



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**A EPIDEMIOLOGIA DA INFEÇÃO POR HIV-2**

Trabalho submetido por  
**Ana Isabel Freitas Castelão**  
para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por  
**Professor Doutor Nuno Taveira**

**Outubro de 2013**



## **Agradecimentos**

Aos meus pais e ao meu irmão, pelo amor e apoio incondicional e pelas palavras de incentivo ao longo desta jornada.

Aos meus amigos, pela amizade, pelo apoio, pelas gargalhas e desabafos, pelos momentos de partilha, em especial à Raquel Canhões pela companhia ao longo desta caminhada.

Ao Professor Doutor Nuno Taveira, pela disponibilidade e paciência, pela pertinência das suas críticas e sugestões e pela partilha de conhecimento.



## **Resumo**

Em 1986 foi descoberto e isolado outro agente causador de SIDA, o HIV-2. Este vírus apresenta características distintas, como uma menor carga vírica, uma fase assintomática mais longa, menor progressão para doença, menor taxa de transmissão heterossexual e vertical e distribuição geográfica mais restrita, em relação ao HIV-1.

A infecção por HIV-2 é descrita regularmente nos continentes africano, europeu, americano e asiático. Portugal é o país europeu com maior prevalência desta infecção. A colonização e migração africana, portuguesa e francesa contribuíram para a disseminação do HIV-2 pelo mundo.

A elevada prevalência da infecção por HIV-2 na África Ocidental nos anos oitenta deve-se provavelmente à guerra da independência (1963-1974), que por sua vez também facilitou a disseminação desta infecção.

Nos países onde existem ambos os tipos de HIV em circulação, como na África Ocidental, é frequente a identificação de infecção dupla por HIV-1 e HIV-2. Nos últimos vinte anos observa-se um aumento da prevalência da infecção por HIV-1 e um decréscimo da prevalência da infecção por HIV-2 nesta região de África.

Apesar da restrição geográfica a locais de fraco acesso a terapêutica antirretrovírica, já se conhece a maioria das possíveis mutações associadas a resistência e os antirretrovíricos eficazes na infecção por HIV-2.

### **Palavras-chaves:**

Infeção por HIV-2 | Epidemiologia | África Ocidental | Resistência à terapêutica

## **Abstract**

In 1986 was discovered and isolated another AIDS agent, the HIV-2. This virus has distinct characteristics such as lower viral load, longer asymptomatic phase, lower disease progression, lower rate of heterosexual and vertical transmission, as well as more restricted geographical distribution when compared with HIV-1.

HIV-2 infection is regularly described in Africa, Europe, America and Asia. Portugal is the European country with the highest prevalence of this infection. The African, Portuguese and French colonization and migration contributed to the spread of HIV-2 worldwide.

The high prevalence of HIV-2 infection in West Africa in the eighties was probably due to the war of independence (1963-1974), which also contributed in spreading this infection.

In countries where both HIV types are in circulation, like in West Africa, the identification of dual infection by HIV-1 and HIV-2 is quite frequent. In the last twenty years, the prevalence of HIV-1 infection has increase while the prevalence of HIV- 2 infection has decrease in this African region.

Despite the geographical restriction of HIV-2 infection to places of poor access to antiretroviral therapy, most of the possible mutations associated with resistance and the effective antiretrovirals are already known.

### **Key words:**

HIV-2 infection | Epidemiology | West Africa | Resistance to therapy

## Índice Geral

Agradecimentos .....	3
Resumo .....	5
Abstract .....	6
Índice de Figuras .....	9
Índice de Tabelas.....	10
Lista de Abreviaturas .....	11
1. Introdução .....	13
2. O Vírus da Imunodeficiência Humana do tipo 2 .....	15
2.1. Descoberta e origem do HIV-2 .....	15
2.2. Diversidade genética do HIV-2.....	16
2.3. Organização estrutural e genómica do HIV-2.....	17
2.4. Ciclo biológico do HIV-2.....	18
2.5. HIV-2 e o uso dos co-recetores celulares .....	21
2.6. História natural da infeção pelo HIV-2 .....	22
2.7. A resposta imunitária do hospedeiro ao HIV-2.....	24
3. A epidemiologia da infeção por Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 2 .....	27
3.1. Vias de Transmissão da infeção por HIV-2 .....	27
3.2. Incidência da infeção por HIV-2.....	28
3.3. Disseminação geográfica da infeção por HIV-2 .....	30
3.4. Infeção por HIV-2 fora da África Ocidental .....	32
3.5. A prevalência da infeção por HIV-2 na África Ocidental .....	36
3.5.1. Evolução da prevalência da infeção por HIV-2 e por HIV-1 na África Ocidental .....	37
3.6. Infeção dupla - A infeção por HIV-2 protege contra a infeção por HIV-1? ....	39
3.7. A epidemiologia do HIV-2 em Portugal.....	42

4.	Epidemiologia da resistência à terapêutica antirretroviral na infecção por HIV-2 ...	47
4.1.	Resistência aos Inibidores não-nucleósidos da transcriptase reversa .....	49
4.2.	Resistência aos Inibidores nucleósidos da transcriptase reversa.....	50
4.3.	Resistência aos Inibidores da protease.....	52
4.4.	Resistência aos Inibidores da integrase .....	54
4.5.	Resistências aos Inibidores de entrada.....	55
5.	Perspetivas de uma vacina contra o HIV-2 .....	57
6.	Conclusão.....	59
7.	Bibliografia .....	61

## **Índice de Figuras**

<b>Figura 1</b> – Esquema da estrutura genómica do HIV-2. ....	17
<b>Figura 2</b> – Esquema do ciclo de replicação do HIV-2.....	20
<b>Figura 3</b> – História natural da infeção por HIV.. ....	23
<b>Figura 4</b> – Dinâmica da população HIV-2A entre 1963 e 2006. ....	29
<b>Figura 5</b> – Dinâmica da população infetada por HIV-2A e HIV-1 CRF02_AG em Caió na Guiné Bissau.....	29
<b>Figura 6</b> – Principais vias de dispersão do HIV-2 grupo A.....	31
<b>Figura 7</b> – Distribuição por idade mediana e respetivos intervalos de confiança a 95%, por ano de diagnóstico e tipo de infeção por HIV, em Portugal entre 1990 e 2012. ....	44

## **Índice de Tabelas**

<b>Tabela 1</b> – Países de origem ou de residência de indivíduos infetados por HIV-2 até 1989.....	32
<b>Tabela 2</b> – Prevalência da infecção por HIV-2 e por HIV-1 em países da África Ocidental, Guiné-Bissau, Costa do Marfim e Gâmbia, entre 1987 e 2007..	38
<b>Tabela 3</b> – Distribuição por sexo, estadio clínico e estado vital segundo o ano de diagnóstico dos casos de infecção por HIV-2 entre 1984 e 2012 em Portugal.....	43
<b>Tabela 4</b> - Distribuição por categoria de transmissão dos casos de infecção por HIV-2 entre 1984 e 2012. ....	44
<b>Tabela 5</b> – Regimes terapêuticos de primeira e segunda linha recomendados para tratamento da infecção por HIV-2. ....	49
<b>Tabela 6</b> - Mutações selecionadas na transcriptase reversa em estudos sobre a resistência do HIV-2 a INTRs. ....	51
<b>Tabela 7</b> - Mutações selecionadas na protease em estudos sobre a resistência do HIV-2 a regimes de IPs.....	53
<b>Tabela 8</b> – Mutações e polimorfismos selecionados na integrase em estudos sobre a resistência do HIV-2 ao raltegravir. ....	55

## Lista de Abreviaturas

3TC – Lamivudina

ABC – Abacavir

ADN – Ácido desoxirribonucleico

ARN – Ácido ribonucleico

ARNm – Ácido ribonucleico mensageiro

ARV – Antirretroviral

ATV – Atazanavir

CDC – *Centers for Disease Control e Prevention*

D4T – Estavudina

DDI – Didanosina

DRV – Darunavir

DST – Doenças Sexualmente Transmissíveis

FPV – Fosamprenavir

FTC – Emtricitabina

gp125 – Glicoproteína de superfície com 125KDa do HIV-2

gp36 – Glicoproteína transmembranar com 36KDa do HIV-2

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana

HIV-1 – Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 1

HIV-2 – Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 2

IC<sub>50</sub> – Metade da concentração máxima inibitória

IC<sub>90</sub> – 90% da concentração máxima inibitória

IDV – Indinavir

IE – Inibidor de entrada

IF – Inibidor de fusão

II – Inibidor da integrase

IN – Integrase

INNTR – Inibidor não-nucleósido da transcriptase reversa

INTR – Inibidore nucleósido da transcriptase reversa

IP – Inibidor da protease

LPV – Lopinavir

MMR – *Mortality rate ratio* (razão da taxa de mortalidade)

PR – Protease

SIDA – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

SQV – Saquinavir

SU – Glicoproteína de superfície

TARV – Terapêutica antirretrovírica

TARVc – Terapêutica antirretrovírica de combinação

TDF – Tenofovir

TM – Glicoproteína transmembranar

TR – Transcriptase reversa

VIS – Vírus da Imunodeficiência Símia

VIS<sub>CPZ</sub> – VIS de chimpanzé

VIS<sub>GOR</sub> – VIS de gorila

VIS<sub>SM</sub> – VIS de macacos *sooty mangabey* (espécie *Cercocebus atys*)

ZDV – Zidovudina

## **1. Introdução**

A infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), três décadas após a referência dos primeiros casos de Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA), continua a representar um enorme problema de saúde pública a nível mundial e a sua rápida propagação implica uma constante atualização das estatísticas mundiais pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e Nações Unidas (UNAIDS) (Paixão, 2011).

A UNAIDS estima que 35,3 milhões de pessoas encontravam-se infetadas por HIV em 2012 (UNAIDS, 2013). Apesar da infecção por Vírus da Imunodeficiência Humana do tipo 1 (HIV-1) ser responsável pela maior parte da pandemia global da SIDA, o Vírus da Imunodeficiência Humana do tipo 2 (HIV-2) é responsável por 1 a 2 milhões de infeções e é uma importante causa de doença sobretudo na África Ocidental (Campbell-Yesufu & Gandhi, 2011; Gottlieb, 2013).

Inicialmente identificada na África Ocidental, onde permanece endémica, a infecção por HIV-2 disseminou-se para outras regiões de África, Europa, Índia e Estados Unidos da América (Campbell-Yesufu & Gandhi, 2011). Portugal é o país europeu com maior prevalência de infecção por HIV-2 (Carvalho et al., 2012). Deste modo, a epidemiologia da infecção por HIV-2 será apresentada com maior detalhe na presente dissertação.

Apesar dos numerosos estudos realizados nas últimas três décadas, as diferenças entre o HIV-1 e HIV-2 no que toca a epidemiologia e virulência ainda não são totalmente claras (Gottlieb, 2013). No entanto, foi possível identificar características claramente diferentes relativamente à história natural, resposta imunitária por parte do hospedeiro, transmissão e à distribuição geográfica (Borrego & Taveira, 2013).

Na presente dissertação, após caracterização da infecção por HIV-2, será abordada a epidemiologia da infecção por HIV-2 relativamente à transmissão, incidência e prevalência, distribuição geográfica, bem como a epidemiologia da infecção dupla por HIV-1 e HIV-2. Será ainda abordada a epidemiologia da resistência à terapêutica antirretroviral e a perspectiva de uma vacina contra o HIV-2.



## **2. O Vírus da Imunodeficiência Humana do tipo 2**

### **2.1. Descoberta e origem do HIV-2**

Em 1986, três anos após a descoberta do HIV-1, foi isolado, em Paris, um novo retrovírus a partir do sangue de doentes provenientes da Guiné-Bissau e de Cabo Verde, na África Ocidental. A colaboração entre o Instituto Pasteur e o trabalho da Professora Doutora Maria Odette Santos-Ferreira permitiu o isolamento e caracterização do segundo retrovírus, que foi designado de Vírus da Imunodeficiência Humana do tipo 2 (HIV-2) (Clavel et al., 1986).

A caracterização molecular das primeiras estirpes do HIV-2 revelou que este vírus é genética e filogeneticamente mais próximo de estirpes do Vírus da Imunodeficiência do Símio (VIS) do que do HIV-1 (Clavel, et al., 1986). Tanto o HIV-2 como o HIV-1 têm origem em VIS e entraram na população humana como resultado de transmissão zoonótica (Hahn, Shaw, De Cock & Sharp, 2000).

Os HIV-1 grupos M, N e O são aparentados de VIS isolados de chimpanzés ( $VIS_{CPZ}$ ) e o HIV-1 grupo P deriva de VIS de gorila ( $VIS_{GOR}$ ) (Plantier et al., 2009), enquanto o HIV-2 é geneticamente mais próximo do  $VIS_{SM}$ , que infecta macacos da espécie *Cercocebus atys* existentes nas florestas do litoral da África Ocidental, onde o HIV-2 é endêmico (Hahn, et al., 2000; Lemey et al., 2003).

## 2.2. Diversidade genética do HIV-2

O HIV-2 é um lentivírus que pertence à família *Retroviridae*, subfamília *Orthoretrovirinae* (Azevedo-Pereira, 2011). Desde a descoberta do HIV-2, foram identificados, através da sequenciação dos três genes estruturais *pol*, *env* e *gag*, oito grupos filogenéticos, do grupo A ao grupo H, que resultaram de oito diferentes eventos de transmissão inter-espécies a partir de macacos *Cercocebus atys* naturalmente infetados com o VIS<sub>SM</sub> (Damond et al., 2004).

Destes oito grupos, apenas o grupo A e B se disseminaram consideravelmente na população humana e são os grandes responsáveis pela epidemia, enquanto os grupos de C a H foram apenas identificados em isolados únicos (Damond, et al., 2004; Santiago et al., 2005). Os grupos C, G e H estão relacionados com estirpes de VIS<sub>SM</sub> provenientes da Costa do Marfim; o grupo D está intimamente ligado a estirpes VIS<sub>SM</sub> oriundas da Libéria e os grupos E e F assemelham-se a estirpes de VIS<sub>SM</sub> com origem na Serra Leoa (Sharp & Hahn, 2011).

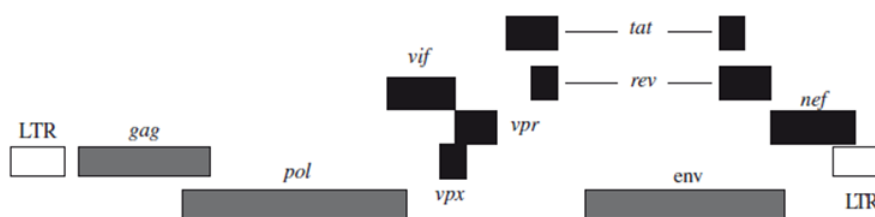
Recentemente nos Camarões foi identificada a primeira forma recombinante dos grupos A e B, designada por HIV-2 CRF01\_AB (Ibe et al., 2010).

Por análise filogenética, estima-se que o mais recente ancestral comum de HIV-2 grupo A e HIV-2 grupo B surgiu na primeira metade do século XX, em 1932 (1906-1955) e 1935 (1907-1961) respetivamente, logo após a transmissão inter-espécies, provavelmente na Guiné-Bissau ou na Costa do Marfim, onde foi encontrado originalmente o SIV<sub>SM</sub> que lhe terá dado origem, aproximadamente uma década após a introdução do HIV-1 na população humana e cerca de cem anos após a introdução do VIS<sub>SM</sub> nos macacos da espécie *Cercocebus atys* (Faria et al., 2012; Lemey, et al., 2003; Santiago, et al., 2005; Wertheim & Worobey, 2009).

### 2.3. Organização estrutural e genômica do HIV-2

As partículas víricas, produzidas pelas células infectadas pelo HIV, exibem uma estrutura esférica com cerca de 100-110 nm de diâmetro. O invólucro vírico é revestido internamente pela proteína da matriz que por sua vez rodeia a nucleocápside de formato cônico (Azevedo-Pereira, 2011; Taveira, Borrego & Bártolo, 2011).

O genoma do HIV-2 é constituído por duas moléculas idênticas de ARN, com cerca de 9.8 Kb, e contém os genes *env* e *gag* que codificam para proteínas estruturais, o gene *pol* que codifica para uma proteína com funções enzimáticas; dois genes reguladores, os genes *tat* e *rev*; e quatro genes acessórios, os genes *nef*, *vif*, *vpr* e *vpx*. Os pesos moleculares das proteínas codificadas pelos diferentes genes diferem entre os dois tipos de HIV (Azevedo-Pereira, 2011; Taveira, et al., 2011).



**Figura 1** – Esquema da estrutura genômica do HIV-2. Retirado de Azevedo-Pereira (2011).

O gene *env* codifica para as glicoproteínas do invólucro, a glicoproteína de superfície (gp125) e a glicoproteína transmembranar (gp36) que se encontram inseridas no invólucro vírico, associadas entre si por uma ligação não covalente organizando-se em trímeros no virião maduro e cuja principal função é mediar a entrada do vírus na célula-alvo (Borrego & Taveira, 2013).

A gp125 é constituída por cinco regiões hipervariáveis, V1 a V5, separadas por cinco regiões mais conservadas, C1 a C5, que formam dois domínios, um interno e outro externo onde se encontram epítomos neutralizantes. Por sua vez, a gp36 possui uma região transmembranar de inserção na membrana citoplasmática, uma região intracitoplasmática e uma região extracelular que contém o péptido de fusão essencial à fusão do vírus com a membrana citoplasmática da célula-alvo e antígenos que induzem uma forte produção de anticorpos por parte do hospedeiro, essenciais para o diagnóstico da infecção pelo HIV (Borrego & Taveira, 2013; Taveira, et al., 2011).

O gene *gag* codifica para as proteínas da cápside, da nucleocápside e da matriz. O gene *pol* codifica para uma transcriptase reversa (TR), uma protease (PR) e uma integrase (IN) com funções importantes no ciclo biológico do HIV. A cápside viral contém o material genómico, as proteínas da nucleocápside, as enzimas TR, IN e PR, e ainda, as proteínas acessórias *Nef*, *Vif*, *Vpr* e *Vpx* (Azevedo-Pereira, 2011).

Nas extremidades 5' e 3' do ADN provírico existem sequências de repetições terminais longas (*long terminal repeats*, LTR), importantes na integração do genoma do vírico e na regulação da sua expressão (Azevedo-Pereira, 2011).

## 2.4. Ciclo biológico do HIV-2

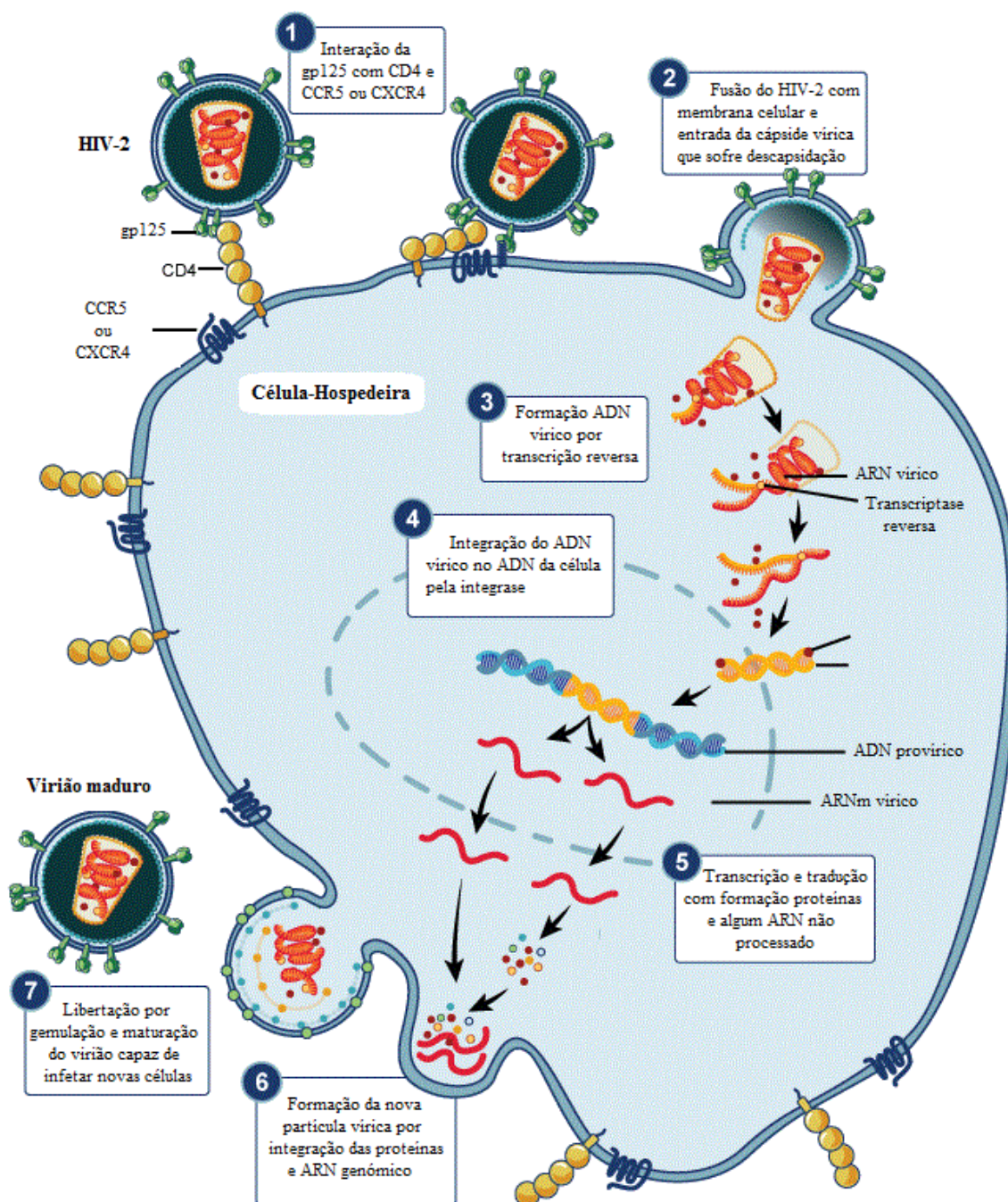
O primeiro passo do ciclo de replicação do HIV-2 é a ligação do vírus à célula-alvo por interação entre a glicoproteína de superfície (gp125), presente no invólucro vírico, e o recetor CD4, uma proteína transmembranar expressa, por exemplo, na superfície dos linfócitos T auxiliares, monócitos, macrófagos e células dendríticas. A presença do recetor CD4, importante na fixação do HIV-2 à membrana da célula-alvo, pode não ser suficiente para que ocorra a entrada do vírus. A entrada do HIV-2 na célula-alvo necessita também de co-recetores, pertencentes ao grupo dos recetores das quimiocinas, como por exemplo o CCR5 e o CXCR4, presentes em algumas células e ausentes noutras (Azevedo-Pereira, 2011; Clapham & McKnight, 2002).

A ligação da gp125 ao CD4 conduz a alterações conformacionais na estrutura da gp125 com conseqüente formação e exposição do local de ligação ao co-recetor. A interação da gp125 com o CD4 e o co-recetor promove a aproximação das glicoproteínas do invólucro à membrana celular e provoca alterações conformacionais na estrutura da gp36 que conduzem à exposição do péptido de fusão, que irá inserir-se na membrana citoplasmática da célula-alvo, e que promovem o contacto entre a membrana celular e o invólucro vírico, com conseqüente formação de um poro de fusão. Por fim, ocorre a fusão do HIV-2 com a membrana celular e entrada da cápside vírica na célula-alvo (Azevedo-Pereira, 2011; Borrego & Taveira, 2013).

Após a entrada na célula, as partículas víricas sofrem descapsidação, por ação de enzimas celulares. A TR é ativada e inicia a síntese do ADN complementar a partir de um *primer*. Posteriormente ocorre a integração do ADN vírico no ADN da célula hospedeira por ação da enzima IN, com conseqüente formação do ADN provírico (ADN viral integrado). Após integração, ocorre então a síntese de ARN vírico pela ARN polimerase, a partir dos provírus, que dará origem às proteínas víricas (Azevedo-Pereira, 2011; Taveira, et al., 2011).

Os nove genes de HIV-2, expressos alternadamente a partir de um único transcrito inicial do ADN provírico, dão origem a três tipos de ARNm víricos: o ARNm totalmente processado, que dará origem às proteínas *Tat*, *Rev*, e *Nef*; o ARNm parcialmente processado, que originará as proteínas *Env*, *Vif*, *Vpr* e *Vpx*; e o ARNm não processado, que originará a poliproteína precursora do *Gag* e *Gag-Pol* e que será integrado nas novas partículas víricas como ARN genómico. A replicação do HIV-2 requer a tradução de todos os tipos de ARNm que serão posteriormente transportados para o citoplasma (Azevedo-Pereira, 2011; Taveira, et al., 2011).

A formação das novas partículas víricas envolve a expressão das proteínas estruturais *Gag*, *Pol* e *Env*, bem como a integração destas proteínas entre si e com o ARN genómico. Após a formação da nova partícula vírica, a cápside é rodeada por uma bicamada lipídica originada a partir da membrana celular, onde são inseridas espículas constituídas por proteínas do invólucro. Posteriormente, o virião imaturo sai da célula por gemulação e pode iniciar o seu processo de maturação que consiste na clivagem proteolítica sequencial dos polipéptidos precursores *Gag* e *Gag-Pol*. Na ausência de maturação são produzidos viriões não infecciosos (Azevedo-Pereira, 2011).



**Figura 2** – Esquema do ciclo de replicação do HIV-2. Adaptado de NIAID (2013).

Conclui-se desta forma o ciclo replicativo do HIV-2 com produção de novas partículas víricas capazes de infectar novas células.

## 2.5. HIV-2 e o uso dos co-recetores celulares

Diferenças no mecanismo de entrada na célula hospedeira poderão estar na origem da menor patogenicidade apresentada pelo HIV-2 em relação ao HIV-1. Os dois tipos de HIV diferem substancialmente na forma como utilizam os recetores celulares (Azevedo-Pereira, Santos-Costa & Moniz-Pereira, 2005). Atualmente estão identificados vinte e três recetores das quimiocinas que contribuem *in vitro* para a entrada do HIV na célula (Calado et al., 2010), no entanto, *in vivo* apenas os co-recetores CCR5 e CXCR4 parecem ser importantes na patogénese da infeção por HIV-1 e HIV-2 (Azevedo-Pereira, et al., 2005; Borrego & Taveira, 2013; Calado, et al., 2010).

No HIV-1 são raras as estirpes que não utilizem os co-recetores CCR5 e CXCR4, enquanto o HIV-2 utiliza um espectro alargado de co-recetores, como por exemplo o CCR1, CCR2b, CCR3, CCR8, GPR15 (BOB) e CXCR6 (BONZO). O uso eficaz de co-recetores alternativos pode garantir a fusão do invólucro vírico com a membrana da célula-alvo, no entanto, poderá não ser suficiente para induzir o ciclo replicativo, com conseqüente produção de um menor número de partículas víricas. Esta característica poderá explicar as baixas cargas víricas observadas nos indivíduos infetados pelo HIV-2 e é particularmente importante tendo em conta as novas alternativas terapêuticas, como por exemplo os antagonistas do CCR5 (Azevedo-Pereira, 2011; Borrego & Taveira, 2013).

Algumas estirpes do HIV-2 têm ainda capacidade de entrar na célula-alvo na ausência de interação com o recetor celular CD4. Para tal, o local de ligação ao co-recetor CCR5 ou CXCR4 deve estar previamente formado ou exposto, o que implica a exposição de epítomos que poderão induzir a produção de anticorpos neutralizantes, o que poderá explicar a extensa fase assintomática observada nos indivíduos infetados pelo HIV-2 (Azevedo-Pereira, 2011; Borrego & Taveira, 2013).

A maioria dos indivíduos assintomáticos infetados por HIV-2 apresenta estirpes com tropismo R5<sup>1</sup>. Estirpes com tropismo X4 foram apenas detetados em indivíduos nas fases mais avançadas da doença e com baixa contagem de células TCD4+ (Borrego & Taveira, 2013).

Estas características contribuem para a menor virulência *in vivo* observada na maioria das infeções por HIV-2 (Borrego & Taveira, 2013).

---

<sup>1</sup> Estirpe HIV-2 com tropismo R5 (CCR5) utiliza o co-recetor CCR5 para entrar na célula-hospedeira

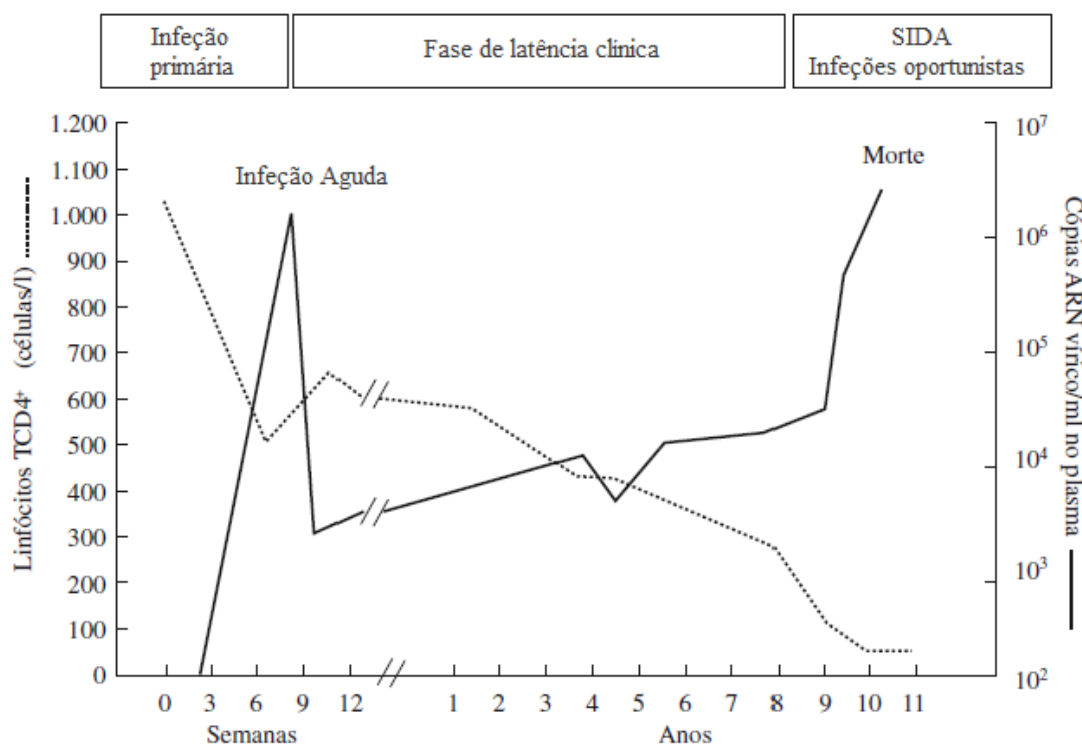
## 2.6. História natural da infeção pelo HIV-2

A história natural da infeção por HIV progride lentamente de uma fase clinicamente silenciosa à Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA), na ausência de terapêutica antirretrovírica (TARV) (Valadas, 2011).

Logo após infeção primária, pode surgir uma fase aguda, com sintomas não específicos semelhantes a uma síndrome gripal, caracterizada por uma elevada viremia e um decréscimo acentuado da contagem de linfócitos TCD4<sup>+</sup> (de Sousa & Victorino, 2011; Valadas, 2011).

Posteriormente inicia-se uma fase de latência clínica cuja duração pode ser bastante heterogénea. Indivíduos denominados de *rapid progressors* podem desenvolver em apenas um ano, após infeção primária, linfopenias TCD4<sup>+</sup> extremas associadas a infeções oportunistas graves. Por outro lado, existem indivíduos designados de *long-term nonprogressors* (LTNPs) que permanecem assintomáticos, com uma contagem de linfócitos TCD4<sup>+</sup> de pelo menos 500 células/mm<sup>3</sup>, durante cerca de pelo menos oito anos. Nesta fase, verifica-se ainda um controlo imunitário parcial da replicação vírica regulado por um equilíbrio entre fatores que induzem a replicação e outros que a suprimem. Indivíduos que controlam espontaneamente a replicação durante pelo menos dez anos na ausência de TARV são designados de *elite controllers* (de Sousa & Victorino, 2011; Thiebaut et al., 2011; Valadas, 2011).

O declínio progressivo de linfócitos TCD4<sup>+</sup> durante a fase de latência clínica termina com o aparecimento de infeções oportunistas e tumores que caracterizam a fase sintomática, denominadas de doenças definidoras de SIDA. A progressão da doença para SIDA é caracterizada por uma contagem de linfócitos T CD4<sup>+</sup> igual ou inferior a 200 células/mm<sup>3</sup> (de Sousa & Victorino, 2011; Valadas, 2011).



**Figura 3** – História natural da infecção por HIV. Adaptado de de Sousa e Vitorino (2011).

Em comparação com a infecção por HIV-1, a infecção por HIV-2 é caracterizada por uma baixa carga vírica plasmática, por vezes indetetável (inferior a 100 cópias/ml) no indivíduo assintomático que pode ser explicada por uma baixa taxa de replicação do vírus (MacNeil et al., 2007; van der Loeff et al., 2010).

Durante a história natural da infecção por HIV-2, a taxa de depleção dos linfócitos TCD4+ é menos acentuada em comparação com a infecção por HIV-1. No entanto, com a progressão da doença, a taxa de depleção dos linfócitos TCD4+ torna-se semelhante entre os dois tipos de infecção (Drylewicz et al., 2008).

Estudos efetuados nos últimos anos sugerem ainda que a menor carga vírica pode explicar a menor taxa de progressão para SIDA apresentada pela maioria dos indivíduos infetados por HIV-2, apesar de existir alguma variabilidade (Gueudin et al., 2008; MacNeil, et al., 2007). Enquanto cerca de 80% dos indivíduos infetados por HIV-2 permanece assintomática durante vários anos, comportando-se como LTNPs com carga viral indetetável, uma pequena parte desenvolve rapidamente SIDA e infecções oportunistas (Leligowicz & Rowland-Jones, 2008).

A maioria (81%) dos HIV-2 LTNPs é também *elite controllers*, ou seja, controla a replicação vírica na ausência de TARV, enquanto apenas metade dos HIV-2 *elite controllers* são também LTNPs. Uma baixa taxa de replicação do HIV-2 parece ser a principal característica dos HIV-2 LTNPs, apesar de alguns HIV-2 *elite controllers* progredirem para doença tal como na infecção por HIV-1 (Thiebaut, et al., 2011).

## 2.7. A resposta imunitária do hospedeiro ao HIV-2

Após infecção primária, os indivíduos infetados por HIV produzem uma forte resposta imunitária humoral (anticorpos neutralizantes) e celular (linfócitos TCD4+ e TCD8+), que irá controlar a replicação do vírus, o que conduz a uma diminuição acentuada da viremia, contudo, não impede a infecção crónica (de Sousa & Victorino, 2011).

As diferenças entre a infecção por HIV-1 e HIV-2, relativamente ao controlo da replicação viral, podem estar relacionadas com a produção de uma resposta imunitária inata, celular e humoral mais eficaz contra o HIV-2 (Marcelino et al., 2012).

Na infecção por HIV-1 é raro encontrar anticorpos neutralizantes, no entanto a infecção por HIV-2 induz frequentemente anticorpos neutralizantes específicos para as glicoproteínas do invólucro. Estes anticorpos neutralizantes podem contribuir diretamente para a supressão da replicação viral e controlar a progressão para doença (Marcelino, et al., 2012)

A resposta em anticorpos neutralizantes é mais potente e de maior espectro na infecção por HIV-2 do que na infecção por HIV-1. Para além disso, a infecção por HIV-2 apresenta uma menor capacidade de fuga a estes anticorpos neutralizantes (de Silva et al., 2012; Kong et al., 2012)

Segundo Marcelino et al. (2012), 68% dos indivíduos infetados por HIV-2 com tropismo R5 produz anticorpos neutralizantes cuja potência e espectro diminui com a progressão da doença. A resistência ou fuga aos anticorpos neutralizantes ocorre apenas nas fases tardias da doença, associada a vírus com tropismo X4 e a alterações na estrutura e sequência da região V3 do invólucro viral (Marcelino, et al., 2012).

Este estudo permitiu sugerir um modelo de patogénese do HIV-2 em que a diminuição significativa da contagem de células TCD4+ leva à menor produção de anticorpos neutralizantes, o que favorece os vírus com tropismo X4 que, por sua vez, promovem uma rápida progressão para doença (Marcelino, et al., 2012).

O esclarecimento sobre o papel dos anticorpos neutralizantes na baixa carga vírica e na lenta progressão da infeção por HIV-2 torna-se bastante importante para o desenvolvimento de uma vacina contra o HIV (de Silva, Cotten & Rowland-Jones, 2008).



### **3. A epidemiologia da infecção por Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 2**

#### **3.1. Vias de Transmissão da infecção por HIV-2**

O HIV-1 e HIV-2 apresentam idênticas vias de transmissão, no entanto apresentam taxas de transmissão diferentes que poderão explicar o menor sucesso epidémico do HIV-2 em relação ao HIV-1 (Hawes et al. 2008).

A via heterossexual é a principal via de transmissão da infecção por HIV-1 e HIV-2, contudo, estima-se que a taxa de transmissão por esta via seja bastante inferior no HIV-2. Teoricamente, a eficácia da transmissão sexual depende da carga viral presente nas secreções vaginais e no sémen. Hawes et al. (2008) demonstrou que, na ausência de TARV, as mulheres infetadas por HIV-2 apresentam menor quantidade de vírus (13% de mulheres com níveis de ARN HIV-2 superior a 1000 cópias/ml) nas secreções vaginais do que mulheres infetadas por HIV-1 (40%) (Hawes et al., 2008). Um estudo conduzido em homens demonstrou que o nível de ARN vírico no sémen de homens infetados por HIV-2 ( $2,6 \log_{10}$  cópias/ml) é 1,7 vezes inferior ao dos homens infetados por HIV-1 ( $4,4 \log_{10}$  cópias/ml) (Gottlieb et al., 2006).

O isolamento e caracterização de uma estirpe de HIV-2 resultante de transmissão por via vertical ocorreram pela primeira vez em 1998, provando que a transmissão do HIV-2 por esta via existe e que a estirpe da criança pode ser mais virulenta que a da mãe, surgindo sintomas associados a SIDA poucos meses após nascimento (Cavaco-Silva, Taveira, Lourenco, Santos Ferreira & Daniels, 1997; Cavaco-Silva et al., 1998).

Em comparação com o HIV-1, na ausência de TARV, a transmissão por via vertical da infecção por HIV-2 é rara, com uma taxa de 0 a 4% contra 15 a 40% para o HIV-1. Um estudo realizado em mulheres grávidas infetadas por HIV utilizando ou não TARV, entre 1986 e 2007 em França, obteve uma taxa de transmissão por via vertical da infecção por HIV-2 de 0,6% em comparação com 5,2% de HIV-1. Na ausência de TARV, esta diferença é bastante mais acentuada, com uma taxa de transmissão vertical de 0,7% e de 16,3%, para a infecção por HIV-2 e por HIV-1 respetivamente. Quando a mãe recebe TARV durante a gravidez, a diferença na taxa de transmissão vertical deixa de ser tão evidente, verificando-se uma taxa de 2,2% para a infecção por HIV-1 e 0,5% para a infecção por HIV-2 (Burgard et al., 2010).

Em conclusão, a menor carga vírica plasmática, característica dos indivíduos infetados por HIV-2, leva a uma menor carga vírica nos tratos genitais masculino e feminino que, por sua vez, leva a uma menor taxa de transmissão por contacto sexual e por via vertical na infecção por HIV-2 sem tratamento (Burgard, et al., 2010; Gottlieb, et al., 2006; Hawes, et al., 2008).

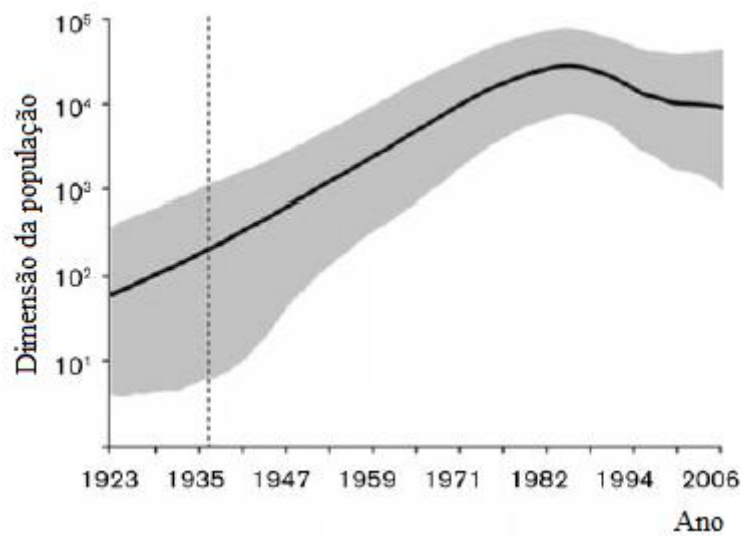
Segundo Pádua e Paixão (2011) “a capacidade de transmissão do HIV é responsável por dois indicadores epidemiológicos importantes: a incidência e a prevalência de casos de infecção por HIV e SIDA, os quais retratam as principais formas de transmissão local” (Paixão & Pádua, 2011).

### **3.2. Incidência da infecção por HIV-2**

Os resultados obtidos por vários estudos serológicos realizados na Guiné-Bissau, entre 1990 e 2007 em diferentes grupos populacionais, revelaram uma diminuição na incidência da infecção por HIV-2, enquanto a incidência da infecção por HIV-1 permaneceu constante ou aumentou (da Silva et al., 2008; Mansson et al., 2009; Tienen et al., 2010).

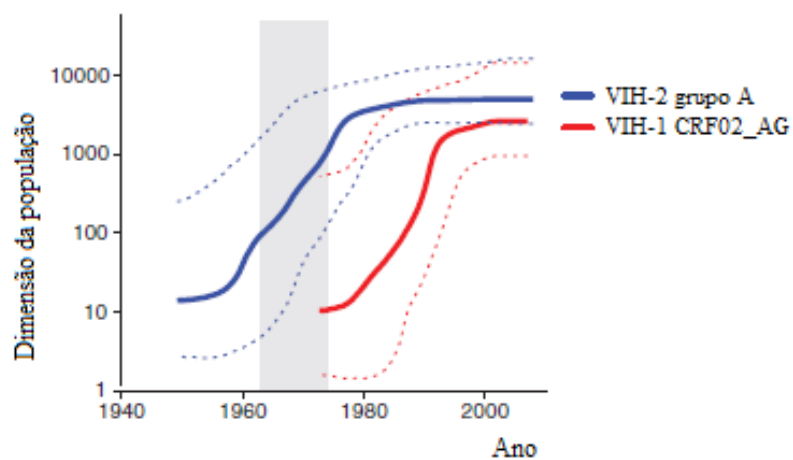
Estes resultados estão em concordância com os resultados obtidos por análise bayesiana com base em coleções de sequências *gag*, *pol* e/ou *env* cuja data e local são conhecidos (de Silva et al., 2013; Faria, et al., 2012).

Segundo Faria et al. (2012), após um período inicial de crescimento constante, o número de infeções por HIV-2 grupo A aumentou exponencialmente entre 1950 e 1980. No entanto, a partir de 1990 o número de novas infeções estabilizou ou diminuiu ligeiramente mantendo-se essa tendência até hoje (Figura 4) (Faria, et al., 2012).



**Figura 4** – Dinâmica da população HIV-2A entre 1963 e 2006. Adaptado de Faria et al. (2012).

Uma outra análise bayesiana realizada por de Silva et al. (2013), com o objetivo de reconstruir a dinâmica espaço-temporal da população infetada por HIV-2 e por HIV-1 CRF02\_AG em Caió na Guiné-Bissau, entre 1989 e 2007, verificou um aumento exponencial na população infetada por HIV-2 que coincide com a guerra da independência (1963-1974), campanhas de vacinação e com um aumento de transfusões sanguíneas. No mesmo período, apesar de ter surgido após o aparecimento do HIV-2, a população infetada por HIV-1 CRF02\_AG sofreu também um crescimento acentuado. Ambos os tipos de infecção atingiram um *plateau* de idêntica magnitude (Figura 5) (de Silva, et al., 2013).



**Figura 5** – Dinâmica da população infetada por HIV-2A e HIV-1 CRF02\_AG em Caió na Guiné Bissau. Adaptado de de Silva et al. (2013).

### 3.3. Disseminação geográfica da infeção por HIV-2

Desde os anos oitenta, a infeção por HIV-2 permanece endémica na região ocidental de África considerada o epicentro da infeção por HIV-2, nomeadamente na Guiné-Bissau, Costa do Marfim, Senegal, Gâmbia, Cabo Verde, Serra Leoa, Mali e Nigéria (Campbell-Yesufu & Gandhi, 2011).

Smallman-Raynor e Cliff (1991) explicaram pela primeira vez a disseminação do HIV-2 para a Europa, a partir da África Ocidental, com base numa divisão histórico-geográfica em três regiões. A primeira região, a África Ocidental portuguesa com uma ligação entre a Guiné-Bissau, Cabo Verde, São Tomé e Portugal; uma segunda região, a África Ocidental francesa, com ligações entre Senegal, Mali, Costa do Marfim e a França; e uma terceira região, a África Ocidental inglesa, que incide principalmente em países como a Gâmbia e o Gana. Smallman-Raynor e Cliff (1991) responsabilizaram a África Ocidental portuguesa e a África Ocidental francesa pela disseminação da infeção por HIV-2 para a Europa, através das suas ligações coloniais (Smallman-Raynor & Cliff, 1991).

Mais recentemente, Faria et al. (2012) realizou uma análise filogeográfica bayesiana associada a modelos de difusão geográfica especificando probabilidades iguais à *priori* da transição de população entre, de e para África Ocidental ou diferentes probabilidades favorecendo a migração viral a partir da África Ocidental. Esta análise permitiu traçar quatro principais vias de dispersão: da Guiné-Bissau e Cabo Verde para Portugal e da Costa do Marfim e Senegal para França. A mesma análise encontrou ainda uma forte ligação epidemiológica entre Portugal, Luxemburgo e Inglaterra (Figura 6) (Faria, et al., 2012).



**Figura 6** – Principais vias de dispersão do HIV-2 grupo A segundo Faria et al. (2012).

Deste modo, a emigração africana para Portugal e para França bem como a emigração portuguesa para o Luxemburgo e Inglaterra terá contribuído para disseminar o HIV-2A pela Europa (Faria, et al., 2012).

Portanto, a disseminação do HIV-2 pelo mundo está intimamente ligada à colonização e à emigração africana, portuguesa e francesa.

### 3.4. Infeção por HIV-2 fora da África Ocidental

Em 1989, três anos após a descoberta do HIV-2, casos de infeção por HIV-2 fora da África Ocidental deixaram de ser raros (Tabela 1), apesar de na maioria existir ligação a esta região de África. Níveis significativos de infeção por HIV-2 fora da Guiné-Bissau, com exceção de Portugal, foram obtidos em Angola e Moçambique, duas ex-colónias portuguesas (De Cock & Brun-Vezinet, 1989).

**Tabela 1** – Países de origem ou de residência de indivíduos infetados por HIV-2 até 1989. Adaptado de de Cock e Brun-Vézinet (1989).

<b>Continente Africano</b>		<b>Continente Europeu</b>	<b>Continente Americano</b>
Angola	Libéria	Alemanha	Brasil
Benim	Malawi	Bélgica	Canadá
Burkina Faso	Mauritânia	Espanha	Cuba
Cabo Verde	Moçambique	França	EUA
Costa do Marfim	Nigéria	Holanda	
Gabão	Reunião	Itália	
Gambia	Ruanda	Luxemburgo	
Gana	Senegal	Portugal	
Guiné	Serra Leoa	Reino Unido	
Guiné-Bissau		União Soviética	

Nos países africanos fora da África Ocidental, a infeção por HIV-2 é avaliada com pouca frequência e presume-se que a sua prevalência seja inferior à de países da África Ocidental (Maueia et al., 2011).

Em Moçambique, Maueia et al. (2011) estimou uma baixa prevalência de 0,25% de infeção por HIV-2 em utentes seropositivos do Centro de Saúde do Alto Maé na cidade de Maputo. A prevalência estimada é bastante inferior à prevalência da infeção por HIV-2 atribuída a países da África Ocidental, onde esta varia normalmente entre 1 e 10%. Por análise filogenética este estudo averiguou ainda que os utentes estavam infetados por HIV-2 do grupo A, o que suporta a hipótese da introdução desta infeção em Moçambique a partir da África Ocidental, onde a infeção por HIV-2 do grupo A é endémica. Segundo Maueia et al. (2011) a migração da população africana pós-guerra

colonial<sup>2</sup> entre países africanos de língua portuguesa e a migração proveniente da África Ocidental, Europa e Ásia nos últimos vinte anos pode ter facilitado a introdução e a disseminação do HIV-2 em Moçambique (Maueia, et al., 2011).

Na Europa, a maioria dos indivíduos infetados por HIV-2 diagnosticados até 1989 eram emigrantes oriundos da África Ocidental, europeus que viajaram para esta região de África ou para outras ex-colónias portuguesas ou que tiveram relações sexuais com indivíduos oriundos desta região africana. Portugal, França e Alemanha apresentavam o maior número de casos de infeção por HIV-2 (De Cock & Brun-Vezinet, 1989).

Em Espanha, os primeiros casos de infeção por HIV-2 foram identificados em 1988 em três imigrantes africanos. Desde 1989 até junho de 2010, foram reportados ao Registo Nacional de HIV-2 Espanhol 236 casos de indivíduos infetados por HIV-2, dos quais apenas 40 eram espanhóis, 179 (76%) eram oriundos da África subsaariana e os restantes eram oriundos de países como Portugal, França, Índia e América Latina. Dos 73 casos para os quais foi obtida caracterização da estirpe de HIV-2, 89% eram do grupo A (Trevino et al., 2011).

Em França, entre 2003 e 2010, foram reportados 55 158 novos diagnósticos de infeção por HIV. A prevalência da infeção por HIV-2 foi de 1,9% e da infeção dupla foi de 0,1%. Do total de indivíduos estudados infetados por HIV-2, 87% nasceram na África Ocidental, sobretudo na Costa do Marfim, Mali ou Senegal, e apenas 6% nasceram em França. Foi quase sempre possível identificar uma ligação com a região ocidental de África, quer o indivíduo ou o seu parceiro tenha nascido ou tenha sofrido uma transfusão sanguínea nesta região de África (Lucas et al., 2012).

Na Itália, apesar da elevada imigração proveniente da África Ocidental nos anos noventa, só em 2001 se procedeu ao teste de anticorpos contra HIV a todos os emigrantes africanos utentes do Instituto de Doenças Infeciosas e Tropicais da Universidade de Brescia. Até então, os indivíduos imigrantes não tinham acesso a serviços de saúde pública. Foram então identificados 19 indivíduos infetados por HIV-2 demonstrando a presença desta infeção em Itália (Quiros-Roldan et al., 2001). Mais recentemente, Ciccozzi et al. (2011) descreveu o primeiro caso de infeção por HIV-2 num cidadão italiano, cuja estirpe apresentava, através da análise filogenética parcial da sequência *env*, uma relação próxima com uma estirpe isolada em França e um ancestral

---

<sup>2</sup> Guerra Colonial Portuguesa (ou Guerra do Ultramar), entre 1961 e 1974, corresponde ao período de confrontos entre Portugal e as ex-colónias: Angola, Guiné-Bissau e Moçambique.

comum em África. Mais tarde, Ciccozzi et al. (2013) descreveu o caso de uma mulher italiana infetada por HIV-2 cuja análise filogenética de sequências *env* confirmou que a estirpe era originária da África Ocidental (Ciccozzi et al., 2011; Ciccozzi et al., 2013).

No Reino Unido, o número de infecções por HIV adquiridas na África Ocidental e diagnosticadas na Inglaterra, país de Gales e na Irlanda do norte aumentou entre 1985 até 2003, predominando a infecção por HIV-1. Foram reportados ao *Communicable Disease Surveillance Centre* 1324 casos de indivíduos HIV-positivos infetados provavelmente na África Ocidental, 917 casos (69%) correspondiam a infecção por HIV-1 e 52 casos (6%) a infecção por HIV-2. O número de infecções por HIV-2 manteve-se relativamente baixo e constante durante o período de estudo. Dos 52 indivíduos infetados por HIV-2 na África Ocidental, 15 foram provavelmente infetados no Gana e 7 na Gambia, os restantes, foram provavelmente infetados no Senegal, Guiné-Bissau, Guiné, Togo, Libéria, Nigéria, Serra Leoa e Benim, Burkina Faso, Mali, Mauritânia ou no Níger. Foram ainda reportados 130 casos de indivíduos infetados por transmissão sexual no Reino Unido por um parceiro infetado na África Ocidental, dos quais apenas 2% apresentou infecção por HIV-2 ou infecção dupla, contra 68% por HIV-1 (Dougan, Patel, Tosswill & Sinka, 2005).

Para além da África e Europa, a infecção por HIV-2 também está descrita no continente americano e asiático.

Nos Estados Unidos da América (EUA), o primeiro caso de infecção por HIV-2 foi diagnosticado em 1987 numa mulher proveniente da África Ocidental, que apresentava um quadro de toxoplasmose (Campbell-Yesufu & Gandhi, 2011). Apesar da baixa prevalência da infecção por HIV-2 nos EUA (0,01% entre 1987 e 2009), entre 1988 e junho de 2010, foram notificados 242 casos de infecção por HIV-2 ao *Centers for Disease Control e Prevention* (CDC). Dos 116 casos, estudados pelo CDC, 81% era proveniente da África Ocidental e 46% foram diagnosticados em Nova Iorque (MMWR, 2011).

Na cidade de Nova Iorque, desde 1 de junho de 2000 a 31 de dezembro de 2008, foram diagnosticados e notificados 52 casos confirmados e 10 casos prováveis de infecção por HIV-2. Destes casos, 82,7% nasceram na África Ocidental, em países como a Costa do Marfim, Gana, Mali, Gambia, Guiné-Bissau, Senegal, Mauritânia, Togo, Burkina Faso e Serra Leoa (Torian et al., 2010).

O número total de casos de infecção por HIV-2 nos EUA deve ser superior ao estimado devido à elevada imigração proveniente de áreas onde a infecção por HIV-2 é endêmica (Campbell-Yesufu & Gandhi, 2011; Torian, et al., 2010).

A infecção por HIV-2 raramente é identificada no continente asiático, com exceção da Índia. Na Coreia, desde a introdução da infecção por HIV-2 em 1990 até 2002, foram identificados apenas 10 casos de infecção por HIV-2, 9 residiam na Coreia do Sul e destes, 8 corresponderam a infecção por HIV-2 do grupo A e 1 do grupo B (Nam et al., 2006).

Na Índia, desde o primeiro relato em 1991, vários estudos seroepidemiológicos detetaram casos de infecção por HIV-2 em diferentes regiões da Índia, no entanto desconhece-se a real dimensão da epidemia da infecção por HIV-2 na Índia (de Silva & Weiss, 2010). Em 1993 e 1994, dos 2800 utentes de duas clínicas de DST em Pune, na Índia, 609 eram HIV-1-positivos, 34 apresentavam infecção dupla e apenas 12 eram HIV-2-positivos, representando 0,4% do total (Rodrigues et al., 1995). Entre 1998 e 2007 a prevalência da infecção por HIV-2 foi de 1.3% em doadores de sangue num hospital no sul da Índia (de Silva & Weiss, 2010). Também Ingole et al. (2013) descreveu uma baixa prevalência de 0,14% de infecção por HIV-2 em utentes HIV-positivos de um hospital de Maharashtra entre 2009 e 2012 (Ingole et al., 2013).

Estes resultados provam a existência de uma epidemia de infecção por HIV-2 na Índia no entanto é necessário um estudo multicêntrico em larga escala para aferir a prevalência da infecção por HIV-2 na Índia (Ingole, et al., 2013).

### **3.5. A prevalência da infecção por HIV-2 na África Ocidental**

A infecção por HIV-2 permanece endêmica na África Ocidental onde continua a apresentar elevada prevalência, sobretudo na Guiné-Bissau, o provável epicentro da infecção por HIV-2 (de Silva, et al., 2013; Gottlieb, 2013).

Na Guiné-Bissau observou-se uma elevada prevalência de infecção por HIV-2, onde estudos seroepidemiológicos indicaram uma prevalência de aproximadamente 10%. Em 1987, a prevalência era de 8,9% nos subúrbios de Bissau (da Silva, et al., 2008) e em 1990 era de 7,9% em Caió, uma área rural na Guiné Bissau (Tienen, et al., 2010). Em 1991, a prevalência da infecção por HIV-2 em oficiais da polícia na Guiné-Bissau era de 13,1% (Tabela 2) (Mansson, et al., 2009).

Identificar as possíveis causas da elevada prevalência na região ocidental de África, tendo em conta a baixa taxa de transmissão do HIV-2 gerou algum debate nos últimos vinte anos (Gottlieb, 2013).

O modelo matemático de simulação de transmissão sexual de DST de Schmidt et al. (2008) suporta a hipótese de que a elevada prevalência da infecção por HIV-2 na Guiné-Bissau na década de oitenta, sobretudo na população mais velha, pode ser explicada por um elevado comportamento sexual de risco durante a guerra da independência (1963-1974) (Schmidt et al., 2008).

A migração de população civil e soldados, aumento do comércio sexual, cirurgias médicas não estéreis, aumento de transfusões de sangue e campanhas de vacinação durante a guerra de independência, representam algumas das possíveis causas da elevada prevalência da infecção por HIV-2 na região ocidental de África (de Silva, et al., 2013; Gottlieb, 2013).

### **3.5.1. Evolução da prevalência da infecção por HIV-2 e por HIV-1 na África Ocidental**

Nos últimos vinte anos, nos países da África Ocidental onde a infecção por HIV-2 é endêmica, observou-se uma diminuição da prevalência da infecção por HIV-2 e um aumento da prevalência da infecção por HIV-1 (Tabela 2) (de Silva, Tienen, Rowland-Jones & Cotten, 2010).

Na Guiné-Bissau, um estudo realizado em adultos numa área urbana entre 1987 e 2006 demonstrou um decréscimo acentuado da prevalência da infecção por HIV-2 de 8,9 para 3,9% e um aumento da prevalência da infecção por HIV-1 de 0,0% para 4,2% (da Silva, et al., 2008). Em semelhante período de estudo, entre 1989 e 2007, Tienen et al. (2010) averiguou também uma diminuição da prevalência da infecção por HIV-2 de 7,9% para 4,0% e um aumento da prevalência da infecção por HIV-1 de 0,1% para 2,9% em adultos numa área rural (Tienen, et al., 2010). O mesmo se verificou noutros grupos populacionais como grávidas e polícias (Mansson et al., 2007; Mansson, et al., 2009).

Na Costa do Marfim, entre 1987 e 2002, realizaram-se vários estudos em diferentes grupos populacionais, observando-se um aumento da prevalência da infecção por HIV-1 e uma diminuição da prevalência da infecção por HIV-2. A prevalência da infecção por HIV-2 diminuiu de 2,0% para 0,5% na população de mulheres grávidas, verificando-se a mesma tendência nos restantes grupos populacionais estudados (Djomand et al., 1995; Rouet et al., 2004).

Um estudo desenvolvido na Gâmbia durante dezasseis anos, entre 1988 e 2003, em utentes de uma clínica de Ginecologia/Urologia, mostrou que a prevalência da infecção por HIV-2 diminuiu de 7% para 4%, enquanto a prevalência da infecção por HIV-1 sofreu um aumento acentuado de 4,2% para 17,5% (van der Loeff et al., 2006). No entanto, estudos conduzidos em grávidas na Gâmbia entre 1993 e 2001, revelaram apenas uma ligeira diminuição da prevalência da infecção por HIV-2 de 1,1% para 0,8% e um ligeiro aumento da prevalência da infecção por HIV-1 de 0,6% para 1% (Schim van der Loeff et al., 2003).

A prevalência da infecção por HIV-2 em prostitutas no Dakar, no Senegal, apresentava valores de 8 e 11% entre 1985 e 1995, diminuindo para 5,5% em 2003, enquanto a prevalência da infecção por HIV-1 aumentou 10% desde a sua introdução em 1985 até 1993, permanecendo entre os 9 e 10% até 1998, altura em que continuou a aumentar até 13,8% em 2003 (Hamel et al., 2007).

**Tabela 2** – Prevalência da infecção por HIV-2 e por HIV-1 em países da África Ocidental, Guiné-Bissau, Costa do Marfim e Gâmbia, entre 1987 e 2007. Adaptado de da Silva et al. (2010).

<b>País</b>	<b>População-alvo</b>	<b>Período de estudo</b>	<b>Nº de Indivíduos estudados</b>	<b>HIV-2 (%)</b>	<b>HIV-1 (%)</b>	<b>Referência</b>
<b>Guiné-Bissau</b>	Grávidas	1987	707	8,3	0,0	(Mansson, et al., 2007)
		1997	1491	4,6	2,0	
		2004	1506	1,9	4,2	
	Polícias	1990-1991	822	13,1	0,4	(Mansson, et al., 2009)
		1996-1998	552	6,3	2,2	
		2003-2004	1238	4,9	8,3	
		2005-2007	548	4,7	5,8	
	Adultos (área urbana)	1987	649	8,9	0,0	(da Silva, et al., 2008)
		1996	2301	6,4	1,4	
		2006	2548	3,9	4,2	
Adultos (área rural)	1989-1991	2770	7,9	0,1	(Tienen, et al., 2010)	
	1996-1998	3110	6,8	1,6		
	2006-2007	2895	4,0	2,9		
<b>Costa do Marfim</b>	Grávidas	1987	200	2,0	7,0	(Djomand, et al., 1995)
		1988	537	1,0	5,0	
		1990	3153	2,0	9,0	
		1991	10134	1,0	10,0	
		1992	5363	2,0	9,0	
		2001-2002	1039	0,5	10,6	(Rouet, et al., 2004)
	Adultos com tuberculose	1987	200	4,0	16,0	(Djomand, et al., 1995)
		1989	1994	5,0	28,0	
		1990	3843	4,0	32,0	
		1991	3495	4,0	35,0	
		1992	3736	3,0	35,0	
		1993	3380	3,0	35,0	
	Internados em Enfermarias de Doenças Infeciosas	1987	114	7,0	27,0	(Djomand, et al., 1995)
1988		752	5,0	30,0		
1990		3123	4,0	43,0		
1991		2225	4,0	45,0		
1992		720	2,5	53,0		
<b>Gâmbia</b>	Grávidas	1993-1995	29549	1,1	0,6	(Schim van der Loeff, et al., 2003)
		2000-2001	8054	0,8	1,0	
	Utentes clínicas de Ginecologia / Urologia	1988-1991	3775	7,0	4,2	(van der Loeff, et al., 2006)
		1992-1994	3807	7,4	8,0	
		1995-1997	4609	6,3	10,6	
		1998-2000	5669	5,3	14,5	
	2001-2003	5503	4,0	17,5		

Os estudos abordados utilizaram diferentes métodos de recolha e análise dos dados epidemiológicos bem como grupos populacionais muito diversos, o que dificulta a comparação de resultados tornando problemático aferir a prevalência da infecção por HIV-2 na África Ocidental (de Silva, et al., 2010).

O aumento da prevalência da infecção por HIV-1 em países onde a infecção por HIV-2 é endémica sugere que o HIV-1 tem um papel importante no declínio da prevalência da infecção por HIV-2. Deste modo, revela-se importante identificar as causas do possível desaparecimento a longo prazo do HIV-2 na África Ocidental, com o objetivo de estabelecer melhores estratégias de combate à epidemia por HIV-1 (Eholie & Anglaret, 2006).

### **3.6. Infecção dupla - A infecção por HIV-2 protege contra a infecção por HIV-1?**

A infecção dupla por HIV-1 e HIV-2 ocorre em áreas onde a prevalência da infecção por ambos os tipos de HIV se sobrepõe, tal como acontece na África Ocidental (de Silva, et al., 2010).

A maioria dos indivíduos infetados por HIV-2 atua como LTNPs pelo que a probabilidade de um indivíduo HIV-2-positivo adquirir infecção por HIV-1 é aumentada caso exista localmente uma elevada prevalência de HIV-1. O declínio da prevalência da infecção por HIV-2 e o aumento da prevalência da infecção por HIV-1 na África Ocidental sugere que o HIV-2 será com maior frequência o primeiro vírus a ser adquirido na infecção dupla (de Silva, et al., 2010).

Em 1995, foi relatado pela primeira vez um possível efeito protetor do HIV-2 sobre subsequente infecção por HIV-1, em prostitutas no Senegal (Travers et al., 1995). Iniciou-se então um debate sobre a importância clínica da infecção dupla e do papel protetor da infecção por HIV-2 sobre a infecção por HIV-1 (Greenberg, 2001).

Até 2000, a hipótese de um efeito protetor da infecção por HIV-2 na incidência de infecção por HIV-1 não foi verificada, no entanto, foi possível documentar a capacidade do HIV-2 inibir a replicação do HIV-1 *in vitro*, sugerindo que a infecção por HIV-2 inibe a progressão da infecção por HIV-1, apesar de não ser verificável na carga viral de HIV-1 *in vivo* em indivíduos com infecção dupla (Greenberg, 2001).

Mais recentemente, Esbjörnsson et al. (2012) analisou os dados de polícias infetados por HIV-1 ou infecção dupla num estudo de coorte entre 1990 e 2009 na Guiné-Bissau. Os resultados obtidos sugerem que a infecção por HIV-2 atenua a progressão para doença numa fase inicial da infecção por HIV-1 *in vivo* e que a infecção dupla está associada a uma menor progressão para doença (tempo para SIDA de 104 meses em oposição a 68 meses da infecção por HIV-1), mais evidente em indivíduos com infecção dupla cuja infecção por HIV-2 precedeu a infecção por HIV-1 (129 meses) (Esbjörnsson et al., 2012).

Segundo Prince et al. (2013), se os indivíduos com infecção dupla apresentam menor progressão para doença, então estes indivíduos deveriam apresentar uma menor taxa de mortalidade em comparação com os indivíduos mono-infetados por HIV-1. Deste modo, Prince et al. (2013), através de uma meta-análise, comparou os dados de sete estudos realizados na África Ocidental sobre a taxa de mortalidade da infecção dupla, da infecção por HIV-2 e por HIV-1. As taxas de mortalidade da infecção dupla e da infecção por HIV-1 não apresentaram diferenças significativas com um MRR total muito próximo de 1 (MRR de 1,11); a taxa de mortalidade da infecção dupla foi superior à da infecção por HIV-2 com um MRR total de 1,81; cinco dos setes estudos revelaram uma taxa de mortalidade superior na infecção por HIV-1 em relação à infecção por HIV-2 com (MRR a variar entre 1,45 e 3,45) e os restantes dois estudos não revelaram um aumento significativo do MRR. Deste modo, Prince et al. (2013), ao avaliar taxas de mortalidade, chegou à conclusão que a infecção por HIV-2 não atenua a progressão da infecção por HIV-1 em indivíduos com infecção dupla, apesar das várias limitações dos estudos utilizados, como a falta de dados sobre a data de seroconversão e a sequência da infecção (infecção por HIV-2 precede ou não a infecção por HIV-1) (Prince, Matser, Van Tienen, Whittle & Schim Van Der Loeff, 2013).

Alguns estudos obtiveram cargas virais plasmáticas semelhantes entre indivíduos mono-infetados por HIV-1 e indivíduos com infecção dupla, para a mesma contagem de células TCD4<sup>+</sup> e cargas virais bastante inferiores em indivíduos mono-infetados por HIV-2. Estes estudos rejeitam a hipótese de um papel protetor do HIV-2 sobre a infecção por HIV-1 e sugerem que o HIV-1 pode sobrepor-se ao HIV-2 em indivíduos com infecção dupla. No entanto, nenhum estudo comparou as cargas virais de HIV-1 e de HIV-2 em indivíduos com infecção dupla (de Silva, et al., 2010; Raugi et al., 2013a).

Raugi et al. (2013) comparou pela primeira vez as cargas virais de HIV-1 e de HIV-2 em indivíduos com infecção dupla e obteve resultados que suportam a hipótese do HIV-1 se sobrepor ao HIV-2 ao longo da infecção dupla, a baixas contagens de células TCD4+. Os seus resultados revelaram níveis de ARN plasmático de HIV-1 mais elevados e níveis de ARN plasmático de HIV-2 mais baixos associados a uma baixa contagem de células TCD4+ (inferior a 500 células/mm<sup>3</sup>). Esta diferença não se verificou para contagens superiores de células TCD4+ (Raugi, et al., 2013a).

Este estudo demonstrou também pela primeira vez que a carga viral de HIV-1 é muito superior à de HIV-2 nos fluidos orais (por 1,93 log<sub>10</sub> cópias/ml) e genitais (por 1,37 e 2,05 log<sub>10</sub> cópias/ml na excreção cervicovaginal e no sêmen, respetivamente) em indivíduos com infecção dupla (Raugi, et al., 2013a).

A controvérsia criada nos anos 90 sobre o papel protetor da infecção por HIV-2 sobre a infecção por HIV-1 parece ainda não ter terminado. Estudos sobre a progressão natural para doença da infecção dupla apresentam várias limitações: reduzido número de participantes, curta duração do estudo, falta de dados sobre a data de seroconversão e a sequência da infecção (infecção por HIV-2 precede ou não a infecção por HIV-1). Para além disso, o difícil diagnóstico da infecção dupla por HIV-1 e HIV-2, devido à falta de ensaios serológicos específicos, torna complexos os estudos sobre este tipo de infecção. Assim, são necessários algoritmos mais sensíveis e específicos para identificação da infecção dupla (de Silva, et al., 2010; Raugi, et al., 2013a).

### **3.7. A epidemiologia do HIV-2 em Portugal**

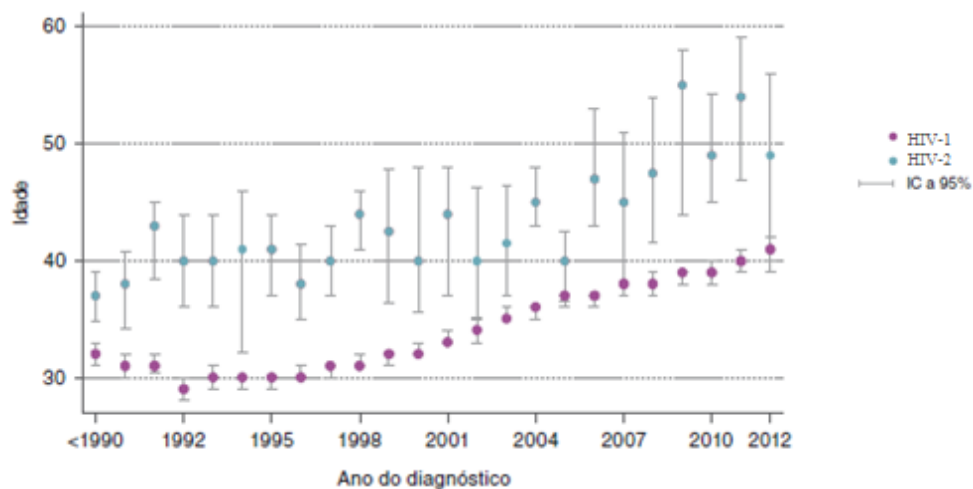
Em Portugal, o primeiro caso de infeção por HIV-2 foi notificado em 1984. Até 31 de dezembro de 2012, foram notificados 42 580 casos de infeção por HIV nos diferentes estadios clínicos, dos quais 1 436 casos referiam infeção por HIV-2, correspondendo a 3,4% do total de casos. A elevada prevalência da infeção por HIV-2 em Portugal justifica a apresentação detalhada dos casos notificados até 2012 (INSA, 2013).

Entre 1984 e 2012 (Tabela 3), 374 indivíduos faleceram devido a infeção por HIV-2 e 74% dos casos notificados estavam vivos. A maioria dos casos (53%) encontravam-se assintomáticos à data do diagnóstico e 37,9% apresentava SIDA. Os casos registados em homens correspondem a 52,1% e em mulheres a 47,9%. Verificou-se maior similaridade na distribuição entre sexos (ratio Homem/Mulher de 1,1 para o total dos casos) do que a verificada para o total dos casos de infeção por HIV (ratio H/M=2,8). Esta diferença é explicada pelo facto da transmissão heterossexual ser a via mais frequente para o HIV-2 (INSA, 2013).

**Tabela 3** – Distribuição por sexo, estadió clínico e estado vital segundo o ano de diagnóstico dos casos de infeção por HIV-2 entre 1984 e 2012 em Portugal. Adaptado de INSA (2013).

Ano	Nº casos	Sexo		Estadió clínico			Estado vital	
		M	F	Portador Assintomático	Sintomático Não-SIDA	SIDA	Vivos	Mortos
1984	1	0	1	0	0	1	0	1
1985	1	1	0	0	0	1	1	0
1986	4	3	1	1	0	3	1	3
1987	23	14	9	9	2	12	12	11
1988	36	25	11	13	6	17	16	20
1989	58	37	21	25	7	26	36	22
1990	47	32	15	21	6	20	30	17
1991	68	38	30	32	7	29	38	30
1992	69	45	24	28	4	37	31	38
1993	58	36	22	23	6	29	35	23
1994	60	38	22	32	2	26	40	20
1995	58	35	23	27	3	28	33	25
1996	58	25	33	27	2	29	39	19
1997	59	28	31	39	2	18	44	15
1998	64	28	36	34	6	24	43	21
1999	56	30	26	28	2	26	39	17
2000	74	39	35	33	12	29	59	15
2001	51	27	24	27	1	23	40	11
2002	73	37	36	42	8	23	62	11
2003	64	25	39	37	7	20	57	7
2004	67	28	39	44	4	19	57	10
2005	57	26	31	39	2	16	50	7
2006	64	24	40	43	5	16	58	6
2007	51	28	23	32	9	10	47	4
2008	52	22	30	28	9	15	46	6
2009	32	17	15	14	3	15	27	5
2010	53	23	30	39	2	12	49	4
2011	46	21	25	29	8	9	43	3
2012	32	16	16	15	6	11	29	3
Total (%)	1436 (100%)	748 (52,1%)	688 (47,9%)	761 (53,0%)	131 (9,1%)	544 (37,9%)	1062 (74,0%)	374 (26,0%)

A mediana das idades à data de diagnóstico da infeção por HIV-2 foi de 42 anos, bastante superior à da infeção por HIV-1, de 34 anos (Figura 7) (INSA, 2013).



**Figura 7** – Distribuição por idade mediana e respetivos intervalos de confiança a 95%, por ano de diagnóstico e tipo de infeção por HIV, em Portugal entre 1990 e 2012. Retirado de INSA (2013).

A maioria dos casos de infeção por HIV-2, notificados até 31 de dezembro de 2011, refere residência no distrito de Lisboa (47%) seguindo-se os distritos do Porto (12%) e Setúbal (13%) (INSA, 2012).

Relativamente à via de transmissão, dos 1436 casos notificados até 2012, 76,9% corresponde a transmissão por via heterossexual, 8,5% a transmissão por transfusão, 3,2% a transmissão toxicodependente e 1,6% a transmissão vertical (Tabela 4) (INSA, 2013).

**Tabela 4** - Distribuição por categoria de transmissão dos casos de infeção por HIV-2 entre 1984 e 2012. Adaptado de INSA (2013).

Transmissão	Nº casos	%
Heterossexual	1105	76,9
Transfusão	122	8,5
Toxicodependente	46	3,2
Homo ou Bissexual	33	2,3
Vertical (Mãe-Filho)	23	1,6
Hemofílico	23	1,6
Não referida	84	5,8
Total	1436	100

Desde o primeiro caso de infeção por HIV-2, vários estudos foram realizados em Portugal.

Soriano et al. (2000) estudou prospectivamente 32 utentes HIV-2-positivos de dois hospitais de Lisboa em 1997. A maioria dos indivíduos estudados adquiriu a infeção na África Ocidental, 15 na Guiné-Bissau, 2 em Cabo Verde e 1 na Costa do Marfim, os restantes 12 foram infetados em Portugal e 2 em Moçambique. Este estudo, por análise de fragmentos *nef*, determinou que os indivíduos estudados estavam infetados por HIV-2 do grupo A, à exceção do indivíduo oriundo da Costa do Marfim que estava infetado por HIV-2 do grupo B. A elevada prevalência de HIV-2 grupo A era espectável visto ser a estirpe que predomina mundialmente e nas ex-colónias portuguesas, enquanto o HIV-2 grupo B predomina em alguns países africanos como a Costa do Marfim, Gana e Guiné Equatorial (Soriano et al., 2000).

Um outro estudo, utilizando dados do Hospital Santa Maria em Lisboa entre 1987 e 2006, atribuiu a elevada prevalência da infeção por HIV-2 à comunidade africana proveniente da África Ocidental residente em Portugal, resultante sobretudo da migração devido à guerra civil na Guiné Bissau (1998-1999). Esta conclusão é sustentada pelo elevado número de doentes diagnosticados a partir de 2000 oriundos da Guiné Bissau e que chegou a Portugal no ano 2000 ou entre 1998-1999 (Valadas, Franca, Sousa & Antunes, 2009).

Outro estudo realizado em Portugal, utilizando dados de doentes infetados por HIV-2 de cinco hospitais portugueses entre 1984 e 2007 (37% de todas as infeções por HIV-2 notificadas durante este período), chegou à conclusão que a epidemiologia da infeção por HIV-2 em Portugal reflete mudanças na movimentação da população após a sua introdução no país visto que, até ao ano 2000, a maioria dos doentes infetados por HIV-2 eram homens portugueses a viver no norte do país, no entanto, entre 2000 e 2007, a maioria eram mulheres africanas provenientes da África Ocidental a viver na capital ou mais a sul do país (Carvalho, et al., 2012).

Para além disso, este estudo sugere ainda que a guerra de independência das colónias portuguesas entre 1961 e 1974 foi responsável pela introdução do HIV-2 em Portugal. O facto da maioria dos doentes diagnosticados antes de 1990 serem portugueses do sexo masculino suporta esta hipótese. Os milhares de soldados portugueses enviadas para África e o regresso em massa de repatriados incluindo mulheres para Portugal, poderá ter contribuído para a elevada prevalência da infeção por HIV-2 no país (Carvalho, et al., 2012).



#### 4. Epidemiologia da resistência à terapêutica antirretroviral na infecção por HIV-2

Como descrito anteriormente, cerca de 80% dos indivíduos infetados por HIV-2 atuam como *long-term nonprogressors* e apenas 20% progride para SIDA e irá necessitar de TARV (Camacho, 2012).

A maioria dos dados disponíveis sobre a terapêutica para o HIV-2, são fruto de pequenos estudos observacionais realizados na Europa, onde o fácil acesso a TARV permite recolher alguns dados e estabelecer recomendações para o tratamento da infecção por HIV-2. À medida que o acesso a TARV melhora em áreas onde a infecção por HIV-2 é endémica, como na África Ocidental, torna-se urgente estabelecer *guidelines* para a escolha do tratamento adequado, assim como de métodos eficazes de monitorização da eficácia do tratamento e da progressão da doença (Camacho, 2012; Peterson, Jallow, Rowland-Jones & de Silva, 2011).

Ao contrário do que sucede no tratamento da infecção por HIV-1, a monitorização da terapêutica contra HIV-2 através da carga viral é pouco útil, isto porque a carga viral é normalmente indetetável nos indivíduos HIV-2-positivos, com exceção dos *rapid progressors*, passando a ser detetável apenas numa fase mais avançada da infecção. O uso de testes de resistência para a infecção por HIV-2 também é limitado por falta de informação sobre todos os mecanismos de resistência, mesmo que se conheçam a maioria das possíveis mutações (Camacho, 2012).

Na infecção por HIV-2, o efeito benéfico da TARV não é tão notório como na infecção por HIV-1, porque geralmente a resposta imunitária à terapêutica é menor com um aumento inferior da contagem de células TCD4+ em comparação com o HIV-1. A maioria dos regimes de terapêutica antirretrovírica combinada (TARVc) utilizada na infecção por HIV-1 é incapaz de inibir a replicação do HIV-2, aumentar a contagem de células TCD4+ ou de prevenir mutações associadas a resistência aos ARVs (Borrego & Taveira, 2013; Camacho, 2012).

Atualmente, existem cinco classes de ARVs disponíveis para o tratamento da infecção por HIV: os inibidores não-nucleósidos da transcriptase reversa (INNTRs), os inibidores nucleósidos da transcriptase reversa (INTRs), os inibidores da protease (IPs), os inibidores da integrase (IIs) e os inibidores de entrada (IEs) - inibidores de fusão (IF) e antagonistas CCR5. No entanto, o HIV-2 apresenta resistência natural a toda a classe

dos INNTRs e ao enfuvirtide, um IF, exibindo ainda diversos graus de resistência natural a alguns IPs. Para além disso, a seleção de resistência à terapêutica é muito mais rápida no HIV-2 do que no HIV-1 (Camacho, 2012; Gilleece et al., 2010; Ntemgwa, d'Aquin Toni, Brenner, Camacho & Wainberg, 2009). A resistência às diferentes classes de ARVs será descrita mais à frente neste capítulo.

Atualmente, as *guidelines* publicadas recomendam iniciar o tratamento da infecção por HIV-2 a partir de uma contagem de células TCD4+ de 350 células/mm<sup>3</sup> (Camacho, 2012).

As *guidelines* da *World Health Organization* (WHO) recomendam um regime triplo de INTRs (zidovudina, lamivudina e abacavir ou zidovudina, lamivudina e tenofovir) como primeira linha no tratamento da infecção por HIV-2. No entanto, Benard et al. (2011), utilizando dados de vários estudos de coorte de diferentes países, demonstrou que um regime com base em IPs potenciados por ritonavir é mais eficaz (76 células/mm<sup>3</sup>/ano, nos 4 a 12 meses após início da terapêutica) que um regime triplo de INTRs (60 células/mm<sup>3</sup>/ano) como tratamento de primeira linha na infecção por HIV-2. Esta discrepância pode ser explicada por diferenças no perfil de mutações associadas a resistência do HIV-2 a estas duas classes de ARVs (Benard et al., 2011).

Segundo as *guidelines* da *British HIV Association*, a terapêutica para infecção por HIV-2 deve consistir em dois INTRs e um ou mais IPs. Um bom regime de primeira linha será tenofovir e emtricitabina com lopinavir potenciado por ritonavir ou darunavir/ritonavir. Como segunda linha, tenofovir/emtricitabina e saquinavir/ritonavir ou darunavir/ritonavir em combinação com raltegravir. Estas *guidelines* referem ainda que o maraviroc, antagonista CCR5, pode ser considerado como um regime de terceira linha (Gilleece, et al., 2010).

Segundo as Recomendações Portuguesas para o tratamento da infecção por HIV-2, os regimes de TARVc recomendados resultam da associação de um IP ou II com uma das três coformulações de INTRs disponíveis (tenofovir/emtricitabina ou zidovudina/lamivudina ou abacavir/lamivudina) (PNIVIH/SIDA, 2012).

**Tabela 5** – Regimes terapêuticos de primeira e segunda linha recomendados para tratamento da infecção por HIV-2. Adaptado de Borrego e Taveira (2013).

Regime	1ª linha	2ª linha	Nota
<b>Inibidores nucleósidos da transcriptase reversa</b>	tenofovir/emtricitabina zidovudina/lamivudina	tenofovir/emtricitabina zidovudina/lamivudina abacavir/ lamivudina	
<b>Inibidores da protease</b>	(+) lopinavir/ritonavir darunavir /ritonavir	(+) lopinavir/ritonavir darunavir /ritonavir saquinavir/ ritonavir	
<b>Inibidores da integrase</b>		(+) raltegravir	
<b>Inibidores de entrada</b>		maraviroc	Pode ser considerado num regime de 3ª linha em indivíduos com vírus R5 experientes no tratamento

Gottlieb et al. (2008) realçou a urgência da realização de ensaios clínicos randomizados, rigorosos e bem desenhados, que demonstrem os regimes de TARVc eficazes no tratamento da infecção por HIV-2, mas também na infecção dupla cuja terapêutica requer ARVs ativos contra HIV-1 e HIV-2, o que torna o tratamento complexo. Segundo Gottlieb et al. (2008) o melhor local para executar tais ensaios clínicos será a África Ocidental onde um tratamento eficaz contra a infecção por HIV-2 é indispensável (Gottlieb et al., 2008).

#### 4.1. Resistência aos Inibidores não-nucleósidos da transcriptase reversa

Os regimes com base em INNTRs são muito utilizados como primeira linha no tratamento do HIV-1 na África Ocidental, no entanto, o HIV-2 apresenta resistência natural a esta classe devido a polimorfismos naturais, como por exemplo Y181I, que alteram a estrutura de ligação e reduzem a ligação dos INNTRs ao HIV-2 (Ntemgwa, et al., 2009; Peterson, et al., 2011). Deste modo, os INNTRs não são recomendados no tratamento da infecção por HIV-2 (Gilleece, et al., 2010).

#### 4.2. Resistência aos Inibidores nucleósidos da transcriptase reversa

Os INTRs apresentam semelhante sensibilidade *in vitro* para o HIV-1 e HIV-2 (Camacho, 2012; Ntemgwa, et al., 2009), contudo, o HIV-2 parece ter uma barreira genética mais baixa para a resistência a esta classe de ARVs em comparação com o HIV-1 (Gilleece, et al., 2010).

Na infecção por HIV-2, a falha terapêutica com análogos da timidina, como a zidovudina e estavudina, nem sempre exhibe as mutações dos análogos da timidina (TAMs) nas posições 41, 67, 70, 210, 215 e 219 como no HIV-1. No HIV-2, a posição 219 é bastante polimórfica e aparentemente sem relação com resistência (Camacho, 2012; Smith, Anderson, Pyrak, Preston & Gottlieb, 2009). Por sua vez, o HIV-2 seleciona a mutação multirresistente Q151M mais rapidamente e com maior frequência que o HIV-1, que confere vários níveis de resistência a todos os INTRs (Peterson, et al., 2011).

Damond et al. (2005), por análise de isolados provenientes de indivíduos infectados por HIV-2, concluiu que a mutação Q151M necessita da combinação com a mutação V111I para conferir elevada resistência a todos os INTRs (Damond et al., 2005). No entanto, uma análise mais aprofundada dos dados permitiu demonstrar que a Q151M não necessita da conjugação com V111I para conferir resistência a todos os INTRs (Smith, et al., 2009).

Smith et al. (2009) testou os efeitos na resistência a INTRs de substituições por mutagenese dirigida na transcriptase reversa do HIV-2. De acordo com os resultados obtidos, a mutação Q151M isolada confere elevada resistência a zidovudina. A mutação M184V, tal como no HIV-1, é selecionada na presença de lamivudina e emtricitabina no HIV-2 e confere elevada resistência a estes INTRs. A mutação Q151M conjugada com K65R ou M184V confere elevada resistência a lamivudina e emtricitabina, sem reduzir a resistência a zidovudina. A conjugação das três mutações confere resistência cruzada aos INTRs (Smith, et al., 2009).

A mutação K65R confere resistência ao tenofovir, abacavir, didanosina e estavudina no HIV-1 (Peterson, et al., 2011). No HIV-2, os dados disponíveis sugerem que a mutação K65R raramente ocorre no HIV-2, no entanto, confere resistência a lamivudina e emtricitabina mas baixa resistência a didanosina. Apesar desta mutação ser selecionada pelo tenofovir, aparentemente não causa resistência a este INTR (Smith, et al., 2009).

Deste modo, o HIV-2 apresenta diferentes mecanismos de resistência aos INTRs em relação ao HIV-1, apesar de partilharem algumas mutações, e as principais mutações descritas - K65R, Q151M e M184V (Tabela 6), conferem vários níveis de resistência aos INTRs (Smith, et al., 2009).

Na África Ocidental, regimes de dose fixa de zidovudina e lamivudina são amplamente utilizados. O aparecimento de resistências no tratamento de primeira linha a estes INTRs irá possivelmente conferir subsequente resistência a outro regime de INTRs (Smith, et al., 2009).

**Tabela 6** - Mutações selecionadas na transcriptase reversa em estudos sobre a resistência do HIV-2 a INTRs.

Referência	País	População estudada	INTRs testados	Mutações na TR	TAMs
(Ruelle et al., 2008)	Bélgica Luxemburgo	20 Indivíduos experientes	ZDV, 3TC, D4T, ABC, TDF, FTC, DDI	K65R, V111I, Q151M, M184V	K70N, S215T
(Gottlieb et al., 2009)	Senegal	23 Indivíduos experientes	ZDV, 3TC, DDI, D4T	K65R, Q151M, M184V	K70R
(Trevino, et al., 2011)	Espanha	24 Indivíduos experientes	ND*	K65R, Q151M, M184V	D67N, K70R

(\*) Não descrito

ZDV – zidovudina; 3TC – lamivudina; D4T - estavudina; ABC – abacavir; TDF – tenofovir; FTC - emtricitabin; DDI- didanosina

### 4.3. Resistência aos Inibidores da protease

A TARV de primeira linha com base em IPs suprime a carga viral HIV-2 e aumenta a contagem de células TCD4+, no entanto, nem todos os IPs atuam eficazmente sobre o HIV-2 e existem poucos dados que apoiem uma terapêutica de segunda linha (Raugi et al., 2013b).

O HIV-2 exibe baixa suscetibilidade *in vitro* a alguns IPs e apresenta uma baixa barreira genética de resistência a todos os IPs. Os estudos realizados concordam que o lopinavir, saquinavir e darunavir são os IPs mais eficazes para tratamento do HIV-2 (Camacho, 2012; Cavaco-Silva et al., 2013; Desbois et al., 2008; Raugi, et al., 2013b).

Desbois et al. (2008) determinou a suscetibilidade fenotípica *in vitro* do HIV-2 a vários IPs. Darunavir (DRV), lopinavir (LPV) e saquinavir (SQV) demonstraram ser inibidores potentes da replicação do HIV-2, com valores de IC<sub>50</sub> e IC<sub>90</sub> semelhantes entre HIV-1 e HIV-2 *wild-type*, por isso, são uma boa escolha para terapêutica de primeira linha. Em comparação com o HIV-1, o valor IC<sub>50</sub> mediano de HIV-2 *wild-type* foi 31 vezes superior para o amprenavir, 8 vezes para o atazanavir, 7 vezes para o tipranavir e 3 vezes para o indinavir e nelfinavir. Estes resultados sugerem que o HIV-2 é resistente a amprenavir, pelo que não deve ser utilizado e que o atazanavir e tipranavir devem ser usados com precaução (Desbois, et al., 2008).

No HIV-2, as mutações V47A, I54M e I90M conferem padrões fenotípicos semelhantes ao HIV-1, com aumento de resistência a um ou mais IPs. A mutação I54M em conjugação com L90M é suficiente para conferir resistência a DRV, LPV e SQV. A combinação de I54M/I84V/L90M confere elevada resistência a DRV, resistência intermédia a SQV e baixa resistência a LPV (Raugi, et al., 2013b).

Em regimes com base em LPV, o HIV-2 tem tendência para desenvolver a mutação de resistência V47A que diminui a eficácia do lopinavir mas torna o HIV-2 mais suscetível ao SQV. Deste modo, SQV potenciado por ritonavir (SQV/r) pode ser usado como terapêutica de segunda linha em indivíduos com falha terapêutica por LPV, no entanto, deve ser utilizado com precaução devido ao risco de resistência cruzada causada por outras mutações. A mutação L90M confere ao HIV-2 resistência moderada ao SQV, no entanto não confere resistência a LPV e DRV. A mutação I54M confere elevada resistência a DRV mas baixa em LPV. (Camacho, 2012; Raugi, et al., 2013b).

A falha terapêutica com regimes incluindo atazanavir/ritonavir (ATV/r) deve-se a várias mutações como I50L, I54L, I64V, V71I, I82F (Tabela 7). Foram ainda observadas mutações *minor* (V10I, E37D, S43T, K45R, I75V e F85L) cujo impacto no HIV-2 é desconhecido (Cavaco-Silva, et al., 2013).

Algumas substituições de aminoácidos conhecidas por causar resistência primária no HIV-1, não conferem qualquer alteração no HIV-2 ou conferem um aumento de suscetibilidade aos IPs, como por exemplo a mutação I82F, que ocorre frequentemente no HIV-2, não causa resistência ao LPV mas confere uma elevada suscetibilidade a DRV e SQV. Deste modo, apesar de existirem alterações semelhantes no HIV-1 e HIV-2, o resultado fenotípico pode ser bastante diferente pelo que os algoritmos de resistência para o HIV-1 devem ser utilizados com cautela no HIV-2 (Raugi, et al., 2013b).

Apesar de não existir evidência de resistência devido a mutações *minor* que ocorrem no HIV-2 como V10I, V71I e L99F, estas causam resistência no HIV-1. O efeito da combinação destas e outras mutações *minor* com as mutações primárias associadas a resistência necessita de mais investigação (Raugi, et al., 2013b).

**Tabela 7** - Mutações selecionadas na protease em estudos sobre a resistência do HIV-2 a regimes de IPs.

Referência	País	População estudada	IPs testados	Mutações na PR
(Ruelle, et al., 2008)	Bélgica Luxemburgo	20 Indivíduos experientes	LPV/r, IDV/r, ATV/r, FPV/r	V62A, V71I, I89V, L90M
(Gottlieb, et al., 2009)	Senegal	23 Indivíduos experientes	IDV	K7R, I54M, V62A, I82F/L, L90M, L99F
(Trevino, et al., 2011)	Espanha	24 Indivíduos experientes	LPV/r, DRV/r, ATV/r, FPV/r, IDV/r	V47A, I54M, I82F, L90M, L99F
(Cavaco-Silva, et al., 2013)	Portugal	4 Indivíduos experientes	ATV/r	I50L, I54L, I64V, V71I, I82F

LPV – lopinavir; IDV – indinavir; ATV – atazanavir; FPV - fosamprenavir; DRV – darunavir

#### 4.4. Resistência aos Inibidores da integrase

Os IIs raltegravir e elvitegravir apresentam um potente efeito inibitório *in vitro* no HIV-2. O raltegravir (RAL) demonstrou ainda ser um potente inibidor da replicação do HIV-2 *in vivo*, no entanto, a sua utilização tem sido restrita a terapêutica de segunda linha (Camacho, 2012).

As principais mutações selecionadas pelo RAL no HIV-2 são Y143R/H/K, Q148H/K/R e N155H (Camacho, 2012). Bercoff et al. (2010) demonstrou ainda a seleção de outras duas mutações, Q91R e I175M, que conferem elevada resistência *in vitro* ao RAL (Tabela 8) (Bercoff et al., 2010).

Ni et al. (2011) demonstrou que a resistência do HIV-2 ao RAL se deve às mutações E92Q/Y143C, G140/Q148R e N155H/E92A/T97A. Os testes de suscetibilidade efetuados demonstraram que as mutações N155H e G140S/Q148R na integrase do HIV-2 conferem moderada a elevada resistência ao RAL. A mutação Y143C só confere resistência ao RAL se E92Q estiver presente e vice-versa. Também a mutação G140S confere resistência ao RAL apenas em conjugação com Q148R (Ni et al., 2011).

Os resultados de Smith et al. (2012), em concordância com os de Ni et al. (2011), permitiram ainda identificar as mutações que influenciam a resistência do HIV-2 ao elvitegravir. Este estudo definiu três mutações *major* que conferem elevada resistência ao raltegravir e elvitegravir: E92Q+Y143C ou T97A+Y143C, G140S+Q148R e E92Q+N155H. Segundo Smith et al. (2012), a combinação E92Q/Y143C confere elevada resistência ao raltegravir e a combinação T97A+Y143C confere resistência ao elvitegravir. As combinações E92Q+N155H e G140S+Q148R conferem elevada resistência aos dois IIs, enquanto a mutação Q148R isolada confere apenas resistência ao elvitegravir (Smith et al., 2012).

Roquebert et al. (2008) observou ainda polimorfismos naturais (38% dos aminoácidos da integrase do HIV-2 eram polimórficos) que não conferem resistência no HIV-2, mas que conferem resistência no HIV-1 (Tabela 8) (Roquebert et al., 2008b). Estes polimorfismos naturais, apesar de não conferirem resistência, poderão influenciar a taxa de ocorrência das mutações primárias (Gilleece, et al., 2010).

**Tabela 8** – Mutações e polimorfismos selecionados na integrase em estudos sobre a resistência do HIV-2 ao raltegravir.

<b>Referência</b>	<b>Mutação primária na IN</b>	<b>Polimorfismos na IN do HIV-2*</b>
(Roquebert, et al., 2008b)	--	165I, 201I, 72I, 97A
(Roquebert et al., 2008a)	Q148R	--
(Bercoff, et al., 2010)	Q191R/I175M	--
(Ni, et al., 2011)	Q148R/G140S Q148R/G140A N155H/E92A/T97A Y143C	--
(Smith, et al., 2012)	E92Q/Y143C T97A/Y143C G140S/Q158R E92Q/N155H	--

(\*) Polimorfismos na integrase do HIV-2 associados a resistência no HIV-1

#### 4.5. Resistências aos Inibidores de entrada

Os inibidores da entrada do HIV podem ser divididos em três grupos de acordo com o seu alvo no processo de entrada do HIV na célula: inibidores de ligação, antagonistas dos co-recetores e inibidores de fusão (IFs) (Borrego & Taveira, 2013).

O uso de inibidores de IFs, como a enfuvirtida, não é recomendado devido a reduzida suscetibilidade do HIV-2 (20 a 100 vezes inferior ao HIV-1) que resulta numa baixa resposta terapêutica (Gilleece, et al., 2010).

O maraviroc, o único antagonista de ligação ao co-recetor CCR5 aprovado para uso clínico na infecção por HIV (Visseaux et al., 2012), é utilizado em TARVc na infecção por HIV-1 com tropismo CCR5 em indivíduos experientes no tratamento. Por ser apenas ativo contra vírus que utilizem exclusivamente o co-recetor CCR5 é necessário realizar um teste de co-recetores antes de iniciar a terapêutica (Borrego & Taveira, 2013).

Segundo Visseaux et al. (2010), o maraviroc poderá proporcionar uma nova oportunidade terapêutica para a infecção por HIV-2. No entanto, como referido anteriormente, o HIV-2 utiliza um largo espectro de co-recetores alternativos ao CCR5 e CXCR4, pelo que o maraviroc poderá apresentar atividade limitada contra o HIV-2 (Borrego et al., 2012; Visseaux, et al., 2012).

Estudos recentes sobre a atividade *in vitro* do maraviroc indicam que este inibe a entrada e replicação de isolados HIV-2 R5 com IC<sub>50</sub> semelhante ao HIV-1 (Borrego, et al., 2012; Espirito-Santo, Santos-Costa, Calado, Dorr & Azevedo-Pereira, 2012; Visseaux, et al., 2012).

Os resultados de Borrego et al. (2012), utilizando isolados de indivíduos infetados por HIV-2 *naïve* para maraviroc, indicam que o maraviroc inibe a replicação *in vitro* do HIV-2 R5 e HIV-1 R5 com valores de IC<sub>50</sub> semelhantes (0,9 a 5,5 nM), no entanto, são necessários valores de IC<sub>90</sub> superiores para o maraviroc inibir a entrada do HIV-2 (42,7 nM para HIV-2 e 9,7 nM para HIV-1). Estes resultados sugerem que a dose terapêutica para o HIV-2 deverá ser superior à utilizada no tratamento da infecção por HIV-1 (Borrego, et al., 2012).

Deste modo, são necessários ensaios clínicos para determinar a dose de maraviroc recomendada para o tratamento da infecção por HIV-2. O uso de dosagens subterapêuticas poderá favorecer a seleção de vírus com tropismo para o co-recetor CXCR4, associado a elevada depleção de células TCD4+, progressão para doença e resistência à neutralização. Para além disso, as variantes HIV-2 X4 e R5X4 são total ou parcialmente resistentes ao maraviroc (Borrego, et al., 2012).

Para além do maraviroc, outros inibidores de entrada poderão vir a ser úteis no tratamento da infecção por HIV-2, como o inibidor de ligação CADA, inibidor de fusão P3 e produtos naturais como a cianovirina-N (Borrego & Taveira, 2013).

## **5. Perspetivas de uma vacina contra o HIV-2**

A contribuição dos anticorpos neutralizantes para a contenção do vírus na infeção por HIV poderá ajudar a compreender a história natural do vírus e sua patogénese bem como contribuir para o *design* de uma vacina (Kong, et al., 2012). De facto, o desenvolvimento de imunogénios que provocam a produção de anticorpos neutralizantes amplamente reativos é considerado uma prioridade no campo da produção de uma vacina contra o HIV-1. Atualmente, os candidatos a vacina contra HIV-1 baseiam-se em construções do invólucro que mimetizam a estrutura dos epítomos neutralizantes mais conservados do *env* e/ou na expressão de glicoproteínas do invólucro modificadas por diferentes tipos de vetores (Marcelino et al., 2010).

Marcelino et al. (2010) investigou a imunogenicidade e a resposta em anticorpos neutralizantes de proteínas recombinantes do invólucro derivadas do isolado de referência HIV-2ALI<sup>3</sup>, quando administradas isoladamente ou em combinação no ratinho BALB/c. A produção de um vírus *vaccinia* recombinante, rVV/ALIM2, expressando uma um polipéptido contendo a região C2-V3-C3 do invólucro vírico, induz no ratinho BALB/c a produção de anticorpos neutralizantes potentes e de largo espectro (título neutralizante mediano<sup>4</sup> de 3,200), que visam provavelmente a região V3 da maioria dos isolados HIV-2 (Marcelino, et al., 2010).

Este estudo chegou à conclusão que uma vacina baseada na região C2-V3-C3 do invólucro do isolado de referência HIV-2ALI induz a produção de anticorpos neutralizantes de largo espectro em ratinho BALB/c e poderá ser suficiente para proteger contra a infeção por HIV-2 (Marcelino, et al., 2010).

---

<sup>3</sup> O isolado de referência HIV-2ALI é considerado o isolado primário prototípico do HIV-2 grupo A e utiliza sobretudo o co-recetor CCR5

<sup>4</sup> Diluições do soro que reduzem a replicação do vírus em 50%



## 6. Conclusão

A infecção por HIV-2 é caracterizada por uma menor carga vírica plasmática, menor taxa de depleção dos linfócitos TCD4+, uma fase assintomática mais longa, menor taxa de transmissão por via heterossexual e vertical e uma menor taxa de progressão para SIDA. O HIV-2 é um exemplo de como o sistema imunitário pode controlar a replicação e progressão da infecção por HIV visto que a grande maioria dos indivíduos infetados por HIV-2 apresenta carga viral baixa e estável durante décadas. Estas características fazem deste vírus um excelente modelo de estudo para compreensão da patogénese do HIV e para o *design* de uma vacina.

Desde a sua descoberta há 27 anos na África Ocidental, a infecção por HIV-2 é descrita com regularidade nos continentes africano, europeu, americano e asiático, no entanto, são necessários estudos em larga escala para aferir a real prevalência desta infecção.

A Guiné-Bissau, Cabo Verde, Costa do Marfim e Senegal, na África Ocidental, foram apontadas como as principais fontes de migração viral no início da epidemia do HIV-2, sendo Portugal e França considerados os dois primeiros alvos da migração viral na Europa a partir da África Ocidental. As guerras civis e da independência na Guiné-Bissau poderão ter contribuído para aumentar a disseminação do HIV-2 para fora da África Ocidental, nomeadamente para Portugal e posteriormente para a Europa

A elevada prevalência da infecção por HIV-2 descrita nos anos oitenta na Guiné-Bissau deve-se provavelmente a um elevado comportamento sexual de risco, migração de população civil e militar, cirurgias não estéreis, transfusões de sangue e campanhas de vacinação durante a guerra da independência.

O aumento da prevalência da infecção por HIV-1 e o decréscimo da prevalência da infecção por HIV-2 em países onde esta é endémica sugere que o HIV-1 tem um papel importante no declínio da prevalência da infecção por HIV-2.

A infecção dupla por HIV-1 e HIV-2 ocorre em áreas onde existe elevada prevalência dos tipos de HIV, tal como acontece na África Ocidental. Os indivíduos com infecção dupla apresentam menor progressão para doença, no entanto, não apresentam menor taxa de mortalidade em comparação com os indivíduos infetados por HIV-1. De qualquer modo, um possível efeito protetor do HIV-2, sobretudo numa fase inicial da infecção dupla, ainda não foi totalmente descartado.

Dados sobre o tratamento da infecção por HIV-2 são limitados devido à restrição geográfica desta infecção a locais de fraco acesso a TARV. De qualquer forma foi possível verificar que os indivíduos infetados por HIV-2 geralmente apresentam fraca resposta imunitária à TARV e que apenas alguns ARVs são eficazes contra a infecção por HIV-2: emtricitabina, lamivudina, tenofovir e zidovudina (INTRs); raltegravir (II); e darunavir, lopinavir e saquinavir (IPs). Os vários estudos realizados permitiram identificar as principais mutações associadas a resistência no HIV-2. Apesar de existirem mutações semelhantes no HIV-1 e HIV-2, o resultado fenotípico pode ser bastante diferente pelo que se recomenda precaução na utilização dos algoritmos de resistência para o HIV-1 no HIV-2.

O maraviroc, em doses superiores às utilizadas no tratamento da infecção por HIV-1, poderá proporcionar uma nova oportunidade terapêutica para a infecção por HIV-2 com tropismo CCR5.

Por fim, o papel dos anticorpos neutralizantes potentes e de largo espectro na infecção por HIV-2 poderá contribuir para o *design* de uma vacina. Uma vacina baseada na região C2-V3-C3 do invólucro poderá ser suficiente para proteger contra a infecção por HIV-2.

## 7. Bibliografia

- Azevedo-Pereira, J. M. (2011). Ciclo biológico de VIH. Em F. Antunes (Ed.), *Manual sobre sida* (4ª ed., pp. 13-29). Lisboa, Portugal: Permanyer Portugal.
- Azevedo-Pereira, J. M., Santos-Costa, Q., e Moniz-Pereira, J. (2005). HIV-2 infection and chemokine receptors usage - clues to reduced virulence of HIV-2. *Current HIV research*, 3(1), 3-16.
- Benard, A., van Sighem, A., Taieb, A., Valadas, E., Ruelle, J., Soriano, V., . . . Matheron, S. (2011). Immunovirological response to triple nucleotide reverse-transcriptase inhibitors and ritonavir-boosted protease inhibitors in treatment-naive HIV-2-infected patients: The ACHIEV2E Collaboration Study Group. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 52(10), 1257-1266.
- Bercoff, D. P., Triqueneaux, P., Lambert, C., Oumar, A. A., Ternes, A. M., Dao, S., . . . Ruelle, J. (2010). Polymorphisms of HIV-2 integrase and selection of resistance to raltegravir. *Retrovirology*, 7, 98.
- Borrego, P., Calado, R., Marcelino, J. M., Bartolo, I., Rocha, C., Cavaco-Silva, P., . . . Taveira, N. (2012). Baseline susceptibility of primary HIV-2 to entry inhibitors. *Antiviral therapy*, 17(3), 565-570.
- Borrego, P., e Taveira, N. (2013). HIV-2 susceptibility to entry inhibitors. *AIDS reviews*, 15(1), 49-61.
- Burgard, M., Jasseron, C., Matheron, S., Damond, F., Hamrene, K., Blanche, S., . . . Mandelbro, L. (2010). Mother-to-child transmission of HIV-2 infection from 1986 to 2007 in the ANRS French Perinatal Cohort EPF-CO1. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 51(7), 833-843.

- Calado, M., Matoso, P., Santos-Costa, Q., Espirito-Santo, M., Machado, J., Rosado, L., . . . Azevedo-Pereira, J. M. (2010). Coreceptor usage by HIV-1 and HIV-2 primary isolates: the relevance of CCR8 chemokine receptor as an alternative coreceptor. *Virology*, 408(2), 174-182.
- Camacho, R. J. (2012). Special aspects of the treatment of HIV-2-infected patients. *Intervirolgy*, 55(2), 179-183.
- Campbell-Yesufu, O. T., e Gandhi, R. T. (2011). Update on human immunodeficiency virus (HIV)-2 infection. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 52(6), 780-787.
- Carvalho, A. C., Valadas, E., Franca, L., Carvalho, C., Aleixo, M. J., Mendez, J., . . . Barros, H. (2012). Population mobility and the changing epidemics of HIV-2 in Portugal. *HIV medicine*, 13(4), 219-225.
- Cavaco-Silva, J., Aleixo, M. J., Van Laethem, K., Faria, D., Valadas, E., Goncalves Mde, F., . . . Camacho, R. J. (2013). Mutations selected in HIV-2-infected patients failing a regimen including atazanavir. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 68(1), 190-192.
- Cavaco-Silva, P., Taveira, N. C., Lourenco, M. H., Santos Ferreira, M. O., e Daniels, R. S. (1997). Vertical transmission of HIV-2. *Lancet*, 349(9046), 177-178.
- Cavaco-Silva, P., Taveira, N. C., Rosado, L., Lourenco, M. H., Moniz-Pereira, J., Douglas, N. W., . . . Santos-Ferreira, M. O. (1998). Virological and molecular demonstration of human immunodeficiency virus type 2 vertical transmission. *Journal of virology*, 72(4), 3418-3422.
- Ciccozzi, M., Babakir-Mina, M., Cella, E., Bertoli, A., Lo Presti, A., Maniar, J. K., . . . Ciotti, M. (2011). A case of Italian HIV type 2 infection: a genetic analysis. *AIDS research and human retroviruses*, 27(12), 1333-1335.

- Ciccozzi, M., Callegaro, A., Lo Presti, A., Cella, E., Giovanetti, M., Salpini, R., . . . Ciotti, M. (2013). When phylogenetic analysis complements the epidemiological investigation: a case of HIV-2 infection, Italy. *The new microbiologica*, 36(1), 93-96.
- Clapham, P. R., e McKnight, A. (2002). Cell surface receptors, virus entry and tropism of primate lentiviruses. *The Journal of general virology*, 83(Pt 8), 1809-1829.
- Clavel, F., Guetard, D., Brun-Vezinet, F., Chamaret, S., Rey, M. A., Santos-Ferreira, M. O., . . . et al. (1986). Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science*, 233(4761), 343-346.
- da Silva, Z. J., Oliveira, I., Andersen, A., Dias, F., Rodrigues, A., Holmgren, B., . . . Aaby, P. (2008). Changes in prevalence and incidence of HIV-1, HIV-2 and dual infections in urban areas of Bissau, Guinea-Bissau: is HIV-2 disappearing? *AIDS*, 22(10), 1195-1202.
- Damond, F., Collin, G., Matheron, S., Peytavin, G., Campa, P., Delarue, S., . . . Descamps, D. (2005). Letter. In vitro phenotypic susceptibility to nucleoside reverse transcriptase inhibitors of HIV-2 isolates with the Q151M mutation in the reverse transcriptase gene. *Antiviral therapy*, 10(7), 861-865.
- Damond, F., Worobey, M., Campa, P., Farfara, I., Colin, G., Matheron, S., . . . Simon, F. (2004). Identification of a highly divergent HIV type 2 and proposal for a change in HIV type 2 classification. *AIDS research and human retroviruses*, 20(6), 666-672.
- De Cock, K. M., e Brun-Vezinet, F. (1989). Epidemiology of HIV-2 infection. *AIDS*, 3 *Suppl 1*, S89-95.
- de Silva, T., Tienen, C., Rowland-Jones, S., e Cotten, M. (2010). Dual Infection with HIV-1 and HIV-2: Double Trouble or Destructive Interference. *HIV Therapy*, 4(3), 305-323.

- de Silva, T., e Weiss, R. A. (2010). HIV-2 goes global: an unaddressed issue in Indian anti-retroviral programmes. *The Indian journal of medical research*, 132, 660-662.
- de Silva, T. I., Aasa-Chapman, M., Cotten, M., Hue, S., Robinson, J., Bibollet-Ruche, F., . . . Weiss, R. (2012). Potent autologous and heterologous neutralizing antibody responses occur in HIV-2 infection across a broad range of infection outcomes. *Journal of virology*, 86(2), 930-946.
- de Silva, T. I., Cotten, M., e Rowland-Jones, S. L. (2008). HIV-2: the forgotten AIDS virus. *Trends in microbiology*, 16(12), 588-595.
- de Silva, T. I., van Tienen, C., Onyango, C., Jabang, A., Vincent, T., Loeff, M. F., . . . Hue, S. (2013). Population dynamics of HIV-2 in rural West Africa: comparison with HIV-1 and ongoing transmission at the heart of the epidemic. *AIDS*, 27(1), 125-134.
- de Sousa, A. E., e Victorino, R. M. (2011). Imunopatogénese e resposta imunitária. Em F. Antunes (Ed.), *Manual sobre sida* (4<sup>a</sup> ed., pp. 55-76): Permanyer Portugal.
- Desbois, D., Roquebert, B., Peytavin, G., Damond, F., Collin, G., Benard, A., . . . Descamps, D. (2008). In vitro phenotypic susceptibility of human immunodeficiency virus type 2 clinical isolates to protease inhibitors. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 52(4), 1545-1548.
- Djomand, G., Greenberg, A. E., Sassan-Morokro, M., Tossou, O., Diallo, M. O., Ekpini, E. R., . . . Brattegaard, K. (1995). The Epidemic of HIV/AIDS in Abidjan, Cote d'Ivoire: A Review of Data Collected by Project RETRO-CI From 1987 to 1993. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology*, 10(3), 358-365.
- Dougan, S., Patel, B., Tosswill, J. H., e Sinka, K. (2005). Diagnoses of HIV-1 and HIV-2 in England, Wales, and Northern Ireland associated with west Africa. *Sexually transmitted infections*, 81(4), 338-341.

- Drylewicz, J., Matheron, S., Lazaro, E., Damond, F., Bonnet, F., Simon, F., . . . Thiebaut, R. (2008). Comparison of viro-immunological marker changes between HIV-1 and HIV-2-infected patients in France. *AIDS*, 22(4), 457-468.
- Eholie, S., e Anglaret, X. (2006). Commentary: decline of HIV-2 prevalence in West Africa: good news or bad news? *International journal of epidemiology*, 35(5), 1329-1330.
- Esbjornsson, J., Mansson, F., Kvist, A., Isberg, P. E., Nowroozalizadeh, S., Biague, A. J., . . . Medstrand, P. (2012). Inhibition of HIV-1 disease progression by contemporaneous HIV-2 infection. *The New England journal of medicine*, 367(3), 224-232.
- Espirito-Santo, M., Santos-Costa, Q., Calado, M., Dorr, P., e Azevedo-Pereira, J. M. (2012). Susceptibility of HIV type 2 primary isolates to CCR5 and CXCR4 monoclonal antibodies, ligands, and small molecule inhibitors. *AIDS research and human retroviruses*, 28(5), 478-485.
- Faria, N. R., Hodges-Mameletzis, I., Silva, J. C., Rodes, B., Erasmus, S., Paolucci, S., . . . Lemey, P. (2012). Phylogeographical footprint of colonial history in the global dispersal of human immunodeficiency virus type 2 group A. *The Journal of general virology*, 93(Pt 4), 889-899.
- Gilleece, Y., Chadwick, D. R., Breuer, J., Hawkins, D., Smit, E., McCrae, L. X., . . . Anderson, J. (2010). British HIV Association guidelines for antiretroviral treatment of HIV-2-positive individuals 2010. *HIV medicine*, 11(10), 611-619.
- Gottlieb, G. S. (2013). Changing HIV epidemics: what HIV-2 can teach us about ending HIV-1. *AIDS*, 27(1), 135-137.
- Gottlieb, G. S., Badiane, N. M., Hawes, S. E., Fortes, L., Toure, M., Ndour, C. T., . . . Sow, P. S. (2009). Emergence of multiclass drug-resistance in HIV-2 in antiretroviral-treated individuals in Senegal: implications for HIV-2 treatment in resource-limited West Africa. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 48(4), 476-483.

- Gottlieb, G. S., Eholie, S. P., Nkengasong, J. N., Jallow, S., Rowland-Jones, S., Whittle, H. C., e Sow, P. S. (2008). A call for randomized controlled trials of antiretroviral therapy for HIV-2 infection in West Africa. *AIDS*, 22(16), 2069-2072; discussion 2073-2064.
- Gottlieb, G. S., Hawes, S. E., Agne, H. D., Stern, J. E., Critchlow, C. W., Kiviat, N. B., e Sow, P. S. (2006). Lower levels of HIV RNA in semen in HIV-2 compared with HIV-1 infection: implications for differences in transmission. *AIDS*, 20(6), 895-900.
- Greenberg, A. E. (2001). Possible protective effect of HIV-2 against incident HIV-1 infection: review of available epidemiological and in vitro data. *AIDS*, 15(17), 2319-2321.
- Gueudin, M., Damond, F., Braun, J., Taieb, A., Lemee, V., Plantier, J. C., . . . Simon, F. (2008). Differences in proviral DNA load between HIV-1- and HIV-2-infected patients. *AIDS*, 22(2), 211-215.
- Hahn, B. H., Shaw, G. M., De Cock, K. M., e Sharp, P. M. (2000). AIDS as a zoonosis: scientific and public health implications. *Science*, 287(5453), 607-614.
- Hamel, D. J., Sankale, J. L., Eisen, G., Meloni, S. T., Mullins, C., Gueye-Ndiaye, A., . . . Kanki, P. J. (2007). Twenty years of prospective molecular epidemiology in Senegal: changes in HIV diversity. *AIDS research and human retroviruses*, 23(10), 1189-1196.
- Hawes, S. E., Sow, P. S., Stern, J. E., Critchlow, C. W., Gottlieb, G. S., e Kiviat, N. B. (2008). Lower levels of HIV-2 than HIV-1 in the female genital tract: correlates and longitudinal assessment of viral shedding. *AIDS*, 22(18), 2517-2525.
- Ibe, S., Yokomaku, Y., Shiino, T., Tanaka, R., Hattori, J., Fujisaki, S., . . . Sugiura, W. (2010). HIV-2 CRF01\_AB: first circulating recombinant form of HIV-2. *Journal of acquired immune deficiency syndromes*, 54(3), 241-247.

- Ingole, N. A., Sarkate, P. P., Paranjpe, S. M., Shinde, S. D., Lall, S. S., e Mehta, P. R. (2013). HIV-2 Infection: Where Are We Today? *Journal of global infectious diseases*, 5(3), 110-113.
- INSA. (2012). *Infeção VIH/SIDA: a situação em Portugal a 31 de dezembro de 2011*. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA, IP).
- INSA. (2013). *Infeção VIH/SIDA: a situação em Portugal a 31 de dezembro de 2012*. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA, IP).
- Kong, R., Li, H., Bibollet-Ruche, F., Decker, J. M., Zheng, N. N., Gottlieb, G. S., . . . Shaw, G. M. (2012). Broad and potent neutralizing antibody responses elicited in natural HIV-2 infection. *Journal of virology*, 86(2), 947-960.
- Leligdowicz, A., e Rowland-Jones, S. (2008). Tenets of protection from progression to AIDS: lessons from the immune responses to HIV-2 infection. *Expert Rev. Vaccines*, 7(3), 319-311.
- Lemey, P., Pybus, O. G., Wang, B., Saksena, N. K., Salemi, M., e Vandamme, A. M. (2003). Tracing the origin and history of the HIV-2 epidemic. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(11), 6588-6592.
- Lucas, É., Cazein, F., Brunet, S., Thierry, D., Pillonel, J., Lot, F., . . . Barin, F. (2012). Types, groupes et sous-types de VIH diagnostiqués en France depuis 2003: données de huit années de surveillance. *Bulletim épidémiologique hebdomadaire*(46-47), 533-537.
- MacNeil, A., Sarr, A. D., Sankale, J. L., Meloni, S. T., Mboup, S., e Kanki, P. (2007). Direct evidence of lower viral replication rates in vivo in human immunodeficiency virus type 2 (HIV-2) infection than in HIV-1 infection. *Journal of virology*, 81(10), 5325-5330.

- Mansson, F., Alves, A., Silva, Z. J., Dias, F., Andersson, S., Biberfeld, G., . . . Norrgren, H. (2007). Trends of HIV-1 and HIV-2 prevalence among pregnant women in Guinea-Bissau, West Africa: possible effect of the civil war 1998-1999. *Sexually transmitted infections*, 83(6), 463-467.
- Mansson, F., Biague, A., da Silva, Z. J., Dias, F., Nilsson, L. A., Andersson, S., . . . Norrgren, H. (2009). Prevalence and incidence of HIV-1 and HIV-2 before, during and after a civil war in an occupational cohort in Guinea-Bissau, West Africa. *AIDS*, 23(12), 1575-1582.
- Marcelino, J. M., Borrego, P., Nilsson, C., Familia, C., Barroso, H., Maltez, F., . . . Taveira, N. (2012). Resistance to antibody neutralization in HIV-2 infection occurs in late stage disease and is associated with X4 tropism. *AIDS*, 26(18), 2275-2284.
- Marcelino, J. M., Borrego, P., Rocha, C., Barroso, H., Quintas, A., Novo, C., e Taveira, N. (2010). Potent and broadly reactive HIV-2 neutralizing antibodies elicited by a vaccinia virus vector prime-C2V3C3 polypeptide boost immunization strategy. *Journal of virology*, 84(23), 12429-12436.
- Maueia, C., Costa, D., Meggi, B., Ismael, N., Walle, C., Curvo, R., . . . Ferreira, O. C., Jr. (2011). Frequency of human immunodeficiency virus type-2 in HIV infected patients in Maputo City, Mozambique. *Virology journal*, 8, 408.
- MMWR. (2011). HIV-2 Infection Surveillance - United States, 1987-2009. *MMWR*, 60(29), 985-988.
- Nam, J. G., Kim, G. J., Baek, J. Y., Suh, S. D., Kee, M. K., Lee, J. S., e Kim, S. S. (2006). Molecular investigation of human immunodeficiency virus type 2 subtype A cases in South Korea. *Journal of clinical microbiology*, 44(4), 1543-1546.

- Ni, X. J., Delelis, O., Charpentier, C., Storto, A., Collin, G., Damond, F., . . . Mouscadet, J. F. (2011). G140S/Q148R and N155H mutations render HIV-2 Integrase resistant to raltegravir whereas Y143C does not. *Retrovirology*, 8, 68.
- NIAID. (2013). HIV Replication Cycle. *Nacional Institute of Allergy and Infectious Diseases*, Disponível em <http://www.niaid.nih.gov/topics/HIVAIDS/Understanding/Biology/pages/hivreplicationcycle.aspx> [Consultado a 16/10/2013]
- Ntemgwa, M. L., d'Aquin Toni, T., Brenner, B. G., Camacho, R. J., e Wainberg, M. A. (2009). Antiretroviral drug resistance in human immunodeficiency virus type 2. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 53(9), 3611-3619.
- Paixão, M. T. (2011). Epidemiologia da infecção por VIH e da sida - impacto mundial. Em F. Antunes (Ed.), *Manual sobre sida* (4ª ed., pp. 79-86). Lisboa, Portugal: Permanyer Portugal.
- Paixão, M. T., e Pádua, E. (2011). Transmissão da infecção por VIH. Em F. Antunes (Ed.), *Manual sobre sida* (4ª ed., pp. 105-113). Lisboa, Portugal: Permanyer Portugal.
- Peterson, K., Jallow, S., Rowland-Jones, S. L., e de Silva, T. I. (2011). Antiretroviral Therapy for HIV-2 Infection: Recommendations for Management in Low-Resource Settings. *AIDS research and treatment*, 2011.
- Plantier, J. C., Leoz, M., Dickerson, J. E., De Oliveira, F., Cordonnier, F., Lemee, V., . . . Simon, F. (2009). A new human immunodeficiency virus derived from gorillas. *Nature medicine*, 15(8), 871-872.
- PNIVIH/SIDA. (2012). *Recomendações Portuguesas para o tratamento da infeção por VIH-1 e VIH- 2* Programa Nacional para a Infeção VIH/SIDA

- Prince, P. D., Matsers, A., Van Tienen, C., Whittle, H. C., e Schim Van Der Loeff, M. F. (2013). Mortality rates in people dually infected with HIV-1/2 and those infected with either HIV-1 or HIV-2: a systematic review and meta-analysis. *AIDS*.
- Quiros-Roldan, E., Castelli, F., Pan, A., Chiodera, S., Casari, S., Airoidi, M., e Carosi, G. (2001). Evidence of HIV-2 infection in northern Italy. *Infection*, 29(6), 362-363.
- Raugi, D. N., Gottlieb, G. S., Sow, P. S., Toure, M., Sall, F., Gaye, A., . . . Hawes, S. E. (2013a). HIV-1 outcompetes HIV-2 in dually infected Senegalese individuals with low CD4+ cell counts. *AIDS*, 27(15), 2441-2450.
- Raugi, D. N., Smith, R. A., Ba, S., Toure, M., Traore, F., Sall, F., . . . Gottlieb, G. S. (2013b). Complex patterns of protease inhibitor resistance among antiretroviral treatment-experienced HIV-2 patients from Senegal: implications for second-line therapy. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 57(6), 2751-2760.
- Rodrigues, J. J., Mehendale, S. M., Shepherd, M. E., Divekar, A. D., Gangakhedkar, R. R., Quinn, T. C., . . . et al. (1995). Risk factors for HIV infection in people attending clinics for sexually transmitted diseases in India. *BMJ*, 311(7000), 283-286.
- Roquebert, B., Blum, L., Collin, G., Damond, F., Peytavin, G., Leleu, J., . . . Descamps, D. (2008a). Selection of the Q148R integrase inhibitor resistance mutation in a failing raltegravir containing regimen. *AIDS*, 22(15), 2045-2046.
- Roquebert, B., Damond, F., Collin, G., Matheron, S., Peytavin, G., Benard, A., . . . Descamps, D. (2008b). HIV-2 integrase gene polymorphism and phenotypic susceptibility of HIV-2 clinical isolates to the integrase inhibitors raltegravir and elvitegravir in vitro. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 62(5), 914-920.

- Rouet, F., Ekouevi, D. K., Inwoley, A., Chaix, M. L., Burgard, M., Bequet, L., . . . Rouzioux, C. (2004). Field evaluation of a rapid human immunodeficiency virus (HIV) serial serologic testing algorithm for diagnosis and differentiation of HIV type 1 (HIV-1), HIV-2, and dual HIV-1-HIV-2 infections in West African pregnant women. *Journal of clinical microbiology*, 42(9), 4147-4153.
- Ruelle, J., Roman, F., Vandenbroucke, A. T., Lambert, C., Franssen, K., Echahidi, F., . . . Goubau, P. (2008). Transmitted drug resistance, selection of resistance mutations and moderate antiretroviral efficacy in HIV-2: analysis of the HIV-2 Belgium and Luxembourg database. *BMC infectious diseases*, 8, 21.
- Santiago, M. L., Range, F., Keele, B. F., Li, Y., Bailes, E., Bibollet-Ruche, F., . . . Hahn, B. H. (2005). Simian immunodeficiency virus infection in free-ranging sooty mangabeys (*Cercocebus atys atys*) from the Tai Forest, Cote d'Ivoire: implications for the origin of epidemic human immunodeficiency virus type 2. *Journal of virology*, 79(19), 12515-12527.
- Schim van der Loeff, M. F., Sarge-Njie, R., Ceesay, S., Awasana, A. A., Jaye, P., Sam, O., . . . Whittle, H. C. (2003). Regional differences in HIV trends in The Gambia: results from sentinel surveillance among pregnant women. *AIDS*, 17(12), 1841-1846.
- Schmidt, W. P., Van Der Loeff, M. S., Aaby, P., Whittle, H., Bakker, R., Buckner, M., . . . White, R. G. (2008). Behaviour change and competitive exclusion can explain the diverging HIV-1 and HIV-2 prevalence trends in Guinea-Bissau. *Epidemiology and infection*, 136(4), 551-561.
- Sharp, P. M., e Hahn, B. H. (2011). Origins of HIV and the AIDS pandemic. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 1(1).
- Smallman-Raynor, M., e Cliff, A. (1991). The spread of human immunodeficiency virus type 2 into Europe: a geographical analysis. *International journal of epidemiology*, 20(2), 480-489.

- Smith, R. A., Anderson, D. J., Pyrak, C. L., Preston, B. D., e Gottlieb, G. S. (2009). Antiretroviral drug resistance in HIV-2: three amino acid changes are sufficient for classwide nucleoside analogue resistance. *The Journal of infectious diseases*, 199(9), 1323-1326.
- Smith, R. A., Raugi, D. N., Pan, C., Coyne, M., Hernandez, A., Church, B., . . . Gottlieb, G. S. (2012). Three main mutational pathways in HIV-2 lead to high-level raltegravir and elvitegravir resistance: implications for emerging HIV-2 treatment regimens. *PLoS One*, 7(9), e45372.
- Soriano, V., Gomes, P., Heneine, W., Holguin, A., Doruana, M., Antunes, R., . . . Antunes, F. (2000). Human immunodeficiency virus type 2 (HIV-2) in Portugal: clinical spectrum, circulating subtypes, virus isolation, and plasma viral load. *Journal of medical virology*, 61(1), 111-116.
- Taveira, N., Borrego, P., e Bártolo, I. (2011). Biologia molecular de VIH. Em F. Antunes (Ed.), *Manual sobre sida* (4ª ed., pp. 31-51). Lisboa, Portugal: Permanyer Portugal.
- Thiebaut, R., Matheron, S., Taieb, A., Brun-Vezinet, F., Chene, G., e Autran, B. (2011). Long-term nonprogressors and elite controllers in the ANRS CO5 HIV-2 cohort. *AIDS*, 25(6), 865-867.
- Tienen, C., van der Loeff, M. S., Zaman, S. M., Vincent, T., Sarge-Njie, R., Peterson, I., . . . Whittle, H. (2010). Two distinct epidemics: the rise of HIV-1 and decline of HIV-2 infection between 1990 and 2007 in rural Guinea-Bissau. *Journal of acquired immune deficiency syndromes*, 53(5), 640-647.
- Torian, L. V., Eavey, J. J., Punsalang, A. P., Pirillo, R. E., Forgione, L. A., Kent, S. A., e Oleszko, W. R. (2010). HIV type 2 in New York City, 2000-2008. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 51(11), 1334-1342.

- Travers, K., Mboup, S., Marlink, R., Gueye-Nidaye, A., Siby, T., Thior, I., . . . et al. (1995). Natural protection against HIV-1 infection provided by HIV-2. *Science*, 268(5217), 1612-1615.
- Trevino, A., de Mendoza, C., Caballero, E., Rodriguez, C., Parra, P., Benito, R., . . . Soriano, V. (2011). Drug resistance mutations in patients infected with HIV-2 living in Spain. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 66(7), 1484-1488.
- UNAIDS. (2013). *Global report: UNAIDS report on the global AIDS epidemic 2013*.
- Valadas, E. (2011). Espectro clínico da infecção por VIH. Em F. Antunes (Ed.), *Manual sobre sida* (4ª ed., pp. 131-137): Permanyer Portugal.
- Valadas, E., Franca, L., Sousa, S., e Antunes, F. (2009). 20 years of HIV-2 infection in Portugal: trends and changes in epidemiology. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 48(8), 1166-1167.
- van der Loeff, M. F., Awasana, A. A., Sarge-Njie, R., van der Sande, M., Jaye, A., Sabally, S., . . . Whittle, H. C. (2006). Sixteen years of HIV surveillance in a West African research clinic reveals divergent epidemic trends of HIV-1 and HIV-2. *International journal of epidemiology*, 35(5), 1322-1328.
- van der Loeff, M. F., Larke, N., Kaye, S., Berry, N., Ariyoshi, K., Alabi, A., . . . Whittle, H. (2010). Undetectable plasma viral load predicts normal survival in HIV-2-infected people in a West African village. *Retrovirology*, 7, 46.
- Visseaux, B., Charpentier, C., Hurtado-Nedelec, M., Storto, A., Antoine, R., Peytavin, G., . . . Descamps, D. (2012). In vitro phenotypic susceptibility of HIV-2 clinical isolates to CCR5 inhibitors. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 56(1), 137-139.
- Wertheim, J. O., e Worobey, M. (2009). Dating the age of the SIV lineages that gave rise to HIV-1 and HIV-2. *PLoS computational biology*, 5(5).