ساب تایپ های ویروس HIV و موتاسیون های مقاومت دارویی در بیماران HIV مثبت تحت درمان با داروهای انتی رتروویرال

آمیتیس رمضانی[۱]*، رسول همکار[۲]، آرزو آقاخانی[۳]، شیما لرستانی[۴]، محمد بنی فضل[۵]، هونگ ها ترونگ[۶]، ویلی مک فارلند[۷]، مریم فروغی[۸]، علی اسلامی فر[۳] و مینو محرز[۹]

۱. متخصص بیماریهای عفونی و گرمسیری، استادیار انستیتو پاستور ایران
۲. دکترای ویروس شناسی، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران
۳. پاتولوژیست، استادیار انستیتو پاستور ایران
۴. کارشناس ارشد میکروبیولوژی ، دانشکده علوم، دانشگاه ازاد قم
۵. متخصص اطفال، انجمن حمایت از بیماران عفونی کشور
۶. دکترای پاتوبیولوژی، دانشگاه کالیفورنیا، سان فرانسیسکو
۷. دکترای اپیدمیولوژی، دانشگاه کالیفورنیا، سان فرانسیسکو
۸. پزشک عمومی، مرکز تحقیقات ایدز، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۹. متخصص بیماریهای عفونی و گرمسیری، استاد مرکز تحقیقات ایدز، دانشگاه علوم پزشکی تهران

** نشانی برای مکاتبه: تهران ،خیابان پاستور، انستیتو پاستور ایران، بخش تحقیقات بالینی تلفن:۰۲۱۶۶۹۶۸۸۵۲، نمابر ۰۲۱۶۶۴۶۵۱۴۷،
amitisramezani@hotmail.com
دریافت مقاله: اردیبهشت هشتاد و نه پذیرش برای چاپ: خرداد هشتاد و نه

چکیده

سابقه و هدف: *مطالعات متعدد افزایش موارد شکست درمانی با داروهای انتی رتروویرال را در بیماران HIV مثبت گزارش کرده اند.ایجاد سویه های مقاوم مشکل مهمی در درمان بیماران الوده به HIV محسوب می شود. هدف از این مطالعه تعیین ساب تایپ های ویروس HIV و موتاسیون های مقاومت دارویی در بیماران HIV مثبت تحت درمان با داروهای انتی رتروویرال می باشد.*

روش کار: *۴۲ بیمار HIV مثبت تحت درمان با داروهای انتی رتروویرال در این مطالعه وارد شدند.ناحیه pol ویروس HIV تکثیر شد و موتاسیون های مقاومت دارویی و ساب تایپ های ویروس HIV با روش سکوانسینگ تعیین گردید.*

یافته ها :: *۴۸٪ بیماران ساب تایپ A/D recombinant ، ۴۳٪ ساب تایپ B، ۵٪ ساب تایپ A و ۵٪ ساب تایپ CRF01-AE recombinants داشتند. موتاسیون های مقاومت دارویی در ساب تایپ B (۵۳٪) شایع تر از A/D recombinant(۴۴٪) بودند. نمونه های ویروس ۱۹٪ بیماران موتاسیون مقاومت دارویی را نشان ندادند و به ترتیب در ۲٪ ،۲٪ و۷۶٪ نمونه ها۱،۲ وبرابر یا بیش از ۳ موتاسیون مقاومت دارویی مشاهده گردید. شیوع موتاسیون های NRTI ،۷۶٪ بود و شایع ترین انها M184V و L74V بودند که به ترتیب در ۶۰٪ و ۳۸٪ نمونه ها یافت شدند. شیوع موتاسیون های NNRTI، ۷۴٪ بود که موتاسیون P225H در ۵۵٪ نمونه های مورد مطالعه مشاهده گردید. شیوع موتاسیون های PI ۴۵٪ بود و موتاسیون ماژور L90M در ۳۳٪ و موتاسیون مینور A71V در ۳۶٪ نمونه ها مشاهده شد.*

نتیجه گیری: *این مطالعه شیوع بالای موتاسیون های مقاومت دارویی را در بیماران HIV مثبت ایرانی تحت درمان با داروهای انتی رتروویرال نشان داد و تاکید کرد که ادامه سورویلانس الگوهای مقاومت دارویی جهت تعیین رژیم درمانی مناسب و محدود ساختن انتقال این واریانتها به سایرین ضروری می باشد.*

واژگان کلیدی : *HIV، داروهای انتی رتروویرال، مقاومت دارویی*

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

داروهای انتی رتروویرال عفونت human immunodeficiency virus (HIV) را با مهار تکثیر ویروس در بیماران HIV مثبت کنترل کرده (۵-۱) و منجر به کاهش پیشرفت بیماری و افزایش قابل توجه در بقای بیماران می گردند (۶).

تغییرات ژنتیکی وسیع از مشخصات غالب HIV بوده که سبب ایجاد موتاسیون های مقاومت به کلیه داروهای انتی رتروویرال موجود می گردد (۷). مطالعات نشان داده که۱۰٪ بیماران گیرنده highly active antiretroviral therapy (HAART) بعد از ۲ سال مقاومت ژنوتایپی به داروها را نشان می دهند و تقریبا ۳۰٪ بیماران در عرض ۶ سال بعد از شروع HAART دچار شکست درمان همراه با ایجاد یک موتاسیون مقاومت ماژور می گردند (۸) که خطری در کنترل انتقال موارد دارای مقاومت متعدد، محدود ساختن رژیم های درمانی و شکست درمان محسوب می شود (۹،۱۰). همچنین سویه های مقاوم ویروس مشکل مهم جوامعی هستند که داروهای انتی رتروویرال را به طور وسیع برای چندین سال مصرف می کنند (۱۳-۱۱).

گزارشات محدودی در مورد توزیع ساب تایپ HIV-1 در خاور میانه و ناحیه شمالی افریقا موجود است. دراین نواحی به استثنا لبنان که ساب تایپ A غالب است، ساب تایپ B وC شایع می باشد (۱۴). ساب تایپ B در کشورهای غربی ، ساب تایپ A در افریقای مرکزی و غربی، ساب تایپ C در افریقای شرقی و غربی، هند و چین و CRF01-AE در تایلند و جنوب شرقی اسیا شایع هستند (۱۷-۱۵).

شیوع موتانت های مقاوم از نظر جغرافیایی متغیر است که لزوم بررسی هایی برای تعیین ساب تایپ ها و موتانت های در گردش را برای تعیین داروهای انتی رتروویرال موثر توجیه می کند (۱۸،۱۹). در حال حاضر مطالعات محدودی درباره موتانت های مقاوم در ایران انجام شده است. هدف از این مطالعه تعیین ساب تایپ های ویروس HIV و موتاسیون های مقاومت دارویی در بیماران HIV مثبت تحت درمان با داروهای انتی رتروویرال می باشد.

روش کار

در این مطالعه مقطعی ۴۲ بیمار HIV مثبت تحت درمان با داروهای انتی رتروویرال مراجعه کننده به Iranian Research Center for HIV/AIDS وارد شدند.پس از اخذ رضایت نامه و تکمیل فرم اطلاعاتی شامل مشخصات دموگرافیک و اپیدمیولوژیک از بیماران ، نمونه خون گرفته شد. کلیه بیماران درمان انتی رتروویرال را برای حداقل یک سال دریافت کرده بودند و روی رژیم درمانی یک protease inhibitor (PI) یا یک non-nucleoside transcriptase inhibitor (NNRTI) در ترکیب با دو nucleoside transcriptase inhibitors (NRTI) بودند. CD4 بیماران با روش فلوسایتومتری تعیین گردید. ناحیه *pol* HIV که شامل ژن پروتئاز ویروس (PR) و ژن ریورس ترانس کریپتاز(RT) می باشد تکثیر شد و برای تعیین موتاسیون های مقاومت دارویی و ساب تایپ های ویروس HIV سکوانسینگ روی انها انجام گرفت.

استخراج RNA بر اساس دستورالعمل کیت (AccuPrep Viral RNA Extraction, Bioneer Co., Deajeon, South Korea) انجام شد. RT-PCR در ۴ مرحله بر اساس Canadian National HIV and Retrovirology Laboratories HIV drug resistant mutant surveillance صورت گرفت. Nested PCR نیز بر روی ۶۸۴ جفت باز (bp) از ناحیه PR و ۷۲۴ جفت باز (bp) از ناحیه RT انجام شد. محصولات PCR با استفاده از کیت تخلیص (Qiagen, Hilden, Germany)خالص شدند و سپس با استفاده از پرایمرهای مرتبط forward و reverse به صورت bidirectional توسط شرکت Macrogen, Seoul, South Korea سکوانس گردیدند.

سکانس های بدست آمده توسط نرم افزار Bioedit version (7.0.5.3) ویرایش شدند و ساب تایپ ها توسط nucleotide BLAST و Stanford University HIV drug resistant mutations databases تعیین شدند. آنالیز اضافی برای تعیین موتاسیون های مقاومت دارویی با استفاده از database فوق انجام گرفت.

برای هر ایزوله HIV سکوانس PR و RT گروه بندی شدند. سپس بررسی مقایسه ای (Aligned) در مورد آنها و سکانسهای رفرانس دریافت شده از بانک ژن با استفاده از CLUSTAL W انجام گردید.

آنالیز فیلوژنتیک با استفاده از روشneighbor-joining (۲۰) و Kimura 2-parameter correction (۲۱) انجام شد و درخت فیلوژنتیک با استفاده از Mega program version 4 (۲۲) ترسیم گردید. برای اثبات اعتبار درخت فیلوژنیک bootstrap Resampling ۱۰۰۰ بار انجام گرفت (۲۳).

سکانس های ایزوله های HIV-1 گزارش شده در این مقاله در بانک ژن تحت accession numbers (GU724804-GU724845) ثبت شدند.

یافته ها

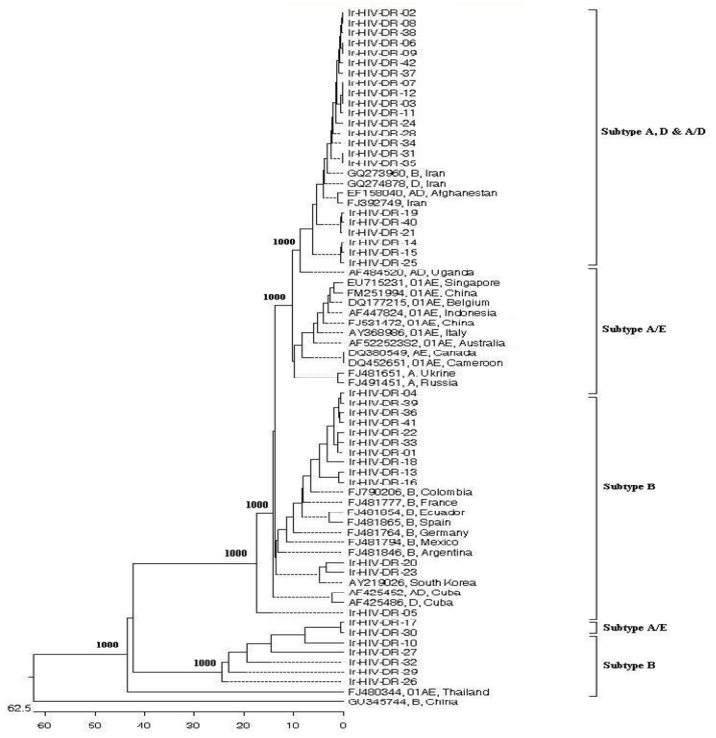
۸۳٪ بیماران مذکر و ۱۷٪ مونث بودند. میانگین سنی بیماران ۹۶± ۳۸ سال بود. میانگین سلول های CD4 بیماران$cells/mm^3$ (۵۶۰-۲۶)۱۴۶±۲۶۶ بود. شایع ترین راه احتمالی انتقال HIV در بیماران تزریق مواد مخدر(۳۶٪)، خون و محصولات خونی الوده (۲۱٪)، انتقال از همسر الوده (۱۲٪)، شرکای جنسی متعدد (۷٪)، انتقال از مادر به فرزند، خالکوبی ، ترکیب تزریق مواد مخدر و انتقال از همسر(هر کدام ۲٪) بود.در ۱۷٪ بیماران روش مشخصی برای انتقال HIV گزارش نشد.

۴۸٪ ساب تایپ A/D recombinant ، ۴۳٪ ساب تایپ B، ۵٪ ساب تایپ A و ۵٪ ساب تایپ CRF01-AE recombinants داشتند(شکل ۱). نمونه های ویروس ۱۹٪ بیماران موتاسیون مقاومت دارویی را نشان ندادند و به ترتیب در ۲٪ ،۲۰٪ و۷۶٪ نمونه ها۱،۲ و برابر یا بیش از ۳ موتاسیون مقاومت دارویی مشاهده گردید. موتاسیون های مقاومت به ۲ کلاس دارو در ۴۳٪ بیماران مشاهده گردید (۳۶٪ :NRTI/NNRTI; ۵٪ :NRTI/PI ; ۲٪ :NNRTI/PI) و ۳۶٪ بیماران به ۳ کلاس دارو مقاوم بودند.(NNRTI/NRTI/PI). شیوع موتاسیون های NRTI ، NNRTI و PI به ترتیب ۷۶٪، ۷۴٪ و ۴۵٪ بود. توزیع موتاسیون های ماژور و مینور مقاومت دارویی در ژن های PR وRT در شکل 2A و 2B نشان داده شدند. شایع ترین موتاسیون های ماژور PI شامل L90M(۳۳٪)، M46I(۱۰٪) و I84V ، I54V، L76V، N88D، D30N (هرکدام ۵٪) بودند.

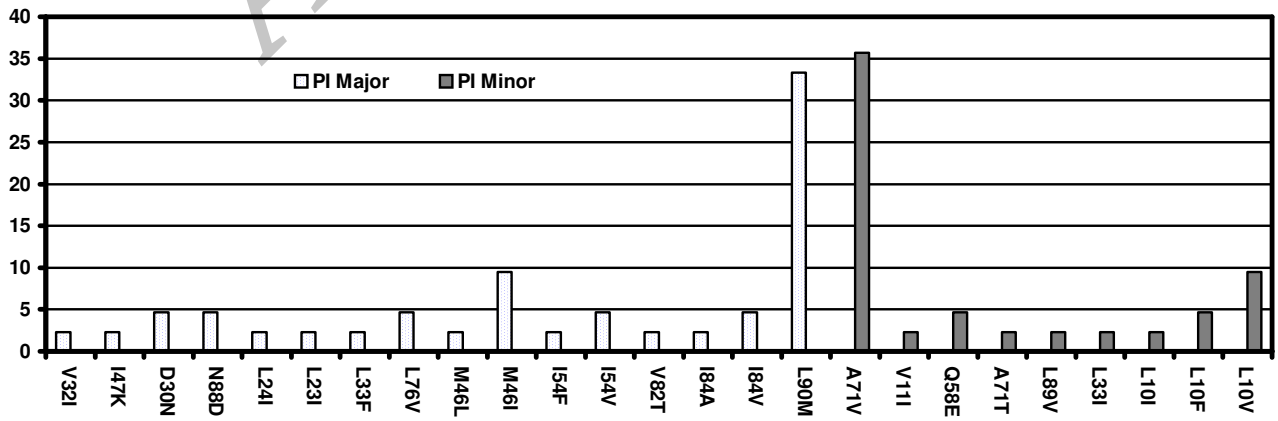
Archive of SID

www.SID.ir

شکل ۱. درخت فیلوژنتیک ترسیم شده با استفاده از روش neighbor-joining با Mega program version 4. نمونه های مورد بررسی در این مطالعه با پیشوند Ir-HIV-DR مشخص شده اند

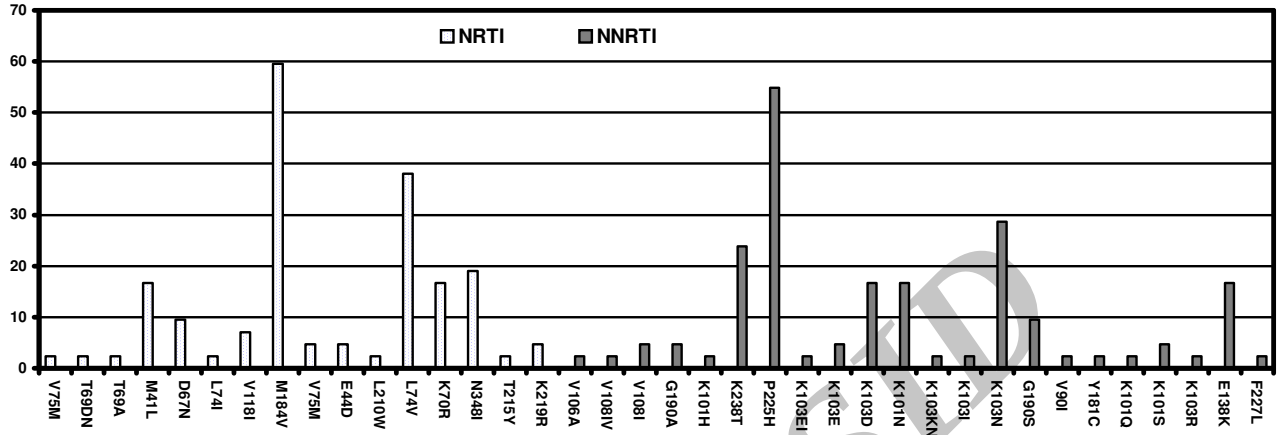


شکل ۲A: سکوانسهای PR با موتاسیونهای ماژور و مینور مرتبط با PI



Archive of SID
www.SID.ir

شکل 2B: سکوانسهای RT با موتاسیونهای مقاومت مرتبط با NRTI و NNRTI



شایع ترین موتاسیون های مینور PI شامل A71V (۳۶٪)، L10V(۱۰٪)، L10F (۵٪) و Q58E (۵٪) بود (شکل ۲A). موتاسیون های مقاومت در سکوانس های RT به قرار زیر بود : M184V(۶۰٪)، L74V (۳۸٪) ، N348I (۱۹٪)، K70R، (۱۷٪) ، M41L (۱۷٪) و D67N (۱۰٪)که با مقاومت به گروه NRTI مرتبط بودند. در حالیکه P225H (۵۵٪)، K103N، (۲۹٪) ، K238T (۲۴٪)،K103D (۱۷٪) ، K101N(۱۷٪)، E138K (۱۷٪) و G190S (۱۰٪) با مقاومت بهNNRTI ارتباط داشتند(شکل ۲B).

موتاسیون های مقاومت دارویی در ساب تایپ B (۵۳٪) شایع تر از A/D recombinant (۴۴٪) ملاحظه شدند ولی در ساب تایپA یافت نشد. در ژن RT موتاسیون های مقاومت به NRTI شامل M41L و K70R در ساب تایپ B شایعتر بودند. موتاسیون های مقاومت بهNNRTI ، مانند K101N و K103D و K238T بیشتر با ساب تایپ B مرتبط بودند در حالیکه موتاسیون K103N و E138K به نظر می رسد در ساب تایپA/D شایع تر باشند. در ژن PR جایگزینی اسیدامینه L90M و A71V در ساب تایپ B شایع تر بود. مقاومت دارویی به گروه NRTI (۷۶/۲٪) شایع تر از مقاومت به دیگر کلاس های دارویی بود(۷۴٪ :NNRTI ; ۴۵٪ :PI). فراوانی سطوح مقاومت به NNRTI، NRTI وPI نیز بررسی شده است. مقاومت به نلفیناویر (۴۱٪ مقاومت سطح بالا) و ایندیناویر (۳۱٪ مقاومت متوسط) شایع ترین مقاومت ها به گروه PI بودند. در کلاس NNRTI فراوانی ایزوله های مقاوم به نویراپین ، دلاوردین و افاویرنز به ترتیب ۶۲٪ ، ۵۲٪ و ۴۵٪ گزارش گردید. فراوانی مقاومت سطح بالا به گروه NRTI مانند لامیوودین و امتریسیتابین ۶۰٪ بود.

بحث

در این مطالعه ساب تایپA/D و متعاقب آن ساب تایپ B شایع ترین ساب تایپ های HIV-1 بودند. موتاسیون های مقاومت به همه کلاس های داروهای انتی رتروویرال در بیماران HIV مثبت تحت درمان به طور شایعی مشاهده شد. مقاومت به گروه NRTI بیشترین موارد را تشکیل می داد ودر ۷۵٪ یافت شد.

پروفایل موتاسیون های مشاهده شده در این مطالعه مشابه سایر مطالعات بود (۱ ، ۲۴-۳۰). شایع ترین موتاسیون در کدون ۱۸۴ (۵۹/۵٪) رخ داد که با مقاومت به لامیوودین و امتریسیتابین ، دو داروی شایع مصرفی در رژیم های درمانی همراه بود. فراوانی موتاسیون هایی که منجر به مقاومت به NNRTI می شوند ۷۴٪ بود که بالاتر از مقادیر گزارش شده در سایر مطالعات می باشد(۲۶ ، ۲۸ ، ۳۰). شایع ترین موتاسیون در کدون ۱۰۳(۶۰٪) و ۲۲۵(۵۵٪) مشاهده شد که به علت مصرف افاویرنز و نویراپین در اغلب رژیم های درمانی است. شایع ترین موتاسیونی که در گروه PI رخ داد در کدون ۹۰ (۳۳٪) بود که معمولا به دلیل مصرف نلفیناویر و ساکیناویر می باشد و منجر به مقاومت به اغلب داروهای گروه PI می شود. تعداد و الگوی موتاسیون های مشاهده شده در این مطالعه تقریبا مشابه با دیگر مطالعاتی است که بر روی بیماران دچار شکست درمانی با HAART مشاهده می گردد(۲۹،۳۰).

اختلافات در ایجاد مقاومت دارویی بین ساب تایپB و غیرB در بیماران دچار شکست درمانی به خوبی توصیف نشده است. موتاسیون های مرتبط با NRTI به طور شایع در کدون ۴۱ و ۷۰ در ساب تایپ B مشاهده می گردد در حالیکه موتاسیون در کدون ۱۸۴ در ساب تایپA/D شایع تر است. موتاسیون های مرتبط با NNRTI شامل کدون ۲۳۸ و ۱۰۱ تنها در ساب تایپ B دیده می شوند در حالیکه موتاسیون کدون ۱۳۸ تنها در ساب تایپA/D قابل مشاهده است. در گروه داروهای PI موتاسیون های کدون ۹۰ و ۷۱ تنها در ساب تایپ B رخ می دهند.

Archive of SID

www.SID.ir

نتیجه گیری

این مطالعه شیوع بالای موتاسیون های مقاومت دارویی را در بیماران HIV مثبت ایرانی تحت درمان با داروهای انتی رتروویرال نشان داد و تاکید کرد که ادامه سورویلانس الگوهای مقاومت دارویی جهت تعیین رژیم درمانی مناسب و محدود ساختن انتقال این واریانتها به سایرین ضروری می باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله ازIranian Research Center for HIV/AIDS و انجمن حمایت از بیماران عفونی کشور به جهت حمایت مالی از طرح فوق قدردانی می نمایند.

REFERENCES

1. Varella RB, Ferreira SB, Castro MB, Tavares MD, Zalis MG. Prevalence of resistance-associated mutations in human immunodeficiency virus type 1-positive individuals failing HAART in Rio de Janeiro, Brazil. Braz J Infect Dis. 2008; 12(5):380-4.

2. Gallant J.E. Initial therapy of HIV infection. J Clin Virol 2002; 25:317-33.

3. Werner V, Stephen S, Calvin C, et al. Prevalence of HIV drug resistance in anti-retroviral-naïve patients: a prospective study. AIDS 2001; 15(5):647-50.

4. Cohen CJ, Hunt S, Sension M, Farthing C, Conant M, Jacobson S, et al. A randomized trial assessing the impact of phenotypic resistance testing on antiretroviral therapy. AIDS 2002; 16: 579–588.

5. Loveday C, Dunn D, Green H, Rinehart A, McKenna P, On behalf of the ERA Steering Committee. A randomized controlled trial of phenotypic resistance testing in addition to genotypic esistance testing: the ERA trial. AntivirTher.2003;8 (Suppl. 1): S188.

6. Sarmati L, Nicastri E, Montano MA, Dori L, Buonomini AR, d'Ettorre G, et al. Decrease of replicative capacity of HIV isolates after genotypic guided change of therapy. J. Med. Virol. 2004; 72:511-516.

7. Poonpiriya V, Sungkanuparph S, Leechanachai P, Pasomsub E, Watitpun C, Chunhakan S, et al. A study of seven rule-based algorithms for the interpretation of HIV-1 genotypic resistance data in Thailand. J Virol Methods. 2008; 151(1):79-86.

8. Gupta R, Hill A, Sawyer AW, Pillay D. Emergence of drug resistance in HIV type 1-infected patients after receipt of first-line highly active antiretroviral therapy: a systematic review of clinical trials. Clin Infect Dis. 2008; 47(5):712-22

9. Phillips AN, Dunn D, Sabin C, Pozniak A, Matthias R, Geretti AM, et al. Long term probability of detection of HIV-1 drug resistance after starting antiretroviral therapy in routine clinical practice. AIDS 2005; 19:487–94.

10. Vella S, Palmisano L. The global status of resistance to antiretroviral drugs. Clin Infect Dis 2005; 41(Suppl 4):S239–46.

11. Cerqueira DM, Amorim RM, Silva RR, Camara GN, Brígido MM, Martins CR. Antiretroviral resistance and genetic diversity of human immunodeficiency virus type 1 isolates from the Federal District, Central Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2004;99(8):877-82

Archive of SID

www.SID.ir

12. Little SJ, Holte S, Routy J-P, Daar ES, Markowitz M, Collier AC, et al. Antiretroviral-drug resistance among patients recently infected with HIV. N Engl J Med 2002; 347: 385-394.

13. Hirsch MS, Brun-Vézinet F, Clotet B, Conway B, Kruitzkes DR, D'Aquila RT, et al. Antiretroviral drug resistance testing in adults infected with human immunodeficiency virus type 1: 2003 recommendations of an International AIDS Society-USA Panel. Clin Infect Dis 2003; 37: 113-28.

14. Naderi HR, Tagliamonte M, Tornesello ML, Ciccozzi M, Rezza G, Farid R, et al. Molecular and phylogenetic analysis of HIV-1 variants circulating among injecting drug users in Mashhad-Iran. Infect Agent Cancer. 2006;1:4.

15. Peeters M, Toure-Kane C, Nkengasong JN. Genetic diversity of HIV in Africa: impact on diagnosis, treatment, vaccine development and trials. AIDS 2003;17: 2547–2560.

16. Robertson DL, Anderson JP, Bradac JA, Carr JK, Foley B, Funkhouser RK, et al. Science 2000; 288: 55–56.

17. Tatt ID, Barlow KL, Nicoll A, Clewley JP. The public health significance of HIV-1 subtypes. AIDS 2001;15 (Suppl 5): S59–S71.

18. Thomson MM, Pérez-Álvarez L, Nájera R. Molecular epidemiology of HIV-1 genetic forms and its significance for vaccine development and therapy. Lancet Infect Dis 2002; 2: 461-471.

19. Perrin L, Kaiser L, Yerly S. Travel and the spread of HIV-1 genetic variants. Lancet Infect Dis 2003; 3: 22-27.

20. Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol Biol Evol 1987; 4:406–425.

21. Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. J Mol Evol 1980; 16:111–120.

22. Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S. MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. molecular biology and evolution. 2007; 24:1596-99.

23. Felsenstein J. Confidence limits on phylogenesis: An approach using the bootstrap. Evolution 1985; 39:783–791.

24. Panos G, Charatsis G, Paparizos V, Kazantzi M, Falagas ME. Prevalence of genotypic resistance to nucleoside analogues, nonnucleoside analogues, and protease inhibitors in HIV-infected persons in Athens, Greece. AIDS Res Hum Retroviruses. 2008;24(1):43-51.

25. Marconi VC, Sunpath H, Lu Z, Gordon M, Koranteng-Apeagyei K, Hampton J, et al. Prevalence of HIV-1 drug resistance after failure of a first highly active antiretroviral therapy regimen in KwaZulu Natal, South Africa. Clin Infect Dis. 2008;46(10):1589-97

26. Torres Rivera B, Vallés V, Ríos Olivares E. Prevalence of primary and secondary resistant mutations to antiretroviral drug in a population of Puerto Rican infected with HIV. P R Health Sci J. 2002;21(4):329-36.

Archive of SID

www.SID.ir

27. McColl DJ, Chappey C, Parkin NT, Miller MD. Prevalence, genotypic associations and phenotypic characterization of K65R, L74V and other HIV-1 RT resistance mutations in a commercial database. Antivir Ther. 2008;13(2):189-97.

28. Jlizi A, Ben Ammar El Gaaied A, Slim A, Tebourski F, Ben Mamou M, Ben Chaabane T, et al. Profile of drug resistance mutations among HIV-1-infected Tunisian subjects failing antiretroviral therapy. Arch Virol. 2008;153(6):1103-8

29. Couto-Fernandez JC, Silva-de-Jesus C, Veloso VG, Rachid M, Gracie RS, Chequer-Fernandez SL, et al. Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) genotyping in Rio de Janeiro, Brazil: assessing subtype and drug-resistance associated mutations in HIV-1 infected individuals failing highly active antiretroviral therapy. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2005;100(1):73-8.

30. Cavalcanti AM, Lacerda HR, Brito AM, Pereira S, Medeiros D, Oliveira S. Antiretroviral resistance in individuals presenting therapeutic failure and subtypes of the human immunodeficiency virus type 1 in the Northeast Region of Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2007;102(7):785-92

Archive of SID

www.SID.ir