

# Prevalência e fatores de risco associados ao Subtipo C do HIV-1 em pacientes soropositivos em acompanhamento no Ambulatório de Dermatologia Sanitária da Secretaria da Saúde do RGS

Regina Loureiro<sup>1</sup>

Deborah Blank<sup>2</sup>

Ana Rejane Wortmann<sup>3</sup>

Themis Rosa<sup>3</sup>

Marisa Morgado<sup>4</sup>

**Resumo:** Existem dois tipos de HIV descritos até hoje, o HIV-1 e o HIV-2. Análises genéticas do HIV-1 resultaram inicialmente em 10 subtipos. O subtipo B do grupo M do HIV-1 tem sido o mais encontrado nos países da América Latina, no Caribe, e também no Brasil. Mas um crescimento de outros subtipos do mesmo grupo (F, C, D e B/F), e outros re-combinantes, tem sido evidenciados ultimamente. Informações recentes reportam que re-combinações de HIV-1 também tem-se traduzido em sub-epidemias regionais. Alguns estudos epidemiológicos evidenciaram maior prevalência de subtipo C onde havia maior predominância de mulheres entre os casos. A partir destes resultados, decidimos avaliar uma possível associação entre este subtipo do HIV-1 e a transmissão heterossexual – especialmente entre as mulheres. Nosso estudo confirmou a alta prevalência do subtipo C em nossa região. Entretanto, encontramos uma forte associação, estatisticamente significativa, com transmissão sanguínea – principalmente por conta dos Usuários de Drogas Injetáveis.

**Palavras-Chave:** Infecção por HIV-1, subtipo C do HIV-1

## Introdução

O Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) apresenta uma considerável variabilidade genética e antigênica que pode ser evidenciada em diferentes regiões geográficas do mundo. Ainda é controverso se essa variabilidade está ou não associada à eficiência de algumas vias de transmissão ou com a evolução da doença. Existem dois tipos de HIV circulantes no mundo descritos até hoje, o HIV-1 e o HIV-2. O HIV-1 encontra-se disseminado mundialmente e é considerado um dos patógenos que apresenta maior variabilidade genética. Este é, praticamente, o único tipo do vírus presente no Brasil.

Através da análise de seqüências dos genes do envelope (*env*) e *gag*, verificou-se a extensa variação genética deste vírus - que é maior no *env* gene e alguns dos genes reguladores e menor nos *gag* e *pol* genes. Análises filogenéticas destas seqüências dos *env* e também dos *gag* genes resultaram em uma classificação de subtipos do HIV. A distribuição geográfica dos diferentes subtipos varia bastante de país para país e também ao longo do tempo, refletindo a dinâmica e a complexida-

<sup>1</sup> Epidemiologista do ADS – SES/RS – coordenadora da pesquisa, e-mail:regina@logic.com.br

<sup>2</sup> Acadêmica de Medicina da UFRGS – bolsista de pesquisa

<sup>3</sup> Médicas Residentes do ADS – SES/RS – pesquisadoras

<sup>4</sup> Pesquisadora do Instituto Oswaldo Cruz – FIOCRUZ – Rio de Janeiro - responsável pelo teste das amostras

de da Epidemia de AIDS. Análises genéticas do HIV-1 resultaram inicialmente em 10 subtipos - classificados de A a J que constituem o maior grupo (M - major). Dois grupos adicionais foram posteriormente identificados e chamados de O (O - outliers) e N (N- non-M e non-O). Além disso, re-combinações genéticas entre os diferentes subtipos do grupo M tem sido importante fator de aumento do mosaico de formas virais com imprevisíveis propriedades antigênicas e biológicas. (ref.1)

Informações recentes reportam que re-combinações de HIV-1 também tem-se traduzido em sub-epidemias regionais. O subtipo B do grupo M do HIV-1 tem sido o mais encontrado nos países da América Latina, no Caribe, e também no Brasil. Mas um crescimento de outros subtipos do mesmo grupo (F, C, D e B/F e outros re-combinantes) tem sido evidenciados ultimamente. (ref.2)

Os primeiros estudos feitos para avaliar a distribuição do HIV-1, segundo os seus diversos subtipos, sugeria a associação estatística de alguns subtipos com algumas formas de transmissão. Alguns estudos epidemiológicos mostraram uma prevalência maior de subtipo B em regiões onde havia maior predominância de infecção transmitida por contato homossexual, assim como de subtipo C em lugares onde destacava-se o crescimento de mulheres entre os casos novos de HIV-1 (África, Ásia e América do Sul), (ref.3 ). No Rio Grande do Sul, em 1995, um estudo feito com gestantes mostrou alta prevalência de infecção por HIV-1 (3,1%) - tão alta quanto nas cidades brasileiras de maior prevalência geral (Santos e Itajaí) - em uma amostra de mulheres que não poderiam ser caracterizadas como população de alto risco. Uma avaliação dos subtipos desta amostra encontrou alta prevalência de subtipo C (25%). Resultados semelhantes foram encontrados também em Itajaí - alta prevalência de infecção em mulheres e alta prevalência de subtipo C.

Este dado, em princípio, reforçava a hipótese - baseada nos dados epidemiológicos que evidenciavam maior prevalência de subtipo C onde havia maior prevalência de mulheres entre os casos - de que este subtipo poderia estar associado à transmissão heterossexual. Entretanto, mais recentemente, um estudo feito em Belo Horizonte evidenciou alta prevalência de subtipo C entre UDI .

Este estudo foi planejado com intenção de conhecer melhor as variações genéticas no RGS e de investigar a possibilidade de associação dos diversos subtipos a algumas formas específicas de transmissão, testar a hipótese de associação do subtipo C ao sexo feminino e à transmissão heterossexual. E, também, verificar se ocorrem alterações específicas na evolução e gravidade da infecção que possam estar associadas aos diversos subtipos.

## **Metodologia**

Um estudo transversal avaliou 92 pacientes atendidos no Ambulatório de Dermatologia Sanitária da Secretaria da Saúde e Meio Ambiente do Rio Grande do Sul (ADS -SSMA/RS) no período de junho/julho de 1998.

Uma amostra consecutiva foi recrutada entre os pacientes em acompanhamento clínico com infecção por HIV-1. Todos os participantes do estudo foram informados

sobre os objetivos, riscos e benefícios do estudo e também sobre a não obrigatoriedade de participar do mesmo. Todos concordaram e assinaram o termo de consentimento. Uma amostra de 20ml de sangue foi coletada de cada um dos participantes e enviada ao laboratório de virologia da Fiocruz, onde foram testadas para determinar o subtipo do HIV-1.

Todos os pacientes responderam a um questionário para avaliação de alguns dados epidemiológicos e clínicos. Foram identificadas variáveis demográficas - sexo, idade, escolaridade, bairro e município de residência (atual e anterior); variáveis sobre situação clínica - época do diagnóstico da infecção, situação clínica na época do estudo, uso de medicação antiretroviral e CD4 (na época do estudo e um ano após). As variáveis identificadas como possíveis fatores de risco para transmissão do HIV foram: categoria de exposição (as clássicas), parceria sexual, opção sexual, número de parceiros sexuais, parceiros sexuais de outros estados ou países, prática de sexo anal, sexo com profissional do sexo, número de DST, uso de drogas injetáveis, uso compartilhado de seringas e prática de compartilhar seringas com pessoas de outros estados ou países.

## Resultados

Dos 92 indivíduos pesquisados, 71,7% (66) eram do sexo masculino e a média de idade foi de 35 anos (com desvio padrão = 9 e mediana = 34), 66 (71,7%) pacientes tinham menos de 40 anos. A maioria dos participantes do estudo (81 indivíduos - 88%) residia em Porto Alegre ou algum município da região metropolitana e, somente 9 (10%) dos 92 pacientes, haviam residido em outro município, antes de mudar-se para o endereço atual, nos últimos 5 anos. A distribuição segundo a escolaridade mostrou que quase metade da amostra (45 - 48,9%) tinha no máximo o primeiro grau completo, embora 16,3% (15 indivíduos) tenham informado possuir curso superior (completo ou incompleto). Quanto à situação clínica, a grande maioria dos participantes (74 indivíduos - 80,4%) ainda não havia apresentado sintomas, 66 dos 92 pacientes tinham conhecido o diagnóstico da infecção há menos de 4 anos, mas 62% (57) dos pacientes estudados já estavam usando medicação antiretroviral na época. Quanto à medida do CD4 - que foi verificada em dois períodos diferentes (com um ano de intervalo) - observamos uma pequena diminuição da proporção de pacientes com CD4<250 no segundo período (33,7% - 28,3%). Entretanto, a perda de quase 35% dos pacientes na segunda avaliação nos impede de fazer qualquer inferência a respeito deste resultado.

Foram identificados 4 subtipos do HIV-1 nesta amostra: subtipo B em 42 pacientes (45,7%); B brasileiro em 11 (12%); subtipo C em 30 pacientes (32,6%); e subtipo F em 5 pacientes (5,4%). Em quatro pacientes (0,3%) não foi possível identificar os subtipos por problemas técnicos diversos.

A distribuição dos diversos subtipos e as outras variáveis estudadas foram analisadas por sexo, por apresentarem perfis diferentes para cada um deles, e estão descritos na Tabela 1. Entre as variáveis estudadas, destacaram-se como

diversamente distribuídas entre os sexos as categorias de exposição: *heterossexual* - onde 96,2% - 25 das 26 mulheres estudadas identificaram como principal fator de risco para sua infecção, embora 2 delas também tenham se definido como usuárias de drogas, e uma tenha relatado receber transfusão sangüínea, e *uso de drogas injetáveis* - onde somente homens identificaram como provável forma de transmissão do HIV. Quanto ao número de parceiros sexuais, indivíduos de ambos os sexos admitiram ter tido vários ao longo da vida, entretanto, 25 homens (37,9%) relataram terem mais de 20 parceiros, enquanto somente 2 mulheres (7,7%) relataram a mesma quantidade de parceiros. Somente seis mulheres (23,1%) tiveram parceiros sexuais de outros estados nos últimos 5 anos, enquanto 20 homens (30,3%) disseram a mesma coisa. A maioria dos parceiros citados eram de São Paulo, Santa Catarina e Rio de Janeiro. Quando inquiridos sobre se tinham tido parceiros sexuais de outros países, somente 3 mulheres (11,5%) e 10 homens (15,2%) responderam que sim - praticamente todos estes parceiros eram da Argentina ou Uruguai. Quanto à prática de sexo anal, 55 homens (60%) e 11 mulheres (42,3%) admitiram ter regularmente. E quanto à ocorrência de doenças sexualmente transmissíveis, 18 homens (27,3%) e uma mulher (3,8%) relataram ter tido mais de uma ao longo da vida. Nenhuma das 26 mulheres relatou uso de drogas injetáveis, mas dos 66 homens estudados, 28 (42,4%), relataram esta prática. Destes vinte e oito homens, 21 (75%) compartilhavam seringas - sendo que 16 deles, com mais de uma pessoa. Seis destes indivíduos compartilharam seringas com pessoas de outros estados (São Paulo, Santa Catarina e Rio de Janeiro), e três relataram ter usado drogas com pessoas de outros países (Argentina, Uruguai e Paraguai).

A Tabela 2 mostra a distribuição dos diversos subtipos de HIV-1, segundo as variáveis estudadas. Os resultados mostraram uma distribuição bastante uniforme para a maioria das variáveis de exposição testadas. Uma avaliação descritiva da amostra apontou para uma possível associação estatisticamente significativa somente para duas situações específicas. A categoria de exposição sangüínea - mais especificamente por conta da transmissão por UDI - mostrou percentuais maiores de indivíduos com subtipo C em relação a todos os outros subtipos. Nenhum outro subtipo mostrou alguma tendência de associação com qualquer uma das variáveis estudadas. A amostra de pacientes com subtipo F ficou bastante prejudicada na avaliação, pois o número de pacientes com este subtipo foi muito pequeno. O subtipo C, que praticamente só foi encontrado no sul do país, e apresentou alta prevalência nesta amostra, foi testado separadamente - comparando com os outros subtipos (Tabela 3). Para avaliação de significância estatística, as variáveis de exposição que mostraram maior possibilidade de associação com o subtipo C foram transformadas em variáveis dicotômicas. As categorias *Exposição Sangüínea e Uso de Drogas Injetáveis* mostraram forte associação estatística com alto índice de significância ( $p < 0,001$ ) e um risco quase duas vezes maior de ter HIV-1 do subtipo C, em ambas categorias de exposição. As demais variáveis testadas não se mostraram significativamente associadas ao subtipo C nesta amostra.

**Tabela 1** – Distribuição de algumas variáveis de exposição conforme o sexo

VARIÁVEL EXPOSIÇÃO	MASCULINO		FEMININO	
	Freq.	%	Freq.	%
<b>Subtipo (n=92)</b>				
B internacional	30	45,5	12	46,1
B brasileiro	8	12,1	3	11,5
C	21	31,8	9	34,6
F	4	6,1	1	3,8
Não identificado	3	4,5	1	3,8
<b>Categ. De exposição (n=91)</b>				
Homo e bissexual masc.	31	47,7	-	-
Heterossexual	11	16,9	22	84,6
UDI + Transusão	9	13,8	1*	3,8
Sexual + Sangüínea	14	21,5	3	11,5
<b>Parceiros de outros Estados (n=90)</b>				
Sim	20	31,2	6	23,1
Não	44	68,8	20	76,9
<b>Parceiros de outros Países (n=90)</b>				
Sim	10	15,6	3	11,5
Não	54	84,4	23	88,5
<b>Prática de sexo anal (n=92)</b>				
Sempre	21	31,8	1	3,8
Às Vezes	34	51,5	10	38,5
Nunca	11	16,7	15	57,7
<b>Sexo c/ profissionais do sexo (n=90)</b>				
Sim	29	45,3	Zero	-
Não	35	54,7	26	100,0
<b>Número de DST no passado (n=90)</b>				
Nenhuma	27	42,2	20	76,9
Uma	19	29,7	5	19,2
Mais de uma	18	28,1	1	3,9
<b>Uso de drogas injetáveis (n=92)</b>				
Sim	28	42,2	Zero	-
Não	38	57,6	26	100,0
<b>Uso compartilhado de seringa para UDI (n=28)</b>				
Não – sempre usa sozinho	5	17,9	-	-
Sim – com uma pessoa fixa	5	17,9	-	-
Sim – com mais de uma	16	57,1	-	-
Não respondeu	2	7,1	-	-

**Tabela 2** – Distribuição de algumas variáveis estudadas conforme os diferentes subtipos

VARIÁVEL DE EXPOSIÇÃO	Subtipo B int.		Subtipo B bras.		Subtipo C		Subtipo F	
	Freq.	%	Freq.	%	Freq.	%	Freq.	%
<b>Sexo</b>								
Masculino	30	71,4	8	2,7	21	70,0	4	80,0
Feminino	12	28,6	3	27,3	9	30,0	1	20,0
<b>Categoria de exposição</b>								
Homo e bissexual	17	40,5	5	45,5	5	16,7	2	40,0
Heterossexual	16	38,1	5	45,5	8	26,7	2	40,0
UDI + Transfusão	3	7,1	1	9,0	6	20,0	Zero	-
Sexual + sanguínea	6	14,3	Zero	-	11	36,6	1	20,0
<b>Parceiros de outros Estados</b>								
Sim	13	30,9	4	36,4	5	16,7	3	60,0
Não	29	69,1	7	63,6	25	83,3	2	40,0
<b>Parceiros de outros Países</b>								
Sim	5	11,9	2	18,2	3	10,0	3	60,0
Não	37	88,1	9	81,8	27	90,0	2	40,0
<b>Prática de sexo anal</b>								
Sempre	11	26,2	2	18,2	5	16,7	3	60,0
Às vezes	20	47,6	4	36,4	16	53,3	2	40,0
Nunca	11	26,2	5	45,4	9	30,0	Zero	-
<b>DST no passado</b>								
Nenhuma	24	57,2	3	27,3	18	60,0	1	20,0
Uma	9	21,4	7	63,6	6	20,0	2	40,0
Mais de uma	9	21,4	1	9,1	6	20,0	2	40,0
<b>Uso de drogas injetáveis</b>								
Sim	8	19,0	2	18,2	17	56,7	1	20,0
Não	34	81,0	9	81,8	13	43,3	4	80,0
<b>Compartilha seringa (n=26)</b>								
Não	3	37,5	Zero	-	2	11,8	1	100
Sim c/uma pessoa	Zero	62,5	Zero	-	5	29,4	Zero	-
Sim c/ mais de um	5		1	100	10	58,8	Zero	-
<b>CD4 (1° coleta)</b>								
Menos de 100	5	11,9	1	9,1	2	6,7	Zero	-
100 – 250	11	26,2	3	27,3	7	23,3	1	20,0
250 – 500	18	42,9	7	63,6	10	33,3	3	60,0
Mais de 500	8	19,0	Zero	-	11	36,7	1	20,0
<b>CD4 (2° coleta)</b>								
Menos de 100	6	14,3	Zero	-	Zero		Zero	-
100 – 250	7	16,7	1	9,1	3	10,0	Zero	-
250 – 500	12	28,6	4	36,4	8	26,6	2	40,0
Mais de 500	8	19,0	2	18,2	5	16,7	1	20,0
Ignorado	9	21,4	4	36,4	14	46,7	2	40,0

**Tabela 3** – Avaliação estatística de associação entre algumas variáveis e o subtipo C

SUBTIPOS DO HIV-1 (n=88)	C(n=30)	OUTROS (n=58)	p-valor	RP	IC
<b>Sexo</b>					
Feminino	9	16	0,06	1,1	0,6 – 2,0
Masculino	21	42			
<b>Categoria de exposição</b>					
Sangüínea	16	10	0,0002	2,9	1,6 – 5,1
Sexual	13	48			
<b>Parceiros de outros Estados</b>					
Sim	5	20	0,07	0,5	0,2 – 1,2
Não	25	38			
<b>Parceiros de outros Países</b>					
Sim	3	10	0,36	0,9	0,2 – 1,8
Não	27	48			
<b>Prática de sexo anal</b>					
Sim	21	42	0,81	0,9	0,5 – 1,7
Não	9	16			
<b>História de DST</b>					
Sim	18	27	0,30	1,4	0,8 – 2,5
Não	12	29			
<b>Uso de drogas injetáveis</b>					
Sim	17	11	0,0003	2,8	1,6 – 4,9
Não	13	47			
<b>CD4 (1º coleta)</b>					
Menos de 250	9	21	0,52	0,8	0,4 – 1,6
Mais de 250	21	36			

## Discussão e Conclusões

Os resultados não confirmaram a expectativa inicial de maior freqüência de subtipo C entre as mulheres e de possível associação com transmissão heterossexual. Não houve diferença entre os sexos na distribuição dos subtipos, inclusive do subtipo C. A amostra de mulheres ficou muito homogênea em termos de distribuição, segundo a forma de transmissão, isto impossibilitou a avaliação de associação com transmissão heterossexual. A mesma situação ocorreu com relação à avaliação da associação dos diversos subtipos e, em especial, do subtipo C, com a situação clínica dos pacientes e uso de antiretrovirais, devido à alta prevalência de pacientes assintomáticos nesta amostra e a maioria deles já em uso de antiretrovirais.

Os subtipos identificados do HIV-1 nesta amostra confirmaram o esperado – a grande maioria com subtipo B e B brasileiro (57,6%) e uma alta prevalência de subtipo C (31,8%). Também não fugiu ao previsto a distribuição das categorias de exposição segundo o sexo – a grande maioria das mulheres (96,2%) considera ter sido infectada por via *heterossexual* e somente os homens referiram como provável forma de transmissão o *uso de drogas injetáveis*.

Quanto ao *número de parceiros sexuais*, os dados apontam para uma maior variação entre os indivíduos do sexo masculino – mas não houve associação com algum subtipo em especial. Da mesma forma, no que se refere a parceiros de outros estados ou países.

A *prática regular de sexo anal* mostrou-se bastante prevalente nesta amostra – mas também não mostrou qualquer associação com algum subtipo. Quanto à ocorrência de *doenças sexualmente transmissíveis* ao longo da vida, é possível que tenha havido falha na coleta do dado, pois foi apenas considerado o relato do próprio paciente. A maior parte dos indivíduos que relatou DST eram homens e, é sabido que os sintomas são mais presentes nas DST masculinas do que nas femininas.

Chama a atenção a alta prevalência de UDI entre os homens (42,4%) e, mais ainda, o grande número entre estes homens – 21 (75%) que compartilhavam seringas - sendo que 16 deles, com mais de uma pessoa. Quanto à troca de seringas com pessoas de outros estados ou países, também não ocorreram resultados significativos.

Os resultados mostraram uma distribuição bastante uniforme para a maioria das variáveis de exposição testadas. Uma avaliação descritiva da amostra apontou para uma possível associação estatisticamente significativa somente para duas situações específicas: a categoria geral “*exposição sangüínea*” a categoria específica “*uso de drogas injetáveis*”, que mostraram percentuais maiores de indivíduos com *subtipo C* em relação a todos os outros subtipos. Nenhum outro subtipo mostrou alguma tendência de associação com qualquer uma das variáveis estudadas. A amostra de pacientes com subtipo F ficou bastante prejudicada na avaliação, pois o número de pacientes com este subtipo foi muito pequeno.

## **Prevalencia y factores de riesgo asociados al Subtipo C del VIH-1 en pacientes soropositivos en acompañamiento en el Ambulatório de Dermatologia Sanitária de la Secretaria da Saúde del Rio Grande do Sul**

**Resumen:** Existen dos tipos de VIH descriptos hasta hoy, el VIH-1 y el VIH-2. Análisis genéticas del VIH-1 resultaron inicialmente en 10 subtipos. El subtipo B del grupo M del VIH-1 ha sido el más encontrado en los países de América Latina y Caribe y, también, en Brasil. Pero un crecimiento de otros subtipos del mismo grupo (F, C, D y B/F) y otros recombinantes ha sido evidenciado últimamente. Informaciones recientes reportan que recombinaciones de VIH-1 también se han traducido en subepidemias regionales. Algunos estudios epidemiológicos evidenciaron mayor prevalencia de subtipo C donde había mayor prevalencia de mujeres entre los casos. A partir de esos resultados, decidimos evaluar una posible asociación entre ese subtipo del VIH-1 y la transmisión heterossexual – especialmente entre las mujeres. Nuestro estudio confirmó la alta prevalencia del subtipo C en nuestra región. Sin embargo, encontramos una fuerte asociación, estadísticamente significativa, con transmisión sanguínea – principalmente a causa de los Usuarios de Drogas Inyectables.

**Palabras Clave:** Infección por VIH-1, subtipo C del VIH-1



## **Prevalence and risk factors associated to subtype C in HIV-1 positive patients being treated in the Ambulatório de Dermatologia Sanitária (Surgery of Sanitary Dermatology) of Secretaria da Saúde (Department of Health) of the state of Rio Grande do Sul**

**Abstract:** *There are two kinds of HIV that have been described up to these days, HIV-1 and HIV-2. And genetic analyses of HIV-1 initially resulted in 10 subtypes. Subtype B of the group M of HIV-1 is the most frequent in the countries of Latin America and the Caribbean, as well as in Brazil. But a growth of other subtypes (F, C, D and B/F) and other recombinations have been observed lately. Recent information report that HIV-1 recombinations have been translated into regional sub-epidemics. Some epidemiological studies showed more prevalence of the subtype C where there was a greater prevalence of cases in women. From these results, we have decided to evaluate a possible association between this subtype of HIV-1 and the heterosexual transmission – specially among women. Our study confirmed the high prevalence of subtype C in our region. However, we found a strong association, statistically significant, with blood transmission – mainly by the Users of Intravenous Drugs.*

**Key words:** *HIV-1 infection, subtype C of HIV-1.*

### **Referências**

- BRASIL: Ministério da Saúde. Programa Nacional de DST/AIDS. **Documento base para discussão do protocolo de avaliação dos subtipos de HIV-1 no Brasil.** Brasília, DF, maio, 1996. Documento de circulação restrita.
- BRASIL. Ministério da Saúde; FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. Specific humoral immune response in Rio de Janeiro. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 93, n. 3, p. 391-398, 1998.
- COUTO-FERNANDEZ, J. et al. Genetic and antigenic variability fo HIV- type in Brazil. **AIDS research and human retrovirus**, v. 9, n. 10, p. 1157-1163, 1994.
- LOUWANGIE, J. et al. Comparison of gag genes from seventy international HIV-1 isolates provides evidence of multiple genetic subtypes. **AIDS**, v. 7, p. 769-780, 1993.
- LOUWANGIE, J. et al. Genetic analysis of HIV-1 isolates from Brazil reveal presence of two distinct genetic subtypes. **Research and Human Retrovirus**, v. 5, n. 10, p. 561- 567, 1994.
- PIENIAZEK, D. et al. HIV- 1 patients may harbor viruses of different phylogenetic subtypes: implication for the evolution fo the HIV/AIDS pandemic. **Emerging infections diseases**, v. 3, n. 1, p. 86-88, Sep. 1995.
- WHO network for HIV isolation and characterization of HIV-1 variation in the WHO – sponsored vacine evaluation sites: genetic screening, sequence analysis preliminary biological characterization of selected viral strains. **AIDS Res Hum Retroviruses**, v. 10, p. 1325-1341, 1994.