

Rev Saúde Pública

Daniel Simon^IJorge Umberto Béria^{II}Daniela Cardoso Tietzmann^{III}Rafaela de Carli^IAirton Tetelbom Stein^{II}Vagner Ricardo Lunge^I

Prevalência de subtipos do HIV-1 em amostra de pacientes de um centro urbano no sul do Brasil

Prevalence of HIV-1 subtypes in patients of an urban center in Southern Brazil

RESUMO

OBJETIVO: Estimar a prevalência dos subtipos do HIV-1 e analisar fatores associados.

MÉTODOS: Foi realizado um estudo transversal com amostra de conveniência de 80 pacientes adultos HIV-positivos atendidos em serviço especializado em DST/Aids em Canoas, RS, no período de julho de 2008 a janeiro de 2009. A determinação dos subtipos do HIV foi realizada por amplificação de fragmento do genoma viral pela reação em cadeia da polimerase seguida do sequenciamento dos fragmentos amplificados. Variáveis sociodemográficas, clínicas e comportamentais foram coletadas em questionário estruturado. Foi realizada análise estatística univariada utilizando os testes de qui-quadrado e t de Student.

RESULTADOS: Foi observada uma prevalência maior do subtipo C (43,8%; IC 95%: 32,9;54,6), seguida pelo CRF31_BC (35,0%; IC 95%: 24,6;45,5) e subtipos B (18,8%; IC 95%: 10,2;27,3) e F (2,4%; IC 95%: 0;5,9). Outros subtipos de HIV-1 não foram observados. Pacientes infectados com CRF31_BC apresentaram diagnóstico mais recente do que os pacientes infectados com o subtipo B ($p < 0,05$). Observou-se também maior frequência de co-infecção com outros vírus (hepatites B e C e T-linfotrópicos humanos) nos indivíduos portadores do CRF31_BC do que nos demais subtipos. Com relação aos aspectos sociodemográficos, não foram observadas diferenças na distribuição dos subtipos e formas recombinantes quanto ao sexo e práticas sexuais.

CONCLUSÕES: Os resultados obtidos indicam uma frequência maior do subtipo C e do CRF31_BC nesse centro urbano do sul do Brasil, com possíveis vias de transmissão diferentes.

DESCRITORES: Infecções por HIV, epidemiologia. Soroprevalência de HIV. Fatores de Risco. Síndrome de Imunodeficiência Adquirida, epidemiologia. Estudos Transversais.

^I Programa de Pós-Graduação em Diagnóstico Genético e Molecular. Universidade Luterana do Brasil (ULBRA). Canoas, RS, Brasil

^{II} Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva. ULBRA. Canoas, RS, Brasil

^{III} Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, Brasil

Correspondência | Correspondence:

Daniel Simon
PPG Diagnóstico Genético e Molecular
Av. Farroupilha, 8001 – São José
Prédio 22 – 5º andar
92425-900 Canoas, RS, Brasil
E-mail: daniel.simon@ulbra.br

Recebido: 24/12/2009

Aprovado: 6/6/2010

Artigo disponível em português e inglês em:
www.scielo.br/rsp

ABSTRACT

OBJECTIVE: To estimate the prevalence of HIV-1 subtypes and analyze factors associated.

METHODS: A cross-sectional study was performed with a convenience sample of 80 adult HIV-positive patients, users of an AIDS/STD specialized service, in the city of Canoas, Southern Brazil, between July 2008 and January 2009. Determination of HIV subtypes was performed with the amplification of viral genome fragment, using polymerase chain reaction, followed by sequencing of the amplified fragments. Sociodemographic, clinical and behavioral variables were collected in a structured questionnaire. Univariate statistical analysis was performed, using chi-square test and Student's t-test.

RESULTS: A higher prevalence of subtype C was found (43.8%; 95% CI: 32.9;54.6), followed by CRF31_BC (35.0%; 95% CI: 24.6;45.5) and subtypes B (18.8%; 95% CI: 10.2;27.3) and F (2.4%; 95% CI: 0;5.9). Other HIV-1 subtypes were not observed. Patients infected with CRF31_BC were diagnosed more recently than patients infected with subtype B ($p < 0.05$). In addition, there was a higher frequency of co-infection with other viruses (hepatitis B and C and human T-lymphotropic viruses) in individuals with CRF31_BC, compared to other subtypes. With regard to sociodemographic aspects, there were no differences in the distribution of subtypes and recombinant forms, in terms of gender and sexual practices.

CONCLUSIONS: Results obtained indicate a higher frequency of subtype C and CRF31_BC in this urban center of Southern Brazil, with possible different ways of transmission.

DESCRIPTORS: HIV Infections, epidemiology. HIV Seroprevalence. Risk Factors. Acquired Immunodeficiency Syndrome, epidemiology. Cross-Sectional Studies.

INTRODUÇÃO

A ampla variabilidade genética do HIV faz com que seja classificado em dois tipos principais (HIV-1 e HIV-2), diversos subtipos, formas recombinantes circulantes (CRF, de *circulating recombinant forms*) e formas recombinantes únicas (URF, de *unique recombinant forms*). Essa diversidade viral tem impacto no diagnóstico, monitoramento, terapia e desenvolvimento de vacinas para o HIV.¹⁶

O HIV-1 está disseminado no mundo inteiro e é o responsável pela grande maioria dos casos de Aids, mas a distribuição dos respectivos subtipos é heterogênea, variando conforme a região geográfica. O subtipo B, por exemplo, é encontrado na Europa e nas Américas, mas apresenta uma frequência menor na África e na Ásia, onde os subtipos A, C, D e E são predominantes.¹⁸ No Brasil, estudos indicam que o subtipo B é o mais prevalente na maioria das regiões geográficas, seguido pelos subtipos F e C, com poucos casos identificados dos subtipos D e A.^{4,6} Entretanto, a região Sul do País tem se caracterizado pela maior frequência do subtipo C, principalmente no estado do Rio Grande do Sul (RS).^{4,19-21}

As CRF também são encontradas no mundo todo, mas cada local e/ou região apresenta maior prevalência de determinada CRF, provavelmente relacionada à respectiva origem, capacidade de disseminação e outras características epidemiológicas locais.¹⁸ Estudos realizados na Argentina e Brasil mostraram que usuários de drogas injetáveis e mulheres apresentaram maior frequência de recombinantes BF.^{8,24} No RS, uma forma recombinante específica (CRF31_BC) tem apresentado prevalência bastante elevada, diferindo do restante do Brasil, e tem se disseminado no estado vizinho de Santa Catarina e em outros países limítrofes da América do Sul, tais como Uruguai, Paraguai e Argentina.^{3,5}

No Brasil estima-se que cerca de 506 mil pessoas estejam infectadas, das quais aproximadamente 46 mil estão no RS. O presente estudo teve como objetivo estimar a prevalência dos subtipos do HIV-1 e analisar fatores associados.

MÉTODOS

Estudo transversal realizado com pacientes HIV-positivos, integrado à pesquisa "Estudo clínico-epidemiológico

das co-infecções do HIV com hepatites B e C, HTLV-I e II na população de um município de porte médio do Rio Grande do Sul (Canoas)”, de julho de 2008 a janeiro de 2009. A cidade de Canoas é um centro urbano de porte médio localizado na região metropolitana de Porto Alegre, RS, e em 2008 apresentou a décima maior taxa de incidência (por 100.000 habitantes) de casos notificados de HIV nos municípios do Brasil.^a

A população-alvo do projeto foi constituída de pacientes adultos, utilizando ou não a terapia anti-retroviral, usuários do serviço de atendimento especializado (SAE) e centro de testagem e aconselhamento (CTA). Estes são os dois únicos serviços especializados em DST/Aids no município, sendo referência para o atendimento dos pacientes e fornecimento dos medicamentos anti-retrovirais. Foram obtidas 580 amostras de pacientes HIV-positivos. As amostras foram coletadas por punção venosa em tubos de 5 mL utilizando ácido etilendiamino tetra-acético (EDTA) sódico como anticoagulante, centrifugadas para separação do plasma e da papa leucocitária em tubos específicos e estocadas a -20 °C. Aspectos sociodemográficos e potenciais fatores de risco para infecção pelo HIV foram obtidos na entrevista aos pacientes. Os dados clínicos de cada paciente, como tratamento, contagem de células T CD4+ e carga viral, foram obtidos dos prontuários.

Entre as amostras de papa leucocitária dos 580 pacientes participantes do projeto, 172 foram obtidas por conveniência de forma consecutiva e cegas para o laboratório responsável pelo processamento, e submetidas à análise do subtipo presente. Do total de amostras, 80 apresentaram resultados adequados para os procedimentos de seqüenciamento, conforme representado na Figura.

As amostras de papa leucocitária dos pacientes foram descongeladas e processadas em conjunto com controles positivos e negativos. O DNA total foi extraído a partir de 0,1 mL da amostra pelo método de fenol-clorofórmio.¹² As amostras foram amplificadas por *nested* PCR, sendo a primeira amplificação realizada em reação com volume final de 50 µL contendo 1,5 mM MgCl₂, 0,05 mM dNTPs, 0,25 µM dos *primers* (5' - AAT GAT GAC AGC ATG YCA GGG -3' e 5' - CTT CCT YTR TCA GTAACA TAY CCT GC -3'), 1U *Taq* polimerase e 2 µL do material extraído. O fragmento amplificado corresponde a aproximadamente 2.107 pares de bases, referente ao intervalo entre os nucleotídeos 1.827 e 3.934 do genoma da cepa de referência HXB2. A segunda reação de amplificação (*nested* PCR) foi realizada com volume final de 25 µL contendo 1,5 mM MgCl₂, 0,05 mM dNTPs, 0,5 µM de *primers* internos (5' - GTA CAG TRT TAR TAG GAC CTA CAC CTG TC - 3' e 5' - ATC AGG ATG GAG TTC ATA MCC CAT CCA - 3'), 1U *Taq* polimerase e 1 µL do material da primeira

amplificação.²² O fragmento amplificado corresponde a aproximadamente 784 pares de bases, referente ao intervalo entre os nucleotídeos 2.473 e 3.257 do genoma da cepa de referência HXB2 e que abrange a região da recombinação do CRF31_BC (aproximadamente entre os nucleotídeos 2.975 e 3.197 do genoma do HXB2). Ambas as reações foram executadas utilizando desnaturação inicial a 94 °C por 3 min e extensão final de 72 °C por 5 min, e os seguintes programas específicos: primeira amplificação com 25 ciclos de 94 °C por 15 seg, 55 °C por 30 seg e 72 °C por 120 seg; e segunda amplificação com 40 ciclos de 94 °C por 15 seg, 60 °C por 30 seg e 72 °C por 120 seg. Os produtos foram avaliados em gel de poliacrilamida 10% corado com nitrato de prata. Os fragmentos amplificados foram posteriormente seqüenciados para determinação dos subtipos e da forma recombinante CRF31_BC do HIV-1. As reações de seqüenciamento foram realizadas utilizando o reagente *BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing* (Applied Biosystems, Foster City, Califórnia, EUA) e analisadas no seqüenciador automático *ABI 3130 XL Genetic Analyzer* (Applied Biosystems, Foster City, Califórnia, EUA). As reações de seqüenciamento foram realizadas em termociclador com uma etapa de desnaturação inicial a 95 °C por 3 min seguida de 40 ciclos de 95 °C por 10 seg, 60 °C por 240 seg, em volume final de 20 µL.

As seqüências de nucleotídeos de mesma amostra obtidas a partir dos *primers* da segunda amplificação foram editadas e montadas em dois programas: SeqMan (DNASar, Madison, Wisconsin, EUA) e BioEdit v7.0.9.¹¹ Um total de 43 seqüências completas do genoma de HIV foram obtidas do GenBank, representando subtipos e formas recombinantes circulantes, e foram utilizadas para a análise das seqüências geradas. As seqüências de todas as amostras foram alinhadas com as seqüências dos subtipos e formas recombinantes do HIV-1, utilizando o programa SeqAlign com o uso do algoritmo Clustal V. Nesse mesmo programa foi utilizado o método de *neighbor-joining* para o cálculo das distâncias e a construção da árvore filogenética. Os subtipos e a forma recombinante CRF_31BC foram identificados conforme a filogenia obtida.¹⁹

Nas amostras analisadas foram também realizadas as determinações de co-infecção crônica com os vírus das hepatites B (HBV) e C (HCV) e vírus linfotrópico de células T humanas I (HTLV-I) e II (HTLV-II), conforme procedimentos descritos previamente.^{9,12,25}

Os dados foram duplamente digitados no programa EpiData 3.1, checando sua consistência e realizando a limpeza dos dados. A análise dos dados foi realizada no programa SPSS 12.0. As variáveis quantitativas foram comparadas entre os grupos usando o teste t de

^a Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico - AIDS e DST. 2010;6(1).

Student ou o teste não paramétrico de Mann-Whitney. Comparação entre subtipos e variáveis clínicas, socio-demográficas e fatores de risco foi realizada usando teste t de Student, teste de qui-quadrado ou teste exato de Fisher, conforme apropriado. Foi analisada a distribuição por sexo das variáveis estudadas, devido às diferenças comportamentais de gênero. Foram considerados estatisticamente significativos os testes com $p < 0,05$.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Luterana do Brasil (Processo 139H/2007). Os participantes assinaram termo de consentimento livre e esclarecido.

RESULTADOS

As variáveis sociodemográficas, clínicas e comportamentais dos participantes estão apresentadas na Tabela 1. Dos 80 indivíduos, 52% eram mulheres, com idade média de 39,8 anos (DP = 11,7 anos), sendo os homens significativamente mais velhos do que as mulheres ($p < 0,05$). Entre as variáveis com diferenças estatisticamente significativas entre os sexos esteve a prática sexual: 95,1% das mulheres afirmaram manter relações heterossexuais, proporção significativamente maior em relação aos homens que referiram a mesma prática (78,1%, $p < 0,001$). Entre os homens, 20,5% afirmaram manter relações bissexuais e 7,7% homossexuais. Relações homo e bissexuais não foram relatadas pelas mulheres. A transmissão sexual foi a forma provável de infecção referida com maior frequência (86,3%), seguida do compartilhamento de seringas (8,8%), transfusão sanguínea (2,5%) e objetos cortantes (2,5%). A variável de exposição, uso de drogas injetáveis, foi relatada por 4,9% das mulheres, enquanto entre os homens o percentual encontrado foi de 25,6% ($p < 0,001$). Uma proporção maior de mulheres (65,9%) referiu ter feito cirurgia alguma vez na vida em relação aos homens (41,0%) ($p < 0,05$).

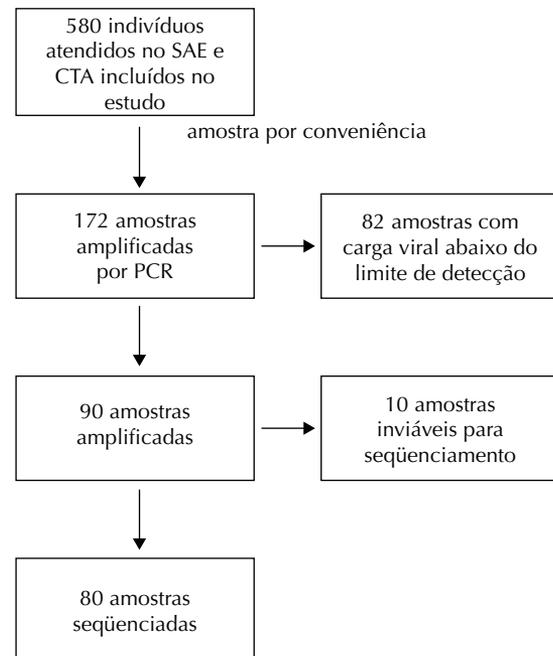
A comparação entre os dados dos 80 pacientes que tiveram as amostras seqüenciadas com os demais 500 pacientes participantes não mostrou diferenças com relação à maior parte das características analisadas (dados não mostrados). Diferenças significativas foram observadas apenas com relação à carga viral (carga viral em \log_{10} cópias/ml: 3,2 – DP = 1,4 nos pacientes genotipados; 2,8 – DP = 1,4 nos 500 pacientes do restante da amostra; $p < 0,01$) e estado clínico categorizado pelo CD4 (21,3% de pacientes com quadro grave entre os genotipados, 12,2% entre os não genotipados; $p < 0,05$). As duas variáveis estão correlacionadas, auxiliando a justificar o baixo rendimento obtido nos procedimentos experimentais de seqüenciamento que tiveram início em uma amostra de conveniência de 172 pacientes e obtiveram resultados em 80 amostras (Figura).

Os subtipos de HIV-1 observados foram C (43,8%; IC 95%: 32,9;54,6), seguido de CRF31_BC (35,0%; IC 95%: 24,6;45,5), B (18,8%; IC 95%: 10,2;27,3) e F (2,4%; IC 95%: 0;5,9). São apresentadas na Tabela 2 as variáveis sociodemográficas, clínicas e comportamentais dos participantes, estratificadas pelos subtipos C, B e CRF31_BC do HIV (os dados dos dois indivíduos que apresentavam o subtipo F não foram incluídos). A análise entre os subtipos revelou diferenças significativas no tempo de diagnóstico. Pacientes infectados com CRF31_BC apresentaram diagnóstico mais recente (4,6 anos, DP=3,2) do que os pacientes infectados com o subtipo B (7,9 anos, DP=4,2; $p < 0,05$).

Com relação à co-infecção com outros vírus (HCV, HBV e HTLV) foi observado que 17 (21,3%) amostras foram positivas para o HCV, duas (2,5%) para o HBV, duas (2,5%) para o HTLV-I e duas (2,5%) para o HTLV-II. Na comparação da frequência de indivíduos co-infectados por HCV, HBV, HTLV-I ou HTLV-II, observou-se uma proporção maior nos indivíduos do subtipo CRF31_BC (42,9%) do que nos outros subtipos agrupados (17,3%; $p < 0,05$).

DISCUSSÃO

O estado do Rio Grande do Sul apresenta uma característica epidemiológica própria de disseminação dos subtipos do HIV-1, com uma elevada prevalência do subtipo C e da forma recombinante CRF31_BC,



SAE: serviço de atendimento especializado; CTA: centro de testagem e aconselhamento; PCR: reação em cadeia da polimerase.

Figura. Fluxograma da amostra de pacientes com HIV-1. Canoas, RS, 2008.

conforme mostram estudos prévios realizados nos municípios de Porto Alegre (capital) e Rio Grande (sul do Estado).^{3,4,7,14,19-21} No presente trabalho, a elevada prevalência do subtipo C e da CRF31_BC foi observada também no município de Canoas, com frequências ainda mais elevadas (de 43,8% e 35,0%, respectivamente) do que em outros locais do estado. Foram ainda encontrados os subtipos B e F (18,8% e 2,4%, respectivamente), não tendo sido observados outros subtipos.

Estudo recente mostrou que a disseminação dos vírus do subtipo C e da forma recombinante CRF31_BC apresentou uma taxa mais elevada de crescimento no Rio Grande do Sul nas últimas décadas, em relação aos demais subtipos.¹ Fatores que provavelmente contribuíram para essa ampla disseminação têm sido estudados e incluem características do próprio vírus (replicação e origem evolutiva), do hospedeiro humano e da dinâmica ecológica da epidemia da Aids.

Tabela 1. Fatores sociodemográficos, clínicos e comportamentais em pacientes com HIV-1. Canoas, RS, 2008. (N = 80)

Variável	Total (n = 80) média (DP)	Homens (n = 39) média (DP)	Mulheres (n = 41) média (DP)	P
Idade (anos)	39,8 (11,7)	42,7 (10,7)	36,9 (12,0)	0,02
Escolaridade				0,89
Até ensino fundamental completo	59 (73,8)	28 (71,8)	31 (75,6)	
Ensino Médio ou Superior	21 (26,2)	11 (28,2)	10 (24,4)	
Renda <i>per capita</i> no domicílio, em salários mínimos (quartis 25%-75%)	0,8 (0,2;1,2)	0,9 (0,3;1,4)	0,6 (0,2;0,7)	0,06
Estado clínico ^a				0,61
Leve	32 (40,0)	15 (38,5)	17 (41,5)	
Moderado	11 (13,8)	7 (17,9)	4 (9,8)	
Grave	17 (21,3)	8 (20,6)	9 (22,0)	
Carga viral (log ₁₀ cópias/ml)	3,2 (1,4)	3,2 (1,4)	3,2 (1,4)	0,97
Prática sexual ^a				<0,001
Heterossexual	67 (83,8)	28 (71,8)	39 (95,1)	
Homossexual	3 (3,8)	3 (7,7)	-	
Bissexual	8 (10,0)	8 (20,5)	-	
Número de parceiros sexuais nos últimos 12 meses	2,6 (6,7)	4,0 (9,3)	1,3 (0,7)	0,94
Possível forma de infecção ^b				0,58
Sexo	69 (86,3)	30 (76,9)	39 (95,1)	
Transfusão sanguínea	2 (2,5)	1 (2,6)	1 (2,4)	
Objetos cortantes	2 (2,5)	1 (2,6)	1 (2,4)	
Compartilhamento de seringa	7 (8,8)	5 (12,8)	2 (4,9)	
Co-infecção crônica				
HCV	17 (21,3)	10 (25,6)	7 (17,1)	0,51
HBV	2 (2,5)	2 (5,1)	0 (0)	0,23
HTLV	4 (5)	3 (7,7)	1 (2,4)	0,58
Co-infecção viral	21 (26,3)	13 (33,3)	8 (19,5)	0,25
Tempo do diagnóstico (anos)	6,0 (3,9)	5,9 (4,2)	6,2 (3,6)	0,78
Uso de drogas injetáveis	12 (15,0)	10 (25,6)	2 (4,9)	<0,01
Transfusão sanguínea	14 (17,5)	5 (12,8)	9 (22,0)	0,43
Presença de tatuagem	17 (21,2)	13 (33,3)	4 (9,8)	0,02
Uso de piercing	5 (6,3)	2 (5,1)	3 (7,3)	1,00
Cirurgia dentária	74 (92,5)	37 (94,9)	37 (90,2)	0,68
Cirurgia	43 (53,8)	16 (41,0)	27 (65,9)	0,04
Uso de anti-retrovirais	53 (66,3)	25 (64,1)	28 (68,3)	0,90

HCV: vírus da hepatite C; HBV: vírus da hepatite B; HTLV: vírus linfotrófico de células T humanas.

^a Os totais não coincidem devido à falta de dados para alguns participantes do estudo.

^b Resposta múltipla.

Um aspecto viral relevante parece ser a maior capacidade de multiplicação viral do subtipo C em relação a outros subtipos e formas recombinantes. Essa capacidade pode estar relacionada a regiões no gene do envelope, conhecidas como V3 e V5. Essas regiões estão associadas a um aumento na taxa de replicação do vírus nos linfócitos T primários e nos macrófagos derivados de monócitos, resultando em um aumento da carga viral – que favorece a disseminação –, além de uma progressão mais rápida da doença nos indivíduos infectados com esse subtipo.²³ Essa situação provavelmente também ocorre com a CRF31_BC, na medida em que a maior parte do genoma é do subtipo C, com uma pequena inserção do B na região do gene da transcriptase reversa.^{14,19} A esse aspecto soma-se um forte efeito fundador, pois o subtipo C e o recombinante CRF31_BC estão circulando há mais de 20 anos no RS, tendo sido introduzidos em etapas iniciais da epidemia

da Aids no estado.^{2,15,19} Ainda não se sabe se essas variantes também tiveram alguma vantagem evolutiva por pressão antrópica, principalmente devido ao uso intensivo dos medicamentos anti-retrovirais, que podem ter alterado a composição da população dos vírus como quasispécies e favorecido a emergência de cepas resistentes, gerando novos diferenciais de transmissibilidade e capacidade reprodutiva (*fitness*).

Estudos prévios sugerem que o subtipo C possua maior facilidade de transmissão heterossexual do que o subtipo B, o que também ajuda a justificar a feminização crescente da epidemia.^{13,21} Adicionalmente, outros estudos mostram alguns gargalos de seleção, determinados por características intrínsecas à transmissão heterossexual, que podem ainda ter contribuído para a seleção de determinadas variantes genéticas.¹⁰ No entanto, no presente estudo não foi observada maior

Tabela 2. Fatores sociodemográficos, clínicos e comportamentais em pacientes estratificados por subtipos do HIV-1. Canoas, RS, 2008.

Variável	Subtipos do HIV-1*			P
	B (n = 15) média (DP)	C (n = 35) média (DP)	CRF31_BC (n = 28) média (DP)	
Sexo masculino	7 (46,7)	19 (54,3)	12 (42,9)	0,66
Idade (anos)	44,3 (14,5)	38,3 (11,4)	38,7 (10,3)	0,77
Estado clínico ^a				0,76
Leve	6 (40,0)	15 (42,9)	10 (35,7)	
Moderado	3 (20,0)	4 (11,4)	4 (14,3)	
Grave	2 (13,3)	7 (20,0)	8 (28,6)	
Carga viral (log10 cópias/ml)	3,6 (1,6)	3,2 (1,3)	3,1 (1,4)	0,58
Tempo do diagnóstico	7,9 (4,2)	6,4 (4,0)	4,6 (3,2)	0,04
Prática sexual ^a				0,30
Heterossexual	12 (80,0)	29 (82,9)	24 (85,7)	
Homossexual	2 (13,3)	1 (2,9)	-	
Bissexual	1 (6,7)	4 (11,4)	3 (10,7)	
Número de parceiros sexuais nos últimos 12 meses	5,8 (9,1)	1,4 (1,6)	2,8 (8,9)	0,14
Possível forma de infecção ^b				0,67
Sexo	15 (100,0)	30 (85,7)	23 (82,1)	
Transfusão sanguínea	1 (6,7)	1 (2,9)	-	
Objetos cortantes	-	1 (2,9)	1 (3,6)	
Compartilhamento de seringa	-	3 (8,6)	4 (14,3)	
Co-infecção crônica				
HCV	2 (13,3)	6 (17,1)	9 (32,1)	0,24
HBV	-	-	2 (7,1)	0,16
HTLV	1 (6,7)	1 (2,9)	2 (7,1)	0,67
Co-infecção viral	2 (13,3)	7 (20,0)	12 (42,9)	0,06
Uso de drogas injetáveis	-	6 (17,1)	6 (21,4)	0,15
Uso de anti-retrovirais	12 (80,0)	21 (60,0)	18 (64,3)	0,39

* Os dados são mostrados como número de pacientes (percentual), média (desvio-padrão).

^a Os totais não coincidem devido à falta de dados para alguns participantes do estudo.

^b Resposta múltipla

HCV: vírus da hepatite C; HBV: vírus da hepatite B; HTLV: vírus linfotrófico de células T humanas.

freqüência do subtipo C entre mulheres nem associação com transmissão heterossexual.

Estruturas das redes sociais podem influenciar a epidemiologia molecular do HIV. A alta freqüência do subtipo C e do recombinante CRF31_BC pode ter sido favorecida pelo fluxo de pessoas entre Canoas e Porto Alegre, principalmente pelo fato de a capital do estado ser um centro de referência para tratamento e obtenção de medicamentos. A contribuição das estruturas das redes sociais na disseminação do HIV-1 já tinha sido observada em outra região do País.¹⁷

Com relação aos aspectos sociodemográficos, não foram observadas diferenças na distribuição dos subtipos e CRF quanto ao sexo e práticas sexuais. Resultado similar foi observado em estudo prévio realizado no município de Porto Alegre que, no entanto, reporta associação da disseminação do subtipo B com a prática sexual anal e, indiretamente, maior taxa de transmissão das outras variantes por intercuro vaginal.⁷ Por outro lado, a observação de que o uso de drogas injetáveis aparece com maior freqüência entre os subtipos C e CRF31_BC e com alta prevalência entre os homens (25,6%) levanta a possibilidade da disseminação de tais subtipos entre mulheres por “populações pontes”. Isso porque não ocorre diferença de freqüência dos subtipos entre os sexos, nem entre práticas sexuais, e a maioria das mulheres refere práticas heterossexuais e não é usuária de drogas injetáveis. A disseminação dos subtipos de forma homogênea entre os sexos talvez

possa ser atribuída às relações sexuais entre homens usuários de drogas injetáveis e mulheres.

No presente estudo observou-se também que a variante CRF31_BC apresenta freqüência significativamente maior de co-infecções crônicas (por HCV, HBV, HTLV-I ou HTLV-II) que os outros subtipos, assim como tem maior freqüência de usuários de drogas injetáveis. Essas diferenças entre subtipos de HIV-1 quanto às co-infecções crônicas sugerem que as vias de transmissão podem ser diferentes para cada subtipo.

Considerando as limitações do tipo de delineamento do estudo, em que o desfecho e exposições são coletados simultaneamente, há a impossibilidade de se identificar a causalidade dos fatores estudados. Ainda, o poder estatístico para detectar diferenças no presente estudo é limitado, devido ao pequeno tamanho amostral, impossibilitando a realização de análise múltipla. Além disso, a metodologia de análise dos subtipos foi realizada na região da recombinação do CRF31_BC, e é possível que outras formas recombinantes circulantes ou únicas não tenham sido detectadas. Não obstante, os resultados obtidos contribuem para um melhor conhecimento da diversidade e das particularidades na disseminação dos subtipos do HIV-1 nessa população.

Em conclusão, os dados obtidos no presente estudo confirmam a disseminação do subtipo C e da CRF31_BC em um centro urbano do sul do Brasil e sugerem que os subtipos podem apresentar vias de transmissão diferentes.

REFERÊNCIAS

- Bello G, Guimarães ML, Passaes CP, Matos Almeida SE, Veloso VG, Morgado MG. Evidences of recent decline in the expansion rate of the HIV type 1 subtype C and CRF31_BC epidemics in southern Brazil. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2009;25(11):1065-9. DOI:10.1089/aid.2009.0106
- Bello G, Passaes CP, Guimarães ML, Lorete RS, Matos Almeida SE, Medeiros RM, et al. Origin and evolutionary history of HIV-1 subtype C in Brazil. *AIDS*. 2008;22(15):1993-2000.
- Brígido LF, Nunes CC, Oliveira CM, Knoll RK, Ferreira JL, Freitas CA, et al. HIV type 1 subtype C and CRF31_BC recombinants prevail at the cities with the highest AIDS prevalence rate in Brazil. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2007;23(12):1579-86. DOI:10.1089/aid.2007.0102
- Brindeiro RM, Diaz RS, Sabino EC, Morgado MG, Pires IL, Brígido L, et al. Brazilian Network for HIV Drug Resistance Surveillance (HIV-BResNet): a survey of chronically infected individuals. *AIDS*. 2003;17(7):1063-9.
- Carrion G, Eyzaguirre L, Montano SM, Laguna-Torres V, Serra M, Aguayo N, et al. Documentation of subtype C HIV Type 1 strains in Argentina, Paraguay, and Uruguay. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2004;20(9):1022-5. DOI:10.1089/aid.2004.20.1022
- Queiroz ATL, Mota-Miranda ACA, Oliveira T, Moreau DR, Uripia CC, Carvalho CM, et al. Re-mapping the molecular features of the human immunodeficiency virus type 1 and human T-cell lymphotropic virus type 1 Brazilian sequences using a bioinformatics unit established in Salvador, Bahia, Brazil, to give support to the viral epidemiology studies. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2007;102(2):133-9. DOI:10.1590/S0074-02762007005000005.
- Dias CF, Nunes CC, Freitas IO, Lamego IS, Oliveira IMR, Gilli S, et al. High prevalence and association of HIV-1 non-B subtype with specific sexual transmission risk among antiretroviral naïve patients in Porto Alegre, RS, Brazil. *Rev Inst Med Trop S Paulo*. 2009;51(4):191-6. DOI:10.1590/S0036-46652009000400003
- Espinosa A, Vignoles M, Carrillo MG, Sheppard H, Donovan R, Peralta LM, et al. Intersubtype BF recombinants of HIV-1 in a population of injecting drug users in Argentina. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2004;36(1):630-6. DOI:10.1097/00126334-200405010-00012
- Fernandes LM, Lunge VR, Fonseca ASK, Ikuta N, Bianchini O, Jardim C, et al. Diagnóstico clínico-laboratorial de paraparesia espástica tropical associada ao HTLV (TSP/HAM). *NewsLab*. 1996;19:116-21.

10. Haaland RE, Hawkins PA, Salazar-Gonzalez J, Johnson A, Tichacek A, Karita E, et al. Inflammatory genital infections mitigate a severe genetic bottleneck in heterosexual transmission of subtype A and C HIV-1. *PLoS Pathog.* 2009;5(1):e1000274. DOI:10.1371/journal.ppat.1000274
11. Hall TA. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl Acids Symp Ser.* 1999;(41):95-8.
12. Krug LP, Lunge VR, Ikuta N, Fonseca AS, Cheinquer H, Ozaki LS, et al. Hepatitis C virus genotypes in Southern Brazil. *Braz J Med Biol Res.* 1996;29(12):1629-32.
13. Orione MA, Assis SB, Souto FJD. Perfil epidemiológico de puérperas e prevalência de anticorpos para infecção pelo HIV e vírus da hepatite C em Cuiabá, Mato Grosso. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2006;39(2):163-8. DOI:10.1590/S0037-86822006000200006
14. Passaes CP, Bello G, Lorete RS, Matos Almeida SE, Junqueira DM, Veloso VG, et al. Genetic characterization of HIV-1 BC recombinants and evolutionary history of the CRF31_BC in Southern Brazil. *Infect Genet Evol.* 2009;9(4):474-82. DOI:10.1016/j.meegid.2009.01.008
15. Penny MA, Thomas SJ, Douglas NW, Ranjbar S, Holmes H, Daniels RS. env gene sequences of primary HIV type 1 isolates of subtypes B, C, D, E, and F obtained from the World Health Organization Network for HIV Isolation and Characterization. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 1996;12(8):741-7. DOI:10.1089/aid.1996.12.741
16. Pinto ME, Struchiner CJ. A diversidade do HIV-1: uma ferramenta para o estudo da pandemia. *Cad Saude Publica.* 2006;22(3):473-84. DOI:10.1590/S0102-311X2006000300002
17. Reis CT, Czeresnia D, Barcellos C, Tassinari WS. A interiorização da epidemia de HIV/AIDS e o fluxo intermunicipal de internação hospitalar na Zona da Mata, Minas Gerais, Brasil: uma análise espacial. *Cad Saude Publica.* 2008;24(6):1219-28. DOI:10.1590/S0102-311X2008000600003
18. Requejo HIZ. Worldwide molecular epidemiology of HIV. *Rev Saude Publica.* 2006;40(2):331-45. DOI:10.1590/S0034-89102006000200023
19. Santos AF, Schrago CG, Martinez AM, Mendoza-Sassi R, Silveira J, Sousa TM, et al. Epidemiologic and evolutionary trends of HIV-1 CRF31_BC-related strains in southern Brazil. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2007;45(3):328-33.
20. Santos AF, Sousa TM, Soares EA, Sanabani S, Martinez AM, Sprinz E, et al. Characterization of a new circulating recombinant form comprising HIV-1 subtypes C and B in southern Brazil. *AIDS.* 2006;20(16):2011-9.
21. Soares EA, Martínez AM, Souza TM, Santos AF, Da Hora V, Silveira J, et al. HIV-1 subtype C dissemination in southern Brazil. *AIDS.* 2005;19 Suppl 4:81-6.
22. Stuyver L, Wyseur A, Rombout A, Louwagie J, Scarcez T, Verhofstede C, et al. Line probe assay for rapid detection of drug-selected mutations in the human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase gene. *Antimicrob Agents Chemother.* 1997;41(2):284-91.
23. Sundaravaradan V, Das SR, Ramakrishnan R, Sehgal S, Gopalan S, Ahmad N, et al. Role of HIV-1 subtype C envelope V3 to V5 regions in viral entry, coreceptor utilization and replication efficiency in primary T-lymphocytes and monocyte-derived macrophages. *Virol J.* 2007;4:126. DOI:10.1186/1743-422X-4-126
24. Thomson MM, Villahermosa ML, Vázquez-de-Parga E, Cuevas MT, Delgado E, Manjón N, et al. Widespread circulation of a B/F intersubtype recombinant form among HIV-1-infected individuals in Buenos Aires, Argentina. *AIDS.* 2000;14(7):897-9.
25. Welzel TM, Miley WJ, Parks TL, Goedert JJ, Whitby D, Ortiz-Conde BA. Real-time PCR assay for detection and quantification of hepatitis B virus genotypes A to G. *J Clin Microbiol.* 2006;44(9):3325-33. DOI:10.1128/JCM.00024-06

Pesquisa financiada pelo Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Programa Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e Aids (MS/SVS/PN-DST/AIDS – Termo de Cooperação 282/07), por meio do Projeto de Cooperação Técnica Internacional AD/BRA/03/H34 firmado entre o Governo Brasileiro e o Escritório das Nações Unidas contra Drogas e Crime – UNODC. Os procedimentos de análise de biologia molecular de HBV, HCV e HTLV I/II foram estabelecidos pelo projeto “Desenvolvimento de kits de Testes Moleculares – TM para detecção e quantificação de agentes virais – Hepatites B e C e HIV baseados na tecnologia Real Time PCR”, patrocinado pela Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) e Simbios Biotecnologia (FINEP/FULBRA/LDM – Ação Transversal 2006 – convênio no. 0.1.07.0102.00). Os autores declaram não haver conflitos de interesse.