



INSTITUTO DE HIGIENE E
MEDICINA TROPICAL
DESDE 1902

**Universidade Nova de Lisboa
Instituto de Higiene e Medicina Tropical**

**Determinantes associados aos clusters de transmissão de VIH-1
em imigrantes diagnosticados em Portugal entre 2014 e 2019**

Adriana Paradinha Videira

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

OUTUBRO, 2024



INSTITUTO DE HIGIENE E
MEDICINA TROPICAL
DESDE 1902

Universidade Nova de Lisboa Instituto de Higiene e Medicina Tropical

Determinantes associados aos clusters de transmissão de VIH-1
em imigrantes diagnosticados em Portugal entre 2014 e 2019

Autor: Adriana Paradinha Videira

Orientador: Marta Pingarilho

Coorientador: Victor Pimentel

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

Agradecimentos

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer aos meus orientadores Dra. Marta Pingarilho e Dr. Victor Pimentel pela disponibilidade e motivação ao longo deste projeto.

Aos professores do Mestrado em Saúde Pública e Desenvolvimento, agradeço pelos valiosos ensinamentos que me transmitiram, que certamente contribuirão para a minha formação e futuro profissional.

Aos meus colegas bolsiros do IHMT, a minha gratidão pelo apoio e colaboração em diversos aspetos do projeto.

Por último, quero expressar o meu agradecimento à minha família e amigos pelo suporte contínuo ao longo deste percurso. Em particular, aos meus pais, pelo seu apoio incondicional e pela motivação constante para que nunca desistisse dos meus objetivos.

Resumo

Introdução: O VIH continua a ser uma preocupação importante de saúde pública a nível global. Em Portugal, a infeção pelo VIH tem um impacto relevante, com um total de 804 novos casos diagnosticados em 2022. Os imigrantes representam uma parcela significativa das infeções, correspondendo a 45% dos novos casos notificados.

Objetivo: Descrever os determinantes associados aos clusters de transmissão molecular (CTMs) do VIH-1 entre imigrantes diagnosticados em Portugal entre 2014 e 2019.

Métodos: Entre 2014 e 2019, foram recolhidas 206 sequências parciais do gene *pol* do VIH-1 dos subtipos A, B, C, F1, G e Formas Recombinantes Circulantes CRF02_AG e CRF14_BG. A construção de árvores filogenéticas de máxima verossimilhança (ML) foi realizada utilizando o software FastTree. A identificação de clusters foi efetuada com base na distância genética <0.45 e suporte de ramos SH-aLRT >90 no ClusterPicker. Análises de regressão logística foram aplicadas para investigar a associação entre dados sociodemográficos, clínicos e comportamentais com a formação de clusters em indivíduos imigrantes VIH-1 positivos incluídos no estudo.

Resultados: 66.8% dos imigrantes incluídos no estudo eram do sexo masculino, com uma mediana de idade ao diagnóstico de 36.0 anos (IQR:29-45). A maioria dos imigrantes era proveniente de países africanos (50.6%), incluindo a Guiné (18.5%), Angola (15.5%) e Cabo Verde (10.2%), seguidos do Brasil (39.6%). Sessenta e oito (33%) dos imigrantes encontravam-se nos CTMs. Através da análise univariada, destacaram-se alguns fatores associados à presença em clusters com significância estatística. Destacam-se a região de origem, com indivíduos da América do Sul com maior probabilidade de estarem em clusters (OR=5.24, IC95%: 2.67-10.29, $p<0.001$), em comparação com indivíduos de origem africana; a via de transmissão, com homens que fazem sexo com homens (MSM) com maior probabilidade de estarem em clusters (OR=4.37, IC95%: 2.34-8.17, $p<0.001$), em comparação com a via de transmissão heterossexual e o subtipo, sendo que os indivíduos infetados com o subtipo B tiveram também maior probabilidade de estar em cluster (OR=1.85, IC95%: 1.02-3.37, $p=0.044$) do que os indivíduos infetados com subtipos não-B.

Conclusão: Os CTMs de VIH-1 de imigrantes em Portugal mostraram estar associados a determinantes específicos, como a região de origem, a via de transmissão e o subtipo,

entre outros. Deste modo, são necessárias estratégias de saúde de prevenção direcionadas para mitigar a transmissão do VIH nesta população.

Palavras-chave: VIH-1, Clusters de transmissão molecular, Imigrantes, Portugal

Abstract

Background: HIV remains a significant global public health concern. Portugal has an important HIV burden with a total of 804 diagnosed cases in 2022. Migrants remain a significant source of HIV infections, with 45% of newly reported cases. Therefore, we aimed to evaluate the characteristics of HIV-1 molecular transmission clusters (MTCs) among migrants followed up in Portugal, diagnosed between 2014 and 2019.

Methods: Between 2014 and 2019, 206 partial sequences of the HIV-1 *pol* gene from subtypes A, B, C, F1, G and Circulating Recombinant Forms CRF02_AG and CRF14_BG were collected. Phylogenetic trees of maximum likelihood (ML) were constructed using the FastTree software. Cluster identification was based on a genetic distance of <0.45 and SH-aLRT branch support >90 in ClusterPicker. Logistic regression analyses were performed to investigate the association between sociodemographic, clinical, and behavioral data with cluster formation in HIV-1 migrants included in the study.

Results: 66.8% of the migrants included in the study were males with a median age at diagnosis of 36.0 years old (IQR:29-45). Most migrants were from African countries (50.6%), including Guinea (18.5%), Angola (15.5%) and Cape-Verde (10.2%), followed by Brazil (39.6%). Sixty-eight (33%) of the migrants were included in the transmission clusters. Through univariate analysis, being in cluster was significantly associated with region of origin, with individuals from South America more likely to be in cluster (OR=5.24, 95%CI:2.67-10.29, $p<0.001$), compared to individuals of African origin; with transmission route, with men who have sex with men (MSM) more likely to be in clusters (OR=4.37, 95%CI:2.34-8.17, $p<0.001$), compared to the heterosexual transmission route and with subtype, with subtypes B also more likely to be in cluster (OR=1.85, 95%CI:1.02-3.37, $p=0.044$) than individuals infected with subtype non-B.

Conclusion: Migrants HIV transmission clusters in Portugal are associated with specific health determinants, such as region of origin, transmission route and subtype. Targeted prevention health strategies are needed to mitigate transmission of HIV within this population.

Keywords: HIV-1, Molecular Transmission Clusters, Migrants, Portugal

Índice

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. CARACTERÍSTICAS DO VIH	1
1.2. DIVERSIDADE GENÉTICA	4
1.3. SUBTIPOS E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DO VIH	5
1.4. DADOS EPIDEMIOLÓGICOS DO VIH	6
1.5. VIH E IMIGRANTES	8
1.6. TERAPIA ANTIRRETROVIRAL E RESISTÊNCIA.....	11
1.7. CLUSTERS DE TRANSMISSÃO	13
1.8. OBJETIVOS	17
2. MATERIAIS E MÉTODOS	19
2.1. POPULAÇÃO EM ESTUDO	19
2.2. RECOLHA DE DADOS.....	19
2.3. SUBTIPAGEM DO VIH-1	20
2.4. ANÁLISE DA RESISTÊNCIA AOS ANTIRRETROVIRAIS	20
2.5. IDENTIFICAÇÃO DOS CTMS.....	20
2.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA	22
2.7. ÉTICA.....	23
3. RESULTADOS.....	25
3.1. POPULAÇÃO DO ESTUDO.....	25
3.1.1. <i>Dados sociodemográficos</i>	25
3.1.2. <i>Comportamento sexual e Infecções Sexualmente Transmissíveis (ISTs)</i>	25
3.1.3. <i>Informação clínica</i>	30
3.1.4. <i>Genómica viral</i>	31
3.2. IDENTIFICAÇÃO DOS CTMS.....	33
3.3. FATORES ASSOCIADOS A PERTENCER A UM CLUSTER	39
3.3.1. <i>Fatores sociodemográficos e clínicos</i>	39
3.3.2. <i>Fatores comportamentais</i>	43
4. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO.....	47
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53
6. ANEXOS.....	61

Lista de siglas, abreviaturas e acrónimos

CPLP – Comunidade dos Países de Língua Portuguesa

CRFs – do inglês *Circulating Recombinant Forms*

CTM – Clusters de Transmissão Molecular

DNA – do inglês *Deoxyribonucleic Acid*

EUA – Estados Unidos da América

INSA – Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge

IQR – Intervalo interquartil

IST – Infecção Sexualmente Transmissível

LP – do inglês *Late Presenters*

MSM – do inglês *Men who have sex with men*

NLP – do inglês *Non-late Prsenter*

NNRTI – do inglês *Non-nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor*

NRTI – do inglês *Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor*

OMS – Organização Mundial da Saúde

ONG's – Organizações Não-Governamentais

OR – do inglês *Odds ratio*

ORF – do inglês *Open Reading Frame*

PALOP – Países Africanos de Língua Oficial Portuguesa

PEP – Profilaxia Pós-Exposição

pol – gene da polimerase viral

PrEP – Profilaxia Pré-Exposição

RIFA – Relatório de Imigração, Fronteiras e Asilo

RNA – do inglês *Ribonucleic Acid*

RT – Reverse Transcriptase

SIDA – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

SNS – Serviço Nacional de Saúde

SPSS – do inglês *Statistical Package for the Social Sciences*

TARV – Terapia Antirretroviral

TDR– do inglês *Transmitted drug resistance*

UDI – Usuário de Drogas Injetáveis

UE – União Europeia

URFs – do inglês *Unique Recombinant Forms*

VIH – Vírus da Imunodeficiência Humana

1. Introdução

1.1. Características do VIH

Num cenário de contínua luta contra o Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH), a compreensão dos seus mecanismos de ação é fundamental. O VIH, um retrovírus pertencente à família *Retroviridae*, tem como alvo preferencial as células T CD4+, linfócitos essenciais para a função do sistema imunitário humano. Assim, a contagem de células T CD4+ é uma medida crítica da função imunitária, especialmente no contexto da infeção pelo VIH (1).

Este vírus pode ser transmitido através de contacto sexual (exposição a fluídos sexuais contaminados), exposição a sangue contaminado (através da partilha de seringas ou transfusões de sangue) e da mãe para o filho, durante o parto ou amamentação (1). É importante ressaltar que indivíduos VIH-negativos podem estar mais suscetíveis à infeção por VIH, se tiverem maior densidade de células T CD4+ na zona exposta, o que pode ocorrer devido à presença de outras infeções, nomeadamente as sexualmente transmissíveis. Por sua vez, os indivíduos VIH-positivos com maior carga viral têm maior probabilidade de transmitir o vírus (1).

Após a entrada no organismo, o VIH infeta as células T CD4+, levando à sua progressiva depleção. Dias depois, o vírus torna-se detetável no sangue, replicando-se rapidamente e atingindo um pico viral após algumas semanas. Nesta fase, ocorre a resposta imunitária, com a produção de anticorpos e uma elevada capacidade de transmissão do vírus. Posteriormente, os níveis virais estabilizam. Após anos de infeção, a imunodeficiência pode agravar-se, culminando no desenvolvimento da Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA) (1) (Figura 1).

A partícula viral madura e infecciosa do VIH tem simetria icosaédrica e diâmetro aproximado de 125 nm. O vírus é envolvido por um invólucro fosfolipídico, de origem celular, no qual se encontram ancoradas as glicoproteínas de superfície e transmembranares (*gp120* e *gp41*). Internamente, uma matriz proteica (*p17*) envolve o capsídeo viral (*p24*), que contém o genoma diplóide do VIH, constituído por duas cadeias

Introdução

simples de RNA de polaridade positiva, que interagem com as três enzimas virais (protease, transcriptase reversa e integrase) (1) (Figura 2).

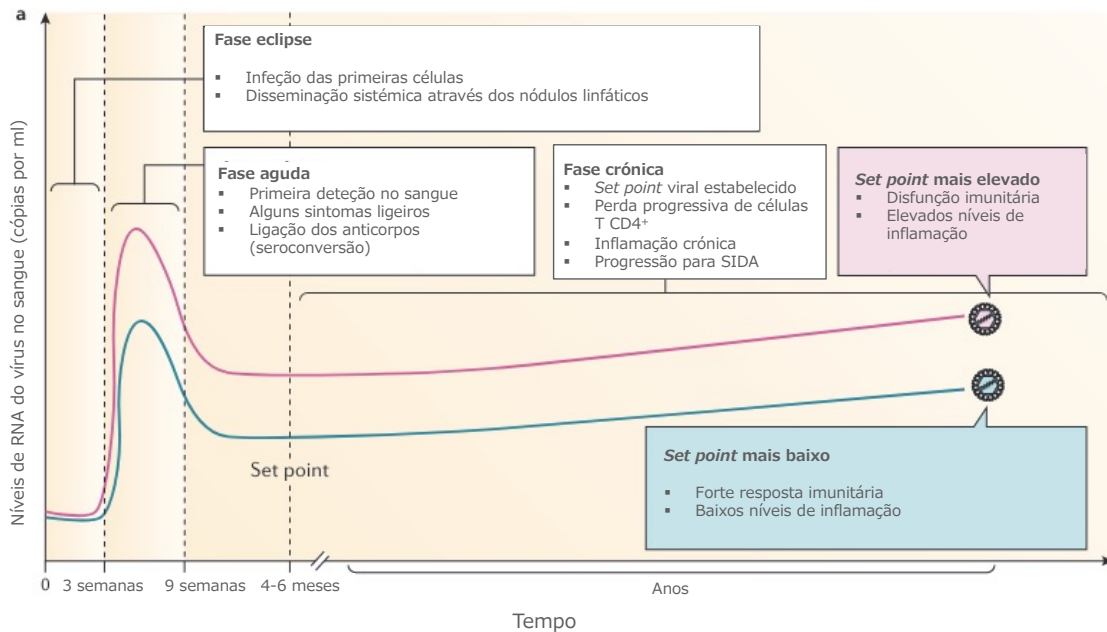


Figura 1: Progressão da infecção por VIH. Figura adaptada de: Deeks SG, Overbaugh J, Phillips A, Buchbinder S. HIV infection. Nat Rev Dis Primer. 1 de outubro de 2015;1(1):15035. Quando o VIH é inicialmente detetado no sangue, os indivíduos infetados podem experienciar sintomas ligeiros, semelhantes aos de uma gripe. À medida que os níveis de RNA viral vão aumentando exponencialmente, chegando ao seu pico, também os sintomas vão agravando. Após a resposta imunitária, os níveis de VIH começam a estabilizar. Um nível mais elevado reflete uma progressão mais rápida para a SIDA.

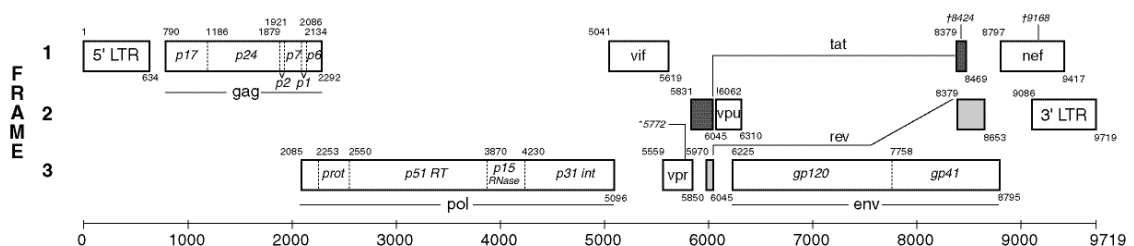


Figura 2: Genoma do VIH-1. O genoma do Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH) é composto por duas cadeias de RNA, com aproximadamente 9,3kb. Inclui 9 genes, 3 dos quais são estruturais: *gag*, que codifica as proteínas estruturais *p24*, *p7*, *p6* (do núcleo), *p17* (da matriz); *pol*, que codifica as enzimas protease (*pro*), transcriptase reversa (*RT*) e integrase (*int*); *env*, que codifica a glicoproteína *gp160* precursora das glicoproteínas do envelope *gp120* e *gp41*, presentes no envelope viral. Há ainda 6 genes adicionais, que codificam para 3 proteínas reguladoras: *tat*

Introdução

(promove a expressão dos genes do VIH), *rev* (relacionada com exportação do RNA genómico mensageiro) e *nef* (envolvida na transdução de sinal e regulação negativa do recetor CD4 na superfície celular) e codificam para 3 proteínas acessórias: *vif* (aumenta a infecciosidade das partículas virais), *vpr* (envolvida no acesso do DNA transcrito ao núcleo em células que não se dividem) e *vpu* (presente apenas no VIH-1 e promove a degradação de CD4 e libertação do virião da membrana plasmática de células infetadas) ou *vpx* (o equivalente no VIH-2). *Fonte: Landmarks of the VIH genome [Internet]. [citado 23 de abril de 2024]. Disponível em: <https://www.VIH.lanl.gov/content/sequence/VIH/MAP/landmark.html>*

O ciclo de replicação do VIH começa com a ligação aos recetores da célula alvo através das proteínas do invólucro, entrando na célula por fusão. Após a desencapsidação, o RNA viral é retrotranscrito em DNA pela transcriptase reversa, uma enzima viral. O DNA viral migra para o núcleo da célula, onde é integrado no genoma celular, pela ação da integrase. O genoma viral é então transcrito e traduzido, originando proteínas virais e eventuais novos viriões. A maturação das proteínas virais é realizada pela protéase viral (1) (Figura 3).

A entrada do VIH na célula, a transcrição reversa, a integração no genoma celular e a maturação de proteínas envolvem enzimas que são um potencial alvo para os antirretrovirais, inibindo o ciclo de replicação do vírus. Entre os antirretrovirais existentes, estão incluídos os inibidores nucleósidos da transcriptase reversa (NRTIs), os inibidores não nucleósidos da transcriptase reversa (NNRTIs) e inibidores da protéase (PIs). A terapia antirretroviral (TARV) pode impedir que outras células fiquem infetadas, mas não elimina a infeção, uma vez que o DNA viral está integrado no genoma da célula. Contudo, os antirretrovirais impossibilitam que a replicação ocorra, quase na totalidade (1) (Figura 3).

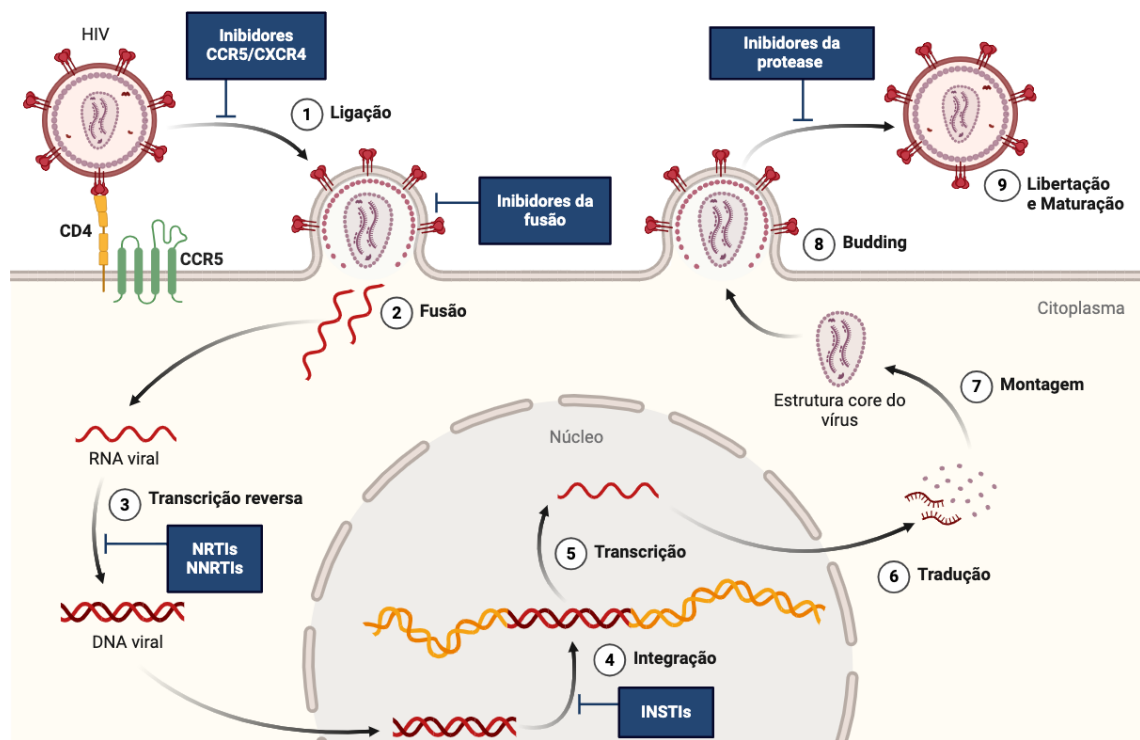


Figura 3: Representação esquemática do ciclo de replicação do VIH. 1 e 2: Ligação e fusão da partícula viral   célula alvo (que expressa na sua superfície a glicoproteína CD4); 3: Libert  o do conteúdo da cápside no citoplasma da célula alvo e retrotranscri  o do RNA viral em DNA, pela ação da transcriptase reversa; 4: Integração do genoma viral no DNA da célula hospedeira, pela enzima integrase; 5 e 6: Transcrição e tradução do DNA, por enzimas celulares, resultando em proteínas virais; 9: Fragmentação/clivagem de moléculas precursoras para a formação de partículas virais infecciosas, pela protease viral. Figura criada no BioRender.

1.2. Diversidade genética do VIH

A diversidade genética do VIH é um dos seus aspetos mais desafiantes. O vírus tem uma elevada taxa de substituição de nucle t dos, estimada em cerca de 1.3×10^{-3} a 3.5×10^{-3} substituições de nucle t dos por local por ano, dependendo da região gen mica do VIH (1,2). Esta alta taxa de substituição   associada à baixa fidelidade da transcriptase reversa, a enzima responsável por retrotranscrever o RNA viral em cDNA, que carece de um mecanismo de *proofreading* (2).

A alta taxa de mutação em conjunto com a alta taxa de replicação do vírus (são geradas cerca de 10 mil milhões de cópias de vírus por dia num indivíduo não tratado) e eventos de recombinação, resulta numa elevada diversidade genética. A sobrevivência das estirpes resultantes depende depois da pressão seletiva feita pelo sistema imunitário humano e pelos antirretrovirais (1,2). As proteínas do invólucro, que são as mais expostas ao ambiente externo, são as que têm maior taxa de variação. Esta variedade dificulta a produção de uma vacina eficaz contra o VIH, tornando-se uma preocupação na resposta ao tratamento antirretroviral e desenvolvimento de resistências (1,3).

1.3. Subtipos e distribuição geográfica do VIH

O VIH possui dois tipos virais, o VIH-1 e o VIH-2, sendo o primeiro pandémico e o segundo endémico em certas regiões africanas. Existem quatro grupos filogenéticos do VIH-1 (M, N, O, P), dos quais apenas o grupo M está associado à evolução da infeção para a SIDA. Dentro do grupo M, há vários subtipos (A, B, C, D, F, G, H, J, K e L) e ainda sub-subtipos (A1, A2, A3, A4, A6, A7, F1 e F2), sendo que as sequências genéticas do vírus são mais semelhantes dentro do mesmo subtipo (ou sub-subtipo). Esta panóplia de subtipos e sub-subtipos reflete a elevada diversidade genética, anteriormente mencionada. A recombinação de dois ou mais subtipos dá origem a formas recombinantes únicas (URF) ou formas recombinantes circulantes (CRFs), sendo a última definida quando a forma recombinante está presente em mais do que dois indivíduos (3–6).

O número de CRFs está em constante crescimento, com 157 CRFs identificados até à data (7). Segundo uma revisão sobre a distribuição destes subtipos pelo mundo (3), o subtipo C é o mais predominante, sendo encontrado maioritariamente na África Subsariana, seguido do subtipo B, encontrado na Europa Ocidental, Estados Unidos da América (EUA) e Austrália e do subtipo A, nomeadamente na Europa de leste e Ásia Central. As formas recombinantes CRF02_AG e CRF01_AE têm também alguma prevalência na África Central e Ocidental (3,8) (Figura 4). Pensa-se que a forma recombinante CRF14_BG tenha surgido em Portugal e se dispersou posteriormente pela Europa (9). O subtipo F1 é mais prevalente na América do Sul e Europa de Leste (10).

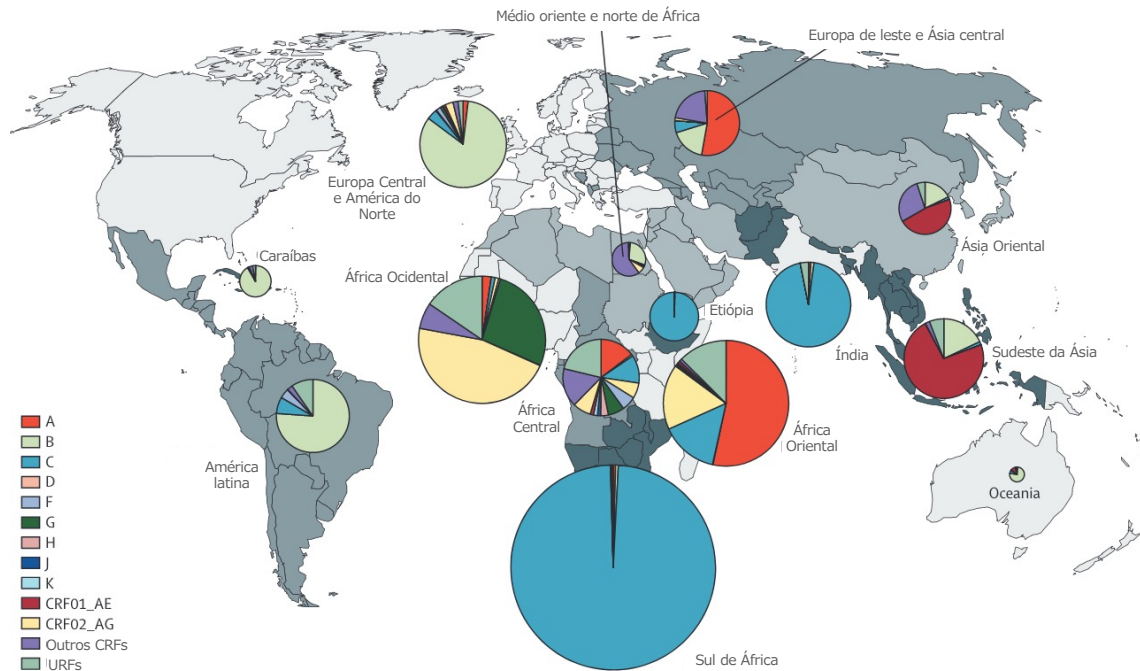


Figura 4: Distribuição regional dos subtipos de VIH-1, CRFs e URFs, 2010-2015. CRF=Circulating Recombinant Form. URF=Unique Recombinant Form. Figura adaptada de: Hemelaar J, Elangovan R, Yun J, Dickson-Tetteh L, Fleminger I, Kirtley S, et al. Global and regional molecular epidemiology of VIH-1, 1990–2015: a systematic review, global survey, and trend analysis. *Lancet Infect Dis.* 1 de fevereiro de 2019;19(2):143–55.

1.4. Dados epidemiológicos do VIH

Bem como compreender as características do VIH, é crucial analisar a sua presença e impacto em diferentes regiões. A epidemia de VIH continua a ser um dos grandes desafios de saúde pública a nível global, tendo já causado, até ao final de 2022, aproximadamente 40.4 milhões de mortes relacionadas com a doença (11).

Globalmente, em 2022, havia cerca de 39 milhões de pessoas infetadas com VIH. Nesse mesmo ano, estimou-se que tenham ocorrido globalmente cerca de 1.3 milhões de novas infeções por VIH, um dos números mais baixos nas últimas décadas, onde o decréscimo mais acentuado foi nas crianças e adolescentes, que têm sido alvo de várias intervenções de saúde pública, destacando a importância de esforços conjuntos no controlo desta epidemia. Também em 2022, ocorreram cerca de 630 000 mortes relacionadas com

Introdução

SIDA, número que tem vindo a decrescer, devido à maior disponibilidade e melhoria de tratamento (12).

Na Europa, a situação é igualmente complexa e variada. Em 2021, a Região Europeia, conforme definida pela Organização Mundial da Saúde (OMS), contava com mais de 2.3 mil pessoas a viver com VIH e 106 508 novos casos nesse ano (13). A população infetada com VIH é maioritariamente do sexo masculino, sendo também uma população jovem. Na Europa (União Europeia (UE) e Espaço Económico Europeu (EEE)), em 2022, a taxa mais alta de infeção por VIH ocorreu na faixa etária dos 25 aos 29 anos. Nesse mesmo ano, a via de transmissão mais predominante na Europa era nos homens que fazem sexo com homens (MSM), correspondendo a cerca de 55% dos casos em que a via de transmissão foi identificada. Para além disso, a percentagem de diagnósticos tardios de VIH-1 é alta, correspondendo a quase 60% da população europeia, reforçando a necessidade de melhorias na prevenção, no diagnóstico precoce e acesso ao tratamento, uma vez que esta é umas das principais causas de morte por VIH-1 (13,14).

Apesar da predominância histórica do subtipo B do VIH-1 na Europa, os casos de subtipos não-B, incluindo formas recombinantes, têm vindo a aumentar nesta região, trazendo novos desafios para os programas de prevenção e tratamento. Esta diversidade genética do vírus requer uma adaptação constante das estratégias de intervenção (15).

Em Portugal, apesar da redução de novos casos nos últimos anos, a situação é especialmente preocupante, sendo o país com uma das maiores taxas de incidência de VIH-1 na Europa Ocidental (14). Em 2022, havia cerca de 66 000 casos ativos de VIH e registaram-se 804 novos casos, com uma taxa de 7.4 de infeções por 100 000 habitantes. Embora esta taxa tenha diminuído, continua elevada. Nesse mesmo ano, houve 151 óbitos relacionados com a SIDA (16). Nos últimos anos, a via de transmissão heterossexual tem sido a via predominante em Portugal, sendo responsável por 47.7% das novas infeções em 2022, sendo que cerca de 44.6% são imigrantes, maioritariamente provenientes da África Subsariana, onde esta via de transmissão é predominante. Nos homens, a via de transmissão predominante é a MSM (58.6%), com 50.4% de imigrantes, maioritariamente oriundos da América Latina (16).

A população que vive com VIH em Portugal é também maioritariamente do sexo masculino (75%, em 2022) e jovem, com mais de 50% dos casos diagnosticados entre os

20 e 39 anos, em 2022 (16). Cerca de 45% dos novos casos diagnosticados em Portugal, em 2022, foram de imigrantes em que a maioria era originária da América Latina (23.8%) e África Subsaariana (17.2%). Esta proporção tem vindo a aumentar, especialmente para imigrantes provenientes da América Latina (16). Em linha com o que se observa na Europa, também em Portugal, grande parte da população (52.9%) tem um diagnóstico tardio e esta percentagem tem-se mantido elevada nos últimos anos. Apesar das elevadas taxas de infeção por VIH, os casos de SIDA têm vindo a diminuir, chegando próximo das taxas da Europa (16).

1.5. VIH e migrantes

A definição de migrante é complexa, podendo ter em conta vários fatores como legalidade, duração e localização da migração, entre outros. Nesta dissertação, irá ser classificado como imigrante, qualquer indivíduo que tenha nascido noutro país que não Portugal (17).

Vivemos num mundo cada vez mais globalizado, onde o número de imigrantes tem crescido nos últimos tempos. A nível mundial, a percentagem de migrantes tem vindo a crescer nas últimas cinco décadas, atingindo, em 2020, 3.6% da população mundial, ou seja, um total de 281 milhões de pessoas. Este crescimento foi particularmente notável na Ásia e na Europa, que alojaram cada uma cerca de 30% dos migrantes (18).

Em relação a Portugal, as tendências de imigração têm-se vindo a alterar. Até ao início deste século, a proporção de imigrantes era relativamente baixa, com a maioria proveniente da comunidade de países de língua portuguesa (CPLP), devido a questões históricas. Ultimamente, tem-se observado um aumento de imigrantes provenientes do Brasil e da Europa de Leste (19). De acordo com o Relatório de Imigração, Fronteiras e Asilo de 2021 (RIFA 2021), nesse ano havia cerca de 700 000 cidadãos estrangeiros residentes em Portugal, representando um aumento de 5.6% em relação ao ano anterior. Destes cidadãos estrangeiros, grande parte são provenientes do Brasil (29.3%), seguida por imigrantes provenientes do Reino Unido (6.0%) e Cabo Verde (4.9%). Ainda assim, por continente, a maioria dos cidadãos estrangeiros são provenientes da América do Sul (potenciado pelo Brasil) e África, com 217 364 e 107 595 cidadãos, respetivamente.

Introdução

Observou-se também um aumento geral dos cidadãos provenientes da União Europeia (+89,9% em relação a 2020) em contraste com um aumento muito menos acentuado relativamente aos cidadãos provenientes do continente africano (+0,8% em relação a 2020) (20). Estes dados referem-se apenas a cidadãos estrangeiros titulares de autorização de residência, podendo estar subestimados, uma vez que imigrantes não regularizados não são considerados.

A população migrante é considerada uma população vulnerável, devido a vários fatores, enfrentando desafios significativos no acesso aos cuidados de saúde. Na origem destes desafios está muitas vezes a instabilidade socioeconómica vivenciada por esta população, que pode estar também associada a comportamentos de risco, como consumo de álcool e outras drogas e prostituição; o estatuto legal e políticas de saúde do país de destino, que podem dificultar o acesso a cuidados a imigrantes sem documentação legal; estigma e discriminação; barreiras linguísticas; diferenças religiosas e culturais e literacia em saúde (19,21). Durante o processo de migração, os migrantes estão sujeitos a riscos adicionais, incluindo interrupções nos cuidados de saúde e exposição a doenças. Para além do risco a que estão sujeitos, os migrantes poderão também trazer algum risco para o país de acolhimento, uma vez que durante a fase de trânsito poderão estar expostos a vários fatores de risco, adicionados a uma possível falta de imunidade para certas doenças características do país de destino, alterando o padrão de mortalidade/morbilidade do país (22).

No contexto da epidemia de VIH, os imigrantes representam um grupo de risco, já que podem ser originários de países com alta prevalência de VIH, de países vizinhos destes e/ou ter comportamentos de risco (23). Ainda assim, alguns estudos indicam que grande parte dos imigrantes foram infetados com VIH após o processo de imigração, tanto em Portugal (24), como na Europa (23), reforçando a importância de direccionar algumas políticas de prevenção para estas populações específicas.

A grande mobilidade humana a nível mundial reflete-se na diversidade de subtipos de VIH-1 e formas recombinantes existentes em circulação em todo o mundo (24). Na Europa, a proporção de novos casos de VIH em imigrantes tem vindo a aumentar nos últimos anos. Em 2012, este grupo (pessoas que nasceram num país diferente do país que reportou os dados) representava 37% dos novos casos, enquanto em 2021, 46% dos casos

de VIH na Europa eram de imigrantes (oriundos principalmente do sul e sudeste de Ásia), refletindo um aumento de quase 10%. É, por isso, um grupo prioritário na prevenção da infeção pelo VIH. Apesar da proporção dos imigrantes da maior parte das regiões ter-se mantido estável, a proporção de imigrantes provenientes da Europa de Leste e Central tem vindo a aumentar de 5% em 2012 para quase o dobro (8.9%) em 2021 (13).

Em Portugal, a situação não é muito diferente. Como já referido, em 2022, os imigrantes corresponderam a 45.3% dos novos casos de VIH. Comparativamente com 2021, em 2022 a proporção de casos de VIH em imigrantes provenientes da América Latina (diagnosticados em Portugal) aumentou (em 52%), ao contrário da proporção de imigrantes provenientes da África Subsariana VIH-positivos em Portugal, que diminuiu 59% (16,25). Caracterizando os novos casos de imigrantes diagnosticados com VIH em Portugal, de acordo com o relatório do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), em 2022, a percentagem de indivíduos VIH-positivos com apresentação tardia ($T\ CD4+ < 350$ células/mm³) é maior na população imigrante provenientes da África Subsariana (63.2%) e outros países Europeus (65.0%), comparativamente a indivíduos portugueses (57.8%) e imigrantes da América Latina, incluindo o Brasil (50.0%). Isto indica que os imigrantes africanos e europeus têm um diagnóstico mais tardio, estando em risco de maior morbilidade, mortalidade e transmissão do vírus. Esta tem sido a tendência verificada nos últimos anos (16,24). De acordo com outros estudos, realizados com imigrantes provenientes dos países africanos de língua oficial portuguesa (PALOP) a viver em Portugal, entre 2001 e 2017, a via de transmissão mais prevalente é a transmissão heterossexual e os novos casos são predominantemente (53.6%) em mulheres. Pelo contrário, nos imigrantes brasileiros em Portugal a via de transmissão predominante é a do grupo dos MSMs e a maioria dos novos casos ocorre em homens (71.3%), nesse período (15,24). Finalmente, apesar do subtipo de VIH-1 mais prevalente em Portugal (e também na Europa) ser o subtipo B, a percentagem de outros subtipos predominantes noutras zonas do mundo tem vindo a aumentar, confirmando o aumento do fluxo de migrantes nesta região (26).

1.6. Terapia antirretroviral e resistência

A crescente utilização da terapia antirretroviral (TARV) alterou os padrões de morbidade e mortalidade dos indivíduos infetados por VIH, passando a ser considerada uma doença crónica. Para além de controlar a replicação viral, a TARV também permite a redução da transmissão do VIH, desempenhando um papel crucial no controlo da epidemia (14,27).

Neste contexto, foi importante o aparecimento do programa “Tratamento para Todos”, que visa oferecer cuidados e tratamento para qualquer pessoa infetada com VIH, independentemente dos seus critérios clínicos e virológicos, e que teve início em Portugal em 2015, assim como no resto do mundo (28). Globalmente, desde 2010 o uso eficaz da TARV reduziu o número de mortes associadas à infeção por VIH em 51%, salvando quase 21 milhões de vidas (12). Ainda assim, o aparecimento e disponibilidade da TARV entre os vários continentes e países foi irregular. Enquanto nos países de alta renda a TARV combinada é comum desde os anos 90, nos países de baixa renda, a sua utilização ainda é recente (27). Apesar de nestes países, nomeadamente na África Subariana, a evolução do número de pessoas em TARV ter aumentado rapidamente (passando de 100 000 pacientes em tratamento em 2003 para 6,2 milhões em 2011), ainda há muitos desafios a enfrentar no que respeita à disponibilidade e eficácia da TARV (27).

Para além do uso como tratamento, a terapia antirretroviral pode também ser usada como profilaxia pós-exposição (PEP) e como profilaxia pré-exposição (PrEP) (1). A PrEP só começou a ser disponibilizada pelo Serviço Nacional de Saúde (SNS) em Portugal em março de 2018 (14).

Apesar dos antirretrovirais terem contribuído bastante para a diminuição da mortalidade e melhoria nas condições de vida dos indivíduos infetados com VIH, também aumentou o risco de seleção de vírus resistentes aos antirretrovirais (29).

Num indivíduo infetado com VIH sem resistências a antirretrovirais e que nunca recebeu tratamento (TARV-naïves), os antirretrovirais têm como objetivo suprimir o vírus para níveis indetetáveis na corrente sanguínea, reduzindo, como já mencionado, o risco de transmissão do mesmo. No entanto, quando os antirretrovirais não são eficazes ou não são tomados conforme prescrito (quando o tratamento é interrompido, permitindo que o

vírus se replique, e retomado mais tarde, favorecendo o crescimento de estirpes resistentes), o vírus consegue continuar a replicar-se, desenvolvendo mutações, que podem conferir resistência a esses antirretrovirais (27). É possível, mas incomum a aquisição simultânea de resistência a mais do que uma classe de antirretrovirais (27). Assim, indivíduos que possuam resistência a várias classes de medicamentos, poderão já ter sido expostos a terapias, acumulando mutações de resistências a essas classes de antirretrovirais (27,30).

Pensa-se também que o uso de antirretrovirais para prevenir a infecção por VIH (PrEP) pode contribuir para a aquisição de resistências. Isto pode acontecer quando indivíduos são infetados enquanto estão a usar PrEP (27).

Por sua vez, as estirpes virais resistentes a antirretrovirais podem ser transmitidas de indivíduo para indivíduo, sendo possível um indivíduo que nunca foi submetido a terapia antirretroviral possuir uma estirpe resistente à mesma. Isto constitui um problema, uma vez que, havendo muitas destas estirpes a circular, pode tornar certos antirretrovirais ineficazes (27). Atualmente, diretrizes internacionais, europeias e portuguesas recomendam que, após o diagnóstico positivo para VIH, seja feito um teste à presença de resistências e iniciem rapidamente o tratamento com antirretrovirais (até 7 dias após o diagnóstico) (31–33). Desta forma, sabendo se há presença ou não de mutações de resistência, será mais fácil ajustar a terapia ao indivíduo VIH-positivo, tornando-se mais eficaz.

Relativamente à prevalência da resistência antirretroviral, tem-se percebido que varia de acordo com o contexto, consoante a disponibilidade do tratamento e das condições socioeconómicas (29). Geralmente, a prevalência de resistência transmitida aos antirretrovirais (TDR) nos países de baixa e média renda é inferior relativamente aos países de alta renda, mas tem aumentado à medida que a terapia antirretroviral se torna mais disponível nessas regiões (1,27,34). Entre 2014 e 2019, os níveis de TDR mais baixos encontravam-se no sul/sudeste da Ásia e África Subsariana, seguido da região da Europa (8.5%), América Latina/Caraíbas e países asiáticos de alta renda e com o valor mais elevado na América do Norte (34). Nesse período de tempo, em Portugal observou-se uma prevalência geral de TDR de 9.4% (29).

Apesar da prevalência de TDR geralmente mais baixa nos países de baixa renda, existem fatores que contribuem para a resistência a antirretrovirais, que podem ser contornados. Em contraste, nos países de alta renda, tal como as recomendações internacionais já mencionadas indicam, é comum fazer-se a genotipagem do vírus antes de se iniciar a terapia antirretroviral, de modo a escolher as combinações mais adequadas, caso haja alguma mutação que confira algum tipo de resistência. Já nos países de baixa renda, este procedimento normalmente não está disponível, levando por vezes a um tratamento não adequado, o que pode resultar, com o tempo, em múltiplas resistências. Para além disso, muitas vezes, nestes países há também muita falta de stock de medicação, o que pode levar a interrupção do tratamento e consequentemente ao risco do vírus adquirir resistência aos antirretrovirais (27).

A vigilância da TDR é fundamental a nível global. Em Portugal, a população imigrante, com características muitas vezes específicas e de difícil acesso, apresenta desafios acrescidos para a recolha de dados fiáveis e detalhados. Esta realidade torna imperativa a implementação de um monitoramento rigoroso e contínuo, de forma a garantir uma resposta eficaz às TDR nesta população (35). Caracterizando a população com TDR em Portugal, entre 2001 e 2017, num estudo feito em Portugal, observou-se uma prevalência de TDR de 9.1%, nos indivíduos VIH-positivos provenientes dos PALOP (9.2%) e Brasil (8.5%) que vivem em Portugal, comparativamente com 9,8% de prevalência em indivíduos não migrantes (24). Noutro estudo realizado entre 2014 e 2019, foram identificados alguns fatores de risco associados ao aumento da TDR em Portugal. Nesse período, o grupo dos homens que fazem sexo com homens (MSM) apresentaram menor probabilidade de ter TDR, comparativamente com heterossexuais. Por sua vez, os indivíduos infetados com VIH-1 do subtipo C apresentaram maior probabilidade de ter TDR, comparativamente com indivíduos infetados com o subtipo B (29).

1.7. Clusters de transmissão

Devido aos esforços globais que se têm feito para o tratamento do VIH, tem sido possível reduzir a morbilidade e mortalidade associada a este vírus. No entanto, apesar desses avanços, o número de novos casos continua elevado em todo o mundo, o que destaca a

necessidade contínua de políticas de saúde focadas na prevenção e redução do risco de transmissão do vírus (36). Neste contexto, a análise de clusters de transmissão molecular (CTMs) emerge como uma ferramenta crucial em saúde pública, oferecendo *insights* sobre as dinâmicas de transmissão, fontes de novas infecções e, possivelmente, os fatores associados à evolução da epidemia.

O termo cluster de transmissão e a sua identificação não é consensual. No entanto, um cluster de transmissão de VIH-1 pode ser descrito como um “conjunto de sequências de VIH agregadas de forma não aleatória ligadas à sua epidemiologia” (37). Numa árvore filogenética, os clusters contém sequências de indivíduos que partilham um ancestral comum recente (38). Devido à alta taxa de substituição de nucleótidos do vírus do VIH é possível analisar mudanças evolutivas num curto período de tempo. Assim, hospedeiros cujos vírus têm um genoma semelhante, estarão possivelmente ligados por um evento de transmissão.

No caso do VIH, é relevante mencionar que se tem verificado que sequências do genoma viral, mais compridas, produzem resultados mais fidedignos em relação à identificação de CTMs. Também a densidade de amostragem, ou seja, a representatividade da amostra em relação à população em estudo, influencia a fidelidade da identificação dos clusters (39). A parte do genoma que tem sido usada para a construção de árvores filogenéticas é a sequência viral *pol*, que codifica para as proteínas enzimáticas protease, transcriptase reversa, RNase H e integrase e que são o principal alvo dos antirretrovirais (2). Por esse motivo, estes genes são sequenciados como resultado de testes clínicos de rotina para avaliar a presença de resistências e adequar o tratamento ao paciente (40). O gene inclui a região *prot/rt*, responsável pela codificação da protease e da transcriptase reversa, amplamente utilizada em atividades de vigilância e rastreamento devido à sua elevada conservação e à reduzida variação de comprimento. A conservação desta região deve-se ao facto de que mutações nesse segmento comprometeriam a sobrevivência e a replicação viral. No entanto, essa característica também apresenta desafios para a análise filogenética. Em contrapartida, o gene *env*, que codifica as proteínas estruturais do vírus, apresenta menor nível de conservação devido à elevada taxa de substituição de nucleótidos, resultado da forte pressão seletiva a que está sujeito (2).

No estudo filogenético, o software Cluster Picker é amplamente utilizado para a identificação de CTMs. Este programa determina os clusters com base na distância genética máxima entre pares de sequências dentro de um cluster. (38). Para utilizar o Cluster Picker é importante definir, essencialmente dois parâmetros, a distância genética (medida em % de substituições por local) entre as sequências virais e o suporte estatístico dos ramos da árvore filogenética. Para determinar estes critérios deve-se ter em conta diversos fatores, entre os quais comprimento e variabilidade da sequência a analisar, o intervalo das datas de colheita da amostra, o número de sequências e densidade da amostragem (37). Relativamente à distância genética, esta vai aumentando em função do tempo decorrido desde a transmissão e deve ser escolhida consoante os objetivos da análise e o tipo de população em estudo. É importante notar que a análise filogenética, quando usada isoladamente, não é suficiente para identificar ligações epidemiológicas entre vírus. A filogenia apenas nos indica a proximidade evolutiva entre vírus, enquanto a distância genética é crucial para determinar o grau de parentesco entre as sequências e estabelecer uma possível ligação epidemiológica (2).

Em relação ao suporte estatístico dos ramos das árvores filogenéticas, quanto maior o valor (em proporção ou percentagem), maior fiabilidade tem determinada relação filogenética. Foi indicado que valores superiores a 70% indicam um forte suporte estatístico (37).

Ainda relativamente à escolha dos dois critérios, foi observado que a escolha da distância genética tem mais impacto na identificação dos clusters, do que a variação no suporte estatístico dos ramos (40).

A investigação dos CTMs do VIH em populações migrantes e em diferentes contextos geográficos desempenha um papel crucial na compreensão da dinâmica da disseminação do vírus. Em estudos realizados em Portugal, Itália, Austrália e Bélgica, observaram-se diferenças significativas entre nativos e imigrantes quanto à presença em CTMs. Com base nos resultados de estudos nestes países parece haver um padrão nos fatores associados à presença em CTMs, nomeadamente a contagem elevada de células T CD4+, infeção com subtipo B, ser nativo (neste caso, de países europeus e Austrália), ser do sexo masculino e pertencer ao grupo dos MSMs. Os imigrantes africanos parecem não estar associados à clusterização.

Introdução

Em imigrantes acompanhados em Portugal, entre 2001 e 2017, pertencer a um cluster foi independentemente associado a uma contagem elevada de células T CD4+ (>500 células/ μL), à origem brasileira e a amostras mais recentes. Neste estudo, observou-se uma menor proporção de imigrantes provenientes dos PALOP em cluster (36%), comparativamente com imigrantes de origem brasileira (54%) (15). Também na Bélgica, em diagnósticos entre 2013 e 2015, os imigrantes provenientes da África Subsariana pareceram ter pouca contribuição na formação de CTMs, apesar de corresponderem a quase um terço (27%) da população estudada neste intervalo de tempo e nesta região. Nos imigrantes provenientes da África Subsariana encontrados em clusters, 66.7% pertenciam ao grupo dos MSMs, enquanto que na população total da África Subsariana apenas 12% pertenciam a esse grupo de risco. Para além disso, nesse mesmo estudo, pertencer a um cluster foi associado ao sexo masculino, origem na Bélgica (nativos), ter sido infetado pelo subtipo B ou F e um diagnóstico precoce (41).

Num estudo feito em Itália com 710 indivíduos (nativos e imigrantes) diagnosticados entre 2011 e 2017, os clusters foram definidos com uma distância inferior a 1.5 e suporte estatístico dos ramos >0.98 . A maioria dos casos de transmissão foram entre casais heterossexuais e o clustering foi associado a infeções com o subtipo CRF02_AG e subtipo F. Também a origem africana foi associada a não pertencer a cluster, bem como origem asiática e infeções com o subtipo G ou A1 (4). Também em Itália, em 3499 indivíduos (695 imigrantes) diagnosticados entre 1998 e 2018, observou-se haver mais imigrantes em clusters pequenos (2-3 indivíduos), comparativamente a clusters médios (4-9 indivíduos) e clusters grandes (≥ 10 indivíduos). Relativamente aos indivíduos infetados com subtipos não-B pertencentes a clusters, havia maior proporção de nativos do que imigrantes. A origem italiana (nativos), pertencer ao grupo MSM, ser jovem, ter um diagnóstico mais recente e uma contagem elevada de células T CD4+ foram fatores associados à presença em clusters (42).

Em Victoria, na Austrália, num estudo com novos diagnósticos de nativos e imigrantes heterossexuais entre 2005 e 2014, observou-se que os imigrantes infetados com VIH-1 eram mais novos no momento do diagnóstico (36 anos), comparativamente aos nativos (42 anos). Os imigrantes incluídos neste estudo correspondiam a 62% da população estudada e eram maioritariamente originários da África Subsariana (35%), seguidos do Sudeste Asiático (22%). Neste estudo, os fatores associados à presença em clusters foram

ser infectado por subtipo B (o mais prevalente na região) e ser originário de “outra” região comparativamente à origem na África Subariana. Nos clusters com apenas dois indivíduos era mais provável estar incluída pelo menos uma mulher e estarem presentes imigrantes da mesma origem, comparativamente aos clusters maiores (≥ 3 indivíduos). Os clusters maiores tinham também maior probabilidade de conter homens, pessoas nativas, pessoas de diferentes origens, pessoas infectadas com subtipo B e homens que relataram ter sexo com homens (para além de relatarem a via heterossexual como uma das vias de transmissão). Os resultados deste estudo sugerem que existem mais relações íntimas entre imigrantes da mesma origem e que a infeção ocorre, provavelmente, pós migração e por australianos, podendo incluir sexo entre homens (43).

Resumindo, desde a compreensão das características do VIH até à sua distribuição geográfica na Europa e Portugal, é clara a necessidade de estratégias adaptadas a contextos específicos. Os imigrantes representam um grupo que exige abordagens personalizadas, enquanto a terapia antirretroviral e a gestão da resistência aos antirretrovirais destacam os desafios clínicos contínuos. Finalmente, o estudo de CTMs fornece uma visão detalhada sobre como o vírus se dissemina em comunidades específicas, informando políticas de saúde pública mais eficazes.

Deste modo, a análise de dados epidemiológicos combinados com dados sociodemográficos e comportamentais podem revelar informação útil que nos permite identificar determinantes associados ao progresso ou estagnação da epidemia de VIH-1 (36). Para além disso, estudos que visem compreender a dinâmica dos CTMs em migrantes, um grupo de risco, são escassos (15), demonstrando a relevância deste estudo.

1.8. Objetivos

O objetivo geral do estudo é analisar os determinantes dos Cluster de Transmissão Molecular (CTM) na população de imigrantes recentemente diagnosticados com VIH-1, seguidos em hospitais portugueses entre 2014 e 2019. Os objetivos específicos são:

- Caracterizar a população de imigrantes VIH-positivos diagnosticados em Portugal, no que concerne às características sociodemográficas e clínicas;

Introdução

- Identificar CTMs na população em estudo
- Descrever os determinantes sociodemográficos, clínicos e comportamentais associados aos cluster de transmissão do VIH-1.

Para isso, usaram-se os dados sociodemográficos, comportamentais, clínicos genómicos recolhidos durante o projeto BESTHOPE (17).

2. Materiais e Métodos

Este é um estudo observacional retrospectivo transversal (44), com base nos dados recolhidos no âmbito do projeto BESTHOPE (17).

2.1. População em estudo

No decorrer do projeto BESTHOPE (45), foram recolhidos dados sociodemográficos, comportamentais, clínicos e genómicos de imigrantes diagnosticados com VIH-1 em 17 hospitais portugueses entre setembro de 2014 e dezembro de 2019.

Os participantes incluídos no estudo tinham idade maior ou igual a 18 anos, eram novos diagnósticos e tinham realizado um teste de resistência aos antirretrovirais antes de começarem a terapia antirretroviral.

Os participantes foram recrutados pelos clínicos, com base nos critérios de inclusão apresentados em (45). No total, foram incluídos no estudo 265 imigrantes, o que corresponde a cerca de 15% dos novos casos de VIH em imigrantes, em Portugal entre 2014 e 2019 (16).

2.2. Recolha de dados

Os dados clínicos dos participantes foram disponibilizados pelos médicos que os seguiam.

Para recolha dos dados sociodemográficos e comportamentais foram aplicados questionários, desenhados pela equipa de investigação do projeto BESTHOPE, em articulação com algumas Organizações Não Governamentais (ONGs) e alguns indivíduos VIH-positivos. Estes questionários foram preenchidos pelos próprios participantes, havendo disponibilidade de pessoas com formação para aplicação dos questionários para ajudar sempre que necessário.

Os dados genómicos referentes às sequências da protease (PR) e da transcriptase reversa (RT) virais foram recolhidas no laboratório de cada hospital, resultantes da genotipagem

do primeiro teste de resistência, antes de iniciarem a terapia. Indivíduos com uma contagem de células T CD4+ < 350 células/μL foram considerados apresentadores tardios (LP) e indivíduos com uma contagem de células T CD4+ ≤ 200 células/μL foram considerados apresentadores tardios com doença avançada (LPAD) de acordo com a definição (Antinori, 2010) (46).

Os dados foram recolhidos todos de forma anónima e codificados, permitindo cumprir os requisitos éticos e legais.

2.3. Subtipagem do VIH-1

Através das sequências genómicas virais dos participantes, foram identificados os diferentes subtipos através de três algoritmos diferentes (REGA V.3.0 (47), Comet (48) e Scuel (49)). O subtipo foi o consenso entre os três algoritmos, ou em maioria (na ausência de consenso).

2.4. Análise da resistência aos antirretrovirais

Para avaliar a resistência a antirretrovirais, as sequências foram submetidas na “VIH Drug Resistance Database” (Stanford University, <http://VIHdb.stanford.edu>). Foi considerada TDR, quando havia a presença de pelo menos uma mutação de resistência de vigilância a antirretrovirais (SDRMs), de acordo com a lista de vigilância da OMS (2009) (50).

2.5. Identificação dos CTMs

A análise filogenética e identificação de clusters foram feitas apenas para os subtipos mais prevalentes na população em estudo, A, B, C, F1, G e as formas recombinantes circulantes também mais prevalentes, CRF02_AG e CRF14_BG. Isto resultou numa amostra com 206 indivíduos (dos 265 indivíduos no total). O subtipo G e a forma recombinante CRF14_BG foram agrupados, tal como em (35), uma vez que a região

genómica em estudo (que codifica a protease e parte da que codifica para a transcriptase reversa) tem a mesma origem evolutiva para as duas estirpes.

Foram criados seis conjuntos de dados apenas para os subtipos e CRFs em estudo mais prevalentes: subtipo A, CRF02_AG, B, C, F1, G (em conjunto com CRF14_BG).

Através da ferramenta “HIV BLAST Tool” da base de dados Los Alamos, <https://www.VIH.lanl.gov/content/index>, foram obtidas 2060 sequências controlo globais (incluindo sequências duplicadas). Os controlos são essenciais no alinhamento múltiplo de sequências, uma vez que nos fornecem um conjunto de sequências com relações conhecidas. Para cada sequência do nosso conjunto de dados (206 no total), foram obtidas as 10 sequências geneticamente mais semelhantes, de todo o conjunto de dados de Los Alamos.

Para cada subtipo, as sequências da base de dados do projeto BESTHOPE, foram alinhadas com os controlos extraídos da base de dados Los Alamos, usando a ferramenta, Virulign, uma ferramenta de alinhamento de múltiplas sequências na *open reading frame* (ORF) correta para grandes conjuntos de dados de sequências (51). Foi incluída a sequência HXB2 (2251-3251) no alinhamento para servir de referência. Esta é uma sequência padronizada e bem caracterizada que representa o gene da protease do VIH, necessária para manter as sequências de interesse na ORF correta no alinhamento. Foram também usadas quatro sequências referência do subtipo D, como grupo externo.

De seguida, as sequências duplicadas e com baixa qualidade foram removidas manualmente, usando o AliView. Apenas sequências com pelo menos 90% do tamanho do fragmento a analisar foram mantidas.

Para a análise de CTMs foram então usadas 107 sequências para o subtipo A (17 da base de dados do BESTHOPE e 90 controlos), 102 sequências para o subtipo CRF02_AG (40 da base de dados do BESTHOPE e 62 controlos), 379 sequências para o subtipo B (74 da base de dados do BESTHOPE e 305 controlos), 229 sequências para o subtipo C (30 da base de dados do BESTHOPE e 199 controlos), 89 sequências para o subtipo F1 (19 da base de dados do BESTHOPE e 70 controlos), 122 sequências para o subtipo G e CRF14_BG (26 da base de dados do BESTHOPE e 96 controlos), o que dá um total de 1028 sequências (206 da base de dados do BESTHOPE e 822 controlos).

As árvores filogenéticas de máxima verosimilhança (*Maximum-likelihood trees*, ML) foram construídas usando o FastTree. O suporte estatístico dos ramos da árvore foi avaliado, usando o teste Shimodaira-Hasegawa (teste SH) (52).

Os clusters foram identificados através da ferramenta ClusterPicker v1.332 (38). Os CTMs foram definidos como clados com elevado suporte de ramos ($\geq 0,90$ teste SH) e distância genética máxima aos pares inferior a 4.5%, entre todas as sequências presentes no cluster. Os clusters com 6 ou mais indivíduos foram considerados grandes clusters.

2.6. Análise estatística

Foi efetuada uma análise estatística das características sociodemográficas, dados clínicos, genômicos e comportamentais. Para as variáveis quantitativas contínuas foi calculada a mediana, uma vez que estas variáveis não seguiam a distribuição normal, e a respetivo intervalo interquartil (IQR). Para as variáveis qualitativas foram calculadas proporções. Esta análise foi efetuada para dados dos 265 indivíduos em estudo.

Para comparar as características entre o grupo de indivíduos em cluster e o grupo de indivíduos que não estão em cluster, foram usados os teste qui-quadrado ou o teste exato de Fisher (quando não eram cumpridos os pressupostos do teste qui-quadrado) para as proporções e o teste de Mann-Whitney's para comparar as medianas.

Posteriormente, foi feita uma análise univariada e multivariada, usando um modelo de regressão logística binomial. As variáveis com $p < 0.2$ no teste qui-quadrado foram incluídas na análise univariada. A análise multivariada incluiu as variáveis com $p < 0.2$ na análise univariada. Foram feitas duas multivariadas. Na primeira foram agrupadas as variáveis referentes aos dados sociodemográficos, clínicos e genômicos e na segunda os dados comportamentais. O nível de significância considerado foi igual a 5%. As análises estatísticas foram executadas com o software SPSS (v28.0.1.0).

2.7. Ética

O projeto BESTHOPE obteve a aprovação dos Comitês de Ética de todos os hospitais envolvidos no estudo. Os participantes do estudo deram o seu consentimento informado escrito e foram informados do seu direito de não participar no estudo e de poder desistir a qualquer momento. Foram usados códigos alfanuméricos para identificar os participantes, de forma a garantir a anonimização dos participantes incluídos no estudo. O projeto contou também com a autorização para o tratamento e proteção de dados atribuído pela Comissão Nacional de Proteção de Dados, que foram utilizados de acordo com os princípios da Declaração de Helsínquia, da Organização Mundial de Saúde e da Comunidade Europeia.

3. Resultados

3.1. População do estudo

3.1.1. Dados sociodemográficos

Dos 265 imigrantes incluídos no estudo a mediana das idades ao diagnóstico foi de 36.0 (IQR: 29-45) anos. As novas infeções ocorreram predominantemente em indivíduos entre 26 e 40 anos (46.7%). Nesta população, 66.8% dos indivíduos VIH-positivos eram do sexo masculino. A maioria dos imigrantes era de origem africana (apenas PALOPs), com uma proporção de 50.6%, incluindo guineenses (18.5%), angolanos (15.5%) e cabo-verdianos (10.2%), seguidos de indivíduos de origem brasileira com 39.6%. No geral, 78.7% da população reportou ter o português como língua materna. Em relação ao distrito de residência, a maioria vivia no distrito de Lisboa (64.4%), Faro (13.0%) e Setúbal (9.9%). Quanto ao nível de educação, 41.2% dos imigrantes reportaram ter estudado até ao 12º ano ou curso técnico, 29.7% o grau universitário e 25.8% até ao 9º ano (Tabela 1). A maioria dos indivíduos (56.8%) reportaram ser solteiros. Relativamente à situação profissional, 73.1% reportaram estar empregados (incluindo os 2 indivíduos que reportaram ser trabalhadores do sexo) e 50.3% reportaram ter rendimentos suficientes, enquanto 31.8% de indivíduos reportaram ter rendimentos insuficientes (Tabela 1).

3.1.2. Comportamento sexual e Infeções Sexualmente Transmissíveis (ISTs)

Na população estudada, a mediana da idade com que tiveram a primeira relação sexual foi de 17 (IQR: 14-18) anos. Como parceiros sexuais, 56.1% dos homens reportaram ter sexo com outros homens e 11.4% reportaram ter sexo com homens e mulheres. Em relação às mulheres, 100% reportaram ter sexo apenas com homens. Globalmente, 33.1% desta população reportou ser circuncisado (ou o equivalente para o sexo feminino), em que 86.8% eram homens (dados não mostrados). Cerca de 14.0% da população em estudo reporta ter sido vítima de sexo forçado pelo menos uma vez. 35.6% desta população

Resultados

reporta já ter feito tatuagens, 2.9% já ter partilhado material de injeção, 45.0% já ter feito procedimentos médicos invasivos e 14.3% já ter feito transfusões de sangue (Tabela 2).

Tabela 1: Características sociodemográficas da população de imigrantes estudada.

Característica	Total
Total, n (%)	265 (100%)
Sociodemográficos	
Mediana da idade no diagnóstico (IQR)	36 (IQR: 29-45)
18-25	45 (17,2%)
26-40	122 (46,7%)
41-55	73 (28,0%)
>55	21 (8,1%)
Sexo, n (%)	265
Masculino	177 (66,8%)
Feminino	88 (33,2%)
Origem, n (%)	265
África	134 (50,6%)
Guiné-Bissau	49 (18,5%)
Angola	41 (15,5%)
Cabo Verde	27 (10,2%)
Moçambique	8 (3%)
Outros	9 (3,4%)
América do Sul	109 (41,1%)
Brasil	105 (39,6%)
Outros	4 (1,5%)
Europa	18 (6,8%)
América Norte e Central	3 (1,1%)
Ásia	1 (0,4%)
Português como língua materna (%)	144 (78,7%)
Distrito de residência, n (%)	253
Lisboa	163 (64,4%)
Faro	33 (13,0%)
Setúbal	25 (9,9%)
Porto	18 (7,1%)
Beja	5 (2,0%)
Viseu	2 (0,8%)
Outros	32 (12,7%)

IQR: Intervalo Interquartil

Resultados

Característica	Total
Nível de educação, n (%)	182
Nenhum	6 (3,3%)
1º ao 9º ano	47 (25,8%)
12º ano ou curso técnico	75 (41,2%)
Grau universitário	54 (29,7%)
Estado Civil, n (%)	183
Solteiro	104 (56,8%)
Casado	57 (31,2%)
Divorciado	20 (10,9%)
Viúvo	2 (1,1%)
Situação profissional, n (%)	179
Empregados	129 (72,1%)
Trabalhadores do sexo	2 (1,1%)
Desempregado	32 (17,9%)
Estudante	11 (6,1%)
Reformado	5 (2,8%)
Rendimentos, n (%)	173
Muito insuficiente	23 (13,3%)
Insuficiente	55 (31,8%)
Suficiente	87 (50,3%)
Mais do que suficiente	8 (4,6%)

De entre os indivíduos que reportaram ter tido relações sexuais nos últimos 12 meses (178), 28.1% reportou ter tido sexo desprotegido (nunca usou preservativo) nesse intervalo de tempo, com um parceiro regular, 14.1% com um parceiro ocasional e 30.0% com trabalhadores do sexo. Também nos últimos 12 meses, 48.5% dos indivíduos reportou ter consumido álcool e 23.6% reportou ter consumido drogas ilícitas (Tabela 2).

A maioria dos indivíduos, 47.3% reporta pensar ter sido infetado entre 1-5 anos e 21.5% reporta pensar ter sido infetado entre 6-12 meses. Apenas 3.2% desta população reporta pensar ter sido infetado há menos de 4 semanas. Quando se questionou acerca do possível local onde foram infetados, 63.9% reportou pensar ter sido infetado em Portugal. Relativamente à via de transmissão mais provável, 96% dos indivíduos reportam terem sido infetados por transmissão sexual (Tabela 2).

Resultados

Tabela 2: Dados relativos ao comportamento sexual e IST's da população de imigrantes estudada.

Comportamento sexual e IST's	
Circuncisado, n (%)	41 (33,1%)
Mediana da idade da primeira relação sexual (IQR)	17 (14-18)
Parceiros sexuais dos homens, n (%)	123
Homens	69 (56,1%)
Mulheres	40 (32,5%)
Homens e Mulheres	14 (11,4%)
Parceiros sexuais das mulheres, n (%)	54
Homens	54 (100%)
Mulheres	0
Sexo forçado, n (%)	179
Não	154 (86,0%)
Pelo menos uma vez	25 (14,0%)
Comportamentos de risco, n (%)	
Tatuagens	52 (35,6%)
Partilha de material injetado	4 (2,9%)
Procedimento médico invasivo	68 (45,0%)
Transfusões de sangue	20 (14,3%)
Consumo de droga (nos últimos 12 meses), n (%)	
Álcool	65 (48,5%)
Drogas ilícitas	33 (23,6%)
Sexo com preservativo (nos últimos 12 meses), n (%)	
Parceiro regular	121
Sempre	52 (43,0%)
Nunca	34 (28,1%)
Às vezes	35 (28,9%)
Parceiro ocasional	64
Sempre	32 (50,0%)
Nunca	9 (14,1%)
Às vezes	23 (35,9%)
Trabalhadores do sexo	20
Sempre	11 (55,0%)
Nunca	6 (30,0%)
Às vezes	3 (15,0%)

IST: Infecção Sexualmente Transmissível; IQR: Intervalo Interquartil

Resultados

Comportamento sexual e IST's	
Teve parceiro VIH positivo, n (%)	43 (68,3%)
Teve Hepatite B, n (%)	14 (45,2%)
Teve Hepatite C, n (%)	3 (13,0%)
Teve IST, n (%)	64 (25,50%)
Momento da infeção por VIH, n (%)	93
<4 semanas	3 (3,2%)
1-6 meses	18 (19,4%)
6-12 meses	20 (21,5%)
1-5 anos	44 (47,3%)
>5 anos	8 (8,6%)
Região da infeção por VIH, n (%)	144
Portugal	92 (63,9%)
África	28 (19,4%)
Brasil	16 (11,1%)
Europa	2 (1,4%)
Outro	6 (4,2%)
Tipo de parceiro que o infetou, n (%)	103
Regular	50 (48,5%)
Ocasional	52 (50,5%)
Trabalhador do sexo	1 (1,0%)
Parceiro VIH+ que o infetou em TARV, n (%)	4 (10,0%)

IST: Infeção Sexualmente Transmissível; TARV: Terapia Antirretroviral

Dos indivíduos que conheciam o estado serológico do(s) parceiro(s), 68.3% reportaram ter tido parceiro(s) VIH-positivos e 10% desses indivíduos reportaram que o parceiro sexual que os infetou dizia estar a tomar medicação antirretroviral. Dos 31 indivíduos que responderam à pergunta “Alguma vez teve Hepatite B?”, 14 (45.2%) reportaram ter tido a doença e dos 23 indivíduos que responderam à pergunta “Alguma vez teve Hepatite C?”, apenas 3 (13.0%) reportaram ter tido a doença. A proporção de população que já teve pelo menos uma IST, sem ser VIH, foi de 25.5% (Tabela 2).

3.1.3. Informação clínica

A mediana da contagem de T CD4+ nesta população ao diagnóstico foi de 329 células/ μ L (IQR: 158.75-505) (Tabela 3).

Em relação à carga viral na altura do diagnóstico, 20.6% dos indivíduos apresentaram $\leq 4.0 \log_{10}$ cópias/mL virais, 30.4% apresentaram 4.0 a 5.0 $\log_{10}$ cópias/mL virais e 49.0% apresentaram $\geq 5.0 \log_{10}$ cópias/mL virais (Tabela 3).

De toda a população, 55.0% foram classificados como apresentadores tardios (T CD4+<350 células/ μ L) e desses 57.0% (T CD4+ $\leq$ 200 células/ μ L) como apresentadores tardios com doença avançada (Tabela 3).

No geral, em 59.3% a via de transmissão foi a heterossexual, 38.8% MSM e 0.8% utilizadores de droga injetável (UDIs) (Tabela 3).

Tabela 3: Informação clínica da população de imigrantes estudada.

Informação clínica	
Mediana contagem CD4, células/μL (IQR; Intervalo)	329 (158,75-505) (0,0-1140,0)
≤ 50	28 (10,9%)
51-200	53 (20,5%)
201-350	61 (23,6%)
351-500	50 (19,4%)
>500	66 (25,6%)
Status de seroconversão, n (%)	258
NLP	116 (45,0%)
LP	142 (55,0%)
Mediana carga viral, $\log_{10}$ cópias/mL (IQR; Intervalo)	4,9 (4,2-5,4) (0,0-7,7)
$\leq 4,0$	52 (20,6%)
4,0 - 5,0	77 (30,4%)
$\geq 5,0$	124 (49,0%)
Via de transmissão, n (%)	263
Heterossexual	156 (59,3%)
MSM	102 (38,8%)
UDIs	2 (0,8%)
Outra	3 (1,1%)

IQR: Intervalo Interquartil; NLP: *Non-Late Presenters*; MSM: *Men who have sex with men*; UDI: Utilizadores de Droga Injetável

3.1.4. Genômica viral

Em relação à análise de subtipos, verificou-se que os subtipos mais predominantes na população imigrante em estudo, foram o B, com uma proporção de 31.5%, seguido da forma recombinante circulante CRF02_AG, com 17.0% das infecções e o subtipo C, com 12.8% das infecções. As outras formas recombinantes corresponderam a 11.5% das infecções, o subtipo G a 8.5%, o subtipo F1 a 8.1%, o subtipo A1 a 7.2%, a forma recombinante circulante CRF14_BG a 2.6% e o subtipo D e H com 0.4% cada (Tabela 4). Entre os subtipos mais prevalentes, o subtipo B está mais presente em imigrantes de origem brasileira (71.6%) e a forma recombinante circulante CRF02_AG e o subtipo C estão mais presentes em imigrantes provenientes de países africanos (97.5% e 56.7%, respectivamente) (dados não mostrados na tabela). Analisando a distribuição dos subtipos nas duas principais regiões de origem, nos imigrantes provenientes da América do Sul, 67.1% dos casos correspondiam ao subtipo B, 12.7% ao subtipo C e 11.4% ao subtipo F1. Nos imigrantes de origem africana, os subtipos estão mais distribuídos, 37.5% dos casos correspondem à forma recombinante circulante CRF02_AG, 16.4% ao subtipo C e 14.4% ao subtipo G (Figura 5).

No geral, a prevalência de TDR nesta população foi de 10.2% (IC 95%: 6.3-14.1%). A maioria dos indivíduos com TDR apresentavam mutações de resistência a apenas uma classe de antirretrovirais, com uma proporção de 8.1% (Tabela 4).

Foram identificadas mutações aos PI em 2.1% dos indivíduos, mutações aos NRTI em 4.3% dos indivíduos e mutações aos NNRTI em 6.4% dos indivíduos (Tabela 4).

Por subtipos, a maior prevalência de TDR foi no subtipo A1 (23.5%) e a menor prevalência no subtipo CRF02_AG (5.0%) (Tabela 4).

Resultados

Tabela 4: Subtipos e prevalência de TDR na população de imigrantes estudada.

Genômica viral	
Subtipos, n (%)	235
B	74 (31,5%)
Não B	161 (68,5%)
Distribuição dos subtipos, n (%)	235
B	74 (31,5%)
C	30 (12,8%)
G	20 (8,5%)
A1	17 (7,2%)
D	1 (0,4%)
F1	19 (8,1%)
H	1 (0,4%)
CRF02_AG	40 (17,0%)
CRF14_BG	6 (2,6%)
Recombinantes	27 (11,5%)
Prevalência da TDR, n (%)	24 (10,2%)
Mutações de resistência por classe, n (%)	235
PI	5 (2,1%)
NRTI	10 (4,3%)
NNRTI	15 (6,4%)
1 classe	19 (8,1%)
2 classes (NRTI + NNRTI)	4 (1,7%)
3 classes	1 (0,4%)
Prevalência da TDR por subtipos, n (%)	
B	8 (10,8%)
C	4 (13,3%)
G	3 (15,0%)
A1	4 (23,5%)
F1	2 (10,5%)
CRF02_AG	2 (5,0%)
CRF14_BG	0

TDR: *Transmitted Drug Resistance*; PI: *Protease Inhibitor*; NRTI: *Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor*; NNRTI: *Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor*

Resultados

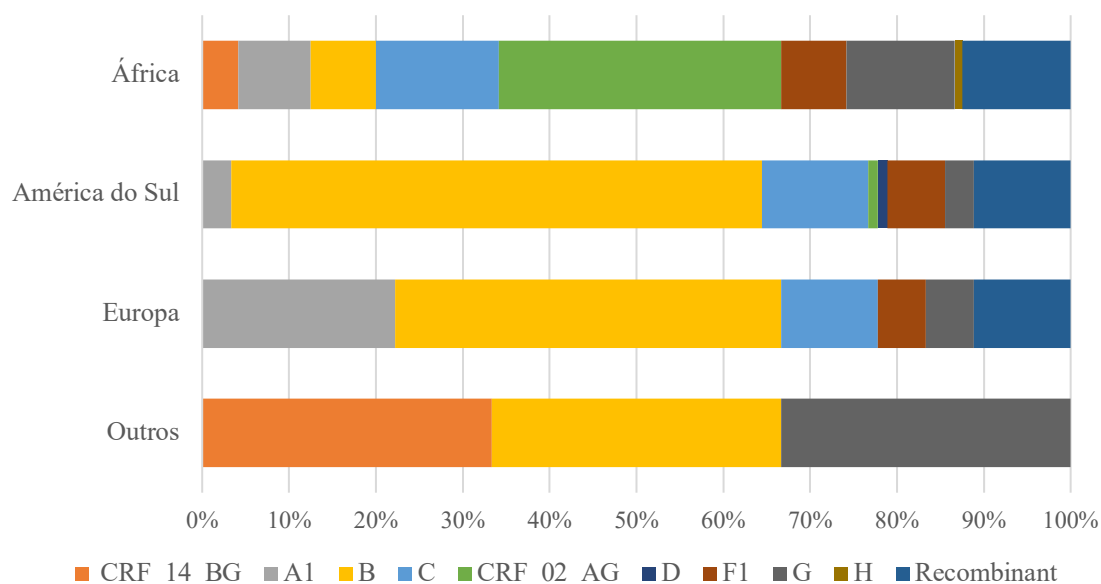


Figura 5: Distribuição dos subtipos estratificada pela região de origem do imigrante na população estudada.

3.2. Identificação dos CTMs

Com base na análise filogenética das sequências parciais do gene *pol* (PR+RT), os CTMs foram definidos com suporte estatístico de ramos $\geq 90\%$ e uma distância genética máxima de 4.5% para os subtipos A, CRF02_AG, B, C, F1, G e CRF14_BG (Anexo 1 a 6), onde os dois últimos foram agrupados, como explicado anteriormente nos métodos. Antes da definição final de cluster, foram efetuadas análises com suporte estatístico 0.90 e diferentes distâncias genéticas (1.5%; 3.0%; 4.5% e 6.0%) e com suporte estatístico 0.99 e distância genética 10.0% (Tabela 5).

Para a identificação dos clusters de transmissão (CTMs) foi necessário definir critérios, os quais dependem da questão de investigação em análise, pelo qual, neste caso, foram tidas em conta as seguintes considerações. Se apenas fosse definido um suporte estatístico elevado (0.99), desconsiderando a distância genética (fixando-a em 10%, por exemplo), o número de indivíduos em cluster seria sobrestimado, pois poderiam ser agrupados indivíduos com base numa origem comum (ligados por um vírus ancestral) sem que houvesse um evento de transmissão real entre eles. Por outro lado, ao optar por uma

Resultados

distância genética menor (1.5%, 3.0% ou 4.5%) em conjunto com um suporte estatístico de ramos mais baixo (<0.90), o número de indivíduos em cluster seria subestimado. Isso acontece porque sequências de indivíduos, ainda que relacionadas por um evento de transmissão direta, poderiam apresentar diferenças significativas devido ao intervalo de tempo entre a recolha de amostras. Ainda assim, optou-se por subestimar o valor, usando uma distância menor que 10% de forma a não incluir falsos positivos na análise e um suporte de ramos relativamente baixo (0.90). Na escolha da distância genética, não se optou por uma distância muito maior (6.0%) pois o período de tempo a estudar não o justificava, bem como o facto de serem todos indivíduos com diagnóstico recente.

Foram identificados 148 clusters a partir de todas as sequências analisadas (controlo e do projeto BESTHOPE). Apenas 68 participantes do estudo, ou seja 33.0% das 206 amostras analisadas estavam incluídos nos clusters identificados. O tamanho médio dos clusters foi de 3.1 indivíduos, com um mínimo de 2 indivíduos (88 clusters) e um máximo de 16 (1 cluster). Foram identificados 14 grandes clusters (tamanho superior a 6) (Tabela 6).

Tabela 5: Número de indivíduos em *cluster* em cada subtipo para cada par de suporte estatístico (SH) e distância genética.

SH	0,90			0,99		
Distância genética		1,5%	3,0%	4,5%	6,0%	10,0%
	Total	Cluster	Cluster	Cluster	Cluster	Cluster
B	74	11	23	31	43	40
C	30	3	5	9	17	19
G+CRF14_BG	26	6	6	12	16	23
A	17	3	5	5	6	16
F1	19	4	4	7	12	8
CRF02_AG	40	0	0	4	11	28

Tabela 6: Caracterização dos clusters identificados (por subtipos e no total).

	A	CRF02_AG	B	C	F1	G+CRF14_BG	total
Nº clusters	15	15	58	31	10	19	148
Tamanho médio clusters	2,9	3,3	3,2	2,9	3,7	2,7	3,1
Nº de clusters com tamanho mínimo (2)	11	10	32	18	5	12	88
Tamanho máximo dos clusters	9	16	13	7	11	8	16
Nº de grandes clusters (6)	1	1	7	3	1	1	14

A análise de proporções e do teste qui-quadrado (ou o teste exato de Fisher) revelou diferenças significativas em várias variáveis entre os imigrantes presentes em clusters e aqueles não pertencentes a nenhum cluster. No que diz respeito ao sexo, 80.9% dos indivíduos em cluster eram homens, em comparação com 61.6% de homens entre os indivíduos que não estavam em clusters ($p=0.005$). Da mesma forma, foram observadas diferenças significativas na região de origem, com 60.3% imigrantes de origem brasileira dos indivíduos em cluster, enquanto apenas 27.5% dos imigrantes não pertencentes a clusters eram brasileiros ($p<0.001$) (Tabela 7).

Verificou-se também que as proporções de LP foram significativamente diferentes nos indivíduos em cluster (42.6%) e nos indivíduos não agrupados em CTMs (63.4%) ($p=0.005$). Quanto aos subtipos, grande parte dos indivíduos em cluster pertencia ao subtipo B (45.6%), comparativamente a 31.2% de casos de subtipo B em indivíduos não associados a clusters ($p=0.019$). Também na via de transmissão se verificaram diferenças significativas (60.3% dos indivíduos em cluster vs. 25.7% dos indivíduos não agrupados em clusters eram MSM, $p<0.001$) (Tabela 8).

Quanto aos dados comportamentais, foram também observadas diferenças nas proporções para a variável “Consumo de álcool nos últimos 12 meses” (62.2% dos indivíduos em cluster vs. 40.7% dos indivíduos não agrupados em clusters, $p=0.040$), ISTs (47.6% dos indivíduos em cluster vs. 23.8% dos indivíduos não agrupados em clusters já tiveram alguma IST, $p=0.011$), e por fim Região de infecção reportada (73.8% dos indivíduos em

Resultados

cluster vs. 58.3% dos indivíduos não agrupados em clusters reportam ter sido infectados em Portugal, $p=0.016$) (Tabela 9).

Tabela 7: Características sociodemográficas dos imigrantes em *Cluster* vs fora de *Cluster*.

Característica	Total	Cluster	Não cluster	valor p
Total, n (%)	206	68	138	
Sociodemográficos				
Mediana da idade no diagnóstico (IQR)	36 (IQR: 29-45)	35 (IQR: 28-43)	36 (IQR:29-46)	0,307
18-25	31 (15,2%)	11 (16,4%)	20 (14,6%)	0,941
26-40	97 (47,5%)	33 (49,3%)	64 (46,7%)	
41-55	60 (29,4%)	18 (26,9%)	42 (30,7%)	
>55	16 (7,8%)	5 (7,5%)	11 (8,0%)	
Sexo, n (%)	206	68	138	0,005
Masculino	140 (68,0%)	55 (80,9%)	85 (61,6%)	
Feminino	66 (32,0%)	13 (19,1%)	53 (38,4%)	
País de origem, n (%)	206	68	138	<0,001
Brasil	79 (38,3%)	41 (60,3%)	38 (27,5%)	
Guiné-Bissau	41 (19,9%)	3 (4,4%)	38 (27,5%)	
Angola	28 (13,6%)	4 (5,9%)	24 (17,4%)	
Cabo Verde	21 (10,2%)	8 (11,8%)	13 (9,4%)	
Moçambique	8 (3,9%)	0	8 (5,8%)	
Outros	29 (14,1%)	12 (17,6%)	17 (12,3%)	
Região de origem, n (%)	206	68	138	<0,001
África	104 (50,5%)	17 (25,0%)	87 (63,0%)	
América do Sul	79 (38,3%)	42 (61,8%)	41 (29,7%)	
Europa	14 (6,8%)	6 (8,8%)	10 (7,2%)	
Outros	4 (1,9%)	3 (4,4%)	0	
Português como língua materna (%)	100 (76,9%)	38 (82,6%)	62 (73,8%)	0,255
Distrito de residência, n (%)	196	64	132	0,052
Lisboa	123 (62,8%)	34 (53,2%)	89 (67,4%)	
Faro	26 (13,3%)	15 (23,4%)	11 (8,3%)	
Setúbal	23 (11,7%)	9 (14,1%)	14 (10,6%)	
Porto	15 (7,7%)	5 (7,8%)	10 (7,6%)	
Beja	4 (2,0%)	0	4 (3,0%)	
Viseu	1 (0,5%)	0	1 (0,8%)	
Outros	4 (2,0%)	1 (1,6%)	3 (2,3%)	

IQR: Intervalo Interquartil

Resultados

Característica	Total	Cluster	Não cluster	valor p
Nível de educação, n (%)	130	46	84	0,073
Nenhum	3 (2,3%)	0	3 (3,6%)	
1º ao 9º ano	38 (29,2%)	8 (17,4%)	30 (35,7%)	
12º ano ou curso técnico	54 (41,5%)	22 (47,8%)	32 (38,1%)	
Grau universitário	35 (26,9%)	16 (34,8%)	19 (22,6%)	
Estado Civil, n (%)	131	46	85	0,723
Solteiro	76 (58,0%)	26 (56,5%)	50 (58,8%)	
Casado	42 (32,1%)	15 (32,6%)	27 (31,8%)	
Divorciado	12 (9,2%)	4 (8,7%)	8 (9,4%)	
Viúvo	1 (0,8%)	1 (2,2%)	0	
Situação profissional, n (%)	126	46	80	0,652
Empregados	95 (75,4%)	38 (82,6%)	57 (71,3%)	
Trabalhadores do sexo	1 (0,8%)	0	1 (1,3%)	
Desempregado	18 (14,3%)	4 (8,7%)	14 (17,5%)	
Estudante	8 (6,3%)	3 (6,5%)	5 (6,3%)	
Reformado	4 (3,2%)	1 (2,2%)	3 (3,8%)	
Rendimentos, n (%)	122	45	77	0,114
Muito insuficiente	12 (9,8%)	2 (4,4%)	10 (13,0%)	
Insuficiente	48 (39,3%)	14 (31,1%)	34 (44,2%)	
Suficiente	54 (44,3%)	25 (55,6%)	29 (37,7%)	
Mais do que suficiente	8 (6,6%)	4 (8,9%)	4 (5,2%)	

Tabela 8: Informação clínica e subtipos dos imigrantes em *Cluster* vs fora de *Cluster*.

Característica	Total	Cluster	Não cluster	valor p
Informação clínica				
Mediana contagem CD4, células/ μ L (IQR; amplitude)	321 (141-483) (3,0-1140,0)	387 (221,25-568,75) (24,0-1134,0)	257 (114-453) (3,0-1140,0)	<0,001
≤50	20 (10,1%)	3 (4,4%)	17 (13,0%)	0,031
51-200	47 (23,6%)	11 (16,2%)	36 (27,5%)	
201-350	46 (23,1%)	15 (22,1%)	31 (23,7%)	
351-500	39 (19,6%)	17 (25,0%)	106 (16,8%)	
>500	47 (23,6%)	22 (32,4%)	25 (19,1%)	
Status de seroconversão, n (%)	199	68	131	0,005
NLP	87 (43,7%)	39 (57,4%)	48 (36,6%)	
LP	112 (56,3%)	29 (42,6%)	83 (63,4%)	
Mediana carga viral, log10 cópias/mL (IQR; amplitude)	5,0 (4,35-5,50) (0,0-7,0)	4,8 (4,4-5,4) (0,0-7,0)	5,1 (4,3-5,5) (1,6-7,0)	0,665
≤ 4,0	37 (18,8%)	14 (20,6%)	23 (17,8%)	0,277
4,0 - 5,0	58 (29,4%)	24 (35,3%)	34 (26,4%)	
≥ 5,0	102 (51,8%)	30 (44,1%)	72 (55,8%)	
Via de transmissão, n (%)	204	68	136	<0,001
Heterossexual	123 (60,3%)	26 (38,2%)	97 (71,3%)	
MSM	76 (37,3%)	41 (60,3%)	35 (25,7%)	
UDIs	2 (1,0%)	1 (1,5%)	1 (0,7%)	
Outra	3 (1,5%)	0	3 (2,2%)	
Genômica viral				
Subtipos, n (%)	206	68	138	0,042
B	74 (35,9%)	31 (45,6%)	43 (31,2%)	
Não B	132 (64,1%)	37 (54,4%)	95 (68,8%)	
Distribuição dos subtipos, n (%)	206	68	138	0,019
B	74 (35,9%)	31 (45,6%)	43 (31,2%)	
C	30 (14,6%)	9 (13,2%)	21 (15,2%)	
G	20 (9,7%)	10 (14,7%)	10 (7,2%)	
A1	17 (8,3%)	5 (7,4%)	12 (8,7%)	
D	0	0	0	
F1	19 (9,2%)	7 (10,3%)	12 (8,7%)	
H	0	0	0	
CRF02_AG	40 (19,4%)	4 (5,9%)	36 (26,1%)	
CRF14_BG	6 (2,9%)	2 (2,9%)	4 (2,9%)	
Recombinantes	0	0	0	

IQR: Intervalo Interquartil; NLP: *Non-Late Presenters*; MSM: *Men who have sex with men*; UDI: Utilizadores de Droga Injetável

Resultados

Característica	Total	Cluster	Não cluster	valor p
Prevalência TDR, n (%)	23 (11,2%)	6 (8,8%)	17 (12,3%)	0,454
Mutações de resistência, n (%)	206	68	138	
PI	4 (1,9%)	2 (2,9%)	2 (1,4%)	0,600
NRTI	9 (4,4%)	2 (2,9%)	7 (5,1%)	0,721
NNRTI	14 (6,8%)	4 (5,9%)	10 (7,2%)	1,000
1 classe	19 (9,2%)	4 (5,9%)	15 (10,9%)	0,245
2 classes (NRTI+NNRTI)	4 (1,9%)	2 (2,9%)	2 (1,4%)	0,600
3 classes	0	0	0	
Prevalência TDR por subtipos, n (%)				
B	8 (10,8%)	0	8 (18,6%)	0,018
C	4 (13,3%)	1 (11,1%)	3 (14,3%)	1,000
G	3 (15,0%)	2 (20,0%)	1 (10,0%)	1,000
A1	4 (23,5%)	3 (60,0%)	1 (8,3%)	0,053
F1	2 (10,5%)	0	2 (16,7%)	0,509
CRF02_AG	2 (5,0%)	0	2 (5,6%)	1,000
CRF14_BG	0	0	0	0,000

TDR: Transmitted Drug Resistance; PI: Protease Inhibitor; NRTI: Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor; NNRTI: Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor

3.3. Fatores associados a pertencer a um cluster

3.3.1. Fatores sociodemográficos e clínicos

Através da análise univariada, foi observado que indivíduos do sexo masculino tiveram maior probabilidade de pertencer a clusters (OR=2.64, IC95%: 1.32 -5.29, p=0.006) e indivíduos provenientes da América do Sul (OR=5.24, IC95%: 2.67-10.29, p<0.001) tiveram maior probabilidade de pertencer a cluster comparativamente a indivíduos originários de África. Imigrantes residentes em Faro tiveram também maior probabilidade de pertencer a clusters quando comparados com imigrantes residentes em Lisboa (OR= 3.57, IC95%: 1.49-8.54, p=0.004), bem como indivíduos com o grau universitário quando comparados com indivíduos com o nível de educação mais baixo (1º ao 9º ano) (OR=3.16, IC95%: 1.12-8.80, p=0.028). Quanto à via de transmissão, os MSM tiveram maior probabilidade de pertencer a clusters, comparativamente à via heterossexual (OR= 4.37, IC95%: 2.34-8.17, p<0.001). Relativamente aos dados clínicos, os indivíduos infetados

Resultados

com o subtipo B tiveram maior probabilidade de se encontrarem em clusters (OR= 1.85, IC95%: 1.02-3.37, $p=0.044$), comparativamente a indivíduos infectados por subtipos não-B, enquanto que os indivíduos com apresentação tardia ($T\ CD4^+ < 350$ células/ μL) tiveram menor probabilidade de pertencer a clusters (OR= 0.43, IC95%: 0.24-0.78, $p=0.006$). Relativamente ao comportamento sexual, tiveram mais probabilidade de se encontrar em cluster homens com parceiros sexuais homens (OR=5.82, IC95%: 1.96-17.28, $p=0.001$) ou com parceiros sexuais homens e mulheres (OR: 31.50, IC95%: 3.24-306.24, $p=0.003$) comparativamente com homens com parceiros sexuais homens; indivíduos que consumiram álcool nos últimos 12 meses (OR=2.40, IC95%: 1.03-5.37, $p=0.042$) em relação aos que não consumiram; indivíduos que nunca usaram preservativo (nos últimos 12 meses) com um parceiro regular (OR=4.40, IC95%: 1.36-14.26, $p=0.014$), comparativamente a indivíduos que usaram sempre preservativo nesse intervalo de tempo com um parceiro regular e quem reportou já ter tido alguma IST (OR=2.91, IC95%: 1.26-6.73, $p=0.013$) em relação aos que nunca tiveram. Por sua vez, indivíduos que reportam ter sido infectados em África tiveram menor probabilidade de se encontrar em cluster, comparativamente a indivíduos que reportam ter sido infectados em Portugal (OR=0.13, IC95%: 0.03-0.62, $p=0.010$) (Tabela 10).

Foi feita uma análise multivariada, onde foram incluídas as variáveis referentes aos dados sociodemográficos e informação clínica com $p < 0.2$ obtido na análise univariada, em conjunto com a variável Idade, como mostrado na Tabela 10.

De acordo com regressão logística, os fatores sociodemográficos e clínicos associados à clusterização foram a região de origem, a via de transmissão e o subtipo. Observou-se que indivíduos com origem na América do Sul (maioria brasileiros) tinham maior probabilidade de estar em cluster (OR=14.85, IC95%: 1.52-144.79, $p=0.020$), comparativamente a indivíduos com origem em África. Os MSM tiveram maior probabilidade de estar em cluster (OR=23.52, IC95%: 2.35-235.10, $p=0.007$), relativamente à via de transmissão heterossexual. Verificou-se também que indivíduos infectados com o subtipo B têm menor probabilidade (OR=0.017, IC95%: 0.001-0.254, $p=0.003$) de se encontrar em cluster quando comparados com indivíduos infectados com subtipos não-B. Mais especificamente, os indivíduos infectados com o subtipo F1 apresentaram menor probabilidade de se encontrarem em cluster (OR=0.026, IC95%:

Resultados

0.002-0.444, $p=0.012$), quando comparados com indivíduos infetados com o subtipo B (Tabela 10).

Tabela 9: Comportamento sexual e IST's da população imigrante incluída no estudo, em *Cluster* e Não *Cluster*.

Característica	Total	Cluster	Não cluster	valor p
Comportamento sexual e IST's				
Circuncisado, n (%)	29 (33,0%)	11 (28,9%)	18 (36,0%)	0,486
Mediana da idade da primeira relação sexual (IQR)	16 (14-18)	16 (14-18)	17 (14-18)	0,290
Parceiros sexuais dos homens, n (%)	80	35	45	<0,001
Homens	39 (48,8%)	22 (62,9%)	17 (37,8%)	
Mulheres	33 (41,3%)	6 (17,1%)	27 (60,0%)	
Homens e Mulheres	8 (10,0%)	7 (20,0%)	1 (2,2%)	
Parceiros sexuais das mulheres, n (%)	46	9	37	
Homens	46 (100%)	9 (100%)	37 (100%)	
Mulheres	0	0	0	
Sexo forçado, n (%)	127	46	81	0,932
Não	110 (86,6%)	40 (87,0%)	70 (86,4%)	
Pelo menos uma vez	17 (13,4%)	6 (13,0%)	11 (13,6%)	
Comportamentos de risco, n (%)				
Tatuagens	37 (34,9%)	18 (46,1%)	19 (28,4%)	0,064
Partilha de material injetado	4 (3,9%)	0	4 (5,9%)	0,297
Procedimento médico invasivo	51 (46,4%)	22 (56,4%)	29 (40,8%)	0,117
Transfusões de sangue	13 (12,7%)	5 (13,5%)	8 (12,3%)	1,000
Consumo de droga (nos últimos 12 meses), n (%)				
Álcool	47 (49,0%)	23 (62,2%)	24 (40,7%)	0,040
Drogas ilícitas	25 (26,0%)	13 (35,1%)	12 (20,3%)	0,108

IST: Infecção Sexualmente Transmissível; IQR: Intervalo Interquartil

Resultados

Característica	Total	Cluster	Não cluster	valor p
Sexo com preservativo (nos últimos 12 meses), n (%)				
Parceiro regular	75	33	42	0,037
Sempre	32 (42,7%)	10 (30,3%)	22 (52,4%)	
Nunca	21 (28,0%)	14 (42,4%)	7 (16,7%)	
Às vezes	22 (29,3%)	9 (27,3%)	13 (31,0%)	
Parceiro ocasional	37	16	21	0,897
Sempre	20 (54,1%)	8 (50,0%)	12 (57,1%)	
Nunca	5 (13,5%)	2 (12,5%)	3 (14,3%)	
Às vezes	12 (32,4%)	6 (37,5%)	6 (28,6%)	
Trabalhadores do sexo	11	5	6	0,221
Sempre	3 (27,3%)	0	3 (50,0%)	
Nunca	6 (54,5%)	4 (80,0%)	2 (33,3%)	
Às vezes	2 (18,2%)	1 (20,0%)	1 (16,7%)	
Teve parceiro VIH positivo, n (%)	28 (68,3%)	13 (76,5%)	15 (62,5%)	0,344
Teve Hepatite B, n (%)	9 (39,1%)	1 (20,0%)	8 (44,4%)	0,611
Teve Hepatite C, n (%)	2 (11,1%)	1 (25,0%)	1 (7,1%)	0,405
Teve IST, n (%)	35 (33,3%)	20 (47,6%)	15 (23,8%)	0,011
Momento da infeção por VIH, n (%)	61	30	31	0,741
<4 semanas	3 (4,9%)	1 (3,3%)	2 (6,5%)	
1-6 meses	13 (21,3%)	8 (26,7%)	5 (16,1%)	
6-12 meses	12 (19,7%)	5 (16,7%)	7 (22,6%)	
1-5 anos	27 (44,3%)	14 (46,7%)	13 (41,9%)	
>5 anos	6 (9,8%)	2 (6,7%)	4 (12,9%)	
Região da infeção por VIH, n (%)	102	42	60	0,016
Portugal	66 (64,7%)	31 (73,8%)	35 (58,3%)	
África	19 (18,6%)	2 (4,8%)	17 (28,3%)	
Brasil	12 (11,8%)	6 (14,3%)	6 (10,0%)	
Europa	2 (2,0%)	1 (2,4%)	1 (1,7%)	
Outro	3 (2,9%)	2 (4,8%)	1 (1,7%)	
Tipo de parceiro que o infetou, n (%)	66	31	35	0,459
Regular	33 (50,0%)	14 (45,2%)	19 (54,3%)	
Ocasional	33 (50,0%)	17 (54,8%)	16 (45,7%)	
Trabalhador do sexo	0	0	0	
Parceiro VIH+ que o infetou em TARV, n (%)	5 (5,9%)	3 (8,3%)	2 (4,1%)	0,352

IST: Infeção Sexualmente Transmissível; TARV: Terapia Antirretroviral.

3.3.2. Fatores comportamentais

Foi feita também uma análise multivariada que incluiu as variáveis referentes aos dados comportamentais com $p < 0.2$ obtido através da análise univariada, como mostrado na tabela 10. Aqui, não se verificou significância estatística na correlação entre clusterização e as variáveis incluídas nesta multivariada (Parceiros sexuais dos homens; Tatuagens; Procedimentos médicos invasivos; Consumo de álcool; Consumo de drogas; Sexo com preservativo com parceiro regular; IST's; Região de infecção percebida).

Resultados

Tabela 10: Resultados da regressão logística univariada e multivariada.

Característica	Univariada		Multivariada	
	valor p	OR (95% IC)	valor p	OR (95% IC)
Sociodemográficos e informação clínica				
Mediana da idade no diagnóstico (IQR)				
18-25		1		1
26-40	0,88	0,94 (0,40-2,19)	0,094	6,20 (0,73-52,51)
41-55	0,6	0,78 (0,31-1,96)	0,067	11,06 (0,85-144,50)
>55	0,77	0,83 (0,23-3,00)	0,119	19,55 (0,46-824,20)
Sexo, n (%)				
Masculino	0,006	2,64 (1,32-5,29)	0,854	1,16 (0,23-5,86)
Feminino		1		1
País de origem, n (%)				
Brasil		1	_____	_____
Guiné-Bissau	<0,001	0,07 (0,02-0,26)	_____	_____
Angola	0,001	0,15 (0,05-0,49)	_____	_____
Cabo Verde	0,264	0,57 (0,21-1,53)	_____	_____
Moçambique	0,999	0	_____	_____
Outros	0,334	0,65 (0,28-1,55)	_____	_____
Região de origem, n (%)				
África		1		1
América do Sul	<0,001	5,24 (2,67-10,29)	0,020	14,85 (1,52-144,79)
Europa	0,053	3,07 (0,98-9,58)	0,296	5,34 (0,23-123,62)
Outros	0,999	**	0,999	**
Distrito de residência, n (%)				
Lisboa		1		1
Faro	0,004	3,57 (1,49-8,54)	0,545	1,88 (0,24-14,49)
Setúbal	0,271	1,68 (0,67-4,25)	0,379	2,36 (0,35-15,90)
Porto	0,645	1,31 (0,42-4,11)	0,087	0,138 (0,014-1,333)
Beja	0,999	0	1,000	0
Outros	0,907	0,87 (0,09-8,68)	0,793	1,55 (0,06-39,90)

OR: Odds Ratio; IC: Intervalo de Confiança; IQR: Intervalo Interquartil; * resultado omitido no SPSS; ** valor >10⁴

Resultados

Característica	Univariada		Multivariada	
	valor p	OR (95% IC)	valor p	OR (95% IC)
Nível de educação, n (%)				
Nenhum	0,999	0	0,999	0
1º ao 9º ano		1		1
12º ano ou curso técnico	0,051	2,58 (1,00-6,67)	0,932	1,08 (0,18-6,56)
Grau universitário	0,028	3,16 (1,12-8,80)	0,293	0,306 (0,034-2,785)
Rendimentos, n (%)				
Muito insuficiente	0,388	0,486 (0,09-2,51)	0,556	0,47 (0,04-5,73)
Insuficiente		1		1
Suficiente	0,078	2,10 (0,92-4,76)	0,978	1,02 (0,21-5,04)
Mais do que suficiente	0,252	2,43 (0,53-11,10)	0,681	1,80 (0,11-29,64)
Via de transmissão, n (%)				
Heterossexual		1		1
MSM	<0,001	4,37 (2,34-8,17)	0,007	23,52 (2,35-235,10)
UDIs	0,358	3,73 (0,23-61,68)	1,000	1,38 (0)
Outra	0,999	0	0,999	0
Contagem CD4, células/μL (IQR; amplitude)				
≤ 50		1	_____	_____
51-200	0,442	1,73 (0,43-7,03)	_____	_____
201-350	0,15	2,74 (0,69-10,83)	_____	_____
351-500	0,036	4,38 (1,10-17,42)	_____	_____
>500	0,02	4,99 (1,29-19,32)	_____	_____
Status de seroconversão, n (%)				
NLP		1		1
LP	0,006	0,43 (0,24-0,78)	0,297	0,48 (0,12-1,91)
Subtipos, n (%)				
B	0,044	1,85 (1,02-3,37)	0,003	0,017 (0,001-0,254)
Não B		1		1
Distribuição dos subtipos, n (%)				
B		1		1
C	0,261	0,59 (0,24-1,47)	0,139	0,152 (0,012-1,844)
G	0,517	1,39 (0,52-3,74)	*	*
A1	0,346	0,58 (0,19-1,81)	0,132	0,121 (0,008-1,889)
F1	0,69	0,81 (0,29-2,29)	0,012	0,026 (0,002-0,444)
CRF02_AG	0,001	0,15 (0,05-0,48)	0,174	0,15 (0,01-2,30)
CRF14_BG	0,683	0,69 (0,12-4,03)	0,791	0,64 (0,02-17,85)

Resultados

Característica	Univariada		Multivariada	
	valor p	OR (95% IC)	valor p	OR (95% IC)
Comportamento sexual e IST's				
Parceiros sexuais dos homens, n (%)				
Homens	0,001	5,82 (1,96-17,28)	0,999	**
Mulheres		1		1
Homens e Mulheres	0,003	31,50 (3,24-306,24)	0,998	**
Comportamentos de risco, n (%)				
Tatuagens	0,066	2,17 (0,95-4,94)	0,333	0,103 (0,001-10,282)
Procedimento médico invasivo	0,119	1,87 (0,85-4,13)	0,502	0,45 (0,04-4,66)
Consumo de droga (nos últimos 12 meses), n (%)				
Álcool	0,042	2,40 (1,03-5,57)	0,077	37,83 (0,67-2123,59)
Drogas ilícitas	0,111	2,12 (0,84-5,36)	0,139	0,046 (0,001-2,712)
Sexo com preservativo (nos últimos 12 meses), n (%)				
Parceiro regular				
Sempre		1		1
Nunca	0,014	4,40 (1,36-14,26)	0,891	0,80 (0,03-21,13)
Às vezes	0,466	1,52 (0,49-4,72)	0,571	2,38 (0,12-47,98)
Teve IST, n (%)	0,013	2,91 (1,26-6,73)	0,211	8,19 (0,30-220,50)
Região da infeção por VIH, n (%)				
Portugal		1		1
África	0,010	0,13 (0,03-0,62)	0,999	**
Brasil	0,847	1,13 (0,33-3,87)	0,203	0,05 (0-5,12)
Europa	0,933	1,13 (0,07-18,82)	*	*
Outro	0,514	2,26 (0,20-26,13)	1,000	**

OR: *Odds Ratio*; IC: Intervalo de Confiança; IQR: Intervalo Interquartil; MSM: *Men who have sex with men*; UDI: Utilizadores de Droga Injetável; NLP: *Non-Late Presenters*; * resultado omitido no SPSS; ** valor $>10^4$

4. Discussão e Conclusão

A análise filogenética no contexto da pandemia do VIH-1, é uma ferramenta essencial para identificar CTMs, permitindo uma melhor compreensão das dinâmicas de transmissão do vírus. Para além disso, os imigrantes constituem uma fração significativa dos novos casos de VIH-1 em Portugal, representando 45% das novas infeções reportadas (16). Este dado sublinha a importância de compreender as dinâmicas de transmissão do VIH-1 dentro desta população específica para desenvolver estratégias de prevenção mais eficazes.

Neste estudo, foram incluídos 265 imigrantes, participantes do projeto BESTHOPE, que representam cerca de 15% de todos os novos casos de VIH-1 em imigrantes acompanhados em Portugal entre 2014 e 2019.

Na população estudada, a via de transmissão predominante foi a heterossexual (59.3%), embora os MSMs representassem uma parte significativa desta população (38.8%), indo de encontro com os dados da população VIH-positiva em Portugal (16). Mais de metade dos imigrantes estudados (55.9%) reportou ter sido infetado há pelo menos 1 ano e a maioria reportou pensar ter sido infetada em Portugal (63.9%). Isto poderá sugerir algumas dificuldades de acesso aos serviços de saúde para os imigrantes em Portugal, devido a inúmeros fatores já descritos em estudos anteriores. Entre eles destacam-se o desconhecimento dos serviços disponíveis, as barreiras linguísticas, questões relacionadas com o estatuto legal e a discriminação (53,54). Para além dessas dificuldades, poderá também existir uma falta de consciência sobre as consequências dos comportamentos de risco e até sobre quais comportamentos são considerados de risco.

Nesta população, foi analisado um total de 7 subtipos e CRFs, incluindo CRF02_AG e CRF14_BG. Estratificando por origem geográfica dos imigrantes estudados, verificou-se que a infeção pelo subtipo B (59.6%) foi a predominante em imigrantes provenientes da América do Sul, seguido do subtipo C (11.7%) e subtipo F1 (9.6%). Por sua vez, nos imigrantes provenientes dos PALOPs, observou-se uma maior predominância da infeção por subtipos não-B e CRFs, nomeadamente CRF02_AG (32.5%), subtipo C (14.7%) e G (12.5%). Estes resultados são consistentes com as prevalências dos vários subtipos encontradas nestas regiões (América do Sul e África) e com os resultados de outros

estudos realizados com imigrantes africanos e brasileiros seguidos em Portugal (3,24,34,55).

Também a prevalência de apresentadores tardios (55.0%) e de apresentadores tardios com doença avançada (31.4%) foi semelhante ao já descrito para a população residente em Portugal (16,29). Esta proporção elevada poderá ser justificada pela dificuldade no acesso aos serviços de saúde por parte desta população devido aos fatores já anteriormente mencionados.

Quanto à TDR, a prevalência global na população de imigrantes estudada foi de 10.2%, tendo sido mais elevada nos imigrantes provenientes da América do Sul (13.3%) e menor nos imigrantes provenientes dos PALOPs (8.5%). As relações entre estas prevalências foram semelhantes às observadas em indivíduos VIH positivos na América do Sul e PALOP também entre 2014 e 2019 (34). Nesse intervalo de tempo, a prevalência de TDR na África Subsariana foi 6,0% e na América Latina 9.4% (34), ou seja, tal como na população de imigrantes aqui descrita observou-se uma maior prevalência de TDR em indivíduos VIH positivos na América Latina, comparativamente com indivíduos VIH positivos na África Subsariana. Já em Portugal, num estudo que incluiu imigrantes destas duas regiões, a prevalência de TDR na população de imigrantes foi ligeiramente mais baixa (9.1%), entre 2001 e 2017. Esta diferença pode ser explicada pela maior proporção de imigrantes dos PALOPs presentes nesse estudo (85.8% dos imigrantes), onde a prevalência de TDR é geralmente mais baixa (24). Em relação à prevalência de TDR por subtipos, não é possível tirar conclusões, uma vez que o n reduzido pode ter levado a resultados aleatórios.

Na análise dos CTMs, cerca de 33.0% das 206 sequências analisadas encontravam-se em clusters. Este valor é ligeiramente mais baixo em comparação com estudos semelhantes que incluíram tanto imigrantes como nativos (42,55), podendo ser justificado pela elevada quantidade de diagnósticos tardios identificados nesta população. Isto deve-se ao facto de os apresentadores tardios apresentarem uma maior taxa de evolução viral, o que dificulta a sua associação a clusters de transmissão.

Através da análise univariada, verificou-se que indivíduos que reportaram já ter tido ISTs apresentaram uma maior probabilidade de pertencer a clusters de transmissão do VIH. Esta associação pode ser explicada não só pela maior densidade de células-alvo (T CD4+)

nas áreas expostas e pelo enfraquecimento do sistema imunológico causado pelas ISTs, mas também pela forte evidência de que ISTs aumentam a suscetibilidade à seroconversão para o VIH. A inflamação e as lesões das barreiras mucosas associadas às ISTs facilitam a entrada do VIH durante a exposição sexual. Estudos apontam que, por essa razão, indivíduos com ISTs diagnosticadas nos últimos seis meses são considerados de alto risco e recomendados a usar profilaxia pré-exposição (PrEP) como medida preventiva eficaz contra o VIH (1,56–58). Por outro lado, os indivíduos com diagnóstico tardio apresentaram uma menor probabilidade de estarem em cluster. Isto pode ser explicado pela elevada taxa evolutiva viral nestes indivíduos. Para além disso, dentro de clusters existe uma grande proporção de MSMs (60,3%), o que sugere um comportamento de maior risco. No entanto, a consciência desses comportamentos pode resultar numa maior frequência de testagem. Consequentemente, indivíduos desta população tendem a fazer um diagnóstico precoce, o que pode explicar a menor presença de casos de diagnóstico tardio em clusters (42). Observou-se também através da análise univariada que indivíduos com origem na América do Sul (maioria brasileiros), identificados como MSMs e infetados com o subtipo B apresentaram maior probabilidade de estar em cluster. Estes resultados são coerentes com outros estudos onde se verificou uma maior contribuição dos MSMs para a transmissão em cluster, refletindo o comportamento de risco associado a este grupo (36,42). Para além disso, grande parte dos homens VIH-positivos no Brasil são MSMs (42.3% em 2022) (59) e maioritariamente infetados com o subtipo B (60,61), explicando, assim, a maior probabilidade de imigrantes provenientes do Brasil e infetados com o subtipo B estarem associados à clusterização. Também o consumo de álcool e o sexo desprotegido com parceiro regular foram associados a pertencer a um cluster. O álcool pode levar à adoção de comportamentos sexuais de risco, como a não utilização de preservativo, especialmente entre MSM, resultando em maior incidência de infeções e, consequentemente, em maior probabilidade de inclusão em clusters de transmissão (62). Por fim, tanto os indivíduos residentes no distrito de Faro como aqueles com grau universitário apresentaram maior probabilidade de pertencer a clusters. Uma possível explicação para este último fator poderá residir no facto de pessoas com níveis educacionais mais elevados, e possivelmente com um estatuto socioeconómico superior, tenderem a realizar testes com maior frequência. Consequentemente, teriam uma menor taxa de evolução viral, o que

aumentaria a sua presença em clusters de transmissão. Além disso, indivíduos com maior escolaridade podem estar inseridos em grupos com práticas sexuais mais diversificadas e abertas, o que também poderá contribuir para a sua maior probabilidade de fazerem parte de clusters (54).

Contudo, na análise multivariada apenas a região de origem (América do Sul), a via de transmissão (MSM) e o subtipo (não-B) mostraram associações estatisticamente significativas com a probabilidade de pertencer a um cluster. Relativamente aos primeiros dois fatores, a análise multivariada confirmou os resultados da análise univariada. Surpreendentemente, enquanto na análise univariada os indivíduos infetados com o subtipo B pareciam ter uma maior probabilidade de estarem em cluster, esse padrão não se confirmou na análise multivariada. Estes resultados não vão de encontro aos obtidos noutros estudos, já que o subtipo B foi inicialmente associado à população MSM (35,36), que por sua vez foi estatisticamente associada a pertencer a cluster, neste estudo. Uma possível explicação para esta discrepância pode estar relacionada com a elevada quantidade de dados omissos nas variáveis analisadas. Quando se realizam análises multivariadas, o SPSS considera apenas os indivíduos sem dados omissos nas variáveis incluídas na análise, o que pode levar à exclusão de casos significativos e à alteração da representatividade da amostra. Foi também verificado que os indivíduos infetados com o subtipo F tiveram menor probabilidade de pertencer a CTMs. Apesar deste subtipo estar associado a indivíduos de origem brasileira (10,63), na população em estudo, a maioria dos indivíduos infetados por este subtipo é de origem africana (56.3%) e maioritariamente heterossexuais (75.0%), podendo explicar a menor frequência destes indivíduos em CTMs.

Existem algumas limitações a considerar neste estudo. Em primeiro lugar, a amostra estudada representa apenas 15% de todos os novos diagnósticos de imigrantes em Portugal no período de tempo analisado. Ainda assim, os resultados apresentados são consistentes com algumas conclusões já demonstradas em estudos semelhantes realizados com imigrantes (15,24,29,42). O tamanho reduzido da amostra em conjunto com dados omissos em várias variáveis afetou a análise, nomeadamente a multivariada, já que apenas foram incluídos os indivíduos sem dados omissos em todas as variáveis incluídas na análise, alterando as frequências reais, como já mencionado. Outra limitação é a falta de consenso na escolha dos parâmetros utilizados na identificação de clusters, o que dificulta

a comparação dos resultados entre estudos. O número de amostras recolhidas por ano no período estudado variou bastante, impedindo comparações ao longo do tempo. Por fim, foi utilizada uma região pequena do gene *pol* na análise filogenética e identificação de CTMs, embora já se tenha demonstrado que essa região é suficiente para este tipo de análise (64).

Este estudo combinou dados filogenéticos, sociodemográficos, comportamentais e clínicos para analisar a transmissão do VIH-1 entre imigrantes diagnosticados em Portugal desde 2014 a 2019. Os resultados mostraram que cerca de 33% dos imigrantes estavam em CTMs, uma proporção ligeiramente menor do que noutros estudos semelhantes. A análise revelou que a transmissão é predominantemente conduzida por homens que fazem sexo com homens (MSM) de origem sul-americana infetados por subtipos não-B.

Estes resultados sugerem que a transmissão do VIH-1 entre imigrantes é uma parte significativa da epidemia em Portugal e destacam a necessidade de estratégias de saúde pública focadas nas especificidades dos subgrupos de imigrantes. Ao monitorizar a epidemia e adaptar as intervenções de prevenção e tratamento às características de cada grupo, este estudo pode ajudar a guiar respostas mais eficazes e inclusivas, contribuindo para uma melhor gestão da epidemia de VIH-1.

5. Referências Bibliográficas

1. Deeks SG, Overbaugh J, Phillips A, Buchbinder S. HIV infection. Nat Rev Dis Primer. 1 de outubro de 2015;1(1):15035.
2. Detecting and Responding to HIV Transmission Clusters - a Guide for Health Departments. June 2018. Draft Version 2.0.
3. 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. 1 de fevereiro de 2019;19(2):143–55.
4. 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.
5. Désiré N, Cerutti L, Le Hingrat Q, Perrier M, Emler S, Calvez V, et al. Characterization update of HIV-1 M subtypes diversity and proposal for subtypes A and D sub-subtypes reclassification. Retrovirology. 22 de dezembro de 2018;15:80.
6. Yamaguchi J, Vallari A, McArthur C, Sthreshley L, Cloherty GA, Berg MG, et al. Brief Report: Complete Genome Sequence of CG-0018a-01 Establishes HIV-1 Subtype L. J Acquir Immune Defic Syndr 1999. 1 de março de 2020;83(3):319–22.
7. HIV Databases [Internet]. [citado 15 de março de 2024]. Disponível em: <https://www.hiv.lanl.gov/content/index>
8. Delatorre E, Mir D, Bello G. Spatiotemporal Dynamics of the HIV-1 Subtype G Epidemic in West and Central Africa. PLoS ONE. 11 de junho de 2014;9(6):e98908.
9. Bártolo I, Abecasis AB, Borrego P, Barroso H, McCutchan F, Gomes P, et al. Origin and epidemiological history of HIV-1 CRF14_BG. PloS One. 2011;6(9):e24130.
10. HIV-1 Subtype F1 Epidemiological Networks among Italian Heterosexual Males Are Associated with Introduction Events from South America | PLOS ONE [Internet]. [citado 14 de maio de 2024]. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0042223>
11. HIV and AIDS [Internet]. [citado 7 de março de 2024]. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hiv-aids>
12. UNAIDS - Global Report 2023 [Internet]. [citado 7 de março de 2024].

UNAIDS 2023 Report. Disponível em: <https://thepath.unaids.org/>

13. European Centre for Disease Prevention and Control, World Health Organization. HIV/AIDS surveillance in Europe 2022 : 2021 data [Internet]. SE: European Centre for Disease Prevention and Control; 2022 [citado 7 de março de 2024]. Disponível em: <https://data.europa.eu/doi/10.2900/818446>
14. Abrantes R, Pimentel V, Miranda MNS, Silva AR, Diniz A, Ascensão B, et al. Determinants of HIV late presentation among men who have sex with men in Portugal (2014–2019): who’s being left behind? Front Public Health [Internet]. 2024 [citado 1 de março de 2024];12. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/public-health/articles/10.3389/fpubh.2024.1336845>
15. Pimentel VF, Pingarilho M, Sole G, Alves D, Miranda M, Diogo I, et al. Differential patterns of postmigration HIV-1 infection acquisition among Portuguese immigrants of different geographical origins. AIDS Lond Engl. 1 de junho de 2022;36(7):997–1005.
16. Saúde DG da, Jorge IN de SDR. Infecção VIH e SIDA em Portugal – 2023 [Internet]. DGS, INSA; 2023 nov [citado 7 de março de 2024] p. 1–109. Disponível em: <https://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/8786>
17. Pingarilho M, Pimentel V, Abecasis A. Combining Clinical and Sociobehavioral Questionnaires With Genomic Data to Better Understand HIV Transmission [Internet]. SAGE Publications Ltd; 2020 [citado 1 de março de 2024]. Disponível em: <https://methods.sagepub.com/case/clinical-sociobehavioral-questionnaires-genomic-data-hiv-transmission>
18. IOM Publications - International Organization for Migration [Internet]. [citado 14 de março de 2024]. Disponível em: <https://publications.iom.int/>
19. Sá JA de. Acesso aos cuidados de saúde e literacia em saúde na população migrante na área metropolitana de Lisboa e impacto da pandemia COVID-19 [Internet] [masterThesis]. 2022 [citado 14 de março de 2024]. Disponível em: <https://run.unl.pt/handle/10362/154221>
20. <https://www.om.acm.gov.pt/-/relatorio-imigracao-fronteiras-e-asilo-2021-sef-> [Internet]. [citado 14 de março de 2024]. Disponível em: <https://www.om.acm.gov.pt/-/relatorio-imigracao-fronteiras-e-asilo-2021-sef->
21. Gogishvili M, Flórez KR, Costa SA, Huang TTK. A qualitative study on mixed

- experiences of discrimination and healthcare access among HIV-positive immigrants in Spain. *BMC Public Health*. 19 de fevereiro de 2021;21(1):385.
22. Europe WHORO for. Report on the health of refugees and migrants in the WHO European Region: No public health without refugee and migrant health [Internet]. World Health Organization. Regional Office for Europe; 2018 [citado 19 de abril de 2024]. Disponível em: <https://iris.who.int/handle/10665/311347>
23. Pottie K, Lotfi T, Kilzar L, Howeiss P, Rizk N, Akl EA, et al. The Effectiveness and Cost-Effectiveness of Screening for HIV in Migrants in the EU/EEA: A Systematic Review. *Int J Environ Res Public Health*. agosto de 2018;15(8):1700.
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. Saúde DG da, Jorge IN de SDR. Infecção VIH e SIDA em Portugal – 2022 [Internet]. DGS, INSA; 2022 nov [citado 14 de março de 2024] p. 1–95. Disponível em: <https://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/8383>
26. Carvalho A, Costa P, Triunfante V, Branca F, Rodrigues F, Santos CL, et al. Analysis of a Local HIV-1 Epidemic in Portugal Highlights Established Transmission of Non-B and Non-G Subtypes. *J Clin Microbiol*. maio de 2015;53(5):1506–14.
27. Pennings PS. HIV Drug Resistance: Problems and Perspectives. *Infect Dis Rep*. 6 de junho de 2013;5(Suppl 1):e5.
28. 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. *Viruses*. 30 de outubro de 2020;12(11):1238.
29. Pingarilho M, Pimentel V, Miranda MNS, Silva AR, Diniz A, Ascensão BB, et al. HIV-1-Transmitted Drug Resistance and Transmission Clusters in Newly Diagnosed Patients in Portugal Between 2014 and 2019. *Front Microbiol*. 2022;13:823208.
30. Peng X, Xu Y, Huang Y, Zhu B. Inpatient Development of Multi-Class Drug Resistance in an Individual Infected with HIV-1 CRF01_AE. *Infect Drug Resist*. 25 de agosto de 2021;14:3441–8.
31. Waters L, Winston A, Reeves I, Boffito M, Churchill D, Cromarty B, et al. BHIVA guidelines on antiretroviral treatment for adults living with HIV-1 2022. HIV

Med. dezembro de 2022;23(S5):3–115.

32. EACSociety [Internet]. [citado 18 de março de 2024]. EACS Guidelines.

Disponível em: <https://www.eacsociety.org/guidelines/eacs-guidelines/>

33. Abordagem terapêutica inicial da infecção por vírus de imunodeficiência humana de tipo 1 (VIH-1) no Adolescente e no Adulto - Portal das Normas Clínicas [Internet].

[citado 18 de março de 2024]. Disponível em: [https://normas.dgs.min-](https://normas.dgs.min-saude.pt/2016/12/29/abordagem-terapeutica-inicial-da-infecao-por-virus-de-imunodeficiencia-humana-de-tipo-1-vih-1-no-adolescente-e-no-adulto/)

[saude.pt/2016/12/29/abordagem-terapeutica-inicial-da-infecao-por-virus-de-imunodeficiencia-humana-de-tipo-1-vih-1-no-adolescente-e-no-adulto/](https://normas.dgs.min-saude.pt/2016/12/29/abordagem-terapeutica-inicial-da-infecao-por-virus-de-imunodeficiencia-humana-de-tipo-1-vih-1-no-adolescente-e-no-adulto/)

34. Rhee SY, Kassaye SG, Barrow G, Sundaramurthi JC, Jordan MR, Shafer RW.

HIV-1 transmitted drug resistance surveillance: shifting trends in study design and prevalence estimates. *J Int AIDS Soc.* 2020;23(9):e25611.

35. Pineda-Peña AC, Pingarilho M, Li G, Vrancken B, Libin P, Gomes P, et al.

Drivers of HIV-1 transmission: The Portuguese case. *PLOS ONE.* 30 de setembro de 2019;14(9):e0218226.

36. Paraskevis D, Beloukas A, Stasinou K, Pantazis N, de Mendoza C, Bannert N, et al. HIV-1 molecular transmission clusters in nine European countries and Canada:

association with demographic and clinical factors. *BMC Med.* 8 de janeiro de 2019;17(1):4.

37. Hassan AS, Pybus OG, Sanders EJ, Albert J, Esbjörnsson J. Defining HIV-1

transmission clusters based on sequence data. *AIDS Lond Engl.* 1 de junho de 2017;31(9):1211–22.

38. Ragonnet-Cronin M, Hodcroft E, Hué S, Fearnhill E, Delpech V, Brown AJL, et

al. Automated analysis of phylogenetic clusters. *BMC Bioinformatics.* 6 de novembro de 2013;14(1):317.

39. Yebra G, Hodcroft EB, Ragonnet-Cronin ML, Pillay D, Brown AJL, Fraser C, et

al. Using nearly full-genome HIV sequence data improves phylogeny reconstruction in a simulated epidemic. *Sci Rep.* 23 de dezembro de 2016;6(1):39489.

40. Novitsky V, Steingrimsdóttir JA, Howison M, Gillani FS, Li Y, Manne A, et al.

Empirical comparison of analytical approaches for identifying molecular HIV-1 clusters. *Sci Rep.* 29 de outubro de 2020;10(1):18547.

41. Verhofstede C, Dauwe K, Fransen K, Van Laethem K, Van den Wijngaert S,

Ruelle J, et al. Phylogenetic analysis of the Belgian HIV-1 epidemic reveals that local

transmission is almost exclusively driven by men having sex with men despite presence of large African migrant communities. *Infect Genet Evol J Mol Epidemiol Evol Genet Infect Dis.* julho de 2018;61:36–44.

42. Fabeni L, Santoro MM, Lorenzini P, Rusconi S, Gianotti N, Costantini A, et al. Evaluation of HIV Transmission Clusters among Natives and Foreigners Living in Italy. *Viruses.* 23 de julho de 2020;12(8):791.

43. Sacks-Davis R, Chibo D, Peach E, Aleksic E, Crowe SM, El Hayek C, et al. Phylogenetic clustering networks among heterosexual migrants with new HIV diagnoses post-migration in Australia. *PloS One.* 2020;15(9):e0237469.

44. Setia MS. Methodology Series Module 3: Cross-sectional Studies. *Indian J Dermatol.* 2016;61(3):261–4.

45. Vigilância da Infecção VIH e SIDA Categoria - INSA [Internet]. [citado 1 de março de 2024]. Disponível em: <https://www.insa.min-saude.pt/category/areas-de-atuacao/doencas-infeciosas/vigilancia-da-infecao-vihsida/>

46. Antinori A, Coenen T, Costagiola D, Dedes N, Ellefson M, Gatell J, et al. Late presentation of HIV infection: a consensus definition. *HIV Med.* 2011;12(1):61–4.

47. de Oliveira T, Deforche K, Cassol S, Salminen M, Paraskevis D, Seebregts C, et al. An automated genotyping system for analysis of HIV-1 and other microbial sequences. *Bioinformatics.* 1 de janeiro de 2005;21(19):3797–800.

48. Struck D, Lawyer G, Ternes AM, Schmit JC, Bercoff DP. COMET: adaptive context-based modeling for ultrafast HIV-1 subtype identification. *Nucleic Acids Res.* 13 de outubro de 2014;42(18):e144.

49. Pond SLK, Posada D, Stawiski E, Chappey C, Poon AFY, Hughes G, et al. An Evolutionary Model-Based Algorithm for Accurate Phylogenetic Breakpoint Mapping and Subtype Prediction in HIV-1. *PLOS Comput Biol.* 26 de novembro de 2009;5(11):e1000581.

50. 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. *PLOS ONE.* 6 de março de 2009;4(3):e4724.

51. 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.

52. Anisimova M, Gil M, Dufayard JF, Dessimoz C, Gascuel O. Survey of Branch Support Methods Demonstrates Accuracy, Power, and Robustness of Fast Likelihood-based Approximation Schemes. *Syst Biol.* outubro de 2011;60(5):685–99.
53. Dias S, Gama A, Pingarilho M, Simões D, Mendão L. Health Services Use and HIV Prevalence Among Migrant and National Female Sex Workers in Portugal: Are We Providing the Services Needed? *AIDS Behav.* agosto de 2017;21(8):2316–21.
54. Dias S, Gama A, Severo M, Barros H. Factors associated with HIV testing among immigrants in Portugal. *Int J Public Health.* outubro de 2011;56(5):559–66.
55. Sole GA. Origem da infecção do VIH-1 na população imigrante de países de língua portuguesa acompanhada em Portugal [Internet] [masterThesis]. 2022 [citado 28 de março de 2024]. Disponível em: <https://run.unl.pt/handle/10362/146121>
56. National Academies of Sciences E, Division H and M, Practice B on PH and PH, States C on P and C of STI in the U, Crowley JS, Geller AB, et al. Intersection of HIV and STIs. Em: *Sexually Transmitted Infections: Adopting a Sexual Health Paradigm* [Internet]. National Academies Press (US); 2021 [citado 27 de setembro de 2024]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK573161/>
57. Ward H, Rönn M. The contribution of STIs to the sexual transmission of HIV. *Curr Opin HIV AIDS.* julho de 2010;5(4):305–10.
58. Nguyen VK, Greenwald ZR, Trottier H, Cadieux M, Goyette A, Beauchemin M, et al. Incidence of sexually transmitted infections before and after preexposure prophylaxis for HIV. *AIDS Lond Engl.* 20 de fevereiro de 2018;32(4):523–30.
59. Boletim Epidemiológico - HIV e Aids 2023 — Departamento de HIV/Aids, Tuberculose, Hepatites Virais e Infecções Sexualmente Transmissíveis [Internet]. [citado 11 de maio de 2024]. Disponível em: <https://www.gov.br/aids/pt-br/central-de-conteudo/boletins-epidemiologicos/2023/hiv-aids/boletim-epidemiologico-hiv-e-aids-2023.pdf/view>
60. Pimentel V, Pineda-Peña A, Sebastião CS, de Paula JL, Ahagon CM, Pingarilho M, et al. Dynamics and features of transmission clusters of HIV-1 subtypes in the state of São Paulo, Brazil. *Front Public Health* [Internet]. 5 de junho de 2024 [citado 28 de setembro de 2024];12. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/public-health/articles/10.3389/fpubh.2024.1384512/full>
61. Crispim MAE, Reis MN da G, Abraham C, Kiesslich D, Fraiji N, Bello G, et al.

Referências Bibliográficas

Homogenous HIV-1 subtype B from the Brazilian Amazon with infrequent diverse BF1 recombinants, subtypes F1 and C among blood donors. PLOS ONE. 9 de setembro de 2019;14(9):e0221151.

62. Scott-Sheldon LAJ, Walstrom P, Carey KB, Johnson BT, Carey MP, the MASH Research Team. Alcohol Use and Sexual Risk Behaviors among Individuals Infected with HIV: A Systematic Review and Meta-Analysis 2012 to Early 2013. Curr HIV/AIDS Rep. 1 de dezembro de 2013;10(4):314–23.

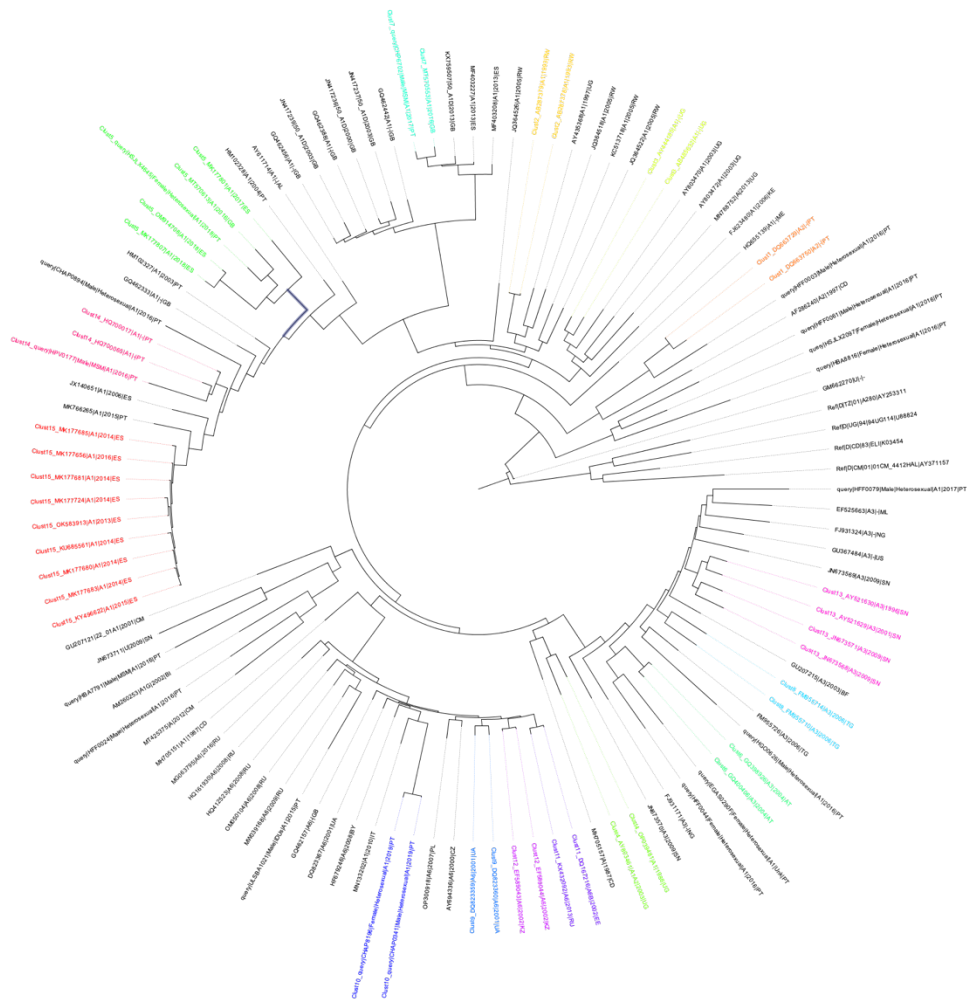
63. Carvalho A, Costa P, Triunfante V, Branca F, Rodrigues F, Santos CL, et al. Analysis of a local HIV-1 epidemic in Portugal highlights established transmission of non-B and non-G subtypes. J Clin Microbiol. maio de 2015;53(5):1506–14.

64. Hué S, Clewley JP, Cane PA, Pillay D. HIV-1 pol gene variation is sufficient for reconstruction of transmissions in the era of antiretroviral therapy. AIDS Lond Engl. 26 de março de 2004;18(5):719–28.

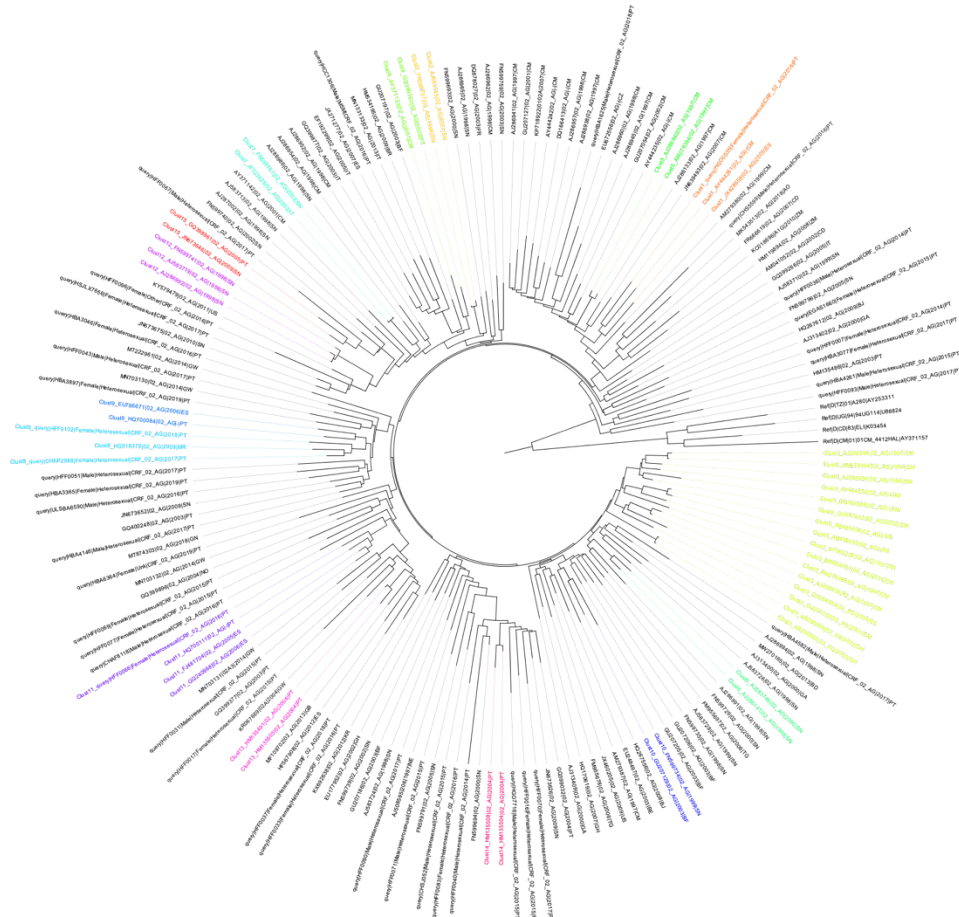
Referências Bibliográficas

6. Anexos

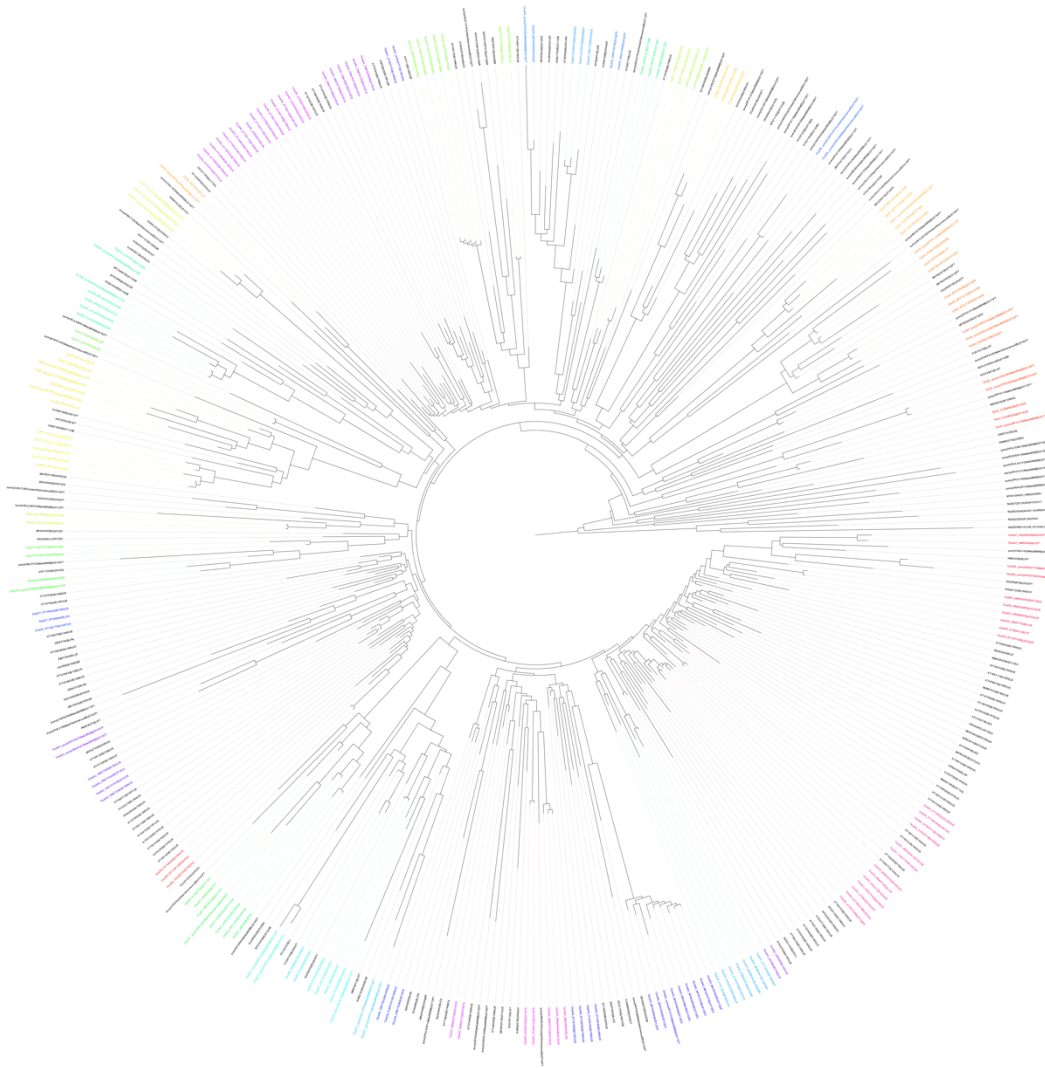
Anexo 1: Árvore filogenética das 107 (17 BESTHOPE + 90 controlos) sequências do gene pol para o **subtipo A** do VIH-1. Foram usadas quatro sequências do subtipo D como grupo externo. Valores de SH-teste >90% e distância genética <4,5% estão representadas na árvore como clusters assinalados a cor (cada cor corresponde a um cluster).



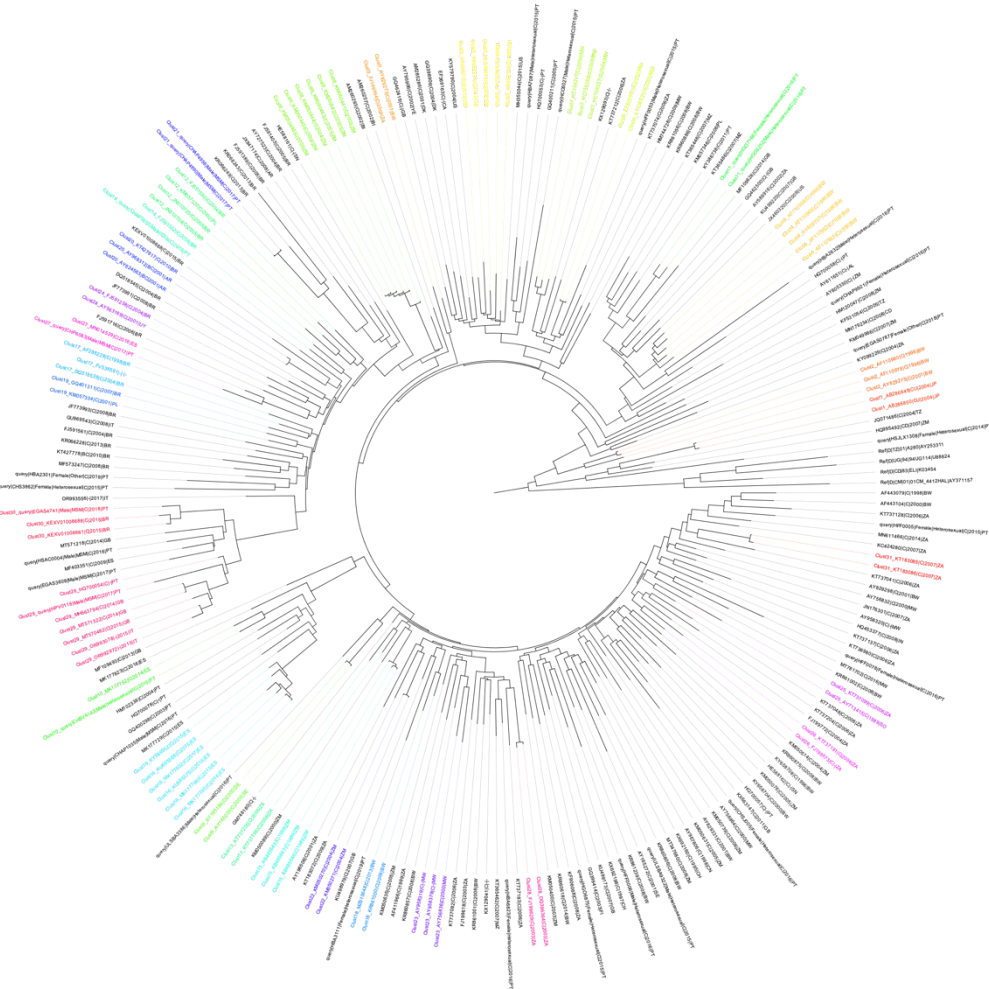
Anexo 2: Árvore filogenética das 102 (40 BESTHOPE + 62 controles) sequências do gene pol para a forma recombinante **CRF02_AG** do VIH-1. Foram usadas quatro sequências do subtipo D como grupo externo. Valores de SH-teste >90% e distância genética <4,5% estão representadas na árvore como clusters assinalados a cor (cada cor corresponde a um cluster).

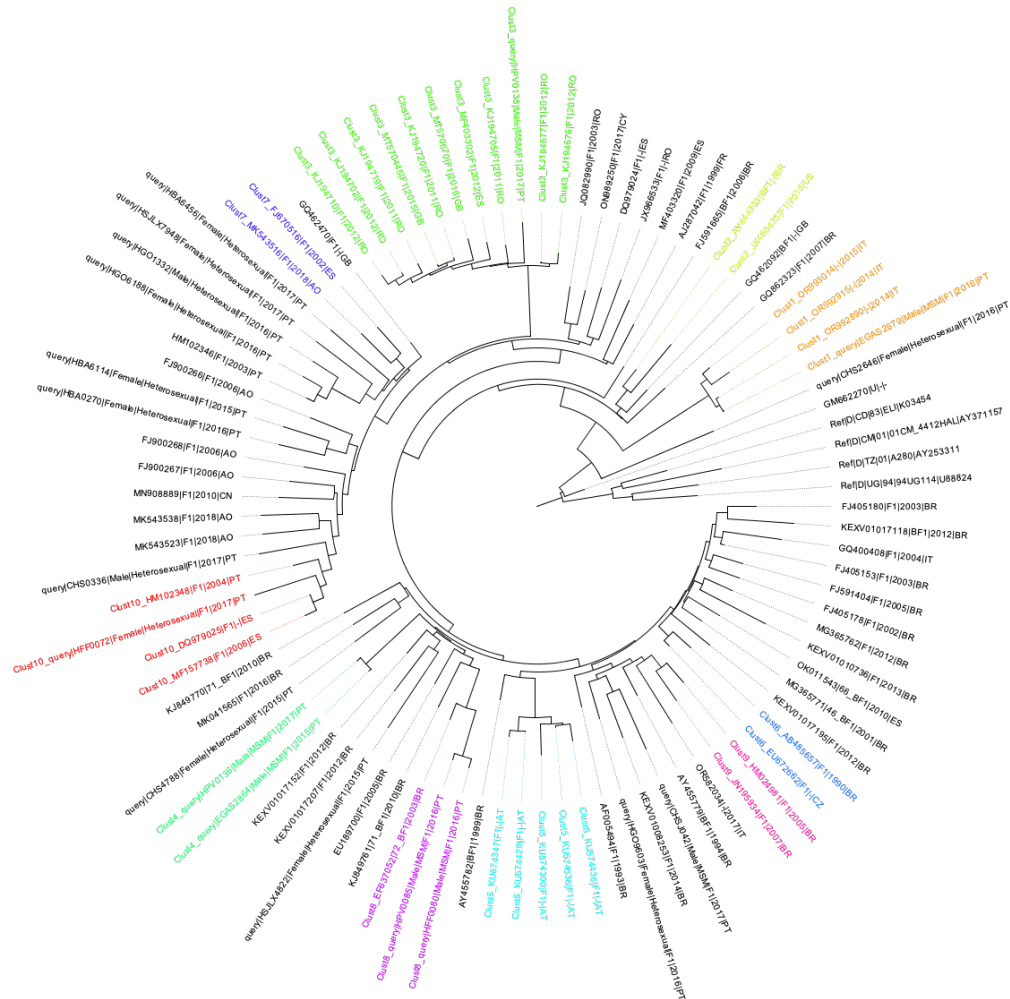


Anexo 3: Árvore filogenética das 379 (74 BESTHOPE + 305 controles) sequências do gene pol para o **subtipo B** do VIH-1. Foram usadas quatro sequências do subtipo D como grupo externo. Valores de SH-teste >90% e distância genética <4,5% estão representadas na árvore como clusters assinalados a cor (cada cor corresponde a um cluster).



Anexo 4: Árvore filogenética das 229 (30 BESTHOPE + 199 controles) sequências do gene pol para o **subtipo C** do VIH-1. Foram usadas quatro sequências do subtipo D como grupo externo. Valores de SH-teste >90% e distância genética <4,5% estão representadas na árvore como clusters assinalados a cor (cada cor corresponde a um cluster).





Anexo 6: Árvore filogenética das 122 (26 BESTHOPE + 96 controlos) sequências do gene pol para o **subtipo G e CRF14_BG** do VIH-1. Foram usadas quatro sequências do subtipo D como grupo externo. Valores de SH-teste >90% e distância genética <4,5% estão representadas na árvore como clusters assinalados a cor (cada cor corresponde a um cluster).

