8%) e outros (0,9%). Quando analisada a população PALOP, o CRF02_AG é o genótipo mais comum (27,1%), seguido por URFs (18,0%), subtipos G (17,3%), C (16,4%), B (8,4%), A (5,5%), F1 (4,4%), D (2,0%) e outros (1,0%). Entre migrantes brasileiros o subtipo B foi o mais prevalente (58,4%), seguido pelo C (12,0%), recombinantes (10,0%), G (8,6%), F1 (5,7%), A (2,9%), CRF02_AG (1,9%) e D (0,5%) (24).

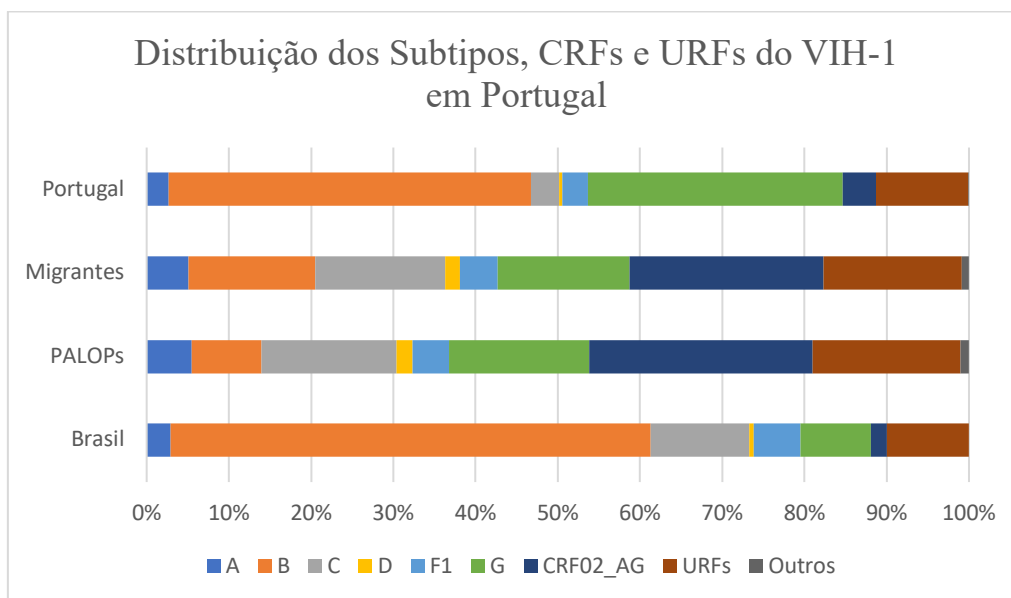


Figura 06 - Gráfico da distribuição dos subtipos, CRFs e URFs do VIH-1 em Portugal entre os anos de 2001 e 2017.

1.8. Terapia antirretroviral

A terapia antirretroviral (TARV) contribuiu para uma redução muito significativa na morbidade e mortalidade de pessoas com o VIH (25). Atualmente existem cinco classes de medicamentos antirretrovirais (ARV) que têm como objetivo inibir a replicação do vírus.

Inibidores nucleosídeos da Transcriptase Reversa (NRTIs)

Os NRTIs foram a primeira classe de medicamentos a ser aprovada para o tratamento do VIH (26). São fosforilados intracelularmente em seus metabólitos ativos, que inibem a ação da enzima RT viral ao incorporar no análogo de nucleotídeo, levando a terminação da cadeia de ADN ou por competição com o substrato natural do vírus. Dessa forma interrompe a conversão do ARN viral em ADN de fita dupla (27).

Inibidores não nucleosídeos da Transcriptase Reversa (NNRTIs)

Ao contrário dos NRTIs, não necessitam ser fosforilados para ação farmacológica (27). Os NNRTIs ligam-se à RT do VIH-1 causando uma alteração espacial que leva à redução da atividade da polimerase. Não têm ação inibitória em outros vírus do mesmo gênero como o VIH-2 (26).

Inibidores da Integrase (INTIs)

A integrase (IN) foi a última enzima a ser utilizada como alvo para a terapia antirretroviral do VIH-1 (26). Os medicamentos desta classe inibem a IN de catalisar a formação de ligações covalentes entre o hospedeiro e o ADN do vírus, e assim, não ocorre a incorporação do ADN viral no cromossomo do hospedeiro (27).

Inibidores da Protease (PI)

A protease (PR) tem a função de clivar os precursores da poliproteína gag e gag-pol na maturação do virião (26). Os PI inibem a atividade proteolítica da enzima, dessa forma não há formação de virião infeccioso maduro (27).

Inibidores de Entrada

i. Inibidor de Fusão

Evitam alterações conformacionais necessárias que levam à fusão da membrana viral e celular, isso ocorre pela ligação do fármaco à primeira repetição heptal (HR1) na gp41 do envelope viral (27).

ii. Antagonista de CCR5

Ligam-se seletivamente ao recetor CCR5 humano na membrana celular e assim bloqueia a interação entre gp120 do VIH e o recetor CCR5 – isto para o VIH que tem tropismo para o recetor CCR5. Entretanto, não há bloqueio da entrada do VIH que tem tropismo para o recetor CXCR4 (27).

Tabela 01 - Resumo dos medicamentos antirretrovirais e seu mecanismo de resistência (26,27).

Classe	Medicamento	Mecanismo de Resistência
NRTIs	Abacavir (ABC), Didanosina (ddI), Emtricitabina (FTC), Lamivudina (3TC), Estavudina (d4T), Zalcitabina (ddC), Zidovudina (AZT), Tenofovir disoproxil fumarato (TDF).	I. Remoção dos NRTIs da extremidade da cadeia nascente, reversão da terminação da cadeia e aumento da discriminação entre o substrato desoxirribonucleotídeo nativo e o inibidor.

Continua

Cont. Tabela 01 - Resumo dos medicamentos antirretrovirais e seu mecanismo de resistência.

		II.Prevenção da incorporação de NRTIs na cadeia nascente.
NNRTIs	Etravirina, Delavirdina, Efavirenz, Nevirapina	Bloqueiam o alongamento do ADN complementar ligando diretamente e não competitivamente à enzima.
II	Raltegravir (RAL), Elvitegravir (EVG).	Mutações que ocorrem dentro do sítio ativo da enzima. Entre os inibidores de integrase é observada significativa resistência cruzada.
PI	Amprenavir (APV), Atazanavir (ATZ), Darunavir (TMC114), Fosamprenavir (Lexiva), Indinavir (IDV), Lopinavir (LPV), Nelfinavir (NFV) , Ritonavir (RTV), Saquinavir (SQV), Tipranavir (TPV)	
Inibidores de Entrada		
Inibidor de Fusão	Enfuvirtida	
Antagonista de CCR5	Maraviroc	

1.9. Resistência a ARV

Apesar dos regimes de combinação de ARV terem provado ser efetivos no controlo da progressão da do VIH, estes benefícios podem ser afetados pelo desenvolvimento de resistência aos medicamentos (28).

O fenómeno da seleção de cepas virais mais bem adaptadas para sobrevivência em um ambiente menos favorecido é chamado de resistência viral. Ela pode ser primária - transmitida (TDR) quando o indivíduo não foi exposto à terapia antirretroviral previamente, ou secundária – adquirida quando a resistência se apresenta após o início da TARV. A resistência adquirida (ADR) ocorre quando o medicamento antirretroviral não suprime completamente o ARN do VIH no plasma do indivíduo num intervalo superior a 6 meses de exposição aos ARVs (29).

A testagem para a resistência aos ARVs em indivíduos recém diagnosticados para o VIH, a fim de detetar possível resistência aos medicamentos transmitida, é recomendada por diretrizes internacionais. A testagem diminui o risco de falha terapêutica ao iniciar a TARV (30).

1.9.1. TARV e resistência a ARV em Portugal

Em Portugal, a primeira linha a ser utilizada para o tratamento do VIH é a combinação de um inibidor da integrase com um inibidor nucleosídeo da transcriptase reversa. Também são utilizados os inibidores não nucleosídeo da transcriptase reversa com uma combinação de inibidores nucleosídeo da transcriptase reversa (30).

A resistência transmitida aumentou de forma expressiva em Portugal, donde em 2003 a prevalência da TDR era por volta dos 8% ao passo que no ano de 2017 a TDR alcançou uma prevalência de 13%. Para a resistência transmitida, a classe dos inibidores nucleosídeo da transcriptase reversa e a dos inibidores não nucleosídeo da transcriptase reversa apresentaram aumento, ao passo que para os inibidores de protease diminuiu (30). Interessantemente, no mesmo período datado de 2001 e 2017, a ADR decresceu para

todas as classes de antirretrovirais e este perfil tem sido observado em diferentes estudos ao redor do mundo. Isso deve-se possivelmente a diferentes fatores combinados, os quais incluem regimes terapêuticos mais eficazes, maior acesso aos ARVs e melhor adesão à terapia (30).

1.10. Redes de transmissão de VIH

As tecnologias moleculares têm sido utilizadas em saúde pública como ferramentas para identificar doenças transmissíveis. Os métodos filogenéticos permitem identificar indivíduos em grupos de transmissão relacionados e pode permitir que indivíduos recentemente infetados conectem-se a grupos de transmissão previamente definidos (31).

1.10.1. Construção de redes de transmissão

As redes de transmissão do VIH-1 são construídas através de agrupamentos não aleatórios de sequências das amostras do VIH vinculado à sua epidemiologia. Estes agrupamentos são conhecidos como clusters de transmissão (32).

Amostras do VIH-1 são obtidas por sequenciamento pelo método de Sanger dos indivíduos infetados, e uma árvore evolutiva (filogenia) é construída em que cada sequência do vírus (táxon) é posicionada na ponta da árvore. O nó compartilhado pelas sequências que se encontram nos galhos da árvore, representa um ancestral comum mais recente (MRCA - *most recent common ancestor*). As sequências ligadas pelos nós/MRCA são consideradas relacionadas podendo ser também ligadas epidemiologicamente, e assim constituem um cluster de transmissão (32).

Algumas informações são importantes para a definição correta de um cluster de transmissão como a região genómica selecionada, comprimento da sequência, datas das colheitas, modo de transmissão, distribuição dos locais de amostragem, diversidade de variantes genéticas do VIH (e subtipos e CRFs), número de sequências (33).

As distâncias genéticas pareadas podem ser calculadas através de métodos computacionais com modelo de substituição de nucleotídeos. Estas distâncias para mais de duas sequências podem ser expressas através de média, mediana ou distância máxima de pares (32).

As abordagens de máxima verossimilhança (*maximum-likelihood*) e inferência bayesiana utilizam modelos de probabilidade para a avaliação da plausibilidade relativa de diferentes topologias filogenéticas. O suporte de ramo em árvores filogenéticas tem sido avaliado através de técnicas estatísticas tais como *bootstrap* ou probabilidade posterior. Na técnica, é feita avaliação se cada galho da árvore é significativamente maior que zero, indicando que o galho existe. Valores superiores a 70% indicam um forte suporte para um grupo e probabilidades de corte maiores que 0,9 têm sido sugeridas (32).

1.10.2. Utilização das redes de transmissão

O estudo da rede global de transmissão do VIH proporciona uma avaliação da propagação do vírus dentro e entre os países, revelando epidemias locais que possuem origem em outros países (34), fatores de risco de transmissão não divulgados e a dinâmica de transmissão de resistência ao tratamento antirretroviral (35,36). A utilização desses métodos pode auxiliar na implementação de intervenções de prevenção direcionadas (31).

Dado que a população migrante em Portugal é maioritariamente de origem de PALOPs e do Brasil, e levando em consideração que há uma lacuna de conhecimento sobre esta população que segue negligenciada e vulnerável, o presente trabalho visa estudar as redes de transmissão através dos fatores de risco, subtipos, exposição à terapia e país de origem para melhor compreender a origem da infeção pelo VIH em imigrantes de países de língua portuguesa acompanhados em Portugal..

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Explorar a ligação epidemiológica do VIH-1 a fim de avaliar as características da dinâmica da transmissão bem como identificar a possível origem da infeção do VIH na população imigrante acompanhada em Portugal.

2.2. Objetivos específicos

1. Caracterização molecular das amostras VIH-1 positivos da população imigrante falante de língua portuguesa vivendo em Portugal;
2. Avaliação dos perfis de resistência aos antirretrovirais na população estudada;
3. Análise filogenética para identificar e determinar a origem da infeção do VIH-1 nos imigrantes;
4. Análises estatísticas para descrever fatores clínicos e sociodemográficos relacionados aos clusters de transmissão.

3. Materiais e métodos

3.1. Desenho e população do estudo

O presente estudo teve caráter transversal e descritivo, realizado na população imigrante em acompanhamento no Centro Hospitalar Lisboa Ocidental (CHLO) - Lisboa, Portugal entre os anos de 2001 e 2017. Foram selecionados 772 indivíduos, oriundos dos PALOPs e do Brasil. A população-alvo do projeto foi constituída de adultos, expostos ou não à terapia antirretroviral de alta potência (HAART).

A partir da base de dados disponível pelo Laboratório de Biologia Molecular do CHLO, foram obtidas informações tais como: sexo, idade, país de origem, data do primeiro diagnóstico, categoria de exposição ao risco, contagem de linfócitos TCD4⁺, carga viral e sequência genética da região parcial da polimerase viral (PR/RT), gerada como parte dos ensaios de genotipagem pelo método padrão de sequenciamento (Sanger).

3.2. Determinação dos subtipos do VIH-1

A fim de estudar as redes de transmissão do VIH-1 envolvendo os diferentes subtipos B, G e CRF02_AG na população imigrante em Portugal, o conjunto total de sequências sem duplicatas foi submetido a diferentes algoritmos de subtipagem viral (Rega V.3.0, Comet, Scuel e jpHMM) (37–39). Dessa forma, o subtipo foi definido a partir do consenso entre estes algoritmos. Quaisquer amostras com sinal de recombinação homóloga foram removidas do trabalho.

3.3. Análises filogenéticas e redes de transmissão

As sequências nucleotídicas obtidas no presente estudo pertencentes aos subtipos (B, G e CRFA2_AG), juntamente com sequências controlo obtidas do banco de dados de Los Alamos HIV Database (12.709) (www.hiv.lanl.gov) e da base de dados Portuguesa (2.973) foram agrupadas. As sequências pertencentes a cada subtipo foram alinhadas individualmente com as sequências globais mais próximas utilizando Virulign

(40). A região do gene *pol* (nucleotídeos 2251-3251) VIH-1 K03455.1 (HXB2), foi utilizada como referência para o alinhamento e editada manualmente no sentido de uniformizar o tamanho das sequências para 1.000 pares de bases utilizando o software MEGA7 (41). Os códons associados a resistência foram removidos das sequências.

A análise filogenética foi conduzida com o software FastTree usando o método de máxima verossimilhança (ML), com modelo de substituição nucleotídica GTR (42).

A visualização da árvore filogenética foi realizada com o software FigTree (43). O teste Shimodaira-Hasegawa-like (SH-test) validou a robustez do método filogenético. A detecção dos clusters de transmissão foi efetuada com o programa Cluster Picker v1.332 com distancia genética inferior a 3.5% e suporte dos ramos superior a 90 (SH-teste).

O fluxograma da análise das redes de transmissão está representado na figura 07.

3.4. Análise da resistência a medicamentos antirretrovirais

Sequências parciais *pol*, incluindo regiões PR/RT, foram rastreadas para mutações resistentes a medicamentos de acordo com as diretrizes da OMS utilizando a Calibrated Population Resistance Tool (44) de acordo com a última atualização de 2009 (45).

3.5. Análise estatística

A análise estatística foi realizada usando R versão 3.0.2 e o software Python. Tabelas de frequência foram feitas para variáveis qualitativas. Para a escolha de testes paramétricos ou não paramétricos, foi utilizado o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov.

A mediana e o intervalo interquartil (IQR 25%-75%) foram usados para variáveis quantitativas ou ordinais assimétricas que foram comparadas com o teste Mann-Whitney U ou o teste Kruskal-Wallis. As diferenças entre as proporções foram realizadas com o teste Qui-quadrado ou teste exato de Fisher, conforme apropriado.

Modelos de regressão logística foram usados para examinar quais preditores sociodemográficos, clínicos e genéticos poderiam estar associados às redes de transmissão na população migrante acompanhada em Portugal.

3.6. Origem da infecção baseada em clusters de transmissão

A fim de investigar o padrão de transmissão pós migração entre os indivíduos de diferentes nacionalidades, nós categorizamos a suposta origem da infecção dos imigrantes baseado nas categorias abaixo:

- **Infetado por imigrantes** se o cluster conter ao menos 66% das sequências compostas por imigrantes;
- **Infetado por portugueses** se o cluster conter ao menos 66% das sequências compostas por portugueses;
- **Desconhecido** se metade das sequências forem compostas por imigrantes e metade por sequências de controlo;
- **Infetado fora de Portugal** se o cluster conter ao menos 66% das sequências compostas por sequências globais coletadas fora de Portugal.

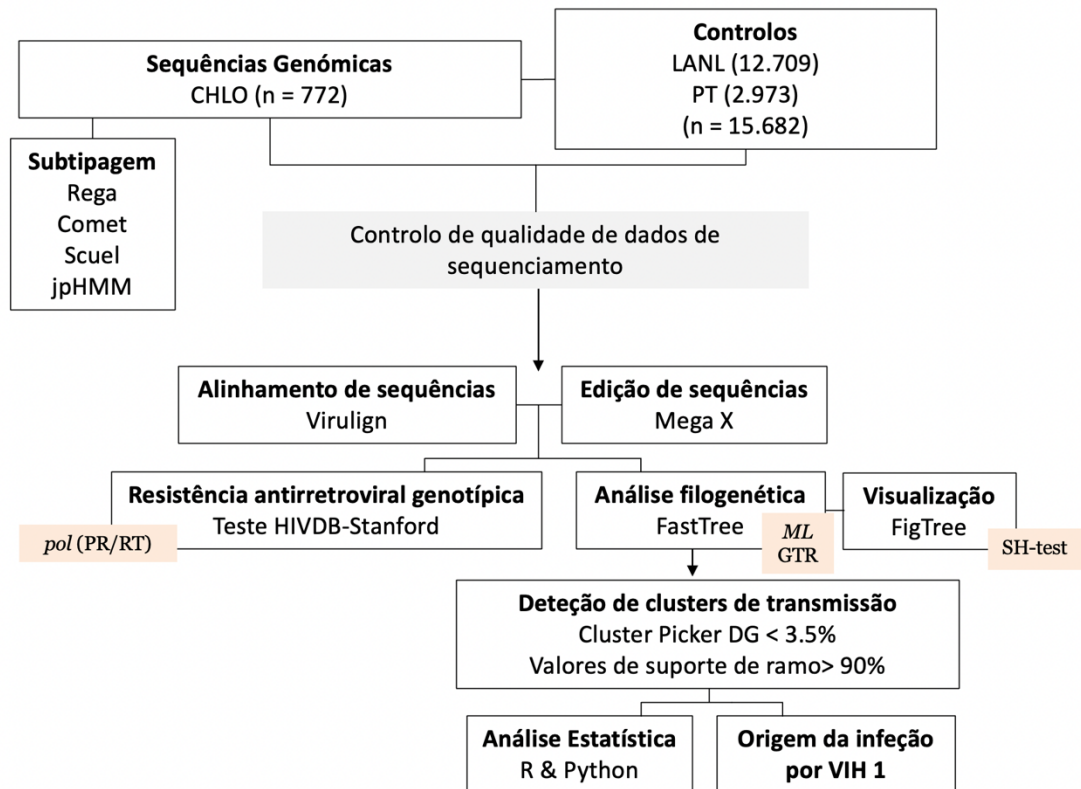


Figura 07 - Fluxograma da análise das redes de transmissão dos subtipos B, G e CRF02_AG na população de imigrantes vivendo em Portugal.

4. Resultados

4.1. Dados sociodemográficos e clínicos

A caracterização dos subtipos das 772 sequências de VIH-1 analisadas evidenciou que 633 (82%) delas pertenciam a subtipos não-B, sendo a variante CRF02_AG a mais prevalente compreendendo aproximadamente a metade de todas as amostras analisadas (n=370; 47,9%), seguida pelo subtipo G (n=263; 34%) e em menor percentagem pelo subtipo B (n=139; 18%) (Tabela 02).

A mediana da primeira contagem de linfócitos TCD4⁺ foi de 268 células/mm³ (IQR 124–409 células/mm³), enquanto a mediana da primeira carga viral foi de 4,6 log₁₀ cópias/mL (IQR 3,95–5,27 log₁₀ cópias/mL) (Tabela 02).

Considerando as informações sociodemográficas disponíveis, os migrantes dos PALOPs corresponderam a 78,75% (608/772) e 21,25% (164/772) dos indivíduos oriundos do Brasil (Tabela 02).

Entre os imigrantes 69,56% dos participantes deste estudo (537/772) eram *drug-naive* (isto é, não foram previamente expostos aos ARVs) e 27,98% (216/772) foram expostos aos antirretrovirais. A mediana de idade obtida foi de 39 anos (IQR 32-38) (Tabela 02).

Os indivíduos eram maioritariamente do sexo masculino (51,03%; 394/772), 46 destes (5,96% do total de imigrantes) autodeclararam ser HSH, enquanto 35 (4,53% do total de imigrantes) heterossexuais (Tabela 02).

Entre os imigrantes brasileiros o subtipo mais prevalente foi o B, correspondendo a 84,76% (n=139) do total de amostras desta população, seguido pelo G (n=20; 12,19%) e menor extensão pelo CRF02_AG (n=5; 3,05%). Por outro lado, entre os PALOPs o

subtipo predominante foi o CRF02_AG (n=365; 60,03%), seguido pelo G (n=243; 39,97%), não apresentando nenhuma amostra identificada como B (Tabela 02).

A mediana da contagem de linfócitos TCD4⁺ foi maior dentre os indivíduos brasileiros (406 células/mm³) do que de PALOPs (247 células/mm³) ($p < 0,0001$), entretanto não houve diferença significativa na comparação da mediana da carga viral entre estas duas populações (4,7 log₁₀ cópias/mL *versus* 4,5 log₁₀ cópias/mL) ($p=0,109$) (Tabela 02).

Entre os brasileiros, o sexo masculino foi mais prevalente correspondendo a 71,34%, ao passo que entre os indivíduos dos PALOPs o sexo feminino foi mais frequente (53,62%) ($p < 0,0001$). Os imigrantes brasileiros em média eram 7 anos mais jovens do que os PALOPs ($p < 0,0001$). Entre os brasileiros, 18,29% autodeclararam ser HSH, ao passo que apenas 2,63% dos imigrantes dos PALOPs ($p < 0,0001$) eram autodeclarados HSH (Tabela 02).

Tabela 02 - Caracterização sociodemográfica e clínica dos imigrantes de língua oficial portuguesa acompanhados em Portugal entre os anos de 2001-2017.

Características	Global (n=772)	Brasil (n=164)	PALOPs (n=608)	valor-p
Idade mediana (IQR)	39 (32-48)	34 (28-41)	41(33-50)	<0,0001
Gênero (número, %)				<0,0001
Homem	394(51,03)	117 (71,34)	277 (45,56)	
Mulher	372 (48,18)	46 (28,05)	326(53,62)	
Desconhecido	6(0,78)	1 (0,6)	5 (0,82)	
Status de Tratamento (número, %)				<0,0001
naive	537 (69,56)	131 (79,88)	406 (66,78)	
Tratado	216 (27,98)	30(18,29)	186 (30,59)	
Dados ausentes	19 (2,46)	3 (1,83)	16 (2,63)	

Continua

Cont. Tabela 02 - Caracterização sociodemográfica e clínica dos imigrantes de língua oficial portuguesa acompanhados em Portugal entre os anos de 2001-2017.

Grupo de Risco (número, %)	<0,0001			
HSH	46 (5,96)	30 (18,29)	16 (2,63)	
HET	35 (4,53)	5 (3,05)	30 (4,93)	
Outros	33 (4,27)	11(6,71)	22 (3,62)	
Dados ausentes	658 (85,23)	118 (71,95)	540 (88,81)	
Subtipos (número, %)	<0,0001			
B	139 (18,0)	139 (84,76)	0 (0,0)	
G	263 (34,07)	20 (12,19)	243 (39,97)	
CRF02_AG	370 (47,93)	5 (3,05)	365 (60,03)	
Nível de ARN VIH-1 (log₁₀ cópias/mL) mediana (IQR)	4,6 (3,95-5,27)	4,7(4,2-5,2)	4,5(3,9-5,2)	0,109
Primeira contagem de linfócitos TCD4⁺ (células/μL) mediana (IQR)	268 (124-409)	406 (262 - 561)	247(119-363)	<0,0001

HSH: Homens que fazem sexo com homens; HET: Heterossexuais.

4.2. Inferência da transmissão de cluster

A etapa deste estudo que concerne análise e inferência de clusters de transmissão foi baseada em reconstrução filogenética da região da polimerase viral, especificamente (PR/RT), contemplando um fragmento de aproximadamente 1000 pares de bases, correspondentes às posições (2253-3250) do protótipo HXB2. Para evitar o viés de agrupamento, os códons associados à resistência foram removidos. O critério de reconstrução foi a máxima verossimilhança (ML), com método de substituição nucleosídeo GTR.

As análises filogenéticas pertinentes a cada um dos subtipos B, G e CRF02_AG, foram representadas por árvores de topologia circular enraizadas (Figura 08 - 10). Nestas, é possível observar as amostras objetivo deste estudo agruparem-se de forma consistente com as respetivas sequências puras de cada um dos subtipos viral. Foram adotados parâmetros que identificam putativos clusters de transmissão baseados no suporte dos

ramos SH >90 e distância genética <3,5%. Os respectivos clusters podem ser assinalados como ramos coloridos nas árvores filogenéticas.

A análise dos clusters de transmissão, construída a partir da união das sequências globais, portuguesas e dos imigrantes acompanhadas em Portugal, totalizaram 16.454 sequências e formaram 1963 clusters de transmissão, destes 180 clusters de transmissão apresentavam pelo menos uma sequência das nossas amostras e continham dimensões variando de 2 a 33 indivíduos.

Houve 306 imigrantes do conjunto de dados incluídos em um cluster de transmissão (39,6%), sendo 24 indivíduos (3,1%) incluídos em grandes clusters de transmissão de 10 ou mais indivíduos. O subtipo B contou com 7.419 sequências, entre controlos e amostras, que compuseram 898 clusters (Figura 08); o subtipo G apresentou 3.175 sequências e 442 clusters (Figura 09); por fim, o subtipo CRF02_AG apresentou 5.931 sequências e formou 623 clusters (Figura 10).

Observou-se dez grandes clusters de transmissão, que incluíram ao menos 10 indivíduos imigrantes, destes 3 clusters do subtipo B que incluíam um total de 15 indivíduos, 3 clusters de 4 indivíduos do subtipo G e 4 clusters de 5 indivíduos infectados com o subtipo CRF02_AG.

Ao analisar a resistência transmitida a medicamentos (TDR), observou-se que das 41 sequências de naíves identificadas, 15 (36,6%) pertenciam a 13 clusters diferentes, sendo a mutação K103N a mais prevalente em 6/15 (40%) dos clusters.

Na sequência, foi realizada a avaliação dos fatores associados ao *clustering*, isto é, a comparação entre pessoas em clusters (conectadas) e pessoas que não estão presentes em clusters (*singletons*).

Os dados sociodemográficos evidenciaram que os indivíduos em cluster eram significativamente mais jovens, com mediana de idade de 37 anos *versus* 40 anos dos *singletons* (Tabela 03).

Indivíduos naive foram mais propensos a pertencer a um cluster de transmissão do que os tratados ($p < 0,001$) (Tabela 03).

Não houve associações significativas entre *clustering* e a carga viral ($p = 0,264$) e grupos de risco ($p = 0,3899$). Em contrapartida, a contagem inicial de linfócitos TCD4⁺ foi maior no grupo cluster do que no não cluster ($p < 0.0001$ (Tabela 03)).

Os indivíduos infectados com o subtipo B também eram mais propensos a estar conectados a outro participante do que outras infecções do subtipo G e CRF02_AG (52% vs 43% vs 32%). Migrantes brasileiros estavam mais presentes em clusters de transmissão do que os migrantes dos PALOPs (Tabela 03).

A frequência de TDRM foi semelhante entre indivíduos em cluster e não cluster [37 (23-53) versus 63 (47-77); $p = 0,4381$] (Tabela 03).

Tabela 03 - Características sociodemográficas e clínicas da população de estudo dentro e fora de cluster de transmissão molecular.

Características	Cluster (n=306)	Fora de Cluster (n=466)	valor-<i>p</i>
Idade			
mediana (IQR)	37 (30-46)	41 (33-49)	0,034
Gênero (número, %)			0,101
Homem	43(38-48)	57(52-62)	
Mulher	37(32-42)	63(58-68)	
Status de Tratamento			<0,001
naive	44(39-48)	56(52-60)	
Tratado	29(23-36)	71(64-77)	
País de Origem (%)			<0,0001
Brasil	54(46-62)	46(38-54)	
PALOPs	36(32-40)	64(60-68)	

Continua

Resultados

Cont. Tabela 03 - Características sociodemográficas e clínicas da população de estudo dentro e fora de cluster de transmissão molecular.

Grupo de Risco (%)			0,3899
HSH	48(33-63)	52(37-67)	
HET	34 (20-52)	66 (48-80)	
Outros	48 (31-66)	52 (34-69)	
TDR Geral	37 (23-53)	63 (47-77)	0,4381
NRTI	1,7 (0,67-4,30)	3,6 (2,07-6,47)	0,1844
NNRTI	3,8 (2,04-7,15)	5,6 (3,58-8,92)	0,3351
PI	1,7 (0,67-4,30)	0,6 (0,18-2,41)	0,2233
Subtipo (%)			<0,001
B (n=139)	52 (43-60)	48 (40-57)	
G	43 (37-50)	57 (50-63)	
CRF02_AG	32 (28-38)	68 (62-72)	
Nível de ARN VIH-1 (log₁₀ cópias/mL)			
mediana (IQR)	4,56 (3,94-5,13)	4,69 (4,0-5,33)	0,264
Primeira Contagem de linfócitos TCD4⁺ (células/μL)			
mediana (IQR)	348 (220-511)	227 (115-367)	<0,0001

HSM: Homens que fazem sexo com homens, HET: Heterossexuais, NRTI: Inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa, NNRTI: Inibidores não-nucleosídeos da transcriptase reversa; PI: Inibidores da protease; PALOPs: Países Africanos de Língua Oficial Portuguesa.

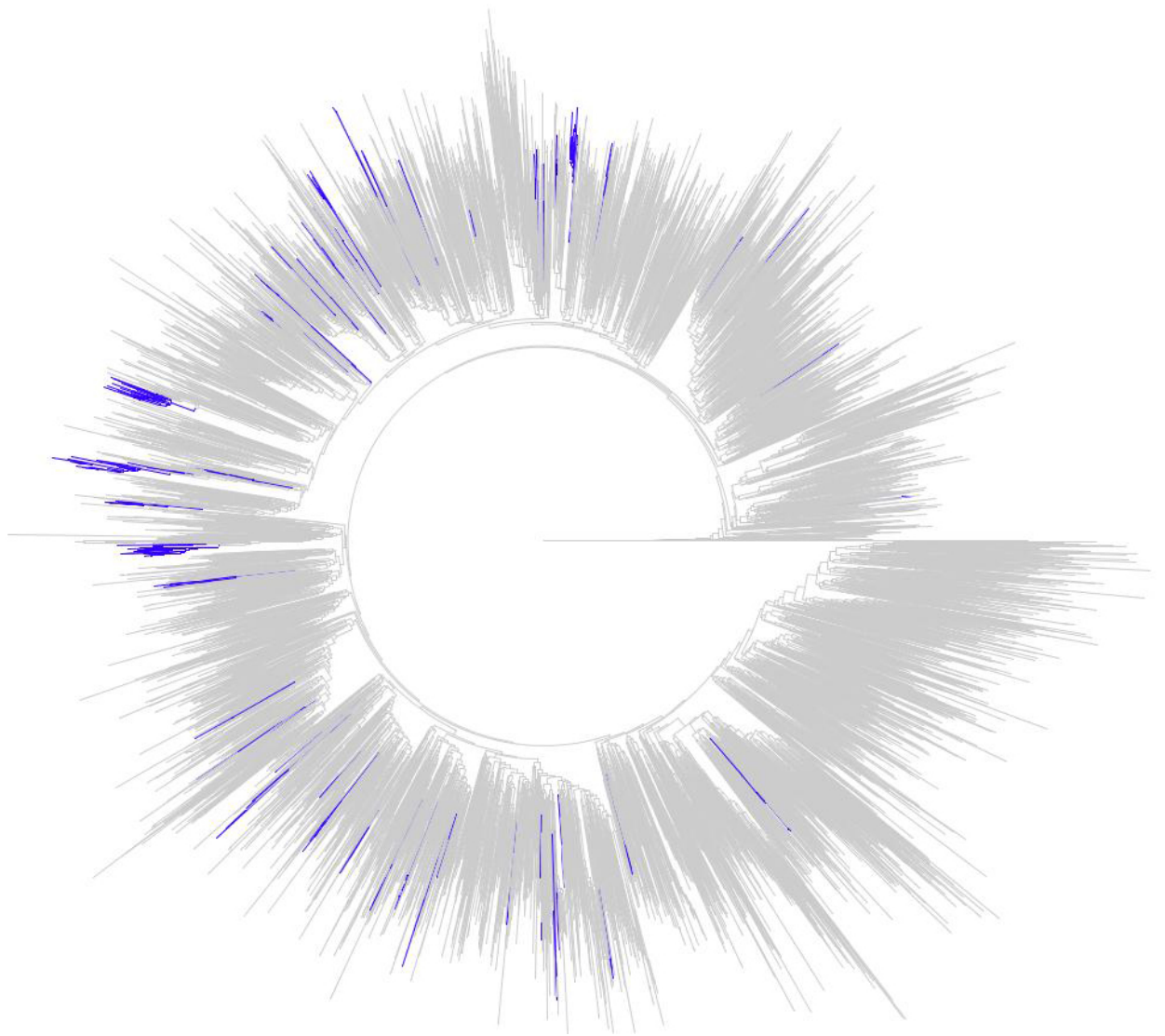


Figura 08 - Análise filogenética (ML) correspondente ao gene pol de 7.419 sequências do subtipo B do VIH-1. As sequências foram alinhadas frente a sequências controlo globais e portuguesas. Três sequências de referência do subtipo B puro foram agrupadas como grupo externo. Valores de SH-teste igual ou superior a 90% e distância genética inferior a <3,5% estão representadas na árvore como clusters assinados em azul.

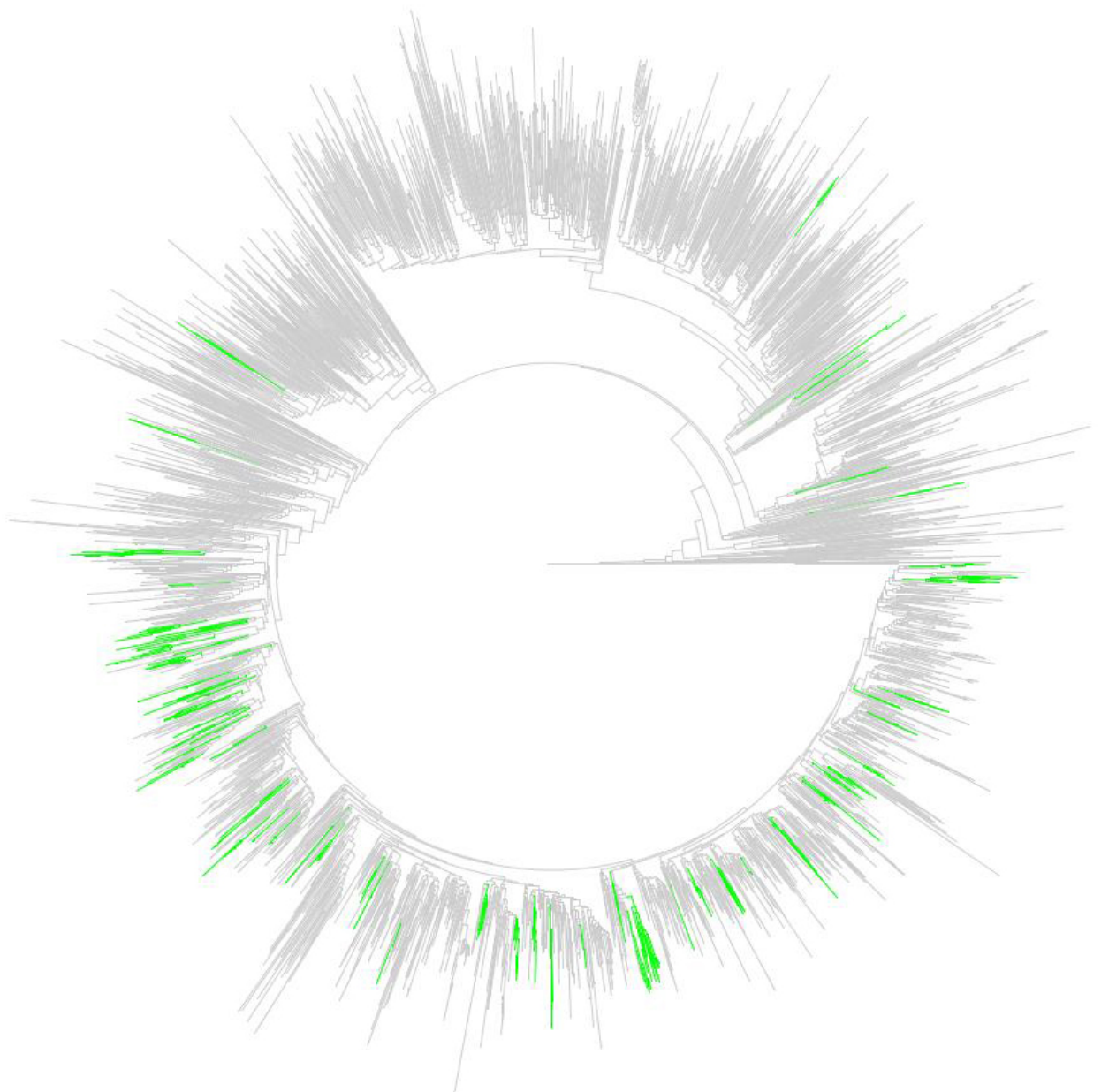


Figura 09 - Análise filogenética (ML) correspondente ao gene pol de 3.175 sequências do subtipo G do VIH-1. As sequências foram alinhadas frente a sequências controlo globais e portuguesas. Três sequências de referência do subtipo G puro foram agrupadas como grupo externo. Valores de SH-teste igual ou superior a 90% e distância genética inferior a <3,5% estão representadas na árvore como clusters assinados em verde.

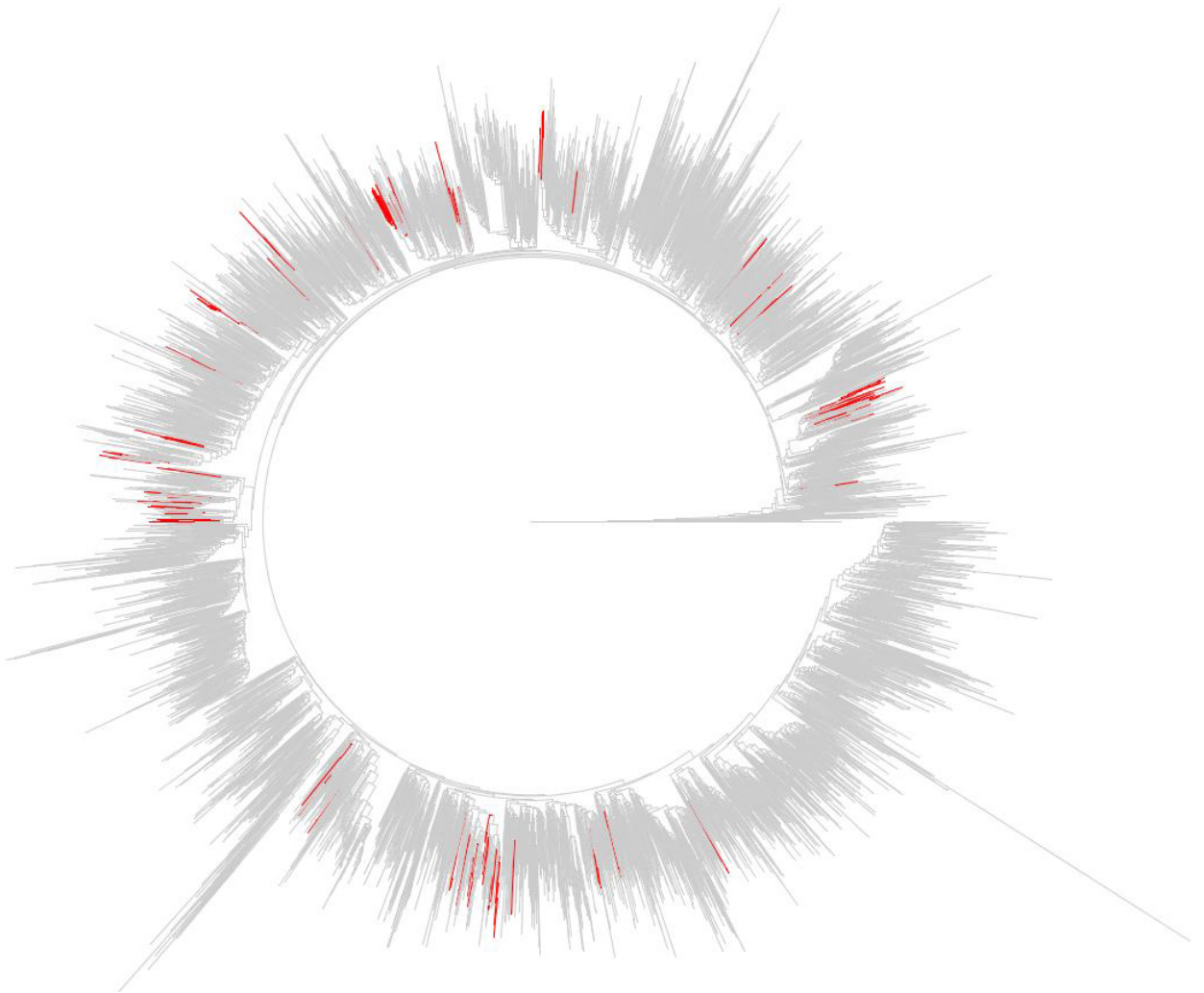


Figura 10 - Análise filogenética (ML) correspondente ao gene pol de 5.931 sequências do subtipo CRF02_AG do VIH-1. As sequências foram alinhadas frente a sequências controlo globais e portuguesas. Três sequências de referência do subtipo CRF02_AG puro foram agrupadas como grupo externo. Valores de SH-teste igual ou superior a 90% e distância genética inferior a <3,5% estão representadas na árvore como clusters assinados em vermelho.

4.3. Preditores dos clusters de transmissão molecular

A associação da probabilidade de pertencer a um cluster de transmissão molecular foi realizada aplicando modelos de regressão logística univariada e multivariada, utilizando o conjunto de dados dos 772 indivíduos para os quais as informações das variáveis país de origem, status de *clustering*, subtipo, status de tratamento, idade, contagem de linfócitos TCD4⁺ e status crônico foram consideradas.

Os resultados evidenciaram que seroconvertidos recentes foram mais propensos a estar presentes em cluster de transmissão do que crônicos (OR = 1,59; IC 95%, 0,99–2,55; $p=0,053$), assim como indivíduos não expostos aos ARVs também foi associado à probabilidade de pertencer a cluster de transmissão molecular (OR = 1,53; IC de 95%, 0,99–2,37; $p=0,052$). Em relação ao ano da amostra, as mais recentes tiveram maior probabilidade de formar cluster do que as demais (OR = 1,70; IC de 95%, 1,04–2,79; $p=0,033$).

A utilização de análises univariadas constatou que a propensão de pertencer a um cluster de transmissão molecular era menor para migrantes de PALOPs do que para os do Brasil (OR = 0,60; IC 95%, 0,36–0,98; $p=0,043$). Indivíduos infectados pelo subtipo B foram mais propensos a formar cluster do que os infectados por subtipos não-B (OR = 2,23; IC 95%, 1,59–3,33; $p < 0,0001$).

Amostras com contagem de linfócitos TCD4⁺ ≥ 500 células/mm³ apresentaram maior probabilidade de estar em cluster de transmissão do que as com contagem inferior (OR = 3.99; IC 95%, 2.14–7.45; $p < 0,001$). Não houve diferença significativa na probabilidade de pertencer a um cluster de transmissão entre os diferentes grupos etários (Tabela 04).

Tabela 04 - Fatores associados à probabilidade de pertencer a um cluster de transmissão molecular: resultados de um modelo de regressão logística multivariável.

Covariável	Dados não tratados		Dados ajustados	
	OR (IC:95%)	p-valor	OR (IC:95%)	valor-p
Idade				
≥56*				
18-24	1,18 (0,596-2,35)	0,629	-	
25-40	0,993 (0,61-1,60)	0,977	-	
41-55	0,469 (0,23-0,77)	0,003	-	
Linfócitos TCD4⁺				
≤200*				
201-500	2,58 (1,64-4,05)	<0,001	2,22 (1,38-3,55)	<0,001
≥500	5,61 (3,11-10,11)	<0,001	3,99 (2,14-7,45)	<0,001
Subtipo				
CRF_02AG*				
B	2,23 (1,59-3,33)	<0,0001	-	
G	1,59 (1,15-2,21)	0,005	-	
País		<0,0001		
Brazil*				
PALOPs	0,46 (0,32-0,66)		0,60 (0,36-0,98)	0,043
Tratamento		<0,0001		
Tratados*				
naïve	1,82 (1,29-2,53)		1,53 (0,99-2,37)	0,052
Ano da amostra				
2001-2008*				
2009-2017	1,90 (1,29-2,79)	<0,001	1,70 (1,04-2,79)	0,033
Crônico				
Sim*				
Não	2,23 (1,62-3,07)	<0,0001	1,59 (0,99-2,55)	0,053

PALOPs: Países Africanos de Língua Oficial Portuguesa; *Classes de referência.

4.4. Perfil da distribuição das infecções de VIH-1 entre imigrantes acompanhados em Portugal

A análise das 772 amostras obtidas frente às 15.682 de fundo global permitiu a construção do perfil da distribuição das infecções de VIH-1 entre os migrantes acompanhados em Portugal (Figura 11).

4.4.1. Subtipo B

Das amostras infetadas pelo subtipo B, 52% (72/139) do total de migrantes do Brasil pertenciam a um cluster de transmissão.

Apresentaram-se distribuídos em 54 clusters, destes 22% eram de sequências originárias do Brasil (infetados por brasileiros). Entretanto, a maioria dos clusters observados entre os migrantes do Brasil (40,6%) eram de origem portuguesa (infetados por portugueses), a transmissão foi desconhecida em 26,4% dos clusters (os quais apresentaram a mesma proporção de sequências de migrantes do Brasil e portugueses). Em 11% dos clusters a origem da infeção foi intra-imigrantes (Figura 11).

4.4.2. Subtipo G

As infeções de subtipo G revelaram que 43% (114/263) dos migrantes estavam presentes em clusters de transmissão.

No geral, 53% das sequências apresentaram-se em clusters pertencentes à população migrante (infetados por imigrantes). Por outro lado, 19% dos imigrantes pertencem a clusters de origem portuguesa (infetados por portugueses). Em 24% dos clusters a transmissão é desconhecida, e 4% dos migrantes estavam em clusters com sequências estrangeira (infetados fora de Portugal) (Figura 11).

Ao separar as amostras dos migrantes de PALOPs e do Brasil, é observado um perfil distinto, no qual a maioria das sequências (56%) dos PALOPs foram infetadas por

imigrantes. A transmissão é desconhecida em 22% dos clusters, em 20% foram infectados por portugueses e 2% dos imigrantes de PALOPs foram infectados fora de Portugal. Entretanto, a análise dos clusters de transmissão dos migrantes do Brasil infectados pelo subtipo G revelou que 58% deles foram infectados por portugueses, 17% infectados por migrantes, 17% por transmissão desconhecida e 8% infectados fora de Portugal (Figura 11).

4.4.3. CRF02_AG

Entre as infecções do subtipo CRF02_AG, a transmissão entre migrantes representou a grande maioria com 80% dos clusters, em 7,7% a origem foi portuguesa, a transmissão desconhecida resultou em 7,3% e por fim 5% dos migrantes foram infectados fora de Portugal (Figura 11).

Foi realizada a análise das amostras de migrantes de PALOPs e do Brasil para este subtipo. A origem da transmissão em clusters formados por indivíduos dos PALOPs foi em 80% por imigrantes, em 11% desconhecida, infectados fora de Portugal representaram 5% e 4% infectados por portugueses. Os migrantes do Brasil tiveram 60% de seus clusters infectados por portugueses e 40% representaram um *crossover* entre PALOPs e migrantes brasileiros (Figura 11).

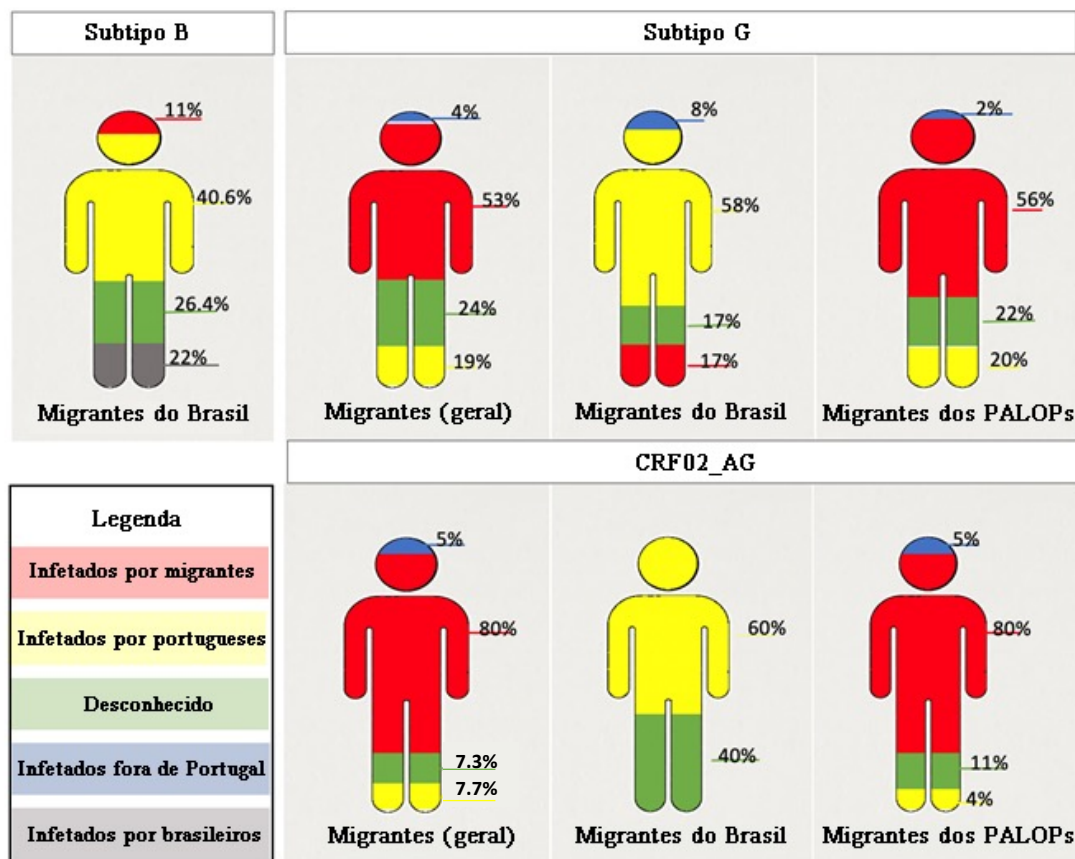


Figura 11 - Distribuição das infeções por VIH-1 entre os migrantes do Brasil e de PALOPs acompanhados em Portugal entre os anos de 2001 a 2017 através da análise filogenética.

5. Discussão e conclusões

As dinâmicas de transmissão virais podem ser descobertas através da análise de informações genéticas, que ao serem unificadas em clusters permitem a criação de rotas e, conseguinte, redes de transmissão (32). A análise filogenética do VIH possibilita o reconhecimento de clusters a partir das informações de subpopulações conectadas (46), o que torna-se vantajoso frente às abordagens epidemiológicas tradicionais que podem não evidenciar determinados padrões de transmissão muitas vezes encobertos - como nos casos de homens autorrelatados heterossexuais cujos vírus encontram-se em clusters de indivíduos HSH (47).

O presente trabalho utilizou sequências genómicas do VIH-1 para a construção e análise de clusters de transmissão em circulação em Portugal. Foram utilizadas sequências coletadas durante os anos entre 2001 e 2017 de 772 imigrantes diagnosticados com o VIH-1 acompanhados no CHLO. As sequências de controlo de fundo global foram extraídas da Los Alamos Database. Nesta, todos os genomas disponíveis para os subtipos não-B e CRF foram coletados, enquanto para o subtipo B apenas sequências que eram originárias do Brasil - uma vez que este subtipo foi encontrado apenas entre imigrantes brasileiros - foram coletadas. Foram incluídas 2.973 sequências de Portugal da base de dados portuguesa geradas a partir da genotipagem pré e pós tratamento. Através do agrupamento de todas estas sequências, foi realizada então a análise de clusters de transmissão.

Do total de indivíduos presentes nesta análise, aproximadamente 40% estavam incluídos em clusters de transmissão. Estes achados estão de acordo com outros relatos da dispersão do VIH-1 em Portugal e corroboram para a importância dos imigrantes VIH-1 positivos na dispersão do VIH-1 (49,50).

Análises realizadas com clusters de transmissão relacionando os subtipos com as suas origens resultaram em uma maior prevalência dos subtipos não-B entre os imigrantes

PALOPS residentes em Portugal, enquanto o subtipo B foi o principal entre os imigrantes infectados do Brasil (22,24). Os resultados do presente trabalho mostram-se consistentes com os que foram identificados nos países de origem dos imigrantes. O subtipo CRF02_AG foi o menos provável de estar em cluster, dado que está de acordo com outros estudos europeus nos quais a população heterossexual parece estar associada ao subtipo não-B, dessa forma apresenta-se menos frequentemente em clusters de transmissão (51,52).

Os achados deste estudo mostram que a transmissão do VIH-1 entre imigrantes da África Subsaariana ocorre em grande parte em sua comunidade, o que é corroborado com outros trabalhos publicados (53,54). É importante ressaltar que o vínculo epidemiológico dos imigrantes brasileiros com os portugueses foi mais significativo e poderia ser explicado pela maior integração da comunidade brasileira com a comunidade nativa portuguesa.

Este trabalho considerou o número total de sequências que pertenciam a uma mesma região específica, e não o tempo e local do ancestral comum mais recente (tMRCA). Desta forma, algumas limitações podem ser consideradas devido ao viés de amostragem que pode causar o artificialmente o clustering de sequências de mesma origem devido à subamostragem. A hipótese de ocorrer um cluster artificial de imigrantes infectados pelo subtipo B com amostras portuguesas era possível, e de forma a contornar esse viés, foram incluídas em uma proporção muito maior amostras do Brasil (5.623) do que de Portugal (1.657). Entretanto, levando-se em consideração que as abordagens filogeográficas bayesianas são limitadas a conjuntos de dados menores (pela complexidade computacional), o método utilizado era o único possível para realizar este tipo de análise com a dimensão dos dados utilizados.

Outros trabalhos (que utilizavam autorrelato ou contagem de linfócitos TCD4⁺) sugeriram que os imigrantes VIH-1 positivos haviam sido infectados antes da migração (55), no entanto, outras pesquisas recentes realizadas na Europa com métodos mais robustos relatam altas proporções de imigrantes que teriam se infectado após a migração

(56,57). No presente trabalho é sugerido que a população imigrante se infetou em maior número após a migração para Portugal, o que é sustentado por outros estudos realizados com a população imigrante africana, cujos clusters de transmissão são compostos principalmente imigrantes. Quando analisadas as infecções para os subtipos não-B – que são os mais prevalentes nos imigrantes dos PALOPs – elas ocorreram principalmente nas suas comunidades, o que difere dos imigrantes brasileiros, os quais tiveram a maioria das infecções em clusters de origem portuguesa. É sugerida a transmissão entre indivíduos portugueses e imigrantes brasileiros para os subtipos G e CRF02_AG, uma vez que ambos tiveram um perfil semelhante (58% e 60%, respectivamente).

Foi identificada uma alta percentagem de sequências relacionadas a clusters de transmissão (>40%) e a maioria das infecções relacionadas ao VIH-1 dentro destes clusters foram adquiridas pós-migração. Os resultados da regressão logística indicaram maior chance de indivíduos em cluster de transmissão possuírem contagem de linfócitos TCD4⁺ >500 células/mm³, originários do Brasil e com ano da amostra mais recente. Diferentes padrões de aquisição da infecção do VIH-1 foram encontrados quando comparados imigrantes de diferentes regiões geográficas. Imigrantes PALOPs foram infetados maioritariamente dentro de suas comunidades, ao passo que os imigrantes brasileiros foram provavelmente infetados em clusters de transmissão portugueses, o que pode evidenciar um menor nível de integração dos imigrantes PALOPs do que dos brasileiros.

Por todo o exposto, os resultados do presente estudo são de grande importância para a saúde pública uma vez que podem servir para o desenvolvimento de estratégias de prevenção de doenças transmissíveis.

6. Referências bibliográficas

1. HIV/AIDS [Internet]. [citado 3 de setembro de 2019]. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hiv-aids>
2. Geneva: Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. UNAIDS DATA 2021. UNAIDS DATA 2021 [Internet]. 2021 [citado 8 de março de 2022]; Disponível em: https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/JC3032_AIDS_Data_book_2021_En.pdf
3. WHO. Key facts HIV 2020 [Internet]. 2021 [citado 8 de março de 2022]. Disponível em: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/hq-hiv-hepatitis-and-stis-library/key-facts-hiv-2020.pdf?sfvrsn=582c3f6e_13
4. United Nations. Political Declaration on HIV and AIDS: On the Fast Track to Accelerating the Fight against HIV and to Ending the AIDS Epidemic by 2030 [Internet]. 2016 [citado 8 de março de 2022]. Disponível em: https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/2016-political-declaration-HIV-AIDS_en.pdf
5. 90-90-90: An ambitious treatment target to help end the AIDS epidemic. :40.
6. Updated recommendations on HIV prevention, infant diagnosis, antiretroviral initiation and monitoring [Internet]. [citado 11 de maio de 2021]. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240022232>
7. ECDC, WHO. HIV/AIDS surveillance in Europe 2021 (2020 data). :120.
8. HIV/AIDS surveillance in Europe 2020 (2019 data) [Internet]. European Centre for Disease Prevention and Control. 2020 [citado 9 de maio de 2021]. Disponível em: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/hivaids-surveillance-europe-2020-2019-data>
9. Saúde D-G da, Jorge IN de SDR. Infecção VIH e SIDA em Portugal – 2020 [Internet]. Direção-Geral da Saúde, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP; 2020 nov [citado 27 de abril de 2021] p. 1–96. Disponível em: <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/7243>
10. Boletim Epidemiológico HIV/Aids 2021 | Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis [Internet]. [citado 10 de

março de 2022]. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2021/boletim-epidemiologico-hivaids-2021>

11. Cape Verde [Internet]. [citado 30 de março de 2022]. Disponível em: <https://www.unaids.org/en/regionscountries/countries/>
12. Fanales-Belasio E, Raimondo M, Suligoï B, Buttò S. HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. *Ann Ist Super Sanita*. 2010;46(1):5–14.
13. Landmarks of the HIV genome [Internet]. [citado 21 de março de 2022]. Disponível em: <https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/MAP/landmark.html>
14. Faria NR, Rambaut A, Suchard MA, Baele G, Bedford T, Ward MJ, et al. The early spread and epidemic ignition of HIV-1 in human populations. *Science*. 3 de outubro de 2014;346(6205):56–61.
15. Hemelaar J. The origin and diversity of the HIV-1 pandemic. *Trends Mol Med*. março de 2012;18(3):182–92.
16. Simon F, Maucière P, Roques P, Loussert-Ajaka I, Müller-Trutwin MC, Saragosti S, et al. Identification of a new human immunodeficiency virus type 1 distinct from group M and group O. *Nat Med*. setembro de 1998;4(9):1032–7.
17. Robertson DL, Anderson JP, Bradac JA, Carr JK, Foley B, Funkhouser RK, et al. HIV-1 nomenclature proposal. *Science*. 7 de abril de 2000;288(5463):55–6.
18. Plantier J-C, Leoz M, Dickerson JE, De Oliveira F, Cordonnier F, Lemée V, et al. A new human immunodeficiency virus derived from gorillas. *Nat Med*. agosto de 2009;15(8):871–2.
19. LOS ALAMOS SEQUENCE DATABASE [Internet]. [citado 1º de abril de 2022]. Disponível em: <https://www.hiv.lanl.gov/>
20. Beloukas A, Psarris A, Giannelou P, Kostaki E, Hatzakis A, Paraskevis D. Molecular epidemiology of HIV-1 infection in Europe: An overview. *Infection, Genetics and Evolution*. dezembro de 2016;46:180–9.
21. Buonaguro L, Tornesello ML, Buonaguro FM. Human Immunodeficiency Virus Type 1 Subtype Distribution in the Worldwide Epidemic: Pathogenetic and Therapeutic Implications. *J Virol*. outubro de 2007;81(19):10209–19.
22. Hemelaar J, Elangovan R, Yun J, Dickson-Tetteh L, Fleminger I, Kirtley S, et al. Global and regional molecular epidemiology of HIV-1, 1990-2015: a systematic review,

- global survey, and trend analysis. *Lancet Infect Dis.* fevereiro de 2019;19(2):143–55.
23. Rocha Pereira N, Duro R, Piñero C, Malheiro L, Soares J, Serrão R, et al. Characterization of HIV-1 subtypes in a Portuguese cohort. *Journal of the International AIDS Society.* 2014;17(4S3):19683.
24. Pimentel V, Pingarilho M, Alves D, Diogo I, Fernandes S, Miranda M, et al. Molecular Epidemiology of HIV-1 Infected Migrants Followed Up in Portugal: Trends between 2001–2017. *Viruses.* 28 de fevereiro de 2020;12(3):268.
25. Palella FJ, Delaney KM, Moorman AC, Loveless MO, Fuhrer J, Satten GA, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N Engl J Med.* 26 de março de 1998;338(13):853–60.
26. Arts EJ, Hazuda DJ. HIV-1 antiretroviral drug therapy. *Cold Spring Harb Perspect Med.* abril de 2012;2(4):a007161.
27. Pau AK, George JM. Antiretroviral therapy: current drugs. *Infect Dis Clin North Am.* setembro de 2014;28(3):371–402.
28. Clavel F, Hance AJ. HIV drug resistance. *N Engl J Med.* 4 de março de 2004;350(10):1023–35.
29. Taiwo B. Understanding transmitted HIV resistance through the experience in the USA. *Int J Infect Dis.* setembro de 2009;13(5):552–9.
30. Pingarilho M, Pimentel V, Diogo I, Fernandes S, Miranda M, Pineda-Pena A, et al. Increasing prevalence of HIV-1 Transmitted Drug Resistance in Portugal: implications for first line treatment recommendations. 2020;1–16.
31. Smith DM, May SJ, Tweeten S, Drumright L, Pacold ME, Pond SLK, et al. A public health model for the molecular surveillance of HIV transmission in San Diego, California. *AIDS.* janeiro de 2009;23(2):225–32.
32. Hassan AS, Pybus OG, Sanders EJ, Albert J, Esbjörnsson J. Defining HIV-1 transmission clusters based on sequence data. *AIDS.* 1º de junho de 2017;31(9):1211–22.
33. Brenner BG, Wainberg MA. Future of Phylogeny in HIV Prevention. *J Acquir Immune Defic Syndr.* julho de 2013;63(0 2):S248–54.
34. Wertheim JO, Leigh Brown AJ, Hepler NL, Mehta SR, Richman DD, Smith DM, et al. The Global Transmission Network of HIV-1. *J Infect Dis.* 15 de janeiro de 2014;209(2):304–13.

35. Levintow SN, Okeke NL, Hué S, Mkumba L, Virkud A, Napravnik S, et al. Prevalence and Transmission Dynamics of HIV-1 Transmitted Drug Resistance in a Southeastern Cohort. *Open Forum Infectious Diseases*. 1º de agosto de 2018;5(8).
36. Stoner MCD, Dennis AM, Hughes JP, Eshleman SH, Sivay M V., Hudelson SE, et al. Characteristics Associated With Human Immunodeficiency Virus Transmission Networks Involving Adolescent Girls and Young Women in Human Immunodeficiency Virus Prevention Trials Network 068 Study. *Sexually Transmitted Diseases*. maio de 2019;46(5):e46–9.
37. De Oliveira T, Deforche K, Cassol S, Rambaut A VAM. BioAfrica - HIV-1 & 2 Subtyping Tool Web Interface [Internet]. [citado 8 de fevereiro de 2019]. Disponível em: <http://www.bioafrica.net/subtypetool/html/subtypinghiv.html>
38. Zhang M, Schultz A-K, Calef C, Kuiken C, Leitner T, Korber B, et al. jpHMM at GOBICS: a web server to detect genomic recombinations in HIV-1. *Nucleic Acids Research*. 1º de julho de 2006;34(Web Server):W463–5.
39. Struck D, Lawyer G, Ternes A-M, Schmit J-C, Bercoff DP. COMET: adaptive context-based modeling for ultrafast HIV-1 subtype identification. *Nucleic Acids Research*. 13 de outubro de 2014;42(18):e144–e144.
40. Libin PJK, Deforche K, Abecasis AB, Theys K. VIRULIGN: fast codon-correct alignment and annotation of viral genomes. *Bioinformatics*. 15 de maio de 2019;35(10):1763–5.
41. Tamura K, Stecher G, Kumar S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*. 1º de julho de 2021;38(7):3022–7.
42. Price MN, Dehal PS, Arkin AP. FastTree 2--approximately maximum-likelihood trees for large alignments. *PLoS One*. 10 de março de 2010;5(3):e9490.
43. FigTree [Internet]. Evolution and Genomics. [citado 3 de abril de 2022]. Disponível em: <http://evomics.org/resources/software/molecular-evolution-software/figtree/>
44. HIV Drug Resistance Database [Internet]. [citado 3 de abril de 2022]. Disponível em: <https://hivdb.stanford.edu/>
45. Bennett DE, Camacho RJ, Otelea D, Kuritzkes DR, Fleury H, Kiuchi M, et al. Drug Resistance Mutations for Surveillance of Transmitted HIV-1 Drug-Resistance:

2009 Update. Nixon DF, organizador. PLoS ONE. 6 de março de 2009;4(3):e4724.

46. Romero-Severson EO, Bulla I, Leitner T. Phylogenetically resolving epidemiologic linkage. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 8 de março de 2016;113(10):2690–5.

47. Li L, Han N, Lu J, Li T, Zhong X, Wu H, et al. Genetic characterization and transmitted drug resistance of the HIV type 1 epidemic in men who have sex with men in Beijing, China. *AIDS Res Hum Retroviruses*. março de 2013;29(3):633–7.

48. European Centre for Disease Prevention and Control (EU body or agency), World Health Organization. HIV/AIDS surveillance in Europe 2018: 2017 data [Internet]. LU: Publications Office of the European Union; 2018 [citado 13 de abril de 2022]. Disponível em: <https://data.europa.eu/doi/10.2900/848493>

49. Pineda-Peña A-C, Pingarilho M, Li G, Vrancken B, Libin P, Gomes P, et al. Drivers of HIV-1 transmission: The Portuguese case. *PLoS One*. 2019;14(9):e0218226.

50. Araújo PMM, Carvalho A, Pingarilho M, BEST-HOPE study group, Abecasis AB, Osório NS. Characterization of a large cluster of HIV-1 A1 infections detected in Portugal and connected to several Western European countries. *Sci Rep*. 10 de maio de 2019;9(1):7223.

51. Paraskevis D, Magiorkinis E, Magiorkinis G, Kiosses VG, Lemey P, Vandamme A-M, et al. Phylogenetic reconstruction of a known HIV-1 CRF04_cpx transmission network using maximum likelihood and Bayesian methods. *J Mol Evol*. novembro de 2004;59(5):709–17.

52. Lorenzin G, Gargiulo F, Caruso A, Caccuri F, Focà E, Celotti A, et al. Prevalence of Non-B HIV-1 Subtypes in North Italy and Analysis of Transmission Clusters Based on Sequence Data Analysis. *Microorganisms*. 23 de dezembro de 2019;8(1):36.

53. Burns FM, Arthur G, Johnson AM, Nazroo J, Fenton KA, SONHIA collaboration group. United Kingdom acquisition of HIV infection in African residents in London: more than previously thought. *AIDS*. 14 de janeiro de 2009;23(2):262–6.

54. Xiridou M, van Veen M, Coutinho R, Prins M. Can migrants from high-endemic countries cause new HIV outbreaks among heterosexuals in low-endemic countries? *AIDS*. 24 de agosto de 2010;24(13):2081–8.

55. Hamers FF, Downs AM. The changing face of the HIV epidemic in western Europe: what are the implications for public health policies? *Lancet*. 3 de julho de 2004;364(9428):83–94.

56. Ross J, Cunningham CO, Hanna DB. HIV outcomes among migrants from low-income and middle-income countries living in high-income countries: a review of recent evidence. *Curr Opin Infect Dis.* fevereiro de 2018;31(1):25–32.
57. Desgrées-du-Loû A, Pannetier J, Ravalihasy A, Gosselin A, Supervie V, Panjo H, et al. Sub-Saharan African migrants living with HIV acquired after migration, France, ANRS PARCOURS study, 2012 to 2013. *Eurosurveillance.* 19 de novembro de 2015;20(46):30065.