



**Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto**  
**Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde**

---

**João Ricardo Araújo dos Santos**

**Perfil de Mutações do Vírus da Imunodeficiência  
Adquirida Tipo 1 Associadas à Resistência  
aos Antirretrovirais em indivíduos atendidos no  
Município de Catanduva-Noroeste Paulista**

**São José do Rio Preto**  
**2012**

**João Ricardo Araújo dos Santos**

**Perfil de Mutações do Vírus da Imunodeficiência  
Adquirida Tipo 1 Associadas à Resistência  
aos Antirretrovirais em indivíduos atendidos no  
Município de Catanduva-Noroeste Paulista**

Tese apresentada à Faculdade de  
Medicina de São José do Rio Preto  
para obtenção do Título de Doutor  
no Curso de Pós-graduação em  
Ciências da Saúde, Eixo Temático:  
Medicina e Ciências Correlatas.

**Orientador: Prof. Dr. Ricardo Luiz D. Machado**

**São José do Rio Preto  
2012**

Santos Araújo, João Ricardo

Perfil de mutações do vírus da imunodeficiência adquirida tipo 1 associadas à resistência aos antirretrovirais em indivíduos atendidos no município de Catanduva-Noroeste Paulista / João Ricardo Araújo dos Santos  
São José do Rio Preto, 2012  
154 p.

Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP  
Eixo Temático: Medicina e Ciências Correlatas

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Luiz Dantas Machado

1.1. HIV-1; 2. AIDS; 3. Mutação; 4. Terapia antirretroviral.

JOÃO RICARDO ARAÚJO DOS SANTOS

Perfil de Mutações do Vírus da Imunodeficiência  
Adquirida Tipo 1 Associadas à Resistência  
aos Antirretrovirais em indivíduos atendidos no  
Município de Catanduva-Noroeste Paulista

BANCA EXAMINADORA

TESE PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR

Presidente e Orientador: Prof. Dr. Ricardo Luiz  
Dantas Machado

2º Examinador: \_\_\_\_\_

3º Examinador: \_\_\_\_\_

4º Examinador: \_\_\_\_\_

5º Examinador: \_\_\_\_\_

Suplentes: \_\_\_\_\_

São José do Rio Preto, \_\_\_\_/\_\_\_\_/2012.

# SUMÁRIO

Dedicatória.....	i
Agradecimentos .....	ii
Epígrafe .....	iv
Lista de Figuras.....	v
Lista de Tabelas .....	vii
Lista de Abreviaturas e Símbolos.....	ix
Resumo.....	xi
Abstract.....	xii
1 INTRODUÇÃO.....	02
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	07
2.1 Classificação, estrutura, organização genômica e replicação do HIV-1.....	07
2.2 Diversidade genética do HIV-1.....	14
2.3 Evolução da infecção .....	21
2.4 Terapia Antirretroviral.....	23
2.4.1 Inibidores da Transcriptase Reversa análogo de Nucleosídeo (ITRN).....	25
2.4.2 Inibidores da Transcriptase Reversa não análogos de Nucleosídeo (ITRNN) .....	27
2.4.3 Inibidores de Protease (IP).....	28
2.4.4 Inibidor de Integrase (INSTI) .....	31
2.4.5 Inibidor de Fusão .....	31
2.5 Falha Terapêutica .....	35
2.6 Resistência aos antirretrovirais .....	38

2.6.1 Resistência Celular .....	39
2.6.2 Resistência Viral Primária ou Transmitida.....	40
2.6.3 Resistência Viral Secundária ou Adquirida .....	42
2.6.3.1 Resistência aos IP .....	43
2.6.3.2 Resistência aos ITRN.....	47
2.6.3.3 Resistência aos ITRNN.....	51
2.6.3.4 Resistência aos Inibidores de Fusão e de Entrada .....	53
2.6.3.5 Resistência aos Inibidores de Integrase .....	57
2.7 Testes de Resistência Viral.....	58
2.7.1 Testes de fenotipagem para o HIV-1 .....	59
2.7.2 Testes de genotipagem para o HIV-1 .....	61
2.7.3 Limitações dos Testes de Resistência Viral .....	62
2.7.4 Estudos clínicos para avaliar a eficácia dos testes de resistência viral e ensaios clínicos de novos ARV .....	64
2.7.5 Algoritmos para análise do genoma viral .....	65
3 JUSTIFICATIVA .....	68
3.1 Hipótese .....	68
4 OBJETIVOS.....	70
4.1 Objetivo geral .....	70
4.2 Objetivos específicos .....	70
5 METODOLOGIA .....	72
5.1 Delineamento da pesquisa.....	72
5.2 População de estudo .....	72
5.2.1 Critérios de inclusão.....	73

5.2.2 Critérios de exclusão.....	73
5.3 Fontes de Dados.....	74
5.4 Etapas para o levantamento de dados.....	74
5.5 Considerações éticas.....	75
5.6 Exame de genotipagem do HIV-1 e determinação do subtipo.....	76
5.7 Definições de variáveis para análise.....	78
6 RESULTADOS.....	81
6.1 Parte I.....	82
6.2 Parte II.....	84
6.3 Parte III.....	92
6.4 Análise descritiva para o tipo de sensibilidade.....	98
6.4.1 Análise de correspondências múltiplas.....	104
7 DISCUSSÃO.....	109
7.1 Seleção dos casos e coleta de dados.....	110
7.2 Características gerais e uso de ARV.....	111
7.3 Evolução Imunoviológica.....	112
7.4 Prevalência de mutações aos ARV.....	113
7.4.1 Prevalência de mutações na TR.....	113
7.4.2 Prevalência de mutações na PR.....	114
7.5 Mutações de resistência e prognóstico.....	115
7.6 Perfil de resistência aos ARV.....	116
7.6.1 Análise descritiva do perfil de sensibilidade do genoma viral.....	117
7.6.2 Análise de correspondências múltiplas.....	122
8 CONCLUSÃO.....	124

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	125
ANEXOS .....	152
Anexo 1 - Tabela completa da nomenclatura dos aminoácidos e suas abreviações.....	152
Anexo 2 - Formulário A para solicitação do exame de genotipagem do HIV-1 .....	153
Anexo 3 - Registro de aprovação no CEP-FIPA .....	154



*Ofereço, com carinho,*

*Aos meus pais, Raimundo N. Braga e Maria José A. Braga, com grande amor e gratidão, em agradecimento pelos exemplos de educação, sabedoria e disciplina que proporcionaram o meu aprendizado.*

*Dedico com amor  
a minha esposa,  
Julimeire B. Paziani Araújo  
e aos meus filhos,  
Carolina e Pedro Arthur,  
pela paciência e compreensão nos  
momentos mais difíceis.*

## **Agradecimentos**

---

- ✓ A Deus, por sempre me amparar e permitir que este ideal se concretizasse em realidade.
- ✓ Aos meus familiares, em especial a minha esposa e filhos pelo apoio incondicional e compreensão, sem os quais este trabalho não teria sido realizado. Agradeço a meus pais, às minhas irmãs Lana e Marla, por compreenderem minha ausência mais direta no convívio familiar.
- ✓ À professora Dra. Andréa Regina Baptista Rossit, por ter aberto as portas de seu laboratório e por compartilhar conhecimentos que nos permitiram dar os primeiros passos na construção de modelos que serviram de referência para a construção deste trabalho.
- ✓ Ao professor Dr. Ricardo Luiz Dantas Machado, pela valiosa orientação, pelos ensinamentos, pelo exemplo de disciplina, seriedade e competência, pela compreensão e sabedoria diante de minhas limitações e, sobretudo, pela paciência e disposição em me alavancar e apoiar na execução deste trabalho.
- ✓ A todos os professores das disciplinas realizadas na FAMERP, por seus ensinamentos, experiências e contribuição à minha formação profissional em constante evolução.
- ✓ À **Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP**, na pessoa do Diretor **Prof. Dr. Humberto Liedtke Junior**.
- ✓ Ao **Curso de Pós-graduação da FAMERP**, na pessoa do **Prof. Dr. Domingo Marcolino Braille**, que proporcionou a realização deste trabalho.

- ✓ Aos colegas do curso de doutorado, pelo companheirismo e partilha de ricas experiências.
- ✓ Aos membros da Banca Examinadora, pelas valiosas contribuições dadas a este trabalho.
- ✓ Aos funcionários e profissionais do Hospital-Escola Emílio Carlos de Catanduva-SP, que contribuíram e apoiaram para o desenvolvimento desta pesquisa.
- ✓ À coordenação do curso de medicina das Faculdades Integradas Padre Albino de Catanduva-SP.
- ✓ Ao Prof. Dr. Ricardo Santaella Rosa pela amizade, apoio e contribuições dadas a este trabalho.
- ✓ Aos colegas do Departamento de Estatística da Universidade Federal de São Carlos, pelo apoio e contribuições para a análise dos dados levantados.
- ✓ Enfim, a todos que participaram comigo nesta caminhada, minha eterna gratidão.

*"O valor das coisas não está no tempo em que elas duram,  
mas na intensidade com que acontecem.  
Por isso existem momentos inesquecíveis,  
coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis".*

**Fernando Pessoa**

---

**Lista de Figuras**

<b>Figura 1</b> – Estrutura do vírus da imunodeficiência humana do tipo I (HIV-1) .....	08
<b>Figura 2</b> – Mecanismo de entrada do HIV-1 .....	08
<b>Figura 3</b> – Estrutura genética do HIV-1 .....	10
<b>Figura 4</b> – Entrada do HIV-1 nas células hospedeiras .....	12
<b>Figura 5</b> – Ciclo de vida do HIV-1 .....	13
<b>Figura 6</b> – Estruturas-mosaico das formas recombinantes circulantes (CRFs) do HIV-1 .....	16
<b>Figura 7</b> - Distribuição mundial dos subtipos do HIV-1 .....	18
<b>Figura 8</b> – Distribuição geográfica dos subtipos de HIV-1 no Brasil .....	19
<b>Figura 9</b> – Evolução da infecção pelo HIV-1 .....	22
<b>Figura 10</b> - Mecanismo de ação dos Inibidores de Protease .....	43
<b>Figura 11</b> – Mutações no gene da protease associadas à resistência a inibidores da protease .....	46
<b>Figura 12</b> - Mecanismo de ação dos ITRN .....	47
<b>Figura 13</b> – Mutações no gene da transcriptase reversa (RT) associadas à resistência a inibidores nucleosídeos da RT (ITRN) .....	50
<b>Figura 14</b> - Mecanismo de ação dos ITRNN .....	51
<b>Figura 15</b> – Mutações no gene da transcriptase reversa (RT) associadas à resistência a inibidores não nucleosídeos da RT (ITRNNs) .....	53
<b>Figura 16</b> - Mecanismo de ação dos IE .....	54
<b>Figura 17</b> – Mutações no gene que codifica a gp41 associadas à resistência a inibidores de fusão .....	55
<b>Figura 18</b> - Mecanismo de ação dos Inibidores da Integrase .....	57

---

**Lista de Figuras**

<b>Figura 19</b> - Frequência absoluta e percentual por gênero dos pacientes analisados.....	82
<b>Figura 20</b> - Frequência absoluta e percentual por faixa etária dos pacientes analisados.....	83
<b>Figura 21</b> - Porcentagem de genomas virais que apresentaram ou não a mutação (ITRN).....	85
<b>Figura 22</b> - Porcentagem de pacientes que apresentaram ou não a mutação (ITRNN).....	88
<b>Figura 23</b> - Porcentagem de pacientes que apresentaram ou não a mutação (IP) .....	91
<b>Figura 24</b> - Número de pacientes por esquema de tratamento .....	93
<b>Figura 25</b> - Número médio de mutações por esquema de tratamento .....	94
<b>Figura 26</b> - <i>Boxplot</i> de número de mutações por esquema de tratamento (não considerando os polimorfismos).....	95
<b>Figura 27</b> - Frequência dos esquemas de tratamento utilizados pelos pacientes avaliados.....	96
<b>Figura 28</b> - Combinações por esquema terapêutico.....	97
<b>Figura 29</b> - Frequência percentual de resistência por medicamento – IP .....	100
<b>Figura 30</b> - Frequência percentual de resistência por medicamento – ITRN .....	102
<b>Figura 31</b> - Frequência percentual de resistência por medicamento.....	103
<b>Figura 32</b> - ACM para relacionamento entre esquema terapêutico e presença de mutação .....	106

**Lista de Tabelas**

<b>Tabela 1</b> - Antirretrovirais disponibilizados pelo Ministério da Saúde .....	32
<b>Tabela 2</b> – Recomendações para início de Terapia Antirretroviral em adultos e Adolescentes Infectados pelo HIV-1 .....	33
<b>Tabela 3</b> - Vantagens e desvantagens dos testes de resistência viral: Genotipagem e Fenotipagem.....	62
<b>Tabela 4</b> - Frequência absoluta e percentual por gênero dos pacientes analisados .....	82
<b>Tabela 5</b> - Frequência absoluta e percentual por faixa etária dos pacientes analisados .....	83
<b>Tabela 6</b> - Frequência percentual de mutações presentes de acordo com o tipo de tratamento .....	84
<b>Tabela 7</b> - Frequência absoluta e percentual de genomas virais que apresentaram mutações ITRN e medicamentos afetados por elas.....	85
<b>Tabela 8</b> - Pacientes cujos genomas virais apresentaram mutação e medicamentos associados ao ITRN(*).....	86
<b>Tabela 9</b> - Frequência absoluta e percentual de pacientes que apresentaram mutações ITRNN e medicamentos afetados.....	87
<b>Tabela 10</b> - Pacientes que apresentaram mutação e medicamentos associados ITRNN (*) .....	89
<b>Tabela 11</b> - Frequência absoluta e percentual de pacientes que apresentaram mutações IP e medicamentos afetados .....	90

<b>Tabela 12 - Pacientes que apresentaram mutação e medicamentos associados IP(*) medicamentos ingeridos</b> .....	91
<b>Tabela 13 - Número e porcentagem de pacientes e número médio de mutações por esquema de tratamento</b> .....	93
<b>Tabela 14 - Número de mutações por esquema de tratamento considerando os polimorfismos</b> .....	95
<b>Tabela 15 - Frequência dos esquemas de tratamento utilizados pelos pacientes avaliados</b> .....	96
<b>Tabela 16 - Frequência de combinações por esquema terapêutico</b> .....	97
<b>Tabela 17 - Frequências absoluta e percentual de resistência por medicamento - IP</b> .....	99
<b>Tabela 18 - Frequências absoluta e percentual de resistência por medicamento – ITRN</b> .....	101
<b>Tabela 19 - Frequências absoluta e percentual de resistência por medicamento – ITRNN</b> .....	103
<b>Tabela 20- Variáveis consideradas na ACM</b> .....	105



**Lista de Abreviaturas e Símbolos**

- 3TC – lamivudina
- AA - aminoácido
- ABC - abacavir
- AIDS- Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
- ARV - antirretrovirais
- ATV- Atazanavir
- AZT- Zidovudina
- CCR5, CXCR4 - Receptores de quimiocinas
- CD4 - Receptor de membrana
- CEP - Comitê de Ética em Pesquisa
- CRF- forma recombinante circulante
- CV- carga viral do HIV-1
- D4T- estavudina
- DDI- didanosina
- DLV- delavirdina
- DNA- ácido desoxiribonucléico
- DRV- darunavir
- DST - Doenças Sexualmente Transmissíveis
- EFZ - efavirenz
- ETR- etravirina
- FPV- fos-amprenavir
- FTC- entrecitabina
- gp120- glicoproteína 120, do envelope do vírus HIV-1
- gp160- glicoproteína precursora que origina as gp120 e 41 do envelope viral
- gp41- glicoproteína 41, do envelope do vírus HIV-1
- HIV-1- Vírus da Imunodeficiência Humana
- HTLV- Vírus linfocitotrópico humano
- IDV – Indinavir
- IE – inibidores de entrada
- IF – inibidores de fusão
- INSTI - inibidores da integrase viral
- IP- inibidores da protease viral

- ITRN - inibidor da transcriptase reversa análogo de nucleosídeo
- ITRNN - inibidor da transcriptase reversa não análogo de nucleosídeos
- LPV- lopinavir
- LTCD4- contagem dos linfócitos T CD4+, em células/mm<sup>3</sup>
- LTR – terminações repetitivas longas
- MDR – multi-drug resistance proteins
- NAM- mutações aos análogos de nucleosídeos/nucleotídeos
- NFV- nelfinavir
- NVP- nevirapina
- P-gp - glicoproteína P
- PR- protease
- r- ritonavir em dose de reforço aos IP
- RENAGENO- rede nacional de genotipagem
- RNA- ácido ribonucléico
- RTV- ritonavir em dose terapêutica
- SIV - Vírus da Imunodeficiência de Símios
- SQV – saquinavir
- SUS – Sistema Único de Saúde
- T-20 - Enfuvirtida
- TAM - mutações associadas aos timidínicos
- TAM 1 - via mutacional 1 dos análogos a Timidínicos: 41L, 210W e 215Y
- TAM 2 - via mutacional 2 dos análogos a Timidínicos: 67N, 70R, 215F, 219QE
- TAM 1+2 - qualquer combinação de mutações das duas vias TAM 1 e 2 aos análogos a Timidínicos: 41L, 215Y, 210W e 67N, 70R, 215F, 219QE
- TARV- terapia anti-retroviral
- TDF – tenofovir
- TDR - transmitted HIV-1 drug resistance (Prevalência de Resistência Primária)
- TPV- tipranavir
- TR- transcriptase reversa
- vpR- proteína viral R

**Introdução:** O principal objetivo do uso dos antirretrovirais é retardar a progressão da imunodeficiência e restaurar, tanto quanto possível, a imunidade do indivíduo, aumentando o tempo e a qualidade de vida das pessoas que vivem com HIV-1-AIDS. Os diversos polimorfismos apresentados pelo HIV-1 podem ter implicações na patogênese, na transmissão, no diagnóstico, no tratamento e no desenvolvimento de vacinas que permitam uma profilaxia eficaz. **Objetivo:** Descrever o perfil de resistência do HIV-1 aos antirretrovirais em pacientes com falha terapêutica em uma unidade de referência no tratamento da AIDS no município de Catanduva, Noroeste Paulista. **Métodos:** Foram analisados exames de genotipagem de 527 pacientes acompanhados pelo Departamento de Moléstias Infecciosas do Hospital Escola Emílio Carlos, localizado na cidade de Catanduva-SP, solicitados entre janeiro de 2000 e Dezembro de 2010. Todas as sequências do genoma viral (segmentos da TR e PR do gene *PoI*) foram analisadas nos sites da RENAGENO (MS-Brasil) e reanalisadas utilizando-se o algoritmo da *Stanford University*, a fim de avaliar a presença de mutações de resistência do HIV-1 através de banco de dados atualizado. **Resultados:** A maioria dos pacientes analisados pertence ao sexo masculino (58,02%) e à faixa etária entre 40 e 50 anos e já havia sido submetida à TARV. O principal esquema terapêutico utilizado foi composto por três antirretrovirais, sendo prescrito para 62,78% dos pacientes. A mutação 184V foi a mais prevalente (52,7%) entre todas as analisadas. Houve elevada prevalência para as TAM: 215Y, 41L, 67N, 210W, 70R, enquanto 215F e 219Q

foram as TAM menos frequentes. Entre as mutações relacionadas à multirresistência, destacamos a presença da mutação 118I em 23,5% dos genomas virais. Dentre as mutações para ITRNN, ressalta-se a elevada prevalência da 103N, encontrada em 28,57% dos casos; a mutação 36I foi a mais frequente dentre as principais da PR. **Conclusão:** Análises do perfil genômico dos vírus presentes na população estudada mostraram que a presença pontual de uma determinada mutação não implica no aumento da resistência por parte do HIV-1 a determinada droga. Interações entre polimorfismos podem resultar não só em resistência, mas também em suscetibilidade à terapia antirretroviral.

**Palavras-chave:** 1. HIV-1; 2. AIDS; 3. Mutação; 4. Terapia antirretroviral (TARV).

**Abstract**

**Introduction:** The main aim in the use of antiretroviral drugs is delaying the progression of immunodeficiency and restoring, as much as possible, an individual's immunity, increasing the length and quality of life of people living with HIV-1-AIDS. The various polymorphisms presented by HIV-1 may have implications for the pathogenesis, transmission, diagnosis, treatment and development of vaccines which enable an effective prophylaxis. **Objective:** Describing the resistance profile of HIV-1 to antiretroviral drugs in patients with treatment failure in a reference unit in the treatment of AIDS in the city of Catanduva, Northwestern Region of São Paulo State. **Methods:** Genotyping tests of 527 patients monitored by the Department of Infectious Diseases belonging to Emilio Carlos School Hospital, located in Catanduva-SP, requested between January 2000 and December 2010 were analyzed. All sequences of the viral genome (TR and PR segment of the *pol* gene) were analyzed in RENAGENO sites (MS-Brazil) and reanalyzed using Stanford University's algorithm, in order to assess the presence of HIV-1 resistance mutations through updated database. **Results:** Most analyzed patients were male (58.02%), aged between 40 and 50 years old and had already been subjected to ART. The main therapeutic regimen was 3 ARV, followed by 62.78% of patients. The 184V mutation was the most prevalent (52.7%) among all analyzed ones. There was a high prevalence for TAM: 215Y, 41L, 67N, 210W, 70R, whereas TAM 215F and 219Q were the least frequent ones. Among the multidrug resistance-related mutations, the presence of the 118I mutation may be highlighted in 23.5% of viral genomes. Among the NNRTI

mutations, the high prevalence of 103N, found in 28.57% of cases, must be emphasized; 36I mutation was the most frequent among PR leading ones.

**Conclusion:** Analysis of the genomic profile of the virus in the population studied showed that the presence of a specific point mutation does not necessarily increase the resistance of HIV-1 to a certain drug. Interactions among polymorphisms may cause not only resistance but also susceptibility to ART.

**Keywords:** 1. HIV-1; 2. AIDS; 3. Mutation; 4. Antiretroviral therapy (ART).



## 1 INTRODUÇÃO

Durante toda a história da humanidade, os microrganismos tem sido um constante desafio à sobrevivência das espécies. Muitas vezes, a emergência ou reemergência de um microorganismo resulta em catastróficas pandemias com consequências sérias para a saúde pública mundial. A pandemia causada pelo influenza A, em 1918 causou a morte de, aproximadamente, 25 milhões de pessoas em todo o mundo.<sup>(1)</sup>

Nos dias atuais, a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), doença primeiramente descrita em 1981, em homens jovens que fazem sexo com homens apresentavam redução dramática dos linfócitos T e diminuição da relação linfócitos T auxiliares e linfócitos T supressores,<sup>(2)</sup> representa o novo desafio aos pesquisadores.

O perfil epidemiológico da AIDS que se desenha na sociedade brasileira atual aponta para um crescente aumento dos casos de AIDS em mulheres, além da interiorização e da pauperização da doença. Nos primeiros anos da década de 80, a razão entre homens e mulheres infectados com o vírus era em torno de 25:1; entre os anos de 1980 e 1990, esta razão passou a ser de 6:1 e, em 2003, de 1,6:1. Outro dado não menos preocupante é o aumento da incidência de AIDS na faixa etária entre 13 a 19 anos, em adolescentes do sexo feminino.<sup>(3-5)</sup> Rocha<sup>(6)</sup> acrescenta que, entre a população feminina, as mulheres negras são as mais atingidas, tanto para a incidência do Vírus da Imunodeficiência adquirida (HIV-1), quanto no que se refere à morbidade e mortalidade por AIDS.



Quase três décadas após a identificação do HIV-1-AIDS, a pandemia se mantém como um dos maiores problemas de saúde pública globais, afetando, aproximadamente, 33 milhões de pessoas. Embora o número de pessoas infectadas não tenha diminuído, é possível observar que, ao longo dos anos, o tratamento antirretroviral tem permitido que a infecção pelo HIV-1 se transforme em doença crônica, controlável por meio do uso de medicamentos. O Brasil, destaca-se no cenário mundial pela assistência universal aos indivíduos infectados pelo HIV-1. Atualmente, cerca de 200.000 pacientes fazem uso de terapia antirretroviral (TARV) e isso tem gerado grande impacto na epidemia do HIV-1-AIDS, reduzindo sua morbidade e mortalidade.<sup>(7)</sup> Entretanto, em razão dos inúmeros efeitos colaterais, dos estigmas da doença e do uso diário e indefinido da medicação, torna-se um constante desafio proporcionar a adesão plena e necessária ao sucesso terapêutico. A baixa potência de TARV antigas, as variações na absorção dos antirretrovirais (ARV), as interações medicamentosas e a penetração errática em alguns reservatórios virais somam-se à adesão insuficiente para resultar em multiplicação viral ativa na vigência de TARV.<sup>(8-14)</sup> A eficácia do tratamento confronta-se, portanto, com uma complexa conjuntura centrada na adesão insuficiente, que culmina com o surgimento de cepas virais resistentes e a falha terapêutica.

A resistência viral às drogas é a causa e a consequência inevitável de uma supressão incompleta da replicação do HIV-1.<sup>(15)</sup> Mesmo uma terapia altamente potente, ou seja, um regime de três ou quatro drogas, não é capaz de erradicar o vírus, até mesmo em pacientes que, aparentemente, apresentem supressão completa da replicação viral (viremia abaixo de 50 cópias/mL),<sup>(16)</sup>

levando ao desenvolvimento de cepas virais resistentes, que podem ser transmitidas e causar um potencial problema de saúde pública.

Igualmente desafiante é o fenômeno da variabilidade genética do HIV-1. São conhecidos dois tipos de HIV-1, denominados HIV-1 e HIV-2. O primeiro, responsável pela pandemia, apresenta nove subtipos (A - D, F - H, J e K) que, ao se recombinarem, deram origem a outras 43 formas circulantes descritas.<sup>(17,18)</sup> Os mecanismos que contribuem para a diversidade genética do HIV-1 são a recombinação em pessoas coinfetadas/superinfetadas, o alto índice replicativo do HIV-1, além dos erros inatos da transcriptase reversa (TR).

Existem dois tipos de mutações de resistência: as principais e as acessórias. As mutações principais situam-se no sítio ativo da enzima ou em local próximo a ele e alteram a ligação da droga ao seu sítio alvo, reduzindo, de forma direta, a suscetibilidade de uma enzima aos antirretrovirais; além disso, algumas mutações são relativamente específicas para cada droga e podem aparecer logo após o início da terapia.<sup>(19)</sup> As mutações secundárias, ou ditas acessórias, aparecem para compensar uma perda da atividade da enzima causada pela alteração estrutural gerada pelas mutações principais e podem, assim, restaurar a capacidade replicativa do vírus mutante, contribuindo para sua resistência.<sup>(19)</sup>

As mutações também podem estar presentes antes do início da TARV, em uma mistura de variantes genéticas da população infectante. Vários fatores, dentre eles características individuais do próprio paciente, podem contribuir diretamente para o aumento da carga viral.

Diversos estudos pretendem avaliar em que grau a diversidade genética do HIV-1 apresenta implicações na patogênese, no diagnóstico laboratorial, no desenvolvimento de vacinas, na emergência de mutações de resistência e conseqüentemente, na suscetibilidade aos antirretrovirais disponíveis.

Neste contexto, os exames de genotipagem e fenotipagem assumem papel de destaque na assistência e pesquisa da infecção pelo HIV-1-AIDS. Em 2002, o governo brasileiro estruturou a Rede Nacional de Genotipagem (RENAGENO), a fim de avaliar o perfil de resistência do HIV-1 aos antirretrovirais, para melhor direcionar as estratégias terapêuticas de resgate e possibilitar o monitoramento da variabilidade genética do HIV-1 no país. A Faculdade de Medicina de Catanduva (FAMECA) é um dos centros colaboradores nacionais da referida entidade, através do laboratório do Serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias. Diante disso, o presente estudo tem como objetivo central avaliar a prevalência das mutações de resistência aos antirretrovirais do HIV-1 presentes em pacientes acompanhados na Unidade de Moléstias Infecciosas do Hospital-Escola Emilio Carlos, pertencente à FAMECA.

A relevância do presente trabalho consiste em referenciar, cientificamente, os dados de resistência e diversidade genética do HIV-1 na referida Unidade de Moléstias Infecciosas e em promover discussão continuada acerca do impacto e da função que os exames de genotipagem têm no seguimento dos pacientes infectados pelo HIV-1 em falha terapêutica.

## **REVISÃO DA LITERATURA**

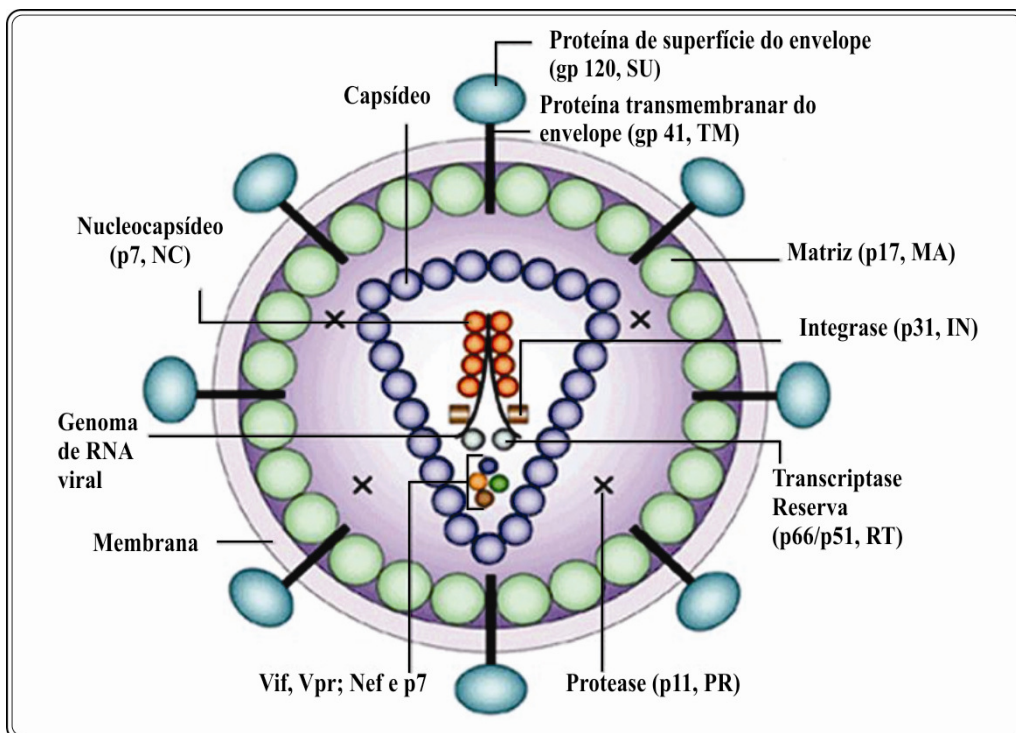
---

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Classificação, estrutura, organização genômica e replicação do HIV-1

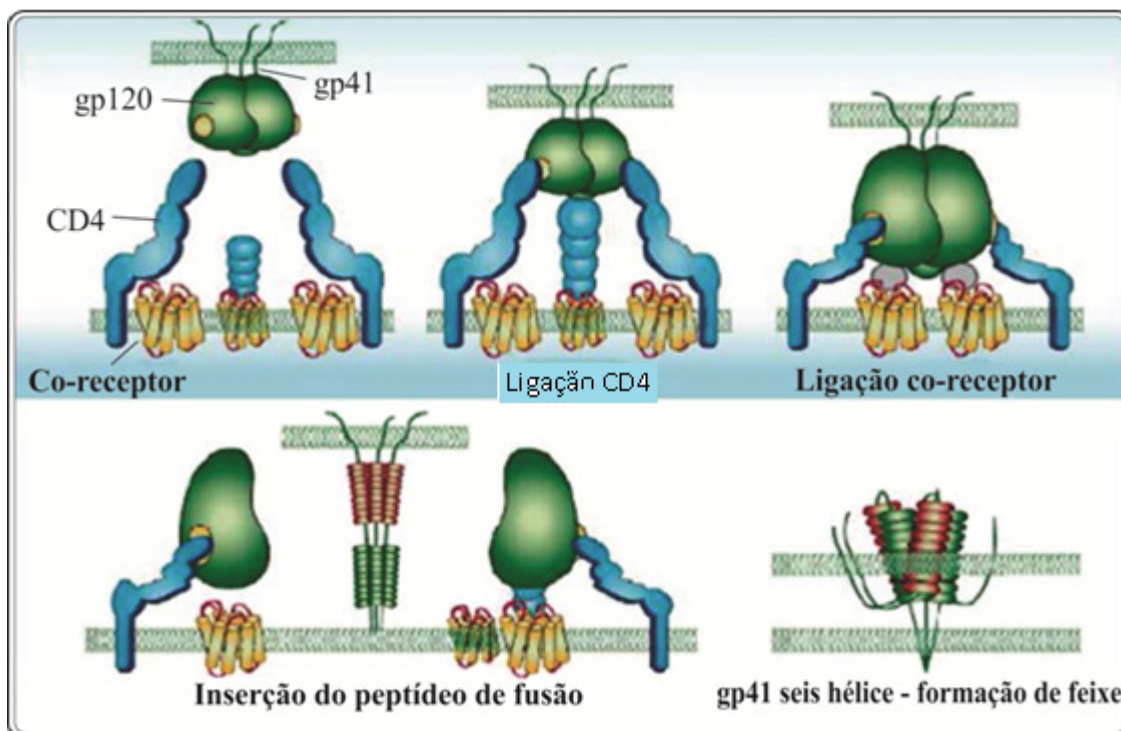
O HIV-1 é um vírus RNA envelopado (revestido por envelope lipídico da célula hospedeira), pertence à família *Retroviridae* e ao gênero *Lentivirus*. Os retrovírus patogênicos humanos são compostos pelos oncovírus Vírus Linfocitotrópico Humano (HTLV) I e II, e os lentivirus (HIV-1 e 2), descobertos entre 1978 e 1984.<sup>(20,21)</sup>

A partícula viral madura infectante do HIV-1, denominada vírion (Figura 1)<sup>(22)</sup>, é composta por uma membrana glicolipoprotéica externa rica em colesterol (envelope viral), onde se encontram as proteínas gp120 e sua porção complementar transmembrana, a gp41, responsáveis pela fusão e penetração na célula hospedeira. Esse processo ocorre por meio da ligação entre a molécula de CD4 presente nos linfócitos do hospedeiro e a gp120 viral, que sofre mudanças em sua conformação e se liga a um dos correceptores (CCR5 ou CXCR4). Isso permite que ocorram mudanças estruturais na gp41, promovendo a aproximação do vírus com a célula do hospedeiro e a fusão do envelope viral com a membrana celular (Figura 2).<sup>(23)</sup>



**Figura 1** – Estrutura do Vírus da Imunodeficiência Humana do tipo I (HIV-1)

Fonte: Adaptado de Robinson.<sup>(22)</sup>



**Figura 2** – Mecanismo de entrada do HIV-1.

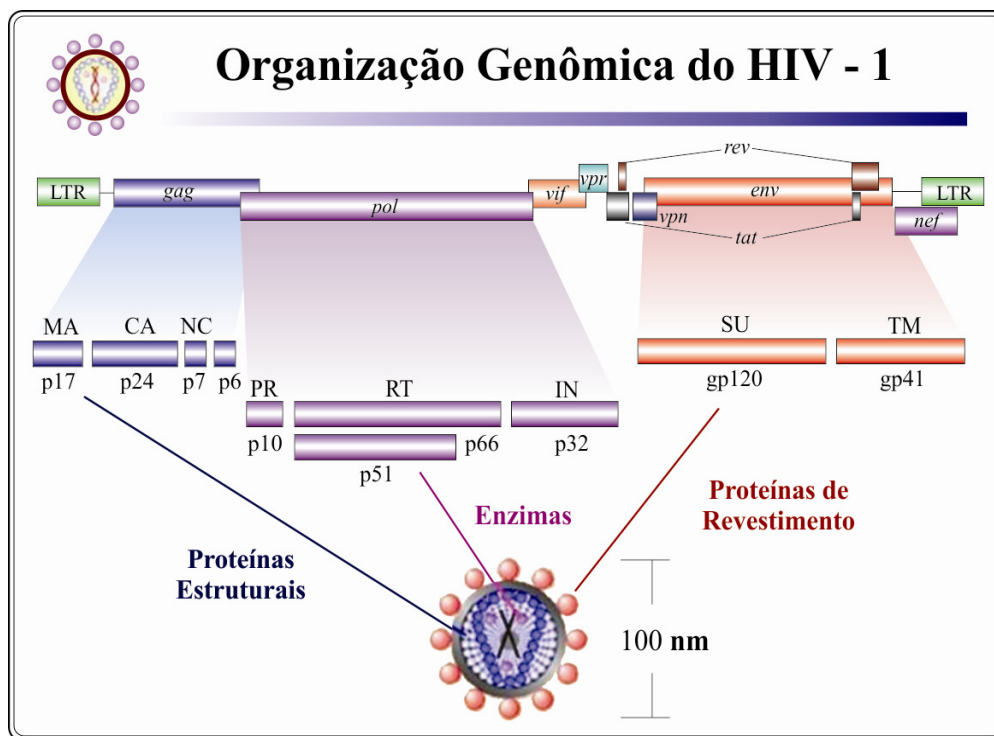
Fonte: Adaptado de ESTE.<sup>(23)</sup>

Cada vírion possui duas fitas simples de RNA às quais se integram as nucleoproteínas p7, compondo o conjunto do nucleocapsídeo helicoidal que mantém importantes relações com a proteína viral R (vpR). O capsídeo viral (core), com formato icosaédrico, é constituído pelas proteínas estruturais p24 e p6 e comporta o referido nucleocapsídeo, além das enzimas virais transcriptase reversa, integrase e protease (PR). Elas desempenham as etapas fundamentais à replicação viral: a transcrição reversa, que origina o pró-vírus, a integração desse ao genoma celular e a clivagem das proteínas virais traduzidas, tornando-as maduras e funcionais. A matriz, fundamental à formação do vírus, é constituída pela proteína p17 e estabelece a conexão entre o *core* e o envelope viral.<sup>(24)</sup>

A estrutura genética do HIV-1 é complexa e está representada na Figura 3.<sup>(25)</sup> Seu genoma possui 9,7 Kb, com a estrutura comum aos retrovírus, ou seja, três genes estruturais: *gag* (*group antigen*), *pol* (*polymerase*), *env* (*envelop*), e mais seis genes assim discriminados: *tat*, *rev* (regulatórios) e os acessórios: *vif*, *vpu*, *vpr* e *nef*, que têm suas sequências intercaladas aos genes principais do HIV-1. As terminações repetitivas longas (LTR), encontram-se em ambas as extremidades do genoma viral e têm a função de auxiliar na sua integração ao DNA celular.<sup>(24)</sup>

O gene *gag* codifica as proteínas da matriz e do capsídeo viral, o *env* codifica as do envelope e, o *pol*, as enzimas responsáveis pela replicação viral.<sup>(24)</sup> Assim, o gene *env* codifica a gp160 (glicoproteína precursora) que dará origem, após sua clivagem, à gp120 e à gp41. O gene *gag* produz a p55 que, ao ser clivada, origina outras quatro proteínas que compõem o cerne viral: a

proteína da matriz (p17), a proteína principal do capsídeo (p24), a proteína de ligação com o ácido nucléico (p9) e a proteína rica em prolina (p6).<sup>(26)</sup> O gene *pol* codifica as três enzimas funcionais necessárias para a replicação do HIV-1: a protease (p10), a transcriptase reversa (p66/p51) e a integrase (p31).



**Figura 3** - Estrutura genética do HIV-1

Fonte: Adaptado de Stanford<sup>(25)</sup>

A TR é um heterodímero composto por duas subunidades protéicas e possui propriedades catalíticas que incluem: atividade de DNA polimerase que realiza cópias de DNA usando molde de RNA, e atividade de ribonuclease H (RNase H) que degrada o componente RNA das moléculas híbridas de RNA-DNA. Essa região do genoma viral, uma vez amplificada, poderá mostrar as possíveis mutações associadas à redução da suscetibilidade aos ARV.<sup>(27)</sup> A integrase é essencial para a integração do genoma viral ao DNA do



hospedeiro.<sup>(28)</sup> A protease realiza a clivagem das proteínas precursoras dos genes *gag* e *env*, tornando-as funcionais.

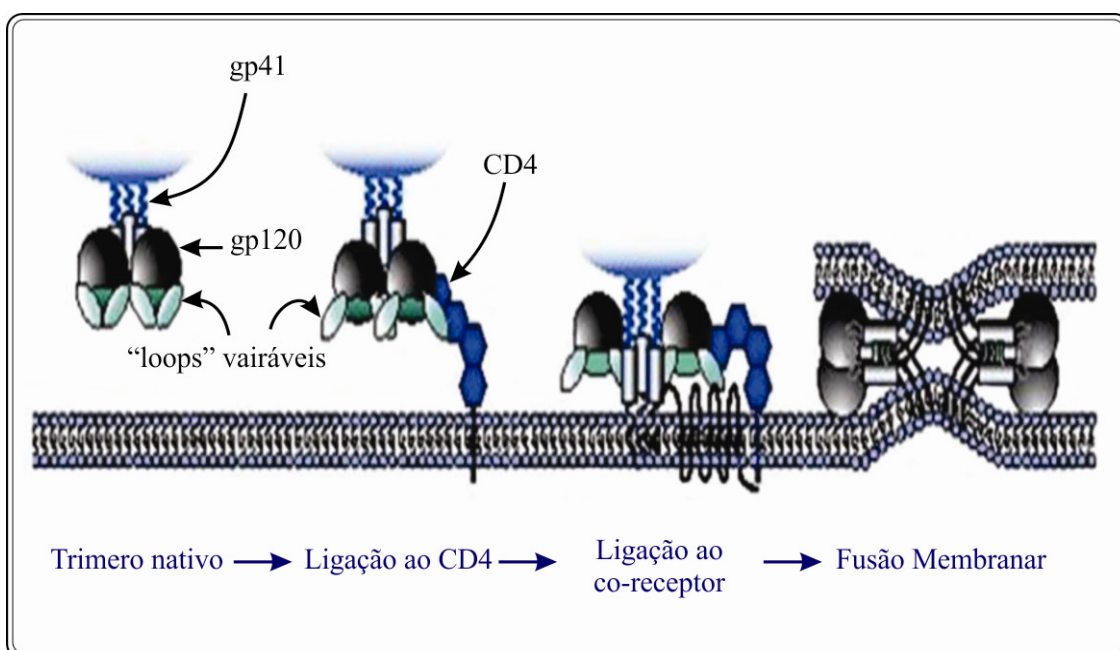
O ciclo de replicação do HIV-1 divide-se em duas fases: inicial e tardia. A primeira inicia-se com a ligação do vírus aos receptores de superfície celular e liberação do nucleocapsídeo no citoplasma da célula. A entrada do HIV-1 nas células TCD4<sup>+</sup> se faz por meio de uma série de interações sequenciais entre as glicoproteínas do envelope viral, os receptores CD4 e os correceptores presentes na superfície da célula alvo.<sup>(29)</sup>

A glicoproteína *env* é o maior componente protéico da superfície viral e é composta de duas glicoproteínas: gp120 e gp41. Primeiramente, ocorre a ligação da gp120 do envelope do vírus aos receptores da célula T-CD4+, o que provoca mudanças estruturais na gp120, expondo um sítio de ligação (alça V3) que reconhece um de dois correceptores na superfície celular. A ligação com o correceptor da célula provoca mudanças na gp41 do envelope viral, inserindo um peptídeo de fusão na membrana da célula alvo. Posteriormente, ocorre uma interação entre as regiões helicais 1 e 2 (HR1 e HR2) da gp 41. Três regiões da HR1 formam uma estrutura em espiral enrolada, estabilizada pela inserção dos três domínios HR2. Quando esse feixe está estabilizado, a molécula gp41 se contrai e as membranas viral e celular se unem.<sup>(30)</sup>

Nas Figuras 2 e 4 podemos compreender melhor a entrada do HIV-1 na célula. Em uma primeira fase, a subunidade gp120 do envelope viral liga-se à molécula CD4<sup>+</sup>, que se encontra na superfície das células hospedeiras, nomeadamente células T e macrófagos.<sup>(31,32)</sup> Essa ligação induz a alterações conformacionais no envelope protéico, causando a exposição de um domínio

altamente conservado, que se liga a um segundo receptor (correceptor).<sup>(31)</sup> Os correceptores virais mais importantes são o CCR5 e o CXCR4,<sup>(33)</sup> membros da subfamília de quimiocinas formada por sete receptores de domínios transmembranares.

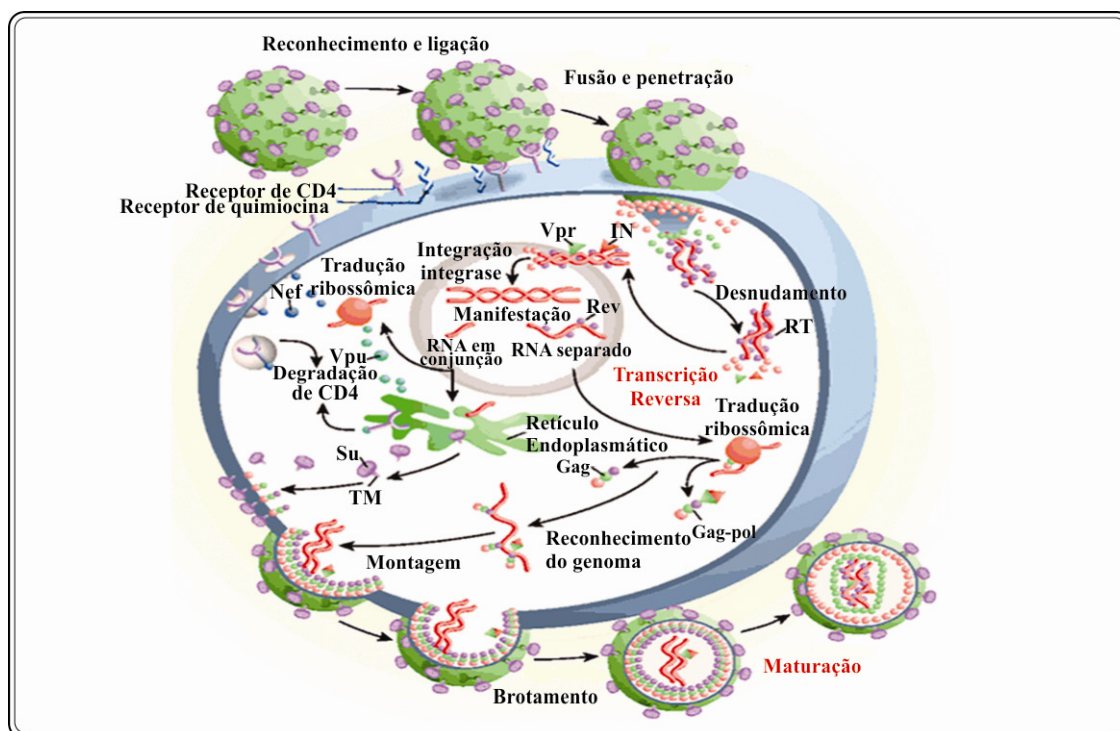
A ligação ao correceptor CCR5 ocorre tipicamente no início da infecção. Indivíduos que não possuem CCR5 são muito resistentes à infecção pelo HIV-1, não possuindo, aparentemente, efeitos da perda da função deste correceptor.<sup>(31)</sup> Por sua vez, o correceptor CXCR4 está associado a uma progressão mais acelerada da doença e encontra-se presente em, aproximadamente, 90% das células CD4+, ao passo que o correceptor CCR5 está presente apenas em, aproximadamente, 10% delas.<sup>(31)</sup>



**Figura 4** - Entrada do HIV-1 nas células hospedeiras

Fonte: Adaptado de Doms<sup>(31)</sup>

Uma vez que o correceptor CXCR4 permite a infecção de um número muito maior de células CD4+, ao longo do processo infeccioso, ocorre uma mudança na produção de vírus que se ligam ao CCR5 para vírus que se ligam ao CXCR4.<sup>(31,32)</sup> A ligação do correceptor induz a uma mudança conformacional na subunidade gp41, que resulta na inserção de um peptídeo de fusão na membrana celular e na ligação da região HR1 e HR2 da gp41, permitindo a fusão da membrana viral e celular<sup>(31)</sup> (Figura 5).



**Figura 5** – Ciclo de vida do HIV-1

Fonte: Adaptado de Pomerantz<sup>(34)</sup>

## 2.2 Diversidade genética do HIV-1

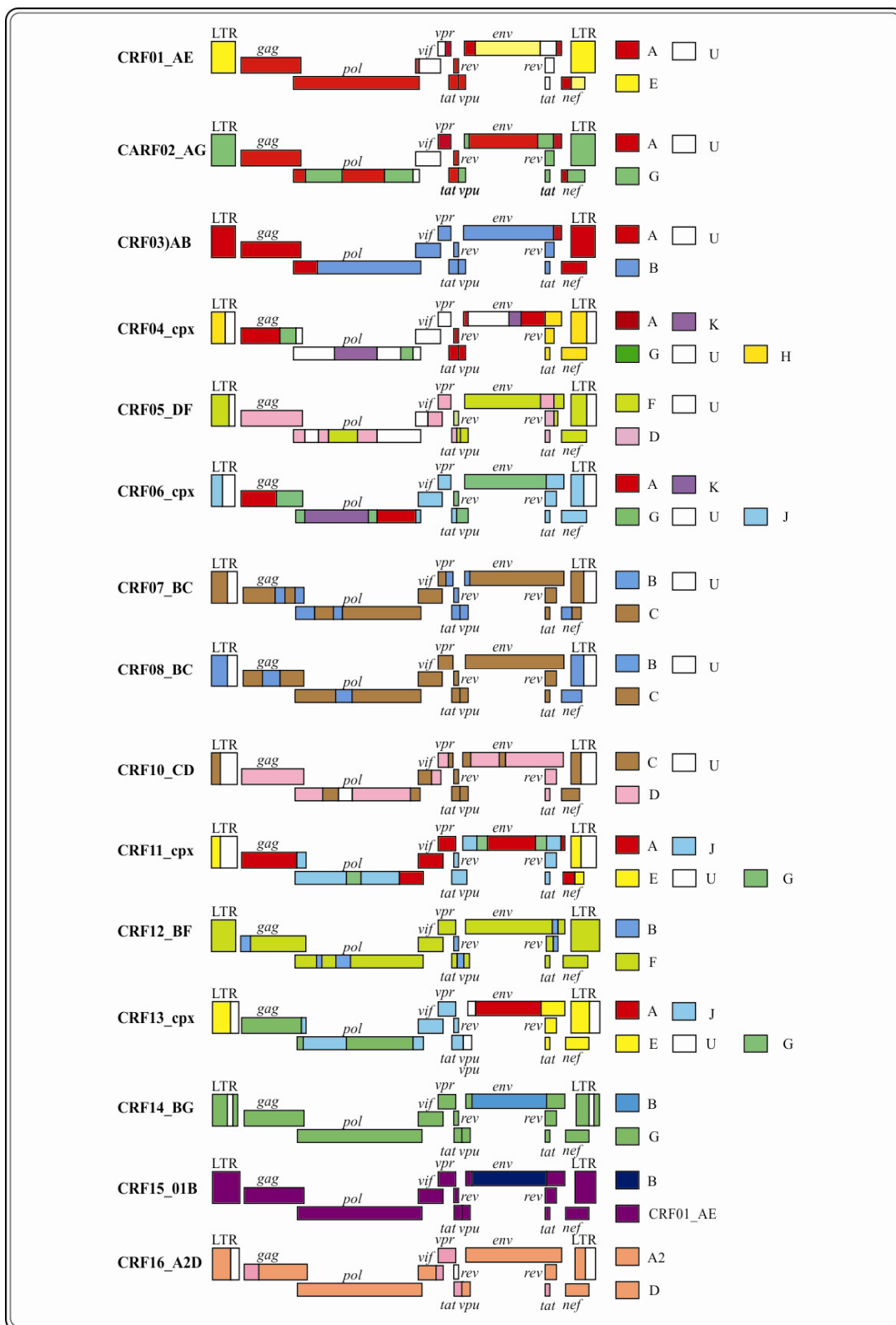
Levy e colaboradores,<sup>(35)</sup> identificaram o HIV-1 pertencente à família *Retroviridae*, subfamília *Orthoretrovirinae*, gênero lentivírus dos retrovírus humanos. Mais tarde, pesquisadores da Universidade do Alabama (EUA), encontraram fortes evidências de que a epidemia global pelo HIV-1 é resultado da infecção de humanos por outro lentivírus, o Vírus da Imunodeficiência de Símios (SIV), capaz de causar a doença principalmente em macacos *rhesus*; vírus isolados de chimpanzés da subespécie *Pan troglodytes troglodytes* apresentam uma similaridade genética muito próxima ao HIV-1, o qual surgiu de uma recombinação que envolve diferentes ancestrais do SIV. Dessa forma, acredita-se que o estabelecimento da infecção em seres humanos é fruto de uma transmissão interespecie.

Estudos sorológicos evidenciam a presença de uma grande heterogeneidade genética para o HIV-1, sendo vários os fatores contribuintes para tal fato. Dentre esses fatores, podemos assinalar: a) erro na transcrição reversa ( $3 \times 10^{-5}$  mutações/nucleotídeo/ciclo); b) elevada frequência de recombinação envolvendo a transcriptase reversa; c) grande quantidade de vírus produzidos na infecção ( $10^9$ -  $10^{10}$  partículas/dia); e d) grande número de indivíduos infectados.

Até o momento, foram estabelecidos dois tipos antigênicos: o primeiro, HIV-1, considerado o tipo mais virulento e disseminado pelo mundo, com três linhagens descritas (M, N e O) que divergem geneticamente entre si, tendo sua provável origem em três diferentes vírus de chimpanzés, que foram

transmitidos para seres humanos. Acredita-se que a epidemia de AIDS tenha se originado em Kinshasa, no Zaire (África), pois o local apresenta a maior diversidade genética do grupo M. Quanto ao HIV-2, foram descritos cinco subtipos (A-E) e acredita-se que a espécie de macaco *Cercocebus atys* seja responsável por sua disseminação.

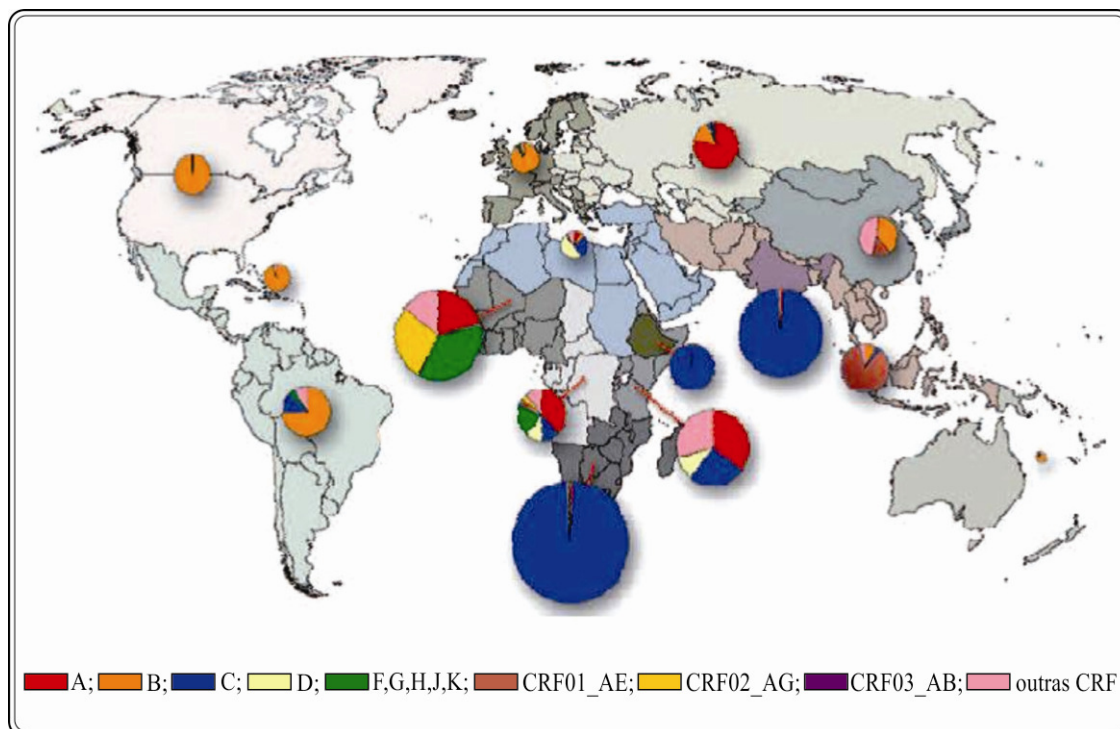
Estudos buscando variações genéticas do vírus HIV-1 baseiam-se, principalmente, nas regiões codificadas pelos genes *env* e *gag*. Desta maneira, a classificação para o HIV-1 é: M (*major*), O (*outlier*) e N (nem M, nem O).<sup>(36)</sup> No grupo M, encontram-se 95% dos vírus HIV-1 descritos até o momento, do qual fazem parte nove subtipos (A, B, C, D, F, G, H, J e K), que divergem entre si em torno de 30% na região do envelope; além dos subtipos, existem também as formas recombinantes circulantes (CRFs, do inglês *circulating recombinant forms*);<sup>(17,18)</sup> ocasionalmente, dois vírus de diferentes subtipos podem infectar uma mesma célula, podendo ocorrer recombinação genética e criar um vírus híbrido. Muitos desses vírus não conseguem se manter, mas em alguns casos, tornam-se CRFs. Atualmente, existem cerca de 29 CRFs descritas para o HIV-1, sendo que o primeiro relato para uma CRF descrita no mundo veio do Brasil. Para o grupo M do HIV-1 estão reconhecidas 16 CRFs<sup>(37)</sup> (Figura 6).



**Figura 6** – Estruturas-mosaico das formas recombinantes circulantes (CRFs) do HIV-1.<sup>(37)</sup>

\*[O padrão do mosaico da CRF09\_cpx ainda não está disponível. As letras e as cores representam os diferentes subtipos do HIV-1.]

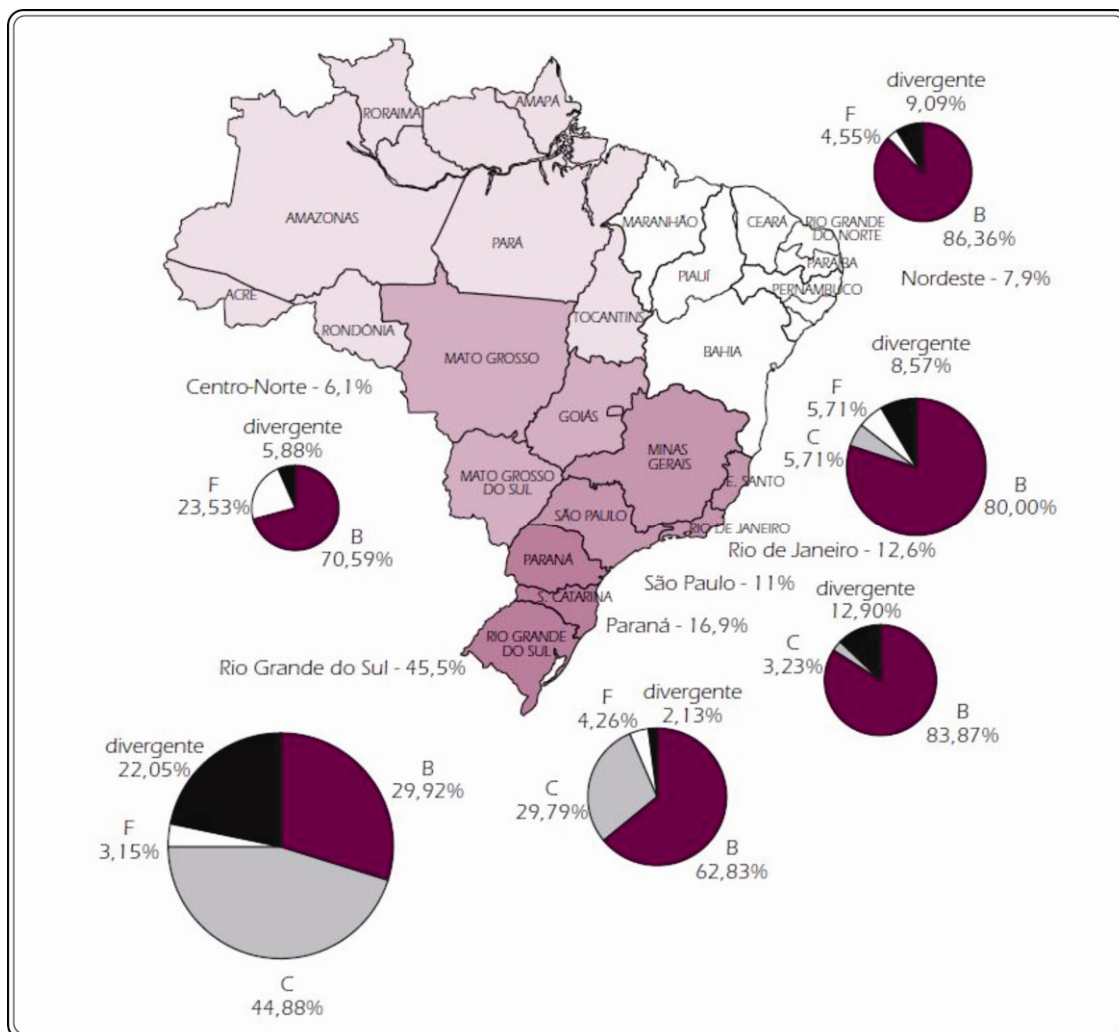
A prevalência do subtipo C é a maior do mundo, circulando nos países africanos onde há maior número de indivíduos infectados; o grupo O possui apenas um subtipo, que representa 5% dos indivíduos infectados na República de Camarões, Gabão e Nova Guiné, e diverge em 50% das amostras do grupo M;<sup>(38)</sup> já o grupo N só foi descrito, até o momento, na República de Camarões,<sup>(39)</sup> O subtipo A e a CRF A/G são encontrados, predominantemente, na região centro-oeste da África, sendo o primeiro, provavelmente, a principal causa da epidemia na Rússia. O subtipo B é o mais comum na Europa, nas Américas, no Japão e na Austrália, embora novos subtipos estejam sendo introduzidos e já sejam responsáveis por 25% das infecções na Europa. O subtipo C predomina na África Meridional e Leste, na Índia e no Nepal, e tem sido responsável pelas piores epidemias do HIV-1, causando a metade das infecções do mundo. O subtipo D está, geralmente, limitado à região centro-leste da África, enquanto o subtipo F tem sido encontrado na África Central, na América do Sul e na Europa Oriental. O subtipo G e a CRF A/G foram encontrados no Leste e Oeste da África, assim como na região central da Europa (Figura 7).



**Figura 7** - Distribuição mundial dos subtipos do HIV-1.<sup>(17)</sup>

O primeiro relato de uma forma recombinante com os três subtipos mais comuns na América do Sul foi realizado na Argentina, onde foi descrita uma CRF formada pelos subtipos B, C e F. No Brasil, já foram detectados os subtipos A, B, C, D e F, assim como a CRF B/F. Em São Paulo, recentemente, foram descritas duas novas formas recombinantes classificadas como CRF28\_BF e CRF29\_BF. Nas regiões Sudeste, Centro-Oeste e Nordeste, predomina o subtipo B, seguido pelo subtipo F,<sup>(40-47)</sup> enquanto na região Sul, a prevalência do subtipo C é maior do que no resto do Brasil, podendo ultrapassar 50% dos casos<sup>(40,42,48)</sup> (Figura 8).





**Figura 8** – Distribuição geográfica dos subtipos de HIV-1 no Brasil.<sup>(42)</sup>

Considerando que mutações e recombinações continuam a acontecer, é provável que novos subtipos do HIV-1 e de CRFs ainda sejam descritos no futuro e que se espalhem, causando epidemias pelo globo; no entanto, discute-se o significado biológico desses subtipos em termos de transmissão e patogenicidade, ou seja, o grau de virulência e comprometimento do sistema imunológico causado por estes vírus.

Outro fator importante, é o fato de alguns subtipos do HIV-1 e de CRFs terem sido predominantemente associados a modos de transmissão

específicos. O subtipo B é mais frequentemente encontrado quando a transmissão se dá por contato homossexual ou pelo uso de seringas contaminadas por sangue, enquanto o subtipo C e a CRF A/E tendem a ser mais encontrados em epidemias com transmissão heterossexual.

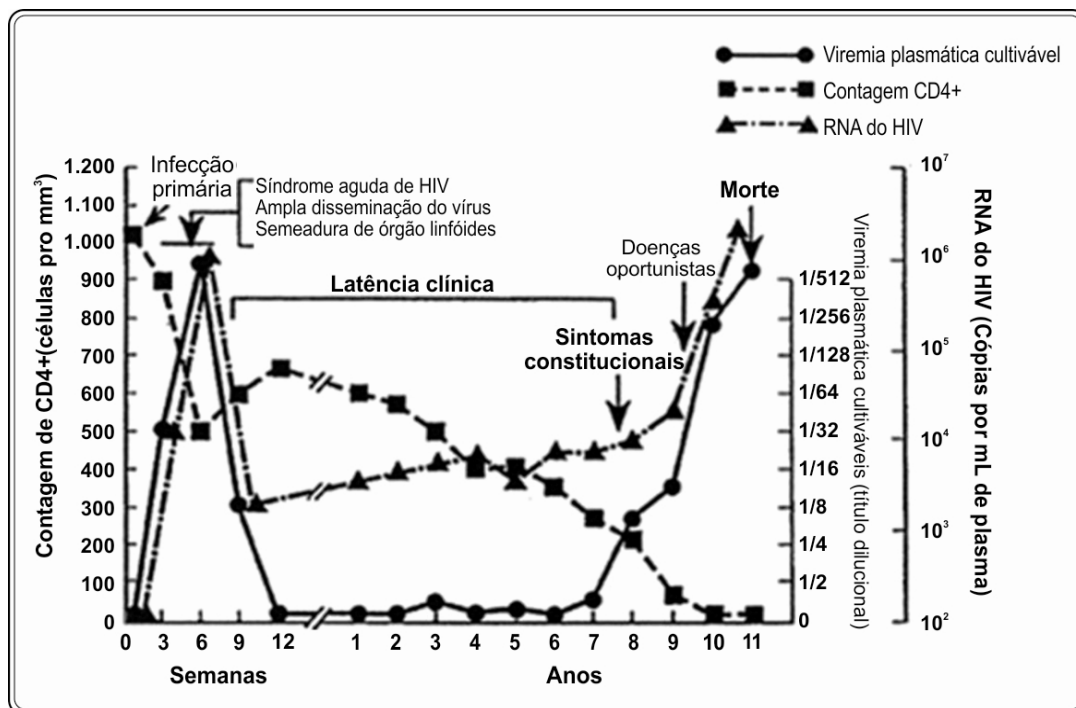
A alta variabilidade genética do HIV-1 pode ter implicações na patogênese, na transmissão, no diagnóstico, no tratamento e no desenvolvimento de vacinas.<sup>(17)</sup> Alguns estudos, apontam para diferenças na prevalência de algumas mutações de resistência entre os subtipos B e “não-B”, especialmente, aquelas relacionadas à protease.<sup>(44,46,48,49)</sup> Entretanto, o impacto dessas diferenças na eficácia da TARV ainda não é muito evidente.<sup>(50-52)</sup>

Até 1994, pensava-se que um indivíduo não poderia apresentar infecção por mais de um subtipo de HIV-1, mas desde então, muitos casos de coinfeção têm sido relatados. Todas essas infecções documentadas, até o momento, foram resultado da exposição a diferentes amostras do HIV-1, mais ou menos simultaneamente, antes de o sistema imunológico ter chance de reagir. Normalmente, as duas fitas de RNA derivam de um mesmo vírus; no entanto, se uma célula estiver infectada por amostras virais diferentes, um RNA transcrito de cada provírus poderá ser encapsulado em um novo vírion. Eventualmente, tal recombinação genética pode originar uma cepa viral com maior poder de adaptação.<sup>(53)</sup> Atualmente, acredita-se que possa haver uma “superinfecção” alguns meses após a primeira. Provavelmente, a resposta imunológica ao primeiro vírus não seria suficiente para impedir a segunda infecção, principalmente com vírus de subtipo diferente.

### 2.3 Evolução da infecção

Por atingir principalmente os homens homossexuais, os usuários de drogas injetáveis e os hemofílicos, no início da epidemia de AIDS, esses indivíduos eram considerados grupos de risco. Atualmente, esse termo foi substituído por vulnerabilidade a infecção, pois o vírus passou a se espalhar de forma geral, não mais se concentrando apenas em grupos específicos.

Sangue e hemoderivados foram responsáveis por parcela significativa da transmissão do HIV-1. A partir de 1988<sup>(54)</sup>, com o desenvolvimento dos testes para triagem em bancos de sangue, vem ocorrendo uma diminuição progressiva dessa categoria de transmissão. Consideram-se, como comportamento de risco: relação sexual (homo ou heterossexual) com pessoa infectada, sem o uso de preservativos; compartilhamento de seringas e agulhas, principalmente no uso de drogas injetáveis; transfusão de sangue contaminado pelo HIV-1; reutilização de objetos perfurocortantes com presença de sangue ou fluidos contaminados pelo HIV-1. A transmissão vertical, da mãe para o recém-nascido, durante ou próximo ao nascimento ou por meio da amamentação é a principal via de infecção em crianças.<sup>(55)</sup>



**Figura 9** – Evolução da infecção pelo HIV-1

Fonte: Adaptado de *National Institutes of Health* <sup>(56)</sup>

Após exposição ao vírus HIV-1, os primeiros sintomas podem ser observados após o período de 3 a 4 semanas. Os indivíduos infectados podem apresentar febre, adenopatias, faringite, fadiga, mialgias, dores de cabeça e perda de peso. Essa fase é caracterizada por elevados níveis de replicação do HIV-1 e de viremia no plasma (Figura 10). Também se verifica uma inversão na razão de linfócitos T CD4/CD8, havendo evidência para uma ativação das células T. A soroconversão e a produção de anticorpos contra as proteínas do envelope e *core* ocorrem 4 a 6 semanas após exposição ao vírus. Como consequência, há uma diminuição nos níveis de viremia e o desaparecimento dos sintomas. Neste ponto, a infecção entra na fase de latência. Na maior parte das crianças e dos adultos infectados, ela pode durar de alguns meses até 10 anos. Os fatores que determinam a sua duração são o grau de virulência, a

magnitude da resposta imunológica, a infecção por outros agentes patogênicos, a idade do paciente e o uso de drogas antirretrovíricas. No entanto, são desconhecidos os eventos concretos que marcam o fim desse período.

Durante a infecção pelo HIV-1, ocorre a progressiva destruição do sistema imunológico do hospedeiro, impedindo que esse atue sobre a infecção. Assim, após a fase de latência, diminui o número de linfócitos T CD4+ no sangue e aumentam os níveis de viremia no plasma.<sup>(57)</sup> Quando a contagem de linfócitos T CD4+ é reduzida a níveis abaixo de 200 células/mm<sup>3</sup>, aproximadamente, o risco de infecção por agentes oportunistas e outras complicações clínicas associadas é elevado. Conseqüentemente, a infecção do HIV-1 entra na última fase – a Síndrome da Imunodeficiência Humana (SIDA, ou mais comumente denominada AIDS).<sup>(32)</sup> Além das células T CD4+, os macrófagos, as células dendríticas e as células foliculares dendríticas também desempenham um papel importante na infecção pelo HIV-1 e na progressão da imunossupressão.<sup>(32)</sup>

## **2.4 Terapia Antirretroviral**

A TARV permitiu que a infecção pelo HIV-1 se transformasse em doença de caráter crônico. Ainda é grande o seu impacto social e individual, especialmente nas populações economicamente ativas. O advento da TARV reduziu a morbidade, a mortalidade e a incidência de infecções oportunistas, melhorando a qualidade de vida dos pacientes infectados.<sup>(58,59)</sup> A introdução da

TARV tornou possível a redução da carga viral a níveis não detectáveis em pacientes já tratados anteriormente, tornando-se um padrão de tratamento em âmbito mundial.<sup>(60)</sup>

O Brasil destaca-se no cenário mundial pela política do Ministério da Saúde para assistência aos indivíduos infectados pelo HIV-1. Em 1988, o Sistema Único de Saúde (SUS) iniciou a distribuição das drogas para o tratamento das infecções oportunistas. A partir de 1991, inicialmente com a distribuição de Zidovudina (AZT), passou a disponibilizar gratuitamente os antirretrovirais (ARV) aos indivíduos com indicação de tratamento. Atualmente, no Brasil, cerca de 200.000 pacientes estão em tratamento com TARV combinada. Essa política tem causado considerável impacto na epidemia de HIV-1-AIDS, reduzindo sua morbidade e mortalidade no Brasil e no mundo<sup>(61-63,7)</sup>

Mesmo com os grandes avanços da TARV nos últimos 20 anos, algumas questões fundamentais ainda não estão totalmente esclarecidas. Dentre as principais, destacam-se o questionamento do melhor momento para se iniciar o tratamento<sup>(64)</sup> e qual a melhor combinação de medicamentos.<sup>(65,66)</sup> A adesão à terapia antiretroviral é um fator fundamental para o sucesso da supressão virológica e da preservação da função do sistema imunológico de pacientes infectados pelo HIV-1.<sup>(67)</sup> Ao longo dos últimos anos, diretrizes de diversos países e instituições foram publicadas em relação ao tratamento antiretroviral e, ainda hoje, apesar de vários pontos em comum, algumas diferenças persistem entre esses guias terapêuticos.<sup>(64)</sup>

Existem quatro grupos principais de medicamentos disponíveis para o tratamento de pacientes infectados pelo HIV-1, que agem em fases diferentes da replicação viral. O grupo dos Inibidores da Transcriptase Reversa subdivide-se em: a) análogos de Nucleosídeos (ITRN), que mimetizam esses precursores do material genético celular formando sequências de DNA disfuncionais, e b) não análogos de nucleosídeos (ITRNN), que se ligam à TR, interrompendo sua ação. Os Inibidores da Protease (IP) bloqueiam seletivamente a ação dessa enzima, impedindo a maturação das poliproteínas viras. Os Inibidores de Entrada (IE), por sua vez, dificultam a ligação do HIV-1 com a membrana do LTCD4, impedindo sua penetração celular. Uma nova classe de drogas, já disponível para uso clínico, é constituída pelos Inibidores de Integrase (INSTI) que bloqueiam a ação da referida enzima, impedindo a fusão do provírus ao DNA celular.

#### **2.4.1 Inibidores da Transcriptase Reversa análogo de Nucleosídeo (ITRN)<sup>(68)</sup>**

**Abacavir (ABC)** – A dose recomendada é de 300mg de 12/12 h. É apresentado na forma de comprimidos de 300mg e solução oral. Os alimentos não interferem na sua absorção. É bem tolerado, porém, podem ocorrer reações de hipersensibilidade sérias e potencialmente fatais. Várias mutações associadas à resistência aos análogos de Timidina - AZT e Estavudina (D4T) - conhecidas como TAM, associam-se com progressiva redução da sensibilidade ao ABC.

**Didanosina (DDI)** – A dose para adultos com 60kg ou mais é de 400 mg/dia e para menos de 60kg é de 250mg/dia. Estão disponíveis comprimidos de absorção entérica de 400mg e de 250mg e frascos com pó. Por ser um ácido lábil, DDI deve ser ingerida com o estômago vazio. Causa neuropatia periférica em 5 a 15% dos pacientes. Pancreatite ocorre em 5 a 10% dos casos e há relatos de casos de acidose láctica.

**Estavudina (D4T)** – É apresentada na forma de cápsulas de 30mg e a dose é 30mg de 12/12h. Também apresenta a formulação pediátrica. Dada a forte associação com neuropatia periférica, dislipidemias, acidose láctica e lipoatrofia periférica, D4T é um medicamento cada vez mais de uso restrito, devendo ser reservada apenas para os pacientes para os quais não há outras opções terapêuticas.

**Lamivudina (3TC)** - A dose para adultos é de 300mg/dia, em dose única ou 150mg de 12/12h. É apresentada na forma de comprimidos de 150mg ou em solução oral com 10mg/mL. Apesar de ser relativamente pouco potente, é muito importante por sua característica: a mutação que confere resistência ao 3TC restaura a sensibilidade, ao menos parcialmente, de vírus resistentes ao AZT e ao Tenofovir. É muito bem tolerada, sendo raros os efeitos colaterais. Podem ocorrer cefaleia, náuseas, diarreia, dor abdominal e insônia.

**Tenofovir (TDF)** – A dose recomendada é de 300mg/dia com ou sem alimentos. A tolerância é excelente e os efeitos colaterais mais comuns são náusea, vômito, diarreia e flatulência. Há alterações da função renal, devendo ser monitorada cuidadosamente durante o tratamento; as lesões renais, porém, são reversíveis. A resistência ao TDF pode ser facilmente revertida pela



presença da mutação M184V, associada à resistência a 3TC; por isso, é recomendado que essa seja sempre associada ao esquema quando o TDF for usado.

**Zidovudina (AZT)** – A dose usual para adultos é de 300mg de 12/12h. Estão disponíveis cápsulas de 100mg, frascos de 200 ml de xarope com 10mg/mL e ampolas de 20mg com 10mg/mL. De preferência, deve ser ingerido com estômago vazio ou com alimentos com baixo teor de gordura. Os principais efeitos adversos são anemia, leucopenia e plaquetopenia. O uso prolongado de AZT associa-se à toxicidade mitocondrial e à lipoatrofia periférica. Há relatos de casos de acidose láctica associada ao AZT, como com os demais medicamentos desta classe.

**Zidovudina+Lamivudina (AZT+3TC)** – combinação de 300mg de AZT e 150mg de 3TC para uso de 12/12h, o que facilita a adesão do paciente ao tratamento.

#### **2.4.2 Inibidores da Transcriptase Reversa não análogos de Nucleosídeo (ITRNN)<sup>(68)</sup>**

**Efavirenz (EFZ)** – Potente ITRNN, a dose recomendada é de 600mg/dia; é apresentado na forma de cápsulas de 200mg e comprimidos de 600mg e apresentação pediátrica. Tendo em vista sua eficácia, tolerância e segurança em longo prazo, esquemas baseados em EFZ são considerados os mais indicados para terapia inicial. Os alimentos pouco interferem em sua absorção, embora devam ser evitados alimentos com alto teor de gordura. Os

efeitos adversos mais comuns são relacionados ao sistema nervoso central, predominando tontura, insônia, sonhos vívidos ou pesadelos, depressão e dificuldade de concentração. O uso prolongado também está associado à dislipidemia. Seu uso é contraindicado na gravidez.

**Nevirapina (NVP)** – É apresentada na forma de comprimidos de 200mg e a dose recomendada é de 400mg/dia em duas tomadas diárias. Os alimentos não interferem na absorção. O tratamento deve ser iniciado com 200mg/dia durante 14 dias, o que reduz a probabilidade de ocorrer exantema, que pode ser muito grave, havendo vários relatos de casos de síndrome de Stevens-Johnson. Seu uso deve ser cauteloso em pacientes com disfunção renal ou hepática, por ser metabolizada pelo fígado e excretado por via renal. Outros efeitos colaterais incluem cefaleia, náuseas e febre.

**Etravirina (ETR)** - Esta disponível em comprimidos de 100mg. A dose recomendada para adultos é de 200mg por via oral, 2 vezes ao dia (4 comprimidos/dia), tomada após uma refeição leve que contenha gordura. Adicionalmente, a etravirina permanece estável quando dissolvida na água e pode ser preparada dessa forma para pacientes que apresentem dificuldades para deglutir.

#### **2.4.3 Inibidores de Protease (IP)<sup>(68)</sup>**

**Atazanavir (ATV)** – É apresentado em cápsulas de 300mg e 200mg. A dose recomendada é de 400mg/dia ou 300mg/dia quando associado ao

Ritonavir. Suas principais características são o uso em dose única diária e o menor impacto metabólico, em relação aos demais IP. Os efeitos colaterais mais comuns são icterícia (em até 10% dos pacientes, raramente levando à interrupção do tratamento) náusea e diarreia.

**Darunavir (DRV)** – A dose recomendada é de 600mg associado a 100mg de Ritonavir de 12/12h, junto com alimento. A apresentação disponível é em comprimidos de 300mg. Os eventos adversos mais observados são diarreia, náusea, cefaleia, nasofaringite e fadiga.

**Fosamprenavir (FPV)** – É uma pró-droga do Amprenavir. Está disponível na forma de comprimidos de 400mg. A dose recomendada é 1400mg associados a 200mg de Ritonavir em dose única diária ou em duas tomadas de 700mg com 100mg de Ritonavir de 12/12h. Os principais efeitos adversos são náuseas, diarreia e exantema, que são menos frequentes se usado em conjuntocom oAmprenavir. Não há restrição em relação a alimentos.

**Indinavir (IDV)** – Está disponível em cápsulas de 400mg e a dose recomendada é de 800mg de 8/8h; deve ser tomado com o estômago vazio, uma hora antes ou duas horas após a ingestão de alimentos com alto teor de gordura. Quando associado ao Ritonavir, a dose é de 800mg de IDV com 100mg ou 200mg de Ritonavir de 12/12h. Está fortemente associado com lipoatrofia periférica e nefrolitíase, por ser eliminado na forma de cristais. Outros efeitos colaterais incluem cefaleia, náuseas, vômitos, diarreia, gosto

metálico na boca, mucosas secas, fadiga, insônia, exantema, xerodermia, unha encravada ou displasia ectodérmica, sonolência, alteração visual, trombocitopenia e aumento de transaminases.

**Lopinavir+Ritonavir (LPV/r)** – A coformulação com Ritonavir é, provavelmente, a sua maior vantagem. É apresentado na forma de comprimidos de 200mg de Lopinavir e 50mg de Ritonavir e a dose recomendada é de dois comprimidos de 12/12h. Está disponível em solução oral. Os principais efeitos colaterais são náusea e diarreia, sendo comum a elevação significativa dos níveis séricos de colesterol e triglicerídeos. Não é raro o desenvolvimento de resistência à insulina; pancreatite já foi relatada, especialmente quando há dislipidemia.

**Ritonavir (RTV)** – é um potente indutor de sistemas enzimáticos hepáticos, via pela qual muitos medicamentos, incluindo a maioria dos IPs, são metabolizados. Embora o RTV tenha sido inicialmente liberado para uso isolado como IP, dadas as marcadas interações medicamentosas e a frequência de efeitos colaterais, não mais se justifica o uso de RTV como o único inibidor da protease. Atualmente, seu uso é restrito a situações em que age como potencializador de outros inibidores da protease, por causar profunda alteração da farmacocinética desses medicamentos. Os efeitos colaterais mais frequentes incluem: intolerância gastrointestinal, com náuseas, dor e/ou distensão abdominal e diarreia, parestesia em torno da boca e também periférica, aumento dos níveis séricos de colesterol e de triglicerídeos.

**Saquinavir (SQV)** – Foi o primeiro inibidor de protease liberado para uso clínico, em 1996. A dose recomendada é de 1000mg de 12/12h, associado a 100mg de Ritonavir, também de 12/12h. Está disponível na forma de cápsulas de 200mg. Os efeitos colaterais mais comuns são relacionados ao trato gastrointestinal, como náuseas, dor abdominal e diarreia, além de possível cefaleia.

#### **2.4.4 Inibidor de Integrase (INSTI)<sup>(55)</sup>**

**Raltegravir (RAL)** - A posologia é de 400mg de 12/12horas sem a necessidade da associação com RTV nem da ingestão concomitante de alimentos. A apresentação disponível é em comprimidos de 400mg.

#### **2.4.5 Inibidor de Fusão**

**Enfuvirtida (T-20)** – a dose é de uma ampola de 90mg de 12/12h. Por ser injetável e ser aplicado pela via subcutânea, apresenta diversos efeitos colaterais como: eritema, nódulos ou cistos no local de aplicação, desconforto e hipersensibilidade.<sup>(69,70)</sup>

A Tabela 1 evidencia os ARVs que o Ministério da Saúde disponibiliza para os pacientes que preenchem os critérios de início do tratamento<sup>(71)</sup> expostos na Tabela 2.

**Tabela 1 - Antirretrovirais disponibilizados pelo Ministério da Saúde.<sup>(71)</sup>**

<b>Medicamentos</b>	<b>Sigla</b>
<b>ITRN</b>	
Abacavir	ABC
Didanosina	DDI
Estavudina	D4T
Lamivudina	3TC
Tenofovir	TDF
Zidovudina	AZT / ZDV
Zidovudina+Lamivudina	AZT + 3TC
<b>ITRNN</b>	
Efavirenz	EFZ
Nevirapina	NVP
<b>IP</b>	
Amprenavir	APV
Atazanavir	ATV
Darunavir	DRV
Fos-Amprenavir	FPV
Indinavir	IDV
Lopinavir/ritonavir	LPV
Ritonavir	RTV
Nelfinavir	NFV
Saquinavir	SQV
Tripanavir	TPV
<b>Inibidores de Fusão</b>	
Enfuvirtida	T20 / ENF
<b>Inibidores de Entrada</b>	
Maraviroc <sup>a</sup>	MVC
<b>Inibidor de Integrase</b>	
Raltegravir <sup>a</sup>	RAL

a- Drogas em processo de liberação pelo MS – Brasil na ocasião desta revisão da literatura.

**Tabela 2** – Recomendações para início de Terapia Antirretroviral em adultos e Adolescentes Infectados pelo HIV-1<sup>(71)</sup>

Condição clínica e imunológica	TARV
Assintomático sem contagem de LTCD4+	Não tratar
Assintomático com LTCD4+ > 350 células/mm <sup>3</sup>	Não tratar
Assintomático com LTCD4+ entre 200 e 350 células/mm <sup>3</sup>	Recomendar tratamento <sup>a</sup>
Assintomático com LTCD4+ < 200 células/mm <sup>3</sup>	Tratar + QP <sup>b</sup>
Sintomáticos / condições definidoras de AIDS <sup>c</sup>	Tratar + QP

TARV- Terapia antirretroviral; LTCD4+ - Contagem, em número absoluto, de linfócitos TCD4+; a- Ver considerações do texto; b- Quimioprofilaxia para Infecções oportunistas: *P. jirovecii* com LTCD4+ < 200, *Toxoplasmose* com LTCD4+ < 100 e *Complexo Mycobacterium avium* se LTCD4+ < 50; c- considerar condições não definidoras em alguns casos.

Os pacientes sintomáticos são aqueles que apresentam condições definidoras de AIDS especificadas nas “Recomendações para TARV em Adultos e Adolescentes Infectados pelo HIV-1”.<sup>(71)</sup> As orientações atuais recomendam o início de TARV para os pacientes assintomáticos com contagem de LTCD4 entre 200 e 350 células/mm<sup>3</sup>. Nessa faixa imunológica, o tratamento deve ser indicado especialmente para os pacientes que apresentem queda progressiva do LTCD4 ou carga viral elevada (>100.000 cópias/mL).

Caso o paciente apresente dificuldade de adesão à TARV em função de efeitos adversos (Tabela 2) e para que não haja piora clínica, recomenda-se que os parâmetros laboratoriais sejam monitorados em intervalos mais curtos.

Verificou-se um aumento nas doenças cardiovasculares devido à combinação de idade e fatores de risco como hipertensão e diabetes, assim

como esquemas antirretrovirais que usam D4T ou IPs. Os pacientes devem ser monitorados e acompanhados cuidadosamente.<sup>(72)</sup>

O alvo principal da infecção pelo HIV-1 é o LTCD4 e a contagem deste no sangue periférico tem estreita relação com a condição clínica do paciente, funcionando como marcador prognóstico.<sup>(73)</sup> Uma vez que a evolução natural da infecção pelo HIV-1 caracteriza-se por contínua replicação viral, com consequente destruição ou disfunção dos LTCD4, a dinâmica da replicação viral em cada indivíduo constitui fator prognóstico importante em relação à velocidade da evolução para o quadro clínico de AIDS.<sup>(74)</sup> Assim, classicamente, a quantificação das partículas virais circulantes (carga viral), por meio da medição dos níveis de RNA do HIV-1 no plasma, passou a ter papel central no seguimento clínico de pacientes infectados pelo HIV-1.<sup>(75)</sup>

O principal objetivo da TARV é, através da inibição da replicação viral, retardar a progressão da imunodeficiência e restaurar, tanto quanto possível, a imunidade, aumentando o tempo e a qualidade de vida das pessoas que vivem com HIV-1-AIDS. Assim, a supressão máxima e contínua da replicação viral é imprescindível para reduzir ou reverter o dano imunológico.<sup>(71)</sup> No seguimento periódico dos pacientes em TARV, a carga viral indetectável (<50 cópias/mL), após 24 semanas de terapia, tornou-se o parâmetro de avaliação a ser atingido. No passado, o RNA viral plasmático era definido como indetectável se presente em níveis menores que 400 cópias/mL. Atualmente, exames mais sensíveis podem mensurar a carga viral em níveis próximos a 20 cópias/mL. Evidências acumuladas sugerem que tratamentos capazes de reduzir a carga viral para níveis inferiores a 50 cópias/mL estão associados com supressão



viral mais sustentada se comparado a tratamentos que mantêm carga viral entre 50 e 500 cópias/mL. Ressalta-se que a redução do RNA viral plasmático para níveis indetectáveis limita a seleção de vírus resistentes às medicações.

## 2.5 Falha Terapêutica

A avaliação de resposta à TARV baseia-se, principalmente, em parâmetros laboratoriais. O objetivo é que a carga viral seja indetectável ao final de seis meses de tratamento. Entretanto, deve-se considerar como resultado positivo uma grande redução nos seus valores, o que é evidenciado por uma queda maior que 1 log, ou 90%, nas primeiras 4-8 semanas e maior que 2 log, ou 99%, nas 12-16 semanas iniciais de tratamento.<sup>(71)</sup>

A falha a um esquema antirretroviral é definida, de modo geral, como a ocorrência de deterioração clínica ou, mais precocemente, por piora dos parâmetros imunológicos e virológicos. Em geral, a falha virológica ocorre mais precocemente, seguida da falha imunológica e, finalmente, da piora clínica. A diferença no tempo de surgimento entre elas pode ser de meses ou anos. Laboratorialmente, o principal parâmetro de falha é a ocorrência de carga viral ainda detectável após 48 semanas de tratamento em pacientes em TARV inicial. Para aqueles que atingiram a supressão viral completa, o retorno da detecção de RNA viral em exames repetidos é considerado como falha. Redução significativa da contagem de LTCD4 (maior que 25%) é outro parâmetro que indica falha terapêutica. Devem ser considerados, pelo menos, dois exames consecutivos (de carga viral e/ou contagem de LTCD4) para se

confirmar a tendência dos resultados obtidos e minimizar o efeito da variabilidade intertestes.<sup>(71)</sup>

A duração eficaz da TARV relaciona-se a diversos fatores, tais como: potência do esquema antirretroviral, comodidade posológica, efeitos colaterais, adesão do paciente,<sup>(76)</sup> alterações na biodisponibilidade e metabolismo dos medicamentos, com destaque para as variações na absorção e interações medicamentosas<sup>(8)</sup> e para a penetração errática de alguns medicamentos nos reservatórios virais fora do sangue e em células mononucleares do sangue periférico.<sup>(10-14)</sup> Fatores virais, em especial o subtipo do HIV-1, podem trazer impactos à TARV, mas os dados ainda são conflitantes.<sup>(52,77)</sup> Em relação ao sistema imune do hospedeiro, sabe-se que indivíduos com mutação em heterozigose para o gene  $\Delta 32$ , que codifica o correceptor celular para o HIV-1 CCR5 (presente nas células LTCD4), apresentam maior incremento de LTCD4 em resposta à TARV<sup>(78)</sup> e mesmo progressão mais lenta da imunodeficiência. Como denominador final deste processo multifatorial, a emergência de resistência aos ARV é fundamental para se entender a falha terapêutica. O aparecimento de cepas resistentes aos antirretrovirais é, simultaneamente, causa e efeito da supressão viral incompleta.<sup>(15)</sup> A emergência de cepas virais resistentes está diretamente relacionada às altas taxas de replicação viral. Uma produção diária de, aproximadamente, 10 bilhões de partículas virais,<sup>(79)</sup> aliada à ausência de mecanismos de autocorreção da TR viral, possibilita a ocorrência, em média, de uma troca de nucleosídeo por ciclo de replicação viral, gerando milhares de mutações virais a cada dia. A pressão seletiva criada pela TARV gera cepas variantes que, por acúmulo de mutações, apresentam

melhor *fitness* (maior capacidade replicativa em um dado meio) e passam a predominar, determinando a falha terapêutica.

Aproximadamente 50% dos pacientes que iniciaram a TARV no final da década de 90 apresentaram falha terapêutica após seis meses do início do tratamento. Em geral, a falha ocorria por adesão insuficiente, principal fator determinante do surgimento de vírus mutantes resistentes aos antirretrovirais.<sup>(80)</sup>

Atualmente, a supressão virológica é mantida em torno de 70 a 90% entre o primeiro e o segundo anos de TARV. É importante lembrar que, no contexto de TARV potentes e duráveis, o sucesso terapêutico está intimamente relacionado à adesão ao tratamento.<sup>(81)</sup> O estudo de Paterson<sup>(81)</sup> sugeriu que seria necessária uma aderência maior que 95% para se obter uma carga viral indetectável. Em trabalho publicado em 2000, Gifford e colaboradores<sup>(82)</sup> encontraram adesão de 100% em apenas 50% dos entrevistados.

Em 2001, Bartlett<sup>(83)</sup> mostrou correlação direta e significativa entre a porcentagem de pacientes com carga viral do HIV-1 menor que 50 cópias/mL na semana 48 e o número de comprimidos ingeridos. Algumas avaliações apontam que, fora dos estudos clínicos controlados, os índices de falha terapêutica são bem maiores.<sup>(84)</sup> A eficácia do tratamento, portanto, vem sendo ameaçada por uma complexa conjuntura centrada na adesão insuficiente e errática, que culmina com o surgimento de cepas virais resistentes e falha terapêutica.

## 2.6 Resistência aos antirretrovirais

A resistência aos ARV pode ser de origem celular ou viral. A resistência celular está vinculada às características das células infectadas do hospedeiro por interferir na penetração e ativação dos antirretrovirais.

A resistência viral aos ARV, que pode ser avaliada através da genotipagem e fenotipagem, subdivide-se em primária ou secundária. Essa última decorre da pressão seletiva exercida pela medicação antirretroviral, sendo o principal alvo dos testes de resistência viral nas avaliações de troca dos esquemas terapêuticos. Já a resistência primária aos ARV, ou resistência transmitida, apresenta-se em pacientes virgens de tratamento e sua crescente prevalência, com possível impacto na resposta ao primeiro esquema antirretroviral, é objeto de estudo em vários países.<sup>(85)</sup>

A resistência viral é determinada por mutações na sequência de nucleosídeos que formam o material genético. As mutações são designadas usando o formato letra-número-letra, sendo que as letras representam o aminoácido (AA) codificado por uma trinca de nucleosídeos, a primeira o AA selvagem e a segunda o AA mutante, enquanto o número indica a posição ocupada pelo AA na proteína em questão. Por exemplo, a designação M184V, quer dizer que a metionina da posição 184 da TR foi substituída pela valina. Devido à redundância do código genético, diferentes trincas de nucleosídeos podem codificar um mesmo aminoácido, configurando as mutações silenciosas. A tabela completa da nomenclatura dos aminoácidos e suas abreviações encontra-se no Anexo 1.

### 2.6.1 Resistência Celular

A redução da concentração intracelular e da meia-vida da droga são outras razões para falha virológica. A concentração intracelular dos IP varia de acordo com os diversos tipos de células. A glicoproteína-P (P-gp) localizada na membrana plasmática de várias células e, originalmente associada com resistência aos quimioterápicos em células tumorais, pode bombear os IP para o meio extracelular.<sup>(13)</sup>

Todos os IP de uso clínico têm demonstrado ser um substrato para a P-gp e a sua presença nas células do testículo e da barreira hematoencefálica pode, em parte, explicar a baixa concentração dos IP nesses tecidos. A sua presença nas células epiteliais do intestino também pode reduzir a biodisponibilidade e ou aumentar a excreção dos IP, diminuindo sua eficácia terapêutica.<sup>(86)</sup>

Pacientes que expressam os genes das proteínas de transporte de drogas (MDR – *multi-drug resistance proteins*) apresentam menores valores da contagem de LTCD4.<sup>(87)</sup> Embora a atividade direta da P-gp na regulação da biodisponibilidade, distribuição tissular e concentração intracelular dos IP ainda não tenha sido demonstrada em ensaios clínicos, os dados já publicados indicam que este mecanismo pode ter impacto na falha terapêutica.<sup>(88)</sup>

### 2.6.2 Resistência Viral Primária ou Transmitida

Entende-se como resistência primária a presença de mutações que confirmam resistência aos antirretrovirais presentes no genoma viral em pacientes virgens de TARV. Pode ocorrer por dois mecanismos distintos: o primeiro, nos indivíduos cronicamente infectados em decorrência da geração “espontânea” e da fixação de vírus mutantes resistentes, causadas pelo alto índice replicativo do HIV-1 e pela ausência de mecanismos de correção da TR; o segundo mecanismo, mais relevante, ocorre por transmissão de cepas resistentes, provenientes de um indivíduo já exposto aos antirretrovirais (resistência transmitida). Um estudo realizado entre 2000 e 2002, com cerca de 400 pacientes portadores de vírus resistentes, evidenciou que 23% deles relataram sexo desprotegido nos últimos três meses, significando um número de 1126 relações sexuais desprotegidas.<sup>(89)</sup> Dados como esse explicam a crescente prevalência da resistência transmitida em diversos países. Alguns estudos apontam, entretanto, para a estabilização e, até mesmo, para a redução de sua prevalência em alguns países.<sup>(90)</sup> Ao que parece, a prevalência é maior entre usuários de drogas injetáveis, seguidos por homens que fazem sexo com homens e heterossexuais.

Estudos recentes indicam que a resistência primária ou transmitida apresenta entrave à estratégia antirretroviral inicial, especialmente em países desenvolvidos.<sup>(91-94)</sup> Dessa forma, a maioria das diretrizes para tratamento antirretroviral dessas localidades preconiza o uso de genotipagem antes mesmo do primeiro esquema terapêutico. O custo-efetividade de tal conduta

ainda baseia-se em opinião de especialistas. No estudo EuroSIDA, contudo, não houve impacto imunoviológico na TARV inicial pela presença de resistência primária.<sup>(95)</sup>

Os países em desenvolvimento, por sua vez, não estão imunes ao problema. Análise recente realizada com 47 indivíduos cronicamente infectados em Camarões demonstrou cerca de 7% de resistência primária aos IP e até 10% aos ITR.<sup>(96)</sup> No Brasil, os índices de resistência primária, apesar de crescentes<sup>(42)</sup> são aparentemente menores (em torno de 2 a 3%), reservando-se o exame de genotipagem para avaliação de terapias de resgate.<sup>(97)</sup> Todavia, um estudo conduzido pelo Ministério da Saúde do Brasil em centros de testagem por todo o país demonstrou a prevalência de resistência primária em 7% dos indivíduos cronicamente infectados, com 2,2% de resistência para os IP, 2,4% para os ITRN e 2,1% para os ITRNN.<sup>(42)</sup> Em algumas localidades, a prevalência de resistência primária pode ser diferente da média nacional, por particularidades locais da epidemia. Em Santos-SP, foi observado uma prevalência de resistência primária de 22% para os ITRN, de 15% para os ITRNN e de 13% para os IP, determinando uma resistência cumulativa de 36%.<sup>(98)</sup>

Ao contrário do que se pensava, as mutações de resistência primária podem persistir por vários anos, independentemente da pressão seletiva do tratamento antirretroviral.<sup>(99,100,101)</sup> Assim, enquanto se observa uma relativa tendência à redução do surgimento de resistência adquirida com o uso da terapia tripla (incluindo o maior uso de IP com Ritonavir), cresce a vigilância internacional de resistência primária.<sup>(85)</sup> Programas para monitorar a

Prevalência de Resistência Primária (TDR, ou *Transmitted HIV-1 Drug Resistance*) em diferentes regiões é extremamente importante para melhor fundamentar os manuais de tratamento ARV, promover o *feedback* de sua eficiência e orientar os programas de prevenção do HIV-1.<sup>(102)</sup>

Há cerca de dois anos, a Organização Mundial de Saúde (OMS) estabeleceu um programa global de vigilância genotípica da resistência do HIV-1 aos ARV.<sup>(103)</sup> Recomendou a adoção de um consenso na definição das mutações com impacto de resistência, para adequadamente se comparar as taxas de resistência primária (transmitida) em períodos distintos, nas diversas regiões. Para tanto, adotou uma lista de mutações proposta especificamente para resistência transmitida.<sup>(102,104)</sup>

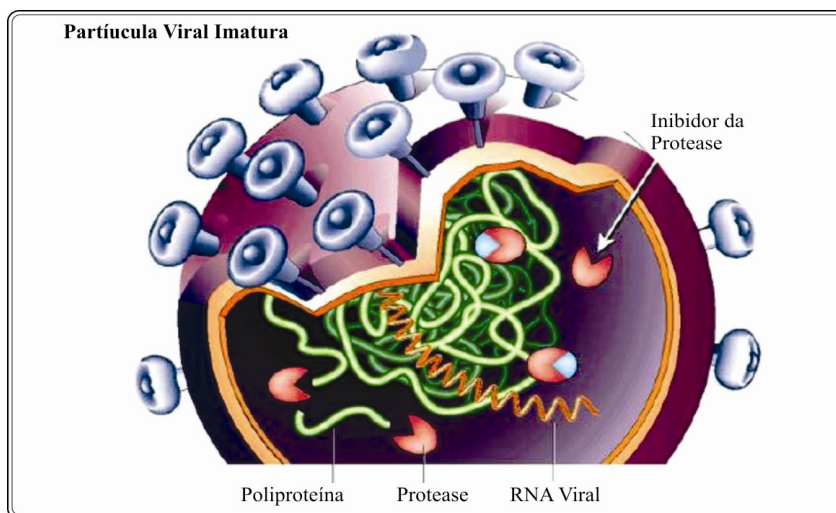
### **2.6.3 Resistência Viral Secundária ou Adquirida**

Define-se resistência viral secundária como a emergência de mutações de resistência aos antirretrovirais em decorrência da pressão seletiva exercida por essa medicação. É, portanto, um mecanismo de seleção natural. Cada classe de medicamento antirretroviral possui um mecanismo de ação particular e, de forma lógica, os mecanismos de resistência viral e, outras especificidades das classes, devem ser entendidos para cada uma delas.<sup>(77)</sup>



### 2.6.3.1 Resistência aos IP

Os IP são fármacos projetados em laboratório a partir do conhecimento da conformação tridimensional da molécula protease. Seu mecanismo de ação envolve a inibição seletiva e por competição do sítio ativo da protease.



**Figura 10** - Mecanismo de ação dos Inibidores de Protease

Fonte: Adaptado de Richman<sup>(105)</sup>

Mutações no gene da protease alteram a conformação espacial da enzima e inibem a ação dos IP por dificultar e diminuir o tempo de sua ligação no seu sítio ativo. Em contrapartida, os substratos naturais da protease (poliproteínas virais) também serão clivados com menor eficiência, levando à redução da capacidade replicativa viral, conhecida como *fitness viral*. Tais alterações são detectadas por meio do sequenciamento do gene (genotipagem) da protease em comparação com o observado no vírus selvagem (Figura 10).

As mutações selecionadas pelos IP podem ser definidas como principais (ou primárias) e acessórias (ou secundárias). Geralmente, as mutações principais são selecionadas mais precocemente, se localizam próximas ao sítio ativo da enzima e reduzem, sobremaneira, o *fitness viral*. Com o tempo, surgem as mutações acessórias (mutações secundárias) para que esse *fitness viral* seja restaurado.<sup>(106,107)</sup>

Um terceiro mecanismo de resistência envolve a mutação no local de clivagem da protease, região codificada fora do gene da protease (no gene *gag*). As mutações no gene da protease dificultam a eficácia da clivagem das poliproteínas, enquanto as mutações no sítio de clivagem atenuam esta restrição e facilitam a ligação dos substratos com a protease.<sup>(108)</sup> Os testes de genotipagem em uso não examinam a região do gene *gag* e futuras pesquisas serão necessárias para definir a relação das mutações no gene *gag* e da protease, além de seus efeitos na terapia antirretroviral.<sup>(77)</sup>

Apesar da probabilidade de ocorrência de resistência cruzada entre os diversos IP, o tratamento sequencial pode ser possível em determinadas situações. Certas drogas possuem mecanismo de mutação distinto das demais, particularmente o Nelfinavir e possivelmente o Atazanavir.<sup>(109-111)</sup> Além disso, é possível aumentar a barreira genética dos IP ao se elevar de forma sustentada os níveis séricos da droga pela combinação com outro membro da classe: o Ritonavir em baixas doses (100–200mg ao dia). O resultado são concentrações do medicamento altas o suficiente para suprimir cepas que contêm número limitado de mutações.

O fenômeno de hipersuscetibilidade aos IP também pode ajudar no resgate terapêutico. Pacientes que apresentem as mutações D30N e ou N88S podem se beneficiar de maior suscetibilidade a outros IP.<sup>(112,102)</sup> Cepas virais que apresentem a mutação V82T, relacionada ao uso de Indinavir, têm seu *fitness* reduzido e apresentam hipersuscetibilidade ao Saquinavir.<sup>(113)</sup> A mutação I50L determina maior suscetibilidade a todos os IP, com exceção ao ATV. Já as mutações I50V e I54L aumentam a susceptibilidade ao TPV e a L76V aos ATV, SQV, TPV<sup>(102)</sup> (Figura 11).

Indinavir	L	K	L	V	M	M				I	A	G	V	V	I	L	
	<b>10</b>	<b>20</b>	<b>24</b>	<b>32</b>	<b>36</b>	<b>46</b>				<b>54</b>	<b>71</b>	<b>73</b>	<b>77</b>	<b>82</b>	<b>84</b>	<b>90</b>	
	I	M	I	I	I	I				V	V	S	I	A	V	M	
	R	R				L				T	A		F				
	V												T				
Ritonavir	L	K		V	L	M	M			I	A		V	V	I	L	
	<b>10</b>	<b>20</b>		<b>32</b>	<b>33</b>	<b>36</b>	<b>46</b>			<b>54</b>	<b>71</b>		<b>77</b>	<b>82</b>	<b>84</b>	<b>90</b>	
	F	M		I	F	I	I			V	V		I	A	V	M	
	I	R				L			L	T			F				
	R												T				
	V												S				
Saquinavir	L							G		I	A	G	V	V	I	L	
	<b>10</b>							<b>48</b>		<b>54</b>	<b>71</b>	<b>73</b>	<b>77</b>	<b>82</b>	<b>84</b>	<b>90</b>	
	I							V		V	V	S	I	A	V	M	
	R								L	T							
	V																
Nelfinavir	L		D		M	M					A		V	V	I	N	L
	<b>10</b>		<b>30</b>		<b>36</b>	<b>46</b>					<b>71</b>		<b>77</b>	<b>82</b>	<b>84</b>	<b>88</b>	<b>90</b>
	F		N		I	I					V		I	A	V	D	M
	I				L					T			F		S		
													T				
													S				
(Fos)amprenavir	L			V		M	I	I	I			G		I	L		
	<b>10</b>			<b>32</b>		<b>46</b>	<b>47</b>	<b>50</b>	<b>54</b>			<b>73</b>		<b>84</b>	<b>90</b>		
	F			I		I	V	V	L		S		V		M		
	I				L			V	M								
	R																
	V																
Lopinavir/ ritonavir	L	K	L	V	L	M	I	I	F	I	L	A	G	V	I	L	
	<b>10</b>	<b>20</b>	<b>24</b>	<b>32</b>	<b>33</b>	<b>46</b>	<b>47</b>	<b>50</b>	<b>53</b>	<b>54</b>	<b>63</b>	<b>71</b>	<b>73</b>	<b>82</b>	<b>84</b>	<b>90</b>	
	F	M	I	I	F	I	V	V	L	V	P	V	S	A	V	M	
	I	R				L	A			L		T		F			
	R									A				T			
	V									M				S			
										T							
										S							
Atazanavir	L	K	L	V	L	M	M	G	I	I	A	G	V	I	N	L	
	<b>10</b>	<b>20</b>	<b>24</b>	<b>32</b>	<b>33</b>	<b>36</b>	<b>46</b>	<b>48</b>	<b>50</b>	<b>54</b>	<b>71</b>	<b>73</b>	<b>82</b>	<b>84</b>	<b>88</b>	<b>90</b>	
	F	M	I	I	I	I	I	V	L	L	V	C	A	V	S	M	
	I	R			F	L					V	S					
	R				V							T					
	V											A					
Tripanavir/ Ritonavir	L	K			L	M				I			V	I	L		
	<b>10</b>	<b>20</b>			<b>33</b>	<b>46</b>				<b>54</b>			<b>82</b>	<b>84</b>	<b>90</b>		
	I	M			I	I				V			A	V	M		
	V	L			F							F					
	T											L					
												T					
<b>Multiresistência aos inibidores da Protease (PIs): Acumulação de mutações ( afeta todas as PIs atualmente aprovadas pela US FDA)</b>																	
L		V			M			I			V	I	V	I	L		
<b>10</b>		<b>32</b>			<b>46</b>			<b>54</b>			<b>82</b>	<b>84</b>	<b>90</b>				
F		I			I			V			A	V	M				
	I				L			M			F	A					
	R							L			T	C					
	V										S						

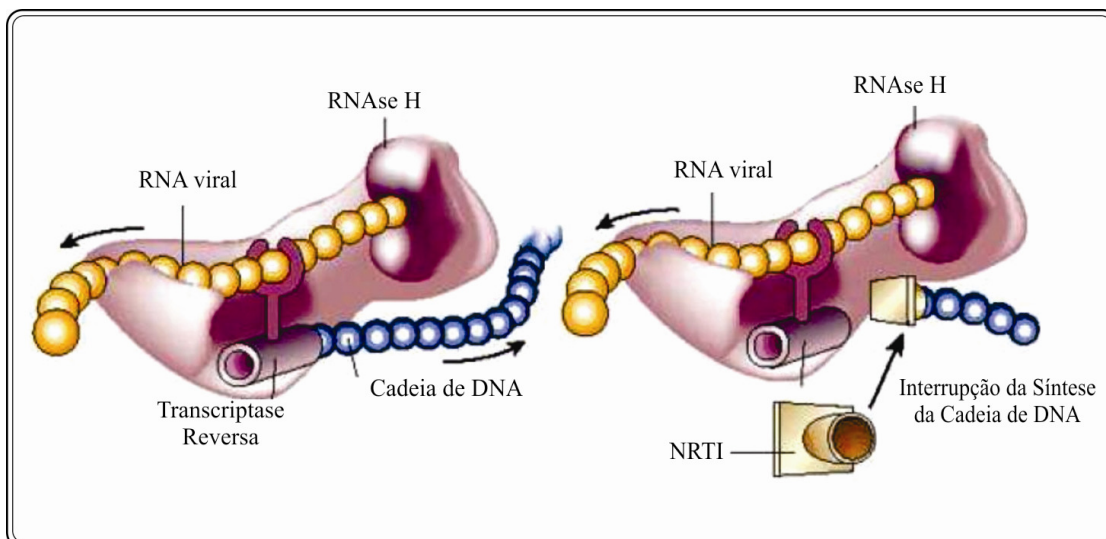
**Figura 11** – Mutações no gene da protease associadas à resistência a inibidores da protease.

Fonte: Adaptado de Johnson.<sup>(114)</sup>

[Na figura, a letra superior refere-se ao aminoácido *wild type*, a letra inferior ao aminoácido de substituição, a numeração em negrito a mutações primárias e a numeração restante a mutações secundárias.]

### 2.6.3.2 Resistência aos ITRN

Os ITRN são fármacos estruturalmente semelhantes aos nucleosídeos verdadeiros (A-adenosina, C-citosina, G-guanosina e T-timidina). AZT e D4T são análogos timidínicos; 3TC, FTC e DDC são análogos citosínicos; TDF e DDI são análogos adenosínicos e o ABC é um análogo guanosínico. Assim, durante a ação da TR, esses “pseudonucleosídeos” serão incorporados à cadeia de DNA em polimerização, impedindo que o processo se conclua (Figura 12).



**Figura 12** - Mecanismo de ação dos ITRN

Fonte: Richman<sup>(105)</sup>

Para essa classe de ARV, existem dois mecanismos de resistência. O primeiro determina a diminuição da afinidade da enzima pelos análogos nucleosídeos. Como exemplo, durante a ação da TR mutante, haveria maior incorporação da citosina (nucleosídeo natural) em detrimento do 3TC (análogo citosínico). Um segundo e surpreendente mecanismo se processa pela

habilidade da TR, conferida por mutações específicas, em remover o análogo nucleosídico já incorporado à cadeia de DNA em polimerização.<sup>(115,116)</sup> Isso ocorre por maior afinidade das pirofosfatases celulares em relação à TR com mutações, levando à maior pirofosforólise dos análogos nucleosídeos e seu consequente desprendimento da cadeia de DNA em retrotranscrição.<sup>(117)</sup> As mutações geradas por este mecanismo são denominadas TAM (mutações associadas aos timidínicos) e são divididas em duas vias mutacionais: TAM1, com as mutações M41L, L210W e T215Y e TAM2, com as mutações D67N, K70R, T215F e K219QE, reconhecidas inicialmente após falha com Zidovudina (AZT).<sup>(118,119)</sup>

Embora as TAM apareçam após o uso dos ITRN análogos da timidina, quando presentes em grande número, reduzem a suscetibilidade a todas as drogas desta classe.<sup>(102)</sup>

Alguns mecanismos de multirresistência aos ITRN foram identificados. Um deles é a presença do chamado complexo Q151M, pela presença desta mutação principal e um grupo de mutações acessórias.<sup>(120-122)</sup> Outros dois referem-se a alterações no códon 69, pela inserção de dois ou mais aminoácidos<sup>(123)</sup> ou pela deleção no códon 67.<sup>(124)</sup> Por fim, a mutação K65R, selecionada pelo DDI, ABC e TDF, pode conferir resistência de 2,5 a 10 vezes a todos os ITRN poupando, todavia, os timidínicos.<sup>(125)</sup>

Em pacientes com várias falhas terapêuticas, a interpretação das mutações encontradas pode ser tarefa complexa.<sup>(77)</sup> Certas mutações podem conferir resistência a uma droga e aumento da suscetibilidade fenotípica a outras (fenômeno da hipersuscetibilidade). Por exemplo, as mutações M184VI

e L74V, que estão associadas com resistência a Lamivudina e Didanosina, respectivamente, aumentam a suscetibilidade ao AZT. A mutação M184V causa diminuição da pirofosforólise induzida pelas TAM<sup>(126)</sup> e, embora haja reversão parcial da resistência fenotípica ao AZT relacionada às TAM, este efeito é limitado pelo surgimento de outras mutações.<sup>(127)</sup> A ocorrência da mutação M184VI na presença das TAM melhora o perfil de sensibilidade *in vitro* ao AZT, D4T e TDF, porém aumenta a resistência ao 3TC, ABC e DDI<sup>(128)</sup> (Figura 13).

Multiresistência aos NRTIs									
	M	E	D	K	V	L	T	K	
	<b>41</b>	44	<b>67</b>	<b>70</b>	118	<b>210</b>	<b>215</b>	<b>219</b>	
	L	D	N	R	I	W	Y	Q	
							F	E	
Zidovudina	M	E	D	K	V	L	T	K	
	<b>41</b>	44	<b>67</b>	<b>70</b>	118	<b>210</b>	<b>215</b>	<b>219</b>	
	L	D	N	R	I	W	Y	Q	
							F	E	
Stavudina	M	E	K	D	K	V	L	T	K
	<b>41</b>	44	<b>65</b>	<b>67</b>	<b>70</b>	118	<b>210</b>	<b>215</b>	<b>219</b>
	L	D	R	N	R	I	W	Y	Q
							F	E	
Didanosina			K		L				
		<b>65</b>		<b>74</b>					
		R		V					
Zalcitabina		K	T	L		M			
	<b>65</b>		69	<b>74</b>		<b>184</b>			
	R		D	V		V			
Abacavir		K		L	Y	M			
	<b>65</b>			<b>74</b>	<b>115</b>	<b>184</b>			
	R			V	F	V			
Lamivudina		K				M			
	<b>65</b>					<b>184</b>			
	R					V			
						I			
Emtricitabina		K				M			
	<b>65</b>					<b>184</b>			
	R					V			
						I			
Tenofovir		K							
	<b>65</b>								
	R								
Multiresistência aos NRTIs: Complexo inserção 69 (afeta todos os NRTIs atualmente aprovados pela US FDA)									
	M	A	▼	K		L	T	K	
	<b>41</b>	<b>62</b>	<b>69</b>	<b>70</b>		<b>210</b>	<b>215</b>	<b>219</b>	
	L	V	Inserção	R		W	Y	Q	
							F	E	
Multiresistência aos NRTIs: Complexo 151 (afeta todos os NRTIs atualmente aprovados pela US FDA, exceto o tenofovir)									
	A			V	F	F	Q		
	<b>62</b>			<b>75</b>	<b>77</b>	<b>116</b>	<b>151</b>		
	V			I	L	Y	M		

**Figura 13** – Mutações no gene da transcriptase reversa (RT) associadas à resistência a inibidores nucleosídeos da RT (ITRN).

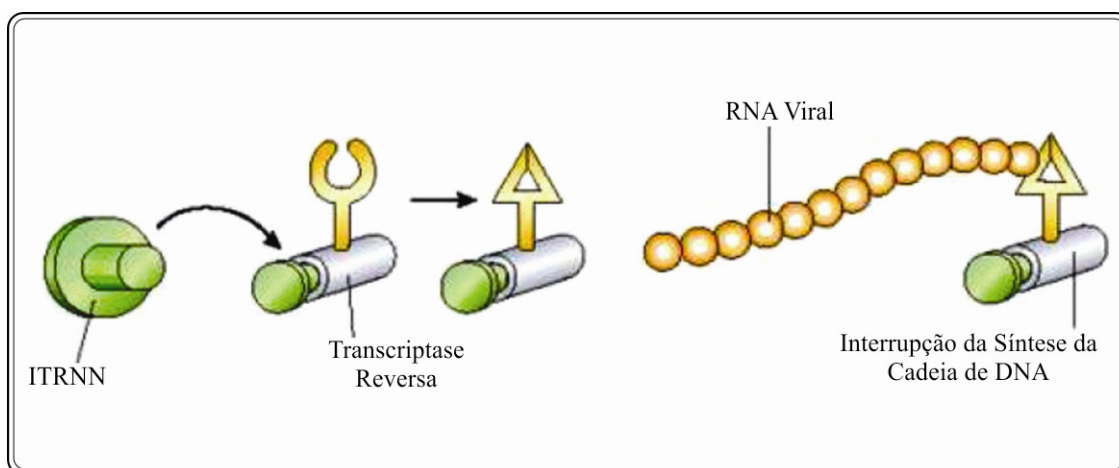
Fonte: Johnson<sup>(114)</sup>

[Na figura, as linhas verticais cor de rosa indicam TAM, a letra superior refere-se ao aminoácido *wild type*, a letra inferior ao aminoácido de substituição, a numeração em negrito a mutações primárias e a numeração restante a mutações secundárias.]



### 2.6.3.3 Resistência aos ITRNN

Os ITRNN são inibidores não competitivos da enzima TR e se ligam diretamente ao sítio ativo da enzima TR em uma região hidrofóbica próxima do local de ligação do substrato para os nucleosídeos. Os complexos resultantes bloqueiam o local de ativação e catalisação da TR, diminuindo a ligação a poucos nucleosídeos. Além disso, reduz drasticamente a polimerização, provocando a interrupção da síntese de DNA (Figura 14). Ao contrário dos ITRN, os ITRNN não requerem ativação intracelular.



**Figura 14** - Mecanismo de ação dos ITRNN.

Fonte: Adaptado de Richman.<sup>(105)</sup>

Em tratamentos que contêm os ITRNN (EFZ, NVP), a resistência viral emerge rapidamente se a replicação viral não for completamente suprimida. Apenas uma mutação é capaz de induzir alto grau de resistência a todas as drogas dessa classe, caracterizando sua baixa barreira genética.<sup>(77,102)</sup>

Dois padrões de multirresistência são descritos: o primeiro ocorre pela presença da mutação K103N na transcriptase reversa, a qual estabiliza o local de ação das drogas desta classe (cavidade hidrofóbica próxima ao sítio de ação da enzima TR),<sup>(129)</sup> impedindo o acoplamento e a inibição da enzima; o segundo ocorre pelo acúmulo de múltiplas mutações (L100I, V106A, Y181C, G190S/A e M230L). Outra mutação relacionada à multirresistência aos ITRNN é a V106M, que se relaciona mais à infecção pelo vírus subtipo C e ao uso do Efavirenz.<sup>(130)</sup>

Um fenômeno de hipersuscetibilidade cruzada, entre classes distintas de ARV, pode acontecer geralmente em pacientes sem experiência prévia com drogas dessa classe, quando ocorrem múltiplas mutações relacionadas aos ITRN na ausência de mutações específicas para os ITRNN.<sup>(131)</sup> Estão relacionados à presença de hipersuscetibilidade o uso prolongado de ITRN e a ocorrência de mutações associadas ao AZT e ao Abacavir que são: M184V, M41L, L210W e 215Y.<sup>(132)</sup> Esse fenômeno parece ter significado biológico e sua presença aumenta a probabilidade de boa resposta virológica em regimes de resgate contendo Efavirenz<sup>(133)</sup> (Figura 15).

		L	K	V	V		Y	Y	G	
Neviparina		<b>100</b>	<b>103</b>	<b>106</b>	<b>108</b>		<b>181</b>	<b>188</b>	<b>190</b>	
		I	N	A	I		C	C	A	
				M			I	L		
			K	V			Y	H		P
Delavirdina		<b>103</b>	<b>106</b>				<b>181</b>	<b>188</b>		<b>236</b>
			N	M			C	L		L
		L	K	V	V		Y	Y	G	P
Efavirenze		<b>100</b>	<b>103</b>	<b>106</b>	<b>108</b>		<b>181</b>	<b>188</b>	<b>190</b>	<b>225</b>
		I	N	M	I		C	L	S	H
							I	A		
Multiresistência aos NNRTIs (afecta todos os NNRTIs actualmente aprovados pela US FDA)										
			K	V			Y			
		<b>103</b>	<b>106</b>				<b>188</b>			
			N	M			L			
Multiresistência aos NNRTIs: Acumulação de mutações (afecta todos os NNRTIs actualmente aprovados pela US FDA)										
		L	V				Y	G		M
		<b>100</b>	<b>106</b>				<b>181</b>	<b>190</b>		<b>230</b>
		I	A				C	S		L
							I	A		

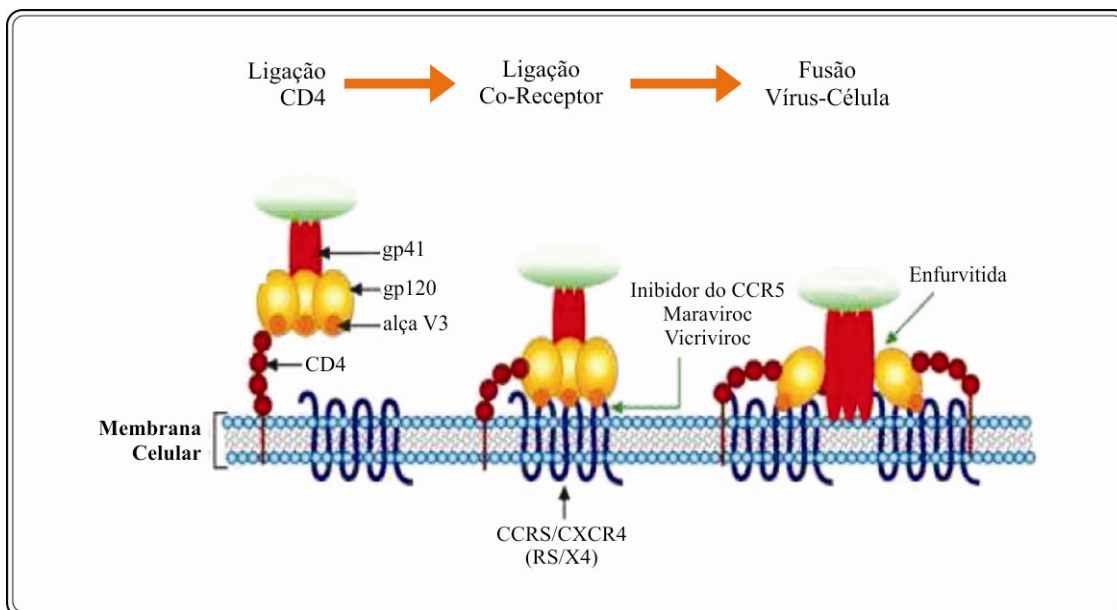
**Figura 15** – Mutações no gene da transcriptase reversa (RT) associadas à resistência a inibidores não nucleosídeos da RT (ITRNNs)

Fonte: Adaptado de Johnson.<sup>(114)</sup>

[Na figura, a letra superior refere-se ao aminoácido *wild type*, a letra inferior ao aminoácido de substituição, a numeração em negrito a mutações primárias e a numeração restante a mutações secundárias.]

#### 2.6.3.4 Resistência aos Inibidores de Fusão e de Entrada

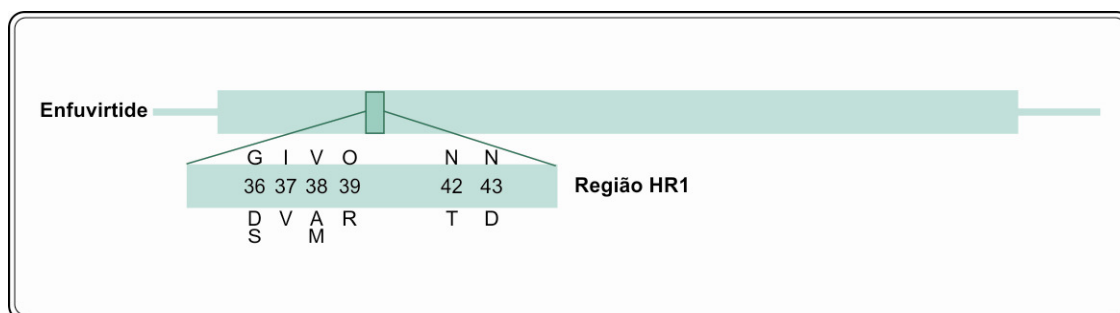
Os inibidores de entrada são moléculas que se ligam à superfície celular do LTCD4 ou na superfície viral, impedindo o acoplamento e a penetração do HIV-1 à célula hospedeira. A região conservada 4 da *gp120* viral (C4) liga-se à molécula de CD4 celular; a região hipervariável 3 da *gp120* (V3) liga-se aos correceptores do LTCD4, CCR5 ou CXCR4, que, uma vez ativados, modificam a região HR-1 e HR-2 da *gp41*, conectando-se ao receptor denominado glicosaminoglicano celular, conhecido como domínio de fusão<sup>(77)</sup> (Figura 16).



**Figura 16** - Mecanismo de ação dos IE

Fonte: Adaptado de Salvage Therapies.<sup>(134)</sup>

A princípio, não há resistência cruzada com as outras classes de ARV, posto que as mutações referentes a essas drogas são encontradas no gene *env* que codifica o envelope viral. O Enfuvirtide (ENF ou T20), que se liga ao complexo HR-1 da *gp41*, teve sua aplicabilidade clínica avaliada nos estudos TORO 1 e TORO 2). Observou-se baixa barreira genética quando o Enfuvirtide foi utilizada em esquemas de resgate que não continham outras drogas ativas.<sup>(69,135)</sup> Mutações na região HR-1 (entre os códons 36 e 45 do gen *env*), impedem a ligação da ENF em seu sítio de ação, tornando o vírus resistente. As mutações relacionadas à resistência à ENF são: G36DSVE, 37V, V38AEM, Q40H, N42T E N43D, 44M, 45M<sup>(77,102)</sup> (Figura 17).



**Figura 17** – Mutações no gene que codifica a gp41 associadas à resistência a inibidores de fusão

Fonte: Adaptado de Johnson.<sup>(114)</sup>

[Na figura, a letra superior refere-se ao aminoácido *wild type*, a letra inferior ao aminoácido de substituição.]

Num estudo<sup>(136)</sup> realizado recentemente, foram detectadas mutações naturais de resistência aos IE, bem como polimorfismos na região HR1 da gp41, em pacientes que nunca foram tratados com T20. Além disso, foram verificadas diferenças em estirpes de HIV-1 pertencentes a diferentes subtipos, quer na frequência das mutações/polimorfismos (maior frequência em subtipos não B), quer no padrão de substituições. Ainda é desconhecido de que maneira o *background* genético pode afetar a eficácia do tratamento com T20.<sup>(136)</sup>

A concentração de Enfuvirtide requerida para inibir a infecção celular pode ser afetada por fatores relacionados com o hospedeiro e o próprio vírus, como, por exemplo, a velocidade de fusão viral e o nível de expressão do correceptor CCR5 nas células alvo, que varia de indivíduo para indivíduo.<sup>(31)</sup>

A resistência a essas drogas pode ser aumentada por fatores que aumentem a velocidade de ligação e fusão, como o aumento da afinidade viral para correceptores ou uma elevada expressão desses;<sup>(31)</sup> a análise desses dados levanta a possibilidade de combinação de inibidores da entrada do vírus.

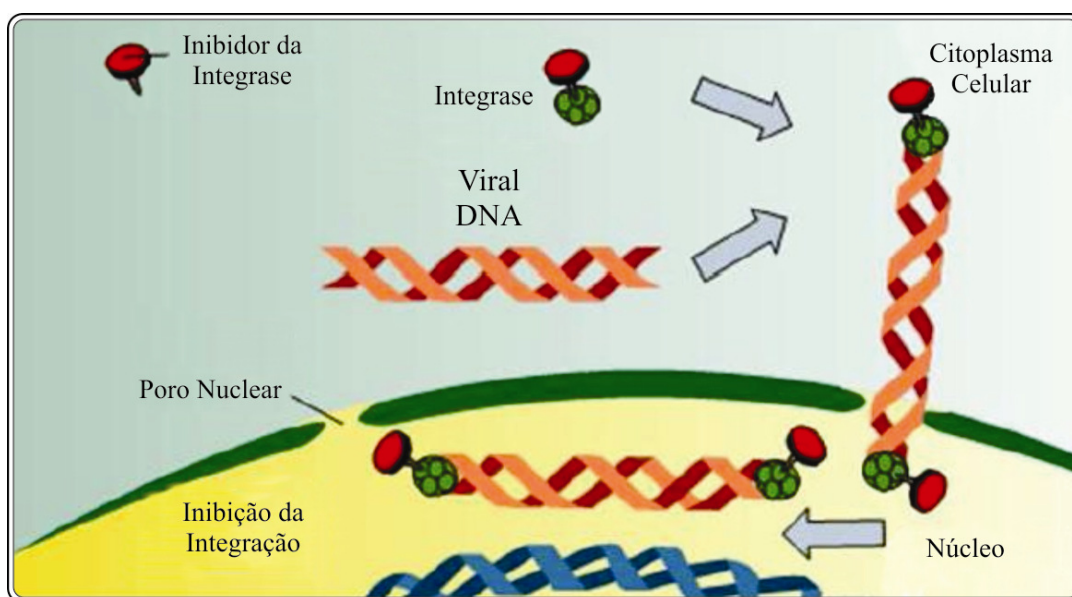
Por exemplo, uma vez que os inibidores dos correceptores reduzem o número de correceptores disponíveis para o vírus, aumentando, assim, a disponibilidade para os locais de ligação ao Enfuvirtide e diminuindo a cinética da fusão, é de se esperar que a combinação do uso de antagonistas dos correceptores com Enfuvirtide tenha um efeito sinérgico na inibição da entrada do vírus. Este efeito já foi observado *in vitro* em estudos com inibidores de CCR5.<sup>(31)</sup>

Uma nova classe de inibidores de entrada atua ao ligar-se ao coreceptor celular CCR5, impedindo sua ligação na *gp120* viral, mas apenas nos HIV-1 que têm tropismo por esse coreceptor, denominados vírus R5. Várias substituições na região do gene *env* que codifica a porção V3 da *gp120* (local específico de ligação ao CCR5) foram descritas e, possivelmente, associadas com resistência aos fármacos desta classe, Maraviroc e Vicriviroc. Todavia, as mutações observadas variaram entre os diferentes isolados virais e, assim, ainda não é possível identificar resistência para os antagonistas de CCR5 com base em mutações específicas no gene *env*. Ao que parece, alterações nas posições 11,13, 25 e 26 são as mais significativas para indução de resistência. Nos ensaios clínicos, a falha virológica tem sido frequentemente atribuída à emergência de vírus que se utilizam do coreceptor CXCR4 (vírus X4) e que seriam populações minoritárias quando iniciado o uso do inibidor de CCR5.<sup>(77)</sup> É importante ressaltar que os testes de tropismo disponíveis não são capazes de diferenciar os casos em que um mesmo vírus apresenta tropismo duplo, para CCR5 e CXCR4, daqueles em que há uma mistura de diferentes populações de vírus com tropismo R5 e outros X4. Nesse último caso, os

testes de tropismo não identificam populações minoritárias de vírus X4 quando correspondem a menos de cinco, ou 10% do total<sup>(137)</sup> Novos testes com melhor sensibilidade, capazes de detectar até 0,3% de vírus X4, já estão sendo avaliados.<sup>(138)</sup>

### 2.6.3.5 Resistência aos Inibidores de Integrase

Os inibidores de integrase constituem uma nova classe de ARV que atuam impedindo a ação desta enzima cuja função é o transporte do provírus do citoplasma ao núcleo e sua posterior integração ao genoma da célula hospedeira. Após a TR, ocorre a formação do complexo de pré-integração que envolve várias proteínas virais: a integrase, a proteína da matriz (p17), a TR e a proteína viral R (vpr). A Figura 18 detalha a ação da integrase na célula hospedeira.



**Figura 18** - Mecanismo de ação dos Inibidores da Integrase<sup>(139)</sup>

A mutações desta classe, assim como para os IP, são denominadas principais ou secundárias<sup>(77)</sup> As principais, que em geral surgem mais precocemente durante a falha terapêutica, alteram os resíduos da integrase onde, primariamente, ocorreria a ligação da droga. As secundárias, na presença de mutações principais, restabelecem parte da capacidade replicativa viral perdida e podem aumentar ainda mais a resistência.<sup>(140)</sup>

O representante da classe disponível para uso clínico é o Raltegravir e, originalmente, a falha terapêutica foi descrita a partir de duas vias mutacionais de acordo com a seleção das mutações principais Q148HKR ou N155H.<sup>(140,141)</sup> Atualmente, são as seguintes mutações relacionadas à resistência ao Raltegravir: 92Q, 121Y, 138AK, 140AS, 147G, 148HRK, 155HS, 157Q. Outras com menor impacto são: 183P, 226FH, 230R, 232N, (não-polimórficas) e 74M, 97A, 151I, 163R, 203M, 230N (polimórficas).<sup>(142)</sup>

## **2.7 Testes de Resistência Viral**

Nos últimos anos, os testes para avaliar a resistência do HIV-1 têm se popularizado na prática clínica. O histórico dos ARV utilizados e os padrões de resistência cruzada podem fundamentar uma decisão racional ao se prescrever um novo esquema terapêutico, mas não são suficientes para otimizar essa conduta. Existem duas formas de se testar a resistência viral: a genotipagem e a fenotipagem. A resistência fenotípica refere-se à capacidade replicativa do vírus em um meio de cultura na presença de antirretrovirais em diferentes concentrações, analogamente aos antibiogramas convencionais. A resistência



genotípica determina as mutações presentes nos genes do HIV-1, pertinentes aos alvos de ação das diversas classes de ARV. Indiretamente, pode-se prever o comportamento do vírus na presença dos ARV implicados.

Mais recentemente, foi disponibilizado o teste de “Fenotipagem Virtual” (Tibotec-Virco, Mechelen-Bélgica), sistema que prediz a resistência fenotípica através de um teste de genotipagem. Esse método utiliza-se de um banco de dados (com mais de 100 mil testes de genotipagem e fenotipagem pareados) que compara as genotipagem e fenotipagem de amostras virais. As mutações genotípicas em análise são comparadas com o banco de dados de amostras onde ambos os testes foram realizados, pressupondo qual seria o comportamento fenotípico da amostra em análise.<sup>(143)</sup> Diferentemente de outros algoritmos, esse não é de domínio público, o que restringe seu uso em larga escala.

### **2.7.1 Testes de fenotipagem para o HIV-1**

Os estudos fenotípicos do HIV-1 *in vitro* podem estabelecer a sensibilidade do vírus aos vários medicamentos. O teste correlaciona a concentração da droga capaz de reduzir a replicação viral (IC50 e IC90) em, pelo menos, 50% ou 90%. Dessa forma, estima-se a diminuição da sensibilidade em relação ao vírus selvagem.

Tradicionalmente, o teste de fenotipagem era realizado utilizando-se cultura de vírus do paciente em células mononucleadas do sangue periférico (PBMC), avaliando sua capacidade de crescimento em diferentes

concentrações de drogas.<sup>(144)</sup> É um processo não automatizado, demorado e com alto custo para sua realização.

A possibilidade de medir a resistência fenotípica em larga escala foi possível utilizando-se vírus recombinantes.<sup>(145)</sup> Nesse método, o vírus do paciente é isolado e as regiões da TR e PR no gene *pol*, que contém os determinantes da resistência viral, são amplificadas através da reação em cadeia de polimerase (RT-PCR). Após essa etapa, a sequência amplificada é inserida em um vetor HIV-1 com deleção da PR e da TR. Com isso, elimina-se a etapa inicial de cultura do HIV-1 em PBMC. O vetor utiliza o correceptor CXCR4 presente nas células T, melhorando a reprodutibilidade e a rapidez do teste. Os testes de fenotipagem diferem quanto às suas metodologias, em especial na extensão do segmento amplificado do vírus em análise, dificultando a comparação entre eles.

Existem evidências de que ocorre resistência clínica significativa em diferentes níveis de concentração inibitória para as diferentes drogas.<sup>(146)</sup> Uma limitação prática do teste consiste em não ser possível extrapolar seu resultado, que se aplica a cada droga isoladamente, para um esquema de terapia combinada. Apesar de todas as dificuldades na padronização dos dados da fenotipagem, alguns estudos mostraram seu benefício, ainda que em curto prazo, na prática clínica.<sup>(147)</sup> O primeiro trabalho prospectivo, VIRA3001,<sup>(148)</sup> mostrou maior queda da carga viral quando a troca da TARV foi guiada por teste de resistência, em comparação com o cuidado padrão (uso de manuais e históricos terapêuticos dos pacientes). Um das limitações do estudo foi o seu tempo de seguimento de 16 semanas, não avaliando se os benefícios

permaneceram por mais tempo. Entretanto, estudo que comparou o exame de fenotipagem, genotipagem e cuidado padrão não mostrou benefícios da fenotipagem quando comparado ao cuidado padrão.<sup>(149)</sup>

### 2.7.2 Testes de genotipagem para o HIV-1

A genotipagem determina a sequência de nucleosídeos do gene da protease e da transcriptase reversa. Enquanto o teste de fenotipagem mede a suscetibilidade do vírus às drogas, o teste de genotipagem detecta as mutações que conferem resistência fenotípica. Inicialmente, procede-se à amplificação do material genético através da TR pela técnica de reação de cadeia da polimerase (RTPCR) ou amplifica-se o DNA proviral. Em geral, é necessária carga viral acima de 500 cópias/ml para realização do exame.<sup>(77)</sup>

As mutações são geralmente pontuais e modificam a estrutura de suas proteínas (TR e PR), diminuindo a eficácia dos antirretrovirais. Embora ocorram em uma frequência menor, as deleções, inserções e recombinações trazem grande impacto mutacional.

Como já exposto, as drogas utilizadas atualmente na TARV atuam inibindo a transcriptase reversa, a protease, a integrase ou inibindo a ligação viral à célula do hospedeiro. Apenas duas regiões do gene *pol*, TR e PR são analisadas no teste de genotipagem de uso comercial. Ainda não está disponível, na prática clínica, teste de genotipagem para detectar resistência aos inibidores de fusão (gene *env*), bem como aos inibidores de integrase (segmento p31 do gene *pol*).

### 2.7.3 Limitações dos Testes de Resistência Viral

Genotipagem e fenotipagem são exames que se complementam. Ambos têm vantagens e desvantagens e compartilham certas limitações, como mostra a Tabela 3. Os testes atuais são pouco sensíveis à presença de espécies minoritárias. Variantes resistentes não são detectadas até constituírem 20% da população de *quasispécies*. A genotipagem tem a vantagem de ser mais rápida, fácil e mais econômica em relação à fenotipagem.

**Tabela 3** - Vantagens e desvantagens dos testes de resistência viral: Genotipagem e Fenotipagem.

Vantagens	Desvantagens
<b>Genotipagem</b>	
Mais baratos que o teste de fenotipagem	Detectam resistência apenas nas quasispécies dominantes (>20% da população viral)
Resultados disponíveis em menor tempo	A experiência do técnico influencia o resultado
Bem padronizados com boa reprodutibilidade	Nem todas as mutações de resistência são conhecidas
Possibilidade de realizar fenotipagem virtual	Podem ser discordantes dos testes fenotípicos
Mais sensíveis para mutações emergentes (misturas)	Exige interpretação de um especialista
Preferidos em estudos comparativos para 1ª e 2ª falhas	Requer carga viral > 500 cópias/mL
<b>Fenotipagem</b>	
A interpretação é mais direta e familiar (como anti-biograma convencional)	Mais caros que Genotipagem
Avaliam o efeito total, inclusive as interações entre as mutações	Resultados demorados
Não exigem dados sobre correlatos genotípicos de resistência (bom para novos fármacos)	Os limiares (cut off's) não estão disponíveis para todos os medicamentos e não se leva sempre em conta o reforço com ritonavir
Boa reprodutibilidade	Detectam resistência a um único fármaco, não a associações
Melhores que genotipagem quando há muitas mutações	Detectam resistência apenas nas espécies dominantes (>20%)
Fornecem os níveis de fármacos necessários para tratar o vírus resistente	Exigem carga viral > 500-1000 cópias/mL

Fonte: Bartiett e Galiant.<sup>(150)</sup>

As dificuldades na interpretação do teste de resistência constituem um grande desafio para os profissionais da área de saúde. Os resultados dos testes de genotipagem são interpretados através de julgamentos individuais, consultando listas de mutações<sup>(77,102)</sup> ou banco de dados computadorizados, por meio de regras que classificam o vírus como “susceptível”, “baixo grau de resistência”, “resistência intermediária” e “alto grau de resistência”. A construção de algoritmos para a interpretação é um processo lento e difícil que requer atualização frequente e existem grandes variações entre os diferentes algoritmos.<sup>(151-154)</sup> As diferenças nos critérios de resistência dificultam a comparação entre os algoritmos e a interpretação de resistência através de algoritmos deve ser baseada em estudos que correlacionam a genotipagem basal à queda da carga viral.

O teste de genotipagem revela as mutações que conferem resistência aos ARV. Entretanto, mutações não encontradas não significam que determinados medicamentos funcionaram, ou seja, o valor preditivo negativo do teste é baixo. Isso ocorre porque, na ausência de pressão seletiva de drogas que o paciente utilizou no passado, algumas mutações ficam arquivadas em populações virais minoritárias, não detectadas na genotipagem.

#### **2.7.4 Estudos Clínicos para avaliar a eficácia dos testes de resistência viral e ensaios clínicos de novos ARV**

Diversos estudos retrospectivos, para avaliar a eficácia do uso de testes de genotipagem, mostraram que a presença de mutações virais é um dos fatores determinantes dos desfechos clínicos, juntamente com a história terapêutica, o grau de imunodeficiência e a carga viral na época da troca do esquema. O número de mutações encontradas na genotipagem é inversamente relacionado à queda da carga viral no regime terapêutico de resgate.<sup>(155)</sup> Em estudos retrospectivos que avaliaram o teste de resistência fenotípica, os resultados também foram favoráveis ao seu uso. A presença de sensibilidade fenotípica a duas ou mais drogas está relacionada a uma maior queda da carga viral.<sup>(156)</sup>

Historicamente, é possível identificar-se duas fases em relação ao uso dos testes de resistência nos ensaios clínicos. A primeira visava validar os testes de resistência na prática clínica com estudos desenhados para medir a eficácia do uso da genotipagem e fenotipagem no controle imunoviológico. A partir de 2002-2003, com a publicação dos estudos TORO 1 e 2, os testes de resistência tornaram-se ferramenta indispensável para os ensaios clínicos dos novos ARV.<sup>(69)</sup> Ao se testar uma nova droga em fase IIb ou III, em geral para pacientes experimentados em TARV, faz-se necessário definir, através dos exames de resistência, o melhor esquema antirretroviral de base a ser oferecido a cada um dos pacientes no estudo.

Percebe-se que, em todos os ensaios clínicos de novos ARV, os testes de resistência se revestem de dupla importância: avaliam o melhor esquema de base a ser utilizado e determinam as possíveis mutações associadas à falha terapêutica durante os estudos. Isso corrobora a indicação, já bem fundamentada, do uso da genotipagem para orientar os esquemas ARV de resgate na prática clínica.

### **2.7.5 Algoritmos para análise do genoma viral**

Os algoritmos consistem em listas padronizadas com as mutações ou alterações observadas no sequenciamento do genoma viral na população analisada e cuja presença é associada à redução da resposta do vírus diante das drogas antirretrovirais. A maior parte desses algoritmos contém regras de atribuição de um nível de resistência a uma droga com base em um padrão de mutações de amostra de vírus selvagem. Há diversos algoritmos para interpretação genotípica do HIV-1 que contêm diferentes regras, favorecendo interpretações diversas para a mesma sequência do genoma viral. O sistema mais comumente usado e publicamente disponível para interpretação de resistência genotípica inclui o sistema de banco de dados, denominado HIV-1DB, disponível pela *University Stanford*.<sup>(157)</sup> Outros sistemas são: o sistema da *Agence Nationale de Recherches sur le Sida (ANRS)*, o Sistema do *Rega Institute*, o *Antiretroscan (Italian Antiretroviral Resistance Coortes)*, e o *Geno2pheno* (Centro Nacional Alemão de Referência). Os sistemas privados mais utilizados são o *ViroSeq*, associado com o kit *Celera* de sequenciamento

da TR e PR do HIV-1, o sistema *TrueGene*, associado com o *kit Siemen* de sequenciamento da TR e PR do HIV-1, o sistema *VircoType*, desenvolvido pela Virco Laboratories e o sistema *GeneSeq*, desenvolvido pela *Monogram Biosciences*.<sup>(158)</sup>



**JUSTIFICATIVA**

---

### 3 JUSTIFICATIVA

A evolução da terapia antirretroviral proporcionou uma dramática alteração da história natural do HIV-1, por meio da redução significativa dos padrões de morbimortalidade relacionados à infecção.<sup>(159)</sup> Entretanto, relatos da literatura especializada tem sido frequentes a respeito do aumento da prevalência de vírus resistentes a uma ou mais drogas ARV em indivíduos virgens de tratamento.

Em indivíduos tratados, a progressão da resistência pode inviabilizar potenciais esquemas terapêuticos.<sup>(160)</sup> aumentando a chance de falha com consequências negativas ao paciente.<sup>(161)</sup> Dessa forma, a identificação de possíveis padrões genéticos na TR e PR do HIV-1, em uma população de indivíduos em diferentes estágios da infecção, pode gerar dados que auxiliem no entendimento da progressão da doença, principalmente durante o período de tratamento ARV. Em outras palavras, a evolução de determinados sítios poderia indicar o mecanismo de escape de pressões seletivas oriundas do tratamento ARV ou da resposta imune. Além disso, a caracterização do HIV-1 circulante, em termos de resistência e polimorfismos, pode gerar informações epidemiológicas úteis para uma melhor compreensão do padrão de infecção que tem se estabelecido no país.

#### 3.1 Hipótese

A heterogeneidade genética do HIV-1 e de frequentes polimorfismos resultam em uma intensa resistência viral às drogas.

## **OBJETIVOS**

---

## **4 OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo geral**

Avaliar o perfil de resistência do HIV-1 aos antirretrovirais nos pacientes com falha terapêutica em uma unidade de referência de AIDS no município de Catanduva, Noroeste paulista.

### **4.2 Objetivos específicos**

- a. Descrever a frequência de mutações do HIV-1 na população estudada;
- b. Delinear o arsenal terapêutico utilizado neste Serviço de Referência;
- c. Identificar o padrão de resistência às terapias antirretrovirais às quais os pacientes foram submetidos; comparando os resultados obtidos com as análises dos perfis mutacionais do HIV-1 para os ITRNs, ITRNNs e IP, utilizando o Algoritmo de *Stanford*.
- d. Correlacionar a prevalência das mutações de resistência e a terapia antiretroviral aplicada;

**METODOLOGIA**

---

## **5 METODOLOGIA**

### **5.1 Delineamento da pesquisa**

O presente estudo pode ser entendido como uma corte transversal, ao avaliar a prevalência das mutações em um período definido e historicamente avaliar o impacto do uso prévio de determinadas terapias antirretrovirais na prevalência das mutações e a evolução imunoviológica. O estudo foi realizado através dos exames de genotipagem solicitados entre janeiro de 2000 e dezembro de 2010 no Departamento de Moléstias Infecciosas do Hospital-Escola Emílio Carlos (Catanduva-SP). Para preservar a independência das observações, a unidade de análise escolhida para este estudo foi a primeira genotipagem realizada nos pacientes acompanhados. Todas as sequências do genoma viral (segmentos da TR e PR do gene *pol*) foram reanalisadas nos *sites* da RENAGENO (MS-Brasil) e *Stanford*, para avaliar a presença de mutações de resistência do HIV-1 através de banco de dados atualizado.

### **5.2 População de estudo**

A população alvo foi composta por 527 pacientes com AIDS, da macro-região, cadastrados no Departamento de Moléstias infecciosas do Hospital-Escola Emílio Carlos, localizado na cidade de Catanduva-SP, sob terapia antirretroviral, que apresentaram falha terapêutica e que realizaram

genotipagem, de acordo com o programa RENAGENO, no período de janeiro de 2000 a dezembro de 2010.

### **5.2.1 Critérios de inclusão**

- a) Presença de infecção pelo HIV-1 confirmada pela existência de dois testes de triagem reagentes e um confirmatório para detecção de anticorpos anti-HIV-1, de acordo com as normas do Ministério da Saúde – Brasil;
- b) Ocorrência de falha terapêutica, determinada pelo médico assistente e caracterizada por critérios do Grupo de Consenso de Tratamento Antirretroviral do Programa Nacional de DST/AIDS do Ministério da Saúde (PNDST/ AIDS) na ocasião da realização do exame de genotipagem;
- c) Primeiro exame de genotipagem do HIV-1 de cada paciente, realizado no período de janeiro de 2000 a dezembro de 2010, na microrregião de Catanduva;
- d) Presença de carga viral detectável, superior a 2000 ou 5000 cópias/ml, nos pacientes, na vigência de esquema terapêutico, conforme os critérios da RENAGENO por ocasião do exame.

### **5.2.2 Critérios de exclusão**

- a) Exames posteriores de genotipagem do HIV-1 (que não o primeiro) de um mesmo paciente;

- b) Exames de genotipagem tecnicamente inapropriados para análise por sequenciamento inadequado dos segmentos de interesse do gen *pol*, sem os esperados 1302K pares de base;
- c) Dados insuficientes ou de difícil identificação (ilegíveis) nos formulários (formulário A) de solicitação das genotipagens.

### **5.3 Fontes de Dados**

Foram utilizadas as seguintes fontes de dados:

- a) Formulário para solicitação de exame de genotipagem - Sistema de Controle de Exames de Genotipagem (SIGGENO) do Programa Nacional de DST/AIDS do Ministério da Saúde (PNDST/AIDS do MS) (Formulário A – Anexo 2);
- b) Formulário com os resultados da interpretação do algoritmo brasileiro;
- c) Prontuário clínico dos pacientes submetidos à genotipagem;
- d) Registro nominal dos pacientes submetidos à genotipagem na Instituição;
- e) Formulário com os resultados da interpretação do algoritmo *Stanford*.

### **5.4 Etapas para o levantamento de dados**

Obteve-se acesso a uma listagem nominal dos pacientes submetidos a exame de genotipagem, desde o início da implantação do programa, na Instituição. Esta lista, não informatizada, continha nome completo, número do



prontuário e ano de realização do exame. Procedeu-se à avaliação de 527 prontuários de pacientes que realizaram genotipagem no período do estudo.

Em uma segunda etapa, buscou-se analisar os formulários preenchidos com a solicitação de exame de genotipagem do SISGENO (Anexo 2) e os formulários com os resultados da genotipagem, de acordo com o Algoritmo Brasileiro. Embora o SISGENO tenha sido concebido como um sistema informatizado não teve acesso a esses dados em arquivo eletrônico. Procedeu-se, então, a avaliação manual e posterior digitação de todos os campos desses formulários, para os pacientes que preencheram os critérios de inclusão.

Posteriormente, revisou-se os prontuários médicos do serviço, com o intuito de completar e compatibilizar as informações contidas nos formulários de solicitação de exames e nos formulários com resultados dos testes de genotipagem.

### **5.5 Considerações éticas**

Os dados dos pacientes foram obtidos através de exames de genotipagem arquivados no Departamento de Moléstias Infecciosas do Hospital-Escola Emílio Carlos, localizado na cidade de Catanduva-SP. A população foi analisada como um grupo, e não houve identificação individual, o que garantiu o sigilo e a confidencialidade de todas as informações. Ressalta-se que muitos dos pacientes que realizaram o exame de genotipagem já haviam falecido por ocasião da coleta e análise dos dados para a pesquisa.

As informações obtidas através do exame de genotipagem têm aplicação por período limitado de tempo e nenhuma conduta diferente daquela já instituída pelo médico assistente, à época, poderia ser tomada hoje, a partir da revisão dos exames. Assim sendo, foi solicitada e consentida pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) - FIPA, a autorização para não utilização do Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE).

Esta pesquisa foi aprovada pelo CEP-FIPA, de acordo com as exigências das Resoluções do Conselho Nacional de Saúde nº196/96 e 251/97 da CONEP – registro de aprovação – parecer nº08/11 (Anexo 3).

### **5.6 Exame de genotipagem do HIV-1 e determinação do subtipo**

Para o exame de genotipagem do HIV-1, foi utilizado o sistema *ViroSeq™ Genotyping System* versão 2.0 (*Applied Biosystems*), que inclui os módulos de extração de RNA viral plasmático, reação de transcrição reversa, amplificação por PCR do gene *pol* (protease e transcriptase reversa) e reação de sequenciamento automático do produto amplificado. Todas as etapas foram realizadas conforme protocolo específico do fabricante. O módulo de sequenciamento utiliza *Dye Terminator Chemistry*, ou seja, marcação fluorescente da extremidade 3' do nucleotídeo de terminação com fluorocromos específicos para cada base. O analisador genético ABI PRISM® 3100, faz a resolução eletroforética das amostras e gera um cromatograma para cada sequência. O programa de computador gera não somente a montagem, mas também analisa os polimorfismos genéticos encontrados,

baseado na comparação com a sequência prototípica de um isolado de HIV-1 do tipo B, sabidamente sensível aos antirretrovirais (isolado HXB2).

As sequências dos genes da TR e PR são traduzidas, alinhadas com a cepa MN e as mutações relacionadas à resistência aos ITRN, ITRNN e IP são identificadas a partir da reanálise de seus arquivos em extensões do tipo *fasta* e *gt* no *site* da RENAGENO (<http://algoritmo.aids.gov.br/resistencia.html>), o que também permite a identificação do subtipo viral do HIV-1. A determinação do subtipo viral por esse método dá-se através da similaridade, ou seja, a sequência submetida à análise é comparada com sequências de referência de subtipos do grupo principal do HIV-1 (grupo-M). Entre as sequências de referência, a que mais se aproximar da sequência viral em análise determinará o subtipo do HIV-1 em questão.

O algoritmo da *Stanford University* utiliza cinco níveis de resistência/sensibilidade para avaliar o impacto das mutações sobre cada ARV: “sensível”, “potencial baixo grau de resistência”, “baixo grau de resistência”, “resistência intermediária” e “alto grau de resistência”. Para fins de comparação ao sistema utilizado pela RENAGENO, foi realizada uma adequação do perfil de resistência apresentado por esse algoritmo. Este foi realizado agrupando-se as duas primeiras categorias em “sensível”, a terceira e a quarta ao perfil de “moderada” e a última ao perfil “resistente”, conforme já utilizado por outros autores, como no estudo de prevalência de resistência ao HIV-1 na França.<sup>(154)</sup>

## 5.7 Definições de variáveis para análise

Com o objetivo de realizar algumas análises específicas, fez-se necessária a criação de novas variáveis a partir do banco de dados original, assim como a definição de alguns conceitos que serão expostos nesta seção.

As mutações de resistência consideradas para análise, bem como sua classificação em maiores ou menores para os ITRNN, e principais ou secundárias para os IP, foram baseadas no painel recomendado pela *International AIDS Society (IAS)*, em 2008, para mutações adquiridas com uso de TARV<sup>(77)</sup> e publicações adicionais relevantes.<sup>(102)</sup>

A fim de se obter o número total de ARV utilizado pelos pacientes, individualmente, cada ARV foi considerado uma única vez, ou seja, mesmo que tenha sido observado seu uso em vários esquemas, ele foi contabilizado como apenas um ARV. Os IP que foram utilizados com e sem ritonavir (em dose potencializadora) em esquemas diferentes (SQV, IDV, ATV, APV, FPV) também foram considerados como uma droga apenas para a soma final.

A análise do perfil de resistência antirretroviral a toda uma classe de drogas foi definida pela ausência de sensibilidade total a pelo menos uma droga na classe, (baseado no algoritmo da RENAGENO); a multirresistência aos ARV foi definida pela ausência de sensibilidade às três classes de ARV concomitantemente. Tais definições basearam-se em conceitos já utilizados por outros autores.<sup>(154)</sup>

Foram feitas análises univariadas e de prevalência com algumas vias mutacionais, definidas a partir de dados revistos na literatura,<sup>(102)</sup> apresentadas a seguir:

**TAM 1 (Via 1 das mutações aos análogos de timidínicos):** a sequência viral deveria apresentar uma ou mais das seguintes mutações: 41L, 210W e 215Y e não poderia ter nenhuma das seguintes: 67N, 70R, 215F ou 219QE, pertencentes à via TAM 2.

**TAM 2 (Via 2 das mutações aos análogos de timidínicos):** a sequênciaviral deveria apresentar uma ou mais das seguintes mutações: 67N, 70R, 215F e 219QE, e não poderia ter nenhuma das seguintes: 41L, 210W e 215Y, pertencentes à via TAM 1.

**TAM 1+2:** a sequência viral deveria apresentar mutações das duas vias, TAM 1 e TAM 2, na mesma sequência da TR, ou seja, o vírus deveria conter TAM sem preencher os critérios para vias exclusivas TAM 1 ou TAM 2, ou ainda, “caminhar” pelas duas vias mutacionais.

**NAM: (Mutações associadas aos análogos de Nucleosídeos):** sequências analisadas da TR que apresentavam mutações deresistência aos ITRN sem, todavia, apresentarem TAM de qualquer uma das vias.

Ressalta-se que, muitos pacientes que apresentavam as TAM já definidas, também continham NAM, as quais não foram contabilizadas no grupo da TAM.

## **RESULTADOS**

---

## 6 RESULTADOS

A fim de atingir os objetivos citados, os resultados foram divididos em três partes. Na primeira, uma análise descritiva dos dados foi realizada, incluindo medidas de posição e dispersão, e os dados foram apresentados em tabelas e gráficos de frequência, bem como em tabelas com o cruzamento de informações necessárias. Para a verificação do relacionamento entre variáveis quantitativas e qualitativas, foi feito o teste não-paramétrico de Mann Whitney; já a relação entre variáveis quantitativas foi analisada por meio de correlações de Pearson.

Na segunda parte dos resultados, foram construídas tabelas, subdivididas pelo tipo de tratamento (ITRN, ITRNN e IP), com as mutações encontradas no banco de dados relacionadas a cada tipo de medicamento.

A terceira parte consiste em tabelas que mostram a quantidade de pacientes e seus esquemas de tratamentos, assim como a média da quantidade de mutações observada em cada esquema. Para melhor visualização, todos os resultados foram também apresentados na forma de gráficos.

O banco de dados utilizado para as análises foi composto por informações relativas aos prontuários e exames dos 527 pacientes portadores do vírus HIV-1 atendidos entre 2000 e 2010 pelo Departamento de Moléstias Infecciosas do Hospital-Escola Emílio Carlos (Catanduva-SP).

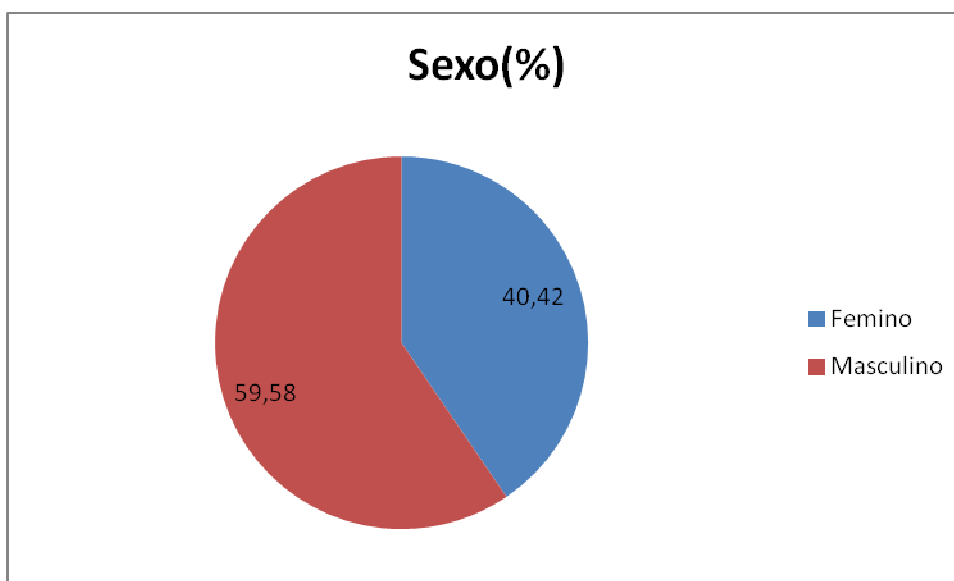
## 6.1 Parte I

A princípio, foi feita uma análise descritiva para as variáveis de prontuário uma a uma. Na Tabela 4 e Figura 19, observa-se que a maioria dos pacientes é do sexo masculino (59,58%). Já na Tabela 5 e Figura 20, pode-se observar que a faixa etária predominante é a de indivíduos entre 40-50 anos (44,36%), seguida dos que têm entre 50-60 anos (20,68%) e 30-40 anos (19,74%).

**Tabela 4** - Frequência absoluta e percentual por gênero dos pacientes analisados.

SEXO	N	%
Feminino	213	40,42
Masculino	314	59,58
Total geral	527	100,00

**Figura 19** - Frequência absoluta e percentual por gênero dos pacientes analisados.

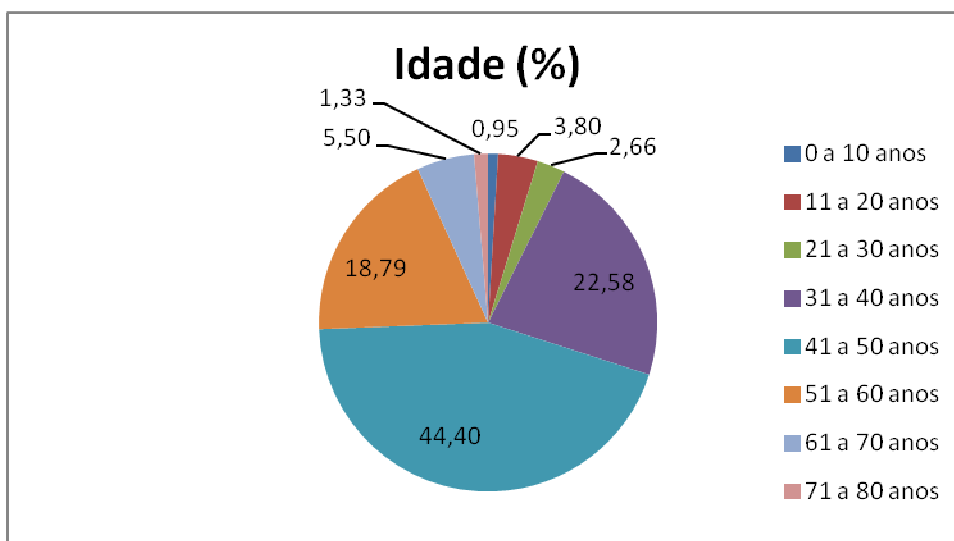




**Tabela 5** - Frequência absoluta e percentual por faixa etária dos pacientes analisados.

idade	N	%
0 a 10 anos	5	0,95
11 a 20 anos	20	3,80
21 a 30 anos	14	2,66
31 a 40 anos	119	22,58
41 a 50 anos	234	44,40
51 a 60 anos	99	18,79
61 a 70 anos	29	5,50
71 a 80 anos	7	1,33
Total geral	527	100

**Figura 20** - Frequência absoluta e percentual por faixa etária dos pacientes analisados.



Avaliando o valor p do teste não-paramétrico de Mann Whitney, o qual testa a igualdade entre as médias nos diferentes gêneros, percebe-se que ambos estão acima do nível de significância de 0,05, aceitando-se, então, a hipótese de que as médias sejam iguais. Dessa forma, pode-se dizer que não há diferença na quantidade de mutações entre os sexos.

A análise do perfil por faixa etária visa incentivar reflexões que possam resultar em estratégias preventivas que permitam minimizar os riscos de contaminação dos indivíduos em nossa região.

## 6.2 Parte II

Nossos estudos permitiram a análise do total de mutações encontradas nos genomas virais de pacientes submetidos as diferentes classes de inibidores utilizados na terapia antirretroviral Tabela 6.

**Tabela 6** - Frequência percentual de mutações presentes de acordo com o tipo de tratamento.

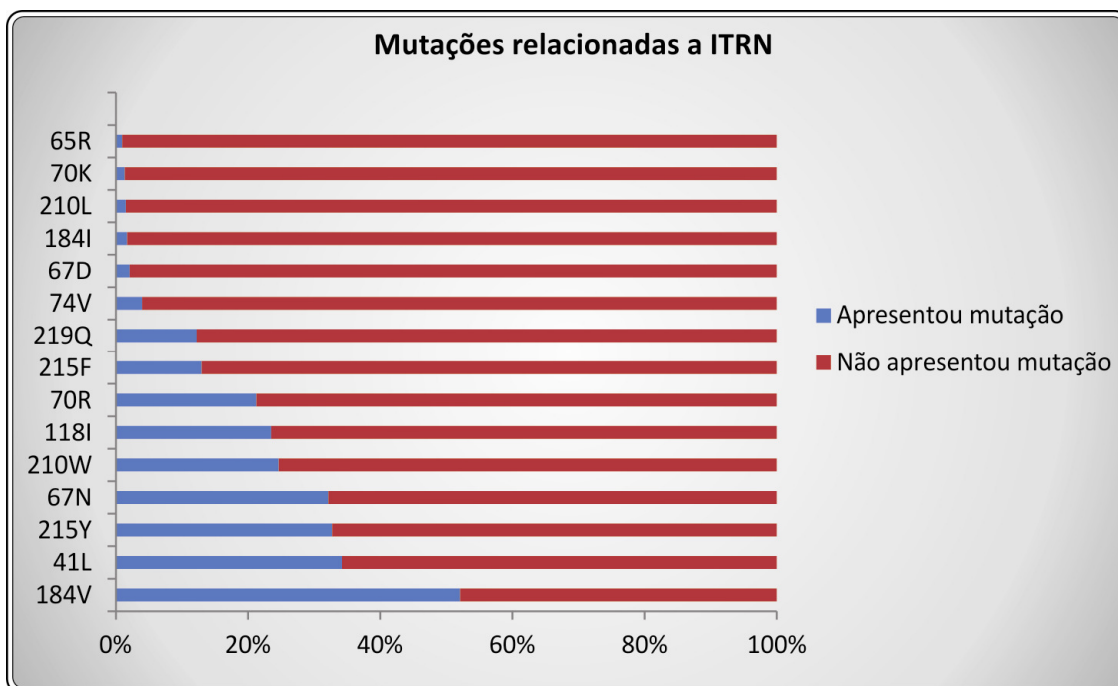
Presença ou ausência de mutação	ITRN		ITRNN		IP	
	N	%	N	%	N	%
NÃO	148	28,08	241	45,73	142	26,94
SIM	379	71,92	286	54,27	385	73,06
TOTAL	527	100	527	100	527	100

Nesta etapa do estudo, foram feitas tabelas subdivididas pelo tipo de tratamento (ITRN, ITRNN e IP) com as mutações encontradas no banco de dados, relacionadas a cada tipo de medicamento (Tabela 7).

**Tabela 7** - Frequência absoluta e percentual de genomas virais que apresentaram mutações ITRN e medicamentos afetados por elas.

Mutações (ITRN)	N	(%)	Medicamento
184V	277	52,07	3TC, ABC
41L	182	34,21	AZT,D4T
215Y	174	32,71	AZT, D4T
67N	171	32,14	AZT, D4T
210W	131	24,62	AZT,D4T
118I	125	23,50	AZT, D4T
70R	113	21,24	AZT, D4T
215F	69	12,97	AZT, D4T
219Q	65	12,22	AZT, D4T
74V	21	3,95	DDC
67D	11	2,07	AZT
184I	9	1,69	3TC
210L	8	1,50	AZT
70K	7	1,31	AZT
65R	5	0,94	3TC,D4T,TDF,DDC

**Figura 21** - Porcentagem de genomas virais que apresentaram ou não a mutação (ITRN).



Pela Tabela 7 e Figura 21, observa-se que a mutação encontrada associada aos ITRN com maior frequência é a 184V, observada em 277 pacientes, ou 52% do total analisado. A segunda mutação mais frequente, nesse caso, é a 41L, com 182 observações, correspondendo a 34% dos pacientes. A mutação menos frequente é a 65R, com cinco observações, encontrada em apenas 0,93% dos pacientes.

**Tabela 8** - Pacientes cujos genomas virais apresentaram mutação e medicamentos associados ao ITRN(\*).

MUTAÇÕES	MEDICAMENTOS						
	3TC	AZT	D4T	TDF	Biovir	ABC	DDC
184V	230*	100	59	77	26	2*	.
%	83,03	36,10	21,30	27,80	9,39	0,72	0,00
41L	133	54*	46*	51	16	3	.
%	73,08	29,67	25,27	28,02	8,79	1,65	0,00
215Y	129	53*	47*	46	14	2	.
%	74,14	30,46	27,01	26,44	8,05	1,15	0,00
67N	122	65*	37*	44	17	2	.
%	71,35	38,01	21,64	25,73	9,94	1,17	0,00
210W	92	40*	32*	37	12	2	.
%	70,23	30,53	24,43	28,24	9,16	1,53	0,00
118I	93	34*	30*	38	10	3	.
%	74,40	27,20	24,00	30,40	8,00	2,40	0,00
70R	83	55*	19*	26	10	1	.
%	73,45	48,67	16,81	23,01	8,85	0,88	0,00
215F	49	32*	10*	22	6	1	.
%	71,01	46,38	14,49	31,88	8,70	1,45	0,00
219Q	53	30*	12*	17	3	.	.
%	81,54	46,15	18,46	26,15	4,62	0,00	0,00
74V	13	.	7	8	1	.	*
%	61,90	0,00	33,33	38,10	4,76	0,00	0,00
67D	8	2*	3	4	2	.	.
%	72,73	18,18	27,27	36,36	18,18	0,00	0,00
184I	9*	3	3	2	.	.	.
%	100,00	33,33	33,33	22,22	0,00	0,00	0,00
210L	6	2*	3	2	.	.	.
%	75,00	25,00	37,50	25,00	0,00	0,00	0,00
70K	6	1*	1	4	1	.	.
%	85,71	14,29	14,29	57,14	14,29	0,00	0,00
65R	3*	*	1*	5	.	.	*
%	60,00	0,00	20,00	100,00	0,00	0,00	0,00

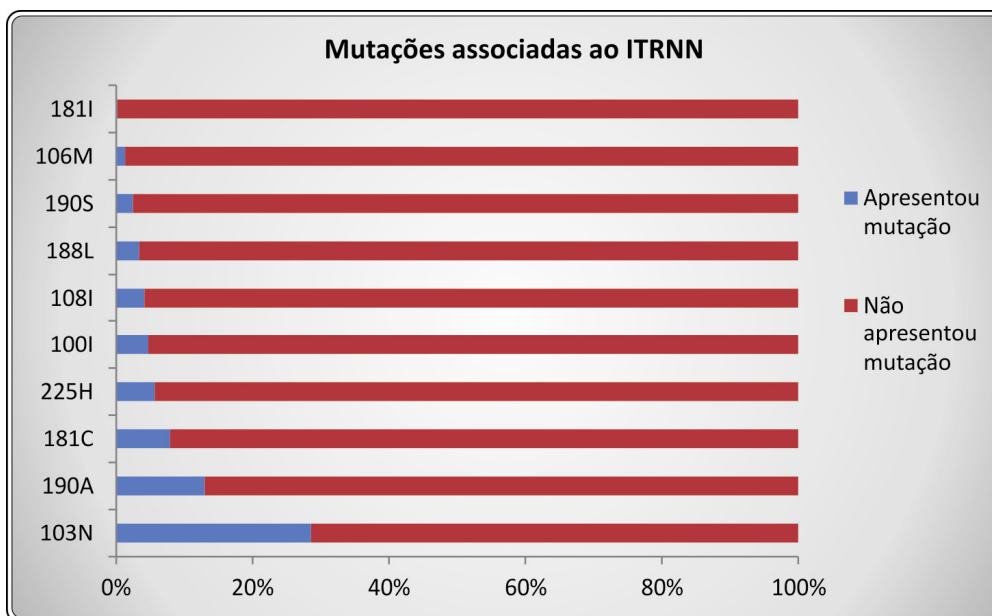
Na Tabela 8, podemos avaliar a quantidade de indivíduos que, tendo alguma mutação, faziam uso de cada medicamento. Observa-se que 83% dos indivíduos que tiveram a mutação 184V tomavam o medicamento 3TC e 36,1% tomavam AZT, apesar de tal medicamento não estar associado a esta mutação.

Para as mutações associadas aos ITRNN, nota-se que a 103N foi a mais frequente, observada em 152 pacientes (28,57%). A segunda mais frequente foi a mutação 190A, com 69 pacientes (12,97%). A mutação observada menos frequente é a 181I, com apenas um paciente (Tabela 9 e Figura 22).

**Tabela 9** - Frequência absoluta e percentual de pacientes que apresentaram mutações ITRNN e medicamentos afetados.

<b>Mutações (ITRNN)</b>	<b>N</b>	<b>(%)</b>	<b>MEDICAMENTO</b>
103N	152	28,57	EFZ,NVP
190A	69	12,97	EFZ,NVP
181C	42	7,89	EFZ,NVP
225H	30	5,64	EFZ
100I	25	4,70	NVP
108I	22	4,14	EFZ,NVP
188L	18	3,38	EFZ,NVP
190S	13	2,44	EFZ
106M	7	1,32	EFZ,NVP
181I	1	0,19	NVP

**Figura 22** - Porcentagem de pacientes que apresentaram ou não a mutação (ITRNN).



Nota-se, na Tabela 10, que, dos pacientes que tiveram mutações associadas aos ITRNN, a maioria estava submetida ao tratamento com EFZ. Para a mutação 103N, temos que 55,92% estavam submetidos ao tratamento com EFZ e 9,21% estavam submetidas ao tratamento NVP.

**Tabela 10** - Pacientes que apresentaram mutação e medicamentos associados ITRNN (\*).

<b>Medicamentos</b>		
<b>Mutações</b>	<b>EFZ</b>	<b>NVP</b>
<b>103N</b>	85*	14*
<b>%</b>	55,92	9,21
<b>190A</b>	19*	14*
<b>%</b>	27,54	20,29
<b>181C</b>	14*	7*
<b>%</b>	33,33	16,67
<b>225H</b>	24*	1
<b>%</b>	80	3,33
<b>100I</b>	15	1*
<b>%</b>	60	4
<b>108I</b>	14*	2*
<b>%</b>	63,64	9,09
<b>188L</b>	10*	0*
<b>%</b>	55,56	0
<b>190S</b>	8*	1
<b>%</b>	61,54	7,69
<b>106M</b>	3*	0*
<b>%</b>	42,86	0
<b>181I</b>	0	0*
<b>%</b>	0	0

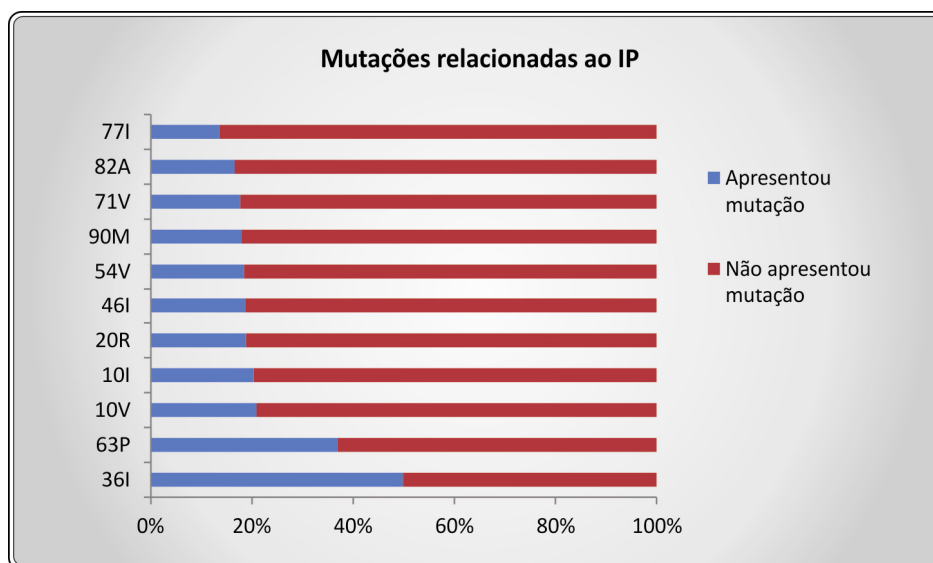
A Tabela 11 e o Figura 23 apresentam as mutações associadas aos IP. A mutação mais frequente foi a 36I, em 265 pacientes (49,81%). A segunda mais frequente foi a 63P, encontrada em 196 pacientes. As mutações menos frequentes foram 10R, 20L, 47A e 82L, encontradas em apenas um paciente para cada uma das mutações – as mesmas não foram apresentadas na Figura 5.

**Tabela 11** - Frequência absoluta e percentual de pacientes que apresentaram mutações IP e medicamentos afetados.

<b>Mutações (IP)</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>MEDICAMENTO</b>
36I	265	49,81	IDV, RTV, NFV, ATV
63P	196	36,84	LPVr
10V	111	20,86	IDV, RTV, SQV, FPV, LPVr, ATV, TIPRR
10I	108	20,30	IDV, RTV, SQV, NF V, FPV, LPVr, ATV, TIPRR
20R	100	18,80	IDV, RTV, LPVr, ATV
46I	99	18,61	IDV, RTV, NFV, FPV, LPVr, ATV, TIPRR
54V	98	18,42	IDV, RTV, SQV, FPV, LPVr, TIPRR
90M	95	17,86	IDV, RTV, ATV, LPVr, NFV, SQV, TIPRR, FPV, DRV
71V	94	17,67	IDV, RTV, NFV, SQV, LPVr, ATV
82A	88	16,54	IDV, RTV, SQV, NFV, LPVr, ATV, TIPRR
77I	72	13,53	IDV, RTV, SQV, NFV
33F	48	9,02	RTV, LPVr, ATV, TIPRR
30N	46	8,65	NFV
88D	44	8,27	NFV
71T	40	7,52	IDV, RTV, SQV, NFV, LPVr
53L	33	6,20	LPVr
73S	32	6,02	IDV, SQV, FPV, LPVr, ATV
46L	31	5,83	IDV, RTV, NFV, FPV, LPVr
24I	30	5,64	IDV, LPVr, ATV
50L	29	5,45	ATV
20I	27	5,08	ATV
84V	25	4,70	IDV, RTV, SQV, NF V, FPV, LPVr, ATV, TIPRR,
10F	21	3,95	RTV, NFV, LPVr, ATV
20M	19	3,57	IDV, LPVr, ATV, TIPRR
36L	19	3,57	ATV
47V	19	3,57	FPV, LPVr
88S	14	2,63	NFV, ATV
33I	13	2,44	ATV, TIPRR
36V	12	2,26	ATV
54L	12	2,26	RTV, FPV, LPVr, ATV
50V	10	1,88	LPVr
82T	10	1,88	IDV, RTV, NFV, LPVr, TIPRR
82F	8	1,50	RTV, NFV, LPVr, TIPRR
48V	7	1,32	ATV
82S	6	1,13	RTV, LPVr
73T	3	0,56	ATV
54T	2	0,38	LPVr
10R	1	0,19	RTV



**Figura 23 -** Porcentagem de pacientes que apresentaram ou não a mutação (IP)



**Tabela 12 -** Pacientes que apresentaram mutação e medicamentos associados IP, (\*) medicamentos ingeridos.

Mutações	Medicamentos											Total
	LPVr	NFV	RTV	ATV	IDV	SQV	APVr	TIPRR	FPV(FPV)	DRV(DRV)		
36I	78	36	44	40	10	8	7	5	3	1	265	
%	29,66	13,69	16,73	15,21	3,8	3,04	2,66	1,9	1,14	0,38	-	
p-valor	<b>0,0029</b>	0,1284	0,5374	0,5214	<b>0,02</b>	0,7876	0,5547	<b>0,0244</b>	0,0818	0,3159	-	
63P	59	26	33	27	9	8	5	2	2	1	193	
%	30,57	13,47	17,1	13,99	4,66	4,15	2,59	1,04	1,04	0,52	-	
p-valor	<b>0,0083</b>	0,2073	0,5181	0,9038	0,2495	0,1729	0,7137	0,8748	0,2787	0,1879	-	
10V	37	16	19	14	8	5	2	3	0	1	109	
%	33,94	14,68	17,43	12,84	7,34	4,59	1,83	2,75	0	0,92	-	
p-valor	<b>0,007</b>	0,6439	0,5884	0,6415	0,6021	0,2197	0,7282	<b>0,0292</b>	0,3751	0,05	-	
10I	40	10	21	14	4	7	4	2	3	0	108	
%	37,04	9,26	19,44	12,96	3,7	6,48	3,7	1,85	2,78	0	-	
p-valor	<b>0,0004</b>	<b>0,0295</b>	0,2371	0,6722	0,2185	<b>0,0108</b>	0,265	0,2776	<b>0,0006</b>	0,6113	-	
20r	37	8	24	18	4	4	5	3	1	1	98	
%	37,76	8,16	24,49	18,37	4,08	4,08	5,1	3,06	1,02	1,02	-	
p-valor	<b>0,0005</b>	<b>0,0175</b>	<b>0,0085</b>	0,194	0,3235	0,415	<b>0,0377</b>	<b>0,0168</b>	0,5106	<b>0,0362</b>	-	
46I	52	9	19	15	7	4	6	2	1	1	98	
%	53,06	9,18	19,39	15,31	7,14	4,08	6,12	2,04	1,02	1,02	-	
p-valor	<b>0,0001</b>	<b>0,0383</b>	0,2731	0,7357	0,6899	0,415	<b>0,0047</b>	0,2165	0,5106	<b>0,0362</b>	-	
54v	55	9	18	7	6	8	5	4	1	1	97	
%	56,7	9,28	18,56	7,22	6,19	8,25	5,15	4,12	1,03	1,03	-	
p-valor	<b>0,0001</b>	<b>0,0423</b>	0,4008	<b>0,0286</b>	0,9726	<b>0,0004</b>	<b>0,0354</b>	<b>0,0004</b>	0,5035	<b>0,0351</b>	-	
90M	32	21	22	15	5	6	5	2	2	1	95	
%	33,68	22,11	23,16	15,79	5,26	6,32	5,26	2,11	2,11	1,05	-	
p-valor	<b>0,0158</b>	0,0803	<b>0,0286</b>	0,6312	0,6572	<b>0,0247</b>	<b>0,0312</b>	0,199	<b>0,028</b>	<b>0,0328</b>	-	
71v	34	12	23	16	7	4	6	3	1	1	92	
%	36,96	13,04	25	17,39	7,61	4,35	6,52	3,26	1,09	1,09	-	
p-valor	<b>0,0015</b>	0,3758	<b>0,0073</b>	0,3397	0,5573	0,3405	<b>0,0027</b>	<b>0,0118</b>	0,4676	<b>0,0295</b>	-	
82A	42	3	20	19	4	3	3	2	0	1	86	
%	48,84	3,49	23,26	22,09	4,65	3,49	3,49	2,33	0	1,16	-	
p-valor	<b>0,0001</b>	<b>0,0005</b>	<b>0,0367</b>	<b>0,0225</b>	0,5003	0,6955	0,4104	0,1499	0,443	<b>0,0234</b>	-	
77I	21	11	15	19	1	1	3	2	0	0	72	
%	29,17	15,28	20,83	26,39	1,39	1,39	4,17	2,78	0	0	-	
p-valor	0,2792	0,8326	0,2025	<b>0,0015</b>	0,0662	0,4235	0,2474	0,0849	0,4896	0,6905	-	

Na Tabela 12, notamos que, dos pacientes que apresentaram a mutação 36I, quase 30% foram submetidos ao tratamento com LPVr, apesar de este não estar associado a tal mutação. Aproximadamente 17% dos pacientes foram tratados com RTV, sendo tal medicamento associado à mutação 36I. Os p valores apresentados nessa tabela devem ser analisados considerando a hipótese nula: Existe independência entre a ocorrência da mutação e o medicamento ingerido. Se o p-valor for inferior a 0,05 (nível de significância) rejeitamos a hipótese nula, caso seja superior não rejeitamos a hipótese. Os casos em que rejeitamos a hipótese estão marcados em vermelho. Nesses casos, existe uma correlação entre o medicamento ingerido e a mutação.

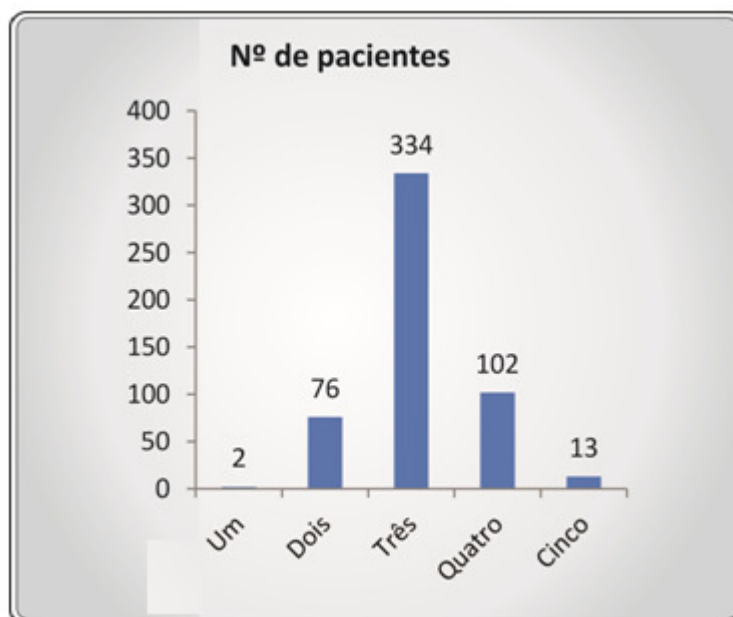
### **6.3 Parte III**

A partir da Tabela 13 e dos Figuras 24 e 25 (os quais não consideraram as mutações relacionadas a polimorfismos), observa-se que a maior parte dos pacientes (62,78%), foi submetida a um esquema de terapia com três medicamentos e a minoria dos pacientes (0,38%) a um esquema de apenas um medicamento. O esquema com cinco medicamentos apresentou o maior número médio de mutações encontrado e o esquema com um medicamento, o menor.

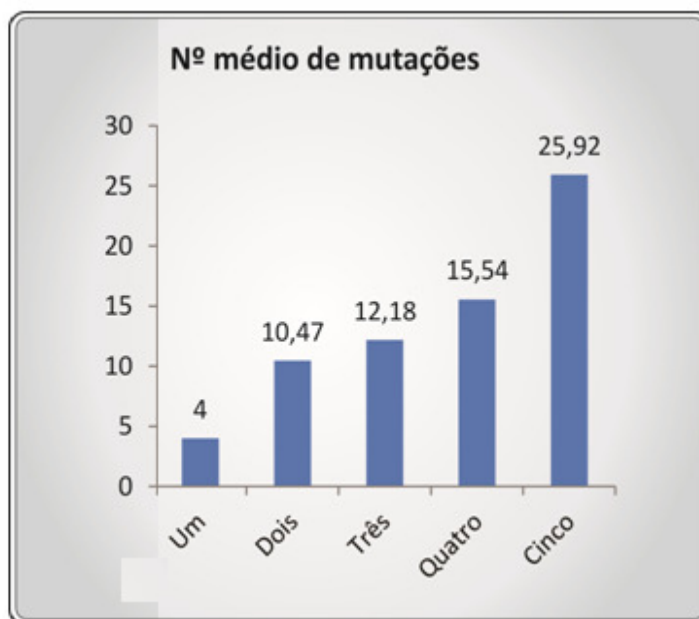
**Tabela 13** - Número e porcentagem de pacientes e número médio de mutações por número de drogas.

Número de terapias	Número de pacientes	(%)	Número médio mutações (DP)
1	2	0,38	4 (5,66)
2	76	14,29	10,47 (9,35)
3	334	62,78	12,18 (9,64)
4	102	19,17	15,54 (12,78)
5	13	2,44	25,92 (11,56)
Total	527	100,00	

**Figura 24** - Número de pacientes por esquema de tratamento.

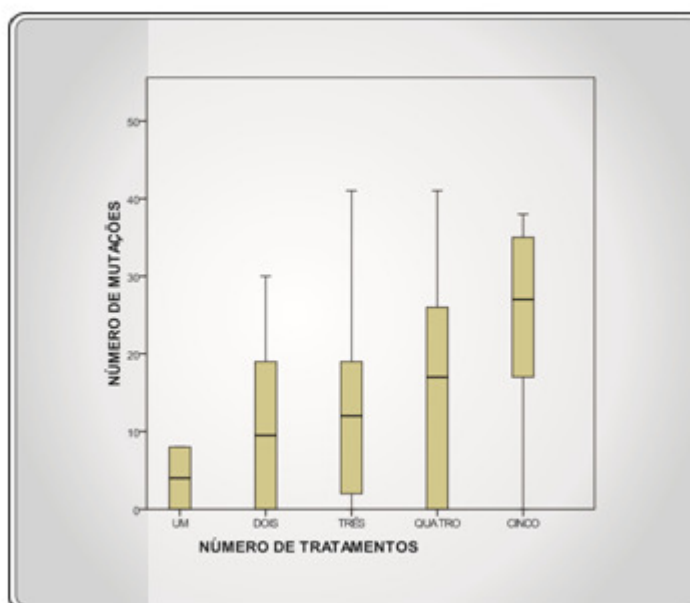


**Figura 25** - Número médio de mutações por esquema de tratamento.



No Figura 26, nota-se que, em todos os tratamentos, existem pacientes que não tiveram mutações. A maior quantidade de mutações foi encontrada nos esquemas de três e quatro medicamentos. Apesar de o maior desvio padrão ter sido encontrado para os pacientes que não tomaram nenhum medicamento, a maior variabilidade encontrada foi para os pacientes que tomaram quatro medicamentos, considerando o grande número de pacientes com tal esquema. (Tabela 14)

**Figura 26** - *Boxplot* de número de mutações por esquema de tratamento (não considerando os polimorfismos).



**Tabela 14** - Número de mutações por esquema de tratamento considerando os polimorfismos.

Número de terapias	Número de pacientes	(%)	Número médio mutações (DP)
1	2	0,38	4 (5,66)
2	76	14,29	13,69 (10,92)
3	334	62,78	15,43 (10,77)
4	102	19,17	18,34 (13,79)
5	13	2,44	29,23 (12,76)
Total	527	100,00	

Inserindo, na análise, as possíveis combinações de medicamentos, foram construídas a Tabela 15 e o Figura 27. Nota-se que as combinações mais prevalentes foram ITRN + IP (54,51%) e ITRN + ITRNN (30,08%). Com o objetivo de comparar esses valores com os esquemas terapêuticos, foram

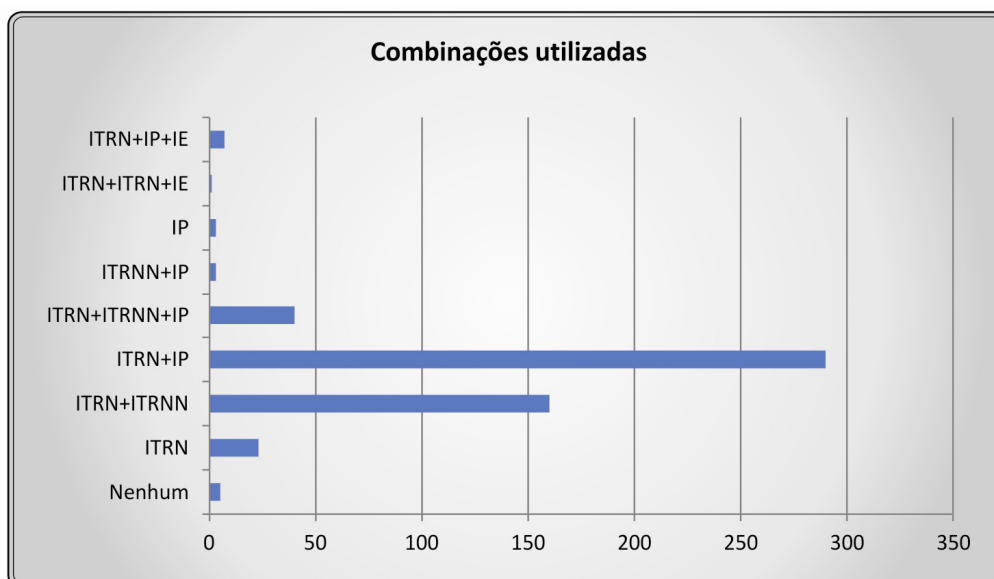
construídos a Tabela 16 e o Figura 28. A prevalência das combinações citadas se mantém quando observados os esquemas terapêuticos.

**Tabela 15** - Frequência dos esquemas de tratamento utilizados pelos pacientes avaliados.

Combinações	N	%
ITRN	23	4,36
ITRN+ITRNN	160	30,36
ITRN+IP	290	55,03
ITRN+ITRNN+IP	40	7,59
ITRNN+IP	3	0,57
IP	3	0,57
ITRN+ITRN+IE	1	0,19
ITRN+IP+IE	7	1,33
Total	527	100

IP- inibidores da protease viral; ITRN - inibidor da transcriptase reversa análogo de nucleosídeo; ITRNN - inibidor da transcriptase reversa não análogo de nucleosídeos; IE – inibidores de entrada

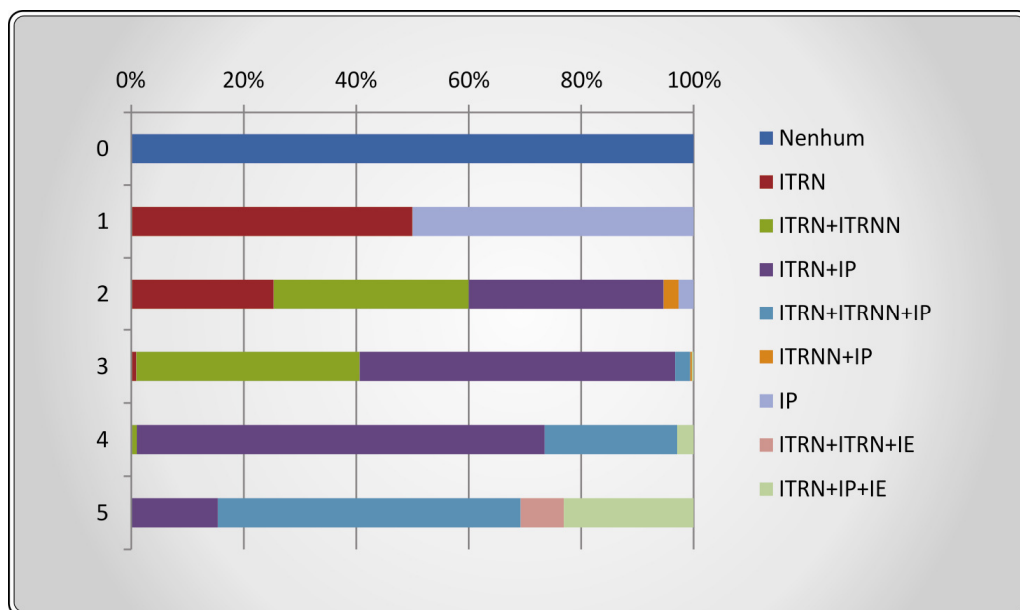
**Figura 27** - Frequência dos esquemas de tratamento utilizados pelos pacientes avaliados.



**Tabela 16** - Frequência de combinações por esquema terapêutico.

Combinações	Esquema terapêutico					Total
	1	2	3	4	5	
ITRN	1	19	3	0	0	23
ITRN+ITRNN	0	26	133	1	0	160
ITRN+IP	0	26	188	74	2	290
ITRN+ITRNN+IP	0	0	9	24	7	40
ITRNN+IP	0	2	1	0	0	3
IP	1	2	0	0	0	3
ITRN+ITRN+IE	0	0	0	0	1	1
ITRN+IP+IE	0	0	1	3	3	7
<b>Total</b>	<b>2</b>	<b>75</b>	<b>335</b>	<b>102</b>	<b>13</b>	<b>527</b>

IP- inibidores da protease viral; ITRN - inibidor da transcriptase reversa análogo de nucleosídeo; ITRNN - inibidor da transcriptase reversa não análogo de nucleosídeos; IE – inibidores de entrada

**Figura 28** - Combinações por esquema terapêutico.

#### **6.4 Análise descritiva para o tipo de sensibilidade**

Visando estabelecer uma correlação entre presença de mutações e medicamentos ingeridos, traçamos um perfil de todos os genomas virais encontrados na população atendida no centro de referência.

As Tabelas de 17 a 19 e os Figuras 29 a 31 apresentam as frequências absolutas e percentuais para cada um dos medicamentos por nível de resistência. Cada um aparece duas vezes na tabela: o nome acompanhado de asterisco (ex: LPV-r\*) refere-se à informação do banco de dados em geral e o nome sem asterisco (ex: LPV-r) é referente apenas aos genomas virais presentes em pacientes que ingeriram dado medicamento.

Iniciando a análise pela classe IP, percebeu-se que apenas os medicamentos LPV e IDV apresentaram um comportamento semelhante nas duas populações: em LPV e IDV, a maioria dos genomas virais apresentou resistência sensível ao medicamento, a minoria apresentou resistência ao LPV e, para IDV, a resistência é moderada. Em NFV, a minoria, nas duas populações, é de genomas com resistência moderada; já a maioria, é de resistentes para os genomas virais presentes em pacientes que ingeriram o remédio e sensível para os genomas em geral. Para ATV e SQV, a maioria, em ambas as populações, é sensível, a minoria é moderada entre os genomas presentes em pacientes que ingeriram os remédios e resistente entre os genomas em geral (Tabela 17 e Figura 29).



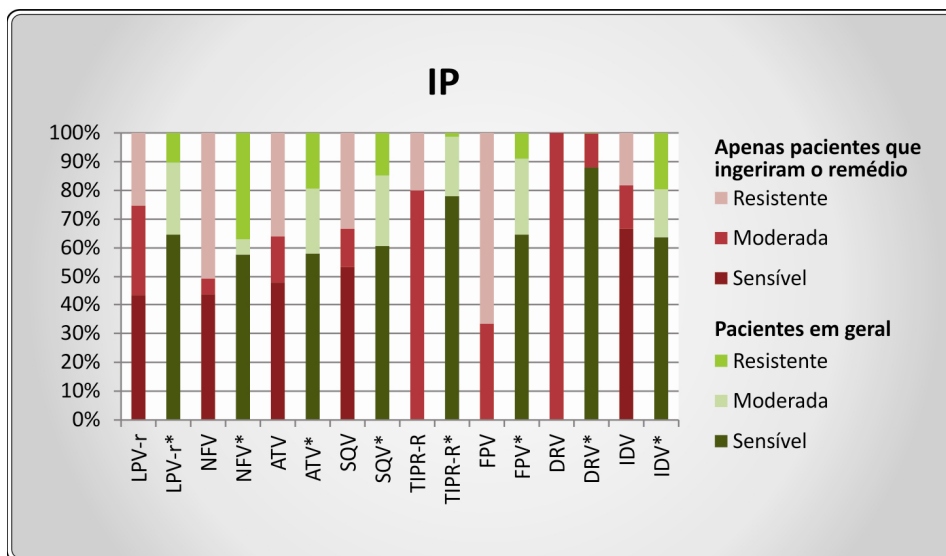
**Tabela 17** - Frequências absoluta e percentual de resistência por medicamento

– IP.

	<b>Moderada</b>	<b>Resistente</b>	<b>Sensível</b>	<b>Total</b>	p-valor
<b>LPV-r</b>	40	32	55	127	< ,0001
	31,5%	25,2%	43,3%	100,0%	
<b>LPV-r*</b>	131	55	341	527	
	24,9%	10,4%	64,7%	100,0%	
<b>NFV</b>	5	43	37	85	0,0133
	6,0%	51,0%	44,0%	100,0%	
<b>NFV*</b>	28	195	304	527	
	5,3%	37,0%	57,7%	100,0%	
<b>ATV</b>	12	27	36	75	0,0004
	16,0%	36,0%	48,0%	100,0%	
<b>ATV*</b>	119	102	306	527	
	22,6%	19,4%	58,1%	100,0%	
<b>SQV</b>	2	5	8	15	0,0979
	13,0%	33,0%	53,0%	99,0%	
<b>SQV*</b>	130	77	320	527	
	24,7%	14,6%	60,7%	100,0%	
<b>TIPR-R</b>	4	1	0	5	<,0001
	80,0%	20,0%	0,0%	100,0%	
<b>TIPR-R*</b>	108	7	412	527	
	20,5%	1,3%	78,2%	100,0%	
<b>FPV</b>	1	2	0	3	0,0015
	33,3%	66,7%	0,0%	100,0%	
<b>FPV*</b>	138	48	341	527	
	26,2%	9,1%	64,7%	100,0%	
<b>DRV</b>	1	0	0	1	0,0234
	100,0%	0,0%	0,0%	100,0%	
<b>DRV*</b>	62	1	464	527	
	11,8%	0,2%	88,0%	100,0%	
<b>IDV</b>	5	6	22	33	0,9349
	15,2%	18,2%	66,7%	100,0%	
<b>IDV*</b>	89	102	336	527	
	16,9%	19,4%	63,8%	100,0%	

Lopinavir/ritonavir (LPV-r); Nelfinavir (NFV); Atazanavir (ATV); Saquinavir (SQV); Tripanavir (TIPR-R); Fos-Amprenavir (FPV); Darunavir (DRV); Indinavir (IDV).

**Figura 29** - Frequência percentual de resistência por medicamento – IP.



Observando TIPR-R, as populações são bastante diferentes, já que a maioria dos pacientes que ingeriram o remédio é moderada e, em relação ao geral, a maior parte é sensível. Deve-se lembrar que apenas cinco pacientes ingeriram esse remédio, o que restringe a análise generalizada. Apenas três e um paciente ingeriram FPV e DRV, respectivamente; dessa forma, há pouca informação para avaliar as características de resistência dos pacientes que ingeriram tais remédios.

Em relação aos medicamentos da classe ITRN, a distribuição dos remédios 3TC, AZT, TDF e D4T foi semelhante quando comparadas as duas populações (a que ingeriu o remédio e a população geral). Em relação a 3TC, a minoria apresentou-se moderada e, a maioria, resistente. Em AZT, a minoria também foi moderada, já a maioria foi sensível. Para TDF e DDI, a maior parte se divide entre moderada e sensível, exceto para os pacientes que ingeriram

TDF, grupo no qual a resistência do genoma viral é, em sua maioria, moderada (Tabela 18 e Figura 30).

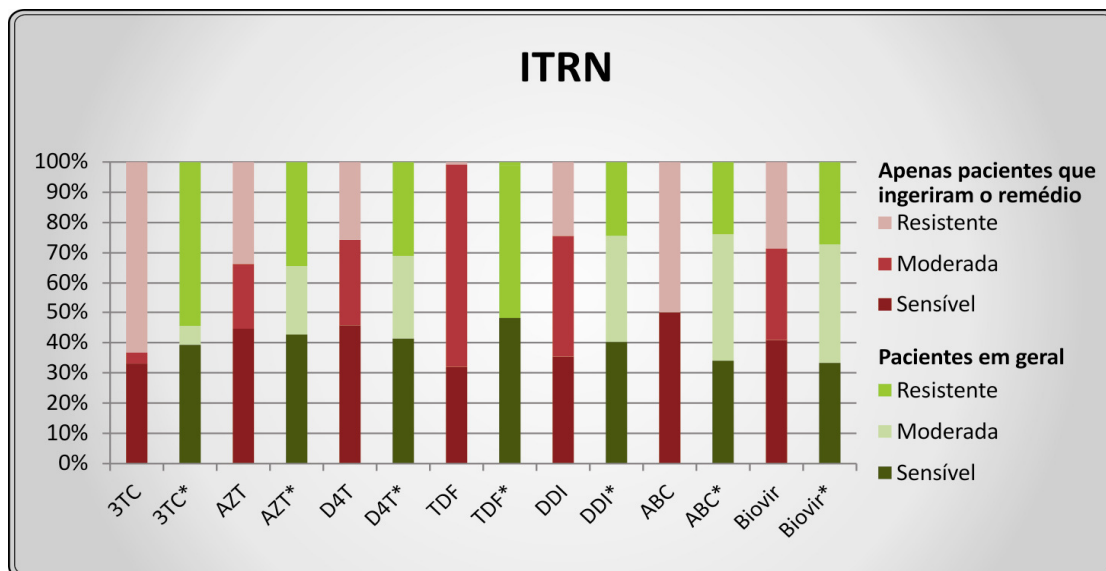
Analisando-se D4T, ambas as populações apresentaram maior porcentagem de pacientes sensíveis e os menores percentuais ficaram equilibradas entre moderada e resistente. Para Biovir, as frequências estiveram equilibradas entre as três categorias de resistência. Apenas seis indivíduos ingeriram ABC, dos quais três mostraram-se resistentes e três sensíveis.

**Tabela 18** - Frequências absoluta e percentual de resistência por medicamento - ITRN.

ITRN	Moderada	Resistente	Sensível	Total	p-valor
3TC	14	243	127	384	
	0,036458333	0,6328125	0,330729		
3TC*	33	287	207	527	
	0,062618596	0,54459203	0,392789		<,0001
AZT	42	65	86	193	
	0,21761658	0,336787565	0,445596		
AZT*	122	181	224	527	
	0,231499051	0,34345351	0,425047		0,7425
D4T	40	36	64	140	
	0,285714286	0,257142857	0,457143		
D4T*	146	164	217	527	
	0,277039848	0,311195446	0,411765		0,2472
TDF	80	1	38	119	
	0,672268908	0,008403361	0,319328		
TDF*	268	6	253	527	
	0,508538899	0,011385199	0,480076		0,0003
DDI	33	20	29	82	
	0,402439024	0,243902439	0,353659		
DDI*	188	128	211	527	
	0,356736243	0,24288425	0,40038		0,5774
ABC	0	3	3	6	
	0	0,5	0,5		
ABC*	223	125	179	527	
	0,423149905	0,237191651	0,339658		0,091
BIOVIR	15	14	20	49	
	0,306122449	0,285714286	0,408163		
BIOVIR*	209	143	175	527	
	0,39658444	0,271347249	0,332068		0,3503

Lamivudina (3TC); Zidovudina (AZT); Estavudina (D4T); Tenofovir (TDF); Didanosina(DDI); Abacavir (ABC); Biovir (Lamivudina + Zidovudina).

**Figura 30** - Frequência percentual de resistência por medicamento – ITRN.



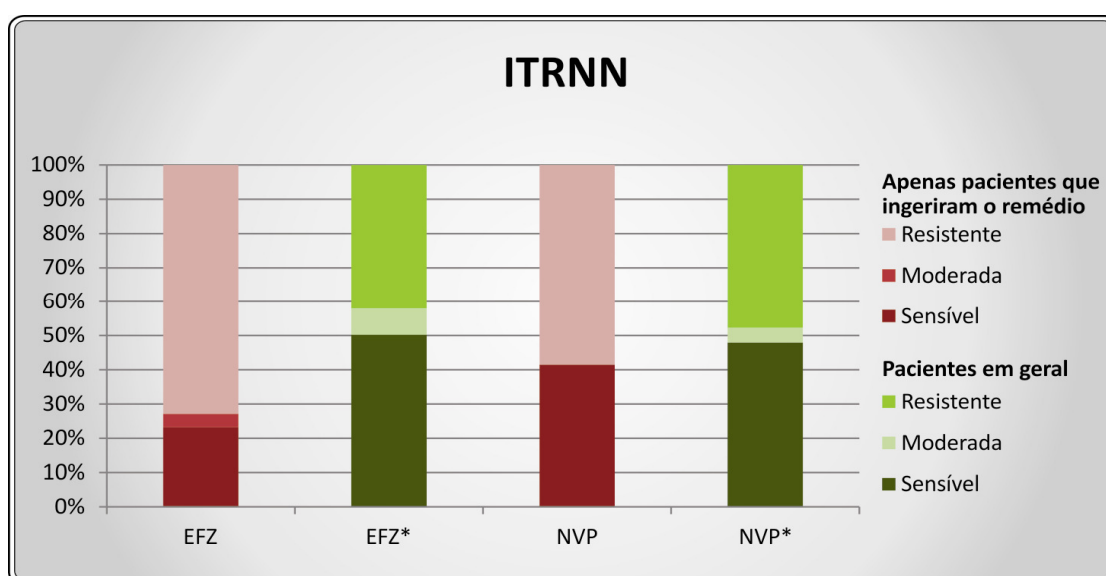
Por fim, da classe de remédios ITRNN, o EFZ apresentou maioria de pacientes com genoma viral resistente quando avaliados apenas os que ingeriram o medicamento. Essa maioria dividiu-se entre sensível e resistente quando avaliada a população em geral. Para NVP, nenhum dos pacientes que ingeriu o medicamento se apresentou moderado, sendo a maioria resistente. Já na população em geral, a maioria dividiu-se igualmente entre resistente e sensível (Tabela 19 e Figura 31).

**Tabela 19** - Frequências absoluta e percentual de resistência por medicamento – ITRNN.

ITRNN	Moderada	Resistente	Sensível	Total	p-valor
<b>EFZ</b>	6	110	35	151	
	0,0397351	0,7284768	0,231788		
<b>EFZ*</b>	41	222	264	527	<,0001
	0,0777989				
<b>NVP</b>	0	31	22	53	
	0	0,5849057	0,415094		
<b>NVP*</b>	23	252	252	527	0,1072
	0,0436433	0,4781784	0,478178		

Efavirenz (EFZ) e Nevirapina (NVP)

**Figura 31** - Frequência percentual de resistência por medicamento.



### 6.4.1 Análise de correspondências múltiplas

Em estudos análogos à presente pesquisa, na qual se deseja avaliar a correlação entre variáveis categóricas, a análise de correspondências é uma alternativa bastante utilizada. Isso se justifica porque tal análise permite observar, conjuntamente, toda a informação contida em uma tabela de contingência, representando graficamente a estrutura de correlações, resultados esses que não seriam possíveis caso fosse feita análises de variáveis duas a duas. Quando apenas duas variáveis são estudadas, denominamos a análise “Análise de Correspondências Simples” e, quando um número maior de variáveis é considerado, denominamo-la “Análise de Correspondências Múltiplas” (ACM).

Entende-se por tabelas de contingência, aquela que cruza as categorias de duas variáveis, contendo em cada casela o número de indivíduos que apresenta as categorias cruzadas. A ACM tem seus resultados baseados em uma única tabela, chamada de Tabela de Burt, a qual é simétrica ( $k \times k$ ) e justapõe o conjunto das tabelas de contingências que poderiam ser construídas cruzando duas a duas as  $p$  características observadas. Sendo  $k$ , o número total de categorias, tal tabela resume a informação de todas as tabelas de contingência possíveis [1,2]. Além da Tabela de Burt, uma forma alternativa de análise seria utilizar a tabela lógica, porém essa forma de análise não será utilizada nesse trabalho, então não será apresentada a fundo.

Ao submeter a tabela de Burt à ACM, obtém-se um conjunto de  $m$  eixos que organizam de forma hierarquizada toda a informação contida no

questionário, ou seja, a quantidade de informação concentrada decresce do primeiro ao último fator.

Como a informação decresce da primeira à última dimensão, os primeiros eixos (dimensões) são de grande utilidade na representação das categorias, o que faz com que a análise gráfica de tais eixos seja muito informativa. A observação gráfica deve ser feita da seguinte maneira: cada ponto é relativo a uma categoria de determinada questão, as categorias próximas no gráfico são mais correlacionadas do que as categorias mais distantes.

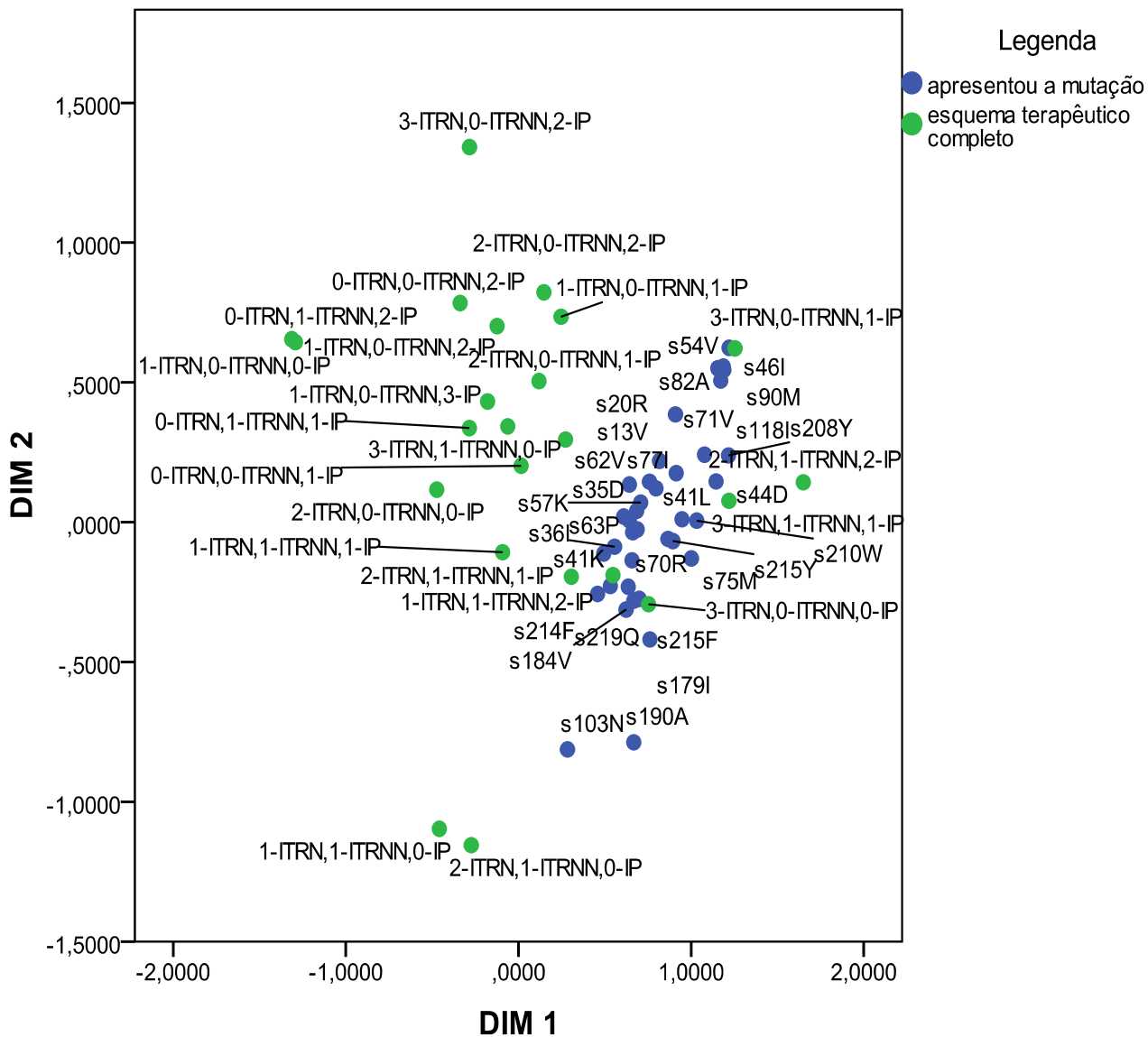
Por fim, deve-se lembrar que a existência de categorias com baixa frequência é prejudicial à análise; sendo assim, muitas vezes opta-se por unir categorias para uma observação mais fiel do comportamento dos dados.

Na ACM apresentada na Figura 32, foram analisadas as variáveis apresentadas na Tabela 20.

**Tabela 20** - Variáveis consideradas na ACM.

<i>Variável</i>	<i>Categorias</i>
Medicamento	Tomou ou não dado medicamento
Mutações	Apresentou ou não as mutações
Esquema terapêutico	Quantidade de medicamentos por classe ITRN ITRNN e IP

**Figura 32** - ACM para relacionamento entre esquema terapêutico e presença de mutação. (DIM: dimensão)



No gráfico acima (Figura 32), buscou-se observar a proximidade entre os pontos azuis e verdes. Dessa forma, puderam-se relacionar quais esquemas apresentaram maior quantidade de mutações e concluir que:



- O esquema com três medicamentos ITRN e um medicamento IP (“3-ITRN, 0-ITRNN, 1-IP”) apresentou grande correlação com a mutação 54V (classe IP) e também com as mutações 90M (IP) e 46I (IP).
- O esquema “2-ITRN, 1-ITRNN, 2-IP” apresentou grande correlação com as mutações 118I (ITRN), 57K (IP), 20R (IP) e 10I (IP).
- O esquema “3-ITRN, 1-ITRNN, 1-IP” apresentou associação com as mutações 57K (IP), 215F (ITRN), 210W (ITRN), 10I (IP), entre outras.
- O esquema “3-ITRN, 0-ITRNN, 0-IP” apresentou associação com 184V, 219Q, 215F e 70R.
- O esquema “1-ITRN, 1-ITRNN, 2-IP” apresentou associação com 214F e 41K.

**DISCUSSÃO**

---

## 7 DISCUSSÃO

Sabe-se que o sucesso da terapia de combate à AIDS passa pelo entendimento de processos que têm levado ao surgimento de mutações do genoma do HIV-1, muitas das quais promovendo o acúmulo de resistências às drogas antirretrovirais e causando falhas terapêuticas.<sup>(162)</sup>

Essa diminuição da suscetibilidade aos fármacos pode ocasionar problemas, tais como o aumento de polimorfismos e o surgimento de genomas virais cada vez mais difíceis de serem eliminados ou estabilizados.

É fundamental que mais estudos avaliem o grau da diversidade genética do HIV-1 e levem ao entendimento de suas implicações na patogênese, no diagnóstico laboratorial, no desenvolvimento de vacinas, na emergência de mutações de resistência e, conseqüentemente, na suscetibilidade aos antirretrovirais disponíveis.

Cada vez mais, os avanços da tecnologia têm contribuído para o refino e a confiabilidade dos exames de genotipagem e fenotipagem, os quais assumem papel de destaque na assistência e na pesquisa da infecção pelo HIV-1-AIDS.

A estrutura e os constantes investimentos realizados na RENAGENO têm permitido avaliar o perfil de resistência do HIV-1 aos antirretrovirais e melhor direcionar as estratégias terapêuticas de resgate, possibilitando o monitoramento da variabilidade genética do HIV-1 no país.

## 7.1 Seleção dos casos e coleta de dados

Este foi um estudo retrospectivo que se propôs a avaliar o perfil do HIV-1, suas mutações e vias mutacionais associadas à resistência aos antirretrovirais, através das genotipagens realizadas no período de janeiro de 2000 a dezembro de 2010, em 527 pacientes com AIDS cadastrados no Departamento de Moléstias infecciosas do Hospital-Escola Emílio Carlos, localizado na cidade de Catanduva-SP. Podemos destacar que a população analisada apresentou características condizentes com o perfil epidemiológico da infecção pelo HIV-1 no Brasil e no Estado de São Paulo, no que se refere à proporção homem/mulher e faixa etária.

Os dados dos pacientes tiveram a presença de infecção pelo HIV-1 confirmada pela existência de dois testes de triagem reagentes e um confirmatório para detecção de anticorpos anti-HIV-1, de acordo com as normas do Ministério da Saúde – Brasil.

Todas as sequências do genoma viral (segmentos da TR e PR do gene *pol*) foram reanalisadas no *site* da *Stanford University*<sup>(157)</sup> a fim de avaliar a presença de mutações de resistência do HIV-1 através de banco de dados atualizado.

## 7.2 Características gerais e uso de ARV

Todos os indivíduos analisados eram moradores de cidades que compõem a microrregião de Catanduva. A maioria dos pacientes era do sexo masculino (58,02%), enquanto o número de pacientes do sexo feminino era de (40,22%). A faixa etária predominante foi a de indivíduos entre 40 e 50 anos, Esses números concordam com os fenômenos epidemiológicos do HIV-1 AIDS observados no Brasil nos últimos anos: interiorização, feminilização e envelhecimento da população infectada.<sup>(71)</sup>

A população analisada tinha considerável experiência com a TARV. O principal esquema terapêutico usado foi aquele com três ARV, seguido por 62,78% dos pacientes. Um percentual relativamente pequeno dos pacientes havia sido submetido a uma terapia subótima, tais como monoterapia ou terapia dupla (14,67%) e ao uso de IP sem Ritonavir (76,12%). É importante lembrar que, à época, não havia recomendações formais para a referida associação de IP com Ritonavir e o Nelfinavir foi utilizado por 85 pacientes (15,98%). Houve baixa frequência de uso de SQV, TIPR-R, FPV e DRV; importante ressaltar que drogas mais recentes foram incorporadas, em geral, aos esquemas de resgate após as análises de genotipagens. Os ARV mais utilizados foram: 3TC, por 72,18% dos pacientes; AZT, por 36,27% deles; EFZ, por 28,38%; D4T, por 26,31% e TDF, por 22,36%. Assim, as elevadas prevalências de mutações de resistência na TR, em particular às TAM e da protease devem ser interpretadas à luz desse contexto.

Os principais medicamentos disponíveis para o tratamento de pacientes infectados pelo HIV-1 atuam em fases diferentes da replicação viral. Nos pacientes analisados, pôde-se verificar uma prevalência dos seguintes perfis aos quais os pacientes foram submetidos: ITRN+IP (54,51%), que possui grande correlação com as mutações 54V, 90M e 46I, as quais podem atuar sobre os IP; ITRN+ITRNN (30,08%) não apresentou mutações diretamente relacionadas, enquanto ITRN+ITRNN+IP (7,52%) apresentou correlação com as seguintes mutações: 184V (ITRN), 118I (ITRN), 215F (ITRN), 219Q (ITRN), 210W (ITRN), 70R(ITRN) e 214F (ITRN), 57K (IP), 20R (IP), 10I (IP) e 41K (IP). Valores menores foram encontrados, mas referiram-se à terapia dupla ou à monoterapia; houve ainda valores menores envolvendo IE, mas que não possuem uma amostra significativa.

### **7.3 Evolução Imunoviológica**

Nosso estudo não buscou avaliar a eficácia do controle imunoviológico através do uso de genotipagem para orientar a TARV de resgate. Não foi possível utilizar nenhum instrumento de medida de adesão, nem avaliar o ajuste da TARV de resgate conforme as orientações da genotipagem à época. Nossa preocupação maior foi para com a prevalência de polimorfismos e sua relação com o perfil de tratamento usado na unidade de saúde.

## 7.4 Prevalência de mutações aos ARV

### 7.4.1 Prevalência de mutações na TR

Em concordância com diversos estudos, a mutação 184V foi a mais prevalente (52,7%), não só da TR como entre todas as analisadas <sup>(44,102,153)</sup>. Apesar da ampla resistência ao 3TC, a mutação 184V desempenha importante papel ao se planejar qualquer esquema de resgate, pois reduz o *fitness viral* e aumenta a suscetibilidade do vírus ao AZT, D4T e TDF. Evidências recentes apontam ainda que o 3TC preserva a atividade antiviral residual na presença da 184V. Vale lembrar que tem impacto relativo sobre ABC e DDI e que, quando associada com a mutação 74V, presente em 3,95% dos casos neste estudo, determina alto nível de resistência a esses ARV. <sup>(102)</sup>

Uma elevada prevalência também foi observada para as TAM: 215Y, 41L, 67N, 210W, 70R; enquanto 215F e 219Q foram as TAM menos frequentes. Essa distribuição das TAM é semelhante às apresentadas em outros estudos. <sup>(154)</sup> Dentre as mutações relacionadas à multirresistência, destacamos a presença da mutação 118I em 23,5% dos genomas virais analisados; trata-se de uma mutação acessória que normalmente acompanha TAM I e que ocorre em, aproximadamente, 1% de vírus de pacientes não tratados e em uma parcela significativamente alta de vírus de pacientes que receberam ITRN, afeta diretamente os medicamentos AZT e D4T, sem contar suas interações com outros polimorfismos. Em nosso estudo, pudemos

observar que 51,2% dos pacientes tratados com essas drogas apresentavam a mutação 118I.

O complexo 151M se destacou com prevalência de 3,3%. Esse valor pode ser considerado adequado, já que a literatura aponta que este complexo é teoricamente encontrado em 5% dos casos expostos à combinação de DDI com AZT ou D4T, sendo raramente observado nos laudos de genotipagem.<sup>(102)</sup>

Dentre as mutações para ITRNN, ressalta-se a elevada prevalência de 103N, em 28,57% dos casos, e de 190A, em 12,97%; outras mutações importantes da classe que apareceram com frequência abaixo de 10% de prevalência foram 181C, 225H, 100I, 108I e 188L, as quais interferem diretamente na resistência do genoma viral às drogas NVP e EFZ. Esse perfil de mutações para ITRNN seguiu o padrão descrito em outros estudos em diversos países e em populações com diferentes particularidades.<sup>(44,154,163,164)</sup>

#### **7.4.2 Prevalência de mutações na PR**

A mutação 36I foi a mais frequente dentre as principais da PR, interferindo diretamente na resistência a IDV, RTV, NFV e ATV; do total de 265 pacientes que tomavam algum destes medicamentos, 49,05% apresentavam a mutação e quase 30% deles estavam submetidos ao tratamento com LPV-r.

Outras mutações que se mostram presentes no total de genomas analisados foram 63P, com 36,84%, 10V, com 20,86%, 10I, com 20,30% e



20R, com 18,8%. As mutações menos frequentes foram 10R, 20L, 47A e 82L e vale ressaltar que, para todas essas, apenas um genoma viral foi analisado.

## 7.5 Mutações de resistência e prognóstico

Hogg e colaboradores<sup>(165)</sup> indicam que a emergência de mutações de resistência aos ARV, independentemente da classe, estaria relacionada à maior mortalidade com risco relativo de 1,75 (IC95% de 1,27 – 2,43). Quando a análise foi estratificada para ITRNN, o risco relativo aumentou para 3,02 (IC95% de 1,99-4,57) em relação às demais. Trata-se de um estudo prospectivo com número significativo de pacientes (1138), todos virgens de TARV e com prevalência de resistência transmitida de 7,8%. Os autores descrevem bem o modelo utilizado para a análise multivariada com propósito de anular outros fatores como LTCD4, CV, adesão, idade, sexo, entre outros, que poderiam confundir o desfecho em análise: a mortalidade.

Estudos sobre mutações de resistência da IAS-USA (*International AIDS Society*) consideram fundamental avaliar como a variabilidade genética do HIV-1 altera o perfil de sensibilidade aos ARV.<sup>(102)</sup> Além disso, há controvérsias sobre como e em que grau a diversidade genética do HIV-1 afeta a emergência de resistência antirretroviral.<sup>(52)</sup>

## 7.6 Perfil de resistência aos ARV

O teste genotípico do perfil de resistência do HIV-1 já está implantado no seguimento de pacientes com falha virológica, a fim de obter melhores resultados na estratégia de tratamento, e tem sido usado também na profilaxia em casos de acidente ocupacional, transmissão vertical e pacientes com infecção primária.

Durante o curso do tratamento antirretroviral, a análise genotípica pode trazer importantes informações a serem consideradas como base para estratégias terapêuticas. Sabe-se que cada ITRN induz a um grupo previsível de alterações genéticas, geralmente de maneira gradativa, levando a mutações primárias (que conferem resistência, mas afetam o *fitness* viral) seguidas de mutações secundárias (que restauram a capacidade replicativa do vírus) e se desenvolvem durante toda a terapia.<sup>(166)</sup>

Uma exposição intensa aos antirretrovirais e longos períodos com esquemas terapêuticos subótimos são, reconhecidamente, fatores relacionados ao acúmulo de mutações de resistência.<sup>(167)</sup>

Nosso estudo procurou analisar também o perfil de resistência genotípica do HIV-1 e observar a eventual relação entre esse perfil e a resposta à TARV.

### 7.6.1 Análise descritiva do perfil de sensibilidade do genoma viral

Para fins de comparação com o sistema utilizado pela RENAGENO, foi realizada uma adequação do perfil de resistência apresentado pelo algoritmo *Stanford*, agrupando-se as duas primeiras categorias em “sensível”, a terceira e a quarta ao perfil de “moderada” e a última ao perfil “resistente”, conforme já utilizado por outros autores, por exemplo, o estudo de prevalência de resistência ao HIV-1 na França.<sup>(154)</sup> Dessa forma, pudemos verificar a susceptibilidade de cada genoma às diferentes drogas às quais foram submetidos os pacientes e as possíveis influências causadas pelas interações entre os diversos polimorfismos detectados.

Analisamos o perfil de resistência genotípica da amostra total, ou seja, de 527 genomas, e comparamos o padrão de resistência dos genomas virais provenientes de pacientes que efetivamente fizeram uso de medicamento.

Iniciando a análise pelos IP, percebemos que apenas os medicamentos LPV e IDV apresentaram um comportamento semelhante nas duas populações: para LPV e IDV, a maioria dos genomas encontrados mostrou-se sensível, a minoria em LPV resistente e em IDV moderada. Em NFV, a minoria em ambas as populações foi de genomas com resistência moderada, já a maioria dos genomas resistentes estavam presentes em pacientes que ingeriram o medicamento. Para ATV e SQV, a maioria em ambas as populações foi composta de genomas virais sensíveis, a minoria moderada entre os genomas virais provenientes de pacientes que ingeriram os

medicamentos e resistente entre todos os genomas que compõem a amostra geral deste estudo.<sup>(168)</sup>

Observando TIPR-R, as populações mostraram-se bastante diferentes, já que grande maioria dos genomas provenientes de pacientes que ingeriram o medicamento apresentou resistência moderada, enquanto a maioria dos genomas encontrados na população total mostrou-se sensível ao medicamento. Deve-se lembrar que apenas cinco pacientes ingeriram esse medicamento, o que restringe a análise generalizada. Apenas três pacientes ingeriram FPV e um ingeriu DRV, uma quantidade insuficiente para que pudéssemos avaliar as características de resistência dos genomas virais presentes nesses pacientes.

Chamamos atenção para o caso do medicamento Darunavir (DRV), pois observamos que 87,97% dos genomas mostraram-se sensíveis ao medicamento, o que pode ser explicado pelo fato de se tratar de um medicamento relativamente novo e que teve sua liberação no Brasil no início de 2008. Estudos mostraram excelentes resultados quando usado em associação com RTV, trata-se de droga de resgate, de alto custo, funcionando como droga reservada para casos de multirresistência, e que não deve ser usada em monoterapia funcional, ou seja, sem acompanhamento de outra droga ativa.<sup>(169)</sup>

O TIPR-R é outro caso que apresenta particularidades, pois verificamos que 78,01% dos genomas estudados mostraram-se sensíveis a tal medicamento. Trata-se também de um IP que deve estar associado a RTV, foi aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) em 2005, sendo aprovado para uso pediátrico em 2008. É muito potente e eficaz na recuperação

terapêutica para pacientes com alguma resistência a drogas, no entanto, seus efeitos secundários podem ser mais graves do que outros medicamentos antirretrovirais. Alguns efeitos secundários incluem hemorragia intracraniana, hepatite, e até diabetes *mellitus*. Também foi demonstrado que a droga pode provocar aumento nos níveis de colesterol. Até 2010, no Brasil, poucos pacientes conseguiam ter acesso ao medicamento.

Para a classe de medicamentos ITRN, analisando 3TC, AZT, TDF e DDI, o perfil de resistência genotípica da amostra total foi semelhante quando comparamos o padrão de resistência dos genomas virais obtidos a partir pacientes que efetivamente fizeram uso de medicamento.

A análise do perfil do genótipo viral mostrou ampla resistência ao 3TC tanto para a amostra total (54,51%) como para os genomas virais obtidos de pacientes que efetivamente fizeram uso de medicamento 63,28%, o que se deve à presença marcante da mutação 184V; a minoria dos genomas virais apresentou resistência moderada, e a maioria mostrou-se resistente em ambas as populações.

Para AZT, a minoria dos genomas virais também apresentou resistência moderada, em ambas as populações, já a maioria foi sensível; para DDI, a maior parte dividiu-se entre moderada e sensível.

Dentro dessa classe de medicamentos, o Tenofovir (TDF) foi o que apresentou o melhor desempenho: 48,12% dos genomas virais analisados mostraram-se sensíveis ao medicamento; quando consideramos apenas os pacientes que efetivamente ingeriram TDF, verificamos que a grande maioria dos genomas virais apresentou resistência moderada.

Estes são fatores importantes se considerarmos que, a partir de 2011, o Brasil começou a produzir o medicamento, barateando custos e facilitando sua distribuição pelo SUS. O Tenofovir tem atividade antiviral eficaz contra o HIV-1 e o vírus da hepatite B, sendo recomendado como uma opção preferencial no tratamento de indivíduos coinfectados com HIV-1 e hepatite B e, em alguns países, por ser um medicamento de custo baixo, é a opção preferencial para o tratamento de indivíduos monoinfectados com hepatite B. No entanto, o Tenofovir apresenta o problema da toxicidade renal em indivíduos suscetíveis já que, diferentemente de muitos medicamentos, é processado nos rins, em vez de ser metabolizado no fígado. Existindo danos no fígado que comprometam o fluxo sanguíneo, as toxinas acumuladas podem ter um efeito negativo sobre a função renal.

A análise do perfil genômico viral para D4T demonstrou que ambas as populações apresentaram a maior parte dos genomas sensíveis, e as menores frequências ficaram equilibradas entre moderada e resistente. Para Biovir, as frequências permaneceram equilibradas entre as três categorias de resistência.

Apenas seis indivíduos ingeriram ABC, dos quais três apresentaram genomas virais resistentes e três sensíveis à droga.

A análise do perfil de suscetibilidade à classe de medicamentos ITRNN dos genomas virais mostrou que a maioria apresenta-se resistente (72,85%) ao EFZ, quando avaliados apenas os genomas que tiveram contato com o medicamento. Quando avaliamos todos os genomas pesquisados, observamos um relativo equilíbrio entre genomas sensíveis (50,19%) e resistentes (42,11%).

Para NVP, nenhum dos genomas virais dos pacientes que ingeriram o medicamento se apresentou moderado, sendo a maioria resistente. A análise do perfil da amostra geral de genomas mostrou um relativo equilíbrio entre genomas resistentes e sensíveis. Podemos, então, dizer que tanto para EFZ como NVP, praticamente não houve resistência intermediária ou moderada por parte dos genomas virais analisados nas diferentes populações, o que confirma o fenômeno de “tudo ou nada” já estabelecido na literatura.

Por fim, podemos verificar que a o surgimento de novos polimorfismos e as interações de mutações já existentes são um desafio na luta contra o vírus HIV-1; a cada ano, temos milhares de paciente submetidos à TARV que apresentam falha terapêutica por resistência aos antirretrovirais. Faz-se necessária a incorporação de novos ARV como os Inibidores de Entrada (Enfuvirtida, Maraviroc) e o Inibidor de Integrase (Raltegravir), bem como a análise e o refino dos exames de genotipagem que permitem detectar novas mutações e estabelecer seus padrões de resistência.<sup>(170)</sup>

Estudos que façam um mapeamento constante da evolução dos genomas virais, bem como do perfil da população em esferas municipais e regionais, são fundamentais no contexto de saúde pública, não só pela perspectiva da transmissão e surgimento de mutações resistentes, mas também para se avaliar a proporção de pacientes que necessitam de novas drogas. O estudo e monitoramento da variabilidade genética do HIV-1 pode contribuir para a melhoria do entendimento do diagnóstico, da resposta terapêutica, da emergência de mutações de resistência, do prognóstico e do desenvolvimento de vacinas.

### 7.6.2 Análise de correspondências múltiplas

Buscando avaliar a correlação entre variáveis categóricas, optamos também, por utilizar a análise de correspondências múltiplas; tal análise nos permitiu observar conjuntamente todas as informações contidas em tabelas de contingência e, em seguida, representá-las graficamente e analisar as estruturas de correlações.

Estabelecemos vários padrões de correspondência, mas nossas análises principais focaram-se nas possíveis relações entre as diversas mutações e o esquema terapêutico utilizado pelo paciente.

O esquema composto por três medicamentos ITRN e um medicamento IP (“3-ITRN,0-ITRNN,1-IP”) apresentou grande correlação com as mutações 54V, 90M e 46I todas apresentando alguma influência sobre a classe dos IP.

O esquema “2-ITRN, 1-ITRNN, 2-IP” apresentou grande correlação com as mutações 118I (ITRN) e também as mutações 57K, 20R e 10I que apresentam alguma influência sobre a classe dos IP.

O esquema “3-ITRN, 1-ITRNN, 1-IP” apresentou associação com as mutações 215F, 210W, com influência sobre a classe dos ITRN e 10I, 57K, com influência sobre a classe dos IP.

O esquema “3-ITRN, 0-ITRNN, 0-IP” apresentou associação com 184V, 219Q, 215F e 70R, enquanto o esquema de tratamento “1-ITRN, 1-ITRNN, 2-IP” apresentou associação com as mutações 214F e 41K.



**CONCLUSÃO**

---

## 8 CONCLUSÃO

A análise do perfil de resistência do HIV-1 aos antirretrovirais em pacientes atendidos no Departamento de Moléstias Infecciosas do Hospital Escola Emílio Carlos, em Catanduva-SP no período compreendido entre 2000 e 2010 permitiu estabelecer as seguintes conclusões:

1. Para as mutações presentes na TR, 184V foi a mais prevalente, destacando-se inclusive entre todos os genomas virais analisados; para ITRNN, a maior frequência ocorreu para a mutação 103N, enquanto, na PR, verificou-se uma maior prevalência da mutação 36I.
2. As principais drogas utilizadas no centro de referência em questão foram: 3TC, pertencente à classe dos ITRN, a qual apresentou maior frequência na análise geral; dentre a classe de medicamentos ITRNN, destacamos EFZ como a mais prevalente, enquanto, para a classe dos IP, destacamos principalmente o uso de LPVr.
3. A análise do perfil mutacional dos genomas virais da população em estudo mostrou que a maior parte apresentou resistência aos medicamentos 3TC, NVP e NFV.
4. O esquema terapêutico mais utilizado foi o composto por três tipos de antirretrovirais, sendo que pacientes em estágio avançado e que apresentavam a maior taxa de mutações foram submetidos a um esquema com cinco drogas. Destaca-se que os principais esquemas terapêuticos foram compostos pelas seguintes classes de antirretrovirais: ITRN+IP, ITRN+ITRNN e ITRN+ITRNN+IP.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fauci AS. The Aids epidemic-considerations for the 21st century. *N Engl J Med* 1999;341:1046-50.
2. Prusiner SB. Discovering the cause of AIDS. *Science* 2002;298:1726-7.
3. Brasil. Ministério da Saúde. Coordenação Nacional de DST/AIDS. Manual de redução de danos. Brasília: Ministério da Saúde; 2001.
4. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e AIDS. 01 a 52 semanas epidemiológicas janeiro a dezembro de 2003. *Boletim Epidemiológico AIDS* 2003;17(1).
5. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e AIDS. 01<sup>a</sup> a 26<sup>a</sup> semanas epidemiológicas janeiro a junho de 2004. *Boletim Epidemiológico AIDS* 2005; 1(1).
6. Rocha S. AIDS: uma questão de desenvolvimento? In: Passarelli CA, Parker R, Pimenta C, Terto Jr V. *AIDS e desenvolvimento: interfaces e políticas públicas*. Rio de Janeiro: ABIA; 2003. p. 34-40.
7. Marins JR, Jamal LF, Chen SY, Barros MB, Hudes ES, Barbosa AA, et al. Dramatic improvement in survival among adult Brazilian Aids patients. *AIDS* 2003;17:1675-82.
8. Dresser GK, Spence JD, Bailey DG. Pharmacokinetic-pharmacodynamic consequences and clinical relevance of cytochrome P450 3A4 inhibition. *Clin Pharmacokinet* 2000;38:41-57.

9. Schapiro JM, Winters MA, Stewart F, Efron B, Norris J, Kozal MJ, et al. The effect of high-dose saquinavir on viral load and CD4+ T-cell counts in HIV-infected patients. *Ann Intern Med.* 1996 Jun 15;124(12):1039-50.
10. Lorenzi P, Yerly S, Abderrakim K, Fathi M, Rutschmann OT, Von Overbeck J, et al. Toxicity, efficacy, plasma drug concentration and protease mutations in patients with advanced HIV infection treated with ritonavir and saquinavir. *AIDS.* 1997 Oct;11(12):F95-9.
11. Hoetelmans RM. Sanctuary sites in HIV-1 infection. *Antivir Ther* 1998;3Suppl4:13-7.
12. Durant J, Clevenbergh P, Garraffo R, Halfon P, Icard S, Del Giudice P, et al. Importance of protease inhibitor plasma levels in HIV infected patients treated with genotypic-guided therapy: pharmacological data from the Viradapt Study. *AIDS.* 2000 Jul 7;14(10):1333-9.
13. Huisman MT, Smit JW, Schinkel AH. Significance of P-glycoprotein for the pharmacology and clinical use of HIV protease inhibitors. *AIDS* 2000; 14:237-42.
14. Lafeuillade A, Solas C, Halfon P, Chadapaud S, Hittinger G, Lacarelle B. Differences in the detection of three HIV-1 protease inhibitors in non-blood compartments: clinical correlations. *HIV Clin Trials* 2002;3:27-35.
15. Shafer RW, Kantor R, Gonzales MJ. The genetic basis of HIV-1 resistance to reverse transcriptase and protease inhibitors. *Aids Rev* 2000;2:211-28.

16. Schragger LK, D'Souza MP. Cellular and anatomical reservoirs of HIV-1 in patients receiving potent antiretroviral combination therapy. *JAMA* 1998 Jul 1;280(1):67-71.
17. Hemelaar J, Gouws E, Ghys PD, Osmanov S. Global and regional distribution of HIV-1 genetic subtypes and recombinants in 2004. *AIDS* 2006 Oct 24;20(16):W13-23.
18. Ruchansky D, Casado C, Russi JC, Arbiza JR, Lopez-Galindez C. Identification of a new HIV Type 1 Circulating Recombinant Form (CRF38\_BF1) in Uruguay. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2009 Mar;25(3):351-6.
19. Schupbach J. Human immunodeficiency viruses. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (editors). *Manual of microbiology*. 8<sup>th</sup> ed. New York: Pergamon; 2003. p. 1235-81.
20. Hinrichsen SL. Doenças infecciosas e parasitárias. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005. Terapia anti-retroviral; p. 876-913.
21. Sprinz E, Finkelstejn A. Rotinas em HIV e AIDS. Porto Alegre: Artes Médicas Sul; 1999. p. 21-54.
22. Robinson HL. New Hope for an AIDS vaccine. *Nat Reviews Immunology* 2002;2:239-50.
23. Esté JA, Telenti A. HIV entry inhibitors. *Lancet* 2007 Jul 7;370(9581):81-8.
24. Schoube BD. AIDS & HIV in perspective: A guide to understanding the virus and its consequences. New York: Cambridge University Press; 1994.

25. Stanford University. Genomic organization of HIV-1.  
<http://www.stanford.edu/group/virus/retro/2005gongishmail/HIV-1.jpg>
26. Greene, WC, Peterlin BM. The molecular biology of immunodeficiency virus type 1 infection. *N Eng Med.* 1991;324:308-15.
27. D'Andrea G, Brisdelli F, Bozzi A. AZT: an old drug with new perspectives. *An Old Drug with New Perspectives. Curr Clin Pharmacol.* 2008 Jan;3(1):20-37.
28. Goof S, Debouck C. Retroviral reverse transcriptase: synthesis and function. *J Acq Immune Def Synd* 1990;3:817-31.
29. Peakman M, Vergani D. *Imunologia básica e aplicada.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999. p. 268-77.
30. Sterjovski J, Churchill MJ, Wesselingh SL, Gorry PR. HIV-1 entry inhibitors: classes, applications and factors affecting potency. *Curr HIV Res.* 2006 Oct;4(4):387-400.
31. Doms RW. Unwelcome guests with master keys: how HIV enters cells and how it can be stopped. *Top HIV Med.* 2004 Oct-Nov;12(4):100-3.
32. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. *Cellular and molecular immunology.* 4<sup>a</sup> ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 2000.
33. Mendoza C, Gallego O, Soriano V. Resistencias a los antirretrovirales. In: Soriano V, González J. *Manual del SIDA.* 5<sup>a</sup> ed. Barcelona, España: Publicaciones Permanyer; 2003, p. 599-627.
34. Pomerantz RJ, Horn DL. Twenty years of therapy for HIV-1 infection. *Nature Medicine* 2003;9(7):867-73.

35. Levy JA. The transmission of HIV and factors influencing progression to AIDS. *Am J Med.* 1993 Jul;95(1):86-100.
36. Robertson DL, Anderson JP, Bradac JA, Carr JK, Foley B, Funkhouser RK, et al. HIV-1 Nomenclature proposal. *Science.* 2000 Apr 7;288(5463):55-6.
37. Los Alamos. HIV-1 Sequence database. 2011; <http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/mainpage.html>
38. Peeters M, Gueye A, Mboup S. Geographical distribution of HIV-1 group O viruses in Africa. *AIDS* 1997;11: 493-8.
39. Simon F, Maucière P, Roques P, Loussert-Ajaka I, Muller-Trutwin MC, Saragosti S, et al. Identification of a new human immunodeficiency virus type 1 distinct from group M and group O. *Nat Med.* 1998 Sep;4(9):1032-7.
40. Morgado MG, Sabino EC, Shpaer EG, Bongertz V, Brigido L, Guimaraes MD, et al. V3 region polymorphisms in HIV-1 from Brazil: prevalence of subtype B strains divergent from North American/European prototype and detection of subtype F. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 1994 May;10(5):569-76.
41. Sabino EC, Diaz RS, Brigido LF, Learn GH, Mullins JI, Reingold AL, et al. Distribution of HIV-1 subtypes seen in an AIDS clinic in Sao Paulo City, Brazil. *AIDS.* 1996 Nov;10(13):1579-84.

42. Brindeiro RM, Diaz RS, Sabino EC, Morgado MG, Pires IL, Brígido L, et al. Tanuri A. Brazilian network for HIV drug resistance surveillance (HIV-BResNet): results from the first national survey, *AIDS* 2003 May;17(7):1063-9..
43. Cerqueira DM, Amorim RMS, Silva RR, Geni NL, Camara GNL, Brígido MM. Antiretroviral resistance and genetic diversity of human immunodeficiency virus type 1 isolates from the federal district, central Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2004 Dec; 99(8):877-82.
44. Couto-Fernandez JC, Silva-de-Jesus C, Veloso VG, Rachid M, Gracie RSG, 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 Feb;100(1):73-8.
45. Aleixo AW. Análise de polimorfismo do gene pol em isolados de HIV-1 de pacientes residentes no estado de Minas Gerais e em falha terapêutica no período de 2002 a 2004. [tese]. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia; 2006.
46. Cavalcanti AMS, Lacerda HR, Brito AM, Pereira A, 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 Nov; 102(7):785-92.



47. Caseiro MM, Sa-Filho DJ, Soares MS. HIV type 1 *pol* gene diversity and antiretroviral drug resistance mutations in Santos, Brazil. *AIDS Research and Human Retroviruses* 2008; 24:347-53.
48. Soares EA, Martínez AM, Souza TM, Santos AF, Da Hora V, Silveira J, et al. HIV-1 subtype C dissemination in southern Brazil. *AIDS* 2005 Oct;19 Suppl 4:S81-6.
49. Pieniazek D, Rayfield M, Hu DJ, Nkengasong J, Wiktor SZ, Downing R, et al. Protease sequences from HIV-1 group M subtypes A–H reveal distinct amino acid mutation patterns associated with protease resistance in protease inhibitor- naïve individuals worldwide. *AIDS* 2000;14:1489–95.
50. Frater AJ, Dunn DT, Beardall AJ, Ariyoshi K, Clarke JR, McClure MO, Weber JN. Comparative response of African HIV-1- infected individuals to highly active antiretroviral. *AIDS*. 2002 May 24;16(8):1139-46.
51. Lacerda HR, Medeiros LB, Cavalcanti AMS, Ximenes RAA, Albuquerque MFPM. Comparison of the epidemiology, profile of mutations, and clinical response to antiretrovirals among subtypes B and F of the human immunodeficiency virus type 1. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2007 Sep;102(6):693-9.
52. Martínez-Cajas JL, Pant-Pai N, Klein MB, Wainberg MA. Role of genetic diversity amongst HIV-1 non-B subtypes in drug resistance: a systematic review of virologic and biochemical evidence. *AIDS Rev* 2008 Oct-Dec;10(4):212-23.

53. Burke DS. Recombination in HIV: an important viral evolutionary strategy. *Emerg Infect Dis* 1997 Jul-Sep;3(3):253-9.
54. Brasil. Lei nº 7.649, de 25 de janeiro de 1988. Estabelece a obrigatoriedade do cadastramento dos doadores de sangue bem como a realização de exames laboratoriais no sangue coletado, visando a prevenir a propagação de doenças, e dá outras providências. . Diário Oficial da União, de 27 jan 1988; [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/Leis/1980-1988/L7649.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Leis/1980-1988/L7649.htm)
55. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST/AIDS. Recomendações para terapia anti-retroviral em adultos infectados pelo HIV. 7ª ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2008.
56. National Institutes of Health. US Department of Health and Human Services. HIV/AIDS. 2012; <http://www.niaid.nih.gov/publications/HIV-1aids/9.htm>.
57. Jameson JL. Principles of molecular medicine. New Jersey: Humana Press Inc. Totowa; 1998.
58. Shibuyama S, Gevorkyan A, Yoo U, Tim S, Dzhangiryan K, Scott JD. Understanding and avoiding antiretroviral adverse events. *Curr Pharm Des*. 2006;12(9):1075-90.
59. Panos G, Samonis G, Alexiou VG, Kavarnou GA, Charatsis G, Falagas ME. Mortality and morbidity of HIV infected patients receiving HAART: a cohort study. *Curr HIV Res* 2008 May;6(3):257-60.

60. Lian YL, Heng BS, Nissapatorn V, Lee C. AIDS-defining illnesses: a comparison between before and after commencement of highly active antiretroviral therapy (HAART). *Curr HIV Res* 2007 Sep;5(5):484-9.
61. Palella FJ Jr, Delaney KM, Moorman AC, Loveless MO, Fuhrer J, Satten GA, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 1998 Mar 26;338(13):853-60.
62. O'Brien WA, Hartigan PM, Martin D, Esinhart J, Hill A, Benoit S, et al. Changes in plasma HIV-1 RNA and CD4+ lymphocyte counts and the risk of progression to AIDS. Veterans Affairs Cooperative Study Group on AIDS. *N Engl J Med* 1996 Feb 15;334(7):426-31.
63. Williams PL, Currier JS, Swindells S. Joint effects of HIV-1 RNA levels and CD4 lymphocyte cells on the risk of specific opportunistic infections. *AIDS* 1999 Jun 18;13(9):1035-44.
64. Wilkin TJ, Gulick RM. When to start antiretroviral therapy? *Clin Infect Dis* 2008 Dec 15;47(12):1580-6.
65. Gulick RM, Lalama CM, Ribaldo HJ, Shikuma CM, Schackman BR, Schouten J, et al. Intensification of a triple-nucleoside regimen with tenofovir or efavirenz in HIV-1-infected patients with virological suppression. *AIDS* 2007 Apr 23;21(7):813-23.
66. Riddler SA, Haubrich R, DiRienzo AG, Peeples L, Powderly WG, Klingman KL, et al. Class-sparing regimens for initial treatment of HIV-1 infection. *N Engl J Med* 2008 May 15;358(20):2095-106.

67. Manfredi R, Sabbatani S, Calza L. Antiretroviral therapy voluntarily taken at half-dosage, but fully effective after 6-10 years: a provocative issue for adherence requirements: case report. *Curr HIV Res* 2008 Mar;6(2):171-2.
68. Rachid M, Schechter M. *Manual de HIV/AIDS*. 9ª ed. Rio de Janeiro: Revinter; 2008.
69. Lalezari JP, Henry K, O'Hearn M, Montaner JS, Piliero PJ, Trottier B, et al. Enfuvirtide, an HIV-1 fusion inhibitor, for drug-resistant HIV infection in North and South America. *N Engl J Med*. 2003 May 29;348(22):2175-85.
70. Plemper, Richard K.; Hammond, Anthea L. Inhibition of membrane fusion as a target for antiviral therapy. *Anti-infective Agents in Medicinal Chemistry* 2007;6:248-62.
71. Brasil. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e AIDS. *Recomendações para terapia anti-retroviral em adultos infectados pelo HIV*. 7ª ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2008.
72. Venkat A, Piontkowsky DM, Cooney RR, Srivastava AK, Soares GA, Heidelberger CP. Care of the HIV-positive patient in the emergency department in the era of highly active antiretroviral therapy. *Ann Emerg Med* 2008 Sep;52(3):274-85.
73. Mellors JW, Muñoz A, Giorgi JV, Margolick JB, Tassoni CJ, Gupta P et al. Plasma viral load and CD4 lymphocytes as prognostic markers of HIV-1 infection. *Ann Intern Med* 1997 Jun 15;126(12):946-54.

74. Levy JA, Ramachandran B, Barker E, Guthrie J, Elbeik T. Plasma viral load, CD4+ cell counts, and HIV-1 production by cell. *Science* 1996 Feb 2;271(5249):670-1.
75. Mellors JW, Rinaldo CR Jr, Gupta P, White RM, Todd JA, Kingsley LA. Prognosis in HIV-1 infection predicted by quantity of virus in plasma. *Science* 1996 May 24;272(5265):1167-70.
76. Raboud JM, Harris M, Rae S, Montaner JS. Impact of adherence on duration of virological suppression among patients receiving combination antiretroviral therapy. *HIV Med* 2002 Apr;3(2):118-24.
77. Hirsch MS, Gunthard HF, Schapiro JM, Brun-Vézinet F, Clotet B, Hammer SM, et al. Antiretroviral drug resistance testing in adults with HIV infection: 2008 recommendations of an International AIDS Society-USA. *Top HIV Med* 2008 Aug-Sep;16(3):266-85.
78. Accetturi CA, Pardini R, Novaes Pinto GH, Turcato G Jr, Lewi DS, Diaz RS. Effects of CCR5 genetic polymorphism and HIV-1 subtype in antiretroviral response in Brazilian HIV-1 infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2000 Aug;24(4):399-400.
79. Perelson AS, Neumann AU, Markowitz M, Leonard JM, Ho DD. HIV-1 dynamics in vivo: virion clearance rate, infected cell life-span, and viral generation time. *Science* 1996; 271:1582-6.
80. Hoetelmans RM. Pharmacological exposure and development of drug resistance in HIV. *Antiviral Therapy* 2001;6(Suppl.2):37-47.

81. Paterson DL, Swindells S, Mohr J, Brester M, Vergis EN, Squier C. Adherence to protease inhibitor therapy and outcomes in patients with HIV infection. *Ann Intern Med* 2000;133:21-30.
82. Gifford AL, Bormann JE, Shively MJ, Wright BC, Richman DD, Bozzette SA. Predictors of self-reported adherence and plasma HIV concentrations in patients on multidrug antiretroviral regimens. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2000 Apr;23(5):386-95.
83. Bartlett JA, DeMasi R, Quinn J, Moxham C, Rousseau F. Overview of the effectiveness of triple combination therapy in antiretroviral-naive HIV-1 infected adults. *AIDS* 2001 Jul;15(11):1369-77.
84. Ribeiro FA. Avaliação da duração e impacto do primeiro esquema antiretroviral altamente potente em pacientes portadores de SIDA em acompanhamento no setor de imunodeficiências do serviço de doenças infecciosas e parasitárias / Hospital das Clínicas do Centro de Treinamento e Referência em doenças infecciosas e parasitárias em Belo Horizonte, MG. [dissertação]. Belo Horizonte: Faculdade de Medicina da UFMG; 2007.
85. Deeks SG. Transmitted minority drug-resistant HIV variants: a new epidemic? *PLoS Med* 2008 Jul;5(7):e164.
86. Thiebaut F, Tsuruo T, Hamada H, Gottesman MM, Pastan I, Willingham MC. Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987 Nov;84(21):7735-8.

87. Fellay J, Marzolini C, Meaden ER, Back DJ, Buclin T, Chave JP, et al. Response to antiretroviral treatment in HIV-1 infected individuals with allelic variants of the multidrug resistance transporter 1: a pharmacogenetics study. *Lancet*. 2002 Jan 5;359(9300):30-6.
88. Lee CG, Gottesman MM, Cardarelli CO, Ramachandra M, Jeang KT, Ambudkar SV, et al. HIV-1 protease inhibitors are substrates for the MDR1 multidrug transporter. *Biochemistry* 1998 Mar 17;37(11):3594-601.
89. Kozal M, Friedland G, Amico R, Chiarella J, Schreiber T, Cornman D, et al. Continuing High-risk sexual behavior and increasing antiretroviral resistance among HIV+ patients in care helps explain the rising prevalence of resistance among new HIV infections. *Conf Retrovir Opportunistic Infect* 2004 Feb 8-11;11.
90. Yerly S, Jost S, Telenti A, Flepp M, Kaiser L, Chave JP, et al. Infrequent transmission of HIV-1 drug-resistant variants. *Antivir Ther* 2004;Jun;9(3):375-84.
91. Borroto-Esoda K, Waters JM, Bae AS, Harris JL, Hinkle JE, Quinn JB, et al. Baseline genotype as a predictor of virological failure to emtricitabine or stavudine in combination with didanosine and efavirenz. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2007 Aug;23(8):988-95.
92. Fox J, Dustan S, McClure M, Weber J, Fidler S. Transmitted drug-resistant HIV-1 in primary HIV-1 infection; incidence, evolution and impact on response to anti-retroviral therapy. *HIV Med* 2006 Oct;7(7):477-83.

93. Turner D, Wainberg MA. HIV transmission and primary drug resistance. *AIDS Rev* 2006;8(1):17-23
94. Johnson JA, Li JF, Wei X, Lipscomb J, Irlbeck D, Craig C, et al. Minority HIV-1 drug resistance mutations are present in antiretroviral treatment-naïve populations and associate with reduced treatment efficacy. *PLoS Med* 2008 Jul 29;5(7):e158.
95. Bannister WP, Cozzi-Lepri A, Clotet B, Mocroft A, Kjaer J, Reiss P, et al. Transmitted drug resistant HIV-1 and association with virologic and CD4 cell count response to combination antiretroviral therapy in the EuroSIDA Study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2008 Jul 1;48(3):324-33.
96. Koizumi Y, Yshimura H. Emergence of antiretroviral therapy resistance-associated primary mutations among drug-naive HIV-1-infected individuals in rural western Cameroon. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006 Sep;43(1):15-22.
97. Soares MA, De Oliveira T, Brindeiro RM, Diaz RS, Sabino EC, Brigido L, et al. A specific subtype C of human immunodeficiency virus type 1 circulates in Brazil. *AIDS* 2003 Jan 3;17(1):11-21.
98. Sucupira MC, Caseiro MM, Alves K, Tescarollo G, Janini LM, Sabino EC, et al. High levels of primary antiretroviral resistance genotypic mutations and B/F recombinants in Santos, Brazil. *AIDS Patient Care STDS* 2007 Feb;21(2):116-28.



99. Barbour JD, Hecht FM, Wrin T, Liegler TJ, Ramstead CA, Busch MP, et al. Persistence of primary drug resistance among recently HIV-1 infected adults. *AIDS* 2004, Aug 20;18(12):1683-9.
100. Little SJ, Frost SD, Wong JK, Smith DM, Pond SL, Ignacio CC. Persistence of transmitted drug-resistant virus among subjects with primary HIV infection deferring antiretroviral therapy. *J Virol* 2008 Jun;82(11):5510-8.
101. Delaugerre C, Roudiere L, Peytavin G, Rouzioux C, Viard J, Chaix M. Selection of a rare resistance profile in an HIV-1-infected patient exhibiting a failure to an antiretroviral regimen including tenofovir DF. *J Clin Virol* 2005;32:241-4.
102. Shafer RW, Rhee SY, Bennett D. Consensus drug resistance mutations for epidemiological surveillance: basic principles and potential controversies. *Antiviral Therapy* 2008, 13 Suppl 2:59-68.
103. Bennett DE, Bertagnolio S, Sutherland D, Gilks CF. The World Health Organization's global strategy for prevention and assessment of HIV drug resistance. *Antivir Ther* 2008;13 Suppl 2:1-13.
104. Shafer RW, Rhee SY, Bennett D. HIV-1 protease and reverse transcriptase mutations for drug resistance surveillance. *AIDS* 2007;21:215-23.
105. Richmann DD. HIV chemotherapy. *Nature* 2001;410:995-1001.

106. Chen Z, Li Y, Schock HB, Hall D, Chen E, Kuo LC. Three-dimensional structure of a mutant HIV-1 protease displaying cross-resistance to all protease inhibitors in clinical trials. *J Biol Chem.* 1995 Sep 15;270(37):21433-6.
107. Nijhuis M, Boucher CA, Schipper P, Leitner T, Schuurman R, Albert J. Stochastic processes strongly influence HIV-1 evolution during sub optimal protease-inhibitor therapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998 Nov 24;95(24):14441-6.
108. Zhang YM, Imamichi H, Imamichi T, Lane HC, Falloon J, Vasudevachari MB, et al. Drug resistance during indinavir therapy is caused by mutations in the protease gene and in its gag substrate cleavage sites. *J Virol* 1997; 71:6662-70.
109. Kemper CA, Witt MD, Keiser PH, Dubé MP, Forthal DN, Leibowitz M, Smith DS, et al. Sequencing of protease inhibitor therapy: insights from an analysis of HIV phenotypic resistance in patients failing protease inhibitors. *AIDS* 2001 Mar 30;15(5):609-15.
110. Clotet B, Ruiz L, Martinez-Picado J, Negredo E, Hill A, Popescu M. Prevalence of HIV protease mutations on failure of nelfinavir-containing HAART: a retrospective analysis of four clinical studies and two observational cohorts. *HIV Clin Trials* 2002; 3(4):316-323.
111. Tupinambás U, Aleixo A, Greco DB. Características da genotipagem após falha com nelfinavir. Tema Livre 20. In: XII Congresso Brasileiro de Infectologia. Goiânia; 2003.

112. Zachary KC, Hanna GJ, D'Aquila TR. Human immunodeficiency virus type 1 hypersusceptibility to amprenavir in vitro can be associated with virus load response to treatment in vivo. *Clin Infect Dis* 2001;33:2075-7.
113. Martinez-Picado J, Savara AV, Shi L, Sutton L, D'Aquila RT. Fitness of human immunodeficiency virus type 1 protease inhibitor-selected single mutants. *Virology*. 2000 Sep 30;275(2):318-22.
114. Johnson VA, Brun-Vezinet F, Clotet B, Conway B, Kuritzkes DR, Pillay D, et al. Update of the drug resistance mutations in HIV-1: Fall 2005. *Top HIV Med*. 2005 Mar-Apr;13(1):51-7. Review.
115. Arion D, Kaushik N, McCormick S, Borkow G, Parniak MA. Phenotypic mechanism of HIV-1 resistance to 3'-azido-3'-deoxythymidine (AZT): increased polymerization processivity and enhanced sensitivity to pyrophosphate of the mutant viral reverse transcriptase. *Biochemistry* 1998 Nov 10;37(45):15908-17.
116. Arion D, Sluis-Cremer N, Parniak MA. Mechanism by which phosphonoformic acid resistance mutations restore 3'-azido-3'-deoxythymidine (AZT) sensitivity to AZTresistance HIV-1 reverse transcriptase. *J Biol Chem* 2000;275:9251-5.
117. Lennerstrand J, Hertogs K, Stammers DK, Larder BA. Correlation between viral resistance to zidovudine and resistance at the reverse transcriptase level for a panel of human immunodeficiency virus type 1 mutants. *J Virol* 2001 Aug;75(15):7202-5.

118. Kellam P, Boucher CA, Larder BA. Fifth mutation in human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase contributes to the development of high-level resistance to zidovudine. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89:1934-8.
119. Boucher CA, O'Sullivan E, Mulder JW, Ramautarsing C, Kellam P, Darby G, et al. Ordered appearance of zidovudine resistance mutations during treatment of 18 human immunodeficiency virus-positive subjects. *J Infect Dis.* 1992 Jan;165(1):105-10.
120. Shirasaka T, Kavlick MF, Ueno T. Emergence of human immunodeficiency virus type-1 variants with resistance to multiple dideoxynucleosides in patients receiving therapy with dideoxynucleosides. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:2398-402
121. Iversen AK, Shafer RW, Wehrly K, Winters MA, Mullins JI, Chesebro B, et al. Multidrug-resistance human immunodeficiency virus type 1 strains resulting from combination antiretroviral therapy. *J Virol* 1996 Feb;70(2):1086-90.
122. Kavlick MF, Wyvill K, Yarchoan R, Mitsuya H. Emergence of multidideoxynucleosideresistance human immunodeficiency virus type-1 variants, viral sequence variation, and disease progression in patients receiving antiretroviral chemotherapy. *J Infect Dis* 1998 Jun;177(6):1506-13.

123. Larder BA, Bloor S, Kemp SD, Hertogs K, Desmet RL, Miller V, A family of insertion mutations between codons 67 and 70 of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase confer multinucleoside analog resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 1999 Aug;43(8):1961-7.
124. Imamichi T, Sinha T, Imamichi H, Zhang YM, Metcalf JÁ, Falloon J, et al. Highlevel resistance to 3-azido-3`-deoxythimidine due to a deletion in the reverse transcriptase gene of human immunodeficiency virus type 1. *J Virol* 2000 Jan;74(2):1023-8.
125. Parikh U, Koontz D, Sluis-Cremer N, Hammond J, Bacheler L, Schinazi R, et al. A multinucleoside Resistance of Increasing Prevalence Exhibits Bi-directional Phenotypic Antagonism with TAM. In: 11th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, San Francisco, CA, EU; 2004. Abstract no K65R.
126. Gotte M, Arion D, Parniak MA, Wainberg. MA. The M184V mutation in the reverse transcriptase of human immunodeficiency virus type 1 impairs rescue of chain-terminated DAN synthesis. *J Virol* 2000; 74:3579-85.
127. Kuritzkes D, Shugarts D, Bakhtiari M, Poticha J, Johnson T, Gingeras M, et al. Emergence of dual resistance to zidovudine and lamivudine in HIV-1 infected patients treated with zidovudine and lamivudine as initial therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2000;23:26-34.

128. Naeger LK, Margot NA, Miller MD. Increased drug susceptibility of HIV-1 reverse transcriptase mutants containing M184V and zidovudine-associated mutations: analysis of enzyme processivity, chain-terminator removal and viral replication. *Antivir Ther* 2001 Jun;6(2):115-26.
129. Hsiou Y, Ding J, Das K, Clark AD Jr, Boyer PL, Lewi P, et al. The Lys103Asn mutation of HIV-1 RT: a novel mechanism of drug resistance. *J Mol Biol* 2001 Jun 1;309(2):437-45.
130. Brenner B, Turner D, Oliveira M, Moisi D, Detorio M, Carobene M, et al. A V106M mutation in HIV-1 clade C viruses exposed to efavirenz confers cross-resistance to non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *AIDS* 2003 Jan 3;17(1):F1-5.
131. Whitcomb JM, Huang W, Limoli K, Paxinos E, Wrin T, Skowron G et al. Hypersusceptibility to non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors in HIV-1: clinical, phenotypic and genotypic correlates. *AIDS* 2002 Oct 18;16(15):F41-7.
132. Shulman N, Zolopa AR, Passaro D, Shafer RW, Huang W, Katzenstein D, et al. Phenotypic hypersusceptibility to nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors in treatment-experience HIV-infected patients: impact on virological response to efavirenz-based therapy. *AIDS* 2001 Jun 15;15(9):1125-32.
133. Haubrich RH, Kemper CA, Hellmann NS, Keiser PH, Witt MD, Forthal DN, et al. The clinical relevance of nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor hypersusceptibility: a prospective cohort analysis. *AIDS* 2002 Oct 18;16(15):F33-40.

134. Salvage Therapies. 2011; <http://www.salvagetherapies.org>
135. Lazzarin A, Clotet B, Cooper D, Reynes J, Arastéh K, Nelson M et al. Efficacy of enfuvirtide in patients infected with drug-resistant HIV-1 in Europe and Australia. *N Engl J Med* 2003 May 29;348(22):2186-95.
136. Carmona R, Pérez-Alvarez L, Muñoz M, Casado G, Delgado E, Sierra M, et al. Natural resistance-associated mutations to Enfuvirtide (T20) and polymorphisms in the gp41 region of different HIV-1 genetic forms from T20 naive patients. *J Clin Virol* 2005 Mar;32(3):248-53.
137. Whitcomb JM, Huang W, Fransen S, Limoli K, Toma J, Wrin T, et al. Development and characterization of a novel single-cycle recombinant-virus assay to determine human immunodeficiency virus type 1 coreceptor tropism. *Antimicrob Agents Chemother* 2007 Feb;51(2):566-75.
138. Reeves J, Han D, Wilkin, Wilkin T, Wrin T, Kuritzkes D, et al. An enhanced version of the trofile HIV co-receptor tropism assay predicts emergence of CXCR4 use in ACTG5211 vicriviroc trial samples [abstract 869]. In: 15th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections Boston, MA, Feb 3-6; 2008, Boston
139. Immunopaedia.org. Clinical cases. 2011; <http://www.imunopaedia.org>
140. Johnson VA, Brun-Vezinet F, Clotet B, Gunthard HF, Kuritzkes DR, Pillay D, et al. Update of the drug resistance mutations in HIV-1: 2007. *Top HIV Med* 2007;15:119-25.

141. Hazuda DF, Miller MD, Nguyen BY, Zhao J, Resistance to the HIV-integrase inhibitor raltegravir: analysis of protocol 005, a phase 2 study in patients with triple-class resistant HIV-1 infection. In: 16th Intl HIV Drug Resistance Workshop, June 12-16; 2007, Barbados.
142. Stanford University. HIVdb program: mutation list analysis program genotypic resistance interpretation algorithm. 2012; <http://siena2.stanford.edu/sierra/servlet/JSierra?action=mutationsInput>
143. Alcorn TM, Faruki H. HIV resistance testing: methods, utility, and limitations. *Mol Diag* 2000; 5:159-168.
144. Japour A J, Mayers DL, Johnson VA, Kuritzkes DR, Beckett LA, Arduino JM, et al. Standardized peripheral blood mononuclear cell culture assay for determination of drug susceptibilities of clinical human immunodeficiency virus type 1 isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37(5):1095-101.
145. Hertogs K, de Bethune M-P, Miller V, Ivens T, Schel P, Cauwenberge AV, et al. A rapid method for simultaneous detection of phenotypic resistance to inhibitors of protease and reverse transcriptase in recombinant human immunodeficiency virus type 1 isolates from patient treated with antiretroviral drugas. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42(2):269-76.
146. Demeter L, Haubrich R. Phenotypic and genotypic resistance assays: methodology, reliability, and interpretations. *JAIDS* 2001;26(Suppl 1):S3-S9.



147. Degruittola V, Dix L, D'Áquila R, DeGruttola, V, Dix L, D'Aquila R, et al. The relation between baseline HIV drug resistance and response to antiretroviral therapy: re-analysis of retrospective and prospective studies using a standardized data analysis plan. *Antiviral Ther* 2000; 5(1):5:41-8.
148. 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 Mar 8;16(4):579-88.
149. Meynard JL, Vray M, Morand-Joubert L, Race E, Descamps D, Peytavin G et al. Phenotypic or genotypic resistance testing for choosing antiretroviral therapy after treatment failure: a randomized trial. *AIDS* 2002 Mar 29;16(5):727-36.
150. Bartlett JG, Gallant JE. Tratamento clínico da infecção pelo HIV. Baltimore: Johns Hopkins University; 2005.
151. Wensing AM, Keulen W, Buimer M, Brambilla D, Schuurman R, Boucher C, et al. Analysis of the world-wide evaluation study on HIV-1 genotype interpretation; ENVA-3 [abstract 133]. *Antivir Ther* 2001; 6(Suppl 1):101.
152. Shafer RW, Gonzales MJ, Brun-Vezinet F. Online comparison of HIV-1 drug resistance algorithms identifies rates and causes of discordant interpretations [abstract 134]. *Antivir Ther* 2001; 6(Suppl 1):101.

153. Rubio AE, Pampuro SE, Zala C, Cahn P, Galli R, Montaner JS, et al. Discrepant results in the interpretation of HIV-1 drug-resistance genotypic data among widely used algorithms. *HIV Med* 2003 Jan;4(1):72-8.
154. Costagliola D, Descamps D, Assoumou L, Morand-Joubert L, Marcelin AG, Brodard V, et al. Prevalence of HIV-1 drug resistance in treated patients; A French Nationwide Study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007 Sep 1;46(1):12-8.
155. Lorenzi P, Opravil M, Hirschel B, Chave JP, Furrer HJ, Sax H, et al. Impact of drug resistance mutations on virologic response to salvage therapy. *AIDS* 1999 Feb 4;13(2):F17-21.
156. Deeks SG, Hellmann NS, Grant RM, Parkin NT, Petropoulos CJ, Becker M et al. Novel four-drug salvage treatment regimens after failure of a human immunodeficiency virus type 1 protease inhibitor-containing regimen: antiviral activity and correlation of baseline drug susceptibility with virologic outcome. *J Infect Dis* 1999 Jun;179(6):1375-81.
157. Stanford University. HIV drug resistance database. 2012; <http://hivdb.stanford.edu>
158. Liu TF, Shafer RW. Web resources for HIV type 1 genotypic-resistance test interpretation. *Clin Infect Dis* 2006;42:1608-18.
159. Magiorkinis E, Paraskevis D, Magiorkinis G, Chyssou S, Chini M, Lazanas M. Mutations associated with genotypic resistance to anti-retroviral therapy in treatment naive HIV-1 infected patients in Greece. *Virus Research* 2002;85:109-15.

160. Harrigan PR, Hogg RS, Dong WWY. Predictors of HIV drug-resistance mutations in a large antiretroviral-naive cohort initiating triple antiretroviral therapy. *J Infect Dis* 2004;191:339-47.
161. Vella S, Palmisano L. The global status of resistance to antiretroviral drugs. *Clin Infect Dis* 2005;41:239-46.
162. Mudd PA, Martins MA, Ericson AJ, Tully DC, Power KA, Bean AT, et al. Vaccine-induced CD8+ T cells control AIDS virus replication. *Nature*. 2012 Nov 1;491(7422):129-33.
163. García-Guerrero J, Sáiz de la Hoya P, Portilla J, Marco A, Sánchez-Payá J, Moreno S, et al. Prevalence of HIV-1 drug resistance mutations among Spanish prison inmates. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2006 Nov;25(11):695-701.
164. Ma L, Sun J, Xing H, Si X, Yuan L, Guo Y, et al. Genotype and Phenotype Patterns of Drug-Resistant HIV-1 Subtype B' (Thai B) Isolated From Patients Failing Antiretroviral Therapy in China. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007 Jan 1;44(1):14-9.
165. Hogg RS, Bangsberg DR, Lima VD, Alexander C, Bonner S, Yip B, et al. Emergence of drug resistance is associated with an increased risk of death among patients first starting HAART. *PLoS Med* 2006 Sep;3(9):e356.
166. Tamalet C, Fantini J, Tourres C, Yahi N. Resistance of HIV-1 to multiple anti-retroviral drugs in France a 6-year survey (1997-2002) based on an analysis of over 7000 genotypes. *AIDS* 2003;17(16):2383-8.


167. Medeiros MS, Arruda EA, Guerrant RL, Brown CC, Lima AA. 2007. Impact of the number of failed therapeutic regimes on the development of resistance mutations to HIV-1 in northeast Brazil. *Braz J Infect Dis* 2007;11: 451-5.
168. Aziz M, Smith KY. Challenges and successes in linking HIV-infected women to care in the United States. *Clin Infect Dis* 2011 Jan 15;52 Suppl 2:S231-7 .
169. McKeage K, Perry CM, Keam SJ. Darunavir: a review of its use in the management of HIV infection in adults. *Drugs* 2009;69(4):477-503.
170. Westergaard RP, Ambrose BK, Mehta SH, Kirk GD. Provider and clinic-level correlates of deferring antiretroviral therapy for people who inject drugs: a survey of North American HIV providers. *J Int AIDS Soc* 2012 Feb 23;15(1):10.



**Anexo 1** - Tabela completa da nomenclatura dos aminoácidos e suas abreviações.

<b>Aminoácido</b>	<b>Código com 3 letras</b>	<b>Código com 1 letra</b>
Alanina	Ala	A
Arginina	Arg	R
Asparagina	Asn	N
Aspartato	Asp	D
Cisteína	Cys	C
Glutamina	Gln	Q
Glutamato	Glu	E
Glicina	Gly	G
Histidina	His	H
Isoleucina	Ile	I
Leucina	Leu	L
Lisina	Lys	K
Metionina	Met	M
Fenilalanina	Phe	F
Prolina	Pro	P
Serina	Ser	S
Treonina	Thr	T
Triptofano	Trp	W
Tirosina	Tyr	Y
Valina	Val	V

## Anexo 2 - Formulário A para solicitação do exame de genotipagem do HIV-1.

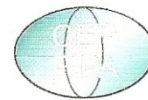
 Ministério da Saúde Secretaria de Vigilância em Saúde Programa Nacional de DST/Aids Sistema de Controle de Exames de Genotipagem – SISGENO				Formulário para Solicitação de Exame de Genotipagem <b>Formulário A</b>			
					Nº Parecer: _____		
1. Instituição solicitante (carimbo padrão)				2. CNPJ			
<b>DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE</b>							
3. Nome			4. Data de Nascimento		5. Sexo		
			/ /		Masculino <input type="checkbox"/> Feminino <input type="checkbox"/>		
6. Cidade de nascimento			7. UF	8. Raça/Cor			
				<input type="checkbox"/> 1-branca <input type="checkbox"/> 2-preta <input type="checkbox"/> 3-amarela <input type="checkbox"/> 4-parda <input type="checkbox"/> 5-indígena <input type="checkbox"/> 6-não informado <input type="checkbox"/> 7-ignorada			
9. Número de Identidade			10. CPF		11. Escolaridade		
					<input type="checkbox"/> 1. nenhuma / 2. De 1 a 3 / 3. De 4 a 7 / 4. De 8 a 11 5. - De 12 e mais / 6. não informado / 9. ignorado		
12. Número SISCEL		13. Cartão Nacional de Saúde - CNS		14. Gestante	15. Telefone do Paciente	16. Prontuário	
				Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>			
17. Nome do Responsável (se o paciente for menor de idade)				18. CPF do Responsável (se o paciente for menor de idade)			
19. Nome da mãe				20. Endereço do paciente			
21. Bairro		22. CEP	23. Cidade de residência do paciente		24. UF	25. Cód. IBGE Município	
<b>DADOS CLÍNICOS</b>							
26. Diagnóstico sorológico da infecção pelo HIV (mês/ano).		27. Paciente compareceu às últimas 3 consultas médicas de retorno agendadas?		28. História patológica pregressa Doença definidora de Aids?		29. Estado Clínico atual.	
/ /		IGN <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> IGN <input type="checkbox"/>		Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/> Assintomático <input type="checkbox"/> Sintomático. Especificar: _____	
						30. Genotipagem Anterior	
						Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>	
31. As condições clínicas do paciente ou uso de medicamentos contra-indicam a utilização de algum medicamento a ser utilizado em esquema ARV futuro? Quais?							
32. Resultado de Linfócitos T CD4+ (cél/mm <sup>3</sup> ) e (%)				33. Resultado de Carga Viral (cópias/ml e log)			
Situação	Data da Coleta	CD4 (µl)	% CD4	Técnica	Situação	Data da Coleta	
Último:	/ /				Carga Viral imediatamente anterior ao esquema ARV atual	/ /	
Penúltimo:	/ /				Carga Viral mais baixa durante o esquema ARV atual	/ /	
Mais baixo:	/ /				Última Carga Viral realizada	/ /	
34. Medicamentos Anti-Retrovirais já utilizados e atualmente em uso:							
Esquema: <input type="checkbox"/> Paciente <input type="checkbox"/> TV <sup>1</sup> (MÃE) <input type="checkbox"/> TV <sup>1</sup> (MÃE) TARV <sup>2</sup> não conhecida				Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)	Motivo da Troca	
						FT INT Outros	
1º				/ /	/ /		
2º				/ /	/ /		
3º				/ /	/ /		
4º				/ /	/ /		
5º				/ /	/ /		
6º				/ /	/ /		
7º				/ /	/ /		
8º				/ /	/ /		
9º				/ /	/ /		
Zidovudina(ZDV) - Zalcitabina(ddC) - Abacavir (ABC) - Delavirdina(DLV) - Efavirenz(EFZ) - Ritonavir (RTV) - Nelfinavir (NFV) - Lopinavir/ritonavir (LPV/r) - Indinavir/ritonavir(IDV/RTV 800/200) - Didanosina (ddI) - Lamivudina (3TC) - Estavudina(d4T) - Nevirapina(NVP) - Saquinavir(SQV) - Indinavir(IDV) - Amprenavir(APV) - Indinavir/ritonavir (IDV/RTV 800/100) - Tenofovir(TDF) - Atazanavir (ATV) - Darunavir(DRV)							
<b>JUSTIFICATIVA DO PROCEDIMENTO / SOLICITAÇÃO</b>							
35. CID 10		36. Nome do Profissional Solicitante		37. Documento (CNS/CPF) do Profissional Solicitante		38. Assinatura e Carimbo do Médico Solicitante	
				CNS <input type="checkbox"/> CPF <input type="checkbox"/>			
39. CRM (Nº Registro do Conselho)		40. Data do Preenchimento		Número:			
UF/CRM: / /		/ /					

<sup>1</sup> TV – Transmissão Vertical, <sup>2</sup>TARV – Terapia Anti-Retroviral

### Anexo 3 – Registro de aprovação no CEP-FIPA.



**C E P – Comitê de Ética em Pesquisa**  
**FIPA – Faculdades Integradas “Padre Albino”**  
Rua dos Estudantes 225, Parque Iracema, CEP 15809-144 – Catanduva-SP  
Fone (17) 3311 3229 – www.fundacaopadrealbino.org.br  
Coreme.fameca@terra.com.br



Catanduva, 30 de março de 2011.

Ofício nº 17/11  
CEP/trbm

**Ref.: Registro de Aprovação Parecer nº 08/11 - CEP-FIPA.**

Prezados(as) Senhores(as):

Vimos informar Vs.Sas. que o Projeto do Trabalho de Pesquisa intitulado “**Análise do Perfil de Mutações em Indivíduos Positivos para o Vírus da Imunodeficiência Adquirida Tipo 1 associadas à Resistência aos Anti-Retrovirais no Município de Catanduva – Noroeste Paulista**”, foi avaliado por este Comitê de Ética e Pesquisa e considerado **aprovado**, de acordo com as exigências das Resoluções do Conselho Nacional de Saúde nº 196/96 e 251/97 da CONEP.

O registro de aprovação do referido Protocolo no Comitê de Ética em Pesquisa das Faculdades Integradas Padre Albino é **sob Parecer nº 08/11**.

Cabe aos pesquisadores elaborar e **apresentar ao CEP/FIPA**, o relatório parcial mostrando relação risco/benefício e o **relatório completo ao final da pesquisa**.

Sendo o que temos a informar, subscrevemo-nos.

Atenciosamente.

  
= **Prof. Ms. IZÍDIO PIMENTA DE MORAIS** =  
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da FIPA

João Ricardo Araújo dos Santos (\*)  
Ricardo Luiz Dantas Machado (\*\*)  
Ricardo Santaella Rosa (\*\*)  
(\*) Pesquisador Responsável  
(\*\*) Co-Pesquisadores