

PAULA VIRGINIA MICHELON TOLEDO

**ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DO PERFIL GENOTÍPICO DO HIV-1 EM ADULTOS
COM FALHA VIROLÓGICA A ANTI-RETROVIRAIS NO PARANÁ**

**CURITIBA
2009**

PAULA VIRGINIA MICHELON TOLEDO

**ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DO PERFIL GENOTÍPICO DO HIV-1 EM ADULTOS
COM FALHA VIROLÓGICA A ANTI-RETROVIRAIS NO PARANÁ**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Medicina Interna do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Flávio de Queiroz Telles Filho

**CURITIBA
2009**

T649e

Toledo, Paula Virginia Michelin

Estudo epidemiológico do perfil genotípico do HIV-1 em adultos com falha virológica a anti-retrovirais no Paraná / Paula Virginia Michelin Toledo; Orientador: Flávio de Queiroz-Telles Filho. Curitiba (PR), 2009.

123 f. : il.

Orientador: Flávio de Queiroz-Telles Filho
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências da Saúde, Curitiba, 2009.

1.HIV-1. 2.Genotipagem. 3.Anti-retrovirais.I. Título.

NLM QZ 50

A Deus, pela vida, pela saúde e pela minha família.

Aos meus pais, por tudo.

À minha mãe, Maria Angela, pelo amor incondicional.

À minha avó, Zulmeia, pelo exemplo e pelo carinho.

Aos meus irmãos, Izabella e Paulo Eduardo, por terem crescido comigo.

Ao Ayrton, por abrir e iluminar os caminhos em nossa vida, e principalmente pelo amor, paciência e apoio.

À Rafaella e Manuella, por me tornarem completa e darem sentido a tudo que fiz, faço ou venha a fazer.

À família Aranha, ao Bryan, à Letícia e ao José Carlos por terem se tornado minha família.

À Tere que me ajuda a manter a “casa em ordem” e a cuidar das minhas filhas.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Flávio de Queiroz-Telles, orientador deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Lineu Werneck, Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna da Universidade Federal do Paraná.

Ao Prof. Dr. Clóvis Arns da Cunha, pela amizade, pelas oportunidades e pelo estímulo à formação acadêmica.

À Prof. Dra. Denise Siqueira de Carvalho, pelo conhecimento transmitido, pelo estímulo, pela dedicação constante e pela ajuda desinteressada.

À Prof. Dra. Eliane Cesário Malluf, pelas orientações oportunas.

À Dra. Silvia Maria Gomes de Rossi, pela amizade e pela ajuda na construção deste trabalho.

À Farmacêutica Margely Nunes de Souza, pelo auxílio com informações quanto à terapêutica dos pacientes da amostra.

Ao amigo Fabiano Hessel Dias, pelo auxílio de informática na confecção do Banco de Dados.

Aos médicos Luiza Romagnolli e Gustavo Marcinko que, desde a época de Acadêmicos de Medicina, auxiliaram na alimentação do Banco de Dados.

Aos pacientes incluídos na amostra deste estudo, pela contribuição ao conhecimento científico.

Aos pacientes que fazem parte do meu dia a dia, por me confiarem sua saúde e serem a razão do aprimoramento profissional.

Ao Programa Nacional de DST e AIDS do Ministério da Saúde, pela disponibilidade dos exames, em especial, à Dra. Lilian Amaral Inocêncio que revisou e aprovou este estudo.

À CAPES e à UFPR pela oportunidade.

Inteligência é tornar agradáveis as coisas que se é obrigado a fazer.

Albert Einstein

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 -	LISTAGEM DOS ANTI-RETROVIRAIS APROVADOS PELO MINISTÉRIO DA SAÚDE E AVALIADOS PELO TESTE DE GENOTIPAGEM DO HIV-1.....	21
QUADRO 2 -	MUTAÇÕES ASSOCIADAS A INIBIDORES DE TRANSCRIPTASE REVERSA ANÁLOGOS NUCLEOSÍDEOS E NUCLEOTÍDEOS.....	25
QUADRO 3 -	MUTAÇÕES ASSOCIADAS A INIBIDORES DE TRANSCRIPTASE REVERSA NÃO ANÁLOGOS NUCLEOSÍDEOS.....	27
QUADRO 4 -	MUTAÇÕES ASSOCIADAS A INIBIDORES DE PROTEASE....	28
QUADRO 5 -	TIPOS DE TESTES DE GENOTIPAGEM: COMERCIAIS.....	30
QUADRO 6 -	IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE E DO EXAME DE GENOTIPAGEM E DADOS DEMOGRÁFICOS E LABORATORIAIS.....	40
QUADRO 7 -	DADOS SOBRE O TIPO DE TERAPIA ANTI-RETROVIRAL UTILIZADA INICIALMENTE E NO MOMENTO DO TESTE DE GENOTIPAGEM.....	41
QUADRO 8 -	ANTIRETROVIRAIS UTILIZADOS PELOS PACIENTES DA AMOSTRA.....	41
QUADRO 9 -	MUTAÇÕES DA TRANSCRIPTASE REVERSA SECUNDÁRIAS AO USO DE INIBIDORES DE TRANSCRIPTASE REVERSA NUCLEOSÍDEOS.....	42
QUADRO 10 -	MUTAÇÕES ACESSÓRIAS E ADICIONAIS NA TRANSCRIPTASE REVERSA SECUNDÁRIAS AO USO DE INIBIDORES DE TRANSCRIPTASE REVERSA NUCLEOSÍDEOS	42
QUADRO 11 -	MUTAÇÕES DA TRANSCRIPTASE REVERSA SECUNDÁRIAS AO USO DE INIBIDORES DE TRANSCRIPTASE REVERSA NÃO NUCLEOSÍDEOS.....	42
QUADRO 12 -	MUTAÇÕES MAIORES DA PROTEASE SECUNDÁRIAS AO USO DE INIBIDORES DE PROTEASE	42
QUADRO 13 -	MUTAÇÕES MENORES DA PROTEASE SECUNDÁRIAS AO USO DE INIBIDORES DE PROTEASE	43
QUADRO 14 -	CRONOGRAMA PROPOSTO DE ATIVIDADES DO PROJETO.....	44

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	DESCRIÇÃO DE CUSTOS DO PROJETO.....	48
TABELA 2 -	DESCRIÇÃO DE CUSTOS COM OS EXAMES REALIZADOS.....	48
TABELA 3 -	CARACTERIZAÇÃO DAS GENOTIPAGENS POR DATA DE COLETA, TECNOLOGIA DE REALIZAÇÃO E SUBTIPO DO HIV IDENTIFICADO.....	50
TABELA 4 -	DADOS DEMOGRÁFICOS DA AMOSTRA.....	51
TABELA 5 -	CARACTERÍSTICAS DO ESQUEMA ANTI-RETROVIRAL (ARV) INICIAL E NO MOMENTO DA GENOTIPAGEM.....	53
TABELA 6 -	DESCRIÇÃO DO TEMPO MÉDIO DE USO DOS ANTI- RETROVIRAIS.....	53
TABELA 7 -	PREVALÊNCIA DO NÚMERO E PADRÕES DE MUTAÇÕES ASSOCIADAS A TIMIDÍNICOS.....	57
TABELA 8 -	NÚMERO DE ANTI-RETROVIRAIS E ESQUEMAS UTILIZADOS E PRESENÇA DE MUTAÇÕES.....	60
TABELA 9 -	DIFERENÇAS NO USO DE ANTI-RETROVIRAIS E NA PREVALÊNCIA DE MUTAÇÕES DE 2002 A 2006.....	61
TABELA 10 -	DIFERENÇAS NA PREVALÊNCIA DE MUTAÇÕES DE ACORDO COM O GÊNERO.....	64
TABELA 11 -	DIFERENÇAS NA PREVALÊNCIA DE SUBTIPOS DE ACORDO COM O GÊNERO.....	65
TABELA 12 -	DIFERENÇAS NA PREVALÊNCIA DE MUTAÇÕES DE ACORDO COM O SUBTIPO DO HIV-1.....	65
TABELA 13 -	EXPOSIÇÃO ÀS TRÊS CLASSES DE ANTI-RETROVIRAIS E PRESENÇA DE MUTAÇÕES.....	67
TABELA 14 -	CORRELAÇÃO ENTRE EXPOSIÇÃO AOS INIBIDORES DE TRANSCRIPTASE REVERSA ANÁLOGOS NUCLEOSÍDEOS E NUCLEOTÍDEO (ITRN) E PRESENÇA DE MUTAÇÕES RELACIONADAS A ITRN.....	70
TABELA 15 -	ANÁLISE MULTIVARIADA DA EXPOSIÇÃO AOS INIBIDORES DE TRANSCRIPTASE REVERSA ANÁLOGOS NUCLEOSÍDEOS E NUCLEOTÍDEO (ITRN) E PRESENÇA DE MUTAÇÕES ASSOCIADAS A TIMIDÍNICOS (TAMs).....	70
TABELA 16 -	CORRELAÇÃO ENTRE EXPOSIÇÃO AOS INIBIDORES DE TRANSCRIPTASE REVERSA NÃO ANÁLOGOS NUCLEOSÍDEOS (ITRNN) E PRESENÇA DE MUTAÇÕES RELACIONADAS A ITRNN.....	71

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 -	FREQUÊNCIA DE EXPOSIÇÃO A ANTI-RETROVIRAIS.....	52
FIGURA 2 -	PREVALÊNCIA DE MUTAÇÕES ASSOCIADAS AO USO DE INIBIDORES DE TRANSCRIPTASE REVERSA NUCLEOSÍDEOS E NUCLEOTÍDEO I.....	55
FIGURA 3 -	PREVALÊNCIA DE MUTAÇÕES ASSOCIADAS AO USO DE INIBIDORES DE TRANSCRIPTASE REVERSA NUCLEOSÍDEOS II.....	56
FIGURA 4 -	PREVALÊNCIA DE MUTAÇÕES ASSOCIADAS AO USO DE INIBIDORES DE TRANSCRIPTASE REVERSA NÃO ANÁLOGOS NUCLEOSÍDEOS.....	57
FIGURA 5 -	PREVALÊNCIA DE MUTAÇÕES MAIORES ASSOCIADAS AO USO DE INIBIDORES DE PROTEASE.....	58
FIGURA 6 -	PREVALÊNCIA DE MUTAÇÕES MENORES ASSOCIADAS AO USO DE INIBIDORES DE PROTEASE.....	59
FIGURA 7 -	CARACTERIZAÇÃO DA PREVALÊNCIA DE MUTAÇÕES ASSOCIADAS AO USO DE INIBIDORES DE TRANSCRIPTASE REVERSA NUCLEOSÍDEOS E NUCLEOTÍDEO NOS ANOS ESTUDADOS.....	62
FIGURA 8 -	PREVALÊNCIA DE PACIENTES COM VÍRUS DOS DIFERENTES SUBTIPOS NOS ANOS ESTUDADOS.....	63
FIGURA 9 -	PREVALÊNCIA DOS SUBTIPOS DO HIV NOS TESTES REALIZADOS ENTRE 2003 E 2006.....	66

LISTA DE SIGLAS

ABC	– abacavir
ANVISA	– Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APV	– amprenavir
ARV(s)	– anti-retroviral(is)
ATV	– atazanavir
AZT	– zidovudina
CRE	– Centro Regional de Especialidades
CV	– carga viral
ddC	– zalcitabina
ddl	– didanosina
DLV	– delavirdina
DNA	– ácido desoxirribonucléico
DST	– doenças sexualmente transmitidas
DRV	– darunavir
d4T	– estavudina
GNT	– genotipagem
HAART	– terapia anti-retroviral altamente eficaz (do inglês <i>highly active antiretroviral therapy</i>)
EFV	– efavirenz
HIV	– Vírus da Imunodeficiência Humana
IAS-USA	– Sociedade Internacional de AIDS ou <i>International AIDS Society</i>
IDV	– indinavir
IP(s)	– inibidor(es) de protease
ITRN(s)	– inibidor(es) de transcriptase reversa nucleosídeos
ITRNN(s)	– inibidor(es) de transcriptase reversa não nucleosídeos
LPV	– lopinavir
MS	– Ministério da Saúde
NFV	– nelfinavir
NVP	– nevirapina
PCR	– reação da polimerase em cadeia
PR	– protease
PN - MS	– Programa Nacional de DST e Aids do Ministério da Saúde
RENAGENO	– Rede Nacional de Genotipagem
RNA	– ácido ribonucléico
RTV	– ritonavir
SQV	– saquinavir
SUS	– Sistema Único de Saúde
TAMs	– mutações associadas aos ITRN timidínicos (AZT e d4T)
TARV	– terapia anti-retroviral
TDF	– tenofovir
TPV	– tipranavir
TR	– transcriptase reversa
3TC	– lamivudina

LISTA DE SÍMBOLOS

ml
mm³

- mililitro
- milímetro cúbico

RESUMO

O uso de anti-retrovirais (ARVs) reduziu a morbi-mortalidade relacionada à infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV). Apesar deste avanço, mutações que conferem resistência a ARVs podem ser adquiridas no decorrer do tratamento e prejudicam a resposta terapêutica. O padrão de resistência do HIV-1 aos ARVs pode ser determinado através de testes de resistência, especialmente a genotipagem (GNT) que promove a detecção de mutações do genoma viral. O objetivo deste trabalho é estudar os dados epidemiológicos do perfil genotípico do HIV-1 em adultos com falha virológica a ARVs atendidos no Paraná. Pretende-se avaliar diferenças no padrão de mutações em diferentes épocas de teste e nos diferentes subtipos do HIV, bem como, a correlação da presença de mutações com o uso prévio e tempo de uso de ARVs. Foram estudadas mutações na protease (PR) e transcriptase reversa (TR) do HIV-1 em 467 genotipagens e o histórico de ARVs dos pacientes avaliados. As mutações mais prevalentes na TR foram 184V (68,3%), 215YF (51,6%), 103NS (46%), 41L (39,4%), 67N (38,5%), 210W (23,5%), 190ASE (23,2%) e 181C (17,4%). Na PR, as mutações maiores mais frequentes foram 90M (33,3%), 82ATFS (29%) e 46I (26,8%). Entre as mutações menores associadas a inibidores de protease (IP), houve maior prevalência de 36I (57%), 63P (55,8%) e 93P (34,9%). Não houve redução na prevalência de mutações para inibidores de transcriptase reversa nucleosídeos (ITRN), inibidores de transcriptase reversa não nucleosídeos (ITRNN) e IP, comparando testes realizados entre 2002 a 2006, houve aumento significativo de M184V e outras mutações pouco frequentes. Algumas mutações associadas a timidínicos (TAMs) e mutações maiores para IPs foram significativamente mais prevalentes em pacientes do sexo masculino. As mutações significativamente associadas ao subtipo B foram TAMs, como as dos códons 215 e 41 e mutações da PR (46I, 63P, 77I e 84V), ao subtipo C foi a 106M na TR e ao subtipo F a 36I na PR. Houve correlação evidente neste estudo entre o uso e o tempo de uso de ARVs e a ocorrência de mutações específicas, principalmente para lamivudina, ITRNN e IP. Concluiu-se que a prevalência das mutações foi elevada e não ocorreu redução da frequência de mutações com o passar dos anos em nosso meio. A frequência da maioria das mutações foi similar entre os subtipos, mas algumas diferenças significativas foram observadas. Há associação entre exposição prévia e o tempo de uso de TARV com presença de mutações detectadas à genotipagem principalmente para ITRNN, IP e lamivudina. Além disso, uso de duoterapia como esquema inicial foi fator de risco para a maior ocorrência de TAMs.

Palavras-chave: HIV-1. Terapia Anti-Retroviral. Genotipagem. Falha Virológica. Mutações. Pacientes Experimentados.

ABSTRACT

The antiretroviral therapy (ART) has reduced morbidity and mortality related to human immunodeficiency virus (HIV) infection. In spite of this advance, HIV mutations that decrease antiretroviral susceptibility leads to treatment failure in patients. The resistance pattern of HIV-1 to antiretrovirals can be evaluated by resistance tests, specially the genotype testing that allows detection of mutations in the viral genome. The aim of the study was to evaluate epidemiologic data of the HIV-1 genotypes in adult patients failing therapy in Paraná. We also intended to analyse differences of mutations patterns over the years and between HIV-1 subtypes, and correlate mutations and previous ART exposure and duration of exposure. We studied mutations in protease (PR) and reverse transcriptase (RT) of 467 genotypes and ART previously used by the patients. The most prevalent mutations at TR were: 184V (68,31%), 215YF (51,6%), 103NS (46%), 41L (39,4%), 67N (38,5%), 210W (23,5%), 190ASE (23,2%) and 181C (17,4%). At PR, the most frequent major mutations were 90M (33,3%), 82ATFS (29%) and 46I (26,8%). From minor mutations associated to protease inhibitors (PI), the most prevalent were 36I (57%), 63P (55,8%) and 93P (34,9%). There was no reduction in the prevalence of mutations related to nucleoside analog reverse transcriptase inhibitors (NRTI), non-nucleoside analog reverse transcriptase inhibitors (NNRTI) and PI, in the tests from 2002 to 2006, occurring significant increase of M184V and other less frequent mutations. Some thymidine associated mutations (TAMs) and PI major mutations were significantly more prevalent in male patients. The mutations significantly associated to subtype B were some TAMs (codons 214 and 41) and mutations at PR (46I, 63P, 77I and 84V), to subtype C was 106M at TR and to subtype F was 36I at PR. There was evident correlation between ART exposure and its duration and occurrence of specific mutations, especially to lamivudine, NNRTI and PI. It was possible to conclude that prevalence of mutations was high and there was not reduction of frequency of mutations through the years in our region. Frequency of most of mutations was similar between HIV-1 subtypes, but some significant differences were seen. There is association of ART exposure and the time of exposure and the presence of mutations at genotype, especially of NNRTI, PI and lamivudine related mutations. Moreover, double NRTI as initial treatment was a risk factor to a higher prevalence of TAMs.

Keywords: HIV-1. Antiretroviral Therapy. Genotype. Virologic Failure. Mutations. Drug-experienced Patients.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	JUSTIFICATIVA	15
1.2	OBJETIVOS E VARIÁVEIS	17
2	REVISÃO DA LITERATURA	19
2.1	ANTI-RETROVIRAIS	19
2.2	FALHA A TERAPIA ANTI-RETROVIRAL E RESISTÊNCIA VIRAL ÀS DROGAS	22
2.3	TESTE DE RESISTÊNCIA VIRAL POR SEQUENCIAMENTO DO GENOMA – GENOTIPAGEM	29
2.4	CARACTERÍSTICAS DE RESISTÊNCIA DOS SUBTIPOS DO HIV-1	33
3	METODOLOGIA DE PESQUISA ADOTADA	35
3.1	CLASSIFICAÇÃO DO TIPO DE PESQUISA	35
3.2	POPULAÇÃO E AMOSTRA DA PESQUISA	36
3.3	FASES NO DESENVOLVIMENTO DA PESQUISA	38
3.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA	43
4	CRONOGRAMA	44
5	RECURSOS NECESSÁRIOS	45
6	CUSTO DO PROJETO	48
7	RESULTADOS	49
7.1	DADOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS DOS PACIENTES	49
7.2	EPIDEMIOLOGIA DAS MUTAÇÕES	53
7.3	CARACTERÍSTICAS DAS MUTAÇÕES DE ACORDO COMO GÊNERO E O SUBTIPO DO HIV-1	64
7.4	RELAÇÃO ENTRE EXPOSIÇÃO A ANTIRETROVIRAIS E PRESENÇA DE MUTAÇÕES	67
8	DISCUSSÃO	72
8.1	CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA	72
8.2	PERFIL DE RESISTÊNCIA	73
8.3	COMPARAÇÃO COM SÉRIES NACIONAIS E INTERNACIONAIS	74
8.4	COMPARAÇÃO COM OUTRAS SÉRIES A RESPEITO DO PERFIL DE MUTAÇÕES ENTRE OS GÊNEROS E OS SUBTIPOS DO HIV-1	77
8.5	EXPOSIÇÃO A ANTIRETROVIRAIS COMO FATOR DE RISCO PARA PRESENÇA DE MUTAÇÕES	79
8.6	PRESENÇA DE MUTAÇÕES NA AMOSTRA E PERSPECTIVAS DE TRATAMENTOS FUTUROS	80
9	CONCLUSÃO	82
	REFERÊNCIAS	83
	APÊNDICES	98
	ANEXOS	112

1 INTRODUÇÃO

O uso de anti-retrovirais (ARVs) reduziu dramaticamente a morbi-mortalidade relacionada à infecção pelo HIV-1, principalmente nos últimos 10 anos, após a introdução da terapia anti-retroviral altamente eficaz (HAART), que consiste no uso combinado de pelo menos três ARVs. A terapia anti-retroviral (TARV) age na redução da carga viral (CV) e na reconstituição do sistema imunológico. Falha virológica a TARV é definida quando cópias de HIV são detectadas no de sangue do paciente, ou seja, quando não há o efeito máximo de supressão virológica pela medicação em uso.

O Brasil foi um dos primeiros países a adotar a política de saúde com o acesso universal e gratuito da população aos ARVs. OKIE (2006) divulgou internacionalmente dados sobre o Programa Nacional de DST e AIDS do Ministério da Saúde (PN – MS) e publicou que aproximadamente 170 mil pacientes estavam em tratamento para infecção pelo HIV – 1 no Brasil em 2006. Segundo dados do Ministério da Saúde (MS), em 2004, o governo brasileiro gastou US\$ 203 milhões em medicamentos ARV, desse valor, 80% foi gasto para adquirir os oito medicamentos importados, na época. Em 2008 o número de pacientes em tratamento chegou a 181 mil pessoas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

Atualmente ARVs de cinco classes, incluindo inibidores de transcriptase reversa análogos nucleosídeos (ITRNs), inibidores de transcriptase reversa não análogos nucleosídeos e nucleotídeos (ITRNNs), inibidores de protease (IPs), um inibidor de fusão (enfuvirtida) e um inibidor de integrase (raltegravir) estão aprovados e disponíveis pelo PN - MS para uso no Brasil.

Apesar dos avanços em termos de terapêutica e do amplo acesso local ao tratamento, a eficácia da TARV pode ser prejudicada por mutações do vírus que criam resistência aos medicamentos. Entre os pacientes em uso de TARV, cerca de 30 a 50% apresentam falha no decorrer do tratamento (SABIN et al., 2005 e HARRIGAN et al., 2005). O risco de resistência aos ARVs na presença de TARV ocorre quando não há supressão da CV. KANTOR et al. (2004) demonstraram que 75% dos pacientes acumulam novas mutações quando estão falhando à TARV por 14 meses e HATANO, et al. (2006) determinaram que a cada ano de uso de um esquema ARV sem supressão de CV, 18% dos pacientes desenvolvem uma nova mutação para ITRNs e 23% desenvolvem uma nova mutação para IP.

Segundo VELLA e PALMISANO (2005), cerca de 10% dos pacientes recém-infectados pelo HIV-1 no mundo adquirem vírus com alguma mutação que confere resistência a ARVs. Segundo BRINDEIRO et al. (2003), no Brasil 2,34% dos pacientes não expostos a TARV apresentavam mutações no genoma viral para IPs, 2,06% para ITRNN e 2,36% para ITRN, no início desta década. Recentemente, há relatos de resistência a ARVs entre 25 a 36,8% dos pacientes recém infectados em algumas regiões do Brasil (SUCUPIRA et al., 2007).

Com estes dados, observa-se que o conhecimento e controle de resistência virológica são importantes não apenas para adequar terapêutica, mas claramente dever ser estendidos para a prevenção de infecção primária.

A presença de mutações de resistência tem impacto na resposta a TARV e, além disso, ZACCARELLI et al. (2005), demonstraram que quanto mais mutações de resistência, pior o prognóstico clínico dos pacientes sendo, a multi-resistência, um marcador de progressão de doença e de mortalidade.

A resistência a TARV ocorre porque o desempenho acelerado do vírus HIV em termos de replicação, leva à geração contínua de partículas virais com mutações aleatórias em seu material genético. A maioria das mutações inviabiliza a partícula viral e algumas mutações não causam nenhuma alteração significativa, porém certas mutações tornam o HIV-1 resistente aos ARVs. Quando isto ocorre, há uma seleção desta população de vírus mutante, que passa a se multiplicar sem inibição eficiente dos medicamentos (HU et al., 1996). Quanto maior a CV e sua taxa de replicação na vigência do uso de terapia anti-retroviral TARV sub-ótima, maior será a chance de gerar uma população viral resistente.

O padrão de resistência do HIV-1 aos ARVs é determinado através de testes de resistência que são: a genotipagem (GNT) e a fenotipagem (FNT). O uso de testes de resistência a ARVs é recomendado para boa prática clínica para detectar vírus mutantes sempre que houver necessidade de troca da TARV por falha virológica (HIRSCH et al., 2000, 2003 e 2008; HAMMER et al., 2006 e NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2008). O teste de GNT disponível atualmente no Brasil, pelo MS, determina as mutações em diferentes regiões do genoma do HIV-1, através do seqüenciamento completo do gene da protease (PR) e do seqüenciamento de cerca de dois terços da TR, enzimas alvo da TARV.

Os testes de genotipagem estudados neste trabalho, avaliam a sensibilidade a medicamentos das classes ITRN, ITRNN e IP.

As mutações com papel na resistência aos ARVs e detectadas pelos testes de genotipagem têm sido constantemente atualizadas desde o início desta década e o conhecimento em termos de mutações gerado até o momento promove a escolha de TARV subsequente com segurança (SHAFFER et al., 2008 e JOHNSON et al., 2008). Segundo ZACCARELLI et al. (2009), a análise combinada de GNT recentes e antigas e de todo o histórico de ARVs, ou seja, a avaliação mais completa possível de resistência viral às drogas é essencial para a escolha de terapia antiviral eficaz. Assim, sempre que possível está indicado detectar a ocorrência de resistência genotípica (mutações do HIV) em pacientes em uso de TARV possibilitando reorientação do tratamento e seleção de uma terapia de resgate.

Estudos “in vitro” do perfil fenotípico de cada mutação do genoma viral determinam o papel das mutações na eficácia da TARV e dados gerados a partir de estudos de prevalência das mutações de resistência do HIV – 1, além de corroborarem os dados do papel das mutações, contribuem para o conhecimento científico e auxiliam na escolha de terapias antivirais futuras.

1.1 JUSTIFICATIVA

A justificativa para a realização deste trabalho é a necessidade de se estudar o padrão de mutações aos ARVS nos pacientes que receberam TARV no estado do Paraná e apresentaram falha virológica ao tratamento. Especificamente, conhecer a prevalência de cada mutação dos genes da TR e da PR do HIV-1 nesta população submetida ao teste de genotipagem entre 2002 e 2006.

1.1.1 Importância da Pesquisa do Ponto de Vista de Outros Autores

O conhecimento do padrão de resistência do HIV-1 é importante para a prescrição seqüencial de TARV e dados de prevalência de mutações têm sido descritos por vários autores no mundo todo. Um dos maiores estudos de distribuição de mutações nos genes da TR e PR em pacientes falhando a HAART (RHEE et al., 2004) determinou que em 6153 seqüências genômicas virais na Califórnia, 21,8% apresentam mutações que prejudicam a resposta para as três classes de ARVs e

56,9% apresentam mutações que prejudicam a resposta a uma ou duas classes de ARVs. A prevalência de mutações de resistência para ITRNs, IPs e ITRNNs, foi respectivamente: 73,4%, 47,7% e 43,2%. Neste estudo, apenas 21,3% das amostras não apresentavam nenhuma mutação de resistência. Outros dados internacionais demonstraram proporções de mutações de resistência elevadas, porém com predomínio de mutações para ITRN e uma menor prevalência de mutações para ITRNN. As prevalências encontradas de mutações para ITRNs, IPs e ITRNNs, foram respectivamente: 78,3%, 47% e 38,9% da amostra de pacientes da França (TAMALET et al., 2003) e 76%, 41% e 25% da amostra de pacientes dos Estados Unidos (RICHMAN et al., 2004). Dados semelhantes foram demonstrados em amostra de pacientes na Inglaterra (SCOTT et al., 2004 e PILLAY et al., 2005).

O histórico de ARVs utilizados define o padrão de resistência no momento da falha ao tratamento. Os estudos de RICHMAN et al. (2004) e de NAPRAVNIK et al. (2007) demonstraram que a prevalência de mutações para ITRNs é maior nos pacientes que utilizaram esquemas com duoterapia com ITRNs.

Em estudos nacionais, vários autores relataram dados de prevalência de mutações na GNT. MEDEIROS et al. (2007), CAVALCANTI et al. (2007) e BAHIA et al. (2004) avaliaram dados de 101, 516 e 96 pacientes do nordeste brasileiro respectivamente. COUTO-FERNANDEZ et al. (2005) avaliaram dados de 547 pacientes atendidos no Rio de Janeiro (RJ), SUCUPIRA et al. (2001) e RODRIGUES et al. (2005) observaram o perfil de resistência no Estado de São Paulo (SP) em 791 e 306 casos respectivamente. CERQUEIRA et al. (2004) estudaram 45 casos do Distrito Federal e TANURI et al. (2002) estudaram 267 casos de todo o país.

Em todas estas séries nacionais, a mutação mais prevalente foi a M184V, em cerca de dois terços dos pacientes. A maior diferença em taxas de prevalência nestes estudos ocorreu com as mutações para ITRNNs que apresentaram índices crescentes com o passar do tempo.

1.1.2 Fatores que Determinaram a Escolha do Tema

A escolha do tema foi motivada pelos seguintes fatores:
Experiência profissional no acompanhamento de pacientes infectados pelo HIV-1 em falha ao tratamento e análise de genotipagens desde o ano de 2002.

Ausência de dados epidemiológicos do perfil genotípico dos pacientes atendidos no estado do Paraná e necessidade de conhecimento destes dados.

É desconhecido o padrão de prevalência das mutações de resistência a ARVs em subgrupos com diferentes tipos e tempos de uso de TARV e nos diferentes anos em que o teste foi realizado.

A frequência de mutações do HIV-1 no sexo feminino e masculino nesta amostra é desconhecida.

A frequência de mutações nos diferentes subtipos de HIV-1 nesta amostra é desconhecida.

1.1.3 Contribuição para o Conhecimento Científico

A contribuição imediata da análise desta casuística são os dados epidemiológicos das mutações do HIV-1 no Estado do Paraná. Até o momento existem dados epidemiológicos das mutações do HIV-1 em alguns estados brasileiros, mas não há dados publicados do Estado do Paraná.

Além de dados de prevalência, pretende-se conhecer dados de correlação destas modificações genéticas do HIV-1 com: o uso prévio de ARVs, o tempo de uso destes ARVs e o subtipo de HIV-1.

Estes dados serão divulgados em periódicos indexados da área médica podendo servir de consulta e de base para novas pesquisas nesta área.

1.2 OBJETIVOS, HIPÓTESES E VARIÁVEIS

1.2.1 Objetivo Principal

Estudar os dados epidemiológicos do perfil genotípico do HIV-1 em pacientes adultos atendidos no Paraná com falha virológica a anti-retrovirais submetidos a teste de genotipagem entre 2002 e 2006

1.2.2 Objetivos Secundários

Avaliar diferenças no padrão de mutações de acordo com época do teste de resistência;

Avaliar diferenças no padrão de mutações de acordo com o subtipo do HIV-1;

Correlacionar a presença de mutações com a terapia prévia utilizada e o tempo de uso dos ARVs.

1.2.3 Variáveis Independentes

No APÊNDICE 1 estão detalhadas as características das seguintes variáveis:

Identificação dos pacientes da amostra.

Dados demográficos como sexo e idade do paciente no momento do teste de GNT.

Dados laboratoriais como carga viral do HIV-1, dosagem de linfócitos CD4, subtipo do HIV-1.

Laboratório em que foi realizada a GNT.

Medicações ARVs utilizadas e tempo de uso das mesmas.

1.2.4 Variáveis Dependentes

Presença de mutações nos genes da TR e da PR, a saber:

a. mutações no gene da TR: M41L, K43EQ, E44AD, A62V, K65R, D67NGE, T69DSAN, inserção no códon 69, K70REG, L74V, V75IASTM, F77L, A98G, L100I, K101EPH, K103NSR, V106AMI, V108I, Y115F, F116Y, V118I, Q151M, V179DEFT, Y181CIV, M184VI, Y188CHL, G190ASE, H208Y, L210W, T215YF, D218E, K219QENR, H221Y, P225H, F227LC, L228R, M230L e K238T.

b. mutações no gene da PR: L10FIRV, V11I, I13V, G16E, K20MRIT, L23I, L24I, D30N, V32I, L33F, E34Q, E35G, M36IV, K43T, M46IL, I47VA, G48VM, I50LV, F53L, I54VTASML, Q58E, D60E, I62V, L63P, I64LMV, A71VTI, G73ST, T74P, L76V, V77I, V82AFLTS, N83D, I84VAC, I85V, N88DS, L89V, L90M e I93LM.

Presença ou ausência de correlação de cada mutação com a TARV.

Presença de cada mutação de acordo com o gênero do paciente e nos diferentes subtipos do HIV-1.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ANTI-RETROVIRAIS

Conhecimentos sobre o ciclo replicativo do HIV e alvos críticos para o bloqueio da replicação viral auxiliam tanto na pesquisa de novas terapias como no entendimento da resistência virológica aos ARVs existentes. As drogas descritas a seguir são aquelas cujo perfil de resistência pode ser estimado através do teste de genotipagem avaliado neste estudo.

2.1.1 Drogas que Atuam na Etapa de Transcrição Reversa

Estas drogas agem nas etapas anteriores à integração do genoma viral ao núcleo das células humanas, inibindo a enzima TR. Podem ser classificadas como: Inibidores de Transcriptase Reversa Análogos Nucleosídeos e Nucleotídeos (ITRNs): são moléculas semelhantes aos nucleosídeos em estrutura, porém modificados de tal maneira que são incluídos na cadeia de DNA que está sendo sintetizada, impedindo a polimerização da cadeia. Necessitam de fosforilação intracelular para serem ativos (CLAVEL e HANCE, 2004). As drogas desta classe disponíveis para uso clínico no Brasil são: zidovudina (AZT), lamivudina (3TC), didanosina (ddl), estavudina (d4T) e abacavir (ABC). A zalcitabina (ddC) não encontra-se mais disponível por toxicidade e eficácia questionável (Quadro 1).

Análogos nucleotídeos: são moléculas que agem de forma semelhante aos análogos nucleosídeos, porém já estão fosforilados, ou seja, já contêm o grupo fosfato. O medicamento disponível desta classe é o tenofovir (TDF).

Inibidores de Transcriptase Reversa não Análogos Nucleosídeos (ITRNNs): são moléculas que têm alta afinidade pela porção hidrofóbica no sítio catalítico da enzima TR, entre os aminoácidos produzidos pelos códons 98 a 108 e 179 a 190. Estes medicamentos alteram a conformação enzimática impedindo a polimerização do DNA pró-viral (CLAVEL e HANCE, 2004). As drogas desta classe disponíveis são nevirapina (NVP) e efavirenz (EFV). A delavirdina (DLV) não está mais disponível em nosso meio devido a posologia desfavorável. Etravirina (ETR) é outro ITRNN em

fase de aprovação pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) já disponível em outros países e em protocolos de pesquisa no Brasil (Quadro 1).

2.1.2 Drogas que Atuam na Maturação Viral

Esta classe de drogas tem como alvo a protease viral, enzima que atua promovendo o processo de montagem da partícula viral. A inibição da protease impede a maturação dos precursores protéicos virais já formados na célula humana. O conhecimento da estrutura da PR proporciona o desenvolvimento de inibidores específicos que mimetizam os peptídeos virais e possuem grande afinidade pelo sítio ativo da enzima (ROBERTS et al., 1990).

Os diversos compostos comerciais disponíveis, que inibem a protease são: indinavir (IDV), saquinavir (SQV), lopinavir/ritonavir (LPV/r), ritonavir (RTV), fosamprenavir (FPV), atazanavir (ATV) e darunavir (DRV). O nelfinavir (NFV) muito utilizado a partir do final dos anos 90, atualmente não está mais disponível no Brasil pela posologia desfavorável e baixa eficácia quando comparado com outros IPs (Quadro 1).

Com o objetivo de aumentar a eficácia do esquema ARV associa-se ritonavir (RTV) em doses baixas aos IPs. Concentrações suficientemente altas de medicamento e conseqüente prevenção de resistência ocorrem uma vez que o RTV inibe o citocromo CYP 450 no fígado diminuindo a metabolização dos IPs usados concomitantemente. Estudos confirmam supressão virológica superior com IPs associados a RTV comparados com IPs isolados em pacientes no primeiro esquema ARV (VONWYL et al., 2007).

Os IPs recentemente aprovados como darunavir e tipranavir, este último não disponível no Brasil, apresentam melhor atividade virológica em pacientes com HIV-1 resistente a outros IPs (BAXTER et al., 2006; DE MEYER et al., 2005 e 2006).

CLASSE FARMACOLÓGICA	MEDICAMENTO	NOME COMERCIAL
Inibidores da Transcriptase Reversa – Análogos de Nucleosídeos/Nucleotídeos (ITRN)	Zidovudina (AZT)	Retrovir®
	Lamivudina (3TC)	Epivir®
	Didanosina (ddl)	Videx®
	Zalcitabina (ddC)	Hivid®
	Estavudina (d4T)	Zeritavir®
	Abacavir (ABC)	Ziagen®
	Tenofovir (TDF)	Viread®
Inibidores da Transcriptase Reversa – Não-análogos de Nucleosídeos (ITRNN)	Efavirenz (EFV)	Stocrin®
	Nevirapina (NVP)	Viramune®
	Delavirdina (DLV)	Rescriptor®
Inibidores da Protease (IP)	Indinavir (IDV)	Crixivan®
	Nelfinavir (NFV)	Viracept®
	Ritonavir (RTV)	Norvir®
	Saquinavir (SQV)	Invirase®
	Amprenavir (APV)	Agenerase®
	Atazanavir (ATV)	Reyataz®
	Lopinavir / Ritonavir (LPV/r)	Kaletra®
	Darunavir (DRV)	Prezista®

QUADRO 1 - LISTAGEM DOS ANTI-RETROVIRAIS APROVADOS PELO MINISTÉRIO DA SAÚDE E AVALIADOS PELO TESTE DE GENOTIPAGEM DO HIV-1

FONTE: TOLEDO (2008)

NOTA 1: Além destas classes de ARVs, estão também disponíveis no Brasil o Inibidor de Fusão Enfuvirtida e o Inibidor de Integrase Raltegravir. As mutações que conferem resistência a estas medicações ainda não são identificadas nos testes de resistência convencionais que contemplam a identificação dos genes da transcriptase reversa e da protease. Nestes casos, é necessária a amplificação dos genes do envelope viral e da integrase.

NOTA 2: Destes medicamentos, nelfinavir e delavirdina não estão mais disponíveis para uso no Brasil mas foram utilizados por alguns pacientes da amostra em estudo.

NOTA 3: Atualmente amprenavir foi substituído por fosamprenavir, mas na amostra em estudo apenas o amprenavir foi utilizado. O fosamprenavir é a pró-droga do amprenavir e ambos estão relacionados com as mesmas mutações no gene da protease.

2.1.3 Escolha do Tratamento Anti-retroviral

A terapia inicial deve sempre incluir três drogas, podendo ser dois ITRNs associados a um ITRNN ou dois ITRNs associado a um IP para todos aqueles pacientes que preencherem os critérios de início do tratamento. Os critérios de início da TARV e a escolha dos ARVs são consenso internacional (HAMMER et al., 2008; NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2008). Os pacientes infectados pelo HIV com sintomas de queda de imunidade ou presença de infecções oportunistas têm indicação de usar ARVs independente do valor de CD4. Todos os pacientes que apresentam contagem de CD4 abaixo de 350 células/ml (em especial aqueles com CD4 abaixo de 200 células/ml), mesmo se estiverem assintomáticos devem ser tratados.

Para os pacientes cujo HIV-1 apresenta resistência a ARVs conhecida ou suspeita, o teste de genotipagem é necessário para a escolha do esquema subsequente. Nestes casos, deve-se também indicar um esquema com três drogas ativas, se possível (HAMMER et al., 2008; NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2008).

2.2 FALHA A TERAPIA ANTI-RETROVIRAL E RESISTÊNCIA VIRAL ÀS DROGAS

Considera-se falência clínica quando há deterioração das condições clínicas do paciente após 3 a 4 meses do tratamento, pode haver aparecimento de doenças oportunistas. Falha imunológica ocorre quando há queda de pelo menos 25% no valor absoluto ou 3% na percentagem de linfócitos T CD4. Na falha virológica, ocorre aumento consistente da carga viral em valores acima de 50 cópias/ml (HAMMER et al., 2008).

O principal fator que contribui para a falha virológica é a falta de adesão dos pacientes ao uso dos medicamentos, geralmente secundária a toxicidade e complexidade posológica dos esquemas terapêuticos. Além da baixa aderência ao tratamento, numerosos fatores podem contribuir para a falha no tratamento:

Potência limitada de certos esquemas ARVs, principalmente quando há o uso de monoterapia ou terapia dupla e de drogas com baixa barreira genética;

Fatores farmacológicos, incluindo interações com outras drogas que prejudicam a absorção ou aceleram o metabolismo dos ARVs.

Resistência a ARVs por acúmulo de mutações;

Resistência a ARVs adquirida por transmissão de cepas resistentes ou selecionada por terapia ineficaz prévia (VELLA e PALMISANO, 2005).

A replicação contínua e acelerada do HIV-1 *in vivo*, associada à grande variabilidade genética desencadeada por “equivocos” das enzimas virais, na presença de níveis sub-ótimos de ARVs, permitem o aparecimento de mutações no genoma viral responsáveis por resistência ao tratamento. A TR não possui um mecanismo de controle de qualidade capaz de confirmar que a cadeia de DNA formada seja uma cópia acurada do RNA viral. Em cada ciclo de replicação, ocorrem aproximadamente 3.4×10^{-5} mutações em cada par de bases. Como o genoma do HIV tem aproximadamente 10^4 pares de bases, e a taxa de produção viral é de cerca

de 10^{10} virions ao dia e milhões de variantes virais são produzidas *in vivo* em um único dia (PERELSON et al., 1996).

Assim, a supressão incompleta da replicação viral conduz à seleção de variantes resistentes aos fármacos utilizados. O aparecimento de cepas resistentes aos ARVs é, ao mesmo tempo, efeito e causa da supressão viral incompleta. Estas cepas formam variantes que apresentam mutações com vantagem seletiva e passam a predominar, gerando alta probabilidade de falha terapêutica (COFFIN, 1995).

Resistência é um processo gradual que envolve o acúmulo de múltiplas mutações levando a níveis variáveis de redução da sensibilidade do tratamento e diferentes efeitos na capacidade de replicação viral. Eventualmente alguns vírus desenvolvem resistência a drogas de várias classes terapêuticas (vírus multi-resistentes) e as opções terapêuticas são limitadas ou inexistentes. Vírus multi-resistentes podem causar grande morbidade, uma vez que a supressão virológica e o controle da imunidade não são mais possíveis (LEDERGERBER et al., 1999 e ZACCARELLI et al., 2005). Além disso, vírus multi-resistentes são um problema de saúde pública tendo em vista que podem ser transmitidos para novos hospedeiros (SHAFER et al., 1998).

Os primeiros relatos de resistência a AZT foram realizados por LARDER et. al em 1989. Nos anos 90, SHUURMAN et al. (1995) descreveram a mutação M184V e importantes mutações de resistência secundárias a ITRNs, ITRNNs e IPs foram relatadas. Desde então, dados de prevalência de resistência aos ARVs vêm sendo amplamente estudados e publicados.

As mutações são trocas de aminoácidos em locais específicos do genoma viral, representadas graficamente por uma letra maiúscula, um número e outra letra maiúscula. A primeira letra indica a inicial do aminoácido presente neste determinado códon dos vírus que não possuem resistência, o número significa o local daquele aminoácido na seqüência de genes e outra letra maiúscula indica a inicial do aminoácido que está substituindo o original quando ocorre a mutação. Por exemplo, para a mutação do gene da transcriptase reversa (TR) M184V, significa que na posição 184 da TR, o aminoácido metionina foi substituído pelo aminoácido valina (KUIKEN et al., 1999).

Barreira genética a resistência é o número de mutações e a facilidade para ocorrência de mutações necessárias para o desenvolvimento de resistência. Quanto

maior a barreira genética, maior o número e menos provável a ocorrência de mutações para determinado ARV (HIRSCH et al., 1998, 2000, 2003, 2008).

Já está bem definido que para alguns ITRNs, como o 3TC e para os ITRNNs EFV e NVP, uma única mutação é capaz de induzir resistência viral, estas são ditas drogas com baixa barreira genética. Para outros, como os ITRNs AZT, d4T, DDI e TDF e a maioria dos IP são necessárias mutações seqüenciais para a indução de resistência (HIRSCH et al., 2003). Fatores como a baixa aderência ao uso de ARVs, influenciam o acúmulo rápido de mutações que prejudicam a ação destas medicações com baixa barreira genética, sendo um fator de risco maior durante o uso de esquemas com ITRNNs do que com IPs (BANGSBERG et al., 2006).

2.2.1 Resistência aos Inibidores de Transcriptase Reversa Análogos Nucleosídeos ou Nucleotídeos (ITRNs)

Embora a maioria das mutações associadas à resistência aos ITRNs não ocorra no centro ativo da enzima, elas alteram a sua conformação espacial dificultando a ação dos medicamentos. Os ITRNs impedem a síntese de DNA viral pela TR. São incorporados no DNA viral em formação pela TR e como não possuem um radical hidroxila fazem com que novos nucleotídeos não sejam ligados (CLAVEL e HANCE, 2004).

Um dos mecanismos de resistência compromete a afinidade da enzima pelos análogos nucleosídeos ou nucleotídeos e impede a ligação dos mesmos no DNA viral. Isso ocorre quando surgem as mutações 184V, 65R, complexo de mutações 151M, 74VI e 115F (CLAVEL e HANCE, 2004).

Outro mecanismo é o aumento da pirofosfólise da enzima com a retirada da droga de sítio ativo da enzima e desligamento do análogo da cadeia de DNA viral. Este mecanismo é causado por mutações relacionadas aos timidínicos (TAMs). Embora as TAMs apareçam após uso dos ITRNs análogos da timidina (AZT e d4T), essas mutações, quando presentes em grande número, reduzem a susceptibilidade a todas as drogas desta classe (CLAVEL e HANCE, 2004). O fenômeno de pirofosfólise que resulta na remoção do ITRN da cadeia de DNA viral pode ser reduzido quando outras mutações como a M184V estão presentes na TR. Assim,

com a M184V presente, há aumento da atividade residual dos timidínicos na presença de TAMs (LARDER et al., 1995).

As mutações de resistência a ITRN estão representadas no Quadro 2.

		AZT	D4T	ddl	TDF	ABC	3TC
Mutações associadas a timidínicos (TAMs)	M41L						
	D67N						
	K70R						
	L210W						
	T215Y/F						
	K219Q/E						
Mutações não associadas a timidínicos	K65R						
	K70E/G						
	L74V/I						
	V75T/M						
	Y115F						
	M184VI						
Mutações de Multi-resistência a ITRNs	69 insertion						
	A62V						
	V75I						
	F77L						
	F116Y						
	Q151M						
Mutações Acessórias	K43E/Q						
	E44A/D						
	V118I						
	H208Y						
	D218E						
	H221Y						
	L228HR						
Mutações Adicionais	D67G/E						
	T69D/S/A/N						
	V75A/S						
	K219N/R						

QUADRO 2 – MUTAÇÕES ASSOCIADAS A INIBIDORES DE TRANSCRIPTASE REVERSA ANÁLOGOS NUCLEOSÍDEOS E NUCLEOTÍDEOS (ITRNs)

FONTE: SHAFER (2008) e JOHNSON (2008)

NOTAS: AZT – Zidovudina

d4T – Estavudina

3TC – Lamivudina

ddl – Didanosina

ABC – Abacavir

TDF – Tenofovir

Mutações associadas a resistência de Zalcitabina (ddC) são semelhantes às associadas a ddl, mas não estão aqui discriminadas pois esta medicação não está mais em uso no Brasil.

■ - Resposta Reduzida

■ - Resistência Completa

■ - Contribuem para Resistência

■ - Hipersensibilidade

■ - Mutações acessórias – são mutações que em associação com as TAMs comprometem a sensibilidade a múltiplos ITRNs. Algumas estão presentes em 2% dos pacientes não tratados (44D e 118I).

■ - Mutações adicionais – estão relacionadas ao tratamento com ITRN e o significado em termos de resistência não está bem estabelecido.

2.2.2 Resistência aos Inibidores de Transcriptase Reversa não Análogos Nucleosídeos (ITRNNs)

O mecanismo de resistência a esta classe, ocorre com a presença de mutações que desestabilizam o local de ação das drogas impedem seu acoplamento e inibição da enzima.

A ligação entre a enzima e os diferentes ITRNNs pode desencadear diferentes mutações no sítio ativo da enzima (BOYER et al., 1993). Resistência a nevirapina é geralmente associada à mutação Y181C, mas as mutações Y188C, K103N, G190A e V106A podem ocorrer (RICHMAN et al., 1994). A resistência inicial ao efavirenz é geralmente caracterizada pela presença de K103N, mas a mutação Y188L pode também ocorrer (BACHELER et al., 2000).

O ITRNN etravirina, em fase de aprovação para uso no Brasil, caracteriza-se por manter a sensibilidade na presença da mutação K103N. Para redução de sensibilidade, é necessário o acúmulo de mutações incluindo V90I, A98G, L100I, K103N, V106A/I/M, V108I, V179D/F, Y188C/H/L e P225H, mas principalmente as mutações K101E/P, Y181C/I/V, G190A/S (LAZZARIN et al., 2007).

Mutações relacionadas ao uso de ITRNN estão representadas no Quadro 3.

2.2.3 Resistência aos Inibidores de Protease (IPs)

As mutações no gene da protease ocorrem através de substituições de aminoácidos dentro e fora do sítio de ligação da enzima. Estas alterações de aminoácidos modificam a afinidade e os pontos de contato da enzima com os IPs (CONDRA et al., 1995).

Algumas mutações são selecionadas apenas por certos IPs, refletindo particularidades na estrutura química destas drogas, mas há sobreposição entre as combinações de mutações de resistência a IPs e as diferentes medicações desta família, a chamada resistência cruzada (SHAPIRO et al., 1999).

Dentre as mutações de resistência para IPs, as mutações primárias ou maiores ocorrem inicialmente, promovem redução substancial da sensibilidade ao IP e reduzem a capacidade replicativa viral. Geralmente ocorrem no sítio de ligação às drogas (HIRSCH et al., 1998). Mutações menores ou secundárias emergem

posteriormente e isoladamente têm menor efeito na resistência, podem alterar a taxa de replicação viral e podem estar presentes como polimorfismos, principalmente em vírus de subtipo não-B (JOHNSON et al., 2005).

Resistência a IPs associados à baixa dose de RTV ocorre após o acúmulo de um maior número de mutações, ou seja, são associações com maior barreira genética do que IPs sem RTV (BANGSBERG et al., 2006).

Mutações maiores e menores que conferem resistência a IP estão representadas no Quadro 4.

	NVP	EFV	ETR
A98G	Resposta Reduzida	Resposta Reduzida	Resposta Reduzida
L100I	Resistência Completa	Resistência Completa	Resistência Completa
K101E/P	Resposta Reduzida	Resposta Reduzida	Resistência Completa
K101H			Resistência Completa
K103N/S	Resistência Completa	Resistência Completa	
K103R		Resistência Completa	Resistência Completa
V106A/M	Resistência Completa	Resistência Completa	
V106I			Resposta Reduzida
V108I	Resposta Reduzida	Resposta Reduzida	
V179DEF	Resposta Reduzida		Resistência Completa
V179T	Resposta Reduzida		Resposta Reduzida
Y181C/I/V	Resistência Completa	Resposta Reduzida	Resistência Completa
Y188C/H/L	Resistência Completa	Resistência Completa	Resposta Reduzida
G190A/S/E	Resistência Completa	Resistência Completa	Resistência Completa
P225H		Resposta Reduzida	
F227L	Resposta Reduzida		
F227C	Resposta Reduzida	Resposta Reduzida	Resistência Completa
M230L	Resistência Completa	Resistência Completa	Resistência Completa
K238T	Resistência Completa	Resposta Reduzida	

QUADRO 3: MUTAÇÕES ASSOCIADAS A INIBIDORES DE TRANSCRIPTASE REVERSA NÃO ANÁLOGOS NUCLEOSÍDEOS (ITRNNs)

FONTE: SHAFER (2008) e JOHNSON (2008)

NOTAS: EFV – Efavirenz

NVP – Nevirapina

ETR – Etravirina

Mutações associadas a resistência de Delavirdina (DLV) são semelhantes às associadas a EFV e NVP, mas não estão aqui discriminadas pois esta medicação não está mais em uso no Brasil.

Resposta Reduzida

Resistência Completa

K103R está presente em 1-2% de pacientes não tratados e reduz a sensibilidade a EFV e NVP em combinação com a mutação V179D

		ATV e ATV/r	DRV/r	APV/r e FPV/r	IDV/r	LPV/r	NFV	SQV/r	TPV/r
Mutações maiores	D30N								
	V32I								
	L33F								
	M46IL								
	I47AV	*							
	G48VM								
	I50L								
	I50V								
	I54ML								54M 54L
	Q58E								
	T74P								
	L76V								
	V82ATFS								*
	I84VAC								
	N88D/S	*							
	90M								
Mutações menores	L10FIRV								
	V11I								
	I13V								
	G16E								
	K20MRIT								
	L23I								
	L24I								
	E34Q								
	E35G								
	M36IV								
	K43T								
	F53L								
	I54VTAS								
	D60E								
	I62V								
	L63P								
	I64LMV								
	A71VTI								
	G73ST								
	V77I								
N83D									
I85V									
L89V									
I93LM									

QUADRO 4: MUTAÇÕES ASSOCIADAS A INIBIDORES DE PROTEASE (IPs)

FONTE: SHAFER (2008) e JOHNSON (2008)

NOTAS: NFV – Nelfinavir, ATV – Atazanavir, SQV/r – Saquinavir/ritonavir, IDV/r – Indinavir/ritonavir, ATV/r – Atazanavir/ritonavir, APV/r – Amprenavir/ritonavir, LPV/r – Lopinavir/ritonavir, DRV/r – Darunavir/ritonavir, TPV/r – Tipranavir/ritonavir

Mutações associadas a Saquinavir, Indinavir e Amprenavir isoladamente, sem a potencialização promovida pelo ritonavir são semelhantes às relacionadas acima para o uso combinado com dose baixa de ritonavir

Mutações associadas ao RTV isoladamente não estão aqui discriminadas pois esta medicação não está mais em uso isolado no Brasil

Tipranavir não está disponível no Brasil, mas está incluído na tabela pois mutações consideradas associadas ao TPV/r também podem ser selecionadas por outros IPs e estão presentes na amostra em estudo. * No caso deste ARV, apenas as mutações 82L e T têm papel na resistência e não as mutações 82AFS.

* Para o atazanavir apenas a mutação 88S e não a 88D e apenas a mutação I47V e não a 47A têm papel na resistência..

- Resposta Reduzida
- Resistência Completa – Consenso na Literatura
- Resistência Completa para alguns autores incluindo SHAFER, 2008
- Hipersensibilidade

2.3 TESTE DE RESISTÊNCIA VIRAL POR SEQÜENCIAMENTO DO GENOMA – GENOTIPAGEM

A genotipagem gera informações que ajudam na escolha de novos esquemas terapêuticos para pacientes com falha terapêutica, promovendo perspectivas de sucesso terapêutico e conseqüente diminuição da probabilidade de aparecimento de formas resistentes do HIV-1.

A técnica de realização da GNT consiste no seqüenciamento completo do gene da PR (genes 1 a 99) e no seqüenciamento de cerca de dois terços da TR. Em alguns programas como o ViroSeq® são seqüenciados os códons 1 a 325 e no sistema da VIRCO® os códons 1a 400.

O RNA viral é isolado e purificado por ultra-centrifugação e posteriormente amplificado por reação da polimerase em cadeia (PCR) após transformação de RNA viral em DNA (transcrição reversa). Os produtos da amplificação são seqüenciados em duas fitas do DNA através de “primers” em um seqüenciador automático de DNA. A seguir, as seqüências dos genes da TR e PR do paciente em questão são comparadas com as seqüências referência do HIV-1 “selvagem” não exposto a ARVs descritas em compêndios de seqüenciamento do genoma viral como o do Laboratório de Los Alamos nos EUA e conhecido com HXB2 (MYERS et al., 1994, 1995 e 1996; KORBER et al., 1997; KUIKEN et al., 1998, 1999, 2000, 2001 e 2002; LEITNER et al., 2003 e 2005), identificando-se, assim, as mutações presentes.

É necessário um limite mínimo de CV para que o teste possa ser realizado com maior sensibilidade, em geral, CV acima de 1000 cópias/ml. Apesar de que alguns autores como GALE et al. (2006) descrevem testes com alta sensibilidade em amostras com CV em torno de 100 cópias/ml.

Considerando que a interrupção do uso das drogas anti-retrovirais pode resultar em predomínio do vírus selvagem e na não detecção de resistência, é essencial que o paciente esteja na vigência de tratamento no momento da coleta de sangue para o teste de GNT. A adesão do paciente ao tratamento nas semanas que antecedem a coleta deve ser enfatizada.

A GNT pode ser realizada através da utilização de um conjunto de testes comerciais, descritos no Quadro 5, ou artesanais desenvolvidos em laboratórios de pesquisa (“in-house techniques” ou “home-maded”). Os dois testes amplamente

disponíveis são TruGene HIV-1® (Visible Genetics) e ViroSeq® (Applied Biosystems), este último, utilizado pelo MS e por vários laboratórios nacionais.

No Brasil, foi implantada a RENAGENO (Rede Nacional de Genotipagem) do PN – MS, com o objetivo de detectar a ocorrência de resistência do HIV-1 aos ARVs e auxiliar na seleção de terapia de resgate adequada para os pacientes atendidos no Sistema Único de Saúde (SUS) nas diferentes áreas geográficas. O Ministério da Saúde disponibilizou os laboratórios para realização de GNT e realizou treinamento de médicos (médicos de referência em genotipagem) para auxiliar a interpretação do teste. A RENAGENO foi estabelecida como política nacional em 1999. O funcionamento operacional iniciou no segundo semestre de 2001. Atualmente é composta de 20 laboratórios executores e de 365 Médicos de Referência em Genotipagem (sendo 265 infectologistas e 100 pediatras). Estes profissionais orientam na indicação, utilização e interpretação de testes de genotipagem para seleção de um esquema anti-retroviral de resgate terapêutico. Em termos técnicos, para obtenção de resultados das genotipagens era necessária carga viral do HIV acima de 5.000 cópias/mL para os testes realizados entre 2002 e 2006 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002). Atualmente o MS disponibiliza o teste para CV entre 1.000 e 5.000 cópias/mL e conta com laboratórios que possuem técnicas “in house” para seqüenciamento, quando necessário.

NOME DO TESTE	METODOLOGIA	EMPRESA FABRICANTE
Versant TM® (LIPA)	Hibridização por sondas	Bayer
GenoSure®	Seqüenciamento DNA	LabCorp
Viro Seq®	Seqüenciamento DNA	Applied Biosystems
True GeneHIV kit®	Seqüenciamento DNA	Bayer
Virco Gen®	Seqüenciamento DNA	Virco-Tibotec
GeneSeq HIV®	Seqüenciamento DNA	Virologic Inc
HIV PT 440®	Hibridização por sondas	Affymetrix

QUADRO 5 – TIPOS DE TESTES DE GENOTIPAGEM: COMERCIAIS

FONTE: DIAZ (2006).

2.3.1 Acurácia da GNT

A comparação de resultados de diferentes kits para realização de genotipagem (especialmente ViroSeq®, TruGene® and “in-house assays”) demonstrou resultados comparáveis e confiáveis para os subtipos B e não-B (SCHUURMAN et al., 1999 e 2002; JAGODZINSKI et al., 2003; ESHLEMAN et al., 2005; DESCAMPS et al., 2006 e PANDIT et al., 2008).

Estudos como o de VERCAUTEREN et al., 2008, incluíram na amostra GNT realizadas por diferentes metodologias como ViroSeq®, TruGene®.

A habilidade em detectar mutações pode variar entre laboratórios quando há misturas de vírus selvagem e vírus mutante e em amostras com CV baixa (SCHUURMAN et al., 1999 e DESCAMPS et al., 2006).

2.3.2 Resultados e Interpretação da GNT

A interpretação adequada dos resultados de GNT permanece um desafio, pois o papel das mutações está constantemente sendo atualizado através de novas observações e correlações das mesmas com resistência a ARVs. Além disso, os principais fatores que devem ser levados em conta para o uso adequado dos resultados dos testes de resistência incluem: (1) determinar se o padrão de mutações presentes na GNT é consistente com o histórico de ARVs utilizado; (2) reconhecer que na ausência do uso de certos ARVs (pressão seletiva), cepas virais resistentes podem estar presentes apenas em níveis abaixo do limiar de detecção do método. A análise de amostras prévias coletadas na presença da pressão seletiva de certas drogas pode ser útil nestes casos.

Segundo TURAL et al. (2002) pacientes cujo esquema ARV foi escolhido com base em genotipagem e parecer de especialista na área apresentam maior chance de ter CV<400 cópias em 24 semanas. Segundo ZOLOPA et al. (2005), profissionais com experiência em genotipagem são capazes de predizer o perfil fenotípico do HIV-1 a partir da avaliação de mutações na genotipagem com um grau de concordância entre eles de 79% e com um grau de exatidão médio de 44%, chegando a 74% para a lamivudina e 69% para os ITRNNs.

WEGNER et al. (2004) demonstraram que quando a escolha de HAART é baseada em GNT os benefícios em termos de resposta virológica são mantidos a longo prazo, cerca de 2 anos.

HARRIGAN et al. (2005) descreveram que nos pacientes com falha a várias classes de ARVs, a disponibilidade de mais de um teste de genotipagem realizados durante diferentes períodos de falha virológica fornece dados mais fidedignos e menos sub-estimados dos tipos de mutações presentes. A disponibilidade de mais de um teste evidencia a variabilidade determinada pela ausência de pressão seletiva de determinadas drogas que pode ocorrer em diferentes momentos do tratamento.

Resultados de genotipagem são descritos através da utilização de listas de mutações pré-definidas de resistência a drogas (D'ÁQUILA et al, 2001, 2002, 2003 e JOHNSON et al., 2003, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008).

A fim de facilitar a interpretação dos dados da genotipagem, algoritmos de interpretação informatizados estão disponíveis (LIU e SHAFER, 2006). Uma maneira alternativa de interpretação da genotipagem é a determinação do padrão de resistência viral conhecido como fenotipagem virtual (FV). Na FV dados da genotipagem são comparados com um banco de dados de isolados virais com perfil fenotípico e genotípico conhecidos. O objetivo é determinar a probabilidade da susceptibilidade “in vitro” de determinado vírus. Empresas como VIRCO® desenvolveram modelos estatísticos informatizados que permitem a análise dos testes de genotipagem com resultados de FV, ou seja, no formato de resistência fenotípica (VERMEIREN et al., 2007)

As mutações podem ser incluídas em algoritmos de interpretação de genotipagem computadorizados e o HIV-1 classificado como “sensível,” “possivelmente resistente,” ou “resistente” em relação a cada ARV. Estes algoritmos, disponíveis através da internet, são uma ferramenta que auxilia na interpretação das mutações detectadas nos testes de genotipagem e favorecem a escolha da terapêutica subsequente. A criação dos algoritmos é um processo lento e detalhado e exige freqüente atualização (LIU e SHAFER, 2006).

Os algoritmos mais usados mundialmente são:

- a. The Rega algorithm, da Bélgica (VAN LAETHEM, K., et al., 2002)
- b. HIVdb – Stanford University Genotypic Resistance Interpretation Algorithm, dos Estados Unidos (SHAFER et al., 2008)
- c. ANRS – Agence Nationale de Recherche sur le SIDA, da França (ANRS AC11 Resistance Study Group, 2005)
- d. Geno2pheno, da Alemanha (ALTMAN et al., 2000)

No Brasil há o Algoritmo Brasileiro, atualizado em agosto de 2008, que consiste no software de Interpretação Brasileira de Genotipagem com objetivo de liberar os laudos de resistência com subtipagem (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

2.4 CARACTERÍSTICAS DE RESISTÊNCIA DOS SUBTIPOS DO HIV-1

O HIV é classificado inicialmente em dois tipos geneticamente diferentes como: HIV- 1 e HIV-2 (HAHN et al., 1984). Três grupos podem ser diferenciados no HIV- 1: grupo M (“main”), O (“outlier”), e N (“neither, non-M–non-O, or new”). Além disso, 9 subtipos são classificados e pelo menos 14 intersubtipos recombinantes, conhecidos como “circulating recombinant forms” ou formas recombinantes circulantes (CRFs), têm sido identificados dentro do HIV-1 grupo M. (ROBERTSON et al., 2000).

A pandemia pelo HIV-1 é causada pelo vírus designado como grupo M (“main”) e os nove subtipos são nomeados pelas letras A, B, C, D, F, G, H, J e K. O subtipos A e F são classificados em sub-subtipos: A1, A2, A3 e A4 e F1 e F2. Dentre estes 9 subtipos, não consta o subtipo E porque o mesmo foi reclassificado em 1998 como AE (CRF01_AE), uma forma recombinante comum no Sudeste Asiático que contém componentes do subtipo A (LEITNER et al., 2005).

A classificação dos subtipos tem base filogenética e foi inicialmente descrita pelas seqüências da região “env” do genoma viral, mas pode ser baseada em todas as regiões do genoma, incluindo a “pol” onde encontram-se as enzimas PR e TR. A variabilidade genética num mesmo subtipo pode ser de até 15 a 20% e entre os subtipos é de 25 a 35% (KORBER et al., 2001).

Recombinação do HIV-1 pode desencadear maior diversidade viral e ocorre quando uma pessoa é co-infectada com duas cepas diferentes de vírus que estão se multiplicando nas mesmas células (ROBERTSON et al., 1995 e BLACKARD et al., 2002). Na última década, o seqüenciamento do genoma completo do HIV promoveu a identificação de formas recombinantes que são definidas como recombinantes circulantes (CRFs) quando são identificadas em 3 ou mais pessoas sem ligação epidemiológica direta (LEITNER et al., 2005). No Brasil, os primeiros relatos de recombinação datam da década de 90 e demonstram misturas entre os subtipos B e F. (SABINO et al., 1994).

Somente 12% das infecções no mundo são causadas pelo subtipo B, o mais estudado por ser o mais prevalente na América do Norte, Europa Ocidental e Austrália, chegando a ocorrer em 99,4% dos casos da Califórnia, por exemplo (GONZALES et al., 2001).

Neste subtipo são baseados os estudos biofísicos e bioquímicos “in vitro” de ARVs desenvolvidos. Cerca de 50% das infecções no mundo e 47% de todas as

novas infecções são do subtipo C e 18% dos vírus circulantes globalmente são recombinantes (HAMELAAR et al., 2006).

Segundo BRINDEIRO et al. (2003), no Brasil observa-se as seguintes proporções dos subtipos respectivamente na PR e TR: subtipo C em 22,8% e 29,5% dos casos, subtipo B em 64,9% e 62,5% dos casos e subtipo F em 11,8% e 8% dos casos. Nos estados do Sul do Brasil, cerca de um terço dos casos são do subtipo C, 3 a 4% do subtipo F e os demais do subtipo B. Estudos sugerem uma maior disseminação do HIV-1C no Brasil, sendo maior do que o aumento observado do mesmo subtipo na África do Sul e duas vezes maior ao aumento do HIV-1B no Brasil (SALEMI et al., 2005).

Um número crescente de estudos observacionais sugere que os ARVs disponíveis são ativos contra vírus do subtipo não-B, mas há a descrição como a de SNOECK et al. (2006) de que diferentes mutações de resistência possam ocorrer nos diferentes subtipos.

Atualmente há a hipótese de que alguns polimorfismos nos diversos subtipos existentes antes da exposição a TARV podem influenciar as vias de resistência genotípica (TAYLOR et al., 2008). Em termos de resposta clínica e laboratorial aos ARVs, parece que os diferentes subtipos respondem de maneira similar a TARV segundo estudos retrospectivos (ALEXANDER et al., 2002) e prospectivos (FRATER et al., 2001, BOCKET et al., 2005, BANNISTER et al., 2006 e CHAMPENOIS et al., 2008)

Em termos de distribuição das mutações nos diferentes subtipos, KANTOR et al. (2005) compararam a distribuição de mutações em amostra de diversos subtipos (A, C, D, F, G, AE, AG) com as mutações do subtipo B, e evidenciaram que 80% das mutações associadas à resistência a TARV no subtipo B também conferem resistência pós-tratamento nos demais subtipos e 91% das mutações associadas à resistência nos casos com subtipo não B também estavam presentes nas amostras dos subtipos B.

3 METODOLOGIA DE PESQUISA ADOTADA

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR) e pelo Programa Nacional de DST e AIDS do Ministério da Saúde (PN – MS) (Anexos 5 e 6).

3.1 CLASSIFICAÇÃO DO TIPO DE PESQUISA

Com relação à finalidade, esta pesquisa pode ser classificada como uma pesquisa aplicada, pois os resultados poderão ser utilizados na prática clínica de atendimento aos pacientes. É teórica, com relação às fontes, pois foi baseada em revisão da literatura.

Quanto aos dados, é qualitativa, pois os exames revelam diferentes tipos de mutações nos genes da TR e PR e o histórico do pacientes revela o uso de diferentes tipos de ARVs, diferentes graus de imunidade e padrões de carga viral. É quantitativa, pois foram avaliadas prevalências de dados e o tempo de uso de medicamentos ARVs. Com relação aos objetivos é descritiva, pois pretende descrever os resultados dos exames avaliados. Quanto aos procedimentos utilizados, é documental, pois utilizou resultados de exames dos pacientes após aprovação do Comitê de Ética.

A pesquisa terá um delineamento do tipo estudo de casos, pois estudou casos de pacientes que apresentaram falhas documentadas a um conjunto de ARVs e realizaram testes de resistência.

Quanto aos eixos do delineamento desta pesquisa, o eixo de montagem é transversal, pois os fatores em estudo e o desfecho clínico foram estudados simultaneamente; o eixo de controle é descritivo ou também chamado de não-controlado, pois estudou apenas pacientes com falha a TARV; o eixo de intervenção é observacional, pois analisou os fatores em estudo sem promover nenhuma intervenção, eixo de unidade é individual, pois todos os pacientes foram estudados separadamente e o eixo temporal é retrospectivo, pois analisou os casos com exames colhidos a partir de maio de 2002 até o ano de 2006.

3.2 POPULAÇÃO E AMOSTRA DA PESQUISA

Uma amostra com resultados de genotipagem provenientes de pacientes atendidos no Estado do Paraná que preenchem os critérios de inclusão foi selecionada.

Todos os pacientes autorizaram previamente a coleta do teste de resistência e assinaram um Termo de Consentimento Esclarecido que explicava o procedimento.

Os pacientes são adultos infectados pelo HIV-1 em uso de TARV apresentando falha virológica ao tratamento que realizaram o teste de genotipagem entre 2002 e 2006. Os pacientes estudados foram selecionados através do arquivo de resultados locais de genotipagem disponibilizados pela RENAGENO e através de banco de dados de um Serviço Privado com acesso ao teste de genotipagem mediante protocolos de Pesquisa Clínica de ARVs.

Além dos critérios descritos acima, os pacientes apresentavam os demais critérios de inclusão:

- uso prévio de anti-retrovirais por pelo menos 3 meses,
- falha a terapia anti-retroviral em uso definida com CV do HIV-1 acima de 1000 cópias/ml,

Todos os pacientes da amostra foram submetidos ao teste de genotipagem, como parte do acompanhamento de rotina, pois não apresentavam supressão virológica.

3.2.1 Dados clínicos dos pacientes da amostra

Os dados observados nestes pacientes foram detalhados como variáveis dependentes e independentes e incluem: gênero e idade dos pacientes, histórico de ARVs, dosagens de CD4 e carga viral, iniciais, quando disponíveis, e da época do teste de resistência e mutações na TR e PR.

Os dados de TARV e variáveis clínicas e laboratoriais destes pacientes são provenientes de fichas clínicas:

- prontuários do ambulatório de infectologia do Centro Regional de Especialidades (CRE) Metropolitano de Curitiba ou outras Unidades de Saúde,
- prontuários do ambulatório de infectologia de Serviço Privado

Em caso de dúvida quanto a exposição prévia a ARVs, os dados de TARV foram confirmados no Centro de Medicamentos do Paraná (CEMEPAR).

O uso prévio de ARVs foi definido como uso de pelo menos duas drogas da família dos ITRNs. Esquema HAART foi definido como combinação de pelo menos três ARVs incluindo: ITRNs, ITRNNs e ou IPs.

Quando os pacientes utilizaram isoladamente dois ITRNs, definiu-se duoterapia e quando os pacientes usaram um esquema inicial que consistia na terapia isolada com um ITRN (geralmente AZT) foi dito monoterapia.

Foram excluídos os casos em que dados de TARV não puderam ser definidos.

3.2.2 Dados dos Testes de Genotipagem

Os resultados de exames de genotipagem deste banco de dados são provenientes das seguintes fontes:

- testes de genotipagem realizados pela RENAGENO
- testes de genotipagem realizados pelos laboratórios internacionais LABCORP (método GenoSURE®), VIRCO® ou MONOGRAM® disponíveis através de Ensaio Clínicos Internacionais.

Todas as genotipagem foram realizadas pela técnica de seqüenciamento do DNA. A região genômica analisada foi “pol”, especificamente os códons da PR e RT. Foram utilizados ensaios comerciais e as amostras realizadas pela RENAGENO foram processadas pelo ViroSeq HIV-1 Genotype System® da Celera Diagnostics (Applied Biosystems). Os laudos obtidos através de Ensaio Clínicos foram realizados por um dos seguintes ensaios: GenoSure® (LabCorp), vircoTYPE HIV-1® (VIRCO) e GeneSeq® (Monogram, formerly ViroLogic Inc.).

A epidemiologia das mutações foi observada e nenhum Algoritmo de interpretação de Genotipagem foi utilizado neste estudo.

As mutações associadas com redução da susceptibilidade a ARVs estão descritas a seguir e baseiam-se na compilação dos dados publicados pela

International AIDS Society – USA entre 2000 e 2008 e pelo Banco de dados da Universidade de Stanford em 2005 e 2008 (D'ÁQUILA et al, 2001, 2002, 2003; JOHNSON et al., 2003, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008 e SHAFER et al., 2008).

Mutações associadas com redução da sensibilidade a ITRNs estão nas seguintes posições da TR: 41, 43, 44, 62, 65, 67, 69, 70, 74, 75, 77, 115, 116, 118, 151, 184, 208, 210, 215, 218, 219, 221 e 228. Mutações associadas ao uso de timidínicos (TAMs) são: M41L, D67N, K70R, L210W, T215YF, K219QE. Mutações acessórias, que ocorrem na presença de TAMs e podem contribuir para redução de sensibilidade a ITRN, incluem: K43EQ, E44AD, V118I, H208Y, D218E, H221Y e L228HR. Mutações não associadas a timidínicos são: K65R, K70EG, L74V, Y115F, M184VI. Mutações adicionais ainda sem significado fenotípico bem estabelecido são: D67GE, T69DSAN, V75AS, K219NR. Mutações de multi-resistência a ITRN são inserção no códon 69, A62V, V75I, F77L, F116Y, Q151M.

Mutações associadas com redução da sensibilidade a ITRNs incluem substituições de aminoácidos nas seguintes posições da TR: A98G, L100I, K101E/P, K103N/S, V106A/M/I, V108I, V179D/E/F/T, Y181C/I/V, Y188C/H/L, G190A/S, P225H, F227L/C, M230L e K238T.

Mutações Maiores para IPs estão nas seguintes posições da PR: D30N, V32I, L33F, M46I/L, I47V/A, G48V/M, I50L/V, I54M/L, Q58E, T74P, V82A/F/L/T/S, I84V/A/C, N88D/S e L90M. Mutações Maiores para IPs são: L10F/I/R/V, V11I, I13V, G16E, K20M/R/I/T, L23I, L24I, E34Q, E35G, M36I/V, K43T, F53L, I54V/T/A/S, D60E, I62V, L63P, I64L/M/V, A71V/T/I, G73S/T, V77I, N83D, I85V, L89V e I93L/M.

3.3 FASES NO DESENVOLVIMENTO DA PESQUISA

O presente estudo foi desenvolvido a partir da seleção de uma amostra já especificada.

A amostra foi avaliada e dados provenientes de testes de resistência e do histórico de tratamento foram gerados e coletados através de fichas definidas como instrumento de coleta de dados (APÊNDICE 2).

A partir das variáveis descritas nos Quadros 6 a 13, foi criado um banco de dados informatizado em formato de planilha do Access 2007 para Windows Vista

exemplificado no APÊNDICE 3. O banco foi composto por mais de 390 variáveis incluindo cada mutação na TR e PR e dados clínicos e demográficos.

Após alimentação completa do banco de dados, planilhas em formato de Excel 2007 para Windows Vista, como a exemplificada no APÊNDICE 4, foram geradas para análise dos resultados.

A partir das planilhas completas de dados, foi possível realizar os passos a seguir:

Avaliação de dados demográficos e laboratoriais da amostra como freqüência entre os sexos, média de idade dos pacientes, média de contagem de linfócitos CD4 e de carga viral do HIV.

Avaliação da freqüência dos ARVs utilizados.

Identificação da prevalência de cada uma das mutações e de associações de mutações dos genes da TR e PR na amostra total.

Identificação da prevalência de casos com ausência de mutações dos genes da TR e / ou da PR apesar do histórico de falha a TARV.

Correlação entre o sexo do paciente e o padrão de mutações presentes.

Correlação entre o subtipo de HIV-1 em subgrupo da amostra e o padrão de mutações presentes.

Correlação entre os dados de tratamento destes pacientes, incluindo uso prévio e tempo de uso de cada ARV, bem como número de drogas usadas e a prevalência das mutações.

Revisões freqüentes da literatura médica relacionada com o tema e atualizações das referências bibliográficas foram realizadas.

3.3.1. Especificação dos Dados Demográficos

No Quadro 6 estão registrados dados demográficos como sexo, faixa etária e exames laboratoriais do paciente. No quadro 7, há dados de TARV.

3.3.2. Especificação dos Anti-retrovirais Utilizados

Os dados de TARV foram caracterizados através da definição do uso dos ARV da seguinte maneira:

Uso prévio do ARV, quando o paciente foi exposto a este medicamento em algum momento.

Uso atual do ARV, quando o paciente estava em uso deste medicamento no momento em que o teste de genotipagem foi realizado.

Tempo de uso do ARV, categorizado como uso por até 6 meses, de 7 a 12 meses, de 13 a 36 meses, de 37 a 60 meses, de 61 a 84 meses, de 85 a 108 meses e por mais de 109 meses.

No Quadro 8, estão especificados os medicamentos das 3 classes de ARVs que foram combinados em cada esquema de TARV.

No.	In	DN	Id	S	Ano	Lab	Sub	ARV	CV1	CV2	CV3	CD1	CD2	G2

QUADRO 6 – IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE E DO EXAME DE GENOTIPAGEM E DADOS DEMOGRÁFICOS E LABORATORIAIS

FONTE: TOLEDO (2006)

NOTAS: No. - Número do Prontuário
 In - Iniciais do Paciente
 DN - Data de Nascimento
 Id - Idade
 S - Sexo
 Ano - Ano do Exame
 Lab - Genotipagem realizada por
 Sub - Subtipo do HIV
 ARV - Data do 1º ARV
 CV1 - CV Média após ITRNs
 CV2 - CV Média após ITRNs + IP
 CV3 - CV Média após ITRNs + ITRNN
 CD1 - CD4 Médio Inicial
 CD2 - CD4 Médio Atual
 G2 – tem mais de uma genotipagem

3.3.3. Especificação das Mutações Avaliadas

Vírus selvagem foi definido quando as seqüências de PR e TR não demonstravam nenhuma mutação para ITRN, ITRNN ou mutação maior para IP.

As mutações na TR foram classificadas como TAMs, mutações não associadas a timidínicos, mutações de multi-resistência a ITRNN, mutações

acessórias e mutações adicionais a ITRN e mutações a ITRNN. Na PR, foram classificadas como mutações maiores e menores (Quadros 9 a 13).

iNN	iIP	duoIPr	duoIP	duoNN	tim	adeno	3tc	NN	IP	IPr	NT	NE

QUADRO 7 – DADOS SOBRE O TIPO DE TERAPIA ANTI-RETROVIRAL UTILIZADA INICIALMENTE E NO MOMENTO DO TESTE DE GENOTIPAGEM

FONTE: TOLEDO (2006)

NOTAS: iNN - HAART inicial ITRNN + ITRNs
 iIP - HAART inicial IP + ITRNs
 iIPr - HAART inicial IP/rtv + ITRN
 duoIP - Duoterapia seguido HAART (IP)
 duoNN - Duoterapia seguido HAART (ITRNN)
 tim - Último ARV com Timidínicos
 dat - Último ARV com ddl, ABC ou TDF
 3tc - Último ARV com 3TC
 NN - Último ARV com ITRNN
 IP - Último ARV com IP
 IPr - Último ARV com IP/rtv
 NT - Número Total ARVs
 NE - Número Total esquemas

INIBIDORES DA TRANSCRIPTASE REVERSA ANÁLOGOS DE NUCLEOSÍDEOS/NUCLEOTÍDEOS
Zidovudina (AZT) Lamivudina (3TC) Didanosina (ddl) Zalcitabina (ddC) Estavudina (d4T) Abacavir (ABC) Tenofovir (TDF)
INIBIDORES DA TRANSCRIPTASE REVERSA NÃO ANÁLOGOS DE NUCLEOSÍDEOS
Efavirenz (EFV) Nevirapina (NVP) Delavirdina (DLV)
INIBIDORES DE PROTEASE
Saquinavir (SQV) Ritonavir (RTV) Indinavir (IDV) Nelfinavir (NFV) Amprenavir (APV) Atazanavir (ATV) Indinavir/ritonavir (IDV/r) Saquinavir/ritonavir (SQV/r) Amprenavir/ritonavir (APV/r) Atazanavir/ritonavir (ATV/r) Lopinavir/ritonavir (LPV/r) Darunavir/ritonavir (DRV/r)

QUADRO 8 – ANTIRETROVIRAIS UTILIZADOS PELOS PACIENTES DA AMOSTRA

FONTE: TOLEDO (2006)

MUTAÇÕES ASSOCIADAS A TIMIDÍNICOS (TAMS)						MUTAÇÕES NÃO ASSOCIADAS A TIMIDÍNICOS						MUTAÇÕES DE MULTI-RESISTÊNCIA A ITRNs					
M 41 L	D 67 N	K 70 R	L 210 W	T 215 YF	K 219 QE	K 65 R	K 70 EG	L 74 VI	V 75 TM	Y 115 F	M 184 VI	Inserção no códon 69	A 62 V	V 75 I	F 77 L	F 116 Y	Q 151 M

QUADRO 9 – MUTAÇÕES DA TRANSCRIPTASE REVERSA SECUNDÁRIAS AO USO DE INIBIDORES DE TRANSCRIPTASE REVERSA NUCLEOSÍDEOS

FONTE: TOLEDO (2006)

NOTAS: Na parte superior de cada célula está representada a inicial do aminoácido esperado no códon representado pelo número central e na parte inferior da célula há a letra que representa o aminoácido mutante.

ITRN – inibidor de transcriptase reversa análogo nucleosídeo

TAMs – Mutações associadas a timidínicos

MUTAÇÕES ACESSÓRIAS							MUTAÇÕES ADICIONAIS			
K 43 EQ	E 44 AD	V 118 I	H 208 Y	D 218 E	H 221 Y	L 228 HR	D 67 GE	T 69 DSAN	V 75 AS	K 219 NR

QUADRO 10 – MUTAÇÕES ACESSÓRIAS E ADICIONAIS NA TRANSCRIPTASE REVERSA SECUNDÁRIAS AO USO DE INIBIDORES DE TRANSCRIPTASE REVERSA NUCLEOSÍDEOS

FONTE: TOLEDO (2006)

NOTA: Na parte superior de cada célula está representada a inicial do aminoácido esperado no códon representado pelo número central e na parte inferior da célula há a letra que representa o aminoácido mutante.

MUTAÇÕES DE ITRNNS																	
A 98 G	L 100 I	K 101 EP	K 101 H	K 103 NS	K 103 R	V 106 AM	V 106 I	V 108 I	V 179 DEF	V 179 T	Y 181 CIV	Y 188 CHL	G 190 ASE	P 225 H	F 227 CL	M 230 L	K 238 T

QUADRO 11 – MUTAÇÕES DA TRANSCRIPTASE REVERSA SECUNDÁRIAS AO USO DE INIBIDORES DE TRANSCRIPTASE REVERSA NÃO NUCLEOSÍDEOS

FONTE: TOLEDO (2006)

NOTAS: Na parte superior de cada célula está representada a inicial do aminoácido esperado no códon representado pelo número central e na parte inferior da célula há a letra que representa o aminoácido mutante.

ITRNN – inibidor de transcriptase reversa não análogo nucleosídeo

MUTAÇÕES MAIORES DA PROTEASE															
D 30 N	V 32 I	L 33 F	M 46 IL	I 47 AV	G 48 VM	I 50 L	I 50 V	I 54 ML	Q 58 E	T 74 P	L 76 V	V 82 ATFS	I 84 VAC	N 88 DS	L 90 M

QUADRO 12 – MUTAÇÕES MAIORES DA PROTEASE SECUNDÁRIAS AO USO DE INIBIDORES DE PROTEASE

FONTE: TOLEDO (2006)

NOTAS: Na parte superior de cada célula está representada a inicial do aminoácido esperado no códon representado pelo número central e na parte inferior da célula há a letra que representa o aminoácido mutante.

Mutações maiores – são as primeiras mutações selecionadas na presença do inibidor de protease (IP) ou reduzem substancialmente a sensibilidade ao IP. Geralmente localizadas no sítio ativo de ligação do IP com a protease.

MUTAÇÕES MENORES DA PROTEASE																							
L 10 FIRV	V 11 I	I 13 V	G 16 E	K 20 MRIT	L 23 I	L 24 I	E 34 Q	E 35 G	M 36 IV	K 43 T	F 53 L	I 54 VTAS	D 60 E	I 62 V	L 63 P	I 64 LMV	A 71 VTI	G 73 ST	V 77 I	N 83 D	I 85 V	L 89 V	I 93 LM

QUADRO 13 – MUTAÇÕES MENORES DA PROTEASE SECUNDÁRIAS AO USO DE INIBIDORES DE PROTEASE

FONTE: TOLEDO (2006)

NOTAS: Na parte superior de cada célula está representada a inicial do aminoácido esperado no códon representado pelo número central e na parte inferior da célula há a letra que representa o aminoácido mutante.

Mutações menores – emerge posteriormente ao aparecimento das mutações maiores e isoladamente não tem efeito substancial na resistência aos IPs. Algumas estão presentes como polimorfismos em vírus de subtipo não-B.

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise de freqüência dos dados foi realizada através do programa: STATA para Windows XP (Statacorp, Texas) versão 8.2.

Utilizou-se o teste do chi-quadrado para a análise das variáveis categóricas e o cálculo do “*Odds ratio*” para avaliar associações entre mutações e sexo, mutações e subtipo do HIV, variações temporais da prevalência das mutações e relação entre uso prévio e duração de uso dos ARVs e presença de mutações.

A seguir, para a análise multi-variada, selecionaram-se algumas das mutações cuja correlação com o uso prévio de ARVs foi estatisticamente significantes. Considerou-se como variável dependente a mutação e independente exposição prévia a ARVs.

O nível de significância de 0.05 e um Intervalo de Confiança (IC) de 95% foram usados.

4 CRONOGRAMA

O cronograma está representado no Quadro 14.

FASES DA PESQUISA	PERÍODO PROGRAMADO PARA EXECUÇÃO
Especificação dos objetivos	Novembro/2003
Pesquisa bibliográfica sobre o assunto	Novembro/2003 a Fevereiro/2009
Operacionalização dos conceitos e variáveis	Novembro/2003 a Dezembro/2006
Elaboração do instrumento de coleta de dados	Novembro/2003 a Novembro/2006
Seleção da amostra	Novembro/2003 a Dezembro/2006
Coleta e Verificação dos dados	Novembro/2003 a Dezembro/2007
Análise e interpretação dos dados	Dezembro/2006 a Outubro/2008
Apresentação dos resultados	Agosto/2008 a Fevereiro/2009
Redação do artigo científico 1 (prevalência)	Outubro/2008 a Maio/2009
Redação de demais artigos científicos	Abril/2009 a Agosto/2009
Redação da dissertação	Novembro/2006 a Junho/2009
Defesa do trabalho	Agosto/2009
Correção da Dissertação Final	Agosto/2009
Depósito Legal na Biblioteca Central da UFPR	Setembro/2009

QUADRO 14 - CRONOGRAMA PROPOSTO DE ATIVIDADES DO PROJETO

FONTE: TOLEDO (2006)

5 RECURSOS NECESSÁRIOS

5.1 EQUIPE E PARCEIROS

A equipe de pesquisa foi constituída pela pesquisadora e mestranda Paula Virginia Michelon Toledo sob orientação do Prof. Dr. Flávio Queiroz Telles e consultoria em epidemiologia da Prof. Dra. Denise Siqueira de Carvalho.

Este estudo envolveu a avaliação de dados de pacientes atendidos em Serviço Privado de Infectologia e contou com a colaboração do Dr. Clóvis Arns da Cunha, Investigador Principal de Ensaio Clínicos Internacionais.

O estudo envolveu também avaliação de dados de pacientes atendidos em diversos ambulatórios do Estado do Paraná e desta forma, contou com o apoio dos médicos, farmacêuticos e demais funcionários dos seguintes Serviços:

- Ambulatório de Infectologia do Centro Regional de Especialidades (CRE) Metropolitano;
- Centro de Medicamentos Básicos do Paraná (CEMEPAR)

Colaboraram também:

Dois Acadêmicos de Medicina Voluntários,
Um Assistente em Informática.

Como grande parte dos exames foram realizados pela RENAGENO, a autorização para análise dos dados pelo Programa Nacional de DST e AIDS foi solicitada. Farão parte da autoria de publicações os responsáveis pela realização destes testes conforme designado pelo PN – MS e RENAGENO (ANEXO 6).

Os testes realizados em Ensaio Clínicos puderam ser utilizados com base nas cláusulas de Protocolos de Pesquisa que autorizam o uso de dados locais da amostra pelos Investigadores e, além, disso, autorização específica da VIRCO foi solicitada (ANEXO 7).

5.2 SUPRIMENTOS E EQUIPAMENTOS

Os suprimentos e equipamentos necessários para esta pesquisa estão listados a seguir:

Resultados de Genotipagem e resumos das fichas clínicas arquivados no CRE Metropolitano de Curitiba.

Resultados de Genotipagem e fichas clínicas dos pacientes atendidos em Serviço Privado

Microcomputador portátil para coleta de dados de forma eletrônica

Pendrive para transporte de dados eletrônicos

Impressora

Cartuchos de tinta para impressora

Material de papelaria incluindo folhas papel, pastas de arquivo, grampos e canetas

Acesso à internet banda larga para pesquisa de artigos científicos

Encadernação

Serviço de xérox

Os equipamentos necessários para a realização dos exames analisados foram:

Laboratório de Biologia Molecular especializado em coleta e processamento de amostras, contendo os seguintes equipamentos:

Centrífuga refrigerada a 4 C para processamento das amostras

Freezer a - 80 C para armazenamento das amostras

Espaço com fluxo laminar para manuseio das amostras

Termociclador para amplificação do material genético

Primers de TR e PR

Sequenciador 3100 AVANT “genetic analyser” da Applied Biosystems ou equipamento similar

Computador e Software 3100 AVANT “Sequencing analyser” 3.7 e Viroseq v2.6 ou similares para elaboração do eletroferograma e resultado do exame.

5.3 RISCOS ASSOCIADOS AOS RECURSOS NECESSÁRIOS

Quanto à coleta de sangue para realização do exame, poderia haver o risco de dor no local da punção e formação de hematomas.

Quanto às amostras de sangue, poderia haver o risco de dificuldades técnicas no laboratório como coagulação do sangue, quebra de frascos, armazenamento inadequado em termos de temperatura e extravio das amostras.

Quanto aos resultados de testes e às fichas clínicas dos pacientes, poderia existir o risco de perda dos dados coletados de maneira eletrônica, por problemas tanto de estrutura física como lógica. O documento fonte poderia ser extraviado ou sofrer algum tipo de dano. Poderia haver ainda o risco de dificuldade de acesso para a consulta aos resultados de exames e fichas clínicas em caso de falta de autorização por parte das autoridades que controlam o arquivo de exames e dados de TARV.

6 CUSTO DO PROJETO

O custo do projeto foi de responsabilidade da pesquisadora que recebeu auxílio financeiro de Bolsa da CAPES. O custo dos testes realizados foi pago pelo MS, no caso de testes realizados pela RENAGENO, e pela Indústria Farmacêutica, no caso dos testes realizados por ocasião de Ensaio Clínicos.

Os suprimentos necessários para esta pesquisa estão listados nas Tabelas 1 e 2, a seguir:

TABELA 1 - DESCRIÇÃO DE CUSTOS DO PROJETO

Descrição	Preço Unitário (R\$)	Preço Total (R\$)
Microcomputador portátil para coleta de dados de forma eletrônica	4.000,00	4.000,00
Pendrive para transporte de dados	300,00	300,00
Impressora	300,00	300,00
08 Cartuchos de tinta preta para impressora	75,00	600,00
Material de papelaria (1500 folhas papel sulfite, pastas de arquivo, grampos, canetas)	100,00	100,00
24 Meses de acesso à internet banda larga para pesquisa de artigos científicos	60,00	1.440,00
Prestação de Serviço de Assistente de Informática	500,00	500,00
Prestação de Serviço de Estatístico	500,00	500,00
Encadernação	30,00	30,00
Serviço de xérox	700,00	700,00
	TOTAL	8420,00

FONTE: TOLEDO (2006)

NOTA: R\$ = Reais

TABELA 2 - DESCRIÇÃO DE CUSTOS COM OS EXAMES REALIZADOS

Descrição	Preço Unitário (US\$)	Preço Total (US\$)
Custo médio estimado do exame de genotipagem realizado pelo Ministério da Saúde	140,00	42000,00
Custo médio estimado do exame de genotipagem realizado em projetos de pesquisa incluindo o transporte internacional das amostras	1500,00	135000,00
Total		177000,00

FONTE: TOLEDO (2006)

NOTAS: US\$ = Dólares

O custo estimado do exame de genotipagem está descrito no site do Ministério da Saúde, 2002.

O custo dos aparelhos utilizados para realização do exame não será computado pois o Ministério da Saúde utiliza estes equipamentos em comodato com o acordo de compra de material para realização do exame dos laboratórios fabricantes destes equipamentos

7 RESULTADOS

De um grupo de 600 genotipagens realizadas entre 2002 e 2006 em pacientes tratados no Paraná, 467 testes de 467 pacientes foram selecionadas para análise. Exames de pacientes pediátricos e de pacientes cujo histórico de TARV estava incompleto ou indisponível foram excluídos. O laboratório de referência da RENAGENO responsável pelos testes do estado do Paraná entre 2002 e 2006 foi o Laboratório de Virologia Molecular da Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, que realizou 73,66% dos testes da amostra em análise. Subtipos da PR e TR foram definidos em 389 (83,3%) pacientes e a maioria dos pacientes estavam infectados com vírus do subtipo B. Mais de 10% dos pacientes apresentavam misturas nos subtipos da PR e TR, ditos mosaicos, ou vírus recombinantes (Tabela 3).

Cerca de 40 pacientes realizaram mais de uma genotipagem e, nestes casos, apenas o último teste foi incluído no Banco de Dados. Todos estes casos apresentavam exames realizados pela RENAGENO e os testes subsequentes foram realizados pela VIRCO. O perfil de mutações foi similar em ambos os testes.

7.1 DADOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS DOS PACIENTES

A idade média dos pacientes da amostra foi 41.12 ± 9.1 anos e 308 (65,95%) eram do sexo masculino. A carga viral média que definiu falha terapêutica para a maioria dos pacientes foi 1.000 a 30.000 cópias/ml. A maioria dos pacientes apresentou uma condição definidora de aids. A contagem média de CD4 nadir foi mais baixa que a contagem média no momento do exame (Tabela 4).

Pacientes utilizaram em média $6,69 \pm 2,94$ ARVs e $4,03 \pm 2,45$ esquemas de combinações de ARVs. Duzentos e noventa e três pacientes (63,38%) foram expostos às três classes de ARVs (ITRN, ITRNN e IP). Setenta e três (15,63%) pacientes usaram apenas HAART contendo IP (ITRN e IP), 89 (19,06%) apenas HAART contendo ITRNN (ITRN e ITRNNP) e 9 (1,93%) apenas duoterapia com ITRN.

O esquema terapêutico em uso no momento da genotipagem incluía lamivudina em 80,94% e um ITRNN 50,54% (Figura 1).

O esquema inicial mais utilizado nesta amostra foi duoterapia com ITRN (Tabela 5). Dos pacientes que iniciaram duoterapia, 59,16% receberam HAART contendo IP e 36,12% receberam HAART contendo ITRNN como terapia subsequente.

TABELA 3 – CARACTERIZAÇÃO DAS GENOTIPAGENS POR DATA DE COLETA, TECNOLOGIA DE REALIZAÇÃO E SUBTIPO DO HIV IDENTIFICADO

	Número (N)	Frequência (%)
Ano de realização da Genotipagem		
2002	22	4,71
2003	30	6,42
2004	117	25,05
2005	186	39,83
2006	112	23,98
Tecnologia do Ensaio de Genotipagem		
ViroSeq System® - Applied Biosystems (Renageno)	344	73,66
VircoTYPE HIV-1® (VIRCO)	83	17,77
GenoSure® (LabCorp)	22	4,71
GeneSeq® (Monogram, ViroLogic)	18	3,85
HIV-1 Subtipo (genes PR e TR)		
Ignorado	78	16,70
B	239	61,44
C	80	20,57
F	19	4,88
Mosaicos ou virus recombinantes	51	13,11
B/C	11	17,65
B/F	37	72,55
B/D	1	1,96
C/F	2	3,92
B/K	1	1,96
B/D/F	1	1,96

FONTE: TOLEDO (2009)

NOTAS: PR – protease
TR – transcriptase reversa

A exposição seqüencial a ARVs apresentou algumas características como: Dos 293 pacientes que usaram ITRNN, 96 (25,13%) foram expostos tanto a EFV como a NVP. Dos 50 pacientes que usaram TDF, 45 (90%) foram expostos a ddl previamente ou concomitantemente. Dos 33 pacientes que usaram ATV, 16 (45,76%) haviam sido expostos a NFV. Dos pacientes que apresentaram I50L, 75% usaram ATV e NFV em diferentes épocas. Dos 141 pacientes que usaram LPV/r, 98 (69,5%) haviam sido expostos a SQV ou SQV/r.

Todos os pacientes que usaram DRV/r apresentavam exposição prévia a mais de quatro IPs, incluindo IDV, SQV, NFV, LPV/r e APV/r.

Dos pacientes expostos a RTV em dose terapêutica, 98,3% foram expostos subseqüentemente a outros IPs.

O esquema contendo IP mais utilizados no momento da GNT foi LPV/r (18,42%), seguido de NFV (10,92%), ATV/r (5,14) e ATV (5,57).

O tempo médio de uso dos ARVs foi mais longo para a classe dos ITRNs e mais curto para alguns IPs (Tabela 6).

TABELA 4 – DADOS DEMOGRÁFICOS DA AMOSTRA

	Número (N)	Frequência (%)
Sexo		
Masculino	308	65.95
Feminino	159	34.05
Pior Estágio Clínico		
Infecção assintomática	51	10.92
Infecção sintomática	79	16.92
Aids	337	72.16
CV média em uso de duoterapia com ITRN (cópias/ml)		
1000-30000	62	53.45
30000-100000	26	22.41
>100000	28	24.14
CV média em uso de HAART contendo ITRNN (cópias/ml)		
1000-30000	145	47.08
30000-100000	101	32.79
>100000	62	20.13
CV média em uso de HAART contendo IP (cópias/ml)		
1000-30000	144	41.50
30000-100000	119	34.29
>100000	84	24.21
Taxas de contagem de CD4 Nadir (células/mm³)		
>400	27	6.68
301-400	25	6.19
201-300	65	16.09
151-200	58	14.36
50-150	128	31.68
<50	101	25.00
Taxas de contagem de CD4 na época da genotipagem (células/mm³)		
>400	101	21.72
301-400	80	17.20
201-300	96	20.65
151-200	54	11.61
50-150	96	20.65
<50	38	8.18

FONTE: TOLEDO (2009)

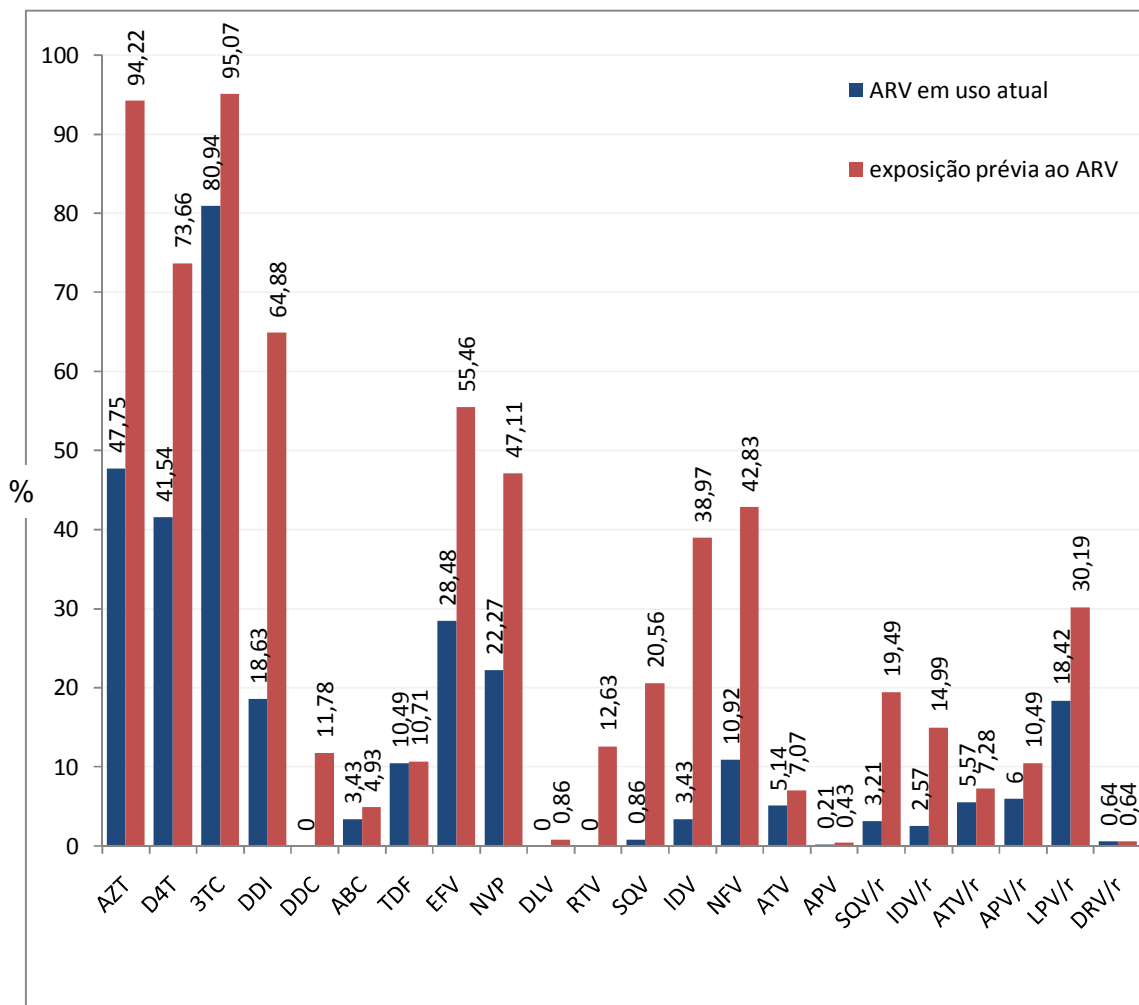
NOTAS: CV – carga viral

ITRN– inibidor de transcriptase reversa análogo nucleosídeo

ITRNN – inibidor de transcriptase reversa não análogo nucleosídeo

IP – inibidor de protease

HAART – “highly active antiretroviral therapy”



FONTE: TOLEDO (2009)

FIGURA 1 – FREQUÊNCIA DE EXPOSIÇÃO A ANTI-RETROVIRAIS – As colunas em azul representam a porcentagem de pacientes da amostra que estavam em uso do ARV no momento da coleta da Genotipagem. As colunas em vermelho representam a porcentagem de pacientes já expostos em algum momento ao ARV.

NOTAS: Inibidores de Transcriptase Reversa Nucleosídeos (ITRN): AZT – Zidovudina, d4T – Estavudina, 3TC – Lamivudina, ddI – Didanosina, ddC – Zalcitabina, ABC – Abacavir, TDF – Tenofovir
 Inibidores de Transcriptase Reversa não-Nucleosídeos (ITRNN): EFV – Efavirenz, NVP – Nevirapina, DLV – Delavirdina
 Inibidores de Protease (IP): RTV – Ritonavir, SQV – Saquinavir, IDV – Indinavir, NFV – Nelfinavir, ATV – Atazanavir, APV – Amprenavir, SQV/r – Saquinavir/ritonavir, IDV/r – Indinavir/ritonavir, ATV/r – Atazanavir/ritonavir, APV/r – Amprenavir/ritonavir, LPV/r – Lopinavir/ritonavir, DRV/r – Darunavir/ritonavir

TABELA 5 – CARACTERÍSTICAS DO ESQUEMA ANTI-RETROVIRAL (ARV) INICIAL E NO MOMENTO DA GENOTIPAGEM

	Número (N)	Frequência (%)
Esquema ARV Inicial		
ITRN + IP	179	38.33
ITRN + IP/r	6	1.28
ITRN + ITRNN	65	13.92
Monoterapia (AZT)	27	5.78
Duoterapia com ITRN	191	40.89
Esquema ARV no momento da Genotipagem		
ITRN + IP	95	20,34
ITRN + IP/r	166	35,55
ITRN + ITRNN	236	50,54
Monoterapia (AZT)	0	0
Duoterapia com ITRN	9	1.93

FONTE: TOLEDO (2009)

NOTAS: ITRN – inibidor de transcriptase reversa análogo nucleosídeo
 ITRNN – inibidor de transcriptase reversa não análogo nucleosídeo
 IP – inibidor de protease
 IP/r – inibidor de protease associado a dose baixa de ritonavir
 AZT – zidovudina

TABELA 6 – DESCRIÇÃO DO TEMPO MÉDIO DE USO DOS ANTI-RETROVIRAIS

Anti-retroviral	Tempo médio de uso
Zidovudina	26 meses
Estavudina	23 meses
Lamivudina	40 meses
Didanosina	8,5 meses
Zalcitabina	11 meses
Abacavir	6 meses
Tenofovir	9 meses
Efavirenz	10,5 meses
Nevirapina	10 meses
Delavirdina	3 meses
Ritonavir	8 meses
Saquinavir	2 meses
Indinavir	11 meses
Nelfinavir	11 meses
Atazanavir	10 meses
Amprenavir	6 meses
Saquinavir/ritonavir	8,5 meses
Indinavir/ritonavir	8 meses
Atazanavir/ritonavir	7 meses
Amprenavir/ritonavir	9 meses
Lopinavir/ritonavir	3 meses
Darunavir/ritonavir	10,5 meses

FONTE: TOLEDO (2009)

7.2 EPIDEMIOLOGIA DAS MUTAÇÕES

Vírus do tipo selvagem foi identificado em 23 (4,9%) pacientes. Sessenta e seis (14,1%) pacientes apresentavam mutações conferindo resistência a apenas uma classe de ARVs, 241 (51,6%) pacientes apresentaram mutações de resistência

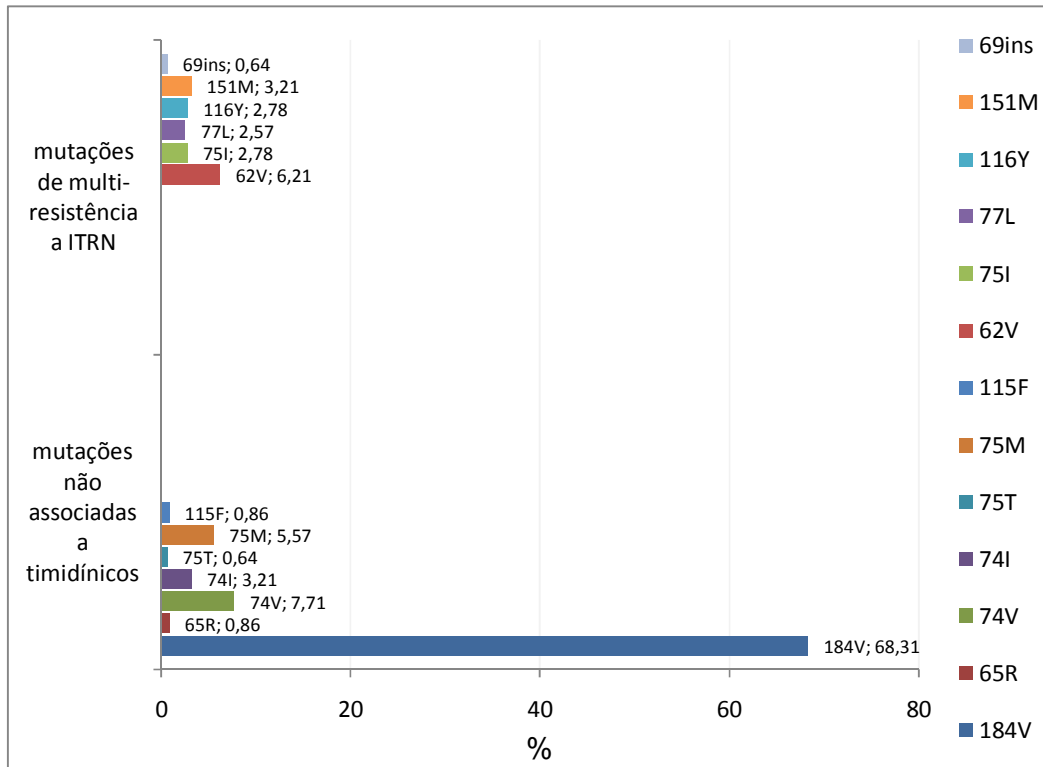
a duas classes de ARVs e a maioria destes foi resistente a ITRN e ITRNN (59,34%), seguidos de resistência a ITRN e IP (38,59%) e a IP e ITRNN (2,07%). Resistência às três classes de ARVs ocorreu em 137 (29,3%) pacientes.

Alguma mutação relacionada a ITRNs estava presente em 405 (86,7%) pacientes. M184V isoladamente foi detectada em 64 (13,7%) pacientes. A mutação 65R ocorreu em apenas 4 pacientes e em um deles havia a concomitância de TAMs (70R e 219E neste caso), mutações do complexo 151M e a inserção no códon 69 também foram infreqüentes. A maioria dos pacientes (88,01%) estava usando ITRN timidínicos (AZT ou d4T) no momento do exame e 99,79% dos pacientes tinham exposição prévia a timidínicos e 32,76% não apresentaram TAMs (Tabela 7). A prevalência de mutações para ITRN está demonstrada nas Figuras 2 e 3.

Dos pacientes que receberam lamivudina, a maioria (71,85%) apresentou M184V e dos casos em uso de 3TC no momento do teste, 84,39% apresentaram esta mutação.

Mutações relacionadas a ITRNN foram detectadas em 316 (67,7%) pacientes da amostra e em 81,56% dos pacientes expostos a ITRNN. A prevalência destas mutações no grupo de pacientes expostos a ITRNN está demonstrada na Figura 4. Três de 73 (4,10%) pacientes expostos somente a IP e ITRN apresentaram mutações relacionadas a ITRNN, um teve K103N, outro teve Y181C e G190A e o terceiro paciente apresentava Y181C, K101E e A98G.

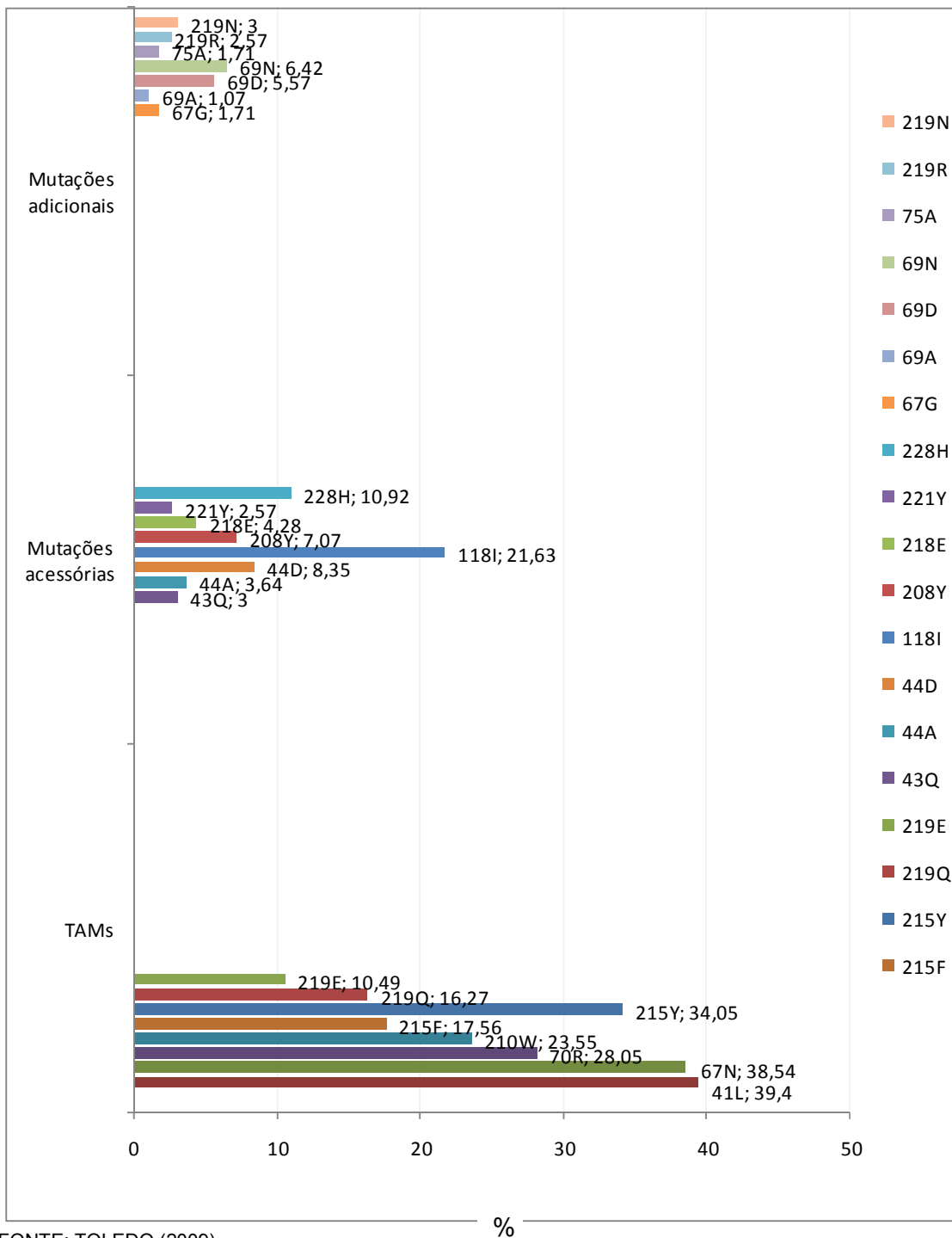
Mutações Maiores associadas a IPs ocorreram em 239 (51,2%) pacientes e Mutações Menores associadas a IPs em 455 (97,4%) pacientes da amostra geral. Dentre os pacientes expostos a IP, 63,96% apresentaram mutações maiores para IPs. A prevalência destas mutações no grupo de pacientes expostos a IPs está listada nas Figuras 5 e 6. Dois de 89 pacientes (2,25%) expostos somente a ITRNN e ITRN apresentaram Mutações Maiores associadas a IPs, um teve 30N e o outro D30N, N88D e L90M.



FONTE: TOLEDO (2009)

FIGURA 2 – PREVALÊNCIA DE MUTAÇÕES ASSOCIADAS AO USO DE INIBIDORES DE TRANSCRIPTASE REVERSA NUCLEOSÍDEOS E NUCLEOTÍDEO I– As colunas horizontais de diversas cores representam a frequência das mutações associadas a ITRN na amostra de 467 pacientes. Cada coluna corresponde à porcentagem das mutações representadas na legenda ao lado e classificadas como mutações de multi-resistência a ITRN, incluindo mutações do complexo 151M (62V, 75I, 77L, 116Y E 151M) e a inserção no códon 69 e mutações não associadas a timidínicos: 115F, 75M, 75T, 74I, 74V, 65R e 184V.

NOTA: ITRN – Inibidores de Transcriptase Reversa Nucleosídeos



FONTE: TOLEDO (2009)

FIGURA 3 – PREVALÊNCIA DE MUTAÇÕES ASSOCIADAS AO USO DE INIBIDORES DE TRANSCRIPTASE REVERSA NUCLEOSÍDEOS II– As colunas horizontais de diversas cores representam a freqüência das mutações associadas a ITRN na amostra de 467 pacientes. Cada coluna corresponde à porcentagem das mutações representadas na legenda ao lado (mutações adicionais, mutações acessórias e TAMs). As mutações adicionais incluem 67G, 69DAN e 75A, as mutações acessórias incluem 43EQ, 44AD, 181I, 208Y, 218E, 221Y e 228H e as TAMs incluem 41L, 67N, 210W, 215FY e 219EQ. As mutações 67E, 69S, 75S e 228H não ocorreram nesta amostra.

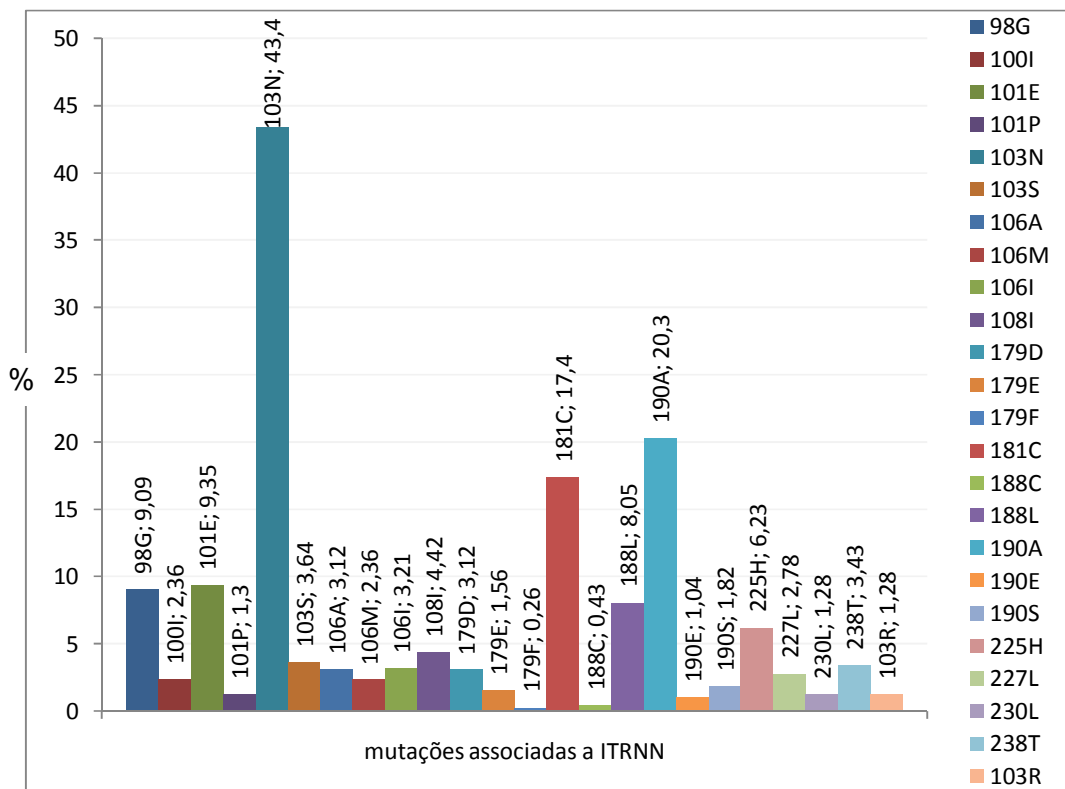
NOTA: TAMs – Mutações associadas a timidínicos

TABELA 7 – PREVALÊNCIA DO NÚMERO E PADRÕES DE MUTAÇÕES ASSOCIADAS A TIMIDÍNICOS

Número de TAMs	Número (N)	Frequência (%)
0	153	32.76
1	40	8.57
2	64	13.70
3	90	19.27
4	63	13.49
5	47	10.06
6	10	2.14
Padrões de TAMs	Número (N)	Frequência (%)
41L+210W+215YF	102	21.84
67N+70R+219EQ	98	21.00

FONTE: TOLEDO (2009)

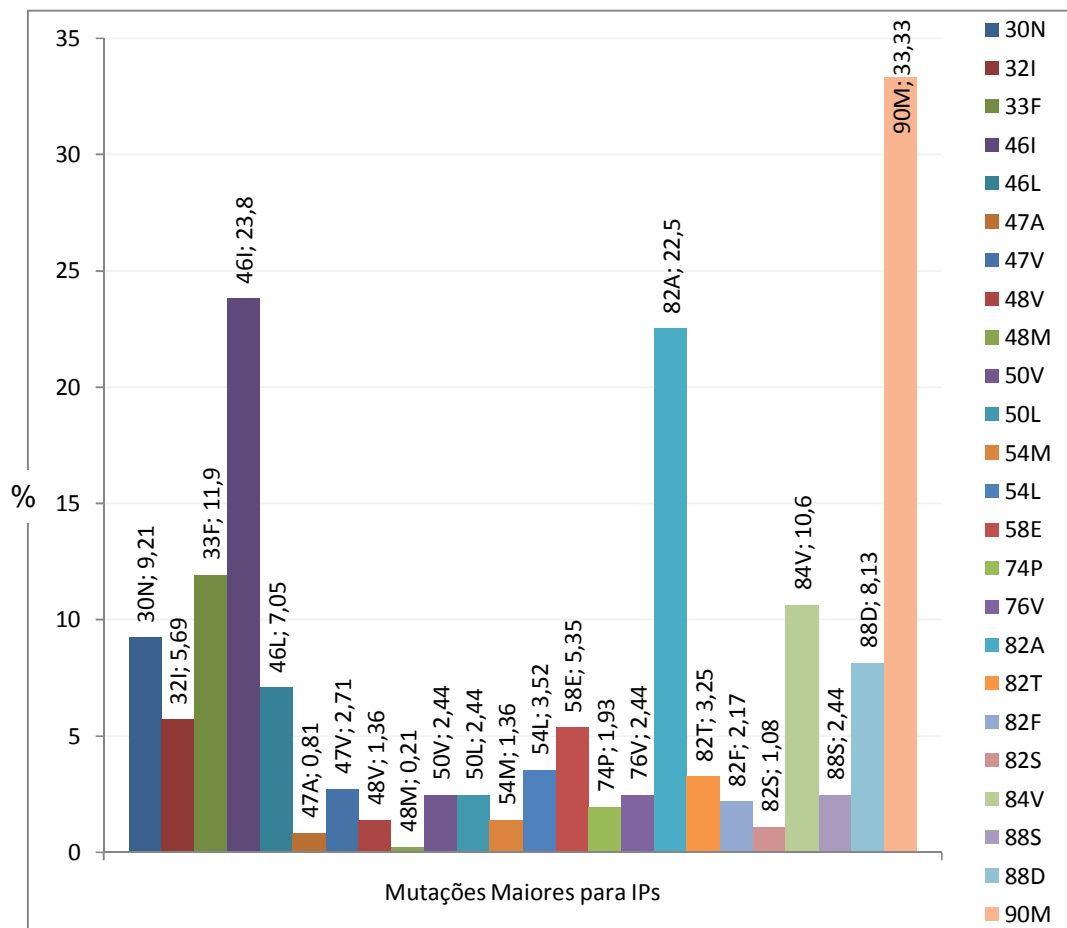
NOTA: TAMs – Mutações associadas a timidínicos



FONTE: TOLEDO (2009)

FIGURA 4 – PREVALÊNCIA DE MUTAÇÕES ASSOCIADAS AO USO DE INIBIDORES DE TRANSCRIPTASE REVERSA NÃO ANÁLOGOS NUCLEOSÍDEOS – As colunas verticais de diversas cores representam a frequência das mutações associadas a ITRNN na amostra de 382 pacientes expostos a ITRNN. Cada coluna corresponde à porcentagem das mutações representadas na legenda ao lado. As mutações para ITRNN 101H, 179T, 181IV, 188H não ocorreram nesta amostra.

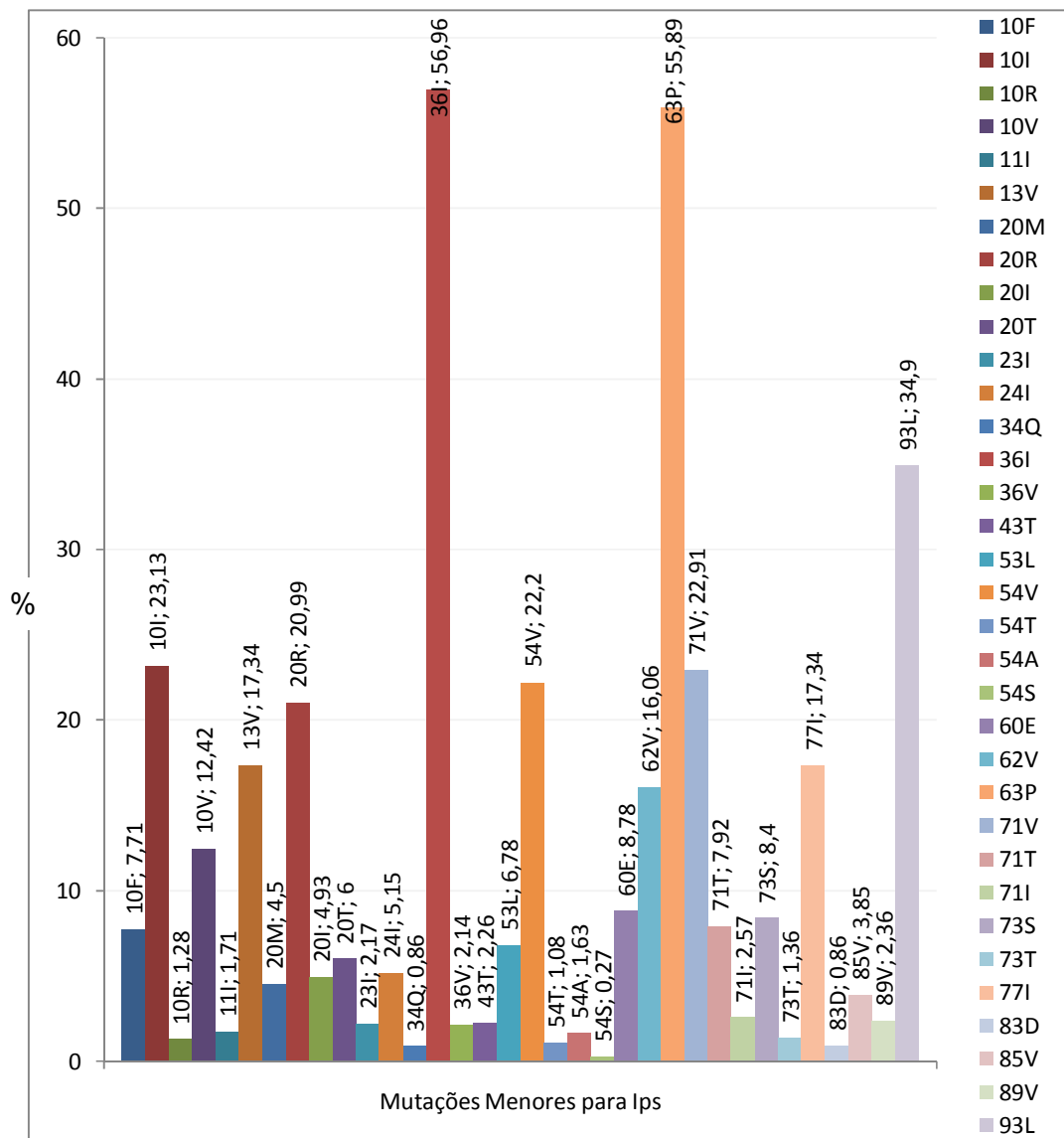
NOTA: ITRNN – Inibidores de Transcriptase Reversa não-Nucleosídeos



FONTE: TOLEDO (2009)

FIGURA 5 – PREVALÊNCIA DE MUTAÇÕES MAIORES ASSOCIADAS AO USO DE INIBIDORES DE PROTEASE – As colunas verticais de diversas cores representam a freqüência das mutações associadas a IP na amostra de 366 pacientes expostos a IP. Cada coluna corresponde à porcentagem das Mutações Maiores para IPs representadas na legenda ao lado (30N, 32I, 33F, 46I, 47AV, 48VM, 50LV, 54ML, 58E, 74P, 76V, 82ATFS, 84V, 88DS, 90M). Nenhum paciente nesta amostra apresentou as mutações 84AC.

NOTA: IPs – Inibidores de Protease



FONTE: TOLEDO (2009)

FIGURA 6 – PREVALÊNCIA DE MUTAÇÕES MENORES ASSOCIADAS AO USO DE INIBIDORES DE PROTEASE – As colunas verticais de diversas cores representam a freqüência das mutações menores associadas a IP na amostra de 366 pacientes expostos a IP. Cada coluna corresponde à porcentagem das Mutações Menores para IPs representadas na legenda ao lado (10FIRV, 11I, 13V, 20MIR, 23I, 24I, 34Q, 36IV, 43T, 53L, 54VTAS, 60E, 62V, 63P, 71VIT, 73ST, 77I, 83D, 85V, 89V, 93L). Nenhum paciente nesta amostra apresentou as mutações 16E, 20T, 35G e 64LMV.

NOTA: IPs – Inibidores de Protease

A presença de Mutações Maiores associadas a IPs, TAMs e outras mutações relacionadas a ITRN foram significativamente mais freqüentes nos pacientes expostos a um maior número de ARVs e de esquemas terapêuticos. (Tabela 8).

TABELA 8 – NÚMERO DE ANTI-RETROVIRAIS E ESQUEMAS UTILIZADOS E PRESENÇA DE MUTAÇÕES

Mutação	Número de ARVs e esquemas utilizados	OR*	95%IC	P
TAMs	Número crescente de esquemas utilizados	1.11	1.03-1.20	0.0082
MAc ITRN		1.11	1.02-1.20	0.0094
MR ITRN		1.15	1.02-1.30	0.0247
M ITRNN		1.09	1.01-1.18	0.0301
MM IP		1.28	1.19-1.37	0.0000
TAMs	Número crescente de ARVs utilizados	1.08	1.01-1.15	0.0214
MAc ITRN		1.10	1.02-1.17	0.0056
MAd ITRN		1.14	1.05-1.24	0.0017
M ITRNN		1.13	1.02-1.25	0.0208
MM IP		1.26	1.18-1.34	0.0000

FONTE: TOLEDO (2009)

NOTAS: ARV – antiretroviral,

ITRN– inibidor de transcriptase reversa análogo nucleosídeo,

ITRNN – inibidor de transcriptase reversa não análogo nucleosídeo

IP – inibidor de protease

TAMs – Mutações associadas a timidínicos

MAc ITRN – Mutações acessórias de ITRN

MAd ITRN – Mutações adicionais de ITRN

MR ITRN – Mutações de multi-resistência a ITRN

M ITRNN – Mutações associadas a ITRNN

MM IP – Mutações Maiores para IP

OR – “odds ratio”

IC – Intervalo de Confiança

* Odds ratio calculado para a presença ou não de mutações quando da exposição a um número crescente de ARVs e de esquemas de ARVs

A freqüência de uso de ITRNN, IP e das três classes foi similar nos grupos de pacientes que fizeram GNT em 2002, 2003, 2004, 2005 e 2006. Houve um aumento significativo no uso de lamivudina e tenofovir no momento do teste no decorrer destes anos e um decréscimo do uso de timidínicos de 2002 a 2006 (Tabela 9).

Prevalência de grupos de mutações associadas a ITRN, ITRNN e IP foi similar nos exames realizados em diferentes épocas, exceto pelo aumento significativo da prevalência de M184IV e de mutações acessórias a ITRN que podem conferir resistência quando associadas a TAMs (Figuras 7, 8 e 9). Quando se analisou isoladamente a prevalência de cada mutação nos diferentes anos, algumas do grupo das mutações acessórias, das mutações para ITRNN e mutações maiores para IP apresentaram aumento significativo como demonstra a Tabela 8.

TABELA 9 – DIFERENÇAS NO USO DE ANTI-RETROVIRAIS E NA PREVALÊNCIA DE MUTAÇÕES DE 2002 A 2006

	OR*	95% CI	p
Uso de Anti-retrovirais			
Uso atual de Lamivudina	1.43	1.14-1.78	0.0016
Uso atual de Tenofovir	1.94	1.46-2.57	0.0000
Exposição a Timidínicos	0.72	0.55-0.94	0.0159
Mutações associadas a ITRN			
M184V	1.25	1.04-1.50	0.0200
L210W	1.28	1.04-1.57	0.0172
K43EQ	1.45	1.08-1.95	0.0127
L228H	1.44	1.09-1.91	0.0094
Mutações associadas a ITRNN			
V108I	1.44	1.03-1.99	0.0313
M230L	2.40	1.11-5.19	0.0256
Mutações associadas a IP			
M46IL	1.33	1.09-1.63	0.0055
I47AV	2.01	1.19-3.40	0.0095
Q58E	1.59	1.08-2.34	0.0183
I54ML	1.61	1.03-2.53	0.0376
T74P	2.18	1.16-4.09	0.0155

FONTE: TOLEDO (2009)

NOTAS: ARV – antiretroviral

ITRN– inibidor de transcriptase reversa análogo nucleosídeo

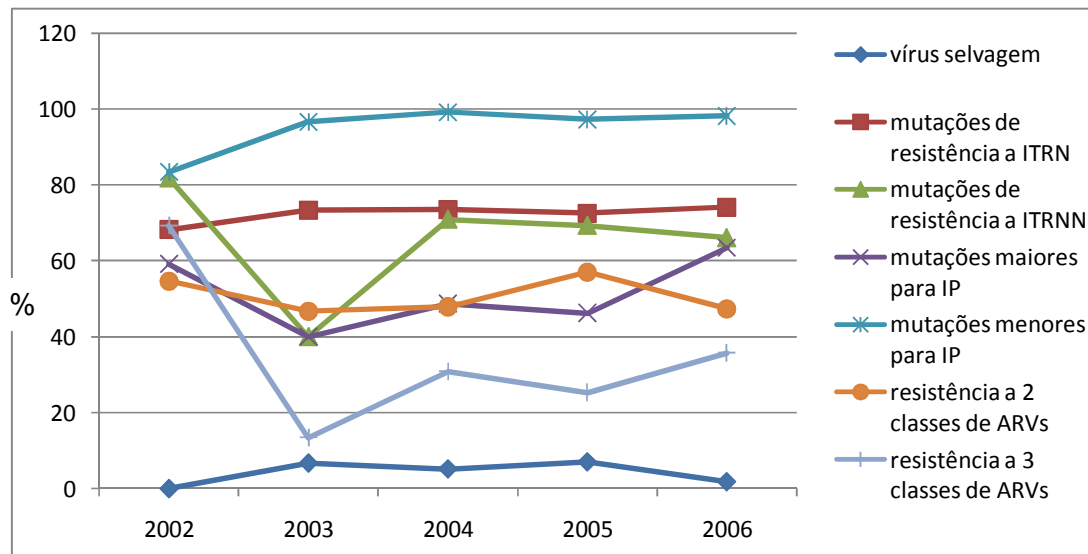
ITRNN – inibidor de transcriptase reversa não análogo nucleosídeo

IP – inibidor de protease

OR – “odds ratio”

IC – Intervalo de Confiança

* Odds ratio calculado na ordem crescente dos anos em que foi realizados teste de genotipagem, representando aumento das variáveis descritas, exceto por decréscimo da exposição a timidínicos



FONTE: TOLEDO (2009)

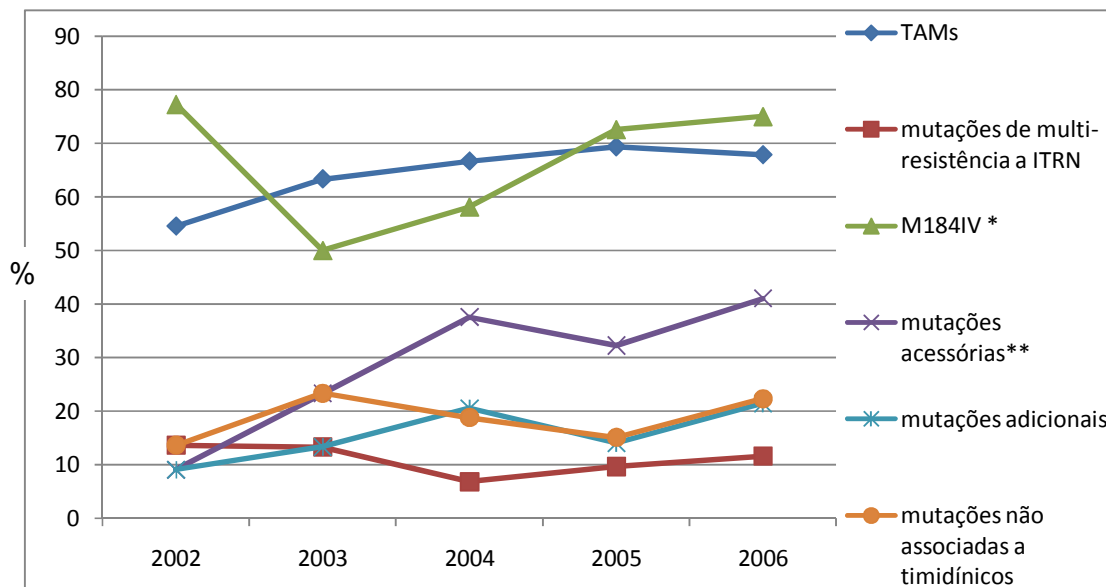
FIGURA 7 – PREVALÊNCIA DE PACIENTES COM VÍRUS SELVAGEM E MUTANTE NOS ANOS ESTUDADOS
 – O gráfico representa a porcentagem de pacientes com vírus selvagem, de grupos com mutações para cada classe de ARV (ITRN, ITRNN, IP), bem como do grupo de pacientes com resistência às 3 classes de ARVs estudadas. Estas porcentagens são estratificadas para os diversos grupos que fizeram teste de genotipagem nos anos de 2002, 2003, 2004, 2005 e 2006.

NOTAS: ARV – anti-retroviral

ITRN– inibidor de transcriptase reversa análogo nucleosídeo

ITRNN – inibidor de transcriptase reversa não análogo nucleosídeo

IP – inibidor de protease



FONTE: TOLEDO (2009)

FIGURA 8 – CARACTERIZAÇÃO DA PREVALÊNCIA DE MUTAÇÕES ASSOCIADAS AO USO DE INIBIDORES DE TRANSCRIPTASE REVERSA NUCLEOSÍDEOS E NUCLEOTÍDEO NOS ANOS ESTUDADOS – O gráfico representa a porcentagem de pacientes com mutações para ITRN do tipo TAMs, mutações de multi-resistência a ITRN, mutações acessórias, mutações adicionais e mutações não associadas a timidínicos. A mutação M184IV é considerada não associada a timidínicos mas sua prevalência foi demonstrada separadamente pela alta frequência e importância clínica. Estas porcentagens são estratificadas para os diversos grupos que fizeram teste de genotipagem nos anos de 2002, 2003, 2004, 2005 e 2006. Observa-se que todas as mutações ocorreram em um mesmo padrão de frequência nos diferentes anos, exceto pela M184IV e pelas mutações acessórias ** que foram significativamente mais prevalentes com o passar dos anos (OR 1.23, 95% IC 1.02-1.47, p 0,0277)

NOTAS: TAMs – Mutações associadas a timidínicos
 ITRN– inibidor de transcriptase reversa análogo nucleosídeo
 OR – “odds ratio”
 IC – Intervalo de Confiança

7.3 CARACTERÍSTICAS DAS MUTAÇÕES DE ACORDO COMO GÊNERO E O SUBTIPO DO HIV-1

Algumas TAMs, V118I e Mutações Maiores associadas a IP, como a L90M foram mais freqüentes em amostras de HIV-1 de pacientes do sexo masculino (Tabela 10). Os pacientes do sexo masculino foram expostos a mais esquemas ARV por mais tempo que as pacientes do sexo feminino (4,21 *versus* 3,69 esquemas em média ($p < 0,0283$) por 75,04 *versus* 69,21 meses em média ($p < 0,0485$).

Em termos de subtipos do HIV, a análise demonstrou prevalência significativamente maior de HIV-1 dos subtipos C e F nas mulheres (Tabela 11).

O subtipo B foi o mais freqüente e também foi o grupo de pacientes exposto a maior número de ARVs (OR 1.14, IC 95% 1.02-1.16, p 0.0122) e de esquemas ARVs (OR 1.14, IC 95% 1.05-1.24, p 0.0013).

Quando as distribuições de mutações foram analisadas nos diferentes subtipos, observou-se que algumas TAMs e mutações para IPs, como as dos códons 46 e 84, foram significativamente mais prevalentes no grupo de pacientes com Subtipo B, a mutação 106M foi mais prevalentes nas amostras de subtipo C e a mutação 93L nas de o subtipo F (Tabela 12).

Não houve diferença na prevalência dos subtipos nos testes realizados entre 2003 a 2006 (Figura 9).

TABELA 10 – DIFERENÇAS NA PREVALÊNCIA DE MUTAÇÕES DE ACORDO COM O GÊNERO

Mutação	Sexo Masculino (n=308)		Sexo Feminino (n=159)		OR	95% IC	p
	Número (N)	Frequência (%)	Número (N)	Frequência (%)			
M41L	138	44.8	46	28.9	1.99	1.32-3.02	0.0009
D67N	135	43.8	45	28.3	1.98	1.30-3.00	0.0011
L210W	88	28.6	22	13.8	2.49	1.41-4.20	0.0004
T215Y	118	38.3	41	25.8	1.79	1.17-2.74	0.0069
>3 TAMs	160	51.9	50	31.4	1.26	1.13-1.40	0.0000
V118I	76	24.7	25	15.7	1.76	1.06-2.90	0.0261
M46I	72	23.4	16	18.2	2.73	1.51-4.91	0.0005
V82A	64	20.8	19	11.9	1.93	1.11-3.37	0.0181
L90M	93	30.2	31	19.5	1.79	1.12-2.84	0.0132
I54V	66	21.4	16	10.1	2.4	1.35-4.40	0.002
L24I	17	5.5	2	1.3	4.59	1.04-20.29	0.0273

FONTE: TOLEDO (2009)

NOTAS: TAMs – Mutações associadas a timidínicos
OR – “odds ratio”
IC – Intervalo de Confiança

TABELA 11 – DIFERENÇAS NA PREVALÊNCIA DE SUBTIPOS DE ACORDO COM O GÊNERO

Subtipo do HIV-1	Sexo Feminino (n=137)		Sexo Masculino (n=252)		OR*	95% IC	p
	Número (N)	Frequência (%)	Número (N)	Frequência (%)			
Subtipo B	58	42,34	181	71,83			
Subtipo C	44	32,12	36	14,29	3.81	2.19-6.64	0.0000
Subtipo F	10	7,3	9	3,57	3.47	1.32-9.09	0.0070
Mosaicos ou Recombinantes	25	18,25	26	10,32	3.00	1.58-5.68	0.0004

FONTE: TOLEDO (2009)

NOTAS: OR – “odds ratio”, IC – Intervalo de Confiança

* Odds ratio calculado do sexo feminino em relação ao masculino para os subtipos C, F e mosaicos ou recombinantes

TABELA 12 – DIFERENÇAS NA PREVALÊNCIA DE MUTAÇÕES DE ACORDO COM O SUBTIPO DO HIV-1

Mutação	Diferenças de Prevalência entre os Subtipos do HIV-1	OR*	95%IC	p
TAMs		1.61	1.04-2.49	0.0323
Número de TAMs		1.16	1.04-1.30	0.0079
41L		2.27	1.46-3.54	0.0002
210W		2.31	1.37-3.90	0.0013
215FY		2.03	1.33-3.09	0.0008
118I		2.22	1.29-3.81	0.0030
44AD		2.46	1.21-5.01	0.0101
74IV		2.16	1.03-4.57	0.0378
MR ITRN		2.16	1.00-4.73	0.0476
Número de mutações a ITRNN	Subtipo B versus Subtipos C, F e mosaicos ou recombinantes	1.23	1.04-1.46	0.0153
MM IP		1.77	1.17-2.69	0.0063
Número de mutações maiores a IP		1.25	1.10-1.41	0.0003
32I		3.52	1.00-12.38	0.0368
84V		2.93	1.17-7.36	0.0164
10I		1.92	1.13-3.25	0.0135
20I		5.67	1.27-25.26	0.0101
46I		4.39	2.23-8.61	0.0000
60E		2.60	1.10-6.18	0.0244
62V		1.97	1.08-3.58	0.0245
63P		5.34	3.30-8.65	0.0000
77I		4.09	1.98-8.45	0.0000
106M		4.05	1.13-14.52	0.0198
20R	Subtipo C versus Subtipos B, F e mosaicos ou recombinantes	2.43	1.40-4.22	0.0011
36I		4.28	2.26-8.10	0.0000
93L		11.45	5.81-22.57	0.0000
36I	Subtipo F versus Subtipos B, C e mosaicos ou recombinantes	13.71	1.76-107.10	0.0011

FONTE: TOLEDO (2009)

NOTAS: TAMs – Mutações associadas a timidínicos

MR ITRN – Mutações de multi-resistência a ITRN

ITRNN – Mutações associadas a ITRNN

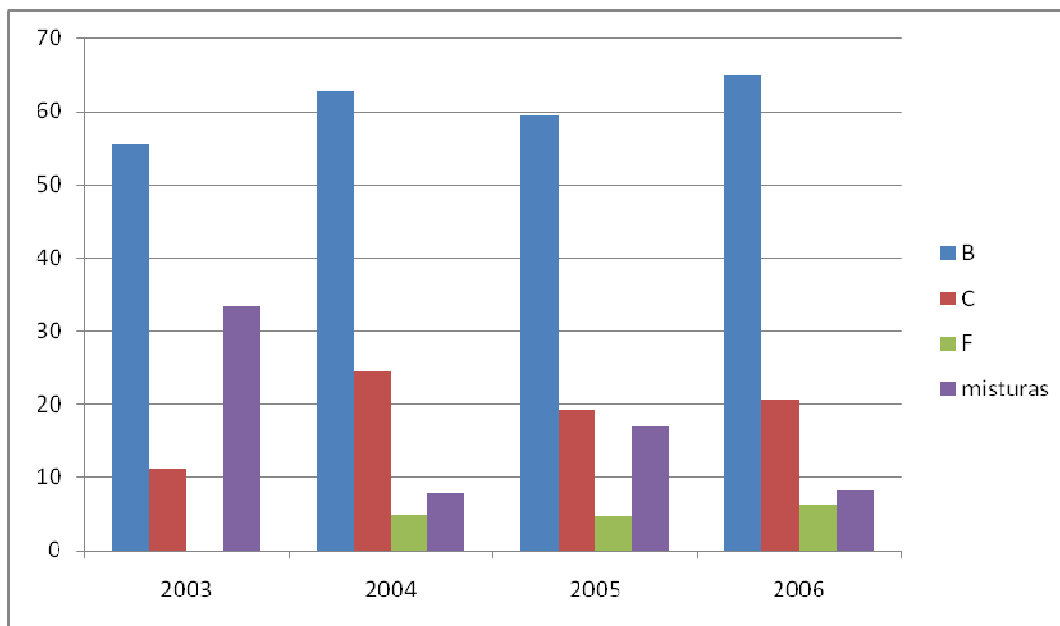
IP – Mutações associadas a IP

MM IP – Mutações Maiores para IP

OR – “odds ratio”

IC – Intervalo de Confiança

* Odds ratio calculado comparando a prevalência de mutações e grupos de mutações entre os subtipos



FONTE: TOLEDO (2009)

FIGURA 9 –PREVALÊNCIA DOS SUBTIPOS DO HIV NOS TESTES REALIZADOS ENTRE 2003 E 2006 – O gráfico representa a prevalência de subtipos do HIV-1 nos testes de genotipagem realizados nos anos de 2002, 2003, 2004, 2005 e 2006. Observa-se que os subtipos, representados pelas colunas verticais, ocorreram em um mesmo padrão de frequência nos diferentes anos.

7.4 RELAÇÃO ENTRE EXPOSIÇÃO A ANTIRETROVIRAIS E PRESENÇA DE MUTAÇÕES

Exposição a cada classe de ARV teve relação significativa com a presença de mutações que conferem resistência à esta classe de medicamentos (Tabela 13).

O número e a prevalência de TAMs foi maior no grupo de pacientes que usaram duoterapia inicial. Diferenças na prevalência de mutações por ITRNN e IP não foram significativas comparando o uso de duoterapia inicial com o uso de esquemas HAART. Monoterapia com zidovudina não teve correlação significativa com maior prevalência de TAMs ou outras mutações.

TABELA 13 – EXPOSIÇÃO ÀS TRÊS CLASSES DE ANTI-RETROVIRAIS E PRESENÇA DE MUTAÇÕES

Mutação	Exposição a classes de ARV	OR*	95%IC	p
TAMs	Duoterapia com ITRN	1.69	1.12-2.54	0.0100
Número de TAMs		1.16	1.05-1.28	0.0040
TAMs	HAART inicial com ITRNN	0.41	0.24-0.71	0.0009
M ITRNN		2.62	1.32-5.21	0.0042
MM IP		0.12	0.06-0.26	0.0000
M ITRNN	Exposição a ITRN e IP	0.02	0.01-0.06	0.0000
MM IP		4.55	2.45-8.46	0.0000
M ITRNN	Exposição a ITRN e ITRNN	10.57	4.03-27.73	0.0000
MM IP		0.01	0.00-0.07	0.0000
M ITRNN	HAART inicial com IP	0.61	0.41-0.91	0.0137
MM IP		2.67	1.79-3.99	0.0000
MM IP	HAART inicial com IP/r	0.47	0.08-2.61	0.3793

FONTE: TOLEDO (2009)

NOTAS: ITRN – inibidor de transcriptase reversa análogo nucleosídeo
 ITRNN – inibidor de transcriptase reversa não análogo nucleosídeo
 IP – inibidor de protease
 IP/r – inibidor de protease associado a dose baixa de ritonavir
 HAART – “highly active antiretroviral therapy”
 TAMs – Mutações associadas a timidínicos
 M ITRNN – Mutações associadas a ITRNN
 MM IP – Mutações Maiores para IP
 ARV – anti-retroviral
 OR – “odds ratio”
 IC – Intervalo de Confiança
 * Odds ratio calculado para a presença ou não de mutações quando da exposição aos diversos ARVs

Após análise estatística foi possível demonstrar a relação entre o uso prévio e atual dos ITRN e ITRNN e a presença de mutações. (Tabelas 14 e 16). O risco de apresentar M184IV foi associado ao uso de lamivudina. O risco de apresentar mutações não associadas a TAMs, nos códons 74, 75 e 115 foi maior quanto maior o tempo de exposição a TDF e ddl. Observou-se que o risco de apresentar TAMs foi

maior quanto maior o tempo de uso de timidínicos, lamivudina, ddl e TDF. Os pacientes que receberam ddl e TDF apresentavam significativamente mais TAMS. Não foi possível definir o uso prévio de timidínicos, apenas o tempo de uso dos mesmos, como fator de risco para a presença de TAMS

Análise de regressão logística para o risco de apresentar TAMS com o uso prévio de ITRN demonstrou o mesmo padrão de riscos do que a análise bivariada (Tabela 15).

A análise multivariada demonstrou o uso de tenofovir como fator de risco para as mutações 74IV (OR 2,67, 95% CI=1,27-5,63, p 0,010) e 115F (OR 1,97, 95% CI=1,01-53,60, p 0,048).

O risco de apresentar K103NS foi associado ao uso de EFV e NVP. O risco de apresentar as mutações nos códonos 181 e 227 foi significativamente associado ao uso e ao tempo de exposição a NVP e no códon 108 associado ao uso e ao tempo de exposição a EFV.

As mutações nos códonos 101 e 190 da TR foram associadas apenas ao uso atual de EFV e NVP.

Para as mutações maiores associadas ao uso de IPs a análise bivariada demonstrou que o uso dos seguintes IPs esteve significativamente associado à presença as seguintes mutações:

O risco de apresentar as mutações 33F, 46IL, 47AV, 48V, 50V, 58E, 76V, 82ATFS, 84V e 90M foi associado ao uso de ritonavir em dose terapêutica.

O risco de apresentar as mutações 32I, 33F, 46IL, 58E, 74P, 76V, 82ATFS, 84V e 90M foi associado ao uso de indinavir.

O risco de apresentar as mutações 33F, 46IL, 58E, 54ML, 82ATFS e 90M foi associado ao uso de indinavir/ritonavir.

O risco de apresentar as mutações 32I, 33F, 48V, 76V, 82ATFS, 84V e 90M foi associado ao uso de saquinavir.

O risco de apresentar as mutações 33F, 46IL, 48V, 58E, 82ATFS, 84V e 90M foi associado ao uso de saquinavir/ritonavir.

O risco de apresentar as mutações 30N, 33F, 46IL, 50L, 58E, 88DS e 90M foi associado ao uso de nelfinavir.

O risco de apresentar a mutação 50L e 74P foi associado ao uso de atazanavir.

O risco de apresentar as mutações 32I, 33F, 46IL, 47AV, 54ML, 82ATFS e 90M foi associado ao uso de atazanavir/ritonavir.

O risco de apresentar as mutações 33F, 46IL, 47AV, 48VM, 50V, 54ML, 58E, 76V, 82ATFS, 84V e 90M foi associado ao uso de lopinavir/ritonavir.

O risco de apresentar as mutações 32I, 54ML, 58E foi associado ao uso de amprenavir.

O risco de apresentar as mutações 32I, 33F, 46IL, 47AV, 50V, 54ML, 58E, 82ATFS, 84V e 90M foi associado ao uso de amprenavir /ritonavir.

O risco de apresentar as mutações 32I, 33F, 47AV, 50V, 54ML, 76V foi associado ao uso de darunavir /ritonavir.

Após regressão logística e controle pelo uso de ATV, o risco de apresentar a mutação a 50L foi associado ao uso de nelfinavir (OR 6,12, 95% CI=1,03-36,25, p 0,046).

O uso de lopinavir/ritonavir não foi fator de risco para a ocorrência de G48VM após controle pelo uso de SQV e SQV/r (OR 8,67, 95% CI=0,85-87,98, p 0,068) e o uso de risco de SQV não foi fator de risco para ocorrência de L76V quando controlado pela exposição a DRV/r e LPV/r (OR 3,02, 95% CI=0,68-13,67, p 0,146).

O risco de apresentar 33I foi associado apenas ao uso prévio de LPV/r, IDV e IDV/R e não a NFV (OR 1,55, 95% CI=0,75-3,18, p 0,234) e DRV/r (OR 4,74, 95% CI=0,40-56,94, p 0,320).

A maioria destas correlações foi significativa também para o tempo de exposição ao IP, exceto para o tempo de uso de DRV/r que não foi testado pois ocorreu em um número pequeno da amostra e todos os casos foram expostos por um tempo similar. Estes dados estão demonstrados no Apêndice 5.

TABELA 14 – CORRELAÇÃO ENTRE EXPOSIÇÃO AOS INIBIDORES DE TRANSCRIPTASE REVERSA ANÁLOGOS NUCLEOSÍDEOS E NUCLEOTÍDEO (ITRN) E PRESENÇA DE MUTAÇÕES RELACIONADAS A ITRN

Mutação	Exposição e Tempo de Uso do ARV	OR*	95%IC	P
TAMs	Tempo de Uso de AZT	1.16	1.00-1.34	0.0507
	Tempo de Uso de d4T	1.25	1.09-1.43	0.0010
	Exposição a ddl	2.06	1.38-3.07	0.000
	Tempo de Uso de ddl	1.33	1.14-1.55	0.0002
	Exposição a TDF	4.00	1.67-9.60	0.002
	Tempo de Uso de TDF	1.50	1.03-2.17	0.0332
	Tempo de Uso de 3TC	1.19	1.03-1.37	0.0205
MAc ITRN	Tempo de Uso de d4T	1.29	1.13-1.47	0.0002
	Tempo de Uso de 3TC	1.18	1.02-1.36	0.0263
	Tempo de Uso de ddl	1.26	1.08-1.46	0.0025
	Tempo de Uso de TDF	1.88	1.30-2.71	0.0007
MAd ITRN	Tempo de Uso de d4T	1.37	1.16-1.61	0.0002
	Tempo de Uso de 3TC	1.21	1.01-1.45	0.0397
	Tempo de Uso de TDF	1.68	1.06-2.67	0.0278
MR ITRN	Tempo de Uso de TDF	1.82	1.01-3.26	0.0453
74IV	Exposição a ddl	2.34	1.13-4.84	0.0179
	Tempo de Uso de ddl	1.42	1.12-1.78	0.0031
	Exposição a TDF	3.15	1.50-6.59	0.0013
	Tempo de Uso de TDF	2.71	1.54-4.77	0.0005
75TM	Tempo de Uso de ddC	2.16	1.09-4.28	0.0270
	Tempo de Uso de ddl	1.42	1.05-1.90	0.0214
	Tempo de Uso de TDF	2.73	1.33-5.62	0.0064
115F	Exposição a TDF	8.65	1.17-63.80	0.0108
	Tempo de Uso de ddl	2.64	1.22-5.74	0.0141
	Tempo de Uso de TDF	9.04	1.36-59.89	0.0225
184V	Exposição a 3TC	26.21	5.66-121.42	0.0000
	Tempo de Uso de 3TC	1.60	1.38-1.85	0.0000

FONTE: TOLEDO (2009)

NOTAS: ARV – antiretroviral

ITRN – inibidor de transcriptase reversa análogo nucleosídeo

TAMs – Mutações associadas a timidínicos

MAc ITRN – Mutações acessórias de ITRN

MAd ITRN – Mutações adicionais de ITRN

MR ITRN – Mutações de multi-resistência a ITRN

OR – “odds ratio”

IC – Intervalo de Confiança

AZT – Zidovudina

d4T – Estavudina

3TC – Lamivudina

ddl – Didanosina

ddC – Zalcitabina

ABC – Abacavir

TDF – Tenofovir

* Odds ratio calculado para a presença ou não de mutações quando da exposição atual ou prévia e tempo de exposição a ARVs

TABELA 15 – ANÁLISE MULTIVARIADA DA EXPOSIÇÃO AOS INIBIDORES DE TRANSCRIPTASE REVERSA ANÁLOGOS NUCLEOSÍDEOS E NUCLEOTÍDEO (ITRN) E PRESENÇA DE MUTAÇÕES ASSOCIADAS A TIMIDÍNICOS (TAMs)

Mutação	Exposição e Tempo de Uso do ARV	OR*	95%IC	P
TAMs	Exposição a AZT	0.99	0.44-2.28	0.999
	Exposição a d4T	1.02	0.65-1.61	0.926
	Exposição a TDF	3.36	1.39-8.15	0.003
	Exposição a ddl	1.85	1.23-2.78	0.007

FONTE: TOLEDO (2009)

TABELA 16 – CORRELAÇÃO ENTRE EXPOSIÇÃO AOS INIBIDORES DE TRANSCRIPTASE REVERSA NÃO ANÁLOGOS NUCLEOSÍDEOS (ITRNN) E PRESENÇA DE MUTAÇÕES RELACIONADAS A ITRNN

Mutação	Exposição e Tempo de Uso do ARV	OR*	95%IC	P
100I	Uso atual de EFV	12.05	2.50-58.17	0.0001
	Tempo de Uso de EFV	3.66	2.13-6.28	0.0000
101EPH	Uso atual de EFV	2.04	1.02-4.06	0.0383
	Uso atual de NVP	2.30	1.13-4.67	0.0178
	Tempo de Uso de EFV	1.35	1.03-1.77	0.0319
103NS	Exposição a EFV	3.92	2.52-6.09	0.0000
	Exposição a NVP	4.28	1.17-15.70	0.0168
	Tempo de Uso de EFV	1.92	1.62-2.27	0.0000
103R	Uso atual de EFV	13.01	1.47-115.08	0.0028
	Tempo de Uso de EFV	2.16	1.04-4.47	0.0386
106AM	Exposição a EFV	8.31	1.04-66.47	0.0168
	Uso atual de NVP	3.46	1.47-8.17	0.0025
108I	Exposição a EFV	2.11	1.00-4.53	0.0484
	Tempo de Uso de EFV	1.40	1.02-1.91	0.0346
179DEF	Exposição a EFV	9.18	1.16-72.92	0.0107
	Tempo de Uso de EFV	1.63	1.07-2.46	0.0223
181C	Exposição a NVP	9.92	4.58-21.49	0.0000
	Tempo de Uso de NVP	2.46	1.92-3.16	0.0000
190ASE	Uso atual de EFV	1.92	1.18-3.13	0.0071
	Uso atual de NVP	2.34	1.40-3.89	0.0008
	Exposição a NVP	4.26	2.50-7.29	0.0000
	Tempo de Uso de NVP	1.64	1.31-2.05	0.0000
225H	Uso atual de EFV	10.97	3.86-31.19	0.0000
	Tempo de Uso de EFV	2.39	1.65-3.47	0.0000
227L	Exposição a NVP	3.87	1.04-14.37	0.0291
	Tempo de Uso de NVP	2.38	1.39-4.07	0.0015

FONTE: TOLEDO (2009)

NOTAS: ARV – antiretroviral

ITRNN – inibidor de transcriptase reversa não análogo nucleosídeo

OR – “odds ratio”

IC – Intervalo de Confiança

EFV – Efavirenz

NVP – Nevirapina

* Odds ratio calculado para a presença ou não de mutações quando da exposição a um número crescente de ARVs e de esquemas de ARVs

8 DISCUSSÃO

Este estudo representa mais uma coletânea de dados epidemiológicos regionais a respeito da exposição à TARV e perfil genotípico do HIV-1 no Brasil. Trata-se da primeira compilação de dados exclusiva do Estado do Paraná. Os dados documentam a alta prevalência de mutações associadas ao uso de anti-retrovirais e os achados sugerem que o aparecimento de resistência depende do histórico de uso dos ARVs.

8.1 CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA

Observou-se aumento dos níveis de contagem de CD4 na maioria dos pacientes após o uso de TARV, que confirma o benefício do tratamento da infecção pelo HIV. A grande maioria dos pacientes com falha virológica apresentou valores de CV menores que 30.000 cópias/ml, dado que sugere o uso de ARVs no momento do teste de GNT, como recomendado, pois cargas virais maiores, sugerem não aderência aos ARVs.

Exposição a ITRN timidínicos e a lamivudina ocorreu em quase a totalidade da amostra e duoterapia inicial com ITRN foi utilizada por mais de um terço da amostra, tais fatos explicam a alta prevalência de mutações para ITRN.

O IP mais utilizado foi o nelfinavir seguido pelo indinavir, dados que coincidem com o padrão de prescrição do final dos anos 90, quando a maioria destes pacientes iniciou TARV. Aproximadamente 15% dos pacientes da amostra foram expostos a atazanavir e 30% a lopinavir, IPs amplamente prescritos atualmente, refletindo a época de introdução destes medicamentos pelo PN – MS no decorrer dos anos em que os testes deste estudo foram coletados. O darunavir foi usado por menos de 1% da amostra e seu uso iniciou em 2004 com a participação de alguns pacientes em ensaios clínicos.

Foi significativo o aumento do uso de tenofovir com o passar do tempo, refletindo a disponibilidade deste medicamento a partir de 2002 em ensaios clínicos dos quais pacientes da amostra participaram e em 2004 pelo MS.

8.2 PERFIL DE RESISTÊNCIA

A presença de mutações foi compatível com o histórico de ARVs, ou seja, usar apenas ITRNN foi um fator de risco para ocorrência de mutações na TR associadas a estes medicamentos e usar apenas IP foi um fator de risco para a ocorrência de mutações maiores para IPs.

Menos de 5% dos casos apresentaram mutações não compatíveis com o uso de ITRNN e IP. Nestes casos, há possibilidade de resistência primária ou aquisição de mutações de resistência por superinfecção. Para dois dos pacientes expostos apenas a IP é mais provável superinfecção do que resistência primária, pois estes casos iniciaram TARV antes da disponibilidade de ITRNN nos anos 90.

As mutações mais freqüentes na TR foram aquelas determinadas por drogas com baixa barreira genética, como a M184V associada ao uso de lamivudina e a K103N associada ao uso de ITRNN.

Nesta amostra, o acúmulo de mutações, tanto TAMs e mutações acessórias de ITRN como mutações para ITRNN e maiores para IPs, foi significativamente maior no grupo de pacientes expostos a mais esquemas terapêuticos e a um maior número de ARVs.

Os pacientes que usaram esquema com apenas duas drogas no início da terapia também apresentaram significativamente mais TAMs, assim como a amostra de NAPRAVNIK et al., 2007.

Vários autores comprovaram que os pacientes que usaram esquema inicial com IP associado a RTV apresentam menor número de mutações maiores para IPs (BANGSBERG et al., 2006; VONWYL et al., 2007; RIDLER et al., 2008). Nesta amostra houve esta tendência, mas tal dado não foi estatisticamente significativo pois pacientes que iniciaram tratamento com IP associado a RTV são apenas 1,2% da amostra e 16,7% deles receberam posteriormente esquema com IP não associado a RTV.

O esquema inicial contendo ITRNN foi um fator protetor para ocorrência de TAMs, o que pode ser explicado pelo fato de que estes pacientes não foram expostos a duoterapia inicial com ITRN que é um grande fator de risco para TAMs, como ocorreu com grande parte da amostra. Outros estudos como o de RIDLER et al., 2008, demonstraram a baixa ocorrência de TAMs em esquemas contendo ITRN e ITRNN. Esta mesma vantagem não foi observada nos pacientes cujo esquema

inicial continha IP, pois provavelmente estes casos tiveram menor aderência ao IP ficaram expostos a duoterapia com ITRN e, além disso, o grupo com terapia inicial com IP recebeu maior número de ARVs (6,99 versus 4,75) e esquemas (3,75 versus 2,29) subseqüentes do que o grupo que iniciou com ITRNN.

8.3 COMPARAÇÃO COM SÉRIES NACIONAIS E INTERNACIONAIS

Ausência de mutações na TR e PR ocorreu em 4,9% dos pacientes e em outros estudos nacionais, também observou-se uma prevalência de vírus selvagem menor que 10% (BAHIA et al., 2004; COUTO-FERNANDEZ et al., 2005; CAVALCANTI et al., 2007; MEDEIROS et al., 2007). Apenas TANURI et al. (2002) relataram uma prevalência de vírus selvagem de 15,3% na amostra nacional. A prevalência de vírus selvagem tende a ser maior em estudos de países onde a GNT é um teste mais disponível e é realizada mais precocemente no curso da falha virológica. Outra explicação é o menor uso de esquemas sub-ótimos e com baixa barreira genética no primeiro mundo há mais tempo, o que previne a ocorrência de mutações. A prevalência de vírus selvagem na Espanha, França e EUA variou entre 14 e 22% das amostras (GALLEGO et al., 2002; TAMALET et al., 2003; RICHMAN et al., 2004; RHEE et al., 2004; ZAZZI et al., 2006).

O perfil de mutações observado neste estudo é similar ao observado em outros estudos nacionais com algumas diferenças discutidas a seguir. A mutação mais prevalente ocorreu no códon 184 (68,31%), como relatado em São Paulo (64%) por RODRIGUES et al. (2005), no Rio de Janeiro (67%) por COUTO-FERNANDEZ et al. (2005) e no nordeste Brasileiro (66%) por CAVALCANTI et al. (2007). No estudo realizado recentemente em Santos por SÁ-FILHO et al. (2008), que incluiu testes realizados em 2006, a mesma foi mais freqüente (88%). No presente estudo, a prevalência desta mutação nas amostras de 2006 foi de 75%.

Este estudo revelou uma alta prevalência de TAMs (67,24%) similar ao relatado em São Paulo (73%) por RODRIGUES et al. (2005).

A prevalência da mutação K65R não é citada na maioria dos estudos nacionais e ocorreu em menos de 1% dos pacientes desta amostra. No nordeste brasileiro esta mutação parece ser mais freqüente, pois ocorreu em 3.4% dos

pacientes segundo CAVALCANTI et al. (2007) e em 5,9% segundo MEDEIROS et al. (2007).

A prevalência geral de mutações para ITRNN (67,7%) foi maior do que em outras séries nacionais, provavelmente porque nesta análise foram incluídas mutações recentemente relacionadas com ITRNN como as dos códons 101, 106 e 179. CAVALCANTI et al. (2007) reportaram 55,4%, MEDEIROS et al. (2007) encontraram em 43,5% dos casos, BAHIA et al. (2004) e COUTO-FERNANDEZ et al. (2005) observaram mutações para ITRNN em cerca de um terço dos casos.

Quando avaliadas as principais mutações para ITRNN isoladamente, a prevalência foi semelhante e até menor do que a de outros estudos nacionais. No estudo de Santos a prevalência geral de mutações para ITRNN não está explícita, mas a mutação K103N ocorreu em 52% dos casos, enquanto que na presente amostra em 43,4% (SÁ-FILHO et al., 2008). CAVALCANTI et al. (2007) encontraram prevalências mais altas das mutações nos códons 103 (62%), 190 (38.7%) e 181 (29.2%). COUTO-FERNANDEZ et al. (2005) observaram K103N em 27,7%, mas prevalências semelhantes às desta amostra de G190S/A (19,5%) e Y181C/I (15,8%) que foram 22,12% e 17,4% respectivamente.

A análise das mutações maiores associadas à IP foi bastante uniforme, comparativamente com outras séries nacionais. Mutação no códon 90 foi a mais freqüente, seguida pelos códons 46 e 82 assim como no estudo de CAVALCANTI et al. (2005), porém na casuística deste autor, as prevalências foram menores que as do Paraná, sendo 25,5, 23,7 e 21,1% respectivamente (CAVALCANTI et al., 2005). TANURI et al. (2002), SUCUPIRA et al. (2002), BAHIA et al. (2004), RODRIGUES et al. (2005) e COUTO-FERNANDEZ et al. (2005) também reportaram a L90M como a mutação mais freqüente com prevalências entre 26% e 37%.

A prevalência de mutações para ITRN (96,6%) e IP (90,3%) foi muito alta no estudo de SUCUPIRA et al. (2001), provavelmente porque a amostra estudada entre 1997 e 2000 era composta apenas por pacientes que receberam duoterapia inicial e foram consideradas mutações para IP as maiores e as menores, sem distinção. Nota-se neste estudo a baixa prevalência de mutação no códon 184 da TR (50,4%) provavelmente por uma maior exposição da amostra a timidínicos e didanosina e menor a lamivudina como ocorria no início da era HAART.

A prevalência de mutações para ITRN, ITRNN e IP foi menor no estudo de CERQUEIRA et al. (2004), exceto pela alta prevalência de mutação no códon 50 da

protease (50V). Este achado pode ser explicado porque nesta amostra de 2002 do Distrito Federal a casuística foi pequena e provavelmente foram incluídos pacientes menos expostos a TARV.

O perfil de mutações observado neste estudo foi similar ao observado em estudos internacionais mais antigos, apenas para mutações secundárias ao uso de IP e ITRN. Nestes estudos as mutações para IP estiveram presentes em 41 a 53% das amostras e mutações para ITRN ocorreram em 71 a 80% das amostras da Espanha, França e EUA (GALLEGO et al., 2002; TAMALET et al., 2003; RICHMAN et al., 2004; PILLAY et al., 2005; VIOLIN et al.; 2006 e ZAZZI et al., 2006).

Em todos os estudos de outros países, a prevalência de mutações para ITRNN foi menor que a desta amostra. A ocorrência variou entre 25 a 52% em todas as séries revisadas provavelmente porque nos estudos do início da década a exposição a ITRNN era menor e nos estudos mais recentes, o ITRNN provavelmente foi utilizado em esquemas com mais drogas ativas sendo protegido contra resistência (GALLEGO et al., 2002; TAMALET et al., 2003; RICHMAN et al., 2004; SCOTT et al., 2004 e PILLAY et al., 2005).

As mutações mais prevalentes em outros países também ocorreram nos códons 184 e 103 da TR e 90 da PR, porém em menor frequência do que nesta amostra. M184V/I, K103N e L90M foram relatadas em 17, 18 e 8% respectivamente da amostra de RHEE et al. (2004) e 49, 27 e 31% da amostra de GALLEGO et al. (2002). COSTAGLIOLA et al. (2007) e NAPRAVNIK et al. (2007) encontraram maior frequência destas mutações (58, 31 e 31% e 79, 58 59%). É importante ressaltar que a população descrita por NAPRAVNIK et al. (2007) incluía apenas pacientes com resistência a 3 classes de ARVs o que explica a alta prevalência de todas as mutações.

Os únicos estudos estrangeiros que relataram a prevalência de K65R foram o de RHEE et al. (2004) em que a mesma esteve presente em 1,9% da mostra e COSTAGLIOLA et al. (2007) que encontrou K65R em 5% dos casos.

Mutações de resistência às três classes de ARV ocorreram em um terço desta amostra, uma prevalência maior do que em séries nacionais e internacionais onde ocorreu em 17 a 21% dos casos (CAVALCANTI et al., 2007; PILLAY et al., 2005; VIOLIN et al.; 2006 e ZAZZI et al., 2006).

A prevalência de mutações ao longo dos anos de estudo foi estável e houve o aumento da identificação de mutações de ITRN acessórias e de M184V. Refletindo,

possivelmente, no caso das mutações K43EQ e L228H um maior tempo de exposição a timidínicos ou o maior relato de alterações nestes códons nos teste mais recentes. E no caso da M184V, a maior frequência do uso de lamivudina no momento do teste nos últimos anos. Não houve redução da prevalência de mutações, refletindo melhor resposta a HAART como relatado em alguns estudos Europeus (LOHSE et al., 2006; DI GIAMBENEDETTO et al., 2007 e VERCATEUREN et al., 2008).

8.4 COMPARAÇÃO COM OUTRAS SÉRIES A RESPEITO DO PERFIL DE MUTAÇÕES ENTRE OS GÊNEROS E OS SUBTIPOS DO HIV-1

Diferenças na prevalência de mutações relacionadas ao gênero dos pacientes infectados não têm sido descritas na literatura, mas os dados de DI GIAMBENEDETTO et al. (2007) que consideraram o sexo masculino como um fator preditivo de resistência a ARVs, coincidem com estes resultados de maior prevalência de algumas mutações nos pacientes do sexo masculino. Possivelmente por serem pacientes menos aderentes ao tratamento ou terem sido expostos mais precocemente a esquemas ARVs menos eficazes.

Em termos de subtipos do HIV, a maior prevalência de HIV-1 subtipo B, seguida por isolados do subtipo C corresponde a outros relatos nacionais e do Sul do Brasil (BRINDEIRO et al., 2003 e SOARES et al., 2005).

A maior frequência dos subtipos C e F nas mulheres coincide com os dados de SOARES et al (2005). Outros estudos sugerem a maior frequência do subtipo C na transmissão heterossexual pela disseminação deste subtipo, diferente de outros subtipos, nas células vaginais de mulheres (JOHN-STEWART et al., 2005).

De um modo geral, a prevalência de mutações de resistência às três classes de ARVs é semelhante nos pacientes infectados por HIV-1 de diferentes subtipos, como observado por outros autores (GONZALES et al., 2001; RHEE et al., 2005 e KANTOR et al., 2005).

A maioria dos estudos que comparou as mutações relacionadas ao uso de ITRN entre os subtipos não encontrou diferenças significantes (CARIDE et al., 2000 e RHEE et al., 2005). Em alguns estudos observou-se que o subtipo C pode desenvolver a mutação K65R mais rapidamente que o subtipo B, o que não pode ser

avaliado nesta amostra (DOUALLA-BELL et al., 2006; BRENNER et al., 2006; MILLER et al., 2007). As diferenças significativas encontradas em termos de mutações de resistência a ITRN entre os subtipos que coincidem com dados da literatura foram de que é maior o risco de infectados pelo subtipo B apresentarem as mutações 210W e 41L (DUMANS et al., 2004; CAVALCANTI et al., 2007; SOARES et al., 2003 e 2008;). SOARES et al. (2003 e 2008) também encontraram maior prevalência de alterações nos códons 41, 210 e 74 da TR em amostras do subtipo B e CAVALCANTI, et al. (2007) observaram maior prevalência de L210W no subtipo B. Segundo DUMANS, et al. (2004), o subtipo B tem maior chance de apresentar L210W pois os vírus do subtipo F necessitam de alterações extras de nucleosídeos para determinar esta mutação.

O estudo de CARIDE, et al. (2000) que comparou as mutações relacionadas ao uso de ITRNN entre os subtipos não encontrou diferenças significantes. Nesta amostra, a mutação 106M foi significativamente mais prevalente nas amostras de subtipo C, assim como o descrito por BRENNER, et al. (2003), GROSSMAN, et al. (2004) e KANTOR, et al. (2005). O desenvolvimento de V106M, que confere resistência aos ITRNN, provavelmente é secundário a um polimorfismo presente no codon 106 subtipo C que promove esta mutação (BRENNER et al., 2003).

As mutações maiores associadas a IPs M46IL e I84V foram significativamente mais prevalentes no HIV-1 subtipo B. Outros autores também relataram a associação entre I84V e subtipo B (CARIDE et al., 2001; SOARES et al., 2007 e DUMMANS et al., 2009).

Com relação a Mutações Menores associadas a IPs, observou-se nas amostras de subtipo não B, principalmente no subtipo F, uma maior prevalência de alterações nos códons 36 e assim como LACERDA, et al. (2007), DUMMANS, et al. (2009), em populações não expostas a TARV, e GONZALES, et al. (2001), CAVALCANTI, et al. (2007) e COUTO-FERNANDEZ, et al. (2005) em amostras de pacientes experimentados. No subtipo B, a maior prevalência das mutações L63P e V77I foram significativas, da mesma forma que encontraram LACERDA, et al. (2007), DUMMANS, et al. (2009), GONZALES, et al. (2001), KANTOR, et al. (2005). COUTO-FERNANDEZ, et al. (2005) e CAVALCANTI, et al. (2007) observaram apenas maior prevalência de L63P.

Ainda em termos de mutações da PR, alguns autores relatam a resistência a nelfinavir mais freqüente através da mutação L90M do que da mutação D30N nos

subtipos G, C e outros subtipos não B (SOARES et al., 2003, GROSSMAN et al., 2004). Porém, CARIDE et al. (2001) e SOARES et al. (2007) observaram maior prevalência de L90M em amostras do subtipo B. Neste grupo de pacientes, não houve diferenças de prevalência entre os subtipos para as mutações D30N e L90M.

8.5 EXPOSIÇÃO A ANTIRETROVIRAIS COMO FATOR DE RISCO PARA PRESENÇA DE MUTAÇÕES

Apesar de este estudo tratar-se de uma análise retrospectiva, não sendo o desenho ideal para avaliar a correlação entre a exposição a ARVs e o desenvolvimento de mutações, foi possível observar o risco entre o uso de TARV e a presença de mutações.

Alguns fatores de confusão podem estar presentes, uma vez que no momento do teste o paciente já havia sido exposto a diferentes esquemas de ARV e o acúmulo de mutações pode não ser claramente associado a determinado ARV.

Dados retrospectivos avaliados através de um modelo probabilístico que descreve independências estatísticas entre variáveis, conhecido como “Bayesian Networks” são reconhecidamente capazes de detectar vias mutacionais após falha a ARVs. Os dados de DEFORCHE, et al. (2007 e 2008) que incluíram amostras do Brasil, avaliaram estas vias mutacionais comparando amostras de pacientes expostos e não expostos a ITRNN e IP.

Concordante com dados da literatura o uso de EFV e NVP foi significativamente associado a presença de K103N e o uso de NVP foi fator de risco para a ocorrência de Y181C (RICHMAN et al., 1994).

De um modo geral, para o uso de cada IP específico, houve relação com a ocorrência de mutações conforme o descrito na literatura (DEFORCHE et al., 2007; JOHNSON et al., 2008 e SHAFER et al., 2008).

Achados como a correlação entre o uso de SQV e a presença de L76V e LPV/r e G48V foram esclarecidos após análise multi-variada que identificou estas correlações como não significantes. O erro pode ser explicado pelo fato de que mais de 60% dos pacientes que receberam LPV/r haviam recebido previamente SQV ou SQV/r.

A correlação entre o uso de NFV e a presença de I50L, classicamente associada ao uso de ATV, manteve-se significativa mesmo após regressão logística, mas pode tratar-se de um vício pois 75% dos pacientes que usaram ATV e apresentaram I50L, tinham uso prévio de NFV.

Com relação às correlações entre o uso de ITRN e a presença de mutações na TR, houve dificuldade de determinar o uso de ARV como fator de risco, pois quase 100% da amostra foi exposta a timidínicos. O mesmo foi descrito por BAHIA et al., em 2004. Apenas o tempo de uso de timidínicos foi demonstrado como fator de risco para a ocorrência de TAMs.

O uso e o tempo de uso de lamivudina, ddl e TDF foram associados com a maior presença de TAMs, mas não se pode definir esta exposição como causal pois pode apenas refletir o fato de que a presença de TAMs está associada ao maior tempo de exposição a ARVs de um modo geral. Este dado fica claro no grupo de pacientes que apresentaram mais de um teste de genotipagem, onde o primeiro teste foi realizado antes do uso de TDF em mais de 50% dos casos e a presença de TAMs ocorreu em todos os casos. Refletindo realmente que pacientes com maior tempo de falha a TARV apresentam mais TAMs e estes casos são o grupo em que o TDF começou a ser utilizado em meados desta década.

A correlação entre o uso de TDF e a presença de L74VI, classicamente associada ao uso de ddl, manteve-se significativa mesmo após regressão logística, mas pode tratar-se de um vício pois 90% dos pacientes que usaram TDF, tinham uso prévio de ddl.

A prevalência de mutações na TR e PR tende a ser maior de acordo com o maior tempo de uso dos esquemas contendo ITRN, ITRNN e IP, coincidindo com dados de estudo prospectivos que demonstram o acúmulo de mutações com o passar do tempo (KANTOR et al., 2004 e HATANO et al., 2006). Neste estudo apenas o tempo de uso de medicamentos foi avaliado, pois o tempo de falha virológica não pode ser determinado com base nas fichas clínicas dos pacientes.

8.6 PRESENÇA DE MUTAÇÕES NA AMOSTRA E PERSPECTIVAS DE TRATAMENTOS FUTUROS

Observou-se que apesar da maioria dos pacientes apresentarem a mutação M184V, a lamivudina, ARV relacionado à ocorrência desta mutação, continuou sendo prescrito apesar de estar contido em esquemas prévios que falharam. O uso futuro de lamivudina estará também indicado devido ao fato de que a presença da M184V pode hipersensibilizar os timidínicos e o tenofovir quando estiverem presentes em esquemas futuros. Como a prevalência de mutações associadas a ITRN, em especial o acúmulo de TAMs, é elevada nesta casuística, a eficácia do TDF como alternativa de tratamento futuro nesta população encontra-se comprometida, o que reforça a necessidade do uso combinado deste ARV com lamivudina.

Em termos de mutações associadas a ITRNN, observou-se que as mutações que prejudicam o uso futuro de etravirina, em especial as dos códons 181 e 190 da TR, ocorreram em mais de 20% dos casos, limitando parcialmente o uso deste novo ARV.

O uso de novos IPs como o darunavir tem papel importante na terapia futura deste grupo de pacientes, pois a presença de alguma mutação de resistência ao DRV/r ocorreu em menos de 10% dos casos, sendo que as mutações maiores 50V, 54ML e 76V na protease ocorreram em menos de 5% dos casos.

Felizmente novas classes de ARVs e a associação dos novos ITRNN e IPs disponíveis poderão ser oferecidas a estes pacientes a fim de promover a resposta virológica e subsequente aumento da sobrevida.

9 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que é alta a prevalência de mutações nos genes de PR e TR, principalmente de mutações associadas a ITRNN, da mutação M184V, de TAMs e de resistência às 3 classes de ARVs em pacientes com falha virológica no Paraná entre 2002 e 2006.

Não houve redução na prevalência de mutações entre 2002 e 2006, inclusive houve aumento na prevalência de algumas mutações.

A prevalência de mutações é uniforme entre os subtipos do HIV-1 com a tendência de mutações para ITRN e algumas mutações maiores da PR serem mais freqüentes no subtipo B e da mutação no códon 106 da TR ser mais freqüente no C. Outras diferenças significativas entre os subtipos foram observadas em alguns polimorfismos da PR.

Observou-se correlação significativa entre o uso e tempo de uso de lamivudina, IP e ITRNN como fator de risco para a presença de mutações específicas. Observou-se correlação entre e o tempo de uso de ITRN timidínicos e a presença de mutações específicas. Duoterapia inicial é fator de risco para a ocorrência de TAMs e o maior número de esquemas e de ARVs utilizados são fatores de risco para o acúmulo de mutações na TR e PR.

REFERÊNCIAS

ALEXANDER, C. S. et al. Prevalence and response to antiretroviral therapy of non-B subtypes of HIV in antiretroviral-naive individuals in British Columbia. **Antiviral Therapy**, London, v. 7, p. 31-5, 2002.

ALTMANN, A. et al. **Geno2Pheno**. Cologne, 2000. Disponível em : www.geno2pheno.org. Acesso em 14 Jun 2007.

ANRS AC11 Resistance Study Group. **PCR and sequencing procedures:HIV-1**. Paris, 2005. Disponível em: <http://www.hivfrenchresistance.org/tab2005.html>. Acesso 2 Fev. 2009.

BACHELER, L. T. et al. Human immunodeficiency virus type 1 mutations selected in patients failing efavirenz combination therapy. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 44, p. 2475-84, 2000.

BAHIA, F. et al. Evaluation of the Genotypic Pattern of HIV-1 Resistance in AIDS Patients Failing Antiretroviral Therapy. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador, v. 8, n. 4, p. 281-89, 2004.

BANGSBERG, D. R. et al. Adherence–resistance relationships for protease and non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors explained by virological fitness. **AIDS**, London and Philadelphia, v. 20, p. 223-31, 2006.

BANNISTER, W. P. et al. EuroSIDA Study Group. HIV-1 subtypes and response to combination antiretroviral therapy in Europe. **Antiviral Therapy**, London, v. 11, n. 6, p. 707-15, 2006.

BAXTER, J. D. et al. Genotypic changes in human immunodeficiency virus type 1 protease associated with reduced susceptibility and virologic response to the protease inhibitor tipranavir. **Journal of Virology**, Washington, v. 80, p. 10794–801, 2006.

BLACKARD, J. T. et al. Human immunodeficiency virus superinfection and recombination: current state of knowledge and potential clinical consequences. **Clinical Infectious Diseases**, Boston, v. 34, p. 1108-14, 2002.

BOCKET, L. et al. Impact of human immunodeficiency virus type 1 subtype on first-line antiretroviral therapy effectiveness. **Antiviral Therapy**, London, v. 10, p. 247-54, 2005.

BOYER, P. L. et al. Analysis of nonnucleoside drug-resistant variants of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase. **Journal of Virology**, Washington, v. 67, p. 2412-20, 1993.

BRENNER, B. G. et al. A V106M mutation in HIV-1 clade C viruses exposed to efavirenz confers crossresistance to non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. **AIDS** London and Philadelphia, v. 17, p. F1–F5, 2003.

BRENNER, B. G. et al. HIV-1 subtype C viruses rapidly develop K65R resistance to tenofovir in cell culture. **AIDS**, London and Philadelphia, v. 20, n. 9, p. F9-F13, 2006.

BRINDEIRO, R. M. et al. Brazilian Network for HIV Drug Resistance Surveillance (HIV-BResNet): a survey of chronically infected Individuals. **AIDS**, London and Philadelphia, v. 17, p. 1063–69, 2003.

CARIDE, E. et al. Drug-resistant reverse transcriptase genotyping and phenotyping of B and non-B subtypes (F and A) of human immunodeficiency virus type I found in Brazilian patients failing HAART. **Virology**, Hoboken, v. 275, p. 107-115, 2000.

CARIDE, E. et al. Genotypic and phenotypic evidence of different drug-resistance mutation patterns between B and non-B subtype isolates of human immunodeficiency virus type 1 found in Brazilian patients failing HAART. **Virus genes**, New York, v. 23, n. 2, p. 193-202, 2001.

CAVALCANTI, A. M. et al. Antiretroviral resistance in individuals presenting therapeutic failure and subtypes of the human immunodeficiency virus type 1 in the Northeast Region of Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 102, n. 7, p. 785-92, 2007.

CERQUEIRA, D. M. et al. Antiretroviral resistance and genetic diversity of human immunodeficiency virus type 1 isolates from the Federal District, Central Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 99, n. 8, p. 877-82, 2004.

CHAMPENOIS, K. et al. Natural polymorphisms in HIV-1 protease: impact on effectiveness of a first-line lopinavir-containing antiretroviral therapy regimen. **Journal of Medical Virology**, Hoboken, v. 80, n. 11, p. 1871-9, 2008.

CLAVEL, F.; HANCE, A. J. HIV drug resistance. **New England Journal of Medicine**, Boston, v. 350, p. 1023-35, 2004.

COFFIN, J. M. HIV population dynamics *in vivo*: implications for genetic variation, pathogenesis and therapy. **Science**, Washington, v. 267, p. 483-9, 1995.

CONDRA, J. H. et al. In vivo emergence of HIV-1 variants resistant to multiple protease inhibitors. **Nature**, London and Washington, v. 374, p. 569-71, 1995.

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. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 100, n. 1, p. 73-78, 2005.

COSTAGLIOLA, D. et al. Prevalence of HIV-1 drug resistance in treated patients: a French nationwide study. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, Philadelphia, v. 46, n. 1, p. 12-18, 2007.

[D'AQUILA, R. T. et al.](#) Update on Drug Resistance Mutations in HIV-1 - International AIDS Society–USA Resistance Mutations Project Panel. **Topics in HIV Medicine**, San Francisco, v. 9, n. 2, p. 31-33, 2001.

[D'AQUILA, R. T. et al.](#) Update on Drug Resistance Mutations in HIV-1 - International AIDS Society–USA Resistance Mutations Project Panel. **Topics in HIV Medicine**, San Francisco, v. 9, n. 6, p. 21-23, 2001.

[D'AQUILA, R. T. et al.](#) [Drug](#) resistance mutations in HIV-1 **Topics in HIV Medicine**, San Francisco, v. 10, n. 2, p. 11-15, 2002.

[D'AQUILA, R. T. et al.](#) [Drug](#) resistance mutations in HIV-1 **Topics in HIV Medicine**, San Francisco, v. 10, n. 5, p. 21-25, 2002.

[D'AQUILA, R. T. et al.](#) [Drug](#) resistance mutations in HIV-1. **Topics in HIV Medicine**, San Francisco, v. 11, n. 3, p. 92-6, 2003.

DEFORCHE et al. Bayesian network analyses of resistance pathways against HIV-1 protease inhibitors. **Infection, Genetics and Evolution**, Saint Louis, v.7, p. 382-90, 2007.

DEFORCHE et al. Bayesian network analyses of resistance pathways against efavirenz and nevirapine. **AIDS**, London and Philadelphia, v. 22, p. 2107-15, 2008.

DE MEYER S, et al. TMC114, a novel human immunodeficiency virus type 1 protease inhibitor active against protease inhibitor-resistant viruses, including a broad range of clinical isolates. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 49, p. 49:2314–21, 2005.

DE MEYER, S. et al. Phenotypic and genotypic determinants of resistance to TMC114: pooled analysis of POWER 1, 2, and 3. **Antiviral Therapy**, London, v. 11, p. S83, 2006.

DE SA-FILHO. D. J. et al. HIV type 1 pol gene diversity and antiretroviral drug resistance mutations in Santos, Brazil. **AIDS Research and Human Retroviruses**, New Rochelle, v. 24, n. 3, p. 347-53, 2008.

DESCAMPS, D. et al. Repeated HIV-1 resistance genotyping external quality assessments improve virology laboratory performance. **Journal of Medical Virology**, Hoboken, v. 78, p. 153-60, 2006.

DIAZ, R. S. **Orientações para o manuseio de teste de resistência anti-retroviral no paciente infectado pelo HIV**. São Paulo: Editora Europa Press, 2006.

DI GIAMBENEDETTO, S. et al. Declining prevalence of HIV-1 drug resistance in treatment-failing patients: a clinical cohort study. **Antiviral Therapy**, London, v. 12, n. 5, p. 835-9, 2007.

DOUALLA-BELL, F. et al. High prevalence of the K65R mutation in human immunodeficiency virus type 1 subtype C isolates from infected patients in Botswana treated with didanosine-based regimens. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 50, p. 4182-5, 2006.

DUMANS, A. T. et al. Synonymous genetic polymorphisms within Brazilian Human Immunodeficiency Virus Type 1 Subtypes may influence mutational routes to drug resistance. **Journal of Infectious Diseases**, Boston, v. 189, p. 1232–38, 2004.

DUMANS, A. T. et al. Distinct resistance mutation and polymorphism acquisition in HIV-1 protease of subtypes B and F1 from children and adult patients under virologic failure. **Infection, Genetics and Evolution**, Saint Louis, v. 9, p. 62–70, 2009.

ESHLEMAN, S. H. et al. Sensitivity and specificity of the ViroSeq human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) genotyping system for detection of HIV-1 drug resistance mutations by use of an ABI PRISM 3100 genetic analyzer. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 43, p.813–7, 2005.

FRATER, A. J. et al. Impact of baseline polymorphisms in RT and protease on outcome of highly active antiretroviral therapy in HIV-1-infected African patients. **AIDS**, London and Philadelphia, v. 15, p. 1493-502, 2001.

GALE, H. B. et al. Performance of the TruGene HIV-1 Genotyping Kit and OpenGene DNA Sequencing System on Clinical Samples Diluted to Approximately 100 Copies per Milliliter. **Clinical and Vaccine Immunology**, Washington, v. 13, n. 2, p. 235-8, 2006.

GALLEGO, O. et al. Rate of virological treatment failure and frequencies of drug resistance genotypes among human immunodeficiency virus-positive subjects on antiretroviral therapy in Spain. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 40, n. 10, p. 3865-6, 2002.

GONZALES, M. J.; MACHEKANO, R. N.; SHAFER, R. W. Human immunodeficiency virus type 1 reverse-transcriptase and protease subtypes: classification, amino acid mutation patterns, and prevalence in a Northern California clinic-based population. **Journal of Infectious Diseases**, Boston, v. 184, p. 998–1006, 2001.

GROSSMAN, Z. et al. Genotypic variation of HIV-1 reverse transcriptase and protease: comparative analysis of clade C and clade B. **AIDS** London and Philadelphia, v. 15, p. 1453-60, 2001.

GROSSMAN, Z. et al. Genetic variation at NNRTI resistance-associated positions in patients infected with HIV-1 subtype C. **AIDS** London and Philadelphia, v. 18, p. 909-15, 2004.

GROSSMAN, Z. et al. Mutation D30N is not preferentially selected by human immunodeficiency virus type 1 subtype C in the development of resistance to nelfinavir. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 48, p. 2159-65, 2004.

HAHN, B. H. et al. Molecular cloning and characterization of the HTLV-III virus associated with AIDS. **Nature**, London and Washington, v. 312, p. 166–169, 1984.

HAMMER, S. M. et al. Treatment for Adult HIV Infection. 2008 Recommendations of the International AIDS Society–USA Panel. **Journal of American Medical Association**, Chicago, v. 300, n. 5, p.555-70, 2008.

HARRIGAN, P. R. et al. HIV-1 Drug Resistance: degree of underestimation by a cross-sectional versus a longitudinal testing approach. **Journal of Infectious Diseases**, Boston, v. 191, p. 1325–30, 2005.

HATANO, H. et al. Rate of Viral Evolution and Risk of Losing Future Drug Options in Heavily Pretreated, HIV-Infected Patients Who Continue to Receive a Stable, Partially Suppressive Treatment Regimen. **Clinical Infectious Diseases**, Boston, v. 43, p.1329-36, 2006.

HEMELAAR, J. et al. Global and regional distribution of HIV-1 genetic subtypes and recombinants in 2004. **AIDS**, London and Philadelphia, v. 20, n. 16, p. W13-W23, 2006.

HIRSCH, M. S. et al. Antiretroviral Drug Resistance Testing in Adults with HIV Infection: Implications for Clinical Management. **Journal of the American Medical Association**, Chicago, v. 279, n. 24, p. 1984–91, 1998.

HIRSCH, M. S. et al. Antiretroviral Drug Resistance testing in Adult HIV-1 Infection: Recommendations of an International AIDS Society-USA Panel. **Journal of the American Medical Association**, Chicago, v. 283, n. 18, p. 2417–26, 2000.

HIRSCH, M. S. et al. Antiretroviral Drug Resistance testing in Adult HIV-1 Infection: Recommendations of an International AIDS Society-USA Panel. **Clinical Infectious Diseases**, Boston, v. 37, p. 113–28, 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. et al. The emerging genetic diversity of HIV. The importance of global surveillance for diagnostics, research, and prevention. **Journal of American Medical Association**, Chicago, v. 275, p. 210-6, 1996.

JAGODZINSKI, L. L. et al. Performance characteristics of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) genotyping systems in sequence-based analysis of subtypes other than HIV-1 subtype B. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 41, n. 3, p. 998-1003, 2003.

JOHNSON, V. A. et al. International AIDS Society-USA Drug Resistance Mutations Group. [Drug](#) resistance mutations in HIV-1. **Topics in HIV Medicine**, San Francisco, v. 11, n. 6, p. 215-21, 2003.

JOHNSON, V. A. et al. Update of the drug resistance mutations in HIV-1: 2004. **Topics in HIV Medicine**, San Francisco, v. 12, n. 4, p. 119-24, 2004.

JOHNSON, V. A. et al. Update of the drug resistance mutations in HIV-1: 2005. **Topics in HIV Medicine**, San Francisco, v. 13, n. 4, p. 51-7, 2005.

JOHNSON, V. A. et al. Update of the drug resistance mutations in HIV-1: Fall 2005. **Topics in HIV Medicine**, San Francisco, v. 13, n. 4, p. 125-3, 2005.

JOHNSON, V. A. et al. Update of the drug resistance mutations in HIV-1: Fall 2006. **Topics in HIV Medicine**, San Francisco, v. 14, n. 3, p. 125-30, 2006.

JOHNSON, V. A. et al. Update of the drug resistance mutations in HIV-1: 2007. **Topics in HIV Medicine**, San Francisco, v. 15, n. 4, p. 119-25, 2007.

JOHNSON, V. A. et al. Update of the Drug Resistance Mutations in HIV-1: Spring 2008. **Topics in HIV Medicine**, San Francisco, v. 16, n. 1, p. 62-8, 2008.

JOHNSON, V. A. et al. Update of the drug resistance mutations in HIV-1: December 2008. **Topics in HIV Medicine**, San Francisco, v. 16, n. 5, p. 138-45, 2008.

JOHN-STEWART, G. C. et al. Subtype C is associated with increased vaginal shedding of HIV-1. **Journal of Infectious Diseases**, Boston, v. 192, p. 492-6, 2005.

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.

KANTOR, R. et al. Impact of HIV-1 Subtype and Antiretroviral Therapy on Protease and Reverse Transcriptase Genotype: Results of a Global Collaboration. **PLOS Medicine**, San Francisco and Cambridge, v. 2, n. 4, p. 325-337, 2005.

KORBER, B. et al. Evolutionary and immunological implications of contemporary HIV-1 variation. **British Medical Bulletin**, Oxford, v. 58, p. 19-42, 2001.

KORBER, B. et al. Human retrovirus and AIDS: a compilation and analysis of nucleic and amino acid sequences. Los Alamos, NM: **Los Alamos National Laboratory**, 1997. Disponível em: <<http://www.hiv.lanl.gov/content/hiv-db>> Acesso em: 05 dez. 2006.

KUIKEN, C. L. et al. Human retrovirus and AIDS: a compilation and analysis of nucleic and amino acid sequences. Los Alamos, NM: **Los Alamos National Laboratory**, 1998. Disponível em: <<http://www.hiv.lanl.gov/content/hiv-db>> Acesso em: 05 dez. 2006.

KUIKEN, C. L. et al. Human retrovirus and AIDS: a compilation and analysis of nucleic and amino acid sequences. Los Alamos, NM: **Los Alamos National Laboratory**, 1999. Disponível em: <<http://www.hiv.lanl.gov/content/hiv-db>> Acesso em: 05 dez. 2006.

KUIKEN, C. L. et al. Human retrovirus and AIDS: a compilation and analysis of nucleic and amino acid sequences. Los Alamos, NM: **Los Alamos National Laboratory**, 2000. Disponível em: <<http://www.hiv.lanl.gov/content/hiv-db>> Acesso em: 05 dez. 2006.

KUIKEN, C. L. et al. Human retrovirus and AIDS: a compilation and analysis of nucleic and amino acid sequences. Los Alamos, NM: **Los Alamos National Laboratory**, 2001. Disponível em: <<http://www.hiv.lanl.gov/content/hiv-db>> Acesso em: 05 dez. 2006.

KUIKEN, C. L. et al. Human retrovirus and AIDS: a compilation and analysis of nucleic and amino acid sequences. Los Alamos, NM: **Los Alamos National Laboratory**, 2002. Disponível em: <<http://www.hiv.lanl.gov/content/hiv-db>> Acesso em: 05 dez. 2006.

LACERDA, H. R. et al. Comparison of the epidemiology, profile of mutations, and clinical response to antiretrovirals among subtypes B and F of the human immunodeficiency virus type 1. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 102, n. 6, p. 693-9, 2007.

LARDER B. A., DARBY G., RICHMAN D. HIV with reduced sensitivity to zidovudine (AZT) isolated during prolonged therapy. **Science**, Washington, v. 243, p. 1731-4, 1989.

LARDER B. A., KEMP S. D. Multiple mutations in HIV-1 reverse transcriptase confer high-level resistance to Zidovudine (AZT). **Science**, Washington, v. 246, p. 1155-8, 1989.

LARDER, B. A., KEMP, S. D., HARRIGAN, P. R. Potential mechanism for sustained antiretroviral efficacy of AZT-3TC combination therapy. **Science**, Washington, v. 269, p. 696-9, 1995.

LAZZARIN, A. et al. Efficacy and safety of TMC125 (etravirine) in treatment-experienced HIV-1-infected patients in DUET-2: 24-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. **Lancet**, London, v. 370, n. 9581, p. 39-48, 2007.

LEDERGERBER, B. et al. Clinical progression and virological failure on highly active antiretroviral therapy in HIV-1 patients: a prospective cohort study. **Lancet**, London, v. 353, p. 863-8, 1999.

LEITNER, T. et al. Human retrovirus and AIDS: a compilation and analysis of nucleic and amino acid sequences. Los Alamos, NM: **Los Alamos National Laboratory**, 2003. Disponível em: <<http://www.hiv.lanl.gov/content/hiv-db>> Acesso em: 05 dez. 2006.

LEITNER, T. et al. HIV sequence compendium 2005. Los Alamos, NM: Theoretical Biology and Biophysics Group. **Los Alamos National Laboratory**, 2005. Disponível em: <<http://www.hiv.lanl.gov/content/hiv-db>> Acesso em: 20 jun. 2007.

LIU, T. F.; SHAFER, R. W. Web Resources for HIV Type 1 Genotypic-Resistance Test Interpretation. **Clinical Infectious Diseases**, Boston, v. 42, p.1608-18, 2006.

LOHSE, N. et al. Declining prevalence of HIV-infected individuals at risk of transmitting drug-resistant HIV in Denmark during 1997-2004. **Antiviral Therapy**, London, v. 11, n. 5, p. 591-600, 2006.

MEDEIROS, M. S. et al. Genotype testing and antiretroviral resistance profiles from HIV-1 patients experiencing therapeutic failure in northeast Brazil. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador, v. 11, n. 4, p. 390-4, 2007.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Projeto de Implantação de uma Rede Nacional para Genotipagem do HIV-1 (RENAGENO) em Pacientes com Falha Terapêutica aos Anti-retrovirais - 2001**: Programa Brasileiro de DST/AIDS, Brasília 2002. Disponível em: <<http://aids.gov.br/data/documents/storedDocuments>> Acesso: 12 jun. 2007.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Experiência do Programa Brasileiro de AIDS**: Revista Resposta +. Programa Brasileiro de DST/AIDS, Brasília 2008. Disponível em: <<http://aids.gov.br/data/documents/storedDocuments>> Acesso: 02 fev. 2009.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Interpretação Brasileira do Teste de Genotipagem. Versão 9- Agosto/08**: Programa Brasileiro de DST/AIDS, Brasília 2008. Disponível em: <<http://aids.gov.br/data/documents/storedDocuments>> Acesso: 02 fev. 2009.

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.

MYERS, G. et al. Human retrovirus and AIDS: a compilation and analysis of nucleic and amino acid sequences. Los Alamos, NM: **Los Alamos National Laboratory**, 1994. Disponível em: <<http://www.hiv.lanl.gov/content/hiv-db>> Acesso em: 05 dez. 2006.

MYERS, G. et al. Human retrovirus and AIDS: a compilation and analysis of nucleic and amino acid sequences. Los Alamos, NM: **Los Alamos National Laboratory**, 1995. Disponível em: <<http://www.hiv.lanl.gov/content/hiv-db>> Acesso em: 05 dez. 2006.

MYERS, G. et al. Human retrovirus and AIDS: a compilation and analysis of nucleic and amino acid sequences. Los Alamos, NM: **Los Alamos National Laboratory**, 1996. Disponível em: <<http://www.hiv.lanl.gov/content/hiv-db>> Acesso em: 05 dez. 2006.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH) US DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES (DHHS). **Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents**. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents., Bethesda 2008. Disponível em <http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>. Acesso em: 21 dez. 2008.

NAPRAVNIK, S. et al. Triple-class antiretroviral drug resistance: risk and predictors among HIV-1-infected patients. **AIDS**, London and Philadelphia, v. 21, n. 7, p. 825-34, 2007.

OKIE, S. Fighting HIV — Lessons from Brazil. **New England Journal of Medicine**, Boston, v. 354, p. 1977-81, 2006.

PANDIT, A. et al. HIV-1 drug resistance genotyping quality assessment: Results of the ENVA7 Genotyping Proficiency Programme. **Journal of Clinical Virology**, Glasgow, v. 43, p. 401-6, 2008.

PERELSON, A. S. et al. HIV-1 dynamics in vivo: virion clearance rate, infected cell life-span, and viral generation time. **Science**, Washington, v. 271, p. 1582-6, 1996.

PILLAY, D., et al. Estimating HIV-1 drug resistance in antiretroviral-treated individuals in the United Kingdom. **Journal of Infectious Diseases**, Boston, v. 192, p. 967–973, 2005.

RHEE, S. Y. et al. Distribution of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Protease and Reverse Transcriptase Mutation Patterns in 4,183 Persons Undergoing Genotypic Resistance Testing. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 48, p. 3122–3126, 2004.

RHEE, S. Y. et al. HIV - 1 Protease and Reverse Transcriptase Mutations: Correlations with Antiretroviral Therapy in Subtype B Isolates and Implications for Drug-Resistance Surveillance. **Journal of Infectious Diseases**, Boston, v. 192, p. 456–65, 2005.

RICHMAN, D. D. et al. Nevirapine resistance mutations of human immunodeficiency virus type 1 selected during therapy. **Journal of Virology**, Washington, v. 68, p. 1660-6, 1994.

RICHMAN, D. D. et al. The prevalence of antiretroviral drug resistance in the United States. **AIDS**, London and Philadelphia, v. 18, p. 1393–401, 2004.

RIDLER, S.A. et al. Class-Sparing Regimens for Initial Treatment of HIV-1 Infection. **New England Journal of Medicine**, Boston, v. 358, n. 20, p. 2095-106, 2008.

ROBERTS, N. A. et al. Rational design of peptide-based HIV proteinase inhibitors. **Science**, Washington, v. 248, p. 358-61, 1990.

ROBERTSON, D. L. et al. Recombination in HIV-1. **Nature**, London and Washington, v. 374, p. 124-6, 1995.

ROBERTSON, D. L. et al. HIV-1 nomenclature proposal. **Science**, Washington, v. 288, p. 55–56, 2000.

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. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 100, n. 1, p. 97-102, 2005.

SABIN, C. A. et al. Treatment exhaustion of HAART among individuals infected with HIV in the United Kingdom: multicenter cohort study. **British Medical Journal**, London, v. 330, p. 665-700, 2005.

SABINO, E. C. et al. Identification of human immunodeficiency virus type 1 envelope genes recombinant between subtypes B and F in two epidemiologically linked individuals from Brazil. **Journal of Virology**, Washington, v. 68, n. 10, p. 6340-6, 1994.

SALEMI, M. et al. Different epidemic potentials of the HIV-1B and C subtypes. **Journal of Molecular Evolution**, New York, v. 60, p. 598-605, 2005.

SCHAPIRO, J. M. et al. Clinical cross-resistance between the HIV-1 protease inhibitors saquinavir and indinavir and correlations with genotypic mutations. **AIDS**, London and Philadelphia, v. 13, p. 359-65, 1999.

SCHUURMAN, R. et al. Rapid changes in human immunodeficiency virus type 1 RNA load and appearance of drug-resistant virus populations in persons treated with lamivudine (3TC). **Journal of Infectious Diseases**, Boston, v. 171, p. 1411-9, 1995.

SCHUURMAN, R. et al. Worldwide evaluation of DNA sequencing approaches for identification of drug resistance mutations in the human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 37, p. 2291-6, 1999.

SCHUURMAN, R. et al. Underestimation of HIV Type 1 drug resistance mutations: results from the ENVA-2 Genotyping Proficiency Program. **AIDS Research and Human Retroviruses**, New Rochelle, v. 18, n. 4, p. 243-8, 2002.

SCOTT, P. et al. Surveillance of HIV antiretroviral drug resistance in treated individuals in England: 1998–2000. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, Birmingham, v. 53, p. 469–73, 2004.

SHAFER, R. W., et al. Multiple concurrent reverse transcriptase and protease mutations multidrug resistance of HIV-1 isolates from heavily treated patients. **Annals of Internal Medicine**, Philadelphia, v. 128, n. 11, p. 906-11, 1998.

SHAFER, R. W. **Genotypic Testing for HIV Drug Resistance**. Disponível em: <<http://www.hivdb.stanford.edu/modules/lookUpFiles/pdf/GenotypicResistance.pdf>> Acesso em: 02 abr. 2004.

SHAFER, R. W. et al. Stanford University HIV drug resistance database. Available at: <http://hivdb.stanford.edu/pages/asi/releaseNotes/>. Acesso em: 2 out. 2008.

SNOECK, J. et al. Discordances between interpretation algorithms for genotypic resistance to protease and reverse transcriptase inhibitors of human immunodeficiency virus are subtype dependent. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 50, p. 694-701, 2006.

SOARES E. A. et al. Epidemiologic and molecular characterization of human immunodeficiency virus type 1 in southern Brazil. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, Philadelphia, v. 34, p. 520-6, 2003.

SOARES E. A. et al. HIV-1 subtype C dissemination in southern Brazil. **AIDS**, London and Philadelphia, v. 19, s. 4, S81-S86, 2005.

SOARES E. A. et al. Differential Drug Resistance Acquisition in HIV-1 of Subtypes B and C. **PloS ONE**, San Francisco and Cambridge, v. 2, n. 8, p. e730, 2007.

SUCUPIRA, M. C. et al. Antiretroviral treatment failure and HIV-1 genotypic resistance in São Paulo, Brazil. **Antiviral Therapy**, London, v. 6, p. 263-4, 2001.

SUCUPIRA, M. C. et al. High levels of primary antiretroviral resistance genotypic mutations and B/F recombinants in Santos, Brazil. **AIDS Patient Care STDS**, New Rochele, v. 21, n. 2, p. 116-28, 2007.

TAMALET, C. et al. Resistance of HIV-1 to multiple antiretroviral drugs in France: a 6-year survey (1997-2002) based on an analysis of over 7000 genotypes. **AIDS**, London and Philadelphia, v. 17, p. 2383-88, 2003.

TANURI, A. et al. Genetic variation and susceptibilities to Protease Inhibitors among Subtype B and F isolates in Brazil. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 43, n. 2, p. 253-8, 1999.

TANURI, A. et al. Prevalence of mutations related to HIV-1 antiretroviral resistance in Brazilian patients failing HAART. **Journal of Clinical Virology**, Glasgow, v. 25, n. 1, p. 39-46, 2002.

TAYLOR, B. S., et al. The Challenge of HIV-1 Subtype Diversity. **New England Journal of Medicine**, Boston, v. 358, n. 15, p. 1590-1602, 2008.

TURAL, C. et al. Clinical utility of HIV-1 genotyping and expert advice: the Havana trial. **AIDS**, London and Philadelphia, v. 16, p. 209–18, 2002.

VAN LAETHEM, K., et al. A genotypic drug resistance interpretation algorithm that significantly predicts therapy response in HIV-1-infected patients. **Antiviral Therapy**, London, v. 7, n. 2, p. 123-9, 2002.

VELLA, S. PALMISANO, L. The Global Status of Resistance to Antiretroviral Drugs. **Clinical Infectious Diseases**, Boston, v. 41, p. S239–46, 2005.

VERCAUTEREN, J., VANDAMME, A. M. Algorithms for the interpretation of HIV-1 genotypic drug resistance information. **Antiviral Research**, Amsterdam, v. 71, p. 335-42, 2006.

VERCAUTEREN, J. et al. The incidence of multidrug and full class resistance in HIV-1 infected patients is decreasing over time (2001-2006) in Portugal. **Retrovirology**, Londres, v. 5. n. 12, p. 1-8, 2008.

VERMEIREN, H. et al. Prediction of HIV-1 drug susceptibility phenotype from the viral genotype using linear regression modeling. **Journal of Virological Methods**, Londres, v. 145, p. 47-55, 2007.

VIOLIN, M. et al. START Study: Study of antiretroviral resistance in treated patients with virological failure (START study): an Italian survey over the period 2003–2005. XV International HIV Drug Resistance Workshop; Sitges, Spain. **Antiviral Therapy**, London, S132, 2006.

WEGNER, S. A. et al. Long-Term Efficacy of Routine Acces to Antiretroviral-Resistance Testing in HIV-1 Infected Patients:Results of the Clinical Efficacy of Resistance Testing Trial. **Clinical Infectious Diseases**, Boston, v. 38, p.723-30, 2004.

VONWYL, V. et al. Emergence of HIV-1 drug resistance in previously untreated patients initiating combination antiretroviral treatment: a comparison of different regimen types. **Archives of Internal Medicine**, Chicago, v. 167, p. 1782–90, 2007.

ZACCARELLI, M. et al. Multiple drug class-wide resistance associated with poorer survival after treatment failure in a cohort of HIV infected patients. **AIDS**, London and Philadelphia, v. 19, p. 1081–89, 2005.

ZACCARELLI, M. et al. Historical resistance profile helps to predict salvage failure. **Antiviral Therapy**, London, v. 14, n. 2, p. 285-91, 2009.

ZAZZI, M. et al Evolution of the prevalence of HIV drug resistance patterns over 9 years of HAART and its relation with changes in the failing treatment regimens: an analysis of a large Italian database. XV International HIV Drug Resistance Workshop; Sitges, Spain. **Antiviral Therapy**, London, S137, 2006.

ZOLOPA, A. R. et al. Accuracy, Precision and Consistency of Expert HIV Type 1 Genotype Interpretation: An International Comparison (The GUESS Study). **Clinical Infectious Diseases**, Boston, v. 41, p. 92-99, 2005.

APÊNDICE 1 - DESCRIÇÃO DAS VARIÁVEIS DO BANCO DE DADOS DOS TESTES DE RESISTÊNCIA DOS PACIENTES ANALISADOS

CATEGORIA	VARIÁVEIS INDEPENDENTES	ESPECIFICAÇÃO
Identificação	-número do exame de genotipagem -iniciais do nome do paciente	O número do exame do paciente e as iniciais permitem a organização do banco de dados.
Sócio-demográfica e epidemiológica	-sexo -idade no momento do teste -data de nascimento	
Resultados laboratoriais	-carga viral inicial e no momento da genotipagem -contagens de CD4 inicial e no momento da genotipagem -laboratório que realizou a genotipagem -mutações presentes nos genes da transcriptase reversa (TR) e protease (PR) identificadas na genotipagem --subtipo do HIV em subgrupo da amostra	Presença de cada uma das mutações dos genes da TR e da PR, sendo que nos isolados com mistura de vírus "selvagem" com vírus mutante, o padrão mutante foi considerado; Presença de determinados conjuntos de mutações dos genes da PR e TR;
Terapias	-Antiretrovirais (ARV) utilizados. -Tempo de uso de cada ARV -ARV em uso no momento da coleta do teste de resistência; -Razão para a troca de medicamento	Os medicamentos prescritos e a duração de cada esquema são descritos. Tipo de esquema ARV utilizado inicialmente, a saber: -iniciou com IP + ITRNs -iniciou com IP "boosted" (associado a RTV) + ITRNs -iniciou com ITRNN + ITRNs -iniciou mono ou duoterapia com ITRN, seguido de esquema com IP -iniciou mono ou duoterapia com ITRN, seguido de esquema ITRNN

FONTE: TOLEDO (2006)

APÊNDICE 2 - INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS

ESTUDO DOS PERFIS GENOTÍPICO E FENOTÍPICO DO HIV-1 EM PACIENTES ATENDIDOS NO PARANÁ COM FALHA VIROLÓGICA A ANTI-RETROVIRAIS

1ª. Parte – DADOS CLÍNICOS

Número do prontuário _____ Iniciais: _____ data nascimento: ___/___/___ Idade: _____
 Sexo: _____ Ano do exame: _____
 Genotipagem realizada por : 1Renageno 2VIRCO 3GenoSURE 4Monogram
 Subtipo do HIV (PR/RT): _____ 1B 2C 3F 4mosaicos e recombinantes 9IGNORADO
 Data do 1º esquema ARV ___/___/___

Para as questões abaixo: 0 1000a30000, 1 30000a100000, 2 >100000, 8 não aferido, 9 não se aplica
 Carga viral média após a falha terapêutica com ITRN _____
 Carga viral média após a falha terapêutica com ITRNs + ITRNN _____
 Carga viral média após a falha terapêutica com ITRNs + IP _____

Para as questões abaixo: 0 >400, 1 301-400, 2 201-300, 3 151-200, 4 50-150, 5 <50, 9 não aferido
 Contagem média de CD4 inicial _____ Contagem média de CD4 no momento do teste de resistência _____

Para as questões abaixo: 1 sim 0 não
 iniciou HAART com IP + ITRNs
 iniciou HAART com IPboosted + ITRNs
 iniciou HAART com ITRNN + ITRNs
 iniciou ARV com 1 ou 2 ITRNs, seguido de HAART com IP
 iniciou ARV com 1 ou 2 ITRNs, seguido de HAART com ITRNN
 último esquema com timidínicos
 último esquema com 3TC
 último esquema continha IP
 último esquema com ddl, ABC ou TDF
 último esquema com ITRNN
 último esquema continha IP boosted

Número de antiretrovirais utilizados _____ Número de esquemas terapêuticos utilizados _____

2ª. Parte – TABELA DE MEDICAÇÕES UTILIZADAS

Uso prévio e atual das seguintes medicações: 1 sim 0 não
 Duração: 0 até 6meses, 1 7-12meses, 2 13-36meses, 3 37-60meses, 4 61-84meses, 5 85-108meses, 6 >109meses

	Uso prévio	Uso atual	Duração de uso
Zidovudina (AZT)			
Lamivudina (3TC)			
Didanosina (ddl)			
Zalcitabina (ddC)			
Estavudina (d4T)			
Abacavir (ABC)			
Tenofovir (TDF)			
Efavirenz (EFV)			
Nevirapina (NVP)			
Indinavir (IDV) ou Indinavir/ritonavir (IDV/r)			
Nelfinavir (NFV)			
Ritonavir (RTV)			
Saquinavir (SQV) ou Saquinavir/ritonavir (SQV/r)			
Amprenavir (APV) ou Amprenavir/ritonavir (APV/r)			
Atazanavir (ATV) ou Atazanavir/ritonavir (ATV/r)			
Lopinavir/ritonavir (LPV/r)			
Darunavir/ritonavir (DRV/r)			

3ª. Parte – DADOS DE GENOTIPAGEM (MUTAÇÕES)

Para as questões abaixo: 0 sim 1 não

Mutações associadas a timidínicos (TAMs): M41L__, D67N__, K70R__, L210W__, T215YF__, K219QE__

Não-TAMs: K65R__, K70EG__, L74V__, V75TM__, Y115F__, M184VI__

Mutações de multi-resistência a ITRN A62V__, V75I__, F77L__, F116Y__, Q151M__, inserção códon 69__

Mutações Acessórias ou Associadas a TAMs K43EQ__, E44AD__, V118I__, H208Y__, D218E__, H221Y__

Mutações Adicionais: D67GE__, T69DSAN__, V75AS__, K219NR__

Mutações associadas a ITRNN: A98G__, L100I__, K101EPH__, K103NSR__, V106AMI__, V108I__, V179DEFT__, Y181CIV__, Y188CHL__, G190ASE__, P225H__, F227LC__, L228R__, M230L__, K238T__.

Mutações maiores associadas a IP: D30N__, V32I__, L33F__, M46IL__, I47VA__, G48VM__, I50LV__, I54ML__, Q58E__, T74P__, L76V__, V82AFLTS__, N83D__, I84VAC__, N88DS__, L90M__

Mutações menores associadas a IP: L10FIRV__, V11I__, I13V__, G16E__, K20MRIT__, L23I__, L24I__, E34Q__, E35G__, M36IV__, K43T__, F53L__, I54VTAS__, D60E__, I62V__, L63P__, I64LMV__, A71VTI__, G73ST__, V77I__, N83D__, I85V__, L89V__, I93LM__

Número de TAMs _____

Número de mutações associadas a TAMs _____

Número de mutações para ITRNNs _____

Número de mutações maiores para IP _____

Número de mutações menores para IP _____

APÊNDICE 3 – MODELO DE PÁGINAS DO BANCO DE DADOS (MICROSOFT OFFICE ACCESS 2007 PARA WINDOWS VISTA)

The screenshot shows a Microsoft Access 2007 database form titled "Estudo de Perfis". The form is designed for data entry and is organized into several sections:

- Header:** "Estudo das Perfis Genotípico e Fenotípico do HIV-1 em Pacientes Atendidos no Paraná com Falha Viralógica a Anti-Retrovirais".
- Form Fields:**
 - Número do Prontuário
 - Iniciais do Paciente
 - Data de Nascimento
 - Sexo
 - Ano do Exame
 - Genotipagem realizada por
- Navigation Tabs:**
 - Dados Clínicos
 - Medicações Utilizadas
 - Genotipagem - Mutações ITRN
 - Genotipagem - Mutações ITRNN
 - Genotipagem - Mutações IP
- Form Fields (Clinical Data):**
 - Subtipo do HIV: Ignorada
 - Data do 1º ARV
 - Pior Estágio Clínico
 - CV Média após ITRN
 - CV Média após ITRN + ITRNN
 - CV Média após ITRN + IP
 - CD4 Médio Inicial
 - CD4 Médio Atual
- Form Fields (Medications and ARV):**
 - HAART inicial IP + ITRN
 - HAART inicial IP/rtv + ITRN
 - HAART inicial ITRNN + ITRN
 - Duoterapia seguida HAART (IP)
 - Duoterapia seguida HAART (ITRNN)
 - Último ARV com Tmidinicos
 - Último ARV com ddI, ABC ou TDF
 - Último ARV com 3TC
 - Último ARV com ITRNN
 - Último ARV com IP
 - Último ARV com IP/rtv
 - Número Total ARVs
 - Tem Fenotipagem Virtual
 - Tem Mais de uma Fenotipagem Virtual
 - Tem Mais de uma Genotipagem

FONTE: TOLEDO (2007)

Estudo de Perfil

Início Criar Dados Externos Ferramentas de Banco de Dados

Estudo de Perfil

Estudo das Perfis Genotípica e Fenotípica do HIV-1 em Pacientes Atendidos na Paraná com Falha Viroológica a Anti-Retrovirais

Número do Prontuário Iniciais do Paciente Data de Nascimento Sexo Ano do Exame Genotipagem realizada por

Dados Clínicos Medicamentos Utilizados Genotipagem - Mutações (TRN) Genotipagem - Mutações (TRNN) Genotipagem - Mutações (SP)

Medicamentos Combinados						Tempo de Uso (meses)	Uso atual	Tempo de Interrupção (meses)	Razão da Traca
-	-	-	-	-	-		<input type="checkbox"/>		
3TC	-	-	-	-	-		<input type="checkbox"/>		
ABC	-	-	-	-	-		<input type="checkbox"/>		
APV	-	-	-	-	-		<input type="checkbox"/>		
APV/RTV	-	-	-	-	-		<input type="checkbox"/>		
ATV	-	-	-	-	-		<input type="checkbox"/>		
ATV/RTV	-	-	-	-	-		<input type="checkbox"/>		
AZT	-	-	-	-	-		<input type="checkbox"/>		
d4T	-	-	-	-	-		<input type="checkbox"/>		
ddC	-	-	-	-	-		<input type="checkbox"/>		
ddI	-	-	-	-	-		<input type="checkbox"/>		
DLV	-	-	-	-	-		<input type="checkbox"/>		
DRV/RDV	-	-	-	-	-		<input type="checkbox"/>		
EFV	-	-	-	-	-		<input type="checkbox"/>		
IDV	-	-	-	-	-		<input type="checkbox"/>		
IDV/RTV	-	-	-	-	-		<input type="checkbox"/>		

Panel de Navegação

FONTE: TOLEDO (2007)

Estudo de Perfil

Início Criar Dados Externos Ferramentas de Banco de Dados

Estudo de Perfil

Estudo das Perfis Genotípica e Fenotípica do HIV-1 em Pacientes Atendidos na Paraná com Falha Viroológica a Anti-Retrovirais

Número do Prontuário: Iniciais do Paciente: Data de Nascimento: Sexo: Ano do Exame: Genotipagem realizada por:

Dados Clínicos | Medicamentos Utilizados | Genotipagem - Mutações ITRN | **Genotipagem - Mutações ITRNN** | Genotipagem - Mutações IP

41L	Não	75T	Não	20R (ITRN)	Não	189C (ITRN)	Não	219R	Não
67N	Não	75M	Não	35A	Não	188H (ITRN)	Não	221Y (ITRN)	Não
70R	Não	75A	Não	35I	Não	196E	Não	233Q	Não
210W	Não	118I	Não	30T	Não	203D	Não	228H	Não
213F	Não	65R	Não	39A	Não	208Y	Não	230L	Não
215V	Não	74V	Não	43E	Não	211K	Não	234I	Não
219Q	Não	74I	Não	43N	Não	214F	Não	245T (ITRN)	Não
219E	Não	113F	Não	43Q (ITRN)	Não	215S	Não	318F	Não
219N	Não	154V	Não	67G	Não	215C	Não	333E	Não
44A	Não	62V (ITRN)	Não	68G	Não	215D	Não	380I	Não
44D	Não	75I	Não	69A	Não	215E	Não	67N+70R+219QE	Não
69D	Não	77L	Não	100I	Não	215I	Não	41L+210W+215V	Não
69N	Não	116Y	Não	181C (ITRN)	Não	215V	Não	OUTRAS ITRN	Não
69I	Não	151M	Não	188L (ITRN)	Não	218E	Não		

Número TAMs: Número Associadas a TAMs: Número de Outras:

FONTE: TOLEDO (2007)

Estudo de Perfil

Início Criar Dados Externos Ferramentas de Banco de Dados

Estudo de Perfil

Estudo das Perfis Genotípica e Fenotípica do HIV-1 em Pacientes Atendidas no Paraná com Falha Viroológica e Anti-Retrovirais

Número do Prontuário: Iniciais do Paciente: Data de Nascimento: Sexo: Ano do Exame: Genotipagem realizada por:

Dados Clínicos | Medicamentos Utilizados | Genotipagem - Mutações ITRN | Genotipagem - Mutações ITRNN | Genotipagem - Mutações IP

101P	Não	230L (ITRNN)	Não	133M	Não
103N	Não	101E	Não	135P	Não
103S	Não	236L	Não	135T	Não
106A	Não	98G	Não	179D	Não
181C (ITRNN)	Não	98S	Não	179E	Não
188L (ITRNN)	Não	100I (ITRNN)	Não	179I	Não
188C (ITRNN)	Não	101H	Não	188I	Não
188H (ITRNN)	Não	101I	Não	221Y (ITRNN)	Não
190A	Não	101Q	Não	227L	Não
190S	Não	103R	Não	238T	Não
190E	Não	106I	Não	245T (ITRNN)	Não
190C	Não	106M	Não	253I	Não
190Q	Não	108I	Não	386I (ITRNN)	Não
225H	Não	135L	Não	OUTRAS ITRNN	Não

Número Mutações ITRNN:

FONTE: TOLEDO (2007)

Estudo de Perfil

Início: Diálogo: Dados Externos: Ferramentas de Banco de Dados

Estudo de Perfil | Estudo de Perfil II Parte

Estudo dos Perfis Genotípico e Fenotípico do HIV-1 em Pacientes Atendidos no Paraná com Falha Viroológica a Anti-Retrovirais Parte II

Número do Franquia:

Genotipagens - Mutações IP | Fenotipagem Virtual

30M	Não	84A	Não	24Q	Não	36I	Não	35D	Não	74A	Não
32I	Não	84C	Não	73C	Não	36V	Não	37D	Não	74P	Não
33F	Não	90M	Não	73S	Não	63P	Não	41K	Não	74S	Não
33V	Não	47A	Não	73T	Não	63T	Não	43Q (IP)	Não	82I	Não
46I	Não	47V	Não	73A	Não	71V	Não	43T	Não	83D	Não
46L	Não	53L	Não	78V	Não	71T	Não	45R	Não	85V	Não
48V	Não	54V	Não	88S	Não	71I	Não	48A	Não	89I	Não
48M	Não	54T	Não	88D	Não	77I	Não	55R	Não	89M	Não
50V	Não	54A	Não	10V	Não	10I	Não	58E	Não	89V	Não
50L	Não	54S	Não	10F	Não	11I	Não	60E	Não	91S	Não
82A	Não	54M	Não	10R	Não	13V	Não	61H	Não	93L	Não
82T	Não	54L	Não	30M	Não	15V	Não	61X	Não	95F	Não
82F	Não	23I	Não	20R (IP)	Não	16V	Não	62V (IP)	Não	95N	Não
82S	Não	24I	Não	30I	Não	23M	Não	66F	Não	OUTRAS	Não
84V	Não	24F	Não	20T	Não	34Q	Não	69K	Não	p	Não

Número Mutações Maiores IP | Número "FLAPS" IP | Número Outras IP

Panel de Navegação

FONTE: TOLEDO (2007)

APÊNDICE 4 – MODELO DE PLANILHA COM DADOS DAS MUTAÇÕES DOS GENES DA TR E PR (MICROSOFT OFFICE EXCEL 2007 PARA WINDOWS VISTA)

Número do Prontuário	Iniciais do Paciente	41L	67N	70R	210W	215F	215Y	219Q
6	AJS	0	1	1	0	0	1	0
17	MF	1	0	0	0	0	1	0
25	IML	0	1	1	0	0	0	0
37	ES	1	0	1	0	0	1	0

Legenda: 1 – SIM, 0 – NÃO

Esta planilha é composta por linhas contendo os dados de cada paciente da amostra e por colunas representando cada uma das mutações citadas no APÊNDICE 2.

FONTE: TOLEDO (2007)

APÊNDICE 5 – TABELAS DE CORRELAÇÃO ENTRE EXPOSIÇÃO A INIBIDORES DE PROTEASE (IP) E PRESENÇA DE MUTAÇÕES ASSOCIADAS A IP

CORRELAÇÃO ENTRE EXPOSIÇÃO AOS INIBIDORES DE PROTEASE (IP) E PRESENÇA DE MUTAÇÕES MENORES RELACIONADAS A IP – PARTE I

Mutação	Exposição ao ARV	OR	95%IC	p
L10FIRV	ATV/r	5.74	2.40-13.74	0.0000
	LPV/r	3.74	2.42-5.78	0.0000
	APV/r	3.41	1.78-6.52	0.0001
	SQV/r	2.70	1.67-4.38	0.0000
	IDV	2.48	1.71-3.59	0.0000
	SQV	2.43	1.52-3.88	0.0001
	IDV/r	2.09	1.24-3.53	0.0045
L10R	ATV/r	6.70	1.17-38.51	0.0135
L10V	ATV/r	3.34	1.49-7.48	0.0018
L10I	ATV/r	2.20	1.06-4.58	0.0302
V11I	DRV/r	32.64	2.51-424.92	0.0000
	SQV	29.10	3.35-253.01	0.0000
	SQV/r	13.20	2.54-68.58	0.0001
	APV/r	5.39	1.23-23.55	0.0120
	IDV	4.48	1.08-18.47	0.0382
K20MRIT	NFV	2.30	1.55-3.41	0.0000
	ATV/r	2.16	1.06-4.38	0.0287
	SQV	1.96	1.24-3.12	0.0035
	RTV	1.76	1.01-3.06	0.0424
	LPV/r	1.74	1.16-2.62	0.0072
K20T	ATV/r	3.07	1.08-8.73	0.0265
L23I	ATV/r	8.28	1.85-36.99	0.0009
	SQV/r	4.27	1.04-17.59	0.0281
L24I	ATV/r	5.16	1.71-15.53	0.0011
	IDV	4.67	1.63-13.35	0.0016
	RTV	3.44	1.24-9.51	0.0112
	IDV/r	2.77	1.01-7.59	0.0388
	LPV/r	2.69	1.06-6.81	0.0298
E34Q	IDV	12.47	1.69-91.76	0.0132
	SQV	11.93	1.20-118.46	0.0069
M36IV	NFV	1.65	1.12-2.41	0.0096
K43T	LPV/r	6.48	1.67-25.18	0.0019
	ATV/r	5.14	1.28-20.59	0.0099
	RTV	4.17	1.17-14.83	0.0166
	IDV	4.11	1.22-13.82	0.0224
F53L	DRV/r	38.35	3.15-467.22	0.0000
	ATV/r	7.53	2.90-19.56	0.0000
	SQV/r	4.24	1.84-9.77	0.0002
	APV/r	3.70	1.45-9.47	0.0034
	IDV/r	2.88	1.18-7.01	0.0144
I54VTAS	SQV	2.76	1.19-6.39	0.0135
	LPV/r	6.20	3.66-10.52	0.0000
	RTV	5.88	3.21-10.80	0.0000
	IDV	5.19	3.26-8.26	0.0000
	SQV/R	4.67	2.75-7.95	0.0000
	ATV/R	4.24	2.04-8.83	0.0000
	APV/r	3.04	1.61-5.76	0.0003
	SQV	2.31	1.38-3.88	0.0011
	IDV/r	2.18	1.23-3.86	0.0063
NFV	2.05	1.28-3.28	0.0021	

FONTE: TOLEDO (2009)

NOTAS: Inibidores de Protease (IP): RTV – Ritonavir, SQV – Saquinavir, IDV – Indinavir, NFV – Nelfinavir, ATV – Atazanavir, APV – Amprenavir, SQV/r – Saquinavir/ritonavir, IDV/r – Indinavir/ritonavir, ATV/r – Atazanavir/ritonavir, APV/r – Amprenavir/ritonavir, LPV/r – Lopinavir/ritonavir, DRV/r – Darunavir/ritonavir

CORRELAÇÃO ENTRE EXPOSIÇÃO AOS INIBIDORES DE PROTEASE (IP) E PRESENÇA DE MUTAÇÕES MENORES RELACIONADAS A IP – PARTE II

Mutação	Exposição ao ARV	OR	95%IC	p
I62V	NFV	1.66	1.01-2.73	0.0450
L63P	ATV/r	2.74	1.20-6.22	0.0122
	APV/r	1.91	1.00-3.62	0.0445
	SQV/r	1.79	1.10-2.91	0.0171
A71VTI	ATV/r	4.98	2.32-10.71	0.0000
	SQV/r	3.73	2.28-6.10	0.0000
	APV/r	3.20	1.73-5.91	0.0001
	SQV	2.75	1.72-4.40	0.0000
	ATV	2.72	1.32-5.59	0.0047
	RTV	2.66	1.52-4.66	0.0004
	LPV/r	2.49	1.64-3.81	0.0000
	IDV	2.41	1.62-3.57	0.0000
	IDV/r	1.97	1.17-3.31	0.0095
NFV	1.84	1.24-2.74	0.0022	
A71V	ATV/r	4.97	2.38-10.36	0.0000
	ATV	2.70	1.30-5.63	0.0057
A71T	ATV/r	3.04	1.07-8.66	0.0282
A71I	ATV	10.89	3.15-37.68	0.0000
G73ST	DRV/r	23.78	2.02-279.38	0.0002
	SQV	5.16	2.55-10.43	0.0000
	LPV/r	4.04	2.01-8.13	0.0000
	SQV/r	3.43	1.70-6.92	0.0002
	ATV/r	3.36	1.34-8.41	0.0059
	APV/r	3.02	1.32-6.87	0.0057
	IDV/r	2.94	1.47-5.90	0.0014
	RTV	2.35	1.05-5.28	0.0326
NFV	2.18	1.10-4.32	0.0216	
I85V	DRV/r	56.00	4.40-712.50	0.0000
	APV/r	6.17	2.23-17.10	0.0001
	IDV	4.11	1.58-10.69	0.0037
	ATV/r	3.99	1.23-12.99	0.0129
	SQV/r	2.77	1.03-7.39	0.0342
L89V	DRV/r	22.70	1.83-281.49	0.0004
	APV/r	7.80	2.24-27.18	0.0001
	IDV/r	5.01	1.47-17.11	0.0042
	NFV	3.67	0.95-14.10	0.0428
	SQV	3.34	0.99-11.27	0.0389

FONTE: TOLEDO (2009)

NOTAS: Inibidores de Protease (IP): RTV – Ritonavir, SQV – Saquinavir, IDV – Indinavir, NFV – Nelfinavir, ATV – Atazanavir, APV – Amprenavir, SQV/r – Saquinavir/ritonavir, IDV/r – Indinavir/ritonavir, ATV/r – Atazanavir/ritonavir, APV/r – Amprenavir/ritonavir, LPV/r – Lopinavir/ritonavir, DRV/r – Darunavir/ritonavir

CORRELAÇÃO ENTRE EXPOSIÇÃO E TEMPO DE USO DOS INIBIDORES DE PROTEASE (IP) E PRESENÇA DE MUTAÇÕES MAIORES RELACIONADAS A IP – PARTE I

Mutação	Exposição e tempo de uso do ARV	OR	95%IC	p
D30N	Exposição a NFV	17.39	4.98-60.75	0.0000
	Tempo de uso de NFV	3.32	2.45-4.50	0.0000
G48VM	Exposição a SQV	16.09	1.73-149.88	0.0010
	Tempo de uso de SQV	2.94	1.076-8.03	0.0355
	Exposição a LPV/r	9.49	1.03-87.10	0.0148
	Tempo de uso de LPV/r	4.09	1.60-10.47	0.0033
	Tempo de uso de RTV	6.52	1.71-24.90	0.0061
	Tempo de uso de SQV/r	5.67	1.87-17.22	0.0022
	Tempo de uso de APV/r	8.14	1.63-40.68	0.0106
I50V	Exposição a DRV/r	28.50	2.23-363.60	0.0001
	Exposição a APV/r	11.76	2.95-46.85	0.0000
	Tempo de uso de APV/r	20.39	5.46-76.14	0.0000
	Exposição a LPV/r	4.78	1.17-19.61	0.0162
	Tempo de uso de LPV/r	2.41	1.12-5.20	0.0252
V82ATFS	Tempo de uso de RTV	3.01	1.00-9.03	0.0489
	Exposição a IDV	8.53	4.89-14.87	0.0000
	Exposição a LPV/r	5.18	3.17-8.44	0.0000
	Tempo de uso de LPV/r	2.82	2.19-3.63	0.0000
	Exposição a RTV	4.84	2.68-8.732	0.0000
	Tempo de uso de RTV	3.28	2.29-4.69	0.0000
	Exposição a APV/r	3.87	2.07-7.23	0.0000
	Tempo de uso de APV/r	2.65	1.73-4.09	0.0000
	Exposição a ATV/r	3.34	1.62-6.88	0.0005
	Exposição a IDV/r	3.12	1.80-5.38	0.0000
	Tempo de uso de IDV/r	1.54	1.07-2.23	0.0203
I84V	Exposição a SQV	1.97	1.20-3.25	0.0065
	Exposição a SQV/r	2.99	1.81-4.96	0.0000
	Tempo de uso de SQV/r	1.64	1.22-2.21	0.0010
	Exposição a SQV/r	6.73	3.30-13.73	0.0000
	Tempo de uso de SQV/r	3.00	1.91-4.72	0.0000
90M	Exposição a IDV	3.96	1.93-8.15	0.0001
	Exposição a RTV	3.60	1.69-7.67	0.0004
	Tempo de uso de RTV	1.94	1.13-3.35	0.0171
	Exposição a APV/r	3.44	1.54-7.66	0.0013
	Tempo de uso de APV/r	3.92	2.04-7.54	0.0000
	Exposição a LPV/r	2.67	1.37-5.22	0.0028
	Tempo de uso de LPV/r	1.94	1.32-2.84	0.0007
	Exposição a SQV	2.08	1.02-4.23	0.0394
	Exposição a LPV/r	1.87	1.21-2.89	0.0042
	Tempo de uso de LPV/r	1.54	1.21-1.95	0.0004
90M	Exposição a IDV/r	2.09	1.22-3.57	0.0058
	Exposição a IDV	2.23	1.46-3.40	0.0001
	Exposição a RTV	2.49	1.41-4.40	0.0011
	Tempo de uso de RTV	1.93	1.37-2.71	0.0002
	Exposição a NFV	2.55	1.66-3.92	0.0000
	Tempo de uso de NFV	1.44	1.20-1.73	0.0001
	Exposição a ATV/r	2.67	1.31-5.46	0.0050
	Exposição a APV/r	3.36	1.81-6.21	0.0000
	Tempo de uso de APV/r	2.17	1.44-3.27	0.0002
	Exposição a SQV	3.66	2.24-5.97	0.0000
	Tempo de uso de SQV	1.97	1.53-2.55	0.0000
	Exposição a SQV/r	4.41	2.66-7.30	0.0000
	Tempo de uso de SQV/r	1.95	1.47-2.59	0.0000

FONTE: TOLEDO (2009)

NOTAS: Inibidores de Protease (IP): RTV – Ritonavir, SQV – Saquinavir, IDV – Indinavir, NFV – Nelfinavir, ATV – Atazanavir, APV – Amprenavir, SQV/r – Saquinavir/ritonavir, IDV/r – Indinavir/ritonavir, ATV/r – Atazanavir/ritonavir, APV/r – Amprenavir/ritonavir, LPV/r – Lopinavir/ritonavir, DRV/r – Darunavir/ritonavir

**CORRELAÇÃO ENTRE EXPOSIÇÃO E TEMPO DE USO DOS INIBIDORES DE PROTEASE (IP) E
PRESENÇA DE MUTAÇÕES MAIORES RELACIONADAS A IP – PARTE II**

Mutação	Exposição e tempo de uso do ARV	OR	95%IC	P
M46IL	Exposição a APV/r	5.15	2.72-9.72	0.0000
	Tempo de uso de APV/r	3.68	2.41-5.61	0.0000
	Exposição a IDV	4.20	2.63-6.71	0.0000
	Exposição a LPV/r	3.73	2.35-5.92	0.0000
	Tempo de uso de LPV/r	2.48	1.94-3.17	0.0000
	Exposição a ATV/r	3.46	1.68-7.12	0.0003
	Tempo de uso de ATV/r	2.38	1.26-4.50	0.0076
	Exposição a IDV/r	2.79	1.63-4.80	0.0001
	Tempo de uso de IDV/r	1.71	1.20-2.46	0.0033
	Exposição a RTV	2.64	1.48-4.68	0.0006
	Tempo de uso de RTV	1.68	1.18-2.39	0.0037
	Exposição a SQV/r	2.21	1.34-3.63	0.0014
	Exposição a NFV	1.95	1.26-3.00	0.0020
	Exposição a SQV	1.87	1.15-3.07	0.0109
I47AV	Exposição a DRV/r	18.83	1.55-229.12	0.0013
	Exposição a LPV/r	13.71	2.90-64.81	0.0000
	Tempo de uso de LPV/r	4.92	2.58-9.35	0.0000
	Exposição a ATV/r	6.28	1.80-21.94	0.0010
	Exposição a APV/r	4.04	1.18-13.77	0.0157
	Tempo de uso de APV/r	4.97	1.65-14.95	0.0043
	Tempo de uso de RTV	3.61	1.44-9.03	0.0061
	Tempo de uso de ATV/r	8.65	1.64-45.64	0.0110
I50L	Exposição a NFV	4.80	1.00-23.61	0.0326
	Exposição a ATV	138.56	16.43-3071	0.0000
I54ML	Exposição a DRV/r	56.00	4.40-712.50	0.0000
	Exposição a APV/r	29.83	9.09-97.88	0.0000
	Tempo de uso de APV/r	86.36	33.70-221.31	0.0000
	Exposição a APV	26.35	1.52-456.62	0.0007
	Exposição a ATV/r	5.57	1.83-16.95	0.0006
	Tempo de uso de ATV/r	6.68	1.61-27.66	0.0088
	Exposição a IDV/r	4.99	1.87-13.33	0.0004
	Tempo de uso de IDV/r	2.99	1.34-6.67	0.0075
	Exposição a LPV/r	3.86	1.45-10.27	0.0036
	Tempo de uso de LPV/r	2.45	1.41-4.25	0.0014

FONTE: TOLEDO (2009)

NOTAS: Inibidores de Protease (IP): RTV – Ritonavir, SQV – Saquinavir, IDV – Indinavir, NFV – Nelfinavir, ATV – Atazanavir, APV – Amprenavir, SQV/r – Saquinavir/ritonavir, IDV/r – Indinavir/ritonavir, ATV/r – Atazanavir/ritonavir, APV/r – Amprenavir/ritonavir, LPV/r – Lopinavir/ritonavir, DRV/r – Darunavir/ritonavir

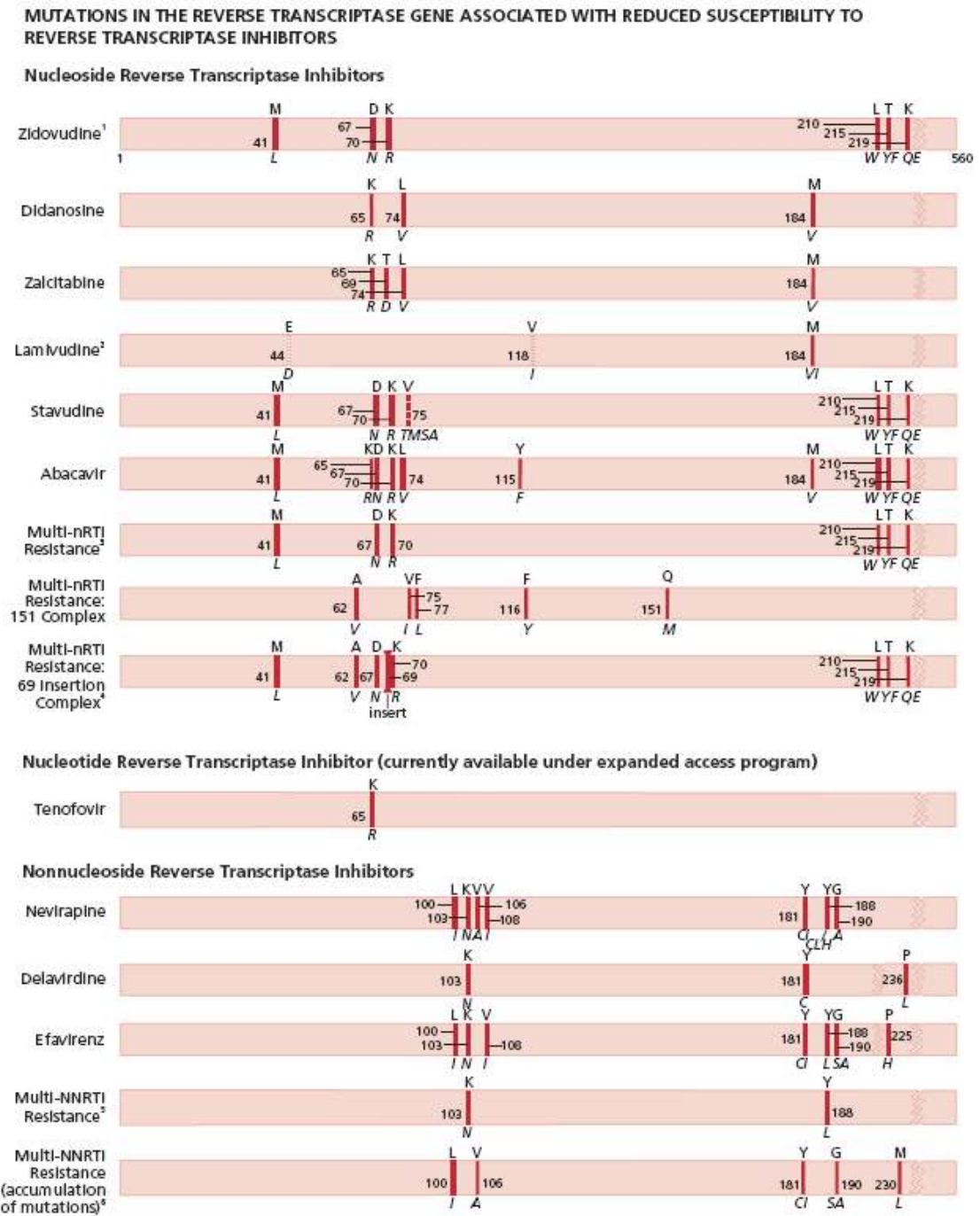
**CORRELAÇÃO ENTRE EXPOSIÇÃO E TEMPO DE USO DOS INIBIDORES DE PROTEASE (IP) E
PRESENÇA DE MUTAÇÕES MAIORES RELACIONADAS A IP – PARTE III**

Mutação	Exposição e tempo de uso do ARV	OR	95%IC	P
V32I	Exposição a DRV/r	46.84	3.76-582.79	0.0000
	Exposição a SQV	2.50	1.00-6.26	0.0421
	Exposição a IDV	2.66	1.07-6.60	0.0276
	Tempo de uso de IDV	1.53	1.04-2.25	0.0318
	Exposição a APV/r	2.85	1.00-8.22	0.0418
	Tempo de uso de APV/r	3.23	1.35-7.75	0.0085
	Exposição a ATV/r	5.97	2.11-16.87	0.0001
	Tempo de uso de ATV/r	11.48	3.067-42.99	0.0003
	Tempo de uso de APV	22.25	1.30-380.98	0.0019
L33F	Exposição a DRV/r	20.09	1.73-233.94	0.0007
	Exposição a APV/r	9.96	4.71-21.06	0.0000
	Tempo de uso de APV/r	11.62	6.25-21.60	0.0000
	Exposição a LPV/r	6.02	3.00-12.08	0.0000
	Tempo de uso de LPV/r	3.08	2.15-4.43	0.0000
	Exposição a RTV	5.04	2.48-10.27	0.0000
	Tempo de uso de RTV	3.68	2.19-6.16	0.0000
	Exposição a IDV	4.29	2.15-8.59	0.0000
	Tempo de uso de IDV	1.58	1.20-2.08	0.0011
	Exposição a ATV/r	3.39	1.42-8.11	0.0035
	Exposição a SQV/r	3.32	1.71-6.44	0.0002
	Tempo de uso de SQV/r	1.72	1.12-2.63	0.0134
	Exposição a IDV/r	2.69	1.32-5.49	0.0045
	Exposição a SQV	2.45	1.26-4.77	0.0065
Exposição a NFV	1.86	1.00-3.50	0.0490	
Q58E	Exposição a IDV	4.95	2.19-11.21	0.0001
	Exposição a APV/r	3.70	1.45-9.47	0.0034
	Tempo de uso de APV/r	2.90	1.29-6.48	0.0096
	Exposição a LPV/r	3.16	1.38-7.20	0.0039
	Tempo de uso de LPV/r	2.00	1.25-3.20	0.0038
	Exposição a NFV	3.01	1.26-7.17	0.0090
	Tempo de uso de NFV	1.51	1.05-2.17	0.0248
	Exposição a SQV/r	2.97	1.28-6.90	0.0078
	Tempo de uso de SQV/r	1.81	1.04-3.15	0.0369
	Exposição a RTV	2.92	1.15-7.36	0.0176
	Exposição a IDV/r	2.88	1.18-7.01	0.0144
	Tempo de uso de IDV/r	2.13	1.07-4.24	0.0304
Tempo de uso de APV	18.37	1.08-311.10	0.0050	
T74P	Exposição a IDV	8.04	2.11-30.65	0.0023
	Exposição a ATV	7.13	1.67-30.44	0.0019
	Tempo de uso de ATV/r	16.05	3.73-68.95	0.0002
L76V	Exposição a DRV/r	130.57	7.80-4177.99	0.0009
	Exposição a LPV/r	8.46	1.70-42.04	0.0017
	Tempo de uso de LPV/r	3.28	1.52-7.08	0.0025
	Exposição a IDV	5.66	1.15-27.88	0.0160
	Exposição a RTV	5.86	1.51-22.80	0.0038
Exposição a SQV	5.041	1.31-19.37	0.0088	
N88DS	Exposição a NFV	11.12	4.10-30.12	0.0000
	Tempo de uso de NFV	3.39	2.54-4.53	0.0000

FONTE: TOLEDO (2009)

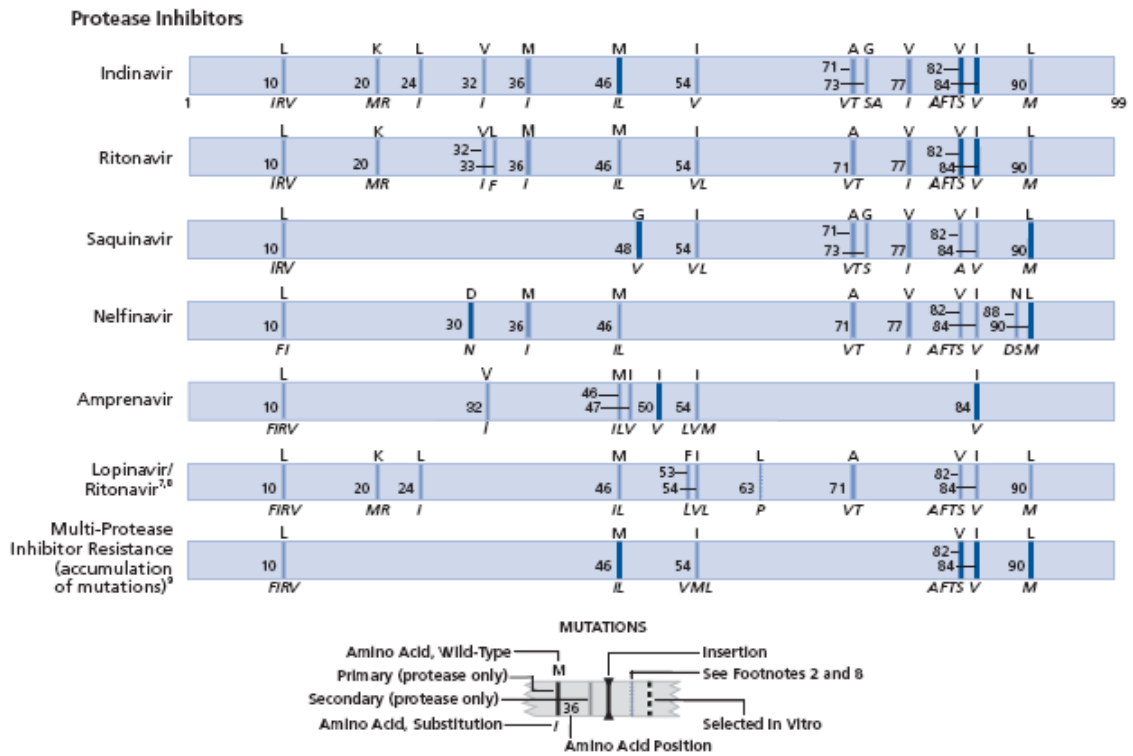
NOTAS: Inibidores de Protease (IP): RTV – Ritonavir, SQV – Saquinavir, IDV – Indinavir, NFV – Nelfinavir, ATV – Atazanavir, APV – Amprenavir, SQV/r – Saquinavir/ritonavir, IDV/r – Indinavir/ritonavir, ATV/r – Atazanavir/ritonavir, APV/r – Amprenavir/ritonavir, LPV/r – Lopinavir/ritonavir, DRV/r – Darunavir/ritonavir

ANEXO 1 - THE INTERNATIONAL AIDS SOCIETY-USA (IAS-USA) DRUG RESISTANCE MUTATIONS UPDATE - MAY/2001



FONTE: D'AQUILA (2001)

MUTATIONS IN THE PROTEASE GENE ASSOCIATED WITH REDUCED SUSCEPTIBILITY TO PROTEASE INHIBITORS



FORTE: D'AQUILA (2001)

ANEXO 2 - THE INTERNATIONAL AIDS SOCIETY-USA (IAS-USA) DRUG RESISTANCE MUTATIONS UPDATE – DECEMBER/2008

MUTATIONS IN THE REVERSE TRANSCRIPTASE GENE ASSOCIATED WITH RESISTANCE TO REVERSE TRANSCRIPTASE INHIBITORS

Nucleoside and Nucleotide Analogue Reverse Transcriptase Inhibitors (nRTIs)^a

Multi-nRTI Resistance: 69 Insertion Complex^b (affects all nRTIs currently approved by the US FDA)

	M	A	▼	K				L	T	K
	41	62	69	70				210	215	219
	L	V	Insert	R				W	Y	Q
								F	E	

Multi-nRTI Resistance: 151 Complex^c (affects all nRTIs currently approved by the US FDA except tenofovir)

	A	V	F	F	Q
	62	75	77	116	151
	V	I	L	Y	M

Multi-nRTI Resistance: Thymidine Analogue-associated Mutations^{d,e} (TAMs; affect all nRTIs currently approved by the US FDA)

	M	D	K			L	T	K
	41	67	70			210	215	219
	L	N	R			W	Y	Q
						F	E	

		K	L		Y	M		
Abacavir ^{f,g}	65	74		115	184			
	R	V		F	V			
		K	L					
Didanosine ^{g,h}	65	74						
	R	V						
		K			M			
Emtricitabine	65				184			
	R				V			
					I			
		K			M			
Lamivudine	65				184			
	R				V			
					I			
	M	D	K			L	T	K
Stavudine ^{h,i,j}	41	67	70			210	215	219
	L	N	R			W	Y	Q
						F	E	
		K	K					
Tenofovir ^h	65	70						
	R	E						
	M	D	K			L	T	K
Zidovudine ^{h,i,j}	41	67	70			210	215	219
	L	N	R			W	Y	Q
						F	E	

Nonnucleoside Analogue Reverse Transcriptase Inhibitors (NNRTIs)^{h,i}

		L	K	V	V	Y	Y	G	P	
Efavirenz	100	103	106	108	181	188	190	225		
		I	N	M	I	C	L	S	H	
						I	A			
		V	A	L	K	V	E	V	Y	M
Etravirine ^h	90	98	100	101	106	138	179	181	190	230
		I	G	I	E	I	A	D	C	S
					H			F	I	A
					P			T	V	A
		L	K	V	V	Y	Y	G		
Nevirapine	100	103	106	108	181	188	190			
		I	N	A	I	C	C	A		
				M		I	L	H		

FONTE: [JOHNSON \(2008\)](#).

MUTATIONS IN THE PROTEASE GENE ASSOCIATED WITH RESISTANCE TO PROTEASE INHIBITORS^{1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42,43,44,45,46,47,48,49,50,51,52,53,54,55,56,57,58,59,60,61,62,63,64,65,66,67,68,69,70,71,72,73,74,75,76,77,78,79,80,81,82,83,84,85,86,87,88,89,90,91,92,93,94,95,96,97,98,99,100}

Atazanavir +/- ritonavir ¹	L	G	K	L	V	L	E	M	M	G	I	F	I	D	I	I	A	G	V	I	I	N	L	I
	10	16	20	24	32	33	34	36	46	48	50	53	54	60	62	64	71	73	82	84	85	88	90	93
	I	E	R	I	I	I	Q	I	I	V	L	L	L	E	V	L	V	C	A	V	V	S	M	L
	F		M		F			V	L		Y	V	M			M	I	S	T	T				
	V																							
	C		T	V							A								I				M	
Darunavir/ ritonavir ²	V			V	L				I		I						T	L		I		L		
	11			32	33				47		50		54				74	76		84		89		
	I			I	F				V		V		M				P	V		V		V		
Fosamprenavir/ ritonavir ³	L			V					M	I		I					G	L	V	I		L		
	10			32					46	47		50		54			73	76	82	84		90		
	F			I					I	V		V		L			S	V	A	V		M		
	R								L					V					P	F				
	V													M					S	T				
Indinavir/ ritonavir ⁴	L	K	L	V	M				M		I			A	G	L	V	V	I		L			
	10	20	24	32	36				46		54			71	73	76	77	82	84		90			
	I	M	I	I	I				L		V			V	S	V	I	A	V		M			
	R	R												T	A			E						
Lopinavir/ ritonavir ⁵	L	K	L	V	L				M	I		I	F	I	L	A	G	L	V	I	L			
	10	20	24	32	33				46	47		50	53	54	63	71	73	76	82	84		90		
	F	M	I	I	F				I	V		V	L	V	P	V	S	V	A	V		M		
	R	R							L	A				L		T			F					
	V													S					T					
Nelfinavir⁶	L		D		M				M					A		V	V	I	N	L				
	10		30		36				46					71		77	82	84	88	90				
	F		N		I				I					V		I	A	V	D	M				
	I								L					T		F		S	S					
Saquinavir/ ritonavir ⁷	L	L							G		I			I	A	G	V	V	I	L				
	10	24							48		54		62	71	73	77	82	84	90					
	I	I							V		V		V	V	S	I	A	V	M					
	R										L			T		F								
	V																							
Tipranavir/ ritonavir ⁸	L	I	K	L	E	M		K	M	I		I	Q	H	T	V	N	I	L					
	10	13	20	33	35	36		43	46	47		54	58	69	74	82	83	84	90					
	V	V	R	F	G	I		T	L	V		A	E	K	P	L	D	V	M					
												M												
												V												

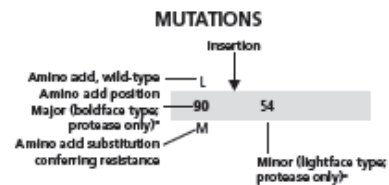
MUTATIONS IN THE ENVELOPE GENE ASSOCIATED WITH RESISTANCE TO ENTRY INHIBITORS

Enfuvirtide⁹	G	I	V	Q	Q	N	N
	36	37	38	39	40	42	43
	D	V	A	R	H	T	D
	S		M		E		
Maraviroc¹⁰	See User Note						

MUTATIONS IN THE INTEGRASE GENE ASSOCIATED WITH RESISTANCE TO INTEGRASE INHIBITORS

Raltegravir¹¹	Y	Q	N
	143	148	155
	R	H	H
	H	K	
	C	R	

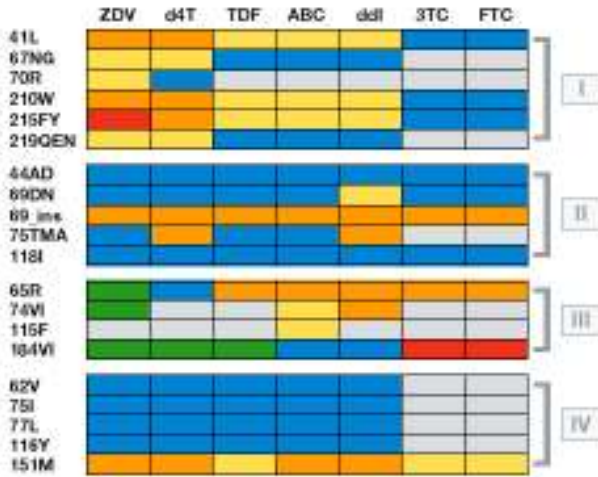
Amino acid abbreviations: A, alanine; C, cysteine; D, aspartate; E, glutamate; F, phenylalanine; G, glycine; H, histidine; I, isoleucine; K, lysine; L, leucine; M, methionine; N, asparagine; P, proline; Q, glutamine; R, arginine; S, serine; T, threonine; V, valine; W, tryptophan; Y, tyrosine.



FONTE: [JOHNSON \(2008\)](#).

ANEXO 3 – STANFORD UNIVERSITY HIV DRUG RESISTANCE DATABASE –
(SEPTEMBER 2005)
MUTAÇÕES DE IMPORTÂNCIA CLÍNICA ASSOCIADAS A CADA CLASSE DE ARV

NRTIs

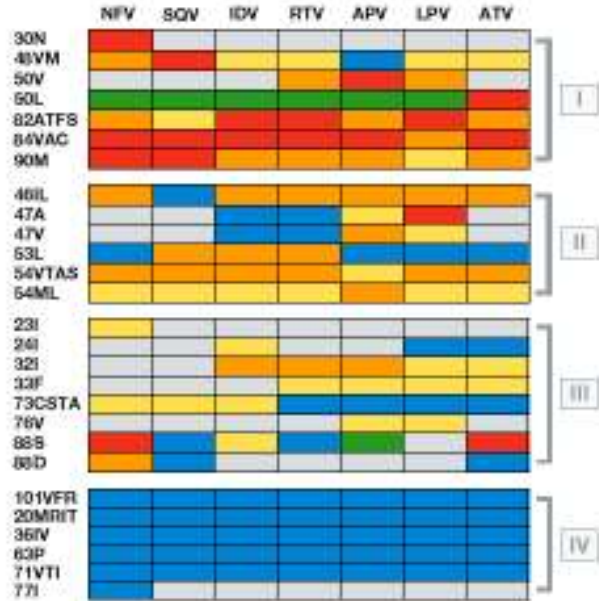


Footnotes:

- I. Thymidine analogue mutations (TAMs). These mutations are selected predominantly by the thymidine analogues ZDV and d4T but cause cross-resistance to other NRTIs. They promote the unblocking of NRTI-terminated virus DNA chains. They are non-polymorphic. T215S/G/D/E/Y are transitional mutations that do not cause resistance by themselves but usually indicate evolution from a virus that once contained T215F/Y.
- II. TAMs-associated mutations. These mutations generally occur in combination with TAMs. E44D and V118I are polymorphic, occurring in 2% of untreated persons.
- III. Discriminatory mutations. These mutations prevent the addition of NRTIs to the growing viral DNA chain.
- IV. Q151M pathway mutations. These mutations nearly always accompany the multi-NRTI-resistant mutation Q151M.

Abbreviations: 3TC, lamivudine; ABC, abacavir; FTC, emtricitabine; d4T, stavudine; ddI, didanosine; TDF, tenofovir; ZDV, zidovudine

PIs



Footnotes:

- I. "Major" mutations. With the exception of L90M, these mutations are in the substrate cleft. Each by itself is capable of reducing susceptibility to one or more PIs. With the exception of V82I, which does not cause drug resistance, mutations at these positions are non-polymorphic in that they do not occur in PI-naïve persons.
- II. "Flap" mutations. These mutations are in the protease flap and are second in importance only to the "Major" mutations. Some may cause resistance by themselves, but these mutations are more often accessory. They are also non-polymorphic.
- III. Other non-polymorphic PI-resistance mutations. These mutations indicate past PI exposure. Several cause resistance by themselves but more often they are accessory.
- IV. With the exception of L10F, these mutations are polymorphic. They contribute to resistance only when present in combination with one or more category I-III mutations.

Abbreviations: APV, amprenavir; ATV, atazanavir; IDV, indinavir; LPV, lopinavir; NFV, nelfinavir; RTV, ritonavir; SQV, saquinavir

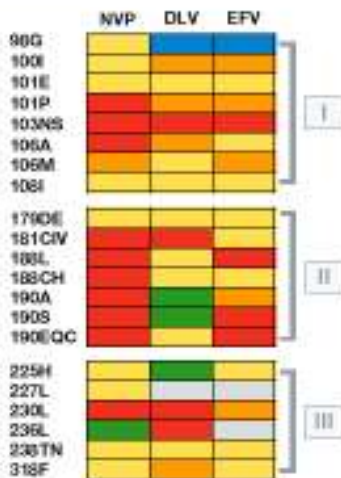
COLOR LEGEND



Last Updated: September 2005

This resource is updated at regular intervals. Please visit clinicaloptions.com/podnet to receive email bulletins advising you when revisions are available. A range of additional resources on HIV drug resistance are available at the Stanford University HIV Drug Resistance Database Web site at <http://hivdb.stanford.edu>.

NNRTIs



Footnotes:

- I. These mutations are clustered between positions 98-108.
 - II. These mutations are clustered between positions 179-195.
 - III. These mutations are clustered between positions 225-238.
- * A88S, K101R/Y, K103R, V106I, V179I, and K238R are polymorphic substitutions that have little if any effect on drug resistance with the following possible exception: K103R may slightly increase the level of resistance to each of the NNRTIs when present with V179D.

Abbreviations: DLV, delamanid; EFV, efavirenz; NVP, nevirapine

FONTE: SHAFER (2005) - STANFORD UNIVERSITY HIV DRUG RESISTANCE DATABASE, <http://hivdb.stanford.edu>

Integrase inhibitor (raltegravir and elvitegravir) mutations

65	92	121	138	140	143	147	149	153	155	157	203
T	E	F	E	D	Y	S	Q	S	N	E	R
Raltegravir [†]	Q	Y	AK	AS	CH-R	G	HRK		HS	Q	
Elvitegravir [‡]	I	Q	Y	AK	AS	nl/a	G	HRK	Y	HS	Q

LEGEND: (NI= resistance mutations selected in persons receiving integrase (O Huzaba HIVDRW 2007, 1 Model AAC 2006) or elvitegravir (D McCall HIVDRW 2007) are characterized for *in vitro* susceptibility (C Jones CSOJ 2007, D McCall HIVDRW 2007, C Ren HIVDRW 2007, N Rawley Prog Med Chem 2008). **Mutations in bold red** are associated with >5-10 fold decreased susceptibility.

† Other mutations selected *in vitro* or *in vivo* by raltegravir include the nonpolymorphic mutations H183P, Y226Q/F1, S226R, and D322H, and the polymorphic mutations L76M, T87A, V151, G109K, S203A, and S203N (Raltegravir package insert).

‡ Other mutations selected *in vitro* or *in vivo* by elvitegravir include the nonpolymorphic mutations H51Y, D96K, and Q 469F (K Shrimaj JV 2007).

ADDITIONAL MUTATIONS: Additional (idiosyncratic) mutations selected by other investigational NIs include the nonpolymorphic mutations T125K, A123T, G148K, N155E, K166E, and the polymorphic mutations V74L, A154A, V166I, and V231I (M Labinakis AVT 2007).

Fusion inhibitor (enfuvirtide) mutations

36	37	38	40	42	43	44	45
G	I	V	Q	N	N	L	L
Enfuvirtide	DEVS	V	EAMG	H	T	DKS	M

LEGEND: **Mutations in bold red** reduce enfuvirtide susceptibility >10 fold in site-directed mutants and most clinical isolates. **ADDITIONAL MUTATIONS** N42S is the only common polymorphism between codons 36 to 45. It occurs in ~35% of untreated isolates and does not increase NP1 susceptibility (T Mitty AIDS 2005). **Other mutations** at these positions are likely to have deleterious effects on NP1 susceptibility. **Other mutations** may not be fully reported.

MUTATIONS AT ADDITIONAL POSITIONS NP1R susceptibility may not be fully reported. Corresponding to the residue sequence of NP1 including R120G, N137I, and S138A have been shown to emerge to improve fitness in competition with specific mutations at codons 36 to 45 (C. JCV 2006, 1 Xu AAC 2000, CE Stadler JV 2004, M Topping AIDS 2007).

Co-receptor Tropism and CCR5 Inhibitors

At initial HIV-1 infection, >90% of patients have viruses that exclusively use the CCR5 co-receptor (R5 tropic). About 50% of patients with subtype B infections eventually develop viruses that use CXCR4 (X4 tropic). The emergence of X4 tropism usually occurs in later disease stages and, in the absence of ARV therapy, is followed by accelerated CD4 cell depletion. When X4-tropic viruses emerge, they usually co-circulate with R5 tropic viruses often as minor variants thus complicating their detection. The main genetic determinants of tropism are in the V3 loop, although other changes also influence tropism (O Hartley ARHR 2005).

The licensed small molecule inhibitor maraviroc and the investigational inhibitor vicriviroc allosterically inhibit HIV-1 gp120 binding to the CCR5 7-transmembrane G protein-coupled receptor. Whereas HIV-1 gp120 binds to the N terminus and 2nd extracellular loop of CCR5, most inhibitors bind to a pocket or pockets formed by the transmembrane helices. HIV-1 may escape from CCR5 inhibition by binding to a CCR5-inhibitor bound receptor (M Westby JV 2007) or by utilizing CXCR4 (M Westby JV 2006).

The Trofile test (Monogram Biosciences) assesses the tropism of complete env genes amplified from patient samples (J Whitcomb JV 2007) by ligating them into env expression test vectors, which following co-transfection with env-deleted genomic vectors create a population of pseudovirions that are inoculated into reporter cell lines expressing CCR5 or CXCR4. The Trofile is more sensitive than genotypic methods for detecting X4 tropism because it uses complete patient-derived env genes and detects variants below the 20% to 30% detection limit of standard genotypic assays. Novel genotypic approaches will be required to attain sensitivities approaching that of phenotypic assays (T Stig AVT 2007, O Sander PLOS Comput Biol 2007).

FONTE: SHAFER (2005) - STANFORD UNIVERSITY HIV DRUG RESISTANCE DATABASE, <http://hivdb.stanford.edu>

HIV-1 Protease and Reverse Transcriptase Mutations For Drug Resistance Surveillance (Version 1.0)*											
NRTI			NNRTI			PI					
Pos	Mut	Pos	Mut	Pos	Mut	Pos	Mut	Pos	Mut	Pos	Mut
M41	L	L100	I	L24							
K65	R	K101	E	D30							
D67	N, G, Del	K103	N, S	V32							
T69	D, Ins	V106	A, M	M46							
K70	R	Y181	C, I	I47							
L74	V	Y188	L, H, C	G48							
V75	A, M, T, S	G190	A, S, E	I50							
F77	L	P225	H	F53							
Y115	F	M230	L	I54							
F116	Y	P236	L	G73							
Q151	M			V82							
M184	V, I			I84							
L210	W			N88							
T215	Y, F, C, D, E, I, V			L80							
K219	Q, E, R										

*Shafer RW, Rhee SY, Pillay D, Miller V, Sandsrom P, Schapiro JM, Kunitzkes DR, Bennett D. AIDS 2007;21:215-223. The following considerations were used for developing this list of drug-resistance mutations for epidemiologic studies of transmitted resistance: (i) the mutations should cause or contribute to drug resistance, (ii) the mutations should not occur in untreated persons (i.e. they should be non-polymorphic), (iii) the mutation list should be applicable to all group M subtypes, and (iv) the mutation list should be simple, unambiguous, and parsimonious. A new version of this list based on the same principles is being created by an expanded expert panel. Several important recently identified mutations such as K85N, K70EG, L74I, K101P, V178F, and Y181V in RT and G48M, L76V, V82L, and N88TG will be evaluated for inclusion, whereas other mutations may be evaluated for removal. The prevalence of all protease and RT mutations according to subtype and treatment can be found at <http://hivdb.stanford.edu/cgi-bin/MutPrevBySubtypeRx.cgi>.

Abbreviations

Drug classes: NRTI (Nucleoside RT inhibitors), NNRTI (non-nucleoside RT inhibitors), PI (protease inhibitors), NI (Integrase inhibitors), NRTIs: 3TC (lamivudine), ABC (abacavir), ddI (didanosine), ddT (stavudine), FTC (emtricitabine), TDF (tenofovir), ZDV (zidovudine); NNRTIs: DLV (delamanvir), EFV (efavirenz), ETR (etravirine), NVP (nevirapine); PIs: ATV (atazanavir), DRV (darunavir), FPV (fosamprenavir), IDV (indinavir), LPV (lopinavir), NFV (nelfinavir), SQV (saquinavir), TPV (tipranavir), "ir" (ritonavir-boosted); Amino acids: A (alanine), C (cysteine), D (aspartate), E (glutamate), F (phenylalanine), G (glycine), H (histidine), I (isoleucine), K (lysine), L (leucine), M (methionine), N (asparagine), P (proline), Q (glutamine), R (arginine), S (serine), T (threonine), V (valine), W (tryptophan), Y (tyrosine), Ins (insertion); Journal: AAC (Antimicrobial Agents Chemother), ARHR (AIDS Res Hum Retrovir), AVR (Antiviral Res), AVT (Antiviral Ther), JCV (J Clin Virol), JV (J Int Virol), JMM (J Mol Methods), PLOS (Public Library of Science), PNAS (Proc Natl Acad Sci), Meetings: CROI (Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections), HIVDRW (HIV Drug Resistance Workshop).

ANEXO 5 – CARTA DE APROVAÇÃO DO ESTUDO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UFPR



ISIPAR - Ministério da Saúde

Registro Número:

25000 - 157519/2008 - 55
17-109, 1.2008

2º VIA

Curitiba, 30 de novembro de 2006.

Ilmo (a) Sr. (a)
Paula Virginia Michelin Toledo
Nesta

Prezada Pesquisadora:

Comunicamos que o Projeto de Pesquisa intitulado "ESTUDO DOS PERFS GENOTÍPICO E FENOTÍPICO DO HIV-1 EM PACIENTES ATENDIDOS NO PARANÁ COM FALHA VIROLÓGICA A ANTI-RETROVIRAIS", foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, em reunião realizada no dia 28 de novembro de 2006. O referido projeto atende aos aspectos das Resoluções CNS 196/96, e demais, sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Ministério da Saúde.

CAAE: 0183.0.208.091-06
Registro CEP: 196.ext.047/2006-11

Conforme a Resolução 196/96, solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos.

Data para entrega do primeiro relatório: 30 de maio de 2007.

Atenciosamente,

Renato Tambara Filho
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
em Seres Humanos do Hospital de Clínicas/UFPR

ANEXO 6 – CARTA DE APROVAÇÃO DO ESTUDO PELO PROGRAMA NACIONAL DE DST E AIDS DO MINISTÉRIO DA SAÚDE



Ofício n.º 5.236/08 ULAB PN-DST/AIDS/SVS/MS

Brasília, 24 de outubro de 2008.

À Senhora,
 Paula Virginia Michelin Toledo
 Pesquisadora
 Travessa Amanda Mann, 92 – Sobrado 2
 80430-010 Curitiba / PR

Assunto: Encaminhamento do Parecer Técnico n.º 124/08 ULAB/PN-DST-AIDS/SVS/MS referente ao “Projeto de Estudo Epidemiológico do Perfil Genotípico do HIV-1 em Adultos Atendidos no Paraná com Falha Viroológica a Anti-retrovirais”

Senhora Pesquisadora,

1. Estamos encaminhando o Parecer Técnico n.º 124/08 ULAB/PN-DST-AIDS/SVS/MS referente ao “Projeto de Estudo Epidemiológico do Perfil Genotípico do HIV-1 em Adultos Atendidos no Paraná com Falha Viroológica a Anti-retrovirais”.
2. Finalizando, apresentamos votos de estima e apreço e colocamo-nos à disposição para prestar quaisquer esclarecimentos que se façam necessários.

Atenciosamente,

Lilian Amaral Inocêncio
 Unidade de Laboratório



PARECER TÉCNICO N.º 124/08 - ULAB/PN-DST-AIDS/SVS/MS

Assunto: Projeto de Estudo Epidemiológico do Perfil Genotípico do HIV-1 em Adultos Atendidos no Paraná com Falha Viroológica a Anti-retrovirais

1. O projeto apresentado pela Pesquisadora Paula Virginia Michelin Toledo mestranda da Universidade Federal do Paraná – Setor de Ciências da Saúde tem como objetivo específico estudar o perfil epidemiológico do padrão de mutações aos anti-retrovirais (ARV) nos pacientes que receberam a terapia anti-retroviral (TARV) no estado do Paraná e apresentou falha virológica ao tratamento, bem como conhecer a prevalência de cada mutação dos genes da TR e da PR, e o polimorfismo do genoma do HIV-1 desta população que realizou o teste de genotipagem na Rede do Ministério da Saúde/Programa Nacional de DST e Aids, de 2002 a 2006.

2. Considerando os objetivos do projeto e a justificativa proposta como também a metodologia que será empregada, esta Unidade Técnica tem as seguintes considerações:

- Quanto à metodologia empregada está de acordo com a utilizada na RENAGENO como também em outros trabalhos já descritos em literatura nacional e internacional;
- A revisão das drogas são as que estamos utilizando na REDE do Sistema Único de Saúde até o período proposto da pesquisa;
- Informamos que a metodologia de sequenciamento pela metodologia TRUGENE (SIEMENS) é a única que permite a amplificação de 1.000 cópias/ml para a carga viral do HIV-1 e a metodologia VIROSEQ (ABBOTT Diagnostic) é acima de 2.000 cópias/ml, e atualmente a padronização da RENAGENO é para ≥ 2.000 cópias/ml, para a realização do exame de genotipagem;
- Que o algoritmo brasileiro mencionado na página n.º 54 do referido projeto, passou novamente por revisão e foi alterado, assim sendo se for novamente consultado verificar os anos de levantamento dos dados;
- Informamos que, quando não se consegue o produto de sequenciamento pela metodologia de kits comerciais, a RENAGENO tem um laboratório

Fl. 02 do PT N.º 124/08 ULAB/PN-DST-AIDS-SVS/M5, de 24 de outubro de 2008.

de Referência Nacional onde a metodologia de realização é *in house*, utilizando outros *primers*, favor considerar isso em futuras citações;

- Verificar os resultados de quantificação da carga viral do HIV-1 e contagem de linfócitos T CD4/CD8 e citar o nome dos profissionais do Laboratório Municipal de Curitiba onde os testes foram realizados;
- E quando for necessário realizar o levantamento de dados dos laboratórios de São Paulo e Rio Grande do Sul, contate o PN-DST/AIDS para que o mesmo o faça junto a essas Unidades.

3. Solicitamos ainda que, o PN-DST/AIDS deve ser referenciado na publicação, bem como o nome de uma pessoa do Laboratório de Virologia Molecular da Universidade Federal do Rio de Janeiro, e que quando ocorrer a publicação da tese e ou a publicação do artigo científico, uma cópia seja encaminhada para esta Unidade Técnica de Laboratório do PN-DST/AIDS.

Brasília, 24 de outubro de 2008.


Lillian Amaral Inocêncio
Assessora Responsável
Unidade de Laboratório

ANEXO 7 – CARTA DE APROVAÇÃO PARA USO DE LAUDOS EMITIDOS PELA TIBOTEC



Approval

tibotec

1 April 2009

Regarding the approval request to the use of resistance data from screening tests of POWER studies follow these recommendations:

As indicated in the publication section of the original POWER protocol, the investigator can use data from the own site for studies and publications.

In this particular request, POWER patients was included as one additional source of resistance information among Brazilian patients in the paper, but no comparisons are made to VIRCO phenotype.

If it comes to describe the virtual phenotype (VircoTYPE), please use the following reference. Prediction of HIV-1 drug susceptibility phenotype from the viral genotype using linear regression modeling, Vermeiren H, Van Craenenbroeck E, Alen P, Bachelet L, Picchio G, Lecocq P; Virco Clinical Response Collaborative Team. J Virol Methods. 2007 Oct;145(1):47-55. "

There is no need of citation of any TIBOTEC staff in the paper.

**Gaston Picchio,
Eric Lefebvre.**

Johnson & Johnson
PHARMACEUTICAL RESEARCH
& DEVELOPMENT
DIVISION OF JANSSEN PHARMACEUTICA N.V.