

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ – FIOCRUZ
INSTITUTO OSWALDO CRUZ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL**

LUCIANO MOURÃO NASCIMENTO DE CARVALHO

**RESISTÊNCIA SEGUNDÁRIA AOS ANTIRRETROVIRAIS UTILIZADOS PARA
TRATAMENTO EM PACIENTES COM HIV/AIDS:** perfil da genotipagem em
pacientes atendidos no Instituto de Doenças Tropicais Natan Portela (IDTNP) -
Teresina (PI)

**Teresina
Dezembro de 2015**

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ – FIOCRUZ
INSTITUTO OSWALDO CRUZ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL**

LUCIANO MOURÃO NASCIMENTO DE CARVALHO

**RESISTÊNCIA SEGUNDÁRIA AOS ANTIRRETROVIRAIS UTILIZADOS PARA
TRATAMENTO EM PACIENTES COM HIV/AIDS: perfil da genotipagem em
pacientes atendidos no Instituto de Doenças Tropicais Natan Portela (IDTNP) -
Teresina (PI)**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação Medicina Tropical, Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Medicina Tropical.

**Orientador: Dr. Filipe Anibal Carvalho Costa
Dr. Kelsen Dantas Eulálio**

**Teresina
Dezembro de 2015**

Ficha catalográfica elaborada pela
Biblioteca de Ciências Biomédicas/ ICICT / FIOCRUZ - RJ

C331 Carvalho, Luciano Mourão Nascimento de

Resistência secundária aos antirretrovirais utilizados para tratamento em pacientes com HIV/AIDS: perfil da genotipagem em pacientes atendidos no Instituto de Doenças Tropicais Natan Portela (IDTNP)- Teresina (PI) / Luciano Mourão Nascimento de Carvalho. – Teresina, 2015.

xiii, 66 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2015.

Bibliografia: f. 63-68

1. Resistência. 2. HIV/Aids. 3. Mutações. 4. Antirretrovirais. 5. Genotipagem. I. Título.

CDD 616.9792

LUCIANO MOURÃO NASCIMENTO DE CARVALHO

**RESISTÊNCIA SEGUNDÁRIA AOS ANTIRRETROVIRAIS UTILIZADOS PARA
TRATAMENTO EM PACIENTES COM HIV/AIDS:** perfil da genotipagem em
pacientes atendidos no Instituto de Doenças Tropicais Natan Portela (IDTNP) -
Teresina (PI)

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação Medicina Tropical,
Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, como
requisito parcial à obtenção do título de Mestre
em Medicina Tropical.

Aprovado em: ___/___/___

Prof. Dr. Filipe Anibal Cavalho Costa

Dedico este trabalho a Deus, por ser essencial em minha vida, autor de meu destino, meu guia, socorro presente na hora da angústia e a toda minha família, com menção especial aos meus pais.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me acompanhar e iluminar em cada passo, tornando possível a realização deste sonho.

Gostaria de expressar meus agradecimentos aos vários amigos e colegas que encontraram tempo e disposição para ajudar-me na concretização deste trabalho.

Um profundo e carinhoso agradecimento à minha amada família pelo incentivo, compreensão e afeto dispensados durante toda essa trajetória.

Enorme gratidão ao meu orientador, da FIOCRUZ/RJ, Dr. Filipe Anibal Carvalho Costa por toda orientação, paciência, zelo, compreensão e estímulo.

Agradeço ao meu mestre, orientador, tutor e ídolo Dr. Kelsen Dantas Eulálio, pela paciência, dedicação, esmero, empenho e carinho destinados ao êxito deste projeto.

Gostaria de deixar registrado o carinho, afeto e incentivo da Dra. Maria do Amparo Salmito Cavalcanti, uma segunda mãe que Deus me ofertou.

Agradeço a todos os professores, coordenadores e amigos mestrandos do Curso de Mestrado em Medicina Tropical – Fiocruz.

Sou muito grato pelas valiosas contribuições dadas pelos componentes da minha banca no exame de qualificação.

Imensa gratidão aos meus queridos amigos residentes do IDTNP pela compreensão, estímulo e torcida.

Agradecimento especial ao meu querido e estimado amigo Dr. Raimundo Félix.

Registro ainda um agradecimento especial a todos que compõem o Instituto de Doenças Tropicais Natan Portela (IDTNP), local onde colhi todos os dados para execução desse projeto.

Carinhoso agradecimento devo expressar aos queridos amigos: Rodrigo Melo e Valdinar Júnior pela imensa contribuição na análise estatística e digitação do bando de dados.

Por fim, agradeço a todos que deram sua parcela de contribuição para a concretização deste projeto de vida.

Independentemente das circunstâncias, devemos ser sempre humildes, recatados e despidos de orgulho.

Dalai Lama

RESUMO

Aids é uma doença que ataca o sistema imunológico devido à destruição dos glóbulos brancos (linfócitos T CD4+). Ela é considerada um dos maiores problemas da atualidade pelo seu caráter pandêmico (ataca ao mesmo tempo muitas pessoas numa mesma região) e sua gravidade. A terapia antirretroviral altamente ativa (HAART) vem permitindo, desde 1996, que maiores taxas de supressão viral máxima sejam atingidas. A resistência viral que surge no contexto de terapia antirretroviral (TARV) e supressão viral inadequada é denominada resistência secundária. Não existem estudos sobre perfil de resistência aos antirretrovirais em pacientes com falha terapêutica dos estados do Piauí e Maranhão. Com o objetivo de avaliar o perfil de resistência do HIV aos antirretrovirais (ARVs), através de genotipagem, em pacientes com falha terapêutica, atendidos no Instituto de Doenças Tropicais Natan Portela (IDTNP), Teresina-PI, no período de 2003 a 2013, foi realizado um estudo descritivo, retrospectivo, do tipo série de casos que compreendeu 246 pacientes. Características epidemiológicas e laboratoriais dos pacientes, bem como informações sobre drogas em uso ou previamente utilizadas pelos pacientes foram obtidas a partir de formulário de solicitação de genotipagem padronizado pela RENAGENO. A lista de mutações presentes e o padrão de sensibilidade do HIV aos ARV foram obtidos do laudo do exame de genotipagem. Os pacientes em sua maioria eram homens com idade acima de 45 anos e residentes em Teresina-PI. As médias de CD4 e Log da CV foram 275cél/mm³ e 4,27, respectivamente. O subtipo B foi identificado em 92,4% dos pacientes. A classe de drogas mais utilizada pelos pacientes foi a dos ITRN, com destaque para o AZT (87%) e lamivudina (86,2%). Em relação aos ITRNN, a frequência de uso de efavirenz (52%) foi bastante superior a da nevirapina (12,2%). Entre os IPs, o lopinavir/r (37,7%), o nelfinavir (20,7%) e o atazanavir/r (14,6%) foram as drogas mais usadas. Os esquemas antirretrovirais mais utilizados foram AZT associado a lamivudina e efavirenz (32,11%) e AZT associado a lamivudina e lopinavir/r (26,02%). Dentre as mutações da transcriptase reversa, as mais frequentes associadas aos ITRN foram a M184V e as TAMs e associada aos ITRNN foi a K103N. As mutações mais frequentes da protease foram M36I, I62V e D30N. No grupo dos ITRN, o tenofovir representou a droga com melhor perfil de sensibilidade (62%), provavelmente associado a seu uso em menor frequência quando comparado aos outros representantes do grupo. A etravirina, ITRNN de segunda geração e não utilizada pelos pacientes, foi a droga desse grupo que mostrou permanecer com maior atividade antiviral (43%); a frequência de resistência viral para nevirapina (33%) e efavirenz (34%) foi semelhante, apesar da primeira ser muito menos utilizada, o que evidencia a existência de resistência cruzada para drogas da mesma classe. No grupo dos IPs, a melhor sensibilidade foi observada para os IPs de mais nova geração, tipranavir (79%) e darunavir (92%). Entre os IPs mais amplamente utilizados, o melhor perfil observado foi para lopinavir/r (69%). Os dados, encontrados em nosso trabalho, serão de suma importância para nortear estudos futuros sobre o tema e estabelecer comparações com trabalhos desenvolvidos na mesma área no Brasil e no mundo.

Palavras-chave: Resistência, HIV/Aids, Mutações, Antirretrovirais, Genotipagem

ABSTRACT

AIDS is a disease that attacks the immune system due to the destruction of white blood cells (CD4 + T lymphocytes). AIDS is considered one of the biggest problems of our time for its pandemic character (attacks while many people in the same region) and its severity. Highly active antiretroviral therapy (HAART) has allowed, since 1996, that higher rates of maximum viral suppression are achieved. Viral resistance that arises in the context of antiretroviral therapy (ARVs) and inadequate viral suppression is called secondary resistance. There are no studies on resistance profile to antiretroviral in patients with treatment failure in the states of Piauí and Maranhão. In order to evaluate the resistance profile of HIV to antirretrovirals through genotyping in patients with treatment failure treated at Instituto de Tropicais Natan Portela (IDTNP), Teresina-PI, in the period from 2003 to 2013, a retrospective and descriptive series of cases study was developed. Epidemiological and laboratory characteristics of 246 patients as well as information about drug use or previously used by the patients were obtained from standardized genotyping application form by RENAGENO. The list of mutations present and the pattern of sensitivity of HIV to ARV were obtained from the survey genotyping report. The patients were mostly men aged over 45 and living in Teresina-PI. The average CD4 and log CV were 275cél / mm³ and 4.27, respectively. B subtype was identified in 92.4 % of patients. The class of drugs most commonly used by patients was that of NRTIs, particularly AZT (87%) and lamivudine (86.2 %). Regarding the NNRTI, the frequency of the use of efavirenz (52%) was much higher than that of nevirapine (12.2%). Among the PIs, lopinavir/r (37.7%), nelfinavir (20.7%) and atazanavir/r (14.6%) were the most used drugs. The most commonly used antiretroviral AZT regimens were associated with lamivudine and efavirenz (32.11%) and AZT associated with lamivudine and lopinavir/r (26.02%). Among the mutations of reverse transcriptase, the most frequently associated with NRTIs were M184V and TAMs, and associated with NNRTI was the K103N. The most common protease mutations were M36I, I62V and D30N. In the group of NRTI, tenofovir represented the drug with better sensitivity profile (62%), probably associated with its use in lower frequency when compared to other representatives of the group. Etravirine, second generation NNRTI and not used by patients was the drug of this group showed that remain with higher antiviral activity (43%); viral resistance to nevirapine frequency (33%) and efavirenz (34%) was similar, although the former is much less used, which demonstrates the existence of cross-resistance to drugs of the same class. In the group of IPs, the best sensitivity was observed for the younger generation of IPs, tipranavir (79 %) and darunavir (92%). Among the most widely used PI, the better profile was observed for lopinavir/r (69%). The data found in our work is of paramount importance to guide future studies and comparisons with work carried out in the same area in Brazil and in the world

Keyword: Resistance, HIV/AIDS, Mutations, Antiretroviral, Genotyping.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Taxa de detecção de AIDS por região de residência e ano de diagnóstico no Brasil, de 2004 a 2013.....	18
Figura 2: Distribuição geográfica dos subtipos e formas recombinantes do HIV-1 identificados no Brasil.....	21
Figura 3: Representação esquemática da estrutura do HIV-1	22
Figura 4: Genoma do HIV-1. Localização relativa dos principais genes do genoma do HIV-1 e principais proteínas que cada gene codifica.	23
Figura 5: Ciclo Replicativo do HIV-1	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Caracterização epidemiológica de 246 pacientes em falha terapêutica e submetidos à genotipagem, atendidos no IDTNP, em Teresina-PI, 2003-2013.....	49
Tabela 2 – Caracterização imunoviológica de 246 pacientes em falha terapêutica e submetidos à genotipagem, atendidos no IDTNP, em Teresina-PI, 2003-2013.	50
Tabela 3 – Drogas utilizadas por 246 pacientes em falha terapêutica e submetidos à genotipagem, atendidos no IDTNP, em Teresina-PI, 2003-2013.....	51
Tabela 4 – Esquemas antirretrovirais, atuais ou prévios, mais frequentemente utilizados por paciente em falha terapêutica, submetidos à genotipagem, IDTNP, Teresina-PI, 2003 a 2013.	52
Tabela 5 – Mutações associadas à resistência do HIV para ITRN identificadas em 246 pacientes com falha terapêutica e submetidos à genotipagem, segundo algoritmo RENAGENO, atendidos no IDTNP, em Teresina-PI, 2003-2013.	53
Tabela 6 – Mutações associadas à resistência do HIV para ITRNN identificados em 246 pacientes com falha terapêutica e submetidos à genotipagem, segundo algoritmo RENAGENO, atendidos no IDTNP, em Teresina-PI, 2003-2013.	54
Tabela 7 – Mutações associadas à resistência do HIV para IP identificados em 246 pacientes com falha terapêutica e submetidos a genotipagem, segundo algoritmo RENAGENO, atendidos no IDTNP, em Teresina-PI, 2003-2013.	55
Tabela 8 – Perfil de sensibilidade do vírus HIV aos antirretrovirais, de acordo com a classe, identificados por genotipagem em 246 pacientes atendidos no IDTNP, Teresina-PI, 2003-2013.	56

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

3TC	Lamivudina
ABC	Abacavir
AIDS/SIDA	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
APV	Amprenavir
ARV	Droga antirretroviral
ATV	Atazanavir
AZT	Zidovudina
CA	Capsídeo
CCR5	Co-receptor quimoquina do tipo 5
cDNA	DNA complementar
CRF	Forma recombinante circulante (circulating recombinant form)
CV	Carga viral
CXCR4	Co-receptor quimoquina do tipo 4
d4T	Estavudina
ddC	Zalcitabina
ddI	Didanosina
DLV	Delavirdina
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DST	Doença sexualmente transmissível
DST/AIDS	Programa de Doenças Sexualmente Transmissíveis/AIDS
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
EFV	Efavirenz
env	Envelope
FDA	Food and Drug Administration
FNT	Fator de necrose tumoral
FPV	Fosamprenavir
FTC	Emtricitabina
HAART	Terapia antirretroviral altamente ativa (Highly Active Antiretroviral Therapy)
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HIV-1	Vírus da Imunodeficiência Humana do tipo 1
HIV-2	Vírus da Imunodeficiência Humana do tipo 2
HIV-BResNet	Rede Brasileira para Vigilância de Resistência a Drogas para o HIV-1
HSH	Homens que fazem sexo com homens
HTLV	Os vírus T-linfotrópicos humanos
IDH	Índice de Desenvolvimento Humano
IDU/UDI	Usuário de Droga Injetável
IDV	Indinavir
IF	Inibidor de fusão
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
II	Inibidor da integrase
IL	Interleucina
IN	Integrase
INNTR/ITRNN	Inibidor de transcriptase reversa não análogo ao nucleosídeo
INTR/ITRN	Inibidor de transcriptase reversa análogo ao nucleosídeo
IP	Inibidor de protease
LACEN	Laboratório Central e de Saúde Pública
LAV	Vírus associado a linfadenopatia
LPV/r	Lopinavir
LTR	Repetições terminais longas (Long Terminal Repeat)
MA	Matriz protéica
mm ³	Milímetro cúbico

MRV	Maraviroque
MS	Ministério da Saúde
n	Número
NC	Nucleocapsídeo
NC	Nucleocapsídeo
nef	Fator negativo
NFV	Nelfinavir
NVP	Nevirapina
OMS	Organização Mundial da Saúde
pb	Pares de base
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PNUD	Programas das Nações Unidas para o Desenvolvimento
pol	Polimerase
PR	Protease
PVHA	Pessoas vivendo com HIV/Aids
RAL	Raltegravir
RENAGENO	Rede Nacional de Genotipagem
REV	Regulador da expressão viral
RNA	Ácido ribonucléico
RNA _m	RNA mensageiro
RT-PCR	Reação em Cadeia da Polimerase do Transcrito Reverso
RTV/r	Ritonavir
SPSS	Software Statistical Package for Social Sciences
SQV	Saquinavir
SRA	Síndrome Retroviral Aguda
SU	Glicoproteína de superfície
T	Timina
T-20	Enfurvitida
TAM	Thymidine analog mutations (mutações associadas aos análogos de timidina)
TAM	<i>Thymidine analog mutations</i> (mutações associadas aos análogos de timidina)
TARV	Terapia antirretroviral
tat	Proteína de transativação
TCD4 ⁺	Linfócito TCD4 ⁺
TCD8 ⁺	Linfócito TCD8 ⁺
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TDF	Tenofovir
TM	Glicoproteína transmembrana
TPV	Tipranavir
TR	Transcriptase Reversa
UNAIDS	Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/Aids (Joint United Nations Programme on HIV/AIDS)
UNESCO	Organização Educacional Científica e Cultural das Nações Unidas (United Nations Educational Scientific and Cultural Organization)
URF	Forma recombinante única (unique recombinant form)
Vif	Proteína viral Vif
Vpr	Proteína viral r
Vpu	Proteína viral u
WHO	Organização Mundial de Saúde (World Health Organization)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 Aspectos Gerais da Epidemiologia e Epidemia do HIV	15
1.2 Vírus da Imunodeficiência Humana: Variação, Estrutura e Genoma Viral	19
1.3 Ciclo Replicativo do HIV-1	24
1.4 Resposta Imune e o Curso da Infecção pelo HIV-1	26
1.5 Estratégias Terapêuticas para o Tratamento da Infecção pelo HIV-1	30
1.6 Resistência Associada a TARV	33
1.6.1 Resistência primária ou transmitida aos ARV	35
1.6.2 Resistência secundária ou adquirida aos ARV	37
1.7 Falha terapêutica	37
1.8 Testes de Resistência Viral	39
1.9 Terapia de resgate	41
1.10 Justificativa	42
2 OBJETIVOS	43
2.1 Objetivo geral	43
2.2 Objetivos específicos	43
3 MATERIAIS E MÉTODOS	44
3.1 Desenho do estudo	44
3.2 Local do Estudo	44
3.3 População do estudo	44
3.4 Critérios de inclusão e exclusão	44
3.5 Metodologia para realização de genotipagem	45
3.6 Interpretação de Mutações de Resistência	46
3.7 Avaliação epidemiológica, imuno-virológica e terapêutica dos pacientes submetidos a Genotipagem	47
3.8 Elaboração de Formulário Padronizado	47
3.9 Produção de Banco de Dados e Análise Estatística	48
3.10 Aspectos éticos	48
4 RESULTADOS	49
5 DISCUSSÃO	57
CONCLUSÕES	62
REFERÊNCIAS	63
APÊNDICES	69
ANEXOS	71

1 INTRODUÇÃO

O HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana) representa um agente patogénico humano individualizado, responsável por um conjunto de manifestações clínicas e patológicas no homem desde 1981, quando surgiu, na Califórnia, uma série de doentes com um conjunto de patologias consideradas raras (GOTTLIEB *et al.*, 1981; SIEGAL *et al.*, 1981).

A notoriedade destas patologias deu-se ao fato de serem consequência de infecções causadas por agentes cujas manifestações clínicas assinaláveis na população em geral somente apareciam em carácter extraordinário (CENTERS FOR DISEASE CONTROL – CDC, 1981).

O aparecimento de infecções por Citomegalovírus, *Toxoplasma gondii* ou *Pneumocystis carinii* (atualmente *Pneumocystis jiroveci*), associado a sarcoma de Kaposi e linfomas, em grupo de indivíduos que tinham em comum, epidemiologicamente, sua homossexualidade masculina e/ou o uso de drogas intravenosas, criou condições para a identificação e caracterização desta nova doença. A este conjunto de patologias, marcadas pela inoperância do sistema imunológico dos indivíduos afetados, denominou-se Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA). A SIDA compreende a fase terminal da infecção pelo HIV e caracteriza-se por um longo período assintomático cuja duração pode variar entre alguns meses e vários anos (CENTERS FOR DISEASE CONTROL, 1981; DREW *et al.*, 1981; SILICIANO, 2006).

A equipe de Luc Montagnier, em 1983, isolou pela primeira vez, no Instituto Pasteur de Paris, o agente etiológico da SIDA a partir de um gânglio linfático de um indivíduo homossexual com linfadenopatias generalizadas (BARRÉ-SINOUSSE *et al.*, 1983). De acordo com Clavel *et al.* (1986), logo depois, outros dois grupos de investigadores liderados por Jay Levy e Robert Gallo, também anunciam o isolamento do vírus causador da SIDA, designando-o por ARV (do inglês, AIDS associated retrovirus) e HTLV-III (do inglês, human T-cell leukemia virus type 3) respectivamente, em oposição à designação inicial de LAV (do inglês, lymphadenopathy-associated virus).

O Comitê Internacional da Taxonomia dos Vírus propôs, em maio de 1986, a designação vírus da imunodeficiência humana, HIV (do inglês, human immunodeficiency virus). Nesse mesmo período, um vírus geneticamente distinto do HIV, prevalente em regiões da África Ocidental, foi identificado e isolado em indivíduos com SIDA. Este novo vírus, que também pertence ao gênero *Lentivirus*, apresentava algumas diferenças nas relações filogenéticas relativamente ao agente viral previamente identificado, bem como em suas

características antigénicas. Com isso, o HIV passou a ser classificado em dois tipos: HIV-1 e HIV-2 (Coffin *et al.*, 1986; Clavel *et al.*, 1986; Clavel *et al.*, 1987).

Inicialmente, o Brasil utilizou a definição de caso estabelecida pelo Centers for Disease Control (CDC), passando a fazer revisões técnicas periódicas em 1987, visando adequar a definição às condições clínicas e laboratoriais prevalentes no país. Atualmente, o Brasil utiliza uma classificação própria para o HIV baseada na avaliação do quadro clínico, presença ou não de doenças definidoras de AIDS, e no *status* imunológico do paciente. Considerando, além da evidência da infecção pelo vírus do HIV, três condições para estabelecer caso de AIDS em indivíduos HIV positivos: pontuação igual ou superior a dez (com pontos atribuídos aos sinais/sintomas e a algumas doenças), presença de doença definidora (incluindo reativação da doença de Chagas e excluindo casos de tuberculose pulmonar e as pneumonias recorrentes) ou ainda a contagem de linfócitos T CD4+ abaixo de 350 (BARTLETT; GALLANT, 2005).

O critério do CDC, de 1993, determina como caso de AIDS os indivíduos com sorologia positiva para o HIV, apresentando contagem de linfócitos CD4 abaixo de 200 células por mm³ ou doença definidora (incluindo tuberculose pulmonar, pneumonias recorrentes e câncer cervical invasivo). Para a definição de casos, a grande maioria dos estudos adotam os critério estabelecido pelos CDC (DREW *et al.*, 1981; SILICIANO, 2006).

1.1 Aspectos Gerais da Epidemiologia e Epidemia do HIV

A síndrome da imunodeficiência humana adquirida (AIDS) corresponde a um dos maiores problemas de saúde pública no mundo. Após mais de 30 anos, continua a ser um dos mais sérios desafios mundiais à saúde, custando mais de 35 milhões de vidas em todo o mundo (UNAIDS, 2012).

A primeira evidência clínica da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) completou trinta anos, desde seu primeiro relato por cientistas nos Estados Unidos. Trata-se de uma síndrome causada pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) cuja transmissão pode dar-se por via sexual, materno-filial ou sanguínea, durante a gravidez ou lactação (UNAIDS, 2012).

Em 25 anos da presença da epidemia, houve aumento progressivo no número de pessoas que vivem com HIV no mundo, decorrente da implementação de ações ao longo dos anos, até cerca de 2005. Considera-se que em 2010 a epidemia atinge certa estabilização e

declínio significativo nas taxas de novas infecções, diminuição de quase 20% nos últimos dez anos em todo o mundo, relatada em 56 países (UNAIDS, 2012).

Apesar dessa diminuição na incidência, ainda é grande o número de pessoas que vivem com HIV. O relatório da *Joint United Nations Programme on HIV/AIDS* (UNAIDS) de julho de 2012, intitulado “Juntos Deteremos a Epidemia”, descreve que em 2011 aproximadamente 34,2 milhões de pessoas viviam com HIV no mundo; 2,5 milhões de pessoas foram infectadas com o HIV, 100 mil a menos do que os 2,6 milhões de novas infecções em 2010. Ainda em 2011, 1,7 milhão de pessoas morreram por causas relacionadas à síndrome. A tuberculose continua sendo a principal causa de morte de pessoas que vivem com HIV. Desde 2009, novas infecções em crianças caíram cerca de 24%. Em 2011, aproximadamente 18 330 mil crianças foram infectadas, quase metade do pico da epidemia em 2003 (570 mil) (UNAIDS, 2012).

Já em 2012 havia, no mundo, 35,3 milhões de pessoas infectadas pelo HIV. Apresentando uma taxa anual de 2,3 milhões de novas infecções e revelando uma diminuição de 33% do número dessa infecção quando comparada ao ano de 2001, que registrou 3,4 milhões de novas infecções. O número de óbitos por AIDS também apresentou declínio com 1,6 milhões de mortes em 2012 contra 2,3 milhões em 2005 (UNAIDS, 2013).

O HIV em adultos jovens com 15 anos ou mais, representa 40% das novas infecções. Trata-se da principal causa de morte em mulheres em idade fértil. Mundialmente, as mulheres com faixa etária entre 15-24 anos são mais vulneráveis à infecção pelo HIV. No entanto, a taxa de infecção é o dobro em homens com essa mesma faixa etária (UNAIDS, 2012).

Em 2011, nos países de renda média e baixa, mais de oito milhões de pessoas que vivem com HIV tiveram acesso ao tratamento com antirretrovirais (ARV) o que representa um aumento de 20% de 2010 a 2011. No entanto, apesar do valor expressivo, corresponde a 54% dos 14,8 milhões de pessoas, aproximadamente, que deveriam estar em tratamento. Para 2015, a UNAIDS estabelece como meta a universalização das terapias, chegando a 15 milhões de pessoas que demandam tratamento. Instituído como lema “Zero novas infecções, Zero discriminação e Zero óbito relacionado a AIDS” (UNAIDS, 2012).

Entre os anos de 2006 a 2011, o financiamento nacional para o HIV ultrapassou os investimentos internacionais. Mais de 80 países aumentaram seus investimentos relacionados à AIDS em mais de 50%. Os países BRICS (Brasil, Rússia, Índia, China e África do Sul) aumentaram as despesas nacionais em mais de 120%. As fontes nacionais correspondem a mais de 80% dos recursos gastos com AIDS na China e África do Sul. A Índia, por sua vez, acordou em aumentar o financiamento interno acima de 90% em sua próxima fase da resposta

a AIDS. Já a Rússia e o Brasil financiam integralmente a sua resposta a AIDS com recursos internos (UNAIDS, 2012).

O Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais estimou, para 2014, aproximadamente 734 mil pessoas vivendo com HIV/Aids no Brasil, correspondendo a uma prevalência de 0,4%. A maior concentração dos casos está entre os indivíduos com idade entre 25 a 39 anos de ambos os sexos; correspondendo a 50,3% entre as mulheres e 54,0% entre os homens, do total de casos desde 1980 a junho de 2014. Nos últimos dez anos, as taxas de detecção de AIDS em homens têm apresentado tendência significativa de crescimento (BRASIL, 2014).

Em 2004, a taxa foi de 25,8 casos para cada 100 mil habitantes, enquanto em 2013, a taxa passou para 26,9 casos, representando um aumento de 4,3%. Já entre as mulheres, nos últimos dez anos observa-se tendência significativa de queda, passando de 16,4 casos em 2004 para 14,1 casos para cada 100 mil habitantes no ano de 2013, representando uma queda de 14,0% (BRASIL, 2014)

Nos estudos realizados pelo Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais em 2008/2009 com grupos populacionais em situação de maior vulnerabilidade, as taxas de prevalência de HIV encontradas foram de 4,9% entre mulheres profissionais do sexo, 5,9% entre usuários de drogas e 10,5% entre homens que fazem sexo com homens (HSH). Já entre os usuários de crack, um outro estudo realizado mediante uma parceria entre o Ministério da Justiça e o Ministério da Saúde/Fiocruz, encontrou uma prevalência de 5,0% (BRASIL, 2014).

Desde o início da epidemia de AIDS até junho de 2014, foram registrados no Brasil 757.042 casos de AIDS. A distribuição proporcional dos casos, por região, mostra uma concentração nas regiões Sudeste (54,4%) e Sul (20%). Enquanto as regiões Nordeste, Centro-Oeste e Norte correspondem, respectivamente, a 14,3%, 5,8% e 5,4% do total dos casos. O Brasil tem registrado, nos últimos cinco anos, uma média de 39,7 mil casos de AIDS (BRASIL, 2014).

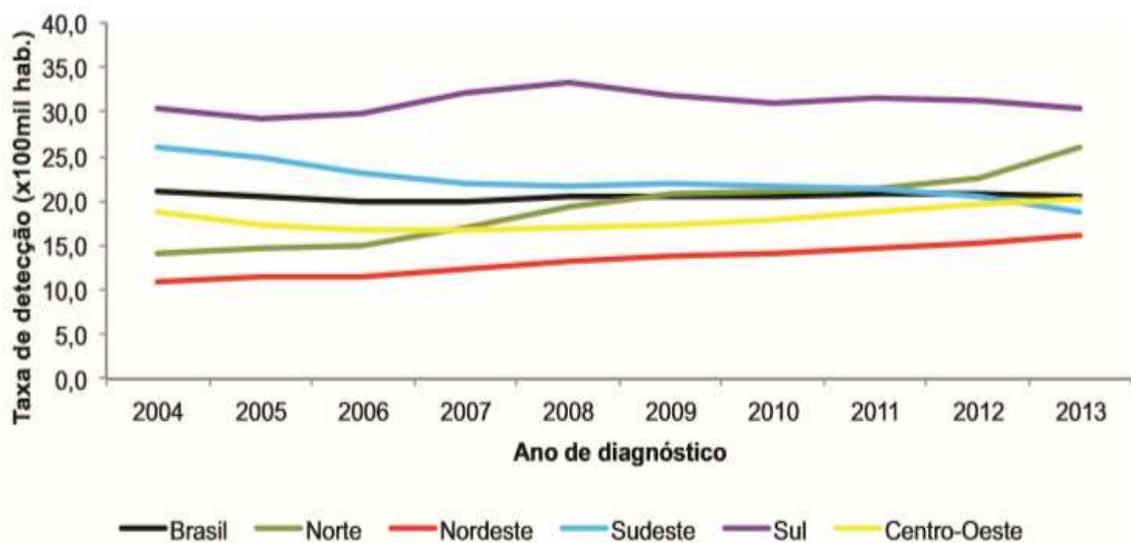
Nos últimos dez anos, a taxa de detecção de AIDS no Brasil tem apresentado estabilização, com uma média de 20,5 casos/100 mil habitantes. Quanto às regiões, observa-se estabilização da taxa na região Sul, com uma média de 31,1/100 mil habitantes. As regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste apresentam uma tendência linear de crescimento significativa, adotando como nível de significância o total de 5% (BRASIL, 2014).

Em 2004, a taxa de detecção registrada para cada 100 mil habitante foi de 15,0 (Norte), 11,0 (Nordeste) e 18,7 (Centro Oeste) casos, enquanto que no último ano (2013) a

taxa foi de 26,1 (Norte), 16,0 (Nordeste) e 20,3 (Centro Oeste) casos para cada 100 mil habitantes, o que representa um aumento de 74,0%, 45,5% e 8,6% para as regiões Norte, Nordeste e Centro Oeste respectivamente (BRASIL, 2014).

A região Sudeste destaca-se como a única que apresenta tendência de queda significativa nos últimos dez anos. Em 2004, a taxa de detecção foi de 26,0 casos/ 100 mil habitantes a qual passou para 18,7 casos em 2013, correspondendo a uma queda de 28,1%. A figura 1 apresenta a variação da taxa de detecção desde 2004 a 2013 nas diferentes regiões do país (BRASIL, 2014).

Figura 1: Taxa de detecção de AIDS por região de residência e ano de diagnóstico no Brasil, de 2004 a 2013.



Fonte: Boletim Epidemiológico HIV/AIDS, 2014.

No Brasil, de 1980 até dezembro de 2013, foram identificados 278.306 óbitos tendo como causa básica a AIDS (CID10: B20 a B24), representando em sua maioria a região Sudeste (61,8%), seguida da região Sul (17,3%), Nordeste (11,9%), Centro-Oeste (5,0%) e Norte (4,0%). (BRASIL, 2014).

Ao avaliar o coeficiente de mortalidade padronizado, observou-se uma tendência significativa de queda para o Brasil como um todo nos últimos dez anos, o qual passou de 6,1 em 2004 para 5,7 óbitos/100 mil habitantes em 2013, representando uma queda de 6,6%. Entretanto, essa mesma tendência não se observa em todas as regiões do país. Somente as regiões Sudeste e Sul apresentam tendência significativa de queda, tornando-se mais acentuada no Sudeste, com 26,3%. As regiões Norte e Nordeste, apresentam tendência de crescimento nos últimos dez anos; no Norte, a taxa aumentou 75,0%, passando de 4,0 óbitos em 2004 para 7,0 óbitos /100 mil habitantes em 2013, e no Nordeste, aumentou 41,9%,

passando de 3,1 óbitos/100 mil habitantes para 4,4 óbitos/ 100 mil habitantes. A região Centro-Oeste, por sua vez, apresentou redução no coeficiente de 4,7 em 2004 para 4,4 em 2013; no entanto, trata-se de uma diferença que não é estatisticamente significativa (BRASIL, 2014)

O primeiro caso de AIDS notificado no Piauí ocorreu em 1986 (um caso); Desde então, segundo dados da Coordenação Estadual de DST/AIDS do Piauí, foram notificados 4.570 casos de AIDS no estado, até 30 de junho de 2013. No Maranhão, os primeiros casos registrados de AIDS datam de 1985 (cinco casos); deste ano até 30 de junho de 2013 foram notificados 11.460 casos de AIDS no estado (BRASIL, 2013).

No Piauí, os municípios que se destacam pelo maior número de casos de AIDS acumulados até junho de 2010 são: Teresina (2.614), Parnaíba (152), Campo Maior (52), Oeiras (52) e Floriano (50). Dentre esses municípios, em 2009, a maior incidência foi observada em Teresina (44,1/100.000 habitantes). Quanto à mortalidade, o estado acumulou um total de 912 óbitos até 2009, tendo como coeficiente de mortalidade 3,6/100.000 habitantes (BRASIL, 2011).

1.2 Vírus da Imunodeficiência Humana: Variação, Estrutura e Genoma Viral

O vírus da imunodeficiência humana (Human Immunodeficiency vírus, HIV), agente etiológico da AIDS, corresponde a um retrovírus da família *Retroviridae*, subfamília *Orthoretrovirinae*, gênero *Lentivirus* e grupo dos Lentivírus dos Primatas. Essa família abrange vírus capazes de provocar infecções persistentes, com evolução lenta. Fato responsável pela degeneração progressiva do sistema imune. Os retrovírus são vírus que têm seu material genético constituído de RNA e apresentam a enzima transcriptase reversa, capaz de transformar o RNA viral em cDNA. A enzima integrase insere o cDNA ao DNA da célula infectada para começar o ciclo viral. (BARRÉ-SINOUSSE *et al.*, 1983; BRASIL, 2014).

Existem dois tipos de HIV: HIV-1 e HIV-2. A distinção dar-se pela diferença na organização do genoma e nas relações filogenéticas com outros lentivírus de primatas. O HIV-1 e o HIV-2 diferem entre si cerca de 60% ao nível da sequência nucleotídica (REQUEIJO, 2006; LEITNER *et al.*, 2005; GAO *et al.*, 1999).

O HIV-1 é responsável pela pandemia global, identificado em 1983, a partir da cultura de células de linfonodo de um paciente com síndrome de linfadenopatia persistente. O HIV-2, descoberto em 1986, encontra-se praticamente confinado a alguns países da África

Ocidental (onde é endêmico) e, esporadicamente, é descrito em outras regiões como Portugal, Coréia, Índia e Filipinas (MARLINK *et al.*, 1994; CLAVEL *et al.*, 1987).

Ainda que os dois tipos apresentem a mesma via de transmissão, possuem potenciais patogênicos diferentes. O HIV-1 possui nível maior de viremia e mostra uma maior taxa de transmissão que o HIV-2. O HIV-2, por sua vez, é menos patogênico e transmissível, podendo isto estar relacionado à sua menor prevalência e distribuição geográfica limitada (BARRÉ-SINOUSSE *et al.*, 1983; HU *et al.*, 1996; MARLINK *et al.*, 1994; CLAVEL *et al.*, 1987).

O HIV-1 é subdividido em 4 grupos. Os três principais grupos filogenéticos do HIV-1 são o grupo M (do inglês, major/main), O (do inglês, outlier) e o grupo N (do inglês, non-M, non-O/new). Os grupos N e O diferem geneticamente entre si e relativamente ao grupo M, representando menos de 5% das infecções de HIV-1 a nível mundial. O vírus HIV-1 do grupo O encontra-se praticamente confinado a indivíduos com origem na África Ocidental. Para o grupo N, se encontram descritos alguns casos pontuais de infecção restritos à região dos Camarões (TAYLOR *et al.*, 2008; BRASIL, 2014; ARIEN *et al.*, 2005).

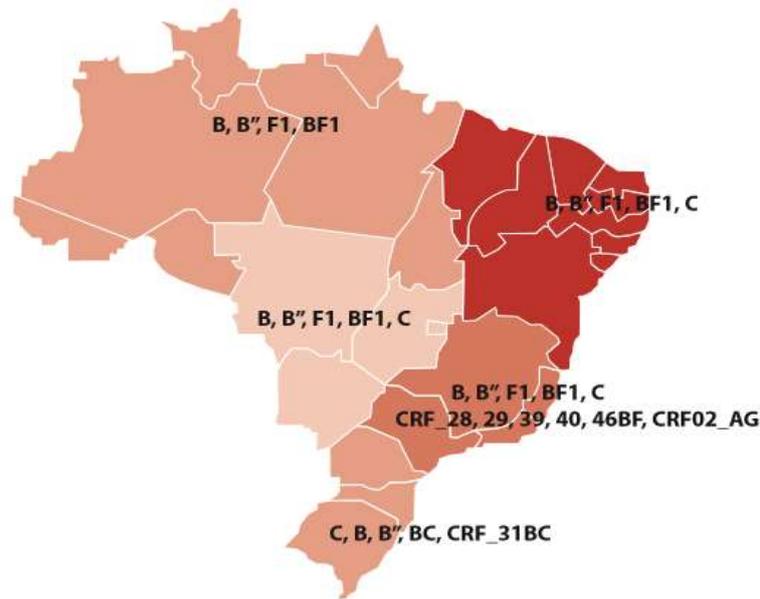
O HIV-1 do grupo M é responsável pela maioria das infecções e diferencia-se em subtipos A, B, C, D, F, G, H, J e K. Os subtipos A e F apresentam uma diversidade genética intra-subtipo tão elevada que foram subdivididos, respectivamente, nos sub-subtipos A1, A2, A3, A4 e A5, e em F1 e F2. No Brasil, o subtipo B do HIV-1 tem sido descrito como o mais prevalente seguido pelo F1 e URF B/F1 nas regiões Norte, Nordeste, Sudeste e Centro-Oeste. Na região Sul há uma alta prevalência do subtipo C, com valores que variam de um estado a outro e do CRF31_BC. (BRASIL, 2014).

O aumento na complexidade da composição de subtipos virais e formas recombinantes têm sido observados nas diferentes regiões brasileiras (Figura 2) ao longo do tempo. No mundo, as formas genéticas mais prevalentes são do subtipo C, responsável por mais de 50% das infecções (BRASIL, 2014; REQUEIJO, 2006; GUIMARÃES *et al.*, 2008).

Episódios de co-infecção simultânea ou sequencial de um mesmo indivíduo torna-se favorecida com a co-circulação de múltiplos subtipos de HIV-1 numa área geográfica restrita. As características específicas deste vírus conduz o surgimento de vírus com moléculas de RNA genômico de origens genéticas distintas. A existência de genomas mosaico está relacionada ao fato do vírus possuir um genoma dimérico capaz de se dissociar do RNA matriz durante a retrotranscrição e ser reassociado em outra localização do mesmo ou tomando como matriz uma outra molécula de RNA genômico, podendo ser de subtipo distinto. Epidemiologicamente, os vírus recombinantes são denominados formas

recombinantes circulantes (CRFs) e formas recombinantes únicas (URFs) (FANG *et al.*, 2004; BRASIL, 2014; TAYLOR *et al.*, 2008).

Figura 2: Distribuição geográfica dos subtipos e formas recombinantes do HIV-1 identificados no Brasil



Fonte: Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV, 2014.

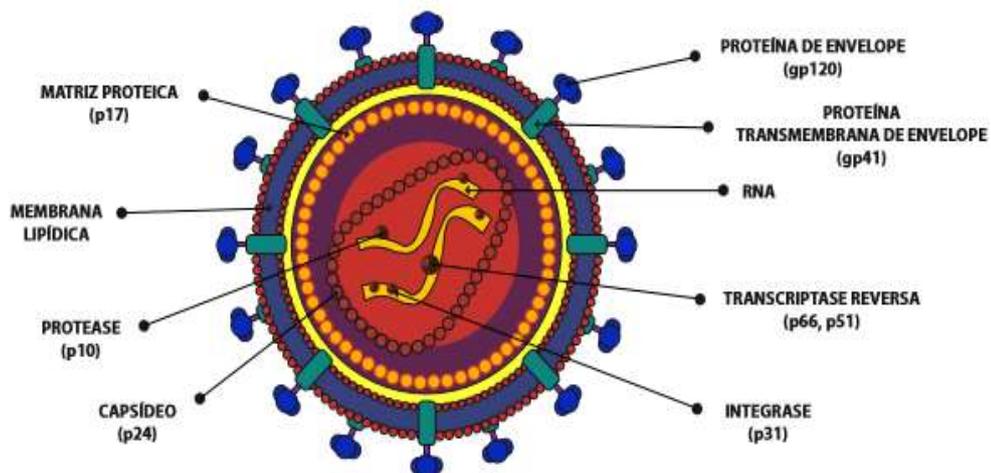
As CRFs são vírus com genomas mosaico que se propagaram com proporções epidêmicas, classificadas com base nas sequências de genomas completos encontradas em pelo menos três isolados virais de indivíduos não relacionados epidemiologicamente. Já as URFs são vírus com genoma mosaico identificados em um único indivíduo ou num grupo de indivíduos relacionados epidemiologicamente (FANG *et al.*, 2004).

A elevada variação genética caracteriza o HIV-1 e representa implicações na biologia e transmissão do vírus, na reatividade e reações cruzadas em testes diagnósticos utilizados para detecção da presença de anticorpos específicos para os antígenos virais, na evolução clínica, produção de uma vacina eficaz, monitorização da infecção, transmissibilidade e patogênese, terapia antiretroviral e epidemiologia. A rápida replicação viral; a elevada taxa de incorporação de erros mediada pela RT durante a retrotranscrição do genoma viral; a elevada taxa de recombinação intermolecular, bem como a pressão seletiva elevada (exercida pelo sistema imunitário do hospedeiro e pela terapêutica anti-retroviral) correspondem a fatores que têm contribuído para o surgimento de novas variantes genéticas, influenciando a velocidade com que estes vírus evoluem (BRASIL, 2014; TAYLOR *et al.*, 2008).

Os vírus apresentam características próprias. A estrutura da partícula viral madura, também denominada *vírion* (Figura 3), possui formato esférico, medindo aproximadamente 100 – 120 nanômetros (nm) de diâmetro, sendo composta em sua camada externa por uma membrana glicoproteica rica em colesterol (capsula viral), derivada da membrana da célula hospedeira (BARRÉ-SINOUSSE *et al.*, 1983).

Como os demais retrovírus, o HIV é um vírus envelopado. Seu envelope é composto de proteínas tetraméricas constituída de duas subunidades associadas, mas não covalentemente (gp120 e a gp41). A glicoproteína (gp) de 120 kilodaltons (kD), gp 120, é mais externa, responsável pela ligação do vírus à célula hospedeira, estando ligada a gp 41 que atravessa o envelope viral (BARRÉ-SINOUSSE *et al.*, 1983). Existe, internamente ao envelope, uma estrutura protéica constituída pela proteína 17 (p17). O capsídeo viral ou cerne, por sua vez, é formado pela proteína 24 (p24) que envolvem as fitas de RNA (Ácido ribonucleico, genoma viral) e as enzimas transcriptase reversa (RT), integrase (IN) e protease (PR) (BRASIL, 2014; BARRÉ-SINOUSSE *et al.*, 1983).

Figura 3: Representação esquemática da estrutura do HIV-1



Fonte: Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV, 2014.

O genoma do HIV1 (Figura 4), possui 9,5 kilobases (kb), de comprimento e inclui três principais genes que codificam as proteínas estruturais e enzimas virais (*gag*, *pol* e *env*), dois genes reguladores (*tat* e *rev*) e quatro genes acessórios (*nef*, *vif*, *vpr*, *vpu*). As Repetições Terminais Longas (LTRs), localizadas em cada extremidade dos genomas, regulam a integração do genoma viral no genoma hospedeiro, sua regulação e expressão de genes virais (BRASIL, 2014).

A nomenclatura das proteínas virais utiliza a abreviação “p” para proteína e “gp” para glicoproteína, seguida de um número que caracteriza o peso molecular em kilodaltons (kd). O gene *gag* codifica a p55 e forma quatro proteínas estruturais do capsídeo: p6, p9, p17 e p24 (BRASIL, 2014; BARRÉ-SINOUSSE *et al.*, 1983).

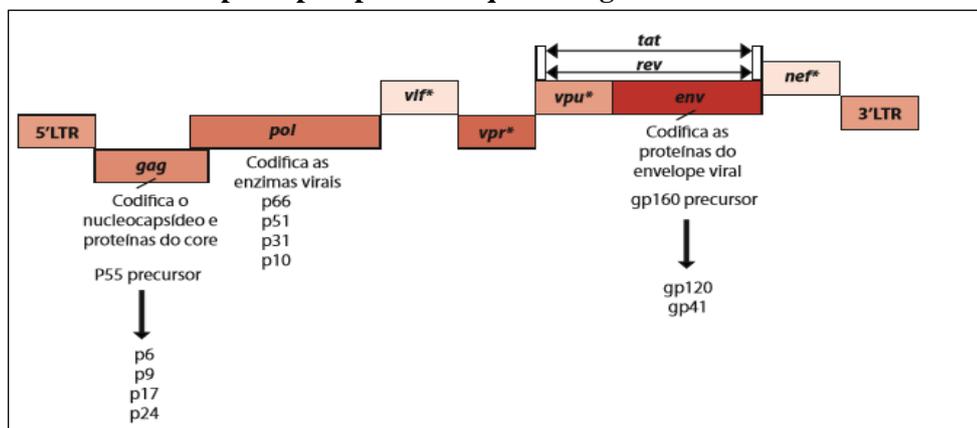
O gene estrutural, *pol*, codifica as enzimas p66 e p51, subunidades que compõem a enzima RT, necessária à replicação do HIV. As enzimas IN e PR também são codificadas pelo gene *pol*. A enzima IN (p31), tem como função principal promover a integração do ácido desoxirribonucleico (DNA) do HIV ao genoma do hospedeiro, enquanto a enzima PR (p10) realiza a clivagem de precursores proteicos em unidades ativas menores após a liberação da partícula viral da célula do hospedeiro. (BRASIL, 2014).

O gene *env* codifica as glicoproteínas gp160, gp120 e gp41 encontradas no envelope viral. A gp160, proteína precursora, é clivada para formar a gp120 e gp41. A gp120 encontra-se projetada na superfície viral na forma trimérica, enquanto a gp41 é transmembrana e se associa à gp120 (BRASIL, 2014; BARRÉ-SINOUSSE *et al.*, 1983).

Durante a replicação viral, as proteínas reguladoras e acessórias possuem funções diferentes. A proteína *tat* regula a transcrição do promotor viral na região U3 das LTRs, através de sua associação aos RNAs recém transcritos.

Já a proteína *rev* é responsável pela saída dos RNAs mensageiros (RNAm) do núcleo para o citoplasma, de forma que novas proteínas *env*, *gag* e *pol* sejam traduzidas. Em sua ausência, nenhuma proteína estrutural pode ser codificada. A proteína *nef*, por sua vez, contribui para a replicação do HIV *in vivo*. As proteínas *vpu* e *vif* estão associadas à infectividade dos vírions em células não infectadas, bem como na liberação dos vírions de células infectadas. Enquanto a proteína *vpr* influencia a replicação viral em células que não estão em divisão (LAKE *et al.*, 2003).

Figura 4: Genoma do HIV-1. Localização relativa dos principais genes do genoma do HIV-1 e principais proteínas que cada gene codifica.



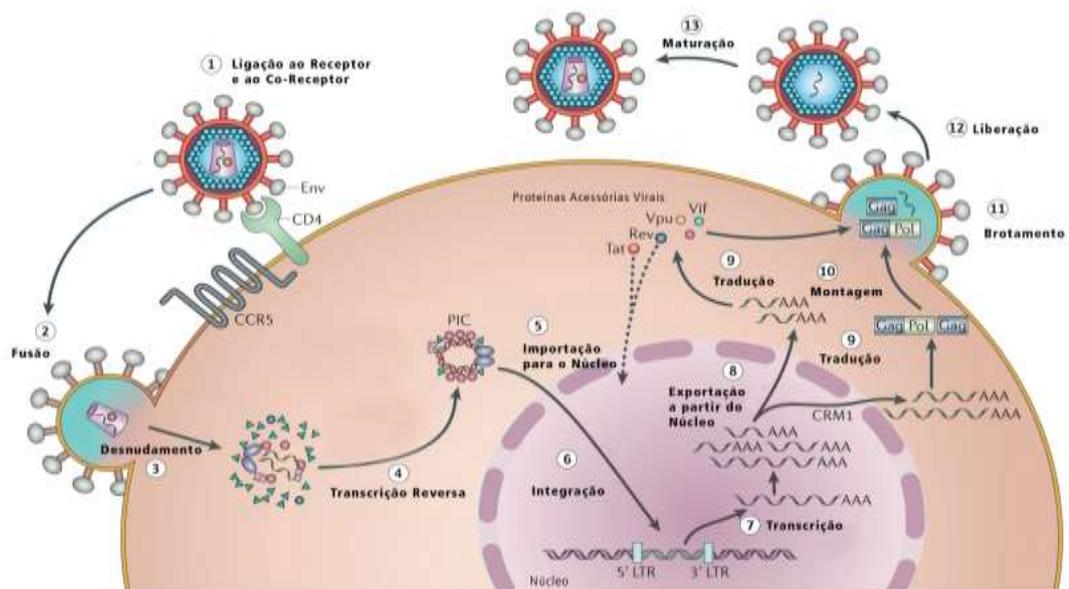
Fonte: Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV, 2014.

1.3 Ciclo Replicativo do HIV-1

O ciclo replicativo do HIV-1 (Figura 5) ocorre em etapas distintas. A etapa inicial abrange o processo de adsorção, fusão, desnudamento, transcrição reversa e integração do genoma viral ao genoma da célula hospedeira. A expressão regulada do genoma proviral integrado, bem como os processos que levam à montagem e maturação do vírus caracterizam a etapa final (FORMAN; WEISS, 2008).

A infecção pelo HIV se inicia com a adsorção, ligação da partícula viral a receptores específicos na superfície da célula alvo. A entrada do vírus HIV-1 na célula do hospedeiro dar-se pela interação de domínios variáveis da gp120 à molécula CD4 da célula hospedeira, receptor primário presente em células dendríticas, macrófagos e linfócitos T. A interação descrita promove modificações conformacionais nas moléculas de gp120, expondo novos sítios de ligação aos receptores de quimiocinas, também considerados co-receptores ou receptores secundários (FORMAN; WEISS, 2008; FREED, 2002, BRASIL, 2014; COHEN *et al.*, 2002).

Figura 5: Ciclo Replicativo do HIV-1



Fonte: Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV, 2014.

Vários co-receptores foram descritos, no entanto, o CXCR4 e o CCR5 destacam-se como os mais importantes. O co-receptor CXCR4 é expresso em linfócitos T CD4+, já o CCR5 está presente nas células dendríticas e nos macrófagos. A escolha do co-receptor é determinado pelo vírus em um evento denominado tropismo viral. O vírus monotrófico,

também conhecido como vírus R5-trópicos ou co-receptor CXCR4, utiliza um único co-receptor para infectar a célula, o co-receptor CCR5. O vírus R5 trópico, geralmente, predomina no estágio inicial da infecção enquanto, no estágio final, ocorre mudança de tropismo e conseqüentemente de co-receptor, predominando o vírus X4 trópico (mais patogênico *in vitro*) (FORMAN; WEISS, 2008; BRASIL, 2014).

A mudança de tropismo viral coincide com os sintomas da AIDS e podem indicar progressão rápida da doença pela redução significativa dos linfócitos TCD4+ e mal prognóstico (BRASIL, 2014).

A ligação da *gp120*, CD4+ e receptor de quimiocina, induz um rearranjo na formação da *gp41*, permitindo a exposição de uma região hidrofóbica denominada peptídeo de fusão que, por sua vez, se insere na membrana da célula hospedeira possibilitando a fusão com o invólucro viral e, por conseqüência, a formação de poros que permitem a entrada do capsídeo viral para o interior da célula hospedeira (NISOLE; SAIB, 2004).

Após a entrada na célula hospedeira. O capsídeo viral é destruído pela ação de enzimas celulares em um processo denominado descapsidação. O conteúdo viral que efetivamente entra na célula constitui-se por duas fitas de RNA, proteínas estabilizadoras de tRNA (complexo ribonucleico), integrase, transcriptase reversa, protease e algumas proteínas acessórias: *vif*, *vpr*, *nif* (SIERRA; KUPFER; KAISER, 2005).

O processo de transcrição reversa ocorre no citoplasma da célula hospedeira e consiste na síntese de DNA (ácido desoxirribonucleico) a partir do RNA genômico viral. Essa reação é catalisada pela enzima RT e utiliza um tRNA celular ou viral como primer. Cada fita de RNA é transcrita em uma fita negativa de DNA (cDNA – complementar DNA), gerando um híbrido RNA-DNA. Sequencialmente, o cDNA é duplicado e transportado pro núcleo a partir do complexo de pré integração (PICs) e a enzima IN promove a integração estável do cDNA viral ao genoma da célula hospedeira, formando o provírus (BARRÉ-SINOUSSE *et al.*, 1996).

O provírus ou DNA proviral, comporta-se agora como um “gene celular”. De acordo com o estado de ativação da célula hospedeira, o provírus pode permanecer em silêncio ou transcricionalmente ativo, para a síntese de proteínas virais e novas cópias de RNA genômico (BARRÉ-SINOUSSE *et al.*, 1996).

Segundo Freed (2002), a transcrição do gene do HIV-1 é realizada por meio do RNA polimerase, no entanto, sua expressão depende do estado de ativação da célula infectada. Essa ativação pode ser desencadeada por citocinas ou antígenos como fitohemaglutinina (mitógeno), fator de necrose tumoral (FNT), interleucina 2 (IL-2), etc. Geralmente, as RNA polimerase são incapazes de transcrever seqüências maiores que algumas centenas de

nucleotídeos. Com isso, a proteína viral *tat* liga-se ao RNAm incipiente aumentando a capacidade de processamento de RNA polimerase em centenas de vezes, permitindo que a transcrição se complete para a produção de RNAm viral funcional (BARRÉ-SINOUSSE *et al.*, 1996).

A expressão do gene viral é dividida em estágio inicial e estágio final. O estágio inicial caracteriza-se pela produção dos genes reguladores e acessórios (*ver*, *nef*, *tat*) e estágio final pelo acúmulo dos genomas virais e expressão dos genes estruturais (*env*, *pol*, *gag*). A mudança do gene inicial para o final é promovida pela proteína *rev* (FREED, 2002).

O produto do gene *pol* corresponde a uma proteína precursora, sequencialmente clivada para formar as enzimas TR, PR e IN. O gene *gag* codifica uma proteína de 55kd que, pela ação da PR viral, é clivada em polipeptídeos p24, p15 e p17. O gene *env*, por sua vez, possui como produto primário a gp160 clivada por uma protease celular no interior do retículo endoplasmático, gerando as proteínas gp 120 e gp 41 (FREED, 2002; BARRÉ-SINOUSSE *et al.*, 1996).

De acordo com Barré-Sinoussi *et al.* (1996), novos vírus são formados através do empacotamento das proteínas funcionais e do RNA viral. Em seguida, ocorre a liberação dos víriões por brotamento a partir da membrana plasmática da célula infectada, contribuindo para a continuidade do ciclo infeccioso.

1.4 Resposta Imune e o Curso da Infecção pelo HIV-1

A infecção pelo HIV-1 cursa com um amplo espectro de apresentações clínicas, desde a fase aguda até a fase avançada da doença que diferem, principalmente, na carga viral apresentada. Em indivíduos não tratados, estima-se que o tempo médio de dez anos entre o contágio e o aparecimento da doença.

A infecções pelo HIV-1 pode ser transmitido através da relação sexual, por meio das mucosas do trato genital ou retal. Durante as primeiras horas após a infecção pela via sexual, o HIV e as células infectadas atravessam a barreira da mucosa, permitindo que o vírus continue infectando linfócitos T CD4+ além de células dendríticas e macrófagos. Partindo dessa população de células infectadas, o vírus é disseminado para os linfonodos locais e depois sistemicamente, em número suficiente para estabelecer e manter a produção de vírus nos tecidos linfoides, além de um reservatório viral latente, principalmente em linfócitos T CD4+ de memória (BRASIL, 2014).

A replicação viral ativa e livre na corrente sanguínea causam a formação de um pico de viremia, após a exposição ao HIV, associada a um declínio acentuado no número de linfócitos T CD4+. A indução da resposta imunológica ocorre na fase de expansão e disseminação sistêmica, no entanto, é tardia e insuficiente em magnitude para erradicar a infecção. Por outro lado, a ativação imune produz uma quantidade adicional de linfócitos T CD4+ ativados que servem de alvo para novas infecções e concomitantemente, o número crescente de linfócitos T CD8+ exerce um controle parcial da infecção, mas não suficiente para impedir, na ausência de terapia, a lenta e progressiva depleção de linfócitos T CD4+ e a eventual progressão para AIDS (BRASIL, 2014).

Os linfócitos T citotóxicos CD8+ específicos contra o HIV são normalmente ativados antes da soroconversão. O surgimento da resposta imune celular HIV-específica e a subsequente síntese de anticorpos anti-HIV promovem a queda da viremia até um nível denominado set point (específico de cada indivíduo) e à cronicidade da infecção pelo HIV.

A resposta imunológica humoral é vigorosa. As proteínas do HIV, em sua maioria, são imunogênicas, mas uma resposta de anticorpos precoce e preferencial é levada contra as glicoproteínas do envelope (*gp120* e *gp41*) e contra a proteína do capsídeo viral (*p24*), produzindo a imunoglobulina M (IgM). A persistência do HIV no organismo e exposição contínua aos mesmos antígenos faz com que a produção inicial de IgM seja substituída pela produção de imunoglobulina G (IgG) (BRASIL, 2014).

Enquanto a IgG anti-HIV atinge níveis séricos elevados e persiste por anos, os níveis séricos de IgM tendem a desaparecer com o tempo ou apresentar padrão de intermitência. A ocorrência de mutações somáticas em determinadas regiões dos genes que codificam imunoglobulinas (hot spots) levam ao aumento da afinidade do anticorpo pelo antígeno, ou seja, os anticorpos de baixa afinidade que são produzidos no início da resposta humoral passam a ser substituídos por anticorpos de alta afinidade. Essa característica de aumento de afinidade juntamente com o aumento da concentração sérica de anticorpos específicos anti-HIV na fase inicial da resposta imune humoral, caracteriza-se como a base racional para o desenvolvimento de testes laboratoriais que classificam a infecção em recente ou crônica (BRASIL, 2014).

A infecção aguda corresponde às primeiras semanas da infecção pelo HIV até a soroconversão (aparecimento dos anticorpos anti-HIV), que ocorre geralmente em torno da quarta semana após a infecção. A infecção pelo HIV, como outra infecção viral aguda, é acompanhada por um conjunto de manifestações clínicas, sendo também denominada Síndrome Retroviral Aguda. Essa, por sua vez, se apresenta geralmente entre a primeira e

terceira semana após a infecção e está presente em 50 a 90% dos indivíduos infectados. O quadro clínico apresenta duração de uma e quatro semanas e cursa com viremia plasmática (carga viral) elevada e queda transitória, porém significativa, da contagem de T-CD4+ (BRASIL, 2014).

Nessa fase, bilhões de partículas virais são produzidas diariamente, a viremia plasmática alcança níveis elevados e o indivíduo torna-se altamente infectante. A síndrome da infecção retroviral aguda ou infecção primária caracteriza-se pela sua replicação viral maciça (a carga viral pode atingir 1.000.000 de cópias/ ml) e por ser assintomática ou oligossintomática (POPE; HAASE, 2003).

Os principais achados clínicos da síndrome incluem mialgia, febre, faringite, adenopatia, exantema, mialgia e cefaleia. No entanto, pode cursar com sinais e sintomas mais exuberantes como sudorese, febre alta, linfadenomegalia (comprometendo principalmente as cadeias cervicais anteriores e posteriores, submandibulares, axilares e occipitais), esplenomegalia, astenia, letargia, depressão e anorexia. Em alguns pacientes pode ser observado exantema de curta duração após o início da febre, afetando geralmente a face, pescoço e/ou tórax superior, podendo se disseminar para braços, pernas, regiões palmares e plantares. (BRASIL, 2013).

As manifestações neurológicas mais comuns são cefaleia e dor ocular, podendo também cursar com quadro de neurite periférica sensitiva ou motora, meningite asséptica, paralisia do nervo facial ou síndrome de Guillan-Barré. Sintomas digestivos como vômito, náuseas, diarreia, úlceras orais e perda de peso podem estar presentes, sendo raro o comprometimento do fígado e do pâncreas (BRASIL, 2013; BRASIL, 2008).

A síndrome é autolimitada e a maior parte dos sinais e sintomas desaparece no período de três a quatro semanas. A presença de manifestações clínicas intensas e mais prolongadas (superior a 14 dias) está associada à progressão mais rápida da doença.

Os sinais e sintomas da SRA são habitualmente atribuídos à outra etiologia devido à semelhança com outras infecções virais, e a infecção pelo HIV comumente deixa de ser diagnosticada. Com isso, diante de um quadro viral agudo, deve-se levar em consideração não só dados clínico do exame físico e as queixas, mas também a situação epidemiológica, incluindo história de possível risco para o HIV, tais como utilização de drogas endovenosas, relações sexuais desprotegidas e acidentes com materiais biológicos. Nessa fase, a sorologia para a infecção pelo HIV é geralmente negativa, mas o diagnóstico pode ser realizado com a utilização de métodos moleculares para a detecção de RNA do HIV (BRASIL, 2008; BRASIL, 2013).

O tempo para o desenvolvimento da AIDS é de dez anos, em média, após a soroconversão. Na fase de latência clínica o exame físico costuma ser normal, exceto pela presença da linfadenopatia que pode persistir após a fase inicial em 50 a 70% dos casos. Há uma semelhança na história natural da infecção em pacientes com e sem linfadenopatia. Em geral, a involução dos linfócito acompanha a evolução da doença. Nessa fase, o diagnóstico diferencial inclui doenças linfoproliferativas e tuberculose ganglionar (BRASIL, 2013).

A plaquetopenia corresponde a um achado comum entre as alterações laboratoriais, embora não apresente repercussão clínica na maioria dos casos. Em alguns indivíduos também pode ser observado presença de anemia (normocítica, normocrômica) e leucopenia discreta. Leões cutâneas inespecíficas como molusco contagioso, foliculite, prurigo, dermatite seborreica também podem estar presente antes do surgimento de doenças definidoras da aids (BRASIL, 2008).

Os episódios infecciosos bacterianos (infecções respiratórias, tuberculose) são mais frequentes quando a contagem de linfócitos T-CD4+ (LT-CD4+) permanece acima de 350 células/mm³. À medida que a infecção progride, começam a ser observadas apresentações atípicas das infecções, reativações de infecções antigas e/ou resposta tardia à antibioticoterapia. Quando a contagem de linfócitos T-CD4+ (LT-CD4+) está situada entre 200 e 300 células/mm³, torna-se mais frequente o aparecimento dos sintomas constitucionais (perda ponderal, febre baixa, sudorese noturna, fadiga), cefaleia, diarreia crônica, alterações neurológicas e lesões orais, como a leucoplasia oral pilosa (BRASIL, 2013).

Alguns achados clínicos de fácil diagnóstico como febre de origem indeterminada, diarreia crônica, bem como a leucoplasia oral pilosa correspondem a bons preditores de evolução da doença. A candidíase oral é um marcador clínico precoce de imunodepressão grave (BRASIL, 2014).

A AIDS é definida com o aparecimento de infecções oportunistas e neoplasias estando a contagem de LT-CD4+, geralmente, abaixo de 200 células/mm³. A neurotoxoplasmose, pneumocistose, tuberculose pulmonar atípica ou disseminada, retinite por citomegalovírus e meningite destacam-se entre as infecções oportunistas, enquanto o linfomas não Hodgkin, sarcoma de Kaposi e câncer de colo uterino são as neoplásicas mais comuns (mulheres jovens). Doenças por dano direto ou mediadas por processos inflamatórios como nefropatia, miocardiopatia e neuropatias podem estar presente durante toda a evolução da infecção pelo HIV-1 (BRASIL, 2013)

O prognóstico e a indicação de início de terapia anti-retroviral é estimada a partir da monitoração da contagem de linfócitos T-CD4+ (LT-CD4+) e a quantificação plasmática

viremia do HIV. A contagem de linfócitos T-CD4+ é internacionalmente utilizada como marcador do estado imunológico dos indivíduos. No entanto, uma única determinação da contagem de linfócitos T-CD4+ pode não ser suficiente para refletir a situação imunológica, tornando-se necessário não apenas a complementação com dados clínicos, mas sua confirmação (BRASIL, 2008).

A variação na contagem de T-CD4+, pode ser desencadeada por estímulo antigênico (vacinações ou uma síndrome gripal), ou oscilação fisiológica da produção desses linfócitos. Em caso de evento clínico, deve ser realizada a contagem de T-CD4+ cerca de quatro semanas após seu controle. A Carga Viral (CV), por sua vez, caracteriza-se como marcador do risco de queda subsequente nas contagens T-CD4+. Com isso, a presença de CV elevada auxilia a prever a queda futura na contagem T-CD4+ (BRASIL, 2008).

1.5 Estratégias Terapêuticas para o Tratamento da Infecção pelo HIV-1

A estratégia mais eficaz contra a progressão da AIDS, do ponto de vista clínico, entre os pacientes diagnosticados com a doença no início da epidemia se baseava no uso correto das profilaxias para as infecções oportunistas, visto que os resultados apresentados pelo primeiro anti-retroviral, disponível comercialmente desde 1987, zidovudina ou azidotimidina (ZDV ou AZT), eram transitórios e não impediam a evolução da infecção (MANNHEIMER *et al.*, 2005).

Segundo Campos (2005), a partir de 1991, surgiram outros medicamentos de mesma classe, os inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeo (ITRN), passando a ser utilizado em dupla terapia e obtendo resultados mais animadores. Com a introdução dos inibidores de protease (IP), no final de 1995, usados em combinação com os ITRN, deu-se início a era HAART (Highly Active Antiretroviral Therapy ou terapia anti-retroviral altamente potente). Posteriormente, os inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeo (ITRNN) – também passou a ser usada na combinação de antiretrovirais denominada HAART. O progresso no âmbito da terapia antiretroviral, em especial na era da HAART, determinaram uma melhora substancial na qualidade de vida e aumento da sobrevivência das pessoas vivendo com HIV/AIDS.

O Ministério da Saúde do Brasil adotou, desde 1996, como uma das estratégias para o controle da epidemia do HIV o acesso universal a terapêutica anti-retroviral (Lei 9.313/96). O Brasil destacou-se como um dos primeiros países a adotar a política de saúde com o acesso universal e gratuito da população aos antiretrovirais (ARVs). A eficácia do tratamento

transformou a infecção pelo HIV em uma doença crônica, proporcionando às pessoas infectadas e sob tratamento uma perspectiva de vida prolongada e com qualidade (UNAIDS, 2012).

A terapêutica com antirretrovirais para os pacientes com infecção HIV não tem o objetivo de erradicar a infecção pelo HIV, mas diminuir sua morbidade e mortalidade, melhorando a qualidade e expectativa de vida. Um esquema terapêutico compreende a associação de drogas com o intuito de diminuir a carga viral plasmática para atingir níveis indetectáveis na circulação periférica de maneira persistente. Estudos comprovam o benefício dessa terapia em pacientes com AIDS, embora nenhum esquema antirretroviral seja curativo (COFFIN *et al.*, 1995; LITTLE *et al.*, 1999; PERNO *et al.*, 2001; VERMUND, 2006; BRASIL, 2008).

O Programa de Doenças Sexualmente Transmissíveis/AIDS do Ministério da Saúde (DST/AIDS/MS), desde 1996, distribui gratuitamente para a rede pública de saúde no Brasil, a terapia antirretroviral altamente ativa (HAART) para indivíduos infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) com critérios para tratamento. Segundo Veras *et al.* (2007), a terapia antiretroviral reduziu significativamente a morbimortalidade e melhorou a qualidade de vida dos indivíduos infectados pelo HIV-1, com aumento da sobrevida e diminuição de infecções oportunistas. (BRASIL, 2010).

A carga viral e contagem de células TCD4+ eram parâmetros utilizados para determinar a necessidade de tratamento. A terapia com antirretrovirais estava indicada para todos os pacientes sintomáticos e todos os não sintomáticos em que a carga viral estivesse em um nível elevado ou em que a contagem de células TCD4+ tivessem atingido um nível de 200/ μ L. O Ministério da Saúde, em 2008, estabeleceu um novo consenso sobre os parâmetros a serem analisados para indicação do início da TARV.

O Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Adultos, publicado pelo Departamento Nacional de DST/Aids Hepatites Virais do Ministério da Saúde do Brasil em 2013, recomenda iniciar TARV para todos os indivíduos sintomáticos, independentemente da contagem de CD4; para assintomáticos, com CD4 menor ou igual a 500 células/ mm^3 ; para assintomáticos com CD4 maior ou igual a 500cél/ mm^3 , na coinfeção HIV-HBV, se houver indicação de tratamento para hepatite B e para gestantes.

Também recomenda considerar TARV nas seguintes situações: neoplasias não definidoras de AIDS com indicação de quimioterapia ou radioterapia, doença cardiovascular estabelecida ou risco cardiovascular elevado (acima de 20% segundo escore de Framingham),

coinfecção HIV-HCV e carga viral do HIV maior que 100.000 cópias/mL (BRASIL, 2013; WEERAWAT *et al.*, 2015).

Para Cardoso *et al.* (2012), os medicamentos para tratamento da infecção são classificados de acordo com seu mecanismo de ação. Atualmente, encontram-se licenciados pela FDA (Food and Drug Administration) 27 agentes terapêuticos anti-HIV-1 em 32 formulações diferentes, incluindo combinações. Esses medicamentos encontram-se categorizado em seis diferentes classes de ARV que atua no bloqueio da maioria dos passos do ciclo replicativo do HIV.

Quadro 1 – Classes de drogas antirretrovirais

Classe	Nome/Sigla
Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos de Nucleosídeos (ITRN)	Abacavir (ABC), Didanosina (ddI), Estavudina (d4T), Lamivudina (3TC), Zidovudina (AZT) e Tenofovir (TDF)
Inibidores da Transcriptase Reversa Não- Análogos de Nucleosídeos (ITRNN)	Efavirenz (EFZ), Nevirapina (NVP), Delavirdina (DLV), Etravirina (ETR)
Inibidores de Protease (IP) (Inibidores da 'Maturação')	Fosamprenavir (FPV), Atazanavir (ATV), Darunavir (DRV), Indinavir (IDV), Lopinavir (LPV), Nelfinavir (NFV), Ritonavir (RTV), Saquinavir (SQV), Tipranavir (TPV)
Inibidores de fusão	Enfuvirtida (T-20), Maraviroque (MVR)
Inibidores de integrase	Raltegravir (RAL)

Fonte: Adaptação do autor, 2015.

De acordo com Dau e Holodniy (2009), a busca por novos ARV é um desafio constante, devido à rápida emergência de variantes virais resistentes e multirresistentes. Alguns compostos, dentre os mais recentes, possuem um único mecanismos de ação e inibem o HIV em fases distintas do ciclo replicativo, o que permite a implementação de novos regimes terapêuticos combinados, caracterizados por elevadas taxa de supressão virológica.

As classes de ARV incluem os Inibidores nucleosídicos da transcriptase reversa (NRTIs); Inibidores não nucleosídicos da transcriptase reversa (NNRTIs); Inibidores da protease (PIs); Inibidor da integrase (INI); Inibidor de fusão e Inibidor de entrada (antagonista do co-receptor CCR5) (KIM; DAAR, 2009; SHAFER; SHAPIRO, 2008).

O tratamento antirretroviral (TARV) eficaz deve ser feito com uma combinação de medicamentos de diferentes classes, escolhido de acordo com o histórico de uso de ARV,

existência de comorbidades, hábitos e estilo de vida de cada paciente. A escolha do TARV inicial, segundo diretrizes nacionais e internacionais, levam em conta a eficácia e a durabilidade dos esquemas, perfis de tolerabilidade e toxicidade favoráveis e a facilidade na utilização dos medicamentos (BRASIL, 2009).

A combinação de fármacos ARV é considerada a melhor estratégia terapêutica para o controle da infecção. Quando aliada à prevenção de resistências, permite a supressão da replicação viral a níveis abaixo dos limites de detecção da carga viral pelos testes laboratoriais, restaurando e preservando a função imunológica, com aumento de linfócitos T CD4+ circulantes.

Segundo Rachid e Magalhães (2012), desde 1996, a terapia antirretroviral potente ou altamente ativa (HAART) vem permitindo que maiores taxas de supressão viral máxima sejam atingidas, bem como menores taxas de falha virológica. Atualmente, constitui a forma de tratamento mais eficaz da infecção pelo HIV-1 e consiste na administração simultânea de, pelo menos, três fármacos diferentes pertencentes a duas classes distintas de anti-retrovirais, no mínimo.

A duração eficaz da TARV está relacionada a diversos fatores, entre eles: comodidade posológica, potência do esquema antirretroviral, efeitos colaterais, adesão do paciente, metabolismo dos medicamentos, alterações na biodisponibilidade, variações na absorção, interações medicamentosas, penetração errática de alguns medicamentos nos reservatórios virais em células mononucleares do sangue periférico e fora do sangue (HIRSCH *et al.*, 2008).

A terapia deve ser iniciada antes que haja risco significativo de infecções oportunistas, ou seja, antes que a contagem de linfócitos CD4+ alcance valores menores de 200 células/mm³, condição que contribui para que as infecções oportunistas graves tornam-se sucessivamente mais comuns podendo resultar em morte. Este risco persiste por um período significativo mesmo após o início do tratamento (RACHID; SCHECHTER, 2003; MAY *et al.*, 2007).

1.6 Resistência Associada a TARV

Mudanças de nucleotídeos denominadas mutações são evidenciadas em análises genotípicas do HIV, as quais podem se manifestar de forma silenciosa ou levar à mudança de aminoácidos, gerando polimorfismos associados, ou não, à resistência às drogas antirretrovirais. Mutações nas regiões da TR e da PR podem implicar na emergência de

resistência aos inibidores da Transcriptase Reversa nucleosídicos (ITRN), inibidores da Transcriptase Reversa não-nucleosídicos (ITRNN) e inibidores da Protease (IP), respectivamente. A variabilidade genética corresponde a grande chave do mecanismo de escape viral, propiciando resistência aos antirretrovirais (DIAZ; FILHO, 2004).

Embora a HAART seja eficaz no controle da carga viral, os vírus que estão presentes em “reservatórios” do hospedeiro permanecendo por longos períodos de tempo, originando as populações virais que, frequentemente, acumulam variantes multirresistentes, podendo assim representar grande infecciosidade e elevada capacidade replicativa.

De acordo com Miller *et al.* (2007), uma importante característica do HIV-1 é a sua diversidade genética que pode desencadear o surgimento de mutações. Uma mutação pode ocasionar alteração da estrutura e função das proteínas através da alteração de aminoácidos. As mutações associadas à resistência podem resultar na resistência cruzada a ARV ainda não utilizados ou na diminuição da susceptibilidade às drogas utilizada, limitando as opções de tratamento.

Os vírus com mutação de resistência possuem capacidade replicativa e poder adaptativo viral menor (fitness viral) que os vírus selvagens. Quando o uso de drogas é interrompido, os primeiros deixam de exercer pressão seletiva enquanto os vírus selvagens, por apresentarem maior vantagem replicativa, voltam a prevalecer no paciente (KANTOR *et al.*, 2004; MILLER *et al.*, 2007).

A resistência genotípica resulta da presença de mutações virais associadas ao comprometimento da susceptibilidade à droga, constituindo uma importante limitação para a terapia com ARVs. (HIRSCH *et al.*, 2008).

O surgimento de mutações de resistência decorre da pressão seletiva exercida pela TARV vigente. No entanto, ao ser avaliado o grau de resistência, devem ser considerados todos os esquemas prévios, pois podem existir mutações de resistência arquivadas, relacionadas a esquemas anteriores que poderão aparecer se forem reutilizados determinados medicamentos (TENORE; SORIANO; DIAZ, 2012).

Trata-se de um fator limitante para o sucesso da terapia da AIDS, visto que essa resistência é consequência da diversidade do HIV. O vírus apresenta elevada taxa de replicação e mutação, o que contribui para o surgimento, de forma contínua, de partículas virais com mutação em seu material genético. A susceptibilidade às drogas diminui com o acúmulo das mutações de resistência o que contribui para a redução progressiva da potência dos componentes do esquema terapêutico (SHAFER, 2002; CLAVEL; HANCE, 2004).

A resistência aos ARV pode ser de origem viral ou celular. De acordo com Deeks (2008), a resistência viral pode ser avaliada através da fenotipagem e genotipagem, subdividindo-se em primária ou secundária.

O potencial dos componentes do esquema terapêutico reduz progressivamente com o acúmulo de mutações de resistência. A replicação contínua do HIV na presença das drogas aumenta a resistência às mesmas. Dessa forma, adesão sub-ótima, esquemas terapêuticos pouco potentes, bem como a absorção limitada dos ARVs podem favorecer o surgimento de vírus resistente, originando um ciclo vicioso de falha terapêutica, tornando o tratamento ainda mais difícil (RICHMAN *et al.*, 2003).

1.6.1 Resistência primária ou transmitida aos ARV

A resistência do HIV-1 na ausência de exposição aos ARV, raramente ocorrem. A resistência primária, em sua maioria, sugere vírus que apresentam mutações de resistência transmitidas de uma pessoa com resistência adquirida. Os indivíduos infectados que apresentam resistência primária ao iniciarem a TARV, necessitam de apenas uma pequena quantidade de mutação para o surgimento da resistência a um ARV, visto que apresentam menor barreira genética para resistência (COUTO-FERNANDEZ *et al.*, 2005; SPIRA, 2003).

A resistência primária aos ARV está associada à transmissão de cepas de HIV com mutações de resistência e implica na possibilidade de uma menor eficácia por ocasião do tratamento, sendo observada em pacientes que não se submeteram a esquemas ARV. Logo, caracteriza-se como a resistência que ocorre pela transmissão de vírus já portadores de mutação de resistência ou decorrentes da geração espontânea de mutações de resistência (mais raro) (SHAFER, 2002; SPIRA, 2003).

As mutação primárias ou principais são localizadas no sitio ativo das enzima ou local próximo a ele e atuam alterando a ligação da droga ou inibindo a atividade viral, promovendo, assim, a redução de susceptibilidade a uma ou mais drogas (PERELSON *et al.*, 1996; SHAFER, 2002; SPIRA, 2003; ALMEIDA *et al.*, 2011).

Visando monitorar a transmissão dos vírus resistentes no Brasil, foi criado a Rede Brasileira para Vigilância de Resistência a Drogas para o HIV-1 (HIV-BResNet). A referida HIV-BResNet desenvolveu uma pesquisa sobre prevalência da resistência primária no Brasil, representando o estudo mais abrangente realizado em território nacional. A pesquisa foi aplicada a 535 casos isolados de pacientes assintomáticos para HIV-1 de diversas regiões metropolitanas brasileiras, diagnosticados em Centros de Testagem e Aconselhamento (CTA).

A amostra abrangia pacientes da região Norte (Pará), Nordeste (Ceará e Bahia), Centro-oeste (Mato Grosso do Sul), Sudeste (estado de São Paulo e Rio de Janeiro) e região Sul (Paraná e Rio Grande do Sul). Dos 409 isolados, sequenciados na região das enzimas PR e TR, a taxa de resistência primária aos ARV correspondeu a 6,6%. Os isolados com mutações associadas aos IP foi de 2,24%, associados ao NRTI foi de 2,23% e aos NNRTI foi de 2,06%. (BRASIL, 2009)

Devido a baixa prevalência de resistência primária no Brasil, evidenciada pelo estudo desenvolvido pelo HIV-BResNet, o programa de controle da AIDS não recomenda, como rotina, testes de genotipagem antes do início da TARV. No entanto, sugere o monitoramento contínuo. A exceção dos testes de genotipagem no pré-tratamento é aplicada às crianças, devido a utilização em grande escala de ARV em gestantes, possibilitando uma indicação mais precisa da TARV adequada (BRASIL, 2009).

O impacto do teste de genotipagem pré-tratamento foi avaliado com base em uma revisão sistemática de estudos publicados acerca de resistência primária ou transmitida, com informações sobre desfecho terapêutico. Os estudos, em sua maioria, eram retrospectivos e apresenta resultados conflitantes. Alguns estudos demonstraram uma maior probabilidade de falha terapêutica em pacientes com mutações de resistência antes do início da terapia ARV, enquanto outros não encontraram diferenças em relação a esse desfecho. Recentemente, novas técnicas para detecção de populações virais minoritárias, mais sensíveis do que a genotipagem convencional, permitiram identificar um maior número de mutações de resistência, correlacionando-as com maior chance de falha terapêutica (BRASIL, 2013).

Independente da pressão seletiva exercida pelo tratamento com ARV, as mutações de resistência primária podem persistir por vários anos. Dessa forma, enquanto se observa uma tendência relativa à redução do surgimento de resistência adquirida durante o uso da terapia tripla, incluindo o maior uso de IP com ritonavir, cresce a vigilância internacional de resistência primária (DEEKS, 2008).

De acordo com Shafer (2009), o desenvolvimento de programas com o intuito de monitorar a prevalência de resistência primária em diferentes regiões torna-se relevante para fundamentar os manuais de tratamento com ARV, orientando programas de prevenção do HIV-1 e promovendo o feedback de sua eficiência. A Organização Mundial de Saúde (OMS) estabeleceu, há cerca de dois anos, um programa global de vigilância genotípica da resistência do HIV-1 aos ARV. Foi recomendado a adoção de um consenso na definição das mutações com impacto de resistência, para comparação adequada das taxas de resistência primária

transmitida em períodos distintos, nas diversas regiões. Para isso, foi adotada uma lista de mutações proposta especificamente para resistência transmitida.

1.6.2 Resistência secundária ou adquirida aos ARV

A resistência secundária, por sua vez, surge no contexto de TARV e supressão viral inadequada. Essa decorre da pressão seletiva exercida pelas drogas. São as mutações que surgem decorrente da falha ao tratamento em suprimir a replicação do HIV. Trata-se, portanto, de uma seleção natural (HIRSCH *et al.*, 2008).

Já as mutações secundárias ou acessórias, melhoram a capacidade replicativa do vírus que já contem uma mutação principal, ou seja, compensam a perda de atividade da enzima. No entanto, quando associada a mutação primária podem reduzir a susceptibilidade à droga (PERELSON *et al.*, 1996; SHAFER, 2002; SPIRA, 2003).

Parece bem claro, portanto, que pacientes portadores de HIV resistentes seriam os que mais colocariam em risco os parceiros sexuais através do sexo desprotegido. Em outras palavras, o mesmo grupo de pessoas que possivelmente não aderiu ao tratamento antirretroviral, tendo como consequência o desenvolvimento de HIV resistente, é o grupo de pessoas que também apresenta dificuldades em aderir às recomendações de uso de preservativo e prevenção da transmissão. Dessa forma, atenção especial com relação a medidas de contenção da transmissão do HIV deve ser dada a esse grupo específico de pessoas. (DIAZ, 2011).

No Brasil, a distribuição gratuita e universal dos medicamentos ARV pelo Ministério da Saúde (MS), iniciou em 1996, com a introdução do esquema TARV, o qual modificou radicalmente a sobrevivência dos portadores de aids. Entretanto Clavel e Hance (2004), descreveram que, com o uso em massa desses medicamentos, ocorreu aumento do risco de resistência aos ARV, havendo assim a necessidade de ser adotado um monitoramento intenso e contínuo dessa resistência.

1.7 Falha terapêutica

O surgimento de resistência aos ARV é fundamental para o entendimento da falha terapêutica. A emergência de cepas resistentes aos ARV caracteriza, simultaneamente, causa e efeito da supressão viral incompleta e está diretamente relacionada às altas taxas de replicação viral. Aproximadamente 10 bilhões de partículas virais produzidas diariamente e, quando

aliada à ausência de mecanismos de auto correção da TR viral, possibilita ocorrência de uma troca de nucleotídeo por ciclo de replicação viral, gerando milhares de mutações virais a cada dia. A pressão seletiva gerada pela TARV seleciona cepas variantes que apresentam melhor fitness devido ao acúmulo de mutações, ou seja, apresentam maior capacidade replicativa em um dado meio e passam a predominar, determinando a falha terapêutica (SHAFER, 2002; PERELSON, 1996).

A avaliação de resposta ao TARV baseia-se, principalmente, em parâmetros laboratoriais. O objetivo é que ao final de 6 meses de tratamento a carga viral seja indetectável. No entanto, uma redução significativa nos seus valores deve ser considerado como resultado positivo, o que é evidenciado por uma queda maior que 1 log (90%) nas primeiras 4 - 8 semanas e maior que 2 log (99%) nas 12 - 16 semanas iniciais de tratamento. (BRASIL, 2008).

A falha terapêutica é definida como a ocorrência de deterioração clínica ou, mais precocemente, pela piora dos parâmetros imunológicos e virológicos. Laboratorialmente, o principal parâmetro corresponde a ocorrência de carga viral ainda detectável após 48 semanas de tratamento em pacientes em TARV inicial. A redução significativa da contagem de LTCD4 (> 25%) caracteriza outro parâmetro que indica falha terapêutica. Dois exames consecutivos devem ser considerados para se confirmar a tendência dos resultados obtidos e minimizar o efeito da variabilidade (de carga viral e/ou contagem de LTCD4) (BRASIL, 2008).

Quando a falha acontece, a causa mais comum é a falta de adesão, muitas vezes em consequência de efeitos adversos que podem levar ao uso irregular ou à interrupção de um ou mais medicamentos. Qualquer que seja a razão, a falha pode resultar em resistência viral e a terapia de resgate é fundamental para buscar novamente a supressão viral, impedindo piora imunológica, progressão clínica e morte (BRASIL, 2010).

Apesar do amplo acesso local ao tratamento e dos avanços em termos de terapêutica, a eficácia da TARV pode vir a ser prejudicada por mutações do vírus que geram resistência aos medicamentos. A terapia antirretroviral atua na redução da carga viral (CV), bem como na reconstituição do sistema imunológico. A falha virológica a TARV é estabelecida quando não há o efeito máximo de supressão virológica pela medicação em uso, ou seja, quando cópias de HIV são detectadas no de sangue do paciente (BRASIL, 2010).

A falha terapêutica pode resultar do defeito do sistema imune, concentração sub ótimas das drogas, falta de adesão ao tratamento, resistência viral ou má absorção. Qualquer que seja a razão, a terapia de resgate é fundamental para buscar novamente a supressão viral,

impedindo piora imunológica, progressão clínica e morte (RICHMAN, 1996; DURANT *et al.*, 1999; GATTEL *et al.*, 2001).

Falhas sucessivas limitam as opções terapêuticas, pois resistência cruzada entre ARVs de mesma classe é esperada. Dessa forma, esquemas terapêuticos impotentes, absorção limitada das drogas, baixa adesão, compartimentos corporais tratados ineficientemente, entre outros fatores podem contribuir para a emergência de vírus resistentes (SHAFER, 2002; CLAVEL; HANCE, 2004).

O acúmulo de resistência aos ARV representa desafios para a melhoria do tratamento de pacientes com vírus mutantes. A realização de testes de resistência para avaliar as mutações otimiza a escolha do esquema e permite alcançar maior eficácia terapêutica; os resultados mais fidedignos são obtidos quando o exame é executado na vigência do tratamento (HISCH *et al.*, 2003).

Não existem estudos ou publicações sobre resistência secundária do HIV aos ARV nos Estados do Piauí (PI) e do Maranhão (MA). O conhecimento das mutações mais prevalentes e dos padrões de resistência aos ARVs existentes em pacientes destes estados submetidos a HAART em hospital de referência do Piauí fornecerá dados regionais sobre este importante e crescente problema de saúde humana, permitindo identificar as mutações mais frequentes associados às falências terapêuticas.

1.8 Testes de Resistência Viral

Na prática clínica, testes para avaliar a resistência do HIV-1, têm se popularizado nos últimos anos. O histórico dos ARV utilizados, bem como os padrões de resistência cruzada podem nortear a decisão racional ao se prescrever um novo esquema terapêutico, porém não são suficientes para otimizar essa conduta. A resistência viral pode ser testada de duas maneiras, através da genotipagem e fenotipagem.

O teste de genotipagem permite determinar a sequência de nucleotídeos do gene da PR e da RT detectando as mutações que conferem a resistência fenotípica. Enquanto o teste de fenotipagem mensura a suscetibilidade do vírus às drogas. Ocorre a partir da amplificação do material genético através da RT pela técnica de reação de cadeia da polimerase (RTPCR) ou amplificação do DNA proviral. Geralmente, é necessária carga viral acima de 500 cópias/mL para realização do exame (HIRSCH *et al.*, 2008).

Para Walkes e Gibb (2011), o teste de genotipagem corresponde ao ensaio baseado na amplificação genética mediante a reação em cadeia da polimerase (PCR) dos genes pol, env e

gag do HIV-1. A identificação da presença de mutações que se traduzem em uma diminuição da susceptibilidade a um ou mais ARVs é permitida pela análise da sequência nucleotídica do genoma. O teste de genotipagem pode otimizar a terapia de resgate, sua realização logo após confirmação de falha virológica norteia a mudança precoce do esquema ARV, reduzindo a chance de acúmulo de mutações progressivas e de ampla resistência ARV. O tempo de execução do exame e o alto custo são compensados pela substituição direcionada do fármaco adequado, reduzindo assim os custos, os efeitos adversos e o aparecimento de novas mutações com resistência.

Estudos sobre a utilização do teste de genotipagem para detecção de resistência do HIV aos medicamentos ARV apontaram benefício da resposta virológica à TARV quando o teste é utilizado para auxiliar na escolha de um esquema de resgate. A comparação prospectiva da magnitude de queda da carga viral ou porcentagem de pacientes com carga viral indetectável após o início de um esquema de resgate montado sem e com auxílio dos testes de genotipagem, observou-se que o desempenho dos esquemas baseados no teste foi superior. Com isso, concluiu-se que a melhor resposta virológica deveria repercutir positivamente na sobrevida. (BRASIL, 2008).

A utilidade do teste de genotipagem para detecção de resistência a drogas possibilita trocas de esquemas ARV com resistência identificada (ao invés de resistência presumida), propicia o uso de drogas ativas por períodos mais prolongados, evita trocas desnecessárias de ARV, evita toxicidade desnecessária de drogas inativas, economiza custos relacionados a trocas de drogas e promove uma noção mais realista do desempenho futuro do tratamento (BRASIL, 2008).

Em 2001, o Ministério da Saúde implantou no Brasil a RENAGENO (Rede Nacional de Genotipagem), atualmente é composta de 23 laboratórios executores e um de resgate. Os dados gerados por essa rede permitem estimar os subtipos genéticos do HIV-1 circulantes nas diferentes áreas geográficas, a prevalência de mutações e sua associação com o estadiamento clínico bem como a exposição prévia aos medicamentos e aos esquemas terapêuticos em uso no momento da coleta. O teste de genotipagem confere maior sucesso no resgate da terapia ARV (SHAFER, 2002).

De acordo com Brasil (2008), a falha virológica confirmada, o uso regular de TARV (durante seis meses, para pacientes em geral e três meses para gestantes) e carga viral com pelo menos 2.000 cópias/ ml correspondem a critérios para realização do teste de genotipagem estabelecidos pela RENAGENO.

A resistência fenotípica, por sua vez, compreende à capacidade replicativa do vírus em um meio de cultura na presença de ARV em diferentes concentrações, análogo aos antibiogramas convencionais. Os estudos fenotípicos do HIV *in vitro* podem determinar a sensibilidade do vírus aos vários medicamentos. O teste de fenotipagem correlaciona a concentração da droga capaz de reduzir pelo menos 50% ou 90% da replicação viral. Com isso, a diminuição da sensibilidade em relação ao vírus selvagem é estimada. Tradicionalmente, era realizado através da cultura de vírus do paciente em células mononucleadas do sangue periférico (PBMC), avaliando sua capacidade de crescimento do vírus em diferentes concentrações de drogas. Trata-se de um processo não automatizado, demorado e de alto custo para sua realização (JAPOUR *et al.*, 1993).

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

1.9 Terapia de resgate

Embora sejam elevadas as taxas de sucesso da TARV, pacientes em falha virológica geralmente necessitam de alterações em seus esquemas ARV, em um novo tratamento denominado “esquema de resgate”. A escolha adequada e oportuna do novo tratamento, bem como o reconhecimento precoce da falha virológica são fundamentais para minimizar as consequências da supressão viral parcial ou incompleta. As principais consequências da supressão viral incompleta são: maior progressão de doença (uma vez que há correlação entre níveis de carga viral e risco de progressão clínica), elevação menos robusta e duradoura da contagem de LT-CD4+, acúmulo de mutações de resistência aos ARV e perda de futuras opções terapêuticas. Cerca de 60% dos pacientes mantidos com supressão viral parcial destacam-se por desenvolvem novas mutações de resistência após 18 meses de tratamento. Há perda de uma opção de medicamento em cerca de um terço dos casos, após um ano sob viremia persistente. (BRASIL, 2013).

O surgimento de novas classes de ARV e novos medicamentos de classes já existentes representa um significativo progresso no manejo de indivíduos multi experimentados e que apresentam cepas resistentes. Ensaios clínicos desenvolvidos nos últimos anos contribuíram para a ampliação do conhecimento sobre terapias de resgate. Entretanto, não permitiram comparações diretas entre diferentes estratégias. Dessa forma, nota-se a escassez de

recomendações consensuais e a conseqüente permanência de incertezas sobre o manejo mais adequado da falha terapêutica, tais como: as melhores combinações de antirretrovirais, a melhor estratégia de sequenciamento de ITRN e o número necessário de medicamentos ativos para a eficácia do resgate (BRASIL, 2008).

Para a estruturação de esquemas eficazes de resgate é recomendado como essencial a solicitação precoce do teste de genotipagem, almejar a carga viral detectável; manutenção de lamivudina (3TC) mesmo na presença de resistência, indução de IP potencializado com ritonavir (IP/r), considerar o efeito residual do ITRN, Não usar ITRNN de primeira geração (efavirenz e nevirapina) se já houve falha prévia a esses medicamentos, evitar a “monoterapia funcional”, escolher IP e ITRN com base na resistência, tolerância e toxicidade dos medicamentos, considerar carga viral, contagem de LT-CD4+ e perfil de resistência à protease para avaliar a necessidade de adição de novas classes de ARV, discutir ou encaminhar casos de multifalha ou resistência ampla. As orientações descritas não são regras absolutas, visto que o grupo de pacientes em falha virológica constitui um grupo bastante heterogêneo, por exemplo, em relação opções de medicamentos ativos, a esquemas antirretrovirais prévios e causas de falha (BRASIL, 2013).

1.10 Justificativa

Estão disponíveis no Brasil cinco diferentes classe de antirretrovirais. Nos últimos anos vem sendo incorporados os medicamentos mais recentemente desenvolvidos, ampliando as opções terapêuticas nacionais (BRASIL, 2013). Porém a conduta em pacientes que desenvolvem resistências a drogas ou foram primariamente infectados por vírus já resistentes permanece um desafio clínico. Teste de genotipagem identificam resistência antirretroviral ao HIV são uteis para selecionar esquemas terapêuticos mais eficazes em pacientes que desenvolvem falhas terapêuticas (SHAFER et al. 2004). Portanto, individualização de estudos com finalidade de melhor compreensão da realidade local se fazem necessários para melhor condução terapêutica nos pacientes com HIV.

Recentemente foi realizada pesquisa sobre resistência primária ou transmitida do HIV (MOURA *et al.* 2015a e MOURA *et al.* 2015b), mas não existem estudos ou publicações sobre resistência secundária do HIV aos ARV nos Estados do Piauí (PI) e do Maranhão (MA). O conhecimento das mutações mais prevalentes e dos padrões de resistência aos ARVs existentes em pacientes destes estados submetidos a HAART em hospital de referência do Piauí fornecerá dados regionais sobre este importante e crescente problema de saúde humana, permitindo identificar as mutações mais frequentes associados às falências terapêuticas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o perfil de resistência secundária do HIV aos antirretrovirais, através de genotipagem, em pacientes com falha terapêutica residentes nos Estados do Piauí e do Maranhão, atendidos no IDTNP, Teresina-PI, no período de 2003 a 2013.

2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar os aspectos epidemiológicos e imunoviológicos de pacientes com falha virológica submetidos à genotipagem.
- Caracterizar o histórico de TARV dos pacientes em falha terapêutica e submetidos à genotipagem.
- Descrever a frequência das mutações associadas a resistência a antirretrovirais através da análise das sequências de protease e transcriptase reversa do HIV-1 em pacientes com falha terapêutica;
- Identificar os perfis de sensibilidade a drogas antirretrovirais, identificados em pacientes com falha terapêutica.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Desenho do estudo

Foi realizado um estudo sobre resistência secundária a antirretrovirais, descritivo, do tipo série de casos retrospectivo, com utilização de base de dados secundários de pacientes submetidos a genotipagem, em Teresina-PI.

3.2 Local do Estudo

O estudo foi realizado no Instituto de Doenças Tropicais Natan Portela, localizado na região central de Teresina, capital do Estado do PI. Esse hospital, de natureza terciária, pertence a rede estadual de saúde e é especializado na atenção a pessoas portadoras de doenças infecciosas. Referência para atendimento ambulatorial, de internação e de urgência das pessoas vivendo com HIV/Aids (PVHA) no Estado do Piauí, atende também indivíduos procedentes de estados vizinhos, especialmente o Maranhão.

3.3 População do estudo

A população alvo do estudo compreendeu os prontuários dos pacientes em terapia antirretroviral, acompanhados no IDTNP, que apresentaram falência terapêutica e realizaram genotipagem pelo programa RENAGENO do Ministério da Saúde, no período de 2003 a 2013.

3.4 Critérios de inclusão e exclusão

Foram incluídos os prontuários dos pacientes de ambos os gêneros e faixas etárias variando de 5 a 72 anos, que preencheram os critérios exigidos para realização de genotipagem pela RENAGENO. Estes critérios sofreram modificações ao longo do tempo, em razão da incorporação de novas drogas, de modificações nas recomendações para início da TARV e da melhoria na sensibilidade do teste de genotipagem, permitindo avaliação de resistência com cargas virais mais baixas.

Os critérios atuais da RENAGENO para realização de genotipagem (BRASIL, 2011; Brasil, 2012) incluem: uso de TARV há pelo menos seis meses e falha virológica confirmada

com dois exames de carga viral superiores a 1.000 cópias/mm³, com intervalo mínimo de quatro semanas entre eles, sendo o último exame de CV nos últimos seis meses. Os critérios anteriormente recomendados para realização do exame de genotipagem em pacientes com falha terapêutica primeiramente estabeleceram carga viral mínima de 5000 cópias/mm³ e posteriormente, 2000 cópias/mm³. (BRASIL, 2008).

Foram excluídos pacientes não residentes nos estados do Piauí e do Maranhão. A exclusão de pacientes residentes em outros estados se justifica pelas seguintes considerações: 1) Piauí e Maranhão fazem parte da região nordeste e compõem a denominada sub-região meio norte, área de transição entre o sertão semiárido e a amazônia úmida; 2) Além de compartilharem particularidades geográficas e ambientais, os dois estados se assemelham em aspectos sociais (como o baixo índice de desenvolvimento humano) e nosológicos (problemas de saúde humana semelhantes), sendo o município de Teresina acolhedor para atendimento de parcela significativa da população maranhense em seus serviços de saúde; 3) Os estudos de avaliação de perfis de resistência a ARV realizados no Brasil habitualmente dizem respeito a estados ou regiões bem definidas, o que possibilita comparação entre diferentes áreas geográficas.

3.5 Metodologia para realização de genotipagem

Os exames da RENAGENO são realizados pelo sistema de Genotipagem HIV-1 ViroSeq, da Celera Diagnostics, um sistema integrado para realização de genotipagem, que avalia a protease e TR do HIV-1, aprovado pelo FDA para uso clínico. Utiliza 9 a 10 *primers* para análise: um para TR, dois para amplificação por PCR, e seis a sete para análises sequenciais. Este processo foi validado para genotipagem de HIV-1 subtipo B, sendo a análise de outros subtipos virais consideradas não adequadas.

Previamente à realização da genotipagem, são necessários os procedimentos de extração do RNA viral, de amplificação de ácidos nucleicos e de detecção da Carga Viral do paciente. Em anos anteriores, as técnicas de NASBA (nucleic acid sequence based amplification – amplificação baseada na sequência do ácido nucleico) e b-DNA (branched DNA) foram utilizadas pela RENAGENO. Desde 2012, foi introduzida a técnica de PCR em tempo real, sendo essa a metodologia atualmente em uso. PCR e NASBA baseiam-se na amplificação dos ácidos nucleicos de forma direta. A técnica de b-DNA é considerada indireta, com hibridização precedendo a amplificação.

Todas essas técnicas utilizadas para determinar a carga viral reproduzem resultados em número de cópias do RNA por ml de plasma. Os valores de cópias do RNA viral por ml são convertidos para logaritmo de base 10 (\log_{10}). Feita a conversão, um valor de logaritmo pode ser comparado com outro valor de logaritmo de um exame anterior do mesmo indivíduo, tendo maior fidedignidade.

O PCR obtém um produto com DNA de 1,8 kb, o qual é sequenciado utilizando terminators premisturados BigDye (Empresa Applied Biosystems), reagentes sequenciadores com sete diferentes primers, obtendo 99,91% de acurácia em 580 bases para o analisador genético ABI PRISM 3100. Dados sequenciais são, então, analisados utilizando o sistema genotípico ViroSeq, o qual fornece dados sequenciais dos *primers* para uma sequência contígua que poderá ser inspecionada para identificação de mutações de resistência a drogas. Sequências processadas incluem a região codificadora para aminoácidos da protease de 1 a 99 e aminoácidos TR de 1 a 238.

Os exames de genotipagem dos pacientes em falha terapêutica são realizados em laboratórios de referência da RENAGENO; as amostras colhidas no IDTNP foram primeiramente avaliadas pelo LACEN Pernambuco (2003 a 2008); posteriormente, de 2009 a 2013, pelos LACEN Ceará e LACEN Minas Gerais.

3.6 Interpretação de Mutações de Resistência

As mutações identificadas nas genotipagens foram avaliadas segundo as regras de interpretação estabelecidas pelo algoritmo brasileiro de genotipagem da RENAGENO, atualmente na versão 12, de maio de 2012 (anexo 1). As mutações constantes neste algoritmo são:

- a) Mutações de resistência para Inibidores da TR análogos de nucleosídeos: são definidas mutações em 23 posições associadas com resistência à classe nos códons: 40, 41, 44, 50, 65, 67, 69, 70, 74, 75, 115, 116, 118, 151, 157, 179, 184, 208, 210, 211, 214, 215, 219. As mutações para ITRN se associam a inserções (ins69), deleções (del67) e substituições de aminoácidos.
- b) Mutações de resistência para Inibidores da TR não análogos de nucleosídeos: são reconhecidas mutações em 15 posições associadas com resistência à classe: códons 90, 98, 100, 101, 103, 106, 108, 138, 179, 181, 188, 190, 225, 227, 230. Foram eliminadas do painel algumas mutações exclusivas para delavirdina, droga

proscrita atualmente. As mutações para ITRNN se associam apenas a substituições de aminoácidos.

- c) Mutações de resistência para inibidores da protease: são conhecidas mutações de resistência, não polimórficas e polimórficas, na protease associadas com resistência a esta classe de drogas em 32 posições: 10, 11, 13, 15, 16, 20, 24, 32, 33, 35, 36, 37, 41, 43, 45, 46, 47, 48, 50, 53, 54, 55, 58, 60, 62, 63, 69, 70, 71, 73, 74, 76, 77, 82, 83, 84, 85, 88, 89, 90, 91 e 93. Em versões anteriores, também eram incluídas as posições 23 e 30, associadas a mutações nelfinavir, droga proscrita há alguns anos. As mutações para IP se associam apenas a substituições de aminoácidos.

Cada droga foi avaliada como: R para resistência, I para resistência intermediária e S para sensibilidade.

3.7 Avaliação epidemiológica, imuno-viológica e terapêutica dos pacientes submetidos a Genotipagem

Características epidemiológicas e laboratoriais dos pacientes, bem como informações sobre drogas em uso ou previamente utilizadas pelos pacientes foram obtidas a partir de formulário de solicitação de genotipagem padronizado pela RENAGENO. A lista de mutações presentes e o padrão de sensibilidade do HIV aos ARV foram obtidos do laudo do exame de genotipagem. Esses documentos foram considerados documentos-fonte da pesquisa.

Na avaliação epidemiológica foram considerados idade, sexo, município de residência, presença de gravidez, data do diagnóstico de HIV.

A avaliação imuno-viológica incluiu os resultados mais recentes da contagem de linfócitos CD4 e da carga viral plasmática, antes da realização da genotipagem e, nos casos examinados a partir de 2005, identificou-se também o subtipo viral.

A avaliação terapêutica identificou as drogas e esquemas antirretrovirais em uso ou utilizados anteriormente.

3.8 Elaboração de Formulário Padronizado

Foi elaborado um formulário padrão (Apêndice) a partir de informações dos documentos fonte, identificadas no item anterior, levando-se em consideração os objetivos do

estudo: avaliação epidemiológica, clínica, imuno-virológica, terapêutica prévia, mutações encontradas e perfil de resistência após análise pelo Banco de dados da RENAGENO.

3.9 Produção de Banco de Dados e Análise Estatística

Foi desenvolvido um banco de dados utilizando o programa SPSS versão 18. Cada questionário foi introduzido no sistema com um número de ordem crescente, a partir da unidade (número 001); a ordem de introdução seguiu aquela de realização do teste na RENAGENO. Os quesitos dispostos no questionário padrão foram introduzidos como variáveis para análise final dos dados. Com fins de validação do banco, o mesmo foi digitado duas vezes pelo autor do trabalho.

A avaliação epidemiológica, imuno-virológica, e de terapêutica previamente utilizada foi obtida através do banco de dados gerado pelo Programa SPSS. Os resultados foram analisados por estatística descritiva, sendo considerados os parâmetros de média, mediana, valores mínimo e máximo.

As mutações encontradas nos resultados de Genotipagem foram consideradas como variáveis individuais e submetidas à análise estatística descritiva do Programa SPSS; as mutações presentes para cada classe de drogas antirretrovirais tiveram suas frequências identificadas. Também foram determinados os percentuais de cada padrão mutacional encontrado. Utilizando o sistema para análise estatística descritiva do Programa SPSS, foram determinadas frequências de resistência, resistência intermediária e sensibilidade para cada droga, obtendo-se assim o perfil de resistência aos antirretrovirais.

3.10 Aspectos éticos

O presente trabalho foi realizado em consonância com a resolução do Conselho Nacional de nº 466, de 12 de dezembro de 2012, que regulamenta e dá diretrizes para pesquisas envolvendo seres humanos no Brasil. A pesquisa só teve início após aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual do Piauí, ao qual foi submetido sob o número CAAE 42333214900005209 (anexo 2). Considerando a natureza retrospectiva do estudo, não havendo contato do direto do pesquisador com os pacientes, foi dispensado o TCLE, termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

4 RESULTADOS

Os resultados obtidos, após a análise do banco de dados, foram setorizados de acordo com os objetivos e metodologias utilizadas, visando melhor entendimento e interpretação dos mesmos.

No período de 2003 a 2013 foram identificados 251 pacientes com falha virológica atendidos no IDTNP; deste total, cinco eram residentes nos estados do Tocantins (2), Pará (2) e Ceará (1) e foram excluídos. A população do estudo, portanto, foi representada por 246 pacientes. Cinco pacientes realizaram mais de uma genotipagem, as quais foram analisadas em conjunto.

Na Tabela 1 constam as características epidemiológicas dos pacientes. Observou-se uma predominância de homens (58,5%) em relação ao percentual de mulheres (41,5%). Dentre os pacientes do sexo feminino 100% eram não gestantes. Com relação à idade, percebe-se que aproximadamente 90% dos pacientes tinham mais que 17 anos de idade e, destes, 52,4% apresentavam mais de 45 anos, sendo a idade média dos pacientes de 46,73 anos. Em termos de procedência, 80,5% dos pacientes pesquisados são do estado do Piauí e, destes, 48% da capital (Teresina). Os outros 19,5% eram pacientes oriundos do estado do Maranhão.

Tabela 1 – Caracterização epidemiológica de 246 pacientes em falha terapêutica e submetidos à genotipagem, atendidos no IDTNP, em Teresina-PI, 2003-2013.

Característica	n	%
Sexo		
Masculino	144	58,5
Feminino	102	41,5
Idade (anos)		
< 18	17	6,9
18 – 45	92	37,4
> 45	129	52,4
Sem informação	08	3,3
Média (variação)	46,73	-
Mediana	46,50	-
Procedência		
Teresina	118	48,0
Interior do PI	80	32,5
Interior do MA	48	19,5

Fonte: Pesquisa direta, 2015.

Observou-se que dentre os 246 pacientes avaliados 85,4% apresentavam contagem de células CD4 inferior a 500 cél/mm³, destes 43,9% tinham CD4 abaixo de 200 cél/mm³ (risco agravado de doenças e infecções), 41,5% apresentaram CD4 entre 200 e 500 cél/mm³ e 11,8% possuíam CD4 acima de 500 cél/mm³ (imunidade considerada normal em pessoas imunocompetentes).

Com relação à carga viral (CV), mais de 66,3% dos pacientes possuem CV detectável, e destes, 14,6% tinham CV maior de 100.000 cópias (carga viral alta). Em torno de 31% dos pacientes apresentam carga viral baixa (< 10.000 cópias). A média da CV foi de 53.607 cópias e 4,27 log.

A subtipagem viral foi realizada nos pacientes do estudo, a partir do ano de 2005 correspondendo a 222 pacientes; deste total todos eram do grupo M do HIV-1 e 92,4% pertencentes ao subtipo B (subtipo mais prevalente no Brasil) e 7,6% pertencentes ao subtipo não B. Dentre os últimos, 3,2% são pertencentes às formas recombinantes F1, 2,2% pertencentes à forma recombinante BF1 e 2,2% não tiveram seu subtipo viral definido.

Tabela 2 – Caracterização imunoviológica de 246 pacientes em falha terapêutica e submetidos à genotipagem, atendidos no IDTNP, em Teresina-PI, 2003-2013.

Aids	n	%
SUBTIPO VIRAL		
Subtipo B	205	92,4
Subtipo não B	17	7,6
CD4 (cél/mm³)		
< 200	108	43,9
200 – 500	102	41,5
> 500	29	11,8
Sem informação	07	2,8
Média (variação)	275 (2 a 1726)	
Mediana	225	
Carga viral (cópia)		
< 10.000	76	30,9
10.000 a 100.000	127	51,7
> de 100.000	36	14,6
Sem informação	07	2,8
Média (variação)	53.607 (1.413 a 757.057)	
Mediana	16.847	
Log da CV		
Média (variação)	4,27 (3,15 a 5,88)	
Mediano	4,22	

Fonte: Pesquisa direta, 2015.

Na tabela 3, observou-se que dentre as drogas utilizadas pelos 246 pacientes em falha terapêutica e submetidos à genotipagem, as da classe dos inibidores de transcriptase reversa nucleosídeos tiveram destaque, nesta classe as drogas antirretrovirais (ARVs) mais usadas foram o zidovudina (87%), a lamivudina (86,2%) e a didanosina (31,7%). Entre os inibidores de transcriptase reversa não nucleosídeos teve destaque o efavirenz com um percentual de 52%. Com relação aos inibidores de proteases, as drogas ARVs mais utilizadas foram o lopinavir/r com 37,7%, o nelfinavir com 20,7% e o atazanavir/r com 14,6%. As drogas ARVs em destaque numérico no estudo fazem parte dos esquemas preferenciais recomendados para início de tratamento antirretroviral (TARV) pelos consensos brasileiros no transcorrer dos anos da pesquisa.

Tabela 3 – Drogas utilizadas por 246 pacientes em falha terapêutica e submetidos à genotipagem, atendidos no IDTNP, em Teresina-PI, 2003-2013.

Antirretroviral	n	%
ITRN		
Zidovudina	214	87,0
Lamivudina	212	86,2
Didanosina	78	31,7
Estavudina	67	27,2
Tenofovir	38	15,4
Abacavir	07	2,8
ITRNN		
Efavirenz	128	52,0
Nevirapina	30	12,2
IP		
Lopinavir/r	83	37,7
Nelfinavir	51	20,7
Atazanavir/r	36	14,6
Indinavir/r	18	7,3
Saquinavir/r	11	4,5
Darunavir/r	01	0,4
Tipranavir/r	01	0,4
Fosamprenavir/r	01	0,4

Fonte: Pesquisa direta, 2015.

Na tabela 4, observou-se os esquemas antirretrovirais, atuais ou prévios, mais frequentemente utilizados pelos pacientes, e desta análise, verificou-se que entre os pacientes que fizeram uso de duas ou mais drogas antirretrovirais os esquemas mais usados foram: AZT + 3TC + EFV com um percentual de 32,11% (sendo a mais frequente), AZT + 3TC + LPV/r com um percentual de 26,02%, AZT + 3TC + ATV/r com um total de 14,23% e d4T + 3TC +

EFV com 13,01%. Os esquemas que tiveram a menor assiduidade de uso nos pacientes foram: AZT + 3TC, com percentual de 4,88% e d4T + 3TC + LPV/r com um percentual de 5,28%.

Tabela 4 – Esquemas antirretrovirais, atuais ou prévios, mais frequentemente utilizados por paciente em falha terapêutica, submetidos à genotipagem, IDTNP, Teresina-PI, 2003 a 2013.

Esquema ARV	n	%
AZT + 3TC + EFV	79	32,11
AZT + 3TC + LVP/R	64	26,02
AZT + 3TC + ATV/R	35	14,23
d4T + 3TC + EFV	32	13,01
AZT + ddI	25	10,16
TDF + 3TC + EFV	22	8,94
AZT + 3TC + NFV	20	8,13
AZT + ddI + NFV	16	6,50
d4T + 3TC + NFV	15	6,10
AZT + 3TC + NVP	14	5,69
d4T + 3TC + LVP/R	13	5,28
AZT + 3TC	12	4,88

Fonte: Pesquisa direta, 2015.

Verificou-se, na tabela 5, que dentre as mutações associadas a resistência do HIV para ITRNs, nos 246 pacientes, no período de 2003 a 2013, as mutações que se destacaram foram a M184V, com percentual de 49,6% e as TAMs (mutações associadas à timidina). Dentre estas últimas, as do tipo 1 (M41L, L210W, T215Y) apareceram em destaque com percentuais, respectivos, de 20,7%, 17,9% e 21,1%. Com relação às TAMs do tipo 2, destacaram-se as: D67N (23,6%), K70R (16,7%), K19Q (10,2%), T215F (9,4%) e K219E (7,7%).

A mutação M184V, induzida pelo uso de lamivudina e propiciando para tal ARV resistência completa, foi a mutação que apresentou maior destaque nesta classe (ITRN).

Tabela 5 – Mutações associadas à resistência do HIV para ITRN identificadas em 246 pacientes com falha terapêutica e submetidos à genotipagem, segundo algoritmo RENAGENO, atendidos no IDTNP, em Teresina-PI, 2003-2013.

Mutação	n	%
M184V	122	49,6
D67N	58	23,6
T215Y	52	21,1
M41L	51	20,7
L210W	44	17,9
K70R	41	16,7
K219Q	25	10,2
T215F	23	9,4
K219E	19	7,7
E44D	18	7,3
V75M	16	6,5
L74V	10	4,1
T69N	9	3,7
T69D, K65R	7	2,8
M184L, Y115F	3	1,2
K219R, T215N	2	0,8
K219N, T215C, T215I, T215V, Y188N, Y188L, K70E, Q151M, E44A	1	0,4

Fonte: Pesquisa direta, 2015.

A tabela 6 que retrata as mutações associadas à resistência do HIV para as droga da classe dos ITRNNs, observou-se que a mutação que obteve maior destaque foi a K103N (43,5%), induzida pelo efavirenz. Também foram encontradas as mutações: G190A (10,6%), K101E (5,7%), V08I (4,9%) e Y81C (4,1%). As mutações de resistência selecionadas pelos ITRNNs de primeira geração mesmo estando presentes de modo unitário, conferem resistência ampla e cruzada a todas as drogas da classe.

Tabela 6 – Mutações associadas à resistência do HIV para ITRNN identificados em 246 pacientes com falha terapêutica e submetidos à genotipagem, segundo algoritmo RENAGENO, atendidos no IDTNP, em Teresina-PI, 2003-2013.

Mutação	n	%
K103N	107	43,5
G190A	26	10,6
K101E	14	5,7
V08I	12	4,9
Y81C	10	4,1
L90T	9	3,7
K101Q	8	3,2
A98 G, V106I	7	2,8
G190S, V179D, 138 A	6	2,4
Y188L, V106M	5	2
L100I, K101P, K103S, M230L	4	1,6
V106A	3	1,2
Y188C, V179T, F227L	2	0,8
K101H, Y181I	1	0,4

Fonte: Pesquisa direta, 2015.

Observou-se, após análise de dados da tabela 7, presença de mutações principais e acessórias, associadas à resistência do HIV aos ARNs da classe dos inibidores de protease. Dentre as mutações principais, algumas tiveram destaque, como por exemplo, a V82A (14,2%) associada a resistência com quase todas as drogas desta classe, a M46I (10,2%) associada a resistência com quase todos os IPs, a Q58E com 8,5% e a L33F (6,9%) associada a resistência dos IPs: ATV/r, LPV/r, TPV/r e APV/r. Com relação às mutações acessórias, encontradas no estudo, percebeu-se um destaque para as seguintes mutações: M36I (20,7%), com o maior percentual dentre todas as drogas desta classe (relacionada à resistência de quase todos os IPs), a I62V (17,5%) que está associada à resistência SQV/r e NFV, a D30N (16,3%), associada ao nelfinavir e saquinavir, V82A (14,2%) associada a resistência em vários IPs e a L63P (13,8%) também associada a resistência com vários IPs.

Tabela 7 – Mutações associadas à resistência do HIV para IP identificados em 246 pacientes com falha terapêutica e submetidos a genotipagem, segundo algoritmo RENAGENO, atendidos no IDTNP, em Teresina-PI, 2003-2013.

Mutação	N	%
M36I	51	20,7
I62V	43	17,5
D30N	40	16,3
V82A	35	14,2
L63P	34	13,8
I93L, A71V	33	13,4
L10V	32	13
L10I	31	12,6
I15V	30	12,2
I54V	27	11
M46I	25	10,2
D60F, K20T	22	8,9
Q58E	21	8,5
70R	19	7,7
A71T	18	7,3
L33F	17	6,9
L33I, T74S, M46L	12	4,9
N88D	11	4,5
G73S, E34Q	9	3,7
S37D, L24I, R55R, K43T, G16E, L76V	8	3,2
I84V, F53L, H69K, L89M	7	2,8
K20R, K20I, L89I, G73T, T54P	5	2
V82F, V32I	4	1,6
B82I, V82T, I50V, I54L, N83D, L47V, L33V	3	1,2
V82S, L89V, 69N, V11L, M36V, M46V, H69Y, A71I, A71L, N88S, L89V, L85V, L13V, L47A	2	0,8
K20M, W11L, L10F, L10R, H69R, I54M, I54A, G73C, T74A, K45R, T91S, V82M, G16A, E35G	1	0,4

Fonte: Pesquisa direta, 2015.

Com relação à tabela 8, que avalia o perfil de sensibilidade do vírus HIV-1 com antirretrovirais, percebeu-se que dentro da classe dos inibidores de transcriptase reversa nucleosídeos houve maior grau de sensibilidade na lamivudina, com um percentual de 84%, seguido com o tenofovir, com 62%, da estavudina com 35% e, posteriormente a zidovudina com 34%. Em relação aos ARVs da classe dos ITRNNs, percebeu-se que a maior sensibilidade foi em relação à etravirina (43%), tendo o efavirenz e a nevirapina percentuais bem próximos, respectivamente, (34% e 33%). Em termos de resistência, nesta classe, percebeu-se percentuais aproximados para efavirenz e nevirapina, respectivamente 65% e 66%. Observou-se o perfil dos inibidores da protease e percebeu-se uma maior sensibilidade para darunavir/r (92%), seguido de tipranavir/r (79%) e lopinavir/r com 69%. A maior

resistência, na classe dos IPs, foi verificada no nelfinavir com 53%, seguido de fosamprenavir/r com 43% e saquinavir/r com 37%.

Tabela 8 – Perfil de sensibilidade do vírus HIV aos antirretrovirais, de acordo com a classe, identificados por genotipagem em 246 pacientes atendidos no IDTNP, Teresina-PI, 2003-2013.

Antirretroviral	Sensibilidade		Resistência		Intermediário		Total	
	n	%	N	%	n	%	n	%
ITRN								
Tenofovir	153	62	86	35	7	2	246	100
Estavudina	86	35	113	46	47	19	246	100
Zidovudina	84	34	125	51	37	15	246	100
Lamivudina	27	11	207	84	12	5	246	100
Abacavir	25	10	118	48	103	42	246	100
Didanosina	17	7	119	48	110	45	246	100
ITRNN								
Etravirina	106	43	27	11	25	10	158	100
Efavirenz	84	34	160	65	2	1	246	100
Nevirapina	81	33	163	66	2	1	246	100
IP								
Darunavir/r	192	92	2	1	15	7	209	100
Tipranavir/r	123	79	12	8	20	13	155	100
Lopinavir/r	170	69	30	12	46	19	246	100
Atazanavir/r	154	63	55	22	37	15	246	100
Indinavir/r	145	59	79	32	22	9	246	100
Saquinavir/r	143	58	91	37	12	5	246	100
Fosamprenavir/r	69	55	54	43	2	2	125	100
Nelfinavir	69	43	85	53	6	4	160	100

Fonte: Pesquisa direta, 2015.

5 DISCUSSÃO

Os primeiros casos de Aids notificados no estado do Maranhão datam de 1985 (5 casos) e no estado do Piauí, o primeiro caso foi notificado em 1986. No Maranhão, desde de 1985 até 30 de junho de 2013, foram notificados 11.460 casos de Aids em todo o estado, sendo a maior incidência na capital (São Luís) com 3.622 casos. No Piauí, de 1986 até 30 de junho de 2013, foram notificados 4.570 casos em todo o estado, sendo a maior incidência na capital (Teresina) com 2.614 casos (BRASIL, 2004).

Este foi o primeiro estudo detalhado sobre o padrão molecular do HIV-1 que circula entre os pacientes com falha terapêutica e resistência secundária aos ARV, dos estados do Maranhão e Piauí, nordeste do Brasil, onde o crescimento significativo em casos de Aids e mortalidade associada têm sido relatada na última década (BRASIL, 2013). Por outro lado, trabalhos recentes sobre resistência transmitida conduzidos no IDTNP mostraram em pacientes do Piauí alta taxa de resistência transmitida em HSH (27,3%), contrastando com taxas moderadas observadas em mulheres (9,1%) e homens heterossexuais (10%); nos pacientes do estado do Maranhão a frequência de resistência transmitida foi inferior (3,8%). (MOURA *et al.* 2015a; MOURA *et al.*, 2015 b.).

O Instituto de Doenças Tropicais Natan Portela (IDTNP) é o hospital de referência no estado do Piauí para HIV e outras doenças infecciosas. Neste serviço de referência existente na capital do estado, são atendidos pacientes de todo estado e também de estados vizinhos, em especial, do estado do Maranhão. O atendimento é efetivado por intermédio de acompanhamento ambulatorial e/ou internações onde são ofertadas as drogas ARVs aos pacientes e feito o acompanhamento com os exames preconizados pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2013).

Desde de 2001, de modo pioneiro, o PN/DST-Aids implantou a Rede Nacional de Genotipagem para o HIV. Como o exame ainda não estava devidamente padronizado e os estudos eram preliminares, foi implantado em caráter experimental, com critérios de seleção bem restritos e com disponibilização de um número limitado de exames. Esta iniciativa resultou numa grande base de dados sobre a resistência secundária aos ARVs no Brasil, que compilado de modo organizado em cada região, tem possibilitado agregar importante conhecimentos sobre o perfil de resistência secundária do HIV-1. (CAVALCANTI, 2007)

Neste trabalho, foi realizado um estudo sobre resistência a ARVs, descritivo, do tipo série de casos retrospectivo, com utilização de base de dados secundários de pacientes, submetidos a genotipagem, atendidos no IDTNP entre 2003 e 2013. Foram avaliadas as

mutações relacionadas a TR e a IP, verificado o perfil de resistência do HIV aos ARVs e levantado as principais características epidemiológicas e laboratoriais dos pacientes em falha terapêutica.

O número de casos de pacientes com falha terapêutica submetidos à genotipagem aumentou ao longo anos e em 2012 e 2013, os percentuais foram respectivamente de 17,81% e 20,24%, perfazendo aproximadamente 40% do total. Em relação à procedência, metade (50%) dos pacientes eram residentes na capital do estado do Piauí (Teresina) e cerca de 1/5 dos pacientes oriundos do interior estado do Maranhão, refletindo percentual significativo de atendimentos realizados em Teresina a pacientes deste estado vizinho. A atratividade do polo de saúde de Teresina para pacientes de outros estados se aplica também a outras condições infecciosas e a doenças não infecciosas, em razão da excelência na qualidade do atendimento e relativo fácil acesso.

Neste estudo foram incluídos apenas pacientes do Piauí e o Maranhão, estados que guardam não apenas similaridades geográficas, mas também sociais e culturais. Entre as 27 unidades federativas, estes estados representam, respectivamente, o vigésimo quarto e vigésimo sexto no índice de desenvolvimento humano (IDH). (PNUD, 2010).

Neste contexto social desfavorável, a propagação do HIV e sua evolução natural para fase Aids adquire proporções que carecem de um olhar atencioso para que se possa freiar o crescimento desta enfermidade, melhorar o acesso à saúde e propiciar qualidade de vida a esses pacientes. É importante ressaltar que no estado do Maranhão, o diagnóstico da infecção pelo HIV é considerado tardio, pois os casos de recente diagnóstico frequentemente têm infecção oportunista. Agostinho (2015), identificou problema semelhante no Piauí: ainda que o tratamento ARV seja introduzido precocemente, o diagnóstico é geralmente tardio com elevada frequência de pacientes sintomáticos de linfócitos CD4.

Houve predomínio do sexo masculino na população estudada nesse trabalho, na proporção de 1,4 homem para cada mulher. Essa proporção é próximo ao verificado no conjunto de casos brasileiros de Aids notificados até o presente ao Ministério da Saúde (BRASIL, 2013). No estudo de Medeiros *et al.* (2007), realizado para avaliar a resistência secundária no estado do Ceará, o sexo masculino contribuiu com 76,2% dos pacientes, frequência superior a do presente estudo (58,2%). Em relação ao sexo, a média dos pacientes do Ceará foi de 38 anos, inferior a média encontrada neste estudo (46 anos) e próxima a média de 35 anos identificada por Rodrigues *et al.* (2005), em São Paulo. Nos estudos de Varella *et al.* (2008) e Rodrigues *et al.* (2005), realizados no Rio de Janeiro e em São Paulo o sexo masculino também predominou com 63,2 e 68%, respectivamente.

A média de contagem CD4 dos pacientes desse estudo foi de 275 cél/mm³. Metade dos pacientes apresentaram contagem de CD4 inferior 225 cél/mm³ e, em cerca de 44%, a contagem foi inferior a 200, caracterizando estado avançado de imunodepressão em percentual significativo dos casos. Medeiros *et al.* (2007) referiram média de CD4 279 cél/mm³, semelhante a média do nosso estudo. Rodrigues *et al.* (2005) a média de CD4 dos pacientes foi de 206 cél/mm³. Couto-Fernandes *et al.* (2004), relataram em Rio de Janeiro 64% dos pacientes com CD4 acima de 200. Diferenças nas contagem de CD4 podem espelhar diferentes períodos de ocorrência de falha virológica, com maior queda de CD4 observada naqueles com maior tempo de supressão viral inadequada.

O subtipo B seguido do F, são os mais frequentes identificados em todas as regiões do Brasil, com exceção da região sul, onde prevalece o subtipo C, que se encontra em expansão para regiões vizinhas. No nosso estudo, o subtipo B foi identificado em 92,4% dos pacientes, esse subtipo foi também o predominante nos trabalhos de Cavalcante *et al.* (2007), que estudaram isolados virais do nordeste, principalmente do Ceará e de Pernambuco e encontraram frequência de 82,4%. Varella *et al.* (2008) e Couto-Fernandes *et al.* (2004), identificaram, respectivamente, 86% e 91,2% do subtipo B em seus pacientes. Cerqueira *et al.* (2004), identificaram frequência de 96%.

Em relação às mutações para ITRN, tiveram destaque no nosso estudo, a M184V (49,6%) e as TAMs: D67N (23,6%), T215Y (21,1%), M41L (20,7%), L210W (1,9%), K70R (16,7%), K219Q (10,2%), T215F (9,4%) e K219E (7,7%). A mutação M184V é induzida pelo uso da lamivudina e seu aparecimento determina resistência completa a essa droga, diminuição da sensibilidade para abacavir e ddI e hipersensibilização do vírus ao TDF e ao AZT, podendo reverter parcialmente a resistência produzida a essas drogas pelo surgimento de outras mutações. As TAMs são as mutações associadas aos timidínicos. Importante frisar que a via mutacional TAM1 (41L, 210W, 215Y) confere níveis mais elevados de resistência cruzada a toda classe de ITRN. A presença de pelo menos três TAMs, incluindo 41L e/ou 210W compromete a sensibilidade de toda classe, independentemente da via mutacional (TAM1 ou TAM2). (DIAZ, 2011).

A M184V foi a mutação mais frequentemente observada em todos os trabalhos revisados seguida pelas TAMs. No trabalho de Varella *et al.* (2008), as frequências identificadas foram: M184V (60,7%), T215Y (49,6%) e M41L (46,7%). Medeiros *et al.* (2007), encontraram as seguintes frequências para mutações associadas aos ITRN: M184V (60,4%), T215Y (42,6%) e M41L (40,6%). Rodrigues *et al.* (2005), identificaram a M184V em 64% dos isolados e pelo menos uma TAM em 73% dos casos. Couto-Fernandes *et al.*,

encontraram as seguintes frequências: M184V (67,7%), T215Y/f (65,1%), M41L (53,2%) DI67N (45,2%). Tanuri *et al.*, (2002) identificaram: M184V (48%), T215Y (46%) e M41L (39%).

A mutação K65R induzida principalmente pelo TDF apareceu em apenas 2,8% dos pacientes; essa mutação confere resistência completa ao TDF e ao ddI e reverte a resistência associada às TAMs, favorecendo a atividade do AZT. Em trabalho realizado por Medeiros *et al.*, (2007), foi identificada em 5,9% dos pacientes.

A mutação K103N induzida principalmente pelo uso do efavirenz foi a mais frequente mutação para ITRNN verificada em nosso estudo (43,5%). Também foi a mais frequente nos estudos de Medeiros *et al.* (2005), 26,7%, Cerqueira *et al.* (2004), 18% e Varella *et al.* (2008), 27,3%. A presença de uma única mutação de resistência selecionada pelos IRTNN de primeira geração (efavirenz e nevirapina) confere resistência ampla e cruzada a essas drogas. A mutação 103N não interfere com a sensibilidade a etravirina, IRTNN de segunda geração, ao contrário ao verificado com as mutações 181C, 101P e 100I. (DIAZ, 2011).

Em relação às mutações para IPs, apareceram em maior percentual nas genotipagens dos pacientes pesquisados as mutações acessórias: M36I (20,7%), I62V (17,5%), D30N (16,3%), V82A (14,2%), L63P (13,8%), A71V (13,4%), L10V (13%) e L10I (12,6%). As mais frequentes mutações principais da protease foram: 82A (14,2%), 46I (10,2%), 58E (8,5%) e L33F (6,9%).

Tanuri *et al.* (2002), encontraram entre as mutações para protease, maior frequência para L90M (26%) e V82A (6%). Cerqueira *et al.* (2004), observaram como mais frequentes mutações: I50U (38%), L63P (25%) e M36I (71%). Rodrigues *et al.* (2015) identificaram L90M (41%) e V82A (25%). As mais frequentes no estudo de Couto-Fernandes (2005) foram: L63P, L10F/r e A71V. Baccin (2005) identificou a M36I (35%) e a V82A (18%) como as mais frequentes.

As drogas mais utilizadas no nosso estudo individualmente, foram o AZT (87%), a lamivudina (82,2%) e o efavirenz (52%). Entre os IPs, lopinavir/r (37,5%) foi o antirretroviral mais utilizado. Os esquemas mais frequentemente indicados foram: AZT + 3TC + EFV (32,11%) e AZT + 3TC + LPV/r (26,52%). A justificativa para maior utilização dessas drogas e esquemas repousa do fato que eram os antirretrovirais e os esquemas preferenciais recomendados para início da TARV pelos consensos brasileiros anteriores a 2014 (BRASIL, 2008). No estudo de Medeiros *et al.* (2007), a semelhança da nossa pesquisa, AZT (82,2%) e 3TC (79,2%) foram as drogas mais empregadas. Entre os ITRNN, também houve predomínio do uso de EFZ (27,7%) sobre NVP (23,8%); diferente do observado em nosso estudo, o IP

mais utilizado pelos pacientes foi o nelfinavir e isso é justificado pela pouca disponibilidade à época do estudo do LPV/r e ATV/r, atualmente os IP/r considerados preferenciais (BRASIL, 2013). O esquema atualmente recomendado para início de TARV é composto por TDF + 3TC + EFZ e foi utilizado por menos de 10% dos nossos pacientes. O TDF que substituiu o AZT nesse esquema como ITRN foi utilizado por apenas 15,4% dos casos. A baixa frequência de utilização do TDF nesse estudo se deve ao fato de incluir apenas pacientes submetidos a genotipagem antes de 2014, ano em que o novo consenso publicado em 2013 foi implementado. Esse protocolo passou a indicar, como esquema preferencial, a associação TDF + 3TC + EFV em dose fixa combinada, a qual foi recomendada para todas as pessoas com HIV, com dupla finalidade: tratamento individual e prevenção da transmissão. (BRASIL, 2013).

O TDF por sua baixa utilização é o ITRN com maior percentual de sensibilidade (62%). A lamivudina, o abacavir e didanosina são os ARV com menor barreira genética no grupo e esse fato, aliado a alta frequência de utilização dessas drogas justifica apresentarem sensibilidade em torno de apenas 10%. AZT e d4T, apesar de amplamente utilizados, por terem maior barreira genética que a lamivudina, mostraram perfil de sensibilidade melhor, ainda que inferior ao TDF. (DIAZ, 2011).

Os ITRNN de primeira geração, efavirenz e nevirapina, possuem barreira genética pequena e a semelhança da lamivudina, uma única mutação é capaz de causar resistência viral ampla e cruzada. As mutações para IRTNN ficam frequentemente arquivadas após a interrupção da utilização dos mesmos. Dessa forma, na prática clínica, falha virológica prévia a ITRN pressupõe resistência a efavirenz e nevirapina, independentemente da presença de mutações do teste de genotipagem (DIAZ, 2011). A etravirina, ITRNN de segunda geração, não foi utilizada pelos pacientes do estudo e tem maior barreira genética que os de primeira. Mesmo assim, sensibilidade a essa droga foi verificada em menos da metade dos casos, em razão de resistência cruzada com as drogas de primeira geração amplamente utilizadas.

Os IPIs são as drogas com menor resistência cruzada e maior barreira genética, necessitando de número maior de mutações que inibidores de TR para que ocorram resistência, mas o número de mutações necessário para caracterização da resistência é variável de acordo com cada medicamento. Na ausência de mutações principais, qualquer IP/r pode ser usado em esquema de resgate, mais a presença de qualquer uma delas gera algum impacto na atividade de toda classe. O consenso brasileiro para tratamento retroviral para adulto e adolescentes vivendo com HIV, recomenda que o IP/r deve ser usado sempre nos esquemas de resgate, além de duas outras drogas plenamente ativas. (BRASIL, 2013).

CONCLUSÕES

A maioria dos pacientes em falha terapêutica submetidos a genotipagem pela RENAGENO no Instituto de Doenças Tropicais Natan Portela eram homens com idade acima de 45 anos e residentes na capital do estado do Piauí.

Os pacientes em falha terapêutica eram portadores, em sua maioria, do subtipo B do HIV, e, 43,9% deles apresentava contagem de CD4 < 200 cél/mm³ caracterizando avançada imunodepressão. A maioria dos pacientes apresentava CV intermediária entre 10.000 e 100.000 cópias.

A classe de drogas mais utilizada pelos pacientes foi a dos Inibidores de Transcriptase Reversa Nucleosídeos (ITRN), com destaque para o AZT e lamivudina. Em relação aos Inibidores de Transcriptase Reversa Não-Nucleosídeos (ITRNN), o uso de efavirenz foi bastante superior em relação a nevirapina. Entre os IPs, o lopinavir/r, o nelfinavir e o atazanavir/r foram as drogas mais usadas.

O esquema antirretroviral mais utilizado pelos pacientes foi AZT associado a lamivudina e efavirenz, que era, antes de 2014, o tratamento de primeira escolha recomendado para pacientes com HIV/Aids. O segundo esquema em frequência de utilização foi AZT associado a lamivudina e lopinavir/r.

Dentre as mutações da transcriptase reversa, as mais frequentes associadas aos ITRN foram a M184V e as TAMs e associada aos ITRNN foi a K103N. As mutações mais frequentes da protease foram M36I, I62V e D30N.

No grupo dos ITRN, o tenofovir representou a droga com melhor perfil de sensibilidade, provavelmente associado a seu uso em menor frequência quando comparado aos outros representantes do grupo. A etravirina, ITRNN de segunda geração e não utilizada pelos pacientes, foi a droga desse grupo que mostrou permanecer com maior atividade antiviral; a frequência de resistência viral para nevirapina e efavirenz foi semelhante, apesar da primeira ser muito menos utilizada o que evidencia a existência de resistência cruzada para drogas da mesma classe. No grupo dos IPs, a melhor sensibilidade foi observada para os IPs de mais nova geração, tipranavir e darunavir. Entre os IPs mais amplamente utilizados, o melhor perfil observado foi para lopinavir/r.

REFERÊNCIAS

- AGOSTINHO G. M. I. **Caracterização clínico-epidemiológica e laboratorial de pacientes HIV positivos em início de terapia antirretroviral no Piauí.** Dissertação de Mestrado, Fiocruz-PI, 2015.
- ALMEIDA, F. J., *et al.* Diversidade e prevalência das mutações de resistência genotípica aos antirretrovirais entre crianças infectadas pelo HIV-1. **Rev. bol. ped.** vol.50, n.3, pp. 186-193. 2011.
- ARIEN, K. K. *et al.* The replicative fitness of primary human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) group M, HIV-1 group O, and HIV-2 isolates. **J Virol.** vol 79, n 14, pp. 8979-90. Jul. 2005.
- BACCIN, T. G. **Genotipagem do vírus da imunodeficiência humana tipo 1 no Estado do Rio Grande do Sul: determinação da frequência dos subtipos e das mutações de resistência aos anti-retrovirais em indivíduos sob falha terapêutica.** Dissertação de Mestrado, Rio Grande do Sul, 2007.
- BARRÉ-SINOUSSE, F. *et al.* Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). **Science.**v.220, p.868-71, 1996.
- BARRÉ-SINOUSSE, F. J. C. *et al.* Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). **Science.** vol 20, n 220, p. 868-71. May, 1983.
- BARTLETT, J. G., GALLANT, J. E. Tratamento Clínico da Infecção pelo HIV. **Viterbo's Editoração Eletrônica e Produção ed.** Niterói, 2005.
- BRASIL - Ministério da Saúde. Programa Nacional DST/Aids. **Recomendações para Terapia anti-retroviral em Adultos e Adolescentes infectados pelo HIV**, 2008. Disponível em: www.aids.gov.br.
- BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para manejo da infecção pelo HIV em adultos.** – Brasília: 2013.
- BRASIL, Ministério da Saúde. **Diminuição do limite da carga viral para realização de genotipagem do HIV-1.** NT NT n. 276/2011/CQV/D-DST-AIDS-HV/SVS/MD. 2011.
- BRASIL, Ministério da Saúde. **Orientação para realização de genotipagem em pacientes com falha virológica confirmada.** NT n. 142/2012/CQV/D-DST-AIDS-HV/SVS/MD. 2012.
- BRASIL, Ministério da Saúde. **Recomendações para terapia antirretroviral em adultos infectados por HIV.** Ministério da Saúde, Brasil, 2008.
- BRASIL. Ministério da Saúde - Secretaria de Vigilância em Saúde - Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Boletim Epidemiológico - Aids e DST. Ano III - nº 1 - 27ª à 52ª semanas epidemiológicas - julho a dezembro de 2013.** Ano III - nº 1 - 01ª à 26ª semanas epidemiológicas - janeiro a junho de 2014. Brasília, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde - Secretaria de Vigilância em Saúde - Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV**. Brasília, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Boletim Epidemiológico - Aids e DST. Ano II - nº 1 - até semana epidemiológica 26^a** - dezembro de 2013. – Brasília: 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Recomendações para terapia antirretroviral em adultos infectados pelo HIV – Suplemento II**. Brasília, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Protocolo de assistência farmacêutica em DST/HIV/Aids : recomendações do Grupo de Trabalho de Assistência Farmacêutica** - Brasília: 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e Aids. **Recomendações para Terapia Antirretroviral em Crianças e Adolescentes Infectados pelo HIV: Manual de bolso/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Programa Nacional de DST e Aids**. – Brasília: Ministério da Saúde, 2009.

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: 2008/Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Programa Nacional de DST e Aids**. 7a Ed. - Brasília: Ministério da Saúde, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Sistema nacional de vigilância em saúde: relatório de situação : Piauí / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – 5. ed. – Brasília : Ministério da Saúde, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde - Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais - Aids e DST. Ano III - nº 1 - 27^a à 52^a semanas epidemiológicas - julho a dezembro de 2013. Ano III - nº 1 - 01^a à 26^a semanas epidemiológicas - janeiro a junho de 2014, **Boletim Epidemiológico**, 2014.

CAMPOS, D. P., *et al.* Survival of AIDS patients using two case definitions. **Aids**. Rio de Janeiro, Brazil, 1986-2003. n19 vol 4, 2005.

CARDOSO, S.W. *et al.* Classificação dos Antiretrovirais. In: DIAZ, R. S; VÁZQUEZ, V. S. Infecção pelo HIV e Terapia Antiretroviral em 2012. São Paulo: **Permanyer Brasil Publicações**, p. 113-136.1987.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL (CDC). **Kaposi's sarcoma and Pneumocystis pneumonia among homosexual men – New York and California**. 3ed, n 30. vol 25. p.305-8. Jul, 1981.

CERQUEIRA, D. M. *et al.* Antiretroviral resistance and genetic diversity of human immunodeficiency virus type 1 isolates from the Federal District, Central Brazil. Mem. **Inst. Oswaldo Cruz**. vol. 99. n. 8. Rio de Janeiro, 2004.

CLAVEL, F. HIV-2, the West African AIDS virus. **AIDS**.v.1(3):p.135-40, Sep. 1987.

CLAVEL, F., et al. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. **Science**. 1986 Jul 18;233(4761):343-6.

CLAVEL, F.; HANCE, A.J. HIV drug resistance. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v.305, p.1023-1035, Mar. 2004.

CLAVEL F., HANCE A.J. HIV drug resistance. **N. Engl. J. Med.**, 350(10): 1023-35, Mar; 2004.

COFFIN, J. A., *et al.* Human immunodeficiency viruses. **Science**. 232:697. 1986.

COFFIN, J.M. HIV population dynamics in vivo: implications for genetic variation, pathogenesis and therapy. **Science**. Washington. V. 267, p.483-489, 1995.

COHEN, C. J., et al. A randomized trial assessing the impact of phenotypic resistance testing on antiretroviral therapy. **AIDS**. 16:579-588.2002.

COUTO-FERNANDEZ, J. C., *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** [online]. vol.100, n.1, pp. 73-78. 2005.

DAU, B., HOLODNIY, M. Novel targets for antiretroviral therapy: clinical progress to date. **Drugs**. n 69, vol 1, p.31-50. 2009.

DEEKS,S.G.**Transmitted Minority Drug-Resistant HIV Variants: A New Epidemic.****Plosmedicine**. v.5, p.164, July. 2008.

DIAZ, R. S., FILHO, A. C. **HIV 50 FAQ Frequently Asked Questions**. 2004.

DIAZ, Ricardo Sobhie. Guia para o manuseio de resistência antirretroviral. Permanyer Brasil Publicações, Ltda., 2011.

DREW, W. L. *et al.* Prevalence of cytomegalovirus infection in homosexual men. **J. Infect. Dis.** n143, vol 2. p. 188-92. Feb. 1981.

DURANT, J. *et al.* Drug-resistance genotyping in HIV-1 therapy: the VIRADAPT randomised controlled trial (see comments). **Lancet**. London, v.353, n.9171, p.2173-2174, Jun. 1999.

FANG, G. B. et al. Recombination following superinfection by HIV-1. **AIDS**. ed 23. n 18. vol 2. P. 153-9. Jan. 2004.

FORSMAN. A.; WEISS, R. A. Why is HIV a pathogen? **Trends Microbiol**. n16, vol 12. p.555-60. Dec. 2008.

FREED, E. O. 2002. HIV-1 replication. **Somat. Cell Mol. Genet**. 26(1-6):13-33. Nov, 2001.

GAO, F. *et al.* Evidence of two distinct subsubtypes within the HIV-1 subtype A radiation. **AIDS Res Hum Retroviruses**. 20;17(8), p. 675-88, May. 2001.

- GATELL, J. M. *et al.* Documento de consenso de GESIDA sobre la utilización de los estudios de resistencias en la práctica clínica. **Enferm. Infec. Microbiol. Clin.**, Chicago, v. 19, Feb. 2001.
- GOTTLIEB, M. S. *et al.* Pneumocystis carinii pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men: evidence of a new acquired cellular immunodeficiency. **N Engl J Med** 305: 1425-31. 1981.
- GUIMARÃES, M. L., *et al.* Identification of two new CRF_BF in Rio de Janeiro State, Brazil. **AIDS**. 30;22(3):433-5.2008.
- HIRSCH, M. S. *et al.* Antiretroviral drug resistance testing in adults infected with human immunodeficiency virus type 1: 2003 recommendations of an International AIDS society USA Panel. **Clin. Infect. Dis.**, Chicago, v.37, p.113-128, Jul. 2003.
- HIRSCH, M. S. *et al.* Antiretroviral Drug Resistance Testing in Adult HIV-1 infection: 2008 Recommendations of an International AIDS Society-USA Panel. **Clinical Infectious Diseases, Boston**, v. 47, n. 2, p. 266–85, 2008.
- HU, D. J. The emerging genetic diversity of HIV. The importance of global surveillance for diagnostics, research, and prevention. **JAMA**. 17;275(3):210-6. Jan. 1996.
- JAPOUR, A. J., *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: 1095-1101.
- KANTOR, R. *et al.* Evolution of Resistance to Drugs in HIV-1 Infected Patients Failing Antiretroviral Therapy. **AIDS**, London and Philadelphia, v. 18, p. 1503-11, 2004.
- KIM, H. H., DAAR, E. S. Newer antiretroviral agents and how to use them. **Curr HIV/AIDS Rep.** n. 6, vol 2. p.55-62. May, 2009.
- LAKE, J. A. The role of Vif during HIV-1 infection: interaction with novel host cellular factors. **J Clin Virol.** n 26, vol 2, p.143-52. Feb. 2003.
- LEITNER, T. *et al.* Sequence Compendium 2005 Eds. Published by Theoretical Biology and Biophysics Group, Los Alamos National Laboratory, 2005.
- LITTLER, S.J. *et al.* Reduced antiretroviral drug susceptibility among patients with primary HIV infection. **JAMA**, Chicago, v.202, p.1142-1149, 1999.
- MANNHEIMER, S. B., *et al.* Terry Bein Community Programs for Clinical Research on AIDS. Quality of life in HIV infected individuals receiving antiretroviral therapy is related to adherence. **AIDS Care.** Vol 1, p.10-22. 2005.
- MARLINK, R. *et al.* Reduced rate of disease development after HIV-2 infection as compared to HIV-1. **Science**. 9;265(5178), p.1587-90. Sep. 1994.
- MAY, M. *et al.* Antiretroviral Therapy (ART) Cohort Collaboration. Prognosis of HIV-1-infected patients up to 5 years after initiation of HAART: collaborative analysis of prospective studies. **AIDS**, v.21, p.1185-1197, 2007.

MEDEIROS, Melissa Soares, *et al.* Genotype Testing and Antiretroviral Resistance Profiles from HIV-1 Patients Experiencing Therapeutic Failure in Northeast Brazil. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases** n11, vol 4. P :390-394. 2007.

MILLER, M. D. *et al.* K65R development among subtype C HIV-1-infected patients in tenofovir DF clinical trials. **AIDS London and Philadelphia**, v.21, p. 265-6, 2007.

MOURA, Maria Edileuza Soares, *et al.* Low Rate of Transmitted Drug Resistance May Indicate Low Access to Antiretroviral Treatment in Maranhão State, Northeast Brazil. **Aids research and human retroviruses**. Volume 31, Number 2, 2015a e 2015b.

NISOLE, S.; SAÏB, A. Early steps of retrovirus replicative cycle. **Retrovirology**. 14;1:9. May, 2004.

PERELSON, A. S. *et al.* HIV-1 dynamics in vivo: virion clearance rate, infected cell life-span, and viral generation time. **Science**. 1996 Mar 15;271(5255):1582-6.

PERNO, C.F. *et al.* Impact of mutations conferring reduced susceptibility to lamivudine on the response to antiretroviral therapy. **Antiviral Therapy. ICONA Study Group**. V. 6, p.195-198, 2001.

PNUD (Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento). **Atlas do desenvolvimento humano no Brasil**. Disponível em: <http://www.atlasbrasil.org.br/2013/pt/ranking/>. 2010. Acesso em: 25 nov. 2015.

POPE, M.; HAASE, A. Transmission, acute HIV-1 infection and the quest for strategies to prevent infection. **Nature Medicine**, v. 9, p. 847 – 852, 2003.

RACHID, M., SCHECHTER, M. **Manual de HIV/AIDS**. 7.ed. p. 19. 2003

RACHID, M; MAGALHÃES, G. A. P.. Terapia de Resgate. In: DIAZ, R. S; VÁZQUEZ, V. S. Infecção pelo HIV e Terapia Antiretroviral em 2012. **Permanyer Brasil Publicações**. São Paulo. p.149-155. 2012.

REQUEJO, H. I. Worldwide molecular epidemiology of HIV. **Rev. Saúde Pública** 40:331-345. 2006.

RICHMAN, D. D. *et al.* Rapid evolution of the neutralizing antibody response to HIV type 1 infection. **PNAS**, v.100, n. 7, p. 4144-9. 2003.

RICHMAN, D.D. New strategies to combat HIV drug resistance. **Hosp. Prac.**, New York, v.6, p. 47-58, 1996.

RODRIGUES, R. *et al.* Antiretroviral resistance mutations in human immunodeficiency virus type 1 infected patients enrolled in genotype testing at the Central Public Health Laboratory, São Paulo, Brazil: preliminary results. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, vol. 100. n. 1, Rio de Janeiro, 2005.

SHAFER, R. W. Genotype testing for human immunodeficiency virus type 1 drug resistance. **Clin. Microbiol. Rev.**, Washington, v.15, p.247-277, 2002.

- SHAFER, R. W. O desafio da resistência à medicação antirretroviral em crianças infectadas pelo HIV-1. **J. Pediatr**, v. 85, n. 2, p. 91-4. 2009.
- SHAFER, R.W., SCHAPIRO, J. M. HIV-1 drug resistance mutations: an updated framework for the second decade of HAART. **AIDS Rev.** n10, vol.2. p :67-84. Apr-Jun (2008).
- SIEGAL, F. P. *et al.* Severe acquired immunodeficiency in male homosexuals, manifested by chronic perianal ulcerative herpes simplex lesions. **N Engl J Med** 1981; 305: 1439-44.
- SIERRA, S.; KUPFER, B.; KAISER, R. Basics of the virology of HIV-1 and its replication. **J Clin Virol.** 2005 Dec;34(4):233-44. Epub 2005 Sep 29.
- SILICIANO, R. F. Acquired immune deficiency syndrome (AIDS). Wiley, J. **Encyclopedia of Life Sciences.** 2006. (disponível em: <http://www3.interscience.wiley.com>). Acessado em 15/03/15 às 20:00.
- SPIRA, S. *et al.* Impact of clade diversity on HIV-1 virulence, antiretroviral drug sensitivity and drug resistance. **J Antimicrob Chemother**, v. 51, n. 2, p. 229-40, 2003.
- TANURI, A. *et al.* Prevalence of mutations related to HIV-1 antiretroviral resistente in Brazilian patients failing HAART. **Journal of clinical virology.** v. 25, 39-46. jul, 2002.
- TAYLOR, B.S. *et al.* The challenge of HIV-1 subtype diversity. **N Engl J Med.** 2008 Apr 10;358(15):1590-602. doi: 10.1056/NEJMra0706737
- TENORE, S. B.; SORIANO, V; DIAZ, R. S. A Interpretação das Resistências aos Antiretrovirais. In: DIAZ, R. S; VÁZQUEZ, V. S. Infecção pelo HIV e Terapia Antiretroviral em 2012.São Paulo: **Permanyer Brasil Publicações**, P.157-171. 2012.
- UNAIDS. **Global Report** - Unaid's Report on the Global AIDS Epidemic, 2012. Disponível em: http://www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/epidemiology/2012/gr2012/20121120_UNAIDS_Global_Report_2012_with_annexes_en.pdf
- UNAIDS. **Global Report** - Unaid's Report on the Global AIDS Epidemic, 2013. Disponível em: http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/UNAIDS_Global_Report_2013_en_1.pdf.
- VARELLA, R. B. *et al.* Prevalence of resistance-associated mutations in Human Immunodeficiency Virus type 1-positive individuals failing HAART in Rio de Janeiro, Brazil. **Braz. J. Infect. Dis.** v. 12. n. 5., Salvador, 2008.
- VERMUND, S.H. Millionsoflife-yearssavedwithpotentantiretroviraldrugs in the United States: a celebration, withchallenges. **The Journal of Infectious Diseases**, 194: 1-5, 2006.
- WALKER, A.S.; GIBB, D. M. Monitoring of highly active antiretroviral therapy in HIV infection. **Curr. Opin. Infect. Dis**, v. 24, n. 1, p 27–33, 2011
- WEERAWAT, M. Guidelines for antiretroviral therapy in HIV-1 infected adults and adolescents 2014, Thailand. **AIDS Res Ther.** 2015 Apr 24;12:12.

APÊNDICES

APÊNDICE 1

FORMULÁRIO DE COLETA DE DADOS

Registro nº: _____

Idade (anos): _____ Sexo: [] M [] F

Procedência: [] Teresina [] Interior do PI [] Interior do MA

CD4 (cél/mm³): _____

CV (cópias): _____

CV (log): _____

Subtipo viral: _____

Esquemas ARV utilizados:

Mutações associados aos ITRNs:

Mutações associados aos ITRNNs:

Mutações associadas aos IPs:

Perfil de sensibilidade: R – resistência I – intermediário S – sensível

Sensibilidade	R	I	S
ITRN			
Tenofovir			
Estavudina			
Zidovudina			
Lamivudina			
Abacavir			
Didanosina			
ITRNN			
Etravirina			
Efavirenz			
Nevirapina			
IP			
Darunavir/r			
Tipranavir/r			
Lopinavir/r			
Atazanavir/r			
Indinavir/r			
Saquinavir/r			
Fosamprenavir/r			
Nelfinavir			

ANEXOS

ANEXO 1

Algorithm "Algoritmo_versao_12(05-2012)" RENAGENO

ddl

Rule 1 - Result R:

Have at least 1 [69ins,151M/L,67del]

Rule 2 - Result R:

Have at least 1 [65R, 69D/N, 74V/I]

Rule 3 - Result R:

(Have at least 5 [41L, 67N/E/G, 70R/G/N, 210W, 215Y/F, 219E/Q/N/R]) And

Have at least 1 [184V/I]

Rule 4 - Result I:

Have at least 1 [75T,184V/I, 70E]

Rule 5 - Result I:

Have at least 3 [41L, 67N/E/G, 70R/G/N, 210W,215Y/F, 219Q/E/N/R]

SQV/R

Rule 1 - Result R:

Have at least 5 [10F/I/R/V, 20M/R/T/I, 24I,36V/L, 46I/L, 48V,53L,54L/T/V/M, 58E, 62V, 71V/T/I,73S/T/C/A, 74A, 82A/F/T/I/S, 84V/A/C, 88D/S, 90M]

Rule 2 - Result I:

Have at least 4 and at most 4 [10F/I/R/V, 20M/R/T/I, 24I,36V/L, 46I/L, 48V,53L, 54L/T/V/M,58E, 62V, 71V/T/I, 73S/T/C/A, 74A,82A/F/T/I/S, 84V/A/C ,88D/S,90M]

AZT+3TC

Rule 1 - Result N:

Not have at least 1 [184V/I]

Rule 2 - Result R:

(Have at least 1 [184V/I]) And

(Have at least 4 [40F, 41L, 67N/E/G, 70R/G/N, 210W,215Y/F/C/D/S/I/E/N/V,219Q/E/N/R])

Rule 3 - Result I:

(Have at least 1 [184V/I]) And

(Have at least 3 [40F, 41L, 67N/E/G, 70R/G/N, 210W,215Y/F/C/D/S/I/E/N/V,219Q/E/N/R])

Rule 4 - Result R:

(Have at least 1 [184V/I]) And

(Have at least 1 [69ins, 67del,151M/L])

IDV/R

Rule 1 - Result R:

Have at least 5 [10F/I/R/V, 20M/R/T/I, 24I, 32I ,36L/V, 46I/L, 48V, 54L/T/V, 58E, 71/T/V/I, 73A/S/T/C, 76V, 77I, 82A/F/I/S/T, 84V/A/C, 88S/D, 90M, 93L]

Rule 2 - Result I:

Have at least 4 and at most 4 [10F/I/R/V, 20M/R/T/I, 24I, 32I ,36L/V, 46I/L, 48V, 54L/T/V, 58E, 71/T/V/I, 73A/S/T/C, 76V, 77I,82A/F/I/S/T, 84V/A/C, 88S/D, 90M, 93L]

3TC

Rule 1 - Result R:

Have at least 1 [69ins,151M/L, 67del]

Rule 2 - Result R:

Have at least 1 [184V/I]

Rule 3 - Result I:

Have at least 1 and at most 1 [65R/N] Or

Have at least 2 and at most 2 [44A/D,118I]

Rule 4 - Result I:

Have at least 3 [41L, 67N/E/G, 70R/G/N, 210W, 215Y/F, 219E/Q/N/R]

EFV

Rule 1 - Result R:

Have at least 1 [100I, 101E/P/Q, 103N/A/S/T/Q/H, 106A/M, 181C/I/V,188C/H/L, 190A/S/E/Q/C/T/V, 225H, 230L]

LPV/R

Rule 1 - Result R:

Have at least 8 [10F/I/R/V, 16A/E, 20M/R/T/I, 24I/V, 32I, 33F,34Q, 36I/V, 43T, 46I/L, 47A/V, 48V/M, 50V, 53L,54A/M/L/S/T/V,55E/R, 58E,63P, 71I/L/T/V, 73S/P/T/C/A,74S, 76V, 82A/F/I/S/T/M/L/C, 84V/A/C,89I/M/V, 90M, 91S]

Rule 2 - Result I:

Have at least 6 and at most 7 [10F/I/R/V, 16A/E, 20M/R/T/I, 24I/V, 32I, 33F,34Q, 36I/V, 43T, 46I/L, 47A/V, 48V/M, 50V, 53L,54A/M/L/S/T/V,55E/R, 58E,63P, 71I/L/T/V, 73S/P/T/C/A,74S, 76V, 82A/F/I/S/T/M/L/C, 84V/A/C,89I/M/V, 90M, 91S]

Rule 3 - Result I:

Have at least 4 and at most 5 [10F/I/R/V, 20M/R, 24I, 33F, 46I/L, 47A,50V, 53L,54M/L/T/V,63P, 71I/L/T/V, 76V,82A/F/S/T, 84V, 90M]

Rule 4 - Result R:

Have at least 6 [10F/I/R/V, 20M/R, 24I, 33F, 46I/L, 47A,50V, 53L,54M/L/T/V,63P, 71I/L/T/V, 76V,82A/F/S/T, 84V, 90M]

d4T

Rule 1 - Result R:

Have at least 1 [69ins,151M/L,67del,75M/S/A/T]

Rule 2 - Result R:

Have at least 3 [41L, 67N/E/G, 69D/G, 70R/G/N, 210W, 215Y/F,219Q/E/N/R]

Rule 3 - Result I:

Have at least 1 [65R/N]

Rule 4 - Result I:

Have at least 2 and at most 2 [41L, 67N/E/G, 69D/G, 70R/G/N, 210W,215Y/F, 219E/Q/N/R]

ATV/R

Rule 1 - Result R:

Have at least 1 [50L]

Rule 2 - Result R:

Have at least 8 [10I/V/F/R, 16E, 20R/M/T/I, 24I, 32I, 33F/I/V, 36I/L/V,45R, 46I/L/V, 48M/V, 53L, 54L/M/V,60E,63P, 71V/T/I,73C/S/T/A,82A/F/I/S/T/M/L/C, 84A/C/V,85V, 88D/T/S, 89M/V/Q/T, 90M]

Rule 3 - Result I:

Have at least 6 and at most 7 [10I/V/F/R, 16E, 20R/M/T/I, 24I, 32I, 33F/I/V, 36I/L/V,45R, 46I/L/V, 48M/V, 53L, 54L/M/V,60E,63P, 71V/T/I,73C/S/T/A,82A/F/I/S/T/M/L/C, 84A/C/V,85V, 88D/T/S, 89M/V/Q/T, 90M]

Rule 4 - Result R:

Have at least 3 [10F/I/V,16E,33F/I/V,46I/L,60E,84V,85V,90M]

NVP

Rule 1 - Result R:

Have at least 1 [98G, 100I, 101E/P/Q, 103N/A/S/T/Q/H, 106A/M, 108I, 179D/E/F, 181C/I/V, 188C/H/L, 190A/S/E/Q/C/T/V, 227L/C, 230L]

ETV

Rule 1 - Result R:

Have at least 2 [181I/V/C, 100I,101P,230L]

Rule 2 - Result R:

Have at least 1 [181I/V/C,100I, 101P,230L] And

Have at least 1 [90I,98G,101E/H,106I,138A/G/K/Q,179F/T/D,190A/S]

Rule 3 - Result R:

Have at least 3 [90I,98G,101E/H,106I,138A/G/K/Q,179F/T/D,190A/S]

Rule 4 - Result I:

Have at least 2 [90I,98G,101E/H,106I,138A/G/K/Q,179F/T/D,190A/S]

Rule 5 - Result I:

Have at least 1 [181I/V/C, 100I,101P,230L]

TDF

Rule 1 - Result R:

Have at least 1 [65R,69ins,151M/L,67del,70E]

Rule 2 - Result R:

(Have at least 3 [41L, 67N, 70R/G/N, 210W, 215Y/F, 219E/Q/N/R]) And

(Have at least 1 [41L,210W])

Rule 3 - Result I:

Have at least 1 [115F]

DRV/R

Rule 1 - Result R:

Have at least 8 [10F,11L/I,15V, 32I, 33F,35G, 41I/T,46I/L, 47A/V, 48/M, 50V, 54L/M/V/A, 70E, 73S/T/A/C, 74P,76V, 82A/I/T/F/L/M,84V,85V, 89V]

Rule 2 - Result R:

Have at least 5 [11I, 32I, 33F, 47F/V, 50V, 54L/M, 73S, 74P, 76V, 82T, 84V, 89V]

Rule 3 - Result I:

Have at least 6 and at most 7 [10F,11L/I,15V, 32I, 33F,35G, 41I/T,46I/L, 47A/V, 48/M, 50V, 54L/M/V/A, 70E, 73S/T/A/C, 74P,76V, 82A/I/T/F/L/M,84V,85V, 89V]

Rule 4 - Result I:

Have at least 3 and at most 4 [11I, 32I, 33F, 47F/V, 50V, 54L/M, 73S, 74P, 76V, 82T, 84V, 89V]

TPV/R

Rule 1 - Result R:

Have at least 8 [10V/F/I, 13V, 20M/R/V,24M, 32I, 33F, 35G, 36I/L/V, 37D, 43T, 45I, 46I/L, 47A/V, 48V, 54A/M/V/S/T, 58E, 69I/K/N/Q/R/Y,71V, 73C/S/T/A,74P, 77I, 82AL/T, 83D, 84A/V/C, 89V/I/M/R/T]

Rule 2 - Result I:

Have at least 6 and at most 7 [10V/F/I, 13V, 20M/R/V,24M, 32I, 33F, 35G, 36I/L/V, 37D, 43T, 45I, 46I/L, 47A/V, 48V, 54A/M/V/S/T, 58E, 69I/K/N/Q/R/Y,71V, 73C/S/T/A,74P, 77I, 82AL/T, 83D, 84A/V/C, 89V/I/M/R/T]

TDF+3TC

Rule 1 - Result N:

Not have at least 1 [184V/I]

Rule 2 - Result I:

(Have at least 3 [41L, 67N, 70R, 210W, 215Y/F, 219Q]) And

(Have at least 1 [41L, 210W]) And

Have at least 1 [184V/I]

Rule 3 - Result I:

Have at least 1 [151M/L] And

Have at least 1 [65R/N] And

Have at least 1 [184V/I]

Rule 4 - Result R:

(Have at least 1 [67del, 69ins]) And

(Have at least 1 [184V/I])

FPV/R

Rule 1 - Result R:

Have at least 8

[10F/I/V/R,11I,20M/R/T/I,24I,32I,33F,35D,41K,43R,46I/L,47V,48M,50V,54L/V/M/A/T/S,5
8E,62V, 63P, 71V/T,73S/T/C/A,76V,82A/F/I/T/S/M/C,84V/A/C,85V,89V/T,90M,93L]

Rule 2 - Result I:

Have at least 6 and at most 7

[10F/I/V/R,11I,20M/R/T/I,24I,32I,33F,35D,41K,43R,46I/L,47V,48M,50V,54L/V/M/A/T/S,5
8E,62V, 63P, 71V/T,73S/T/C/A,76V,82A/F/I/T/S/M/C,84V/A/C,85V,89V/T,90M,93L]

ABC

Rule 1 - Result R:

Have at least 1 [69ins,151M/L,67del]

Rule 2 - Result R:

(Have at least 1 [184V/I]) And

(Have at least 1 [65R, 74V/I,115F])

Rule 3 - Result R:

(Have at least 1 [184V/I]) And

(Have at least 3 [41L, 67N/E/G, 70R/G/N,210W, 215Y/F, 219E/Q/N/R])

Rule 4 - Result I:

Have at least 1 [65R, 74V/I, 115F]

Rule 5 - Result I:

Have at least 4 [41L, 67N/E/G, 70R/G/N, 210W, 215Y/F, 219Q/E/N/R]

Rule 6 - Result I:

Have at least 1 [184V/I]

AZT

Rule 1 - Result R:

Have at least 1 [69ins,151M/L,67del]

Rule 2 - Result R:

Have at least 3 [40F, 41L, 67N/E/G, 70R/G/N, 210W,215Y/F/C/D/S/I/E/N/V,219Q/E/N/R]

Rule 3 - Result I:

Have at least 2 [40F,41L,67N/E/G,70R/G/N,210W,215Y/F/C/D/S/I/E/N/V, 219Q/E/N/R]

Rule 4 - Result I:

Have at least 1 [40F,70R/G/N,210W,215Y/F/C/D/S/I/E/N/V, 219Q/E/N/R]

ANEXO 2

COMITÊ DE ÉTICA APROVAÇÃO



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO
PIAUI - UESPI



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: RESISTÊNCIA AOS ANTIRRETROVIRAIS UTILIZADOS PARA TRATAMENTO EM PACIENTES COM HIV/AIDS: perfil da genotipagem em pacientes atendidos no Instituto de Doenças Tropicais Natan Portela (IDTNP)-Teresina (PI).

Pesquisador: Liline Maria Soares Martins

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 42333214.9.0000.5209

Instituição Proponente: Universidade Estadual do Piauí - UESPI

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 990.821

Data da Relatoria: 05/03/2015

Apresentação do Projeto:

O trabalho objetiva avaliar o perfil de resistência do HIV aos antirretrovirais, através de genotipagem, em pacientes com falha terapêutica residentes nos Estados do Piauí e do Maranhão, no período de 2003 a 2014. Trata-se de um estudo de séries de casos sobre resistência secundária a ARVs que será realizado no Instituto de Doenças Tropicais Natan Portela (IDTNP), hospital de referência para atendimento de pessoas vivendo com HIV/AIDS (PVHA) no Estado do Piauí, tendo como população alvo 466 pacientes em terapia antirretroviral que apresentaram falência terapêutica e realizaram Genotipagem pelo programa RENAGENO do Ministério da Saúde. Como fonte de dados serão utilizados os formulários AIC de genotipagem do Ministério da Saúde no período de 2003 a 2014.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

- Avaliar o perfil de resistência do HIV aos antirretrovirais, através de genotipagem, em pacientes com falha terapêutica residentes nos Estados do Piauí e do Maranhão, no período de 2003 a 2014.

Objetivo Secundário:

- Identificar padrões mutacionais de resistência a drogas antirretrovirais através da análise das

Endereço: Rua Otavo Bilac, 2335

Bairro: Centro/Sul

CEP: 64.001-280

UF: PI

Município: TERESINA

Telefone: (86)3221-6658

Fax: (86)3221-4749

E-mail: comitodeeticauespi@hotmail.com



Continuação do Parecer: 890.821

seqüências de protease e transcriptase reversa do HIV-1; • Correlacionar os padrões de resistência aos dados imunológicos e virológicos dos pacientes submetidos à genotipagem. • Descrever a freqüência das mutações individuais apresentadas por pacientes em terapia antirretroviral; • Correlacionar o histórico de TARV dos pacientes em falha terapêutica e o desenvolvimento de mutações específicas. • Avaliar o efeito do acúmulo de falhas terapêuticas e desenvolvimento de resistência antirretroviral.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Não se aplica.

Benefícios:

Não existem estudos ou publicações sobre resistência secundária do HIV aos ARV nos Estados do Piauí e do Maranhão. O conhecimento das mutações mais prevalentes e dos padrões de resistência aos ARVs existentes em pacientes destes estados submetidos a HAART em hospital de referência do Piauí fornecerá dados regionais sobre este importante e crescente problema de saúde humana.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Tema de extremo interesse para o desenvolvimento de políticas de saúde pública e melhoria da qualidade de vida da população.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados:

- Folha de Rosto preenchida, assinada, carimbada e datada.
- Carta de Anuência da Instituição Coparticipante em papel timbrado da instituição, carimbada, datada e assinada ou Declaração do Pesquisador Responsável;
- Link do Currículo Lattes do pesquisador responsável;
- Projeto de pesquisa na íntegra (word/pdf);
- Instrumento de coleta de dados (questionário/entrevista/formulário);

Recomendações:

APROPRIAR-SE da Resolução CNS/MS Nº466/12 (que revogou a Res. Nº196/96) e seus complementares que regulamenta as Diretrizes Éticas para Pesquisas que Envolvam Seres Humanos.

Endereço: Rua Cláudio Bilac, 2335
Bairro: Centro/Sul CEP: 64.001-280
UF: PI Município: TERESINA
Telefone: (86)3221-6858 Fax: (86)3221-4749 E-mail: comitedeeticauespi@hotmail.com



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO
PIAUI - UESPI



Continuação do Parecer: 990.821

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

De acordo com a análise, conforme a Resolução CNS/MS Nº466/12 e seus complementares, o presente projeto de pesquisa apresenta o parecer APROVADO por se apresentar dentro das normas de eticidade vigentes.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

TERESINA, 18 de Março de 2015

Assinado por:

LUCIANA SARAIVA E SILVA
(Coordenadora e Silva)
Prof. Dra. Luciana Saraiva e Silva
Coordenadora do CEP / UESPI
Matrícula: 179554-8

Endereço: Rua Olavo Bilac, 2335
Bairro: Centro/Sul CEP: 64.001-280
UF: PI Município: TERESINA
Telefone: (86)3221-6858 Fax: (86)3221-4749 E-mail: comitedeeticauespi@hotmail.com