

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

TALITA BESSANI STRAPASSON

ANÁLISE MOLECULAR DO HIV-1 E O PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DE
MULHERES SOROPOSITIVAS ATENDIDAS EM UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
DE CURITIBA

CURITIBA

2018

TALITA BESSANI STRAPASSON

ANÁLISE MOLECULAR DO HIV-1 E O PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DE
MULHERES SOROPOSITIVAS ATENDIDAS EM UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
DE CURITIBA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Tocoginecologia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Meri Bordignon Nogueira
Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Sonia Mara Raboni

CURITIBA

2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELO SISTEMA DE BIBLIOTECAS/UFPR -
BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE, BIBLIOTECÁRIA: RAQUEL PINHEIRO COSTA JORDÃO
CRB9/991 COM OS DADOS FORNECIDOS PELA AUTORA

S897 Strapasson, Talita Bessani

Análise molecular do HIV-1 e o perfil epidemiológico de mulheres soropositivas atendidas em um hospital universitário de Curitiba / Talita Bessani Strapasson. – Curitiba, 2018.

90 f. : il.

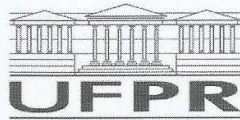
Orientadora: Prof.^a Dr.^a Meri Bordignon Nogueira

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Sonia Mara Raboni

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.

1. HIV-1. 2. Mulheres. 3. Coinfecção. I. Nogueira, Meri Bordignon. II. Raboni, Sonia Mara. III. Programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná. VI. Título.

NLMC: WC 140



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO TOCGINECOLOGIA

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em TOCGINECOLOGIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **TALITA BESSANI STRAPASSON** intitulada: **Análise Molecular do HIV-1 e o Perfil Epidemiológico de Mulheres Soropositivas Atendidas em um Hospital Universitário de Curitiba**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 13 de Agosto de 2018.

Meri Bordignon Nogueira
MERI BORDIGNON NOGUEIRA

Presidente da Banca Examinadora (UFPR)

Edson Gomes Tristão

EDSON GOMES TRISTÃO

Avaliador Interno (UFPR)

Ana Luiza P. Mosimann
ANA LUIZA PAMPLONA MOSIMANN

Avaliador Externo (ICC)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por ter chegado até aqui e por ter me dado força e paciência. Agradeço aos meus Pais pelos esforços que sempre fizeram para que eu me tornasse uma pessoa melhor, à minha irmã, Larissa, que torceu por mim esse tempo todo e a meu marido, João Francesco, por ter sido meu pilar nos momentos mais difíceis.

Às professoras Meri e Sônia pela sabedoria compartilhada, à querida Jucélia por toda a assistência, confiança e atenção despendidas e à Aline que caminhou ao meu lado na busca por novos conhecimentos, estando sempre disposta a ajudar e confiante em mim.

Aos professores Renato, Renate, Jucélia e Rafael que gentilmente compuseram minha banca de qualificação e contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Às minhas amigas Dagna e Letícia que sempre me socorreram e à Giovana que mesmo longe esteve tão presente.

Ao querido amigo e professor Maciel pela compreensão e ajuda nesse processo.

Aos meus colegas de trabalho pela confiança, paciência e apoio que sempre me deram.

A todos os integrantes do Serviço de Infectologia que me receberam com muito carinho e paciência e a toda equipe dos Laboratórios de Virologia e de Pesquisa que me acolheram como parte desta família.

À Dr.^a Cléa da Secretaria Municipal de Saúde pela pronta ajuda e contribuição.

Ao Departamento de Bioquímica pela parceria na etapa de sequenciamento nucleotídico e atenção que foram fundamentais na execução do trabalho.

À contribuição dos Projetos de Pesquisa de diversos professores, em especial à Dr.^a Luíne que por vezes auxiliou neste processo.

Ao apoio financeiro do Fundo de Desenvolvimento Acadêmico e ao programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia da Universidade Federal do Paraná pela oportunidade de ampliar meus conhecimentos.

Ao Ricardo pelo socorro com as análises estatísticas.

Às pacientes que concordaram em participar do trabalho de maneira tão carinhosa e que, sem elas, não haveria resultados.

E por último, mas não menos importante, a todos aqueles que encontrei pelo caminho, mesmo que de maneira breve, mas que permitiram que eu chegasse até aqui, meu muito obrigado.

RESUMO

Cerca de metade das 36,7 milhões de pessoas vivendo com HIV no mundo são mulheres. Apesar disso, boa parte dos estudos ainda apresentam dados com maioria dos achados voltados ao público masculino. No Brasil, desde o início da década de 80 até junho de 2017, mais de 306 mil casos de aids foram notificados em mulheres. O HIV diferencia-se em tipo 1 e 2. O HIV-1 é a forma mais prevalente e patogênica, divide-se em quatro grupos (M, N, O e P) dos quais o grupo M é responsável pela maioria das infecções e possui nove subtipos (A-D, F-H, J-K), sete sub-subtipos, além de formas recombinantes. No mundo a distribuição dos subtipos não é homogênea, sendo que o subtipo C corresponde a quase 50% das infecções. No Brasil, o subtipo B é o mais frequente, seguido pelas formas recombinantes F1, BF e o subtipo C. Na região Sul, a distribuição dos subtipos é diferenciada, com alta frequência do subtipo C nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul. No Paraná, contudo, apesar da tendência de aumento do subtipo C, o subtipo B é descrito na literatura como prevalente, variando em torno de 60% na população em geral e de 40-50% no público feminino. O Objetivo desse estudo foi verificar a distribuição dos subtipos do HIV-1 pela análise molecular da região V3-V5_{gp120} do gene *env* em mulheres adultas, HIV positivas, acompanhadas no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná de março de 2013 a março de 2014. Trata-se de um estudo retrospectivo, onde foram revisados prontuários médicos e realizadas análises laboratoriais moleculares em amostras de *buffy coat* estocadas à -80°C. Amostras de 232 pacientes foram submetidas à extração do DNA proviral. Destas, 148 resultaram no sequenciamento nucleotídeo da região *env* do HIV-1 estudada. Verificou-se a distribuição dos subtipos B, C, F e BC, como 43,2%, 49,3%, 6,1% e 1,4%, respectivamente. O diagnóstico na gestação foi a principal forma de conhecimento da sorologia nas mulheres (40%), antecipando o tratamento da infecção e reduzindo as transmissões verticais. A taxa de coinfeção com hepatites virais foi de 4,7% para HBV e de 13,5% para HCV. Houve maior incidência de HCV nas pacientes do subtipo C. A avaliação do tropismo viral mostrou a presença do vírus R5 em 81,8% das amostras. A análise da carga viral indicou que, ao longo do tratamento, houve respostas similares entre os subtipos B e C e não houve diferenças significativas nos valores de células T CD4+ entre eles. Entre as amostras classificadas no subtipo B, 54,7% pertenciam à variante Pandêmica, 23,4% à Brasileira e 6,3% a Coreana. Duas formas recombinantes únicas foram identificadas, apresentando uma recombinação BC na região *env* que não corresponde a nenhuma das formas recombinantes circulantes descritas até o momento. As características moleculares do HIV-1 são dinâmicas e requerem estudos constantes no sentido de compreender melhor os mecanismos de dispersão da infecção. Pesquisas regionais são de grande relevância para identificar lacunas no processo de controle da epidemia e estabelecer medidas adequadas para cada população.

Palavras-Chave: HIV-1. Subtipos. Mulheres. Análise Molecular. Sequenciamento. Coinfeção. Curitiba.

ABSTRACT

About half of the world's 36.7 million people living with HIV are women. Despite this, most of the studies still present data with most of the findings directed at the male audience. In Brazil, from the early 1980s until June 2017, more than 306,000 AIDS cases were reported in women. HIV is differentiated into types 1 and 2. HIV-1 is the most prevalent and pathogenic form, divided into four groups (M, N, O, and P) of which group M is responsible for most infections and has nine subtypes (A-D, F-H, J-K), seven sub-subtypes, as well as recombinant forms. In the world the distribution of subtypes is not homogeneous, with subtype C corresponding to almost 50% of infections. In Brazil, subtype B is the most frequent, followed by the forms F1, BF and subtype C. In the Southern Region, the subtype distribution show a different pattern, with a high frequency of subtype C in the states of Santa Catarina and Rio Grande do Sul. However, in Parana State, even though there is a trend of increasing the occurrence of subtype C, subtype B is described in the literature as prevalent, ranging from around 60% in the general population and 40-50% in the female public. The goal of this study was to verify the distribution of HIV-1 subtypes by molecular analysis of the V3-V5_{gp120} region of the env gene in HIV-positive adult women, under care at the Hospital de Clínicas of the Federal University of Paraná from March 2013 to March 2014. This is a retrospective study where medical records were reviewed and molecular laboratory analyzes were carried out on buffy coat samples stored at -80°C. Samples from 232 patients were submitted to proviral DNA extraction. From this total, 148 resulted in nucleotide sequencing of the HIV-1 env region studied. The distribution of subtypes B, C, F and BC was found with 43.2%, 49.3%, 6.1% and 1.4%, respectively. Diagnosis during pregnancy was the main source of knowledge about the serology in women (40%), resulting in the anticipation of the treatment of infection and reduction of vertical transmissions. The rate of coinfection with viral hepatitis was 4.7% for HBV and 13.5% for HCV. There was a higher incidence of HCV in patients of subtype C. The evaluation of viral tropism showed the presence of R5 virus in 81.8% of the samples. Analysis of the viral load indicated that there were similar responses across the treatment between subtypes B and C throughout the treatment and there were no significant differences in T CD4+ cell numbers between them. Among the samples classified in subtype B, 54.7% belonged to the Pandemic variant, 23.4% to Brazilian and 6.3% to Korean. Two unique recombinant forms have been identified, exhibiting BC recombination in the env region which does not correspond to any of the circulating recombinant forms described thus far. The molecular characteristics of HIV-1 are dynamic and require constant studies in order to better understand the mechanisms of infection spread. Regional research is of great relevance in identifying gaps in the process of controlling the epidemic and establishing appropriate measures for each population.

Keywords: HIV-1. Subtypes. Women. Molecular Analysis. Sequencing. Coinfection.
Curitiba

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	– PORCENTAGEM DE ALCANCE DAS METAS 90-90-90 NO BRASIL (2016).....	24
FIGURA 2	– REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DOS GENES DO HIV-1.....	25
FIGURA 3	– REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO HIV.....	26
FIGURA 4	– ESQUEMA REPRESENTATIVO DA CLASSIFICAÇÃO DO HIV ...	27
FIGURA 5	– DISTRIBUIÇÃO MUNDIAL DOS SUBTIPOS DO GRUPO M DO HIV-1.....	30
FIGURA 6	– DISTRIBUIÇÃO DOS SUBTIPOS VIRAIS EM CADA REGIÃO DO BRASIL.....	31
FIGURA 7	– LIGAÇÃO DO HIV COM O RECEPTOR E CORRECEPTORES CELULARES.....	35
FIGURA 8	– CICLO DE REPLICAÇÃO VIRAL.....	36
FIGURA 9	– CURSO CLÍNICO DA INFECÇÃO PELO HIV.....	37
FIGURA 10	– FLUXOGRAMA DAS PACIENTES INCLUÍDAS NO ESTUDO.....	43
FIGURA 11	– FLUXOGRAMA DAS ETAPAS LABORATORIAIS.....	45
FIGURA 12	– ÁRVORE FILOGENÉTICA DA REGIÃO V3-V5 _{gp120} DO GENE <i>env</i> DO HIV-1.....	62
FIGURA 13	– INDICAÇÃO DA RECOMBINAÇÃO ENCONTRADA NA REGIÃO V3-V5 _{gp120} DO GENE <i>env</i> DO HIV-1.....	64

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – DADOS DEMOGRÁFICOS DA POPULAÇÃO ESTUDADA.....	52
TABELA 2 – VIA PROVÁVEL DE INFECÇÃO DE ACORDO COM O TEMPO DE CONHECIMENTO DA SOROLOGIA POSITIVA PARA O HIV.....	53
TABELA 3 – CIRCUNSTÂNCIA DO DIAGNÓSTICO DE ACORDO COM O TEMPO DE CONHECIMENTO DA SOROLOGIA POSITIVA PARA O HIV.....	54
TABELA 4 – VALORES DE LT CD4+ NADIR ENTRE AS PRINCIPAIS CIRCUNSTÂNCIAS DE DIAGNÓSTICO.....	54
TABELA 5 – TAXA DE COINFECÇÃO HIV/HBV E HIV/HCV CONFORME O TEMPO DE DIAGNÓSTICO.....	55
TABELA 6 – ADESÃO AO TRATAMENTO DE ACORDO COM OS REGISTROS DE RETIRADA DE MEDICAÇÃO.....	56
TABELA 7 – DISTRIBUIÇÃO DOS SUBTIPOS DO HIV-1 CONFORME O TEMPO DE DIAGNÓSTICO.....	57
TABELA 8 – VIAS DE INFECÇÃO E CIRCUNSTÂNCIA DO DIAGNÓSTICO DE ACORDO COM O SUBTIPO DO HIV-1.....	58
TABELA 9 – IDADE, TEMPO DE DIAGNÓSTICO E ÓBITOS ENTRE OS SUBTIPOS DO HIV-1.....	58
TABELA 10 – TAXA DE COINFECÇÃO HIV/HBV E HIV/HCV CONFORME O SUBTIPO DO HIV-1.....	59
TABELA 11 – DISTRIBUIÇÃO DO TROPISMO DE ACORDO COM O SUBTIPO DO HIV-1.....	59
TABELA 12 – DISTRIBUIÇÃO DO TROPISMO DE ACORDO COM O SUBTIPO DO HIV-1 E O TEMPO DE DIAGNÓSTICO.....	60
TABELA 13 – COMPARAÇÃO DOS VALORES DE CARGA VIRAL E DE CONTAGEM DE CÉLULAS T CD4 ENTRE OS SUBTIPOS DO HIV-1.....	60
TABELA 14 – COMPARAÇÃO DOS VALORES DE CARGA VIRAL E DE CONTAGEM DE CÉLULAS T CD4 ENTRE OS SUBTIPOS DO HIV-1 DE ACORDO COM O TROPISMO VIRAL.....	61
TABELA 15 – VARIANTES DO SUBTIPO B DO HIV-1.....	63

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – DISTRIBUIÇÃO DOS SUBTIPOS DO HIV-1 EM MULHERES NO ESTADO DO PARANÁ.....	32
QUADRO 2 – SEQUÊNCIA DOS OLIGONUCLEOTÍDEOS INICIADORES UTILIZADOS.....	47
QUADRO 3 – IDADE, TEMPO DE DIAGNÓSTICO, VIA DE INFECÇÃO E DESCRIÇÃO DAS CAUSAS DO ÓBITO	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

aids	- Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (do inglês <i>acquired immunodeficiency syndrome</i>)
ASP	- protein antisense (do inglês <i>antisense protein</i>)
CA	- capsídeo
CCR5	- correceptor de quimiocina motivo CC tipo 5
CHC-UFPR	- Complexo Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná
CXCR4	- receptor de quimiocina motivo CXC tipo 4
CD4	- cluster de diferenciação 4 (do inglês <i>cluster of differentiation 4</i>)
CRF	- forma recombinante circulante (do inglês <i>circulating recombinant form</i>)
DNA	- ácido desoxirribonucleico
EUA	- Estados Unidos da América
gp	- glicoproteína
HAART	- terapia antirretroviral de alta eficácia (do inglês <i>highly active antiretroviral therapy</i>)
HIV-1	- vírus da imunodeficiência humana tipo 1
HIV-2	- vírus da imunodeficiência humana tipo 2
HSH	- homens que fazem sexo com homens
HSHM	- homens que fazem sexo com homens e com mulheres
IBGE	- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IN	- integrase
IIQ	- intervalo interquartil
IST	- infecções sexualmente transmissíveis
LANL	- <i>Los Alamos National Laboratory</i>
LT CD4+	- linfócito T CD4+
ML	- <i>Maximum likelihood</i>
Nef	- do inglês <i>negative regulating factor</i>
ORF	- fase aberta de leitura (do inglês <i>open reading frames</i>)
pb	- pares de base
PCR	- Reação em Cadeia da Polimerase
PR	- protease
PVHIV	- pessoas vivendo com HIV

Rev	- do inglês <i>regulator of expression of viral proteins</i>
RMC	- Região metropolitana de Curitiba
RNA	- ácido ribonucleico
RT	- transcriptase reversa
SI	- sem informação
SRA	- Síndrome Retroviral Aguda
TARV	- terapia antirretroviral
Tat	- transativador da transcrição
TCLE	- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TV	- transmissão vertical
UDI	- usuários de drogas injetáveis
UNAIDS	- <i>United Nations Joint Programme on HIV/AIDS</i>
URF	- forma recombinante única (do inglês <i>unique recombinant form</i>)
Vif	- fator de infecciosidade viral (do inglês <i>viral infectivity factor</i>)
Vpr	- proteína viral r (do inglês <i>viral protein r</i>)
Vpu	- proteína viral única (do inglês <i>viral protein U</i>)
WHO	- <i>World Health Organization</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	JUSTIFICATIVA	16
3	OBJETIVOS	17
3.1	OBJETIVO GERAL.....	17
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
4	REVISÃO DE LITERATURA.....	18
4.1	O VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA E A AIDS.....	18
4.1.1	Epidemiologia do HIV e da aids.....	18
4.1.2	Formas de contágio e transmissão viral.....	20
4.1.3	HIV em mulheres	23
4.1.4	Metas mundiais e a erradicação da epidemia.....	23
4.2	PROPRIEDADES ESTRUTURAIS E MOLECULARES DO HIV	25
4.2.1	Classificação filogenética e variabilidade genética do HIV	27
4.2.2	Epidemiologia Molecular do HIV-1	29
4.2.3	Correceptores de ligação do HIV-1 e tropismo viral.....	34
4.3	CICLO REPLICATIVO DO HIV-1 E A PATOGENIA DA AIDS.....	36
4.4	COINFEÇÃO COM HEPATITES VIRAIS	39
4.5	TERAPIA ANTIRRETROVIRAL E ADESÃO AO TRATAMENTO	40
5	MÉTODOLOGIA	42
5.1	CASUÍSTICA.....	42
5.1.1	Critérios de inclusão	42
5.1.2	Critérios de exclusão	43
5.2	REVISÃO DOS PRONTUÁRIOS E TCLE	44
5.3	METODOLOGIAS DIAGNÓSTICAS	45
5.3.1	Obtenção do concentrado de leucócitos (<i>buffy coat</i>).....	46
5.3.2	Extração do DNA proviral.....	46
5.3.3	Amplificação do material genético	47
5.3.4	Visualização do produto amplificado.....	48
5.3.5	Purificação e quantificação do produto de PCR.....	48
5.3.6	Reação de sequenciamento nucleotídico	49
5.3.7	Análise das sequências obtidas e determinação dos subtipos do HIV-1 ..	50
5.3.8	Predição do tropismo viral.....	50

5.3.9	Análise das variantes do Subtipo B do HIV-1.....	51
5.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	51
6	RESULTADOS	52
6.1	DADOS DEMOGRÁFICOS E EPIDEMIOLÓGICOS	52
6.2	SUBTIPOS VIRAIS DO HIV-1 E DADOS CLÍNICOS	57
6.3	ANÁLISES MOLECULARES E FILOGENÉTICAS	61
6.3.1	Formas recombinantes	63
7	DISCUSSÃO	65
8	CONCLUSÕES	73
9	LIMITAÇÕES.....	74
10	PERSPECTIVAS	75
	REFERÊNCIAS.....	76
	APÊNDICE 1 – TCLE.....	85
	APÊNDICE 2 – FICHA DE COLETA DE DADOS NOS PRONTUÁRIOS	86
	ANEXO 1 – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP	87

1 INTRODUÇÃO

Em 1981, a síndrome da imunodeficiência adquirida (aids) foi identificada como uma nova entidade clínica vinculada à pacientes homossexuais masculinos e usuários de drogas injetáveis (UDI). Dois anos depois, o agente etiológico da doença, o vírus da imunodeficiência humana (HIV-1) foi isolado por pesquisadores franceses e norte-americanos (BARRE-SINOUSSE *et al.*, 1983; GALLO *et al.*, 1983).

Em menos de 40 anos o HIV-1 se disseminou mundialmente tomando proporções de uma pandemia. De acordo com dados publicados pelo Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/aids (UNAIDS), em 2016 havia cerca de 36,7 milhões de pessoas vivendo com o HIV no mundo, ocorreram 1,8 milhões de casos novos, cerca de 1 milhão de pessoas morreram por causas relacionadas à aids e, até junho de 2017, apenas 20,9 milhões de pessoas infectadas (cerca de 57%) tiveram acesso a terapia antirretroviral (UNAIDS, 2017).

Desde o início dos primeiros casos de aids no Brasil até junho de 2017, foram registrados cerca de 882.810 casos (65,3% em homens e 34,7% em mulheres) e, anualmente, têm sido registrados uma média de 40 mil novos casos (BRASIL, 2017).

A expansão da infecção alterou o cenário epidemiológico, sobretudo no que diz respeito à prevalência entre os gêneros. Em 2016, 17,8 milhões de pessoas vivendo com HIV-1 no mundo eram mulheres com 15 anos ou mais, evidenciando uma redução na disparidade entre homens e mulheres (UNAIDS, 2017). No Brasil, com o decorrer dos anos a razão entre homens e mulheres com aids passou de 22/1 em 1985 para 2,2/1 em 2016. Essa proporção também se diferencia conforme a região, sendo que o Sul apresenta a menor razão do País (1,7/1) (BRASIL, 2017).

Grandes esforços vêm sendo realizados globalmente na tentativa de reduzir novas infecções. Em 2017, no dia mundial da luta contra a aids, Curitiba foi o primeiro município brasileiro a conquistar o certificado de eliminação da transmissão vertical do HIV, evidenciando que os esforços no âmbito da saúde pública têm trazido benefícios reais no sentido de conter a infecção pelo HIV (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

Embora tenha havido redução no número de notificações de HIV/aids, o perfil epidemiológico dos pacientes e as características moleculares do vírus são dinâmicos e requerem atenção e estudos constantes. Pesquisas regionais são de grande relevância para o estabelecimento de medidas epidemiológicas eficazes e adequadas para cada população. No entanto, a maioria dos estudos apresenta dados vinculados ao público masculino ou com uma baixa amostragem da população feminina, existindo um hiato na compreensão da dinâmica da infecção em mulheres.

Com relação ao município de Curitiba, embora o número de homens com HIV e aids ainda seja três vezes maior que o número observado de mulheres (CURITIBA, 2017), existe uma tendência de aproximação destes valores. Este cenário passa a ser uma preocupação que requer um olhar crítico na tentativa de compreender os mecanismos associados à distribuição viral sobre esta população feminina.

2 JUSTIFICATIVA

O HIV-1 está associado a uma pandemia com características epidemiológicas dinâmicas em virtude de mecanismos genéticos, da alta taxa de replicação viral e também de questões étnicas e culturais. Logo que foi descoberto, no início da década de 80, o HIV estava vinculado ao público masculino homossexual e usuários de drogas injetáveis. Ao longo de quase 40 anos o HIV se disseminou mundialmente, atingindo homens e mulheres independentemente da orientação sexual, tornando-se uma questão de saúde pública.

Geograficamente o HIV-1 se distribui de maneiras distintas e, apesar dos esforços despendidos no sentido de conter essa epidemia, a maioria dos trabalhos desenvolvidos apresentam resultados com enfoque nas populações mais vulneráveis ao HIV (Homens que fazem sexo com homens, usuários de drogas injetáveis, profissionais do sexo e pessoas transexuais), havendo uma carência de dados voltados ao público feminino de maneira geral.

Diante da dinâmica de disseminação do vírus e da escassez de estudos recentes avaliando a distribuição dos subtipos virais em Curitiba e Região metropolitana, o presente estudo foi proposto em função da necessidade de compreender o perfil da infecção nesta população, sobretudo no público feminino.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o subtipo do HIV-1 e os aspectos epidemiológicos em mulheres adultas, HIV positivas, atendidas no Complexo Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (CHC-UFPR) e que residam em Curitiba ou Região Metropolitana.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar o sequenciamento nucleotídico da região V3-V5_{gp120} do gene *env* do HIV-1;
- Identificar os subtipos de HIV-1 de acordo com a região *env* sequenciada;
- Verificar a frequência dos subtipos de acordo com o tempo de diagnóstico;
- Determinar o tropismo viral;
- Identificar as principais circunstanciais do diagnóstico do HIV-1 em mulheres;
- Verificar a frequência de coinfeção com hepatites B e C.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 O VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA E A AIDS

Em 1981, a aids foi descrita como uma nova entidade clínica, inicialmente observada em pacientes homossexuais masculinos e usuários de drogas injetáveis (UDI). Em 1983, o HIV foi isolado na França pela equipe de Luc Montagnier e nos EUA por Robert Gallo e colaboradores (BARRE-SINOUSSE *et al.*, 1983; GALLO *et al.*, 1983), mas foi no ano de 1986 que o Comitê Internacional de Taxonomia dos Vírus indicou a denominação de HIV como agente viral causador da aids (CASE, 1986).

A transmissão do HIV se dá pelo sangue e outros fluidos corporais infectando preferencialmente linfócitos e macrófagos que expressam em sua superfície celular os receptores CD4 (LEVY, 2010). De modo geral, a evolução da infecção para um quadro de aids leva de dois a 15 anos, mas a utilização precoce de antirretrovirais e aspectos particulares da biologia de cada indivíduo influenciam na progressão da doença (WHO, 2015).

4.1.1 Epidemiologia do HIV e da aids

De acordo com dados publicados pela UNAIDS (2017), em 2016 havia cerca de 36,7 milhões de pessoas vivendo com o HIV (PVHIV) no mundo. Destas, cerca de 2,1 milhões (6,0%) eram pessoas com menos de 15 anos e 34,5 milhões (94,0%) pessoas com 15 anos ou mais, das quais 17,8 milhões (51,6%) eram mulheres. Apesar dos esforços envolvidos na contenção da epidemia, em junho de 2017, pouco mais da metade das PVHIV, cerca de 20,9 milhões, tiveram acesso à terapia antirretroviral. No mundo, cerca de 1,8 milhões de pessoas foram infectadas pelo HIV em 2016 e em torno de um milhão de mortes foram relacionadas à aids no mesmo período. A estimativa da UNAIDS para uma boa resposta com relação à contenção da epidemia, até 2020, é de que os recursos financeiros alcancem os 26 bilhões de dólares nos países subdesenvolvidos e em desenvolvimento (UNAIDS, 2017, 2016).

Desde o início da epidemia de aids no Brasil até junho de 2017, foram registrados 882.810 casos (65,3% em homens e 34,7% em mulheres). A distribuição dos casos de aids por região do Brasil mostra maior concentração no Sudeste (52,3%) e Sul (20,1%), seguidas pelas regiões Nordeste (15,4%), Norte (6,1%) e Centro-Oeste (6,0%) (BRASIL, 2017).

No início da década de 80 a presença da doença esteve relacionada majoritariamente ao sexo masculino, entre homossexuais (HSH) e UDI. No decorrer dos anos a razão entre homens e mulheres com aids passou de 22/1 em 1985 para 2,2/1 em 2016, apresentando diferenças regionais importantes, de modo que no Sul há maior participação das mulheres nos casos de aids com relação ao restante do país, havendo apenas 1,7 casos em homens para cada mulher (BRASIL, 2017).

Em Curitiba, desde 1984 até 2016 foram notificados 11.306 casos de aids (69,5% em homens e 30,5% em mulheres) e 5.691 notificações de infecção pelo HIV (71,9% em homens e 28,1% em mulheres). Estima-se que em 2016 havia em torno de 13.309 pessoas vivendo com HIV/aids no município (30,4% mulheres) (CURITIBA, 2017). A razão entre os sexos foi de dez homens com aids para cada mulher em 1986 e de três homens para cada mulher em 2016. Para ambos os sexos a faixa etária com maior frequência acumulada da infecção pelo HIV e de casos de aids (HIV/aids) está compreendida entre os 30 a 39 anos, numa proporção de 2,6 casos em homens para cada mulher. No entanto, nos últimos anos, parece haver uma tendência de aumento no número de casos em homens compreendidos na faixa etária dos 20 aos 29 anos (CURITIBA, 2017). No Brasil, a maior concentração de casos de aids está entre as idades de 25 e 39 anos, para ambos os sexos (BRASIL, 2017).

Com relação ao grau de instrução, o Boletim Epidemiológico de Curitiba (2017) utiliza este dado para análise indireta do nível social. Assim, em 2016, entre as mulheres portadoras do HIV, 33,5% apresentavam como escolaridade o ensino médio e apenas 9,2% o nível superior. Entre os homens 25% possuíam ensino superior e 57% referem mais de nove anos de escolaridade.

Na cidade de Curitiba 76,7% das pessoas com infecção pelo HIV são brancas, 9,8% pardas, 4,3% negras e em 8,1% dos casos esta informação é desconhecida (CURITIBA, 2017). A maior proporção de brancos reflete as

características étnicas regionais desta população, uma vez que no Sul do País 76,8% da população se declara como branca (IBGE, 2017).

4.1.2 Formas de contágio e transmissão viral

A transmissão do HIV se dá por meio de três vias principais: contato sexual sem uso de preservativo; contato sanguíneo (transfusões, seringas contaminadas ou pele lesionada) e vertical (parto, gestação ou amamentação) (WIGG, 2008).

A principal forma de transmissão é a sexual, que ocorre pela entrada do HIV no organismo pelas mucosas do trato genital ou retal durante a relação sexual. Logo nas primeiras horas após o contato sexual, as células infectadas atravessam a barreira da mucosa, aonde o vírus irá se estabelecer e infectar os linfócitos T CD4+, além de macrófagos e células dendríticas. No que se refere à infecção do trato genital feminino, por meio de relação heterossexual, a maior área de superfície vaginal permite maior acesso para a entrada do HIV, aumentando o risco da infecção nas mulheres (BRASIL, 2016; KAUSHIC et al., 2010). A presença de outras infecções sexualmente transmissíveis (IST), como úlceras cancróides, sífilis ou herpes genital, aumenta o risco da infecção pelo HIV em ambos os sexos, uma vez que predispõe ao aparecimento de lesões nos tecidos genitais. Pesquisas sugerem uma forte interação entre o HIV e outras IST, o que poderia explicar 40% ou mais das transmissões desse vírus (WHO, 2015). Além disso, quanto mais elevada for a carga viral do portador e maior o tempo de exposição ao vírus, maiores são as chances de transmissão (WIGG, 2008; LEVY, 2010).

No Brasil, de acordo com o Boletim Epidemiológico do Ministério da Saúde (2017), para indivíduos com 13 anos ou mais, a transmissão por via sexual ocorreu em 95,8% dos casos em homens e 97,1% dos casos em mulheres. Em Curitiba, 73,4% do total de casos notificados ocorreu por via sexual e, em 2016, 84,9% dos casos notificados em mulheres foi decorrente de relações heterossexuais e apenas 0,5% decorreu de relações homossexuais, ao passo que nos homens, para o mesmo período, 20,5% dos casos se deu em heterossexuais, 50,7% em homossexuais e 7% em bissexuais. As demais formas de transmissão

englobaram as vias vertical e sanguínea, sendo que esta última inclui os UDI, hemofílicos, transfusões ou acidente de trabalho com material biológico (CURITIBA, 2017).

Com relação aos UDI, a utilização compartilhada de seringas também representa uma importante via de transmissão (WIGG, 2008). Estudos indicam que, dependendo da temperatura e de outras condições externas, o HIV pode permanecer viável por até 42 dias em uma agulha contaminada (CDC, 2016). A proporção de contaminações devido ao uso de drogas injetáveis vem diminuindo ao longo dos anos no Brasil, representando, em 2016, 3,2% dos casos em homens e 1,9% dos casos em mulheres. Apesar disso, no mesmo período, a região Sul foi a que apresentou maior proporção de UDI que se infectaram com o HIV, chegando a 5,3% dos casos (BRASIL, 2017).

Quanto à transmissão por transfusão sanguínea, a identificação da aids e suas formas de transmissão contribuíram para mudanças nos protocolos de controle de hemoderivados. No Brasil, a partir de 1985 foram inseridos testes para detecção de anticorpo anti-HIV na triagem sorológica para doação de sangue e hemoderivados (BRASIL, 2014). Desta forma, o risco de transmissão reduziu consideravelmente durante as últimas décadas no país, atingindo índices inferiores a 0,1% dentre as vias de infecções notificadas (BRASIL, 2017).

A transmissão vertical pode acontecer durante a gestação, parto ou amamentação. Cerca de 65% dos casos ocorrem durante o parto e 35% durante a gestação, a amamentação representa um risco adicional de sete a 22% para a transmissão, chegando a 29% no caso de infecção materna aguda (BRASIL, 2010). No entanto, esta via de contágio tem se tornado menos frequente em virtude da inserção de testes de HIV nos exames de pré-natal das gestantes, o que permite o diagnóstico precoce, o início de tratamento com antirretrovirais ainda durante a gestação, melhor controle dos valores de carga viral, o planejamento de cesáreas eletivas e o aconselhamento para evitar a amamentação no caso de mães soropositivas (WIGG, 2008). Em nível nacional, em 2009 o Ministério da Saúde emitiu a Portaria nº 151 que determinou o uso do teste rápido para o diagnóstico da infecção pelo HIV e o fluxograma mínimo para o diagnóstico laboratorial em indivíduos com idade acima de 18 meses, de uso obrigatório pelas instituições de saúde públicas e privadas. Em 2012, a Portaria nº 77 do Ministério da Saúde tratou sobre a realização de testes rápidos, na atenção

básica, para a detecção de HIV e sífilis, assim como testes rápidos para outros agravos, no âmbito da atenção pré-natal para gestantes e seus parceiros sexuais. No município de Curitiba, no entanto, desde 1999, com o lançamento do Programa Mãe Curitibana, foi instituído o protocolo de testagem de HIV nas gestantes atendidas na rede básica de saúde, garantindo um diagnóstico precoce da infecção, permitindo assistência adequada à gestante e diminuindo o número de transmissões verticais (CURITIBA, 2016; CURITIBA, 2017).

Com o intuito de reduzir os casos de transmissão vertical do HIV para menos de 2%, a Organização Mundial de Saúde (OMS), a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) e o Fundo das Nações Unidas para a Infância (UNICEF) estabeleceram um processo para validar a certificação da eliminação da transmissão vertical do HIV em diversos países. Para um município ser elegível para a obtenção da certificação é necessário possuir mais de 100 mil habitantes e ter atendido, nos últimos três anos, os indicadores e as metas de impacto estabelecidas devendo a taxa de incidência de novas infecções em crianças por ano de nascimento ser menor ou igual a 0,3 casos por 1000 nascidos vivos, e a proporção anual de crianças infectadas pelo HIV entre as crianças expostas ao vírus ser menor do que 2% (OPAS, 2014). Como forma de atender a estes critérios, a nível nacional é preciso que tenha ocorrido, nos dois últimos anos, a cobertura mínima de quatro consultas no pré-natal para pelo menos 95% das gestantes, com pelo menos uma testagem para HIV, além da cobertura de TARV para no mínimo 95% das gestantes portadoras do HIV e das crianças expostas ao vírus; e a ampliação para mais de 95% os centros de atenção básica que proporcionam serviços de prevenção e diagnóstico do HIV e IST (WHO, 2017).

No ano de 2017, em primeiro de dezembro, dia mundial da luta contra a aids, Curitiba foi o primeiro município brasileiro a conquistar o certificado de eliminação da transmissão vertical do HIV (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017; CURITIBA, 2017). Estes dados evidenciam que os esforços no âmbito da saúde pública têm trazido benefícios no sentido de conter a infecção do HIV, em especial no que se refere à transmissão vertical.

4.1.3 HIV em mulheres

De acordo com a Pesquisa Nacional de Saúde realizada pelo IBGE em 2013, quando se trata da busca por serviços de saúde, de modo geral, as mulheres procuram mais por estes serviços do que os homens (IBGE, 2015).

Mundialmente, estima-se que 75% de todas as pessoas infectadas pelo HIV encontram-se em idade reprodutiva (MELAKU et al., 2014). Estudos apontam que a infecção pelo vírus entre mulheres pode interferir diretamente em aspectos de sua vida sexual após o diagnóstico, seja pela necessidade de uso do preservativo, pelo receio da transmissão para o parceiro ou pelo receio da transmissão vertical, o que pode influenciar negativamente no desejo da maternidade (SANTANNA; SEIDL, 2009; VILLELA; BARBOSA, 2017). Ainda assim, muitas mulheres mantêm o desejo de ter filhos e, neste sentido, intervenções no âmbito da saúde pública devem ser tomadas continuamente a fim de proporcionar uma gestação segura, com menor risco de transmissão para o bebê (BRASIL, 2010; MELAKU et al., 2014).

Apesar dos avanços citados principalmente na redução da TV, Villela e Barbosa (2017) chamam a atenção para o fato da mulher não ser prioridade no cenário da epidemia do HIV, uma vez que não compõe os grupos de risco, fazendo com que as ações voltadas para este público limite a identificação do vírus nas gestantes.

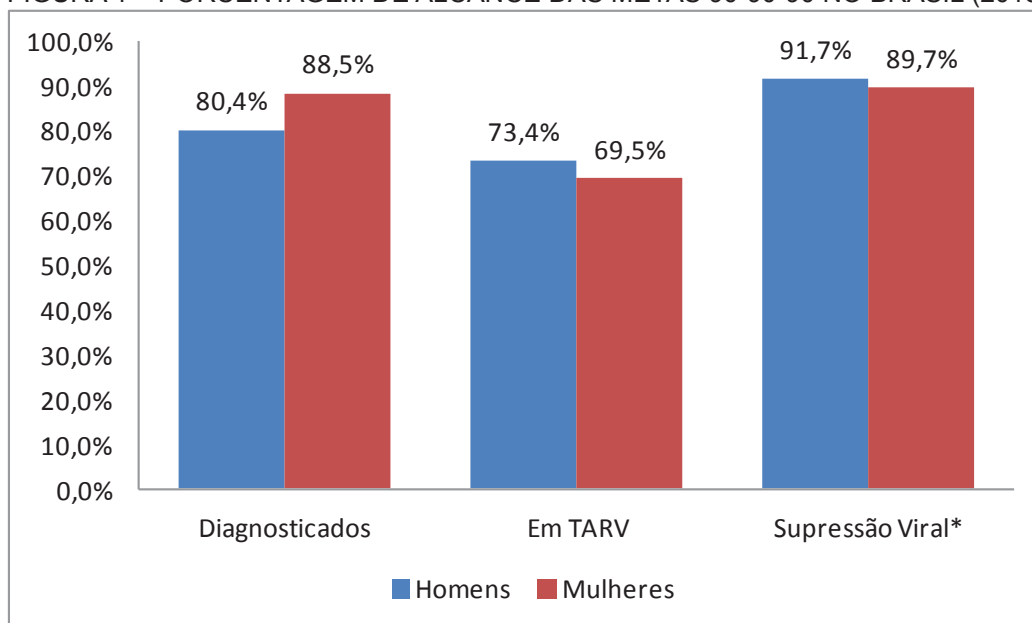
4.1.4 Metas mundiais e a erradicação da epidemia

O Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/aids (UNAIDS), do qual o Brasil é signatário, estabeleceu uma parceria entre diversos países na tentativa de eliminar a epidemia de aids até 2030. Para tal, a meta chamada de 90-90-90 prevê que, até 2020, 90% das pessoas que vivem com HIV tenham conhecimento do seu estado sorológico, 90% das pessoas HIV positivas tenham acesso ao tratamento antirretroviral e 90% das pessoas em tratamento apresentem supressão da carga viral, ou seja, tenham valores inferiores a 1000 cópias de RNA/mL de sangue (UNAIDS, 2015). No Brasil, estima-se que no final de 2016, havia cerca de 830 mil pessoas vivendo com o HIV (PVHIV), das quais

694 mil (84%) foram diagnosticadas, 498 mil (60%) estavam em uso de TARV e 438 mil (54%) possuíam valores de carga viral abaixo de 200 cópias/mL (BRASILIA, 2017).

A figura 1 mostra o *status* de alcance da meta 90-90-90 no Brasil em 2016, de acordo com o sexo. Os dados apontados pelo Relatório de Monitoramento Clínico do HIV de 2017 mostram que as mulheres, por terem uma detecção mais precoce, possuem maiores taxas de diagnóstico do HIV em relação aos homens, no entanto, considerando-se as metas pretendidas pela cascata 90-90-90, dentre as pessoas diagnosticadas, há maior proporção de homens em uso regular de TARV e em supressão de carga viral (BRASILIA, 2017). A percepção deste tipo de informação faz-se importante para verificar lacunas existentes nas ações vinculadas ao tratamento e contenção da epidemia do HIV.

FIGURA 1 – PORCENTAGEM DE ALCANCE DAS METAS 90-90-90 NO BRASIL (2016)



FONTE: Adaptado de BRASÍLIA (2017).

NOTA: * valores inferiores a 1000 cópias de RNA/mL de sangue

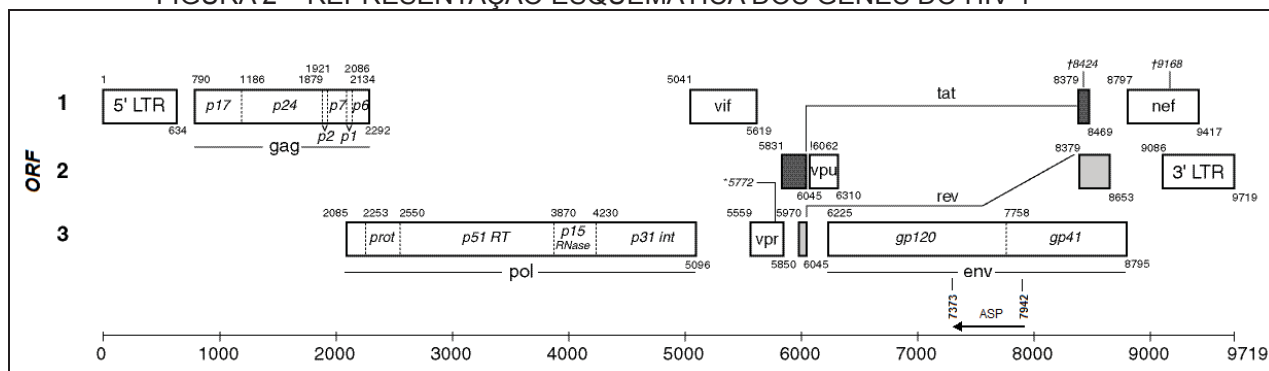
4.2 PROPRIEDADES ESTRUTURAIS E MOLECULARES DO HIV

O HIV possui de 100-120nm de diâmetro, é um vírus envelopado que tem um nucleocapsídeo em forma de cone envolvendo duas moléculas idênticas de RNA de fita simples com 9,7Kb (LEVY, 2010; GONDA *et al.*, 1985; CUELLAR, 1998; CHINEN; SHEARER, 2002). Associada a cada molécula de RNA está a enzima transcriptase reversa (TR) que o classifica na família *Retroviridae* e, devido ao curso crônico da doença, com longo período de incubação, replicação viral persistente e ao envolvimento com o sistema nervoso central, classifica-se no gênero *Lentivirus* (LEVY, 2010).

O sucesso da infecção pelo HIV-1 e sua ampla dispersão pelo mundo envolvem o somatório de estratégias genéticas que garantem ao vírus um longo tempo de viabilidade após uma transmissão bem sucedida. Além da integração do genoma viral ao DNA da célula hospedeira de modo irreversível, formando um provírus que garante sua sobrevivência durante o tempo de vida da célula, as altas taxas de variabilidade genética do HIV e a atuação dos genes acessórios que atuam no processo de lise celular e melhoram o desempenho viral de acordo com as respostas imunes adaptativas do hospedeiro (MALIM; EMERMAN, 2008).

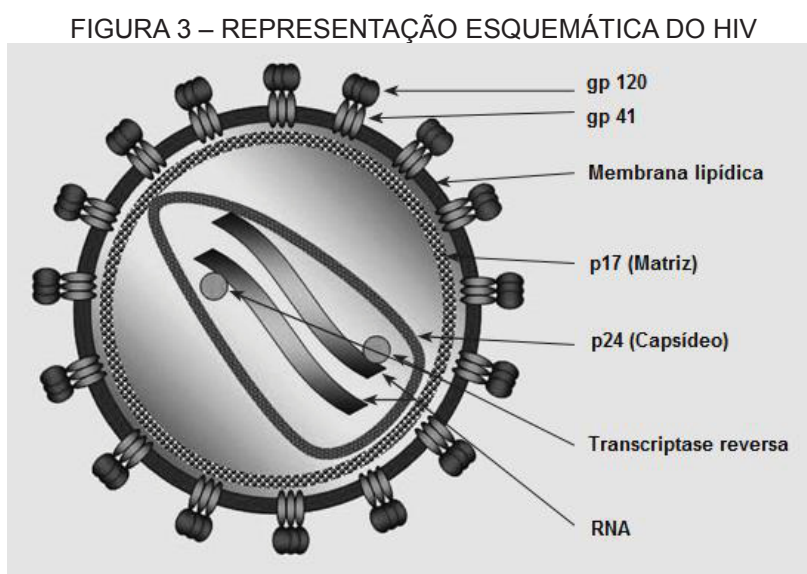
O genoma do HIV-1 é relativamente compacto, pode ser dividido em três fases abertas de leitura (ORF) que vão codificar nove genes principais: três genes estruturais (*gag*, *pol* e *env*) que irão codificar proteínas comuns a todos os retrovírus, além de quatro genes acessórios (*vif*, *vpr*, *nef* e *vpu*) e dois genes regulatórios (*tat* e *rev*) que são fundamentais durante o ciclo de infecção e replicação viral (FRANKEL; YOUNG, 1998) (figura 2).

FIGURA 2 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DOS GENES DO HIV-1



FONTE: adaptado de LANL (2016).

Os genes estruturais localizam-se na primeira (*gag*) e terceira (*pol* e *env*) fases. O gene *gag* é responsável por codificar as principais proteínas estruturais: a proteína da matriz (*p17*) localizada no interior da membrana externa que forma o envelope viral; a proteína do capsídeo (*p24*) que forma uma estrutura cônica que vai abrigar em seu interior o RNA viral; e as proteínas do nucleocapsídeo (*p7* e *p6*) (BARRÉ-SINOUSI, 1996; DELGADO, 2011). O gene *pol* codifica três enzimas necessárias para o ciclo replicativo e infectivo do HIV, as enzimas protease (PR), transcriptase reversa (RT) e integrase (IN) (BARRÉ-SINOUSI, 1996; DELGADO, 2011). Já a região do gene *env*, codifica a proteína *gp160*, uma glicoproteína precursora que, após a ação da protease é clivada nas glicoproteínas *gp120* e *gp41* que vão compor o envelope viral e ter um importante papel na ligação da partícula viral com a célula hospedeira (figura 3) (BARRÉ-SINOUSI, 1996).



FONTE: Adaptado de FANALES-BELASIO *et al.* (2010)

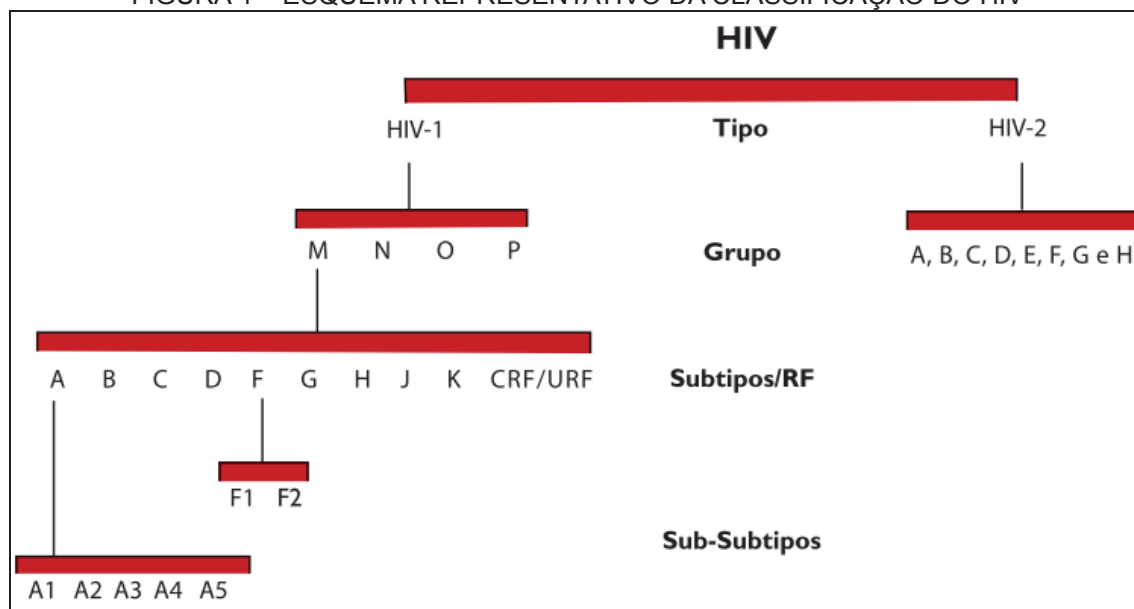
Os mecanismos que envolvem as demais proteínas ainda não são completamente compreendidos. Tat e Rev são proteínas reguladoras, expressas logo no início da infecção e auxiliam na expressão de outros genes. A Tat ativa o processo de transcrição e a Rev facilita o transporte do RNA mensageiro para o citoplasma. A proteína Nef está associada à regulação negativa do receptor CD4 na superfície das células infectadas. Acredita-se que a proteína Vpr tenha importância no transporte do complexo viral até o núcleo da célula logo após a infecção e, diferente da maioria dos retrovírus, torna o HIV capaz de infectar

células que não estão ativamente replicando. A Vpu é uma proteína necessária para a liberação correta das partículas do HIV-1 por meio da lise da célula infectada e a Vif aumenta a infecciosidade dessas partículas (BARRÉ-SINOUSI, 1996; DELGADO, 2011).

4.2.1 Classificação filogenética e variabilidade genética do HIV

Filogeneticamente o HIV é classificado em tipo (HIV-1 e HIV-2), grupos, subtipos e sub-subtipos (Figura 4). O HIV-1 é o tipo mais virulento e disseminado pelo mundo, divide-se nos grupos M (*major*), N (*non-M non-O*), O (*outlier*) (LOUREIRO *et al.*, 2002; FANALES-BELASIO *et al.*, 2010; DELGADO, 2011) e P (*putative*) (PLANTIER *et al.*, 2009). A maioria das infecções ocorre com vírus pertencentes ao grupo M, que possui nove subtipos: A, B, C, D, F, G, H, J e K. Os subtipos A e F dividem-se, ainda, em sub-subtipos A1-A5 e F1-F2, respectivamente (WIGG, 2008; TRIQUES, *et al.*, 2000; DELGADO, 2011; LIHANA *et al.*, 2012).

FIGURA 4 – ESQUEMA REPRESENTATIVO DA CLASSIFICAÇÃO DO HIV



FONTE: BRASIL (2014).

Avaliando a sequencia dos nucleotídeos, os tipos de HIV diferem em torno de 40% a 50% entre si, compartilhando menos de 60% dos aminoácidos nas regiões que codificam as proteínas Gag e Pol e de 30-40% na região da proteína do envelope (ARIËN; VANHAM; ARTS, 2007; GUYADER et al., 1987). Entre os grupos do HIV-1 há um compartilhamento genético menor do que 70%, entre os subtipos a variação de aminoácidos fica entre 17% e 35% e em um mesmo subtipo essa variação é de 8% a 17% (ARIËN; VANHAM; ARTS, 2007; KORBER et al., 2001).

O HIV-2 parece ser menos patogênico, está mais restrito a regiões Centrais e Orientais da África, embora ocorra também em Portugal e Índia e divide-se em oito grupos (A-H) (FANALES-BELASIO et al., 2010; DAMOND et al., 2004). Em contrapartida, o HIV-1 está amplamente disseminado pelo mundo, sendo que o grupo M representa quase a totalidade dos casos conhecidos (JUNQUEIRA; ALMEIDA, 2016). A enorme dispersão do Grupo M deve-se, dentre outros fatores, ao envolvimento do gene *vpu* que funciona como um completo antagonista funcional do fator de restrição intracelular humano teterina (proteína transmembrana do tipo II) que bloqueia a liberação de vírions das células infectadas, garantindo sua maior dispersão (NEIL; ZANG; BIENIASZ, 2008). A infecção decorrente dos grupos N, O e P, são restritas a região de Camarões e seus países vizinhos, com poucos casos descritos fora dessas regiões (JUNQUEIRA; ALMEIDA, 2016). Oliveira e colaboradores (2018) descreveram a presença de coinfeção dos grupos M e O, além de formas recombinantes entre estes grupos do HIV-1 em pacientes Franceses.

Acredita-se que vários fatores estão envolvidos na grande heterogeneidade genética do HIV-1, dentre eles estão: presença das regiões hipervariáveis do gene *env*; elevada taxa de mutação uma vez que a cada ciclo de replicação a transcriptase reversa gera cerca de 0,2 erros por genoma além dos erros ocorridos durante a transcrição do DNA pela polimerase; alta taxa replicativa (com produção de 10^{10} a 10^{12} novos vírions por dia); e frequente recombinação viral, sobretudo em populações onde vários subtipos cocirculam (RAMBAUT, A. et al, 2004; LEVY, 2010).

Estas formas recombinantes podem ser denominadas de formas recombinantes circulantes (CRF) quando são encontradas em pelo menos três indivíduos que não se correlacionam epidemiologicamente ou formas

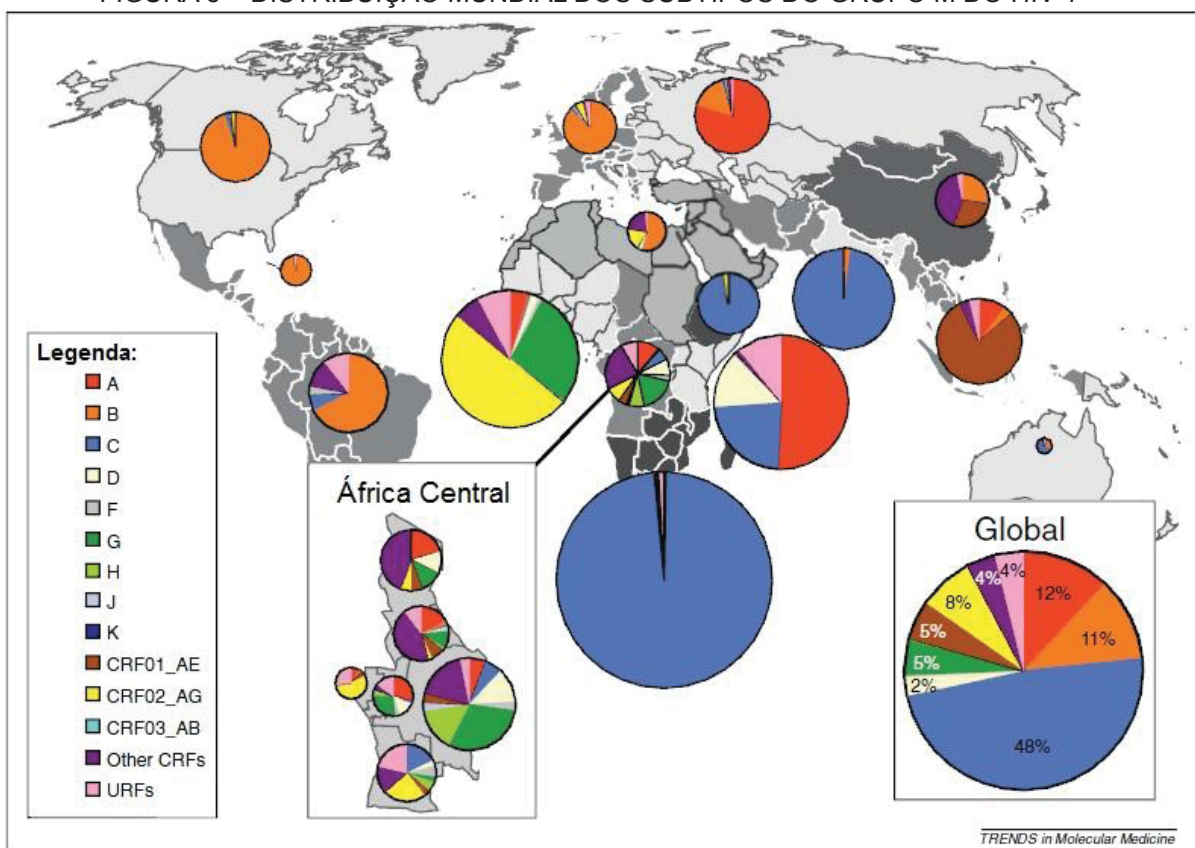
recombinantes únicas (URF) quando não atendem a este critério (LEVY, 2010; BRASIL, 2014). Até julho de 2018, foram registradas 96 CRF para o HIV-1 no banco de dados do *Los Alamos National Laboratory*.

4.2.2 Epidemiologia Molecular do HIV-1

Os diferentes subtipos do HIV-1 e as formas recombinantes possuem distintos padrões de distribuição ao redor do mundo e todas as linhagens “puras” do grupo M foram encontradas nos países da África Central, reforçando a evidência da epidemia do HIV ter se originado nesta região (HEMELAAR, 2012).

A nível global, quase 50% das infecções correspondem ao subtipo C, principalmente em virtude do número de casos registrados nos Países Africanos e na Índia, seguidas pelo subtipo A (12%) com grande incidência na parte Oriental da África e da Europa, e pelo subtipo B (11%) presente, principalmente, no continente Americano e na Europa Ocidental (figura 5) (BUONAGURO; TORNESELLO; BUONAGURO, 2007; HEMELAAR, 2012).

FIGURA 5 – DISTRIBUIÇÃO MUNDIAL DOS SUBTIPOS DO GRUPO M DO HIV-1

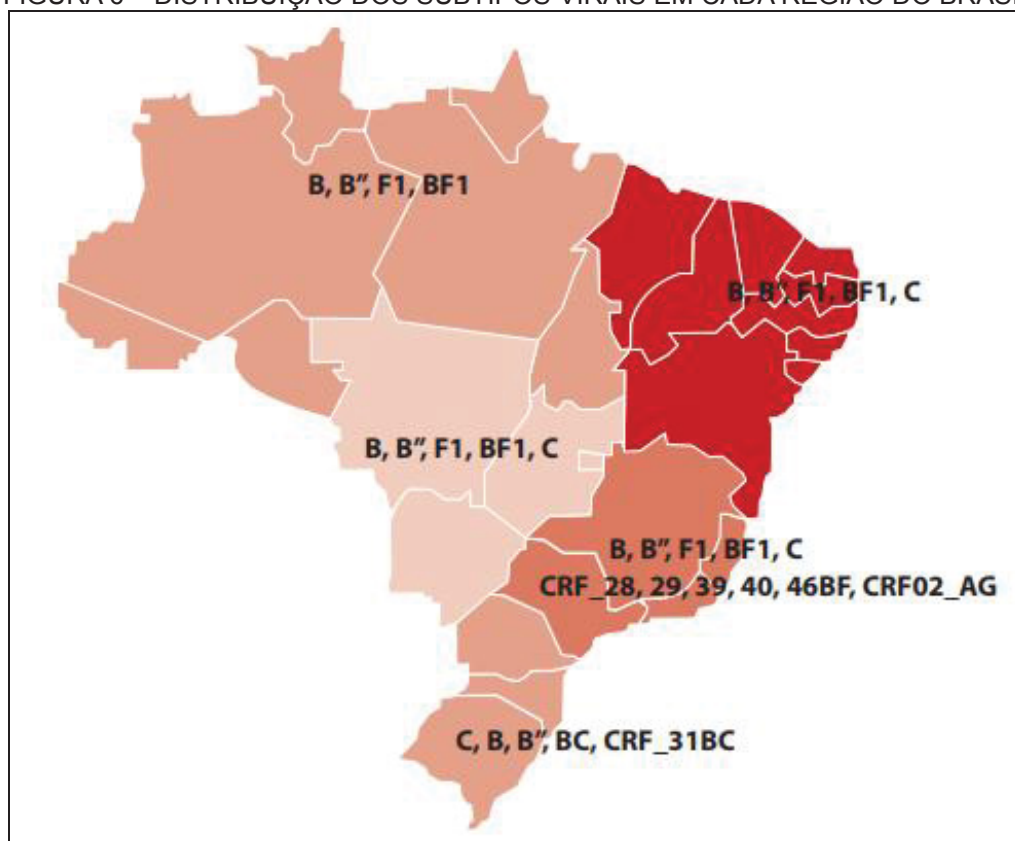


FONTE: Adaptado de HEMELAAR (2012).

Estudos têm apontado um aumento na dispersão do subtipo C em relação aos demais, podendo ter correlação com uma progressão mais lenta da evolução da doença que implicaria no aumento das chances de dispersão viral (ARIËN; VANHAM; ARTS, 2007).

Em virtude da ampla área territorial e das diferenças sociais e culturais, a distribuição dos subtipos do HIV-1 no Brasil varia de acordo com cada região (Figura 6). Nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste existe predomínio dos subtipos B, F, C e de formas recombinantes, enquanto na região Sul, o subtipo mais frequente é o C, seguido pelo B e a forma recombinante BC (BRASIL, 2014).

FIGURA 6 – DISTRIBUIÇÃO DOS SUBTIPOS VIRAIS EM CADA REGIÃO DO BRASIL



FONTE: BRASIL, 2014

Estudos têm apontado que o início da epidemia do subtipo C do HIV-1 no Brasil seria resultado de um evento fundador único ocorrido no Sul do país, relacionado às cepas virais oriundas de Burundi, na África (BELLO et al., 2008). É provável que a entrada do subtipo C tenha ocorrido no estado do Paraná entre os anos de 1960 e 1980, passando a se dispersar com grande frequência para os estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, apresentando rotas migratórias também para o estado de São Paulo (BELLO et al., 2008; VERAS et al., 2011; BELLO et al., 2012).

Graf e colaboradores (2011), avaliando a distribuição dos subtipos do HIV-1, a partir da análise da região *env* de estudos conduzidos na cidade de Florianópolis, apontaram um aumento significativo do subtipo C na população heterossexual de 2004 (56%) para 2009 (83%), ao passo que a presença do subtipo B nesta mesma população passou de 38% para 15% no mesmo período. No entanto, para o estado do Paraná a prevalência do subtipo C ainda não foi observada, estando relacionada com cerca de 20-30% das amostras analisadas de 2003 a 2010. Ferreira e colaboradores (2008) observaram um aumento

significativo nas formas recombinantes BC no Paraná, decorrente de pacientes coinfectados com os subtipos B e C.

A distribuição dos subtipos no Paraná mostra o subtipo B com maior frequência (69% - 57%), seguido pelo C (23% - 21%), F (10% - 5%) e de formas recombinantes (10% - 4%). Apesar da frequência do subtipo B ser mais representativa para ambos os sexos, existe uma tendência do público feminino apresentar um maior número de infecção pelo subtipo C em relação ao público masculino (SILVA et al., 2010; RABONI et al., 2010; TOLEDO et al., 2010). O quadro 1 descreve a distribuição dos subtipos considerando-se apenas os dados referentes às mulheres, evidenciando uma maior porcentagem nos valores referentes ao subtipo C.

QUADRO 1 – DISTRIBUIÇÃO DOS SUBTIPOS DO HIV-1 EM MULHERES NO ESTADO DO PARANÁ

Período das amostras	Local	N	Subtipo do HIV-1				Região avaliada	Referência
			B (%)	C (%)	F (%)	FR (%)		
1987-2008	Curitiba, PR	51	47,1	33,3	11,8	7,9	<i>pol</i>	(SILVA et al., 2010)
2003-2006	Paraná	137	42,3	32,1	7,3	18,3	<i>pol</i>	(TOLEDO et al., 2010)
1999-2007	Paraná	103	43,7	33,0	13,6	9,7	<i>pol</i>	(RABONI et al, 2010)

FONTE: O autor (2018).

No sul do Brasil a transmissão sexual por via vaginal é a principal rota de transmissão do HIV-1, principalmente para o subtipo C e as formas recombinantes BC. Em São Paulo, onde o subtipo B é mais prevalente, a transmissão está associada à prática de sexo anal (VERAS, et al 2011; SILVA, et al 2010).

No estudo de Toledo e colaboradores (2010), em amostras de 2003 a 2006, a prevalência dos subtipos foi similar ao longo dos anos estudados. Houve um predomínio do subtipo B no estado do Paraná em ambos os sexos, com uma maior frequência dos subtipos C e F nas mulheres. Raboni e colaboradores (2010), considerando amostras do mesmo estado e no período de 1999 a 2007, também relataram maior prevalência do subtipo B do HIV-1, apontaram que pacientes infectados com o subtipo C tendem a apresentar maiores taxas de infecção devido ao uso de drogas injetáveis e não encontraram diferenças na mortalidade entre os subtipos. Com relação ao comportamento sexual, considerando ambos os gêneros, 75,5% das infecções se deram em indivíduos

heterossexuais, 14,3% em HSH e 6,1% em homens que fazem sexo com homens e com mulheres (HSHM). Entre as mulheres, todas eram heterossexuais.

Em outro estudo, conduzido por Ferreira e colaboradores (2008), foi analisada tanto a região do gene *pol* como a região do gene *env* do HIV-1, em voluntários predominantemente do sexo masculino. Foi observada uma frequência de 53% do subtipo B, 30% do C, 14% BC, 0,5% F e 0,5% do CF.

Pesquisadores apontaram um aumento na associação do subtipo C do HIV-1 em pacientes que contraíram a infecção mais recente, indicando uma tendência no crescimento da frequência desse subtipo na população (FERREIRA, et al 2008; RABONI, et al. 2010).

Com relação ao subtipo B do HIV-1, na posição dos aminoácidos 15-18 da alça V3 da gp 120 do gene *env* (posição 7158-7169 na referência HXB2), diversos estudos relatam uma assinatura característica que, de acordo com o aminoácido presente na segunda posição do tetrâmero (GXGR), permite determinar diferentes linhagens deste subtipo (PLOTTS, et al, 1993; MORGADO et al., 1994; LEAL & VILLANOVA, 2010; JUNQUEIRA et al., 2013; JUNQUEIRA & ALMEIDA, 2016). Mundialmente a prolina (P) está presente em 94,6% das sequências depositadas no banco de dados do *Los Alamos National Laboratory*, compondo o motivo GPGR, seguido pelo motivo GLGR (leucina na segunda posição) em 2,5% das amostras. Os demais aminoácidos (triptofano – W; glutamina – Q, fenilalanina – F; metionina – M e Arginina – R) representam menos de 1% cada na frequência mundial (LEAL & VILLANOVA, 2010). Junqueira e Almeida (2016) apontam quatro principais variantes genéticas no subtipo B classificadas de acordo com a concentração de transmissão em determinadas áreas geográficas, a saber: a variante Tailandesa (motivo GPGQ); a variante Coreana (motivo GPGS); a variante de Trinidad e Tobago (apresenta a deleção da treonina na parte terminal da alça V3) e a variante Brasileira (motivo GWGR).

No estudo de Leal e Villanova (2010) verificou-se em amostras brasileiras uma frequência de 30,6% do triptofano (W) na segunda posição do tetrâmero GXGR, valor superior à frequência desta mesma variante em qualquer outra região do mundo, fazendo com que este motivo passasse a ser conhecido como a variante Brasileira, Bbr ou B". Em algumas áreas do Brasil, a variante B" mostrou-se altamente prevalente, correspondendo a 57% dos subtipos B detectados em Ribeirão Preto (SP) e 37% dos detectados no Rio de Janeiro (RJ) (MORGADO et

al., 1994; BRASIL, 2016). No estudo conduzido por Ferreira e colaboradores (2008), no município de Curitiba, foi encontrado um predomínio do motivo GPGR entre os subtipos B, com apenas 13% dos achados apresentando o motivo GWGR.

Estudos sugerem que a variante brasileira (B'') é menos patogênica do que outros isolados do HIV-1, tendo sido demonstrada uma maior avidéz de anticorpos na alça V3, o que contribuiria para a progressão mais lenta da doença, com maiores valores de células T CD4+ e valores mais baixos de carga viral, quando comparadas com a variante pandêmica (GPGR) (CASSEB et al., 2004; ARAUJO et al., 2010). Apesar disso, Leite e colaboradores (2017) não evidenciaram diferença na evolução da doença entre as variantes.

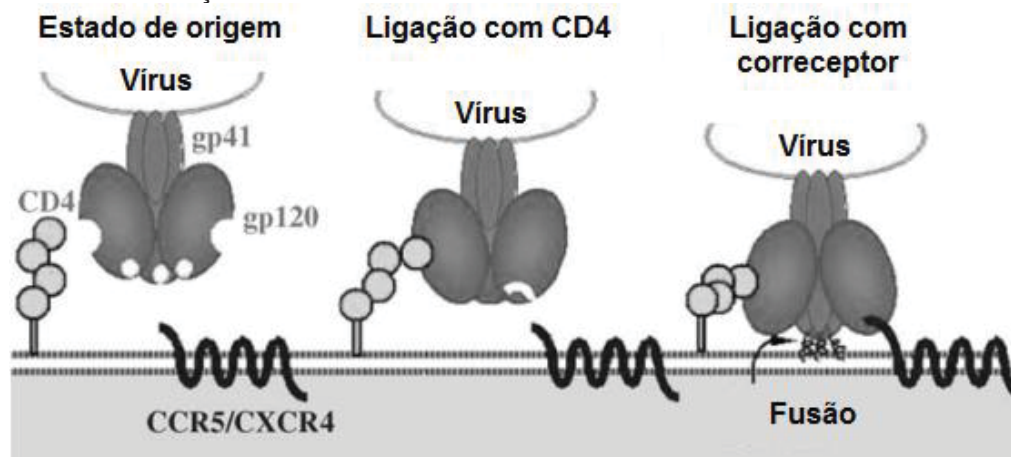
4.2.3 Correceptores de ligação do HIV-1 e tropismo viral

As glicoproteínas sintetizadas a partir da região env formam um complexo composto por três moléculas da gp120 situados mais externamente e uma molécula da gp41 que forma uma estrutura transmembrana. Trata-se de uma região com grande variabilidade genética, composta por cinco regiões hipervariáveis na zona mais externa da gp120 (V1-V5), com alto nível de glicosilação que dificulta a ligação dos anticorpos (DELGADO, 2011).

A funcionalidade das estruturas presentes na região do envelope viral garante a interação correta do vírus com a célula do hospedeiro. O CD4 é o principal receptor celular utilizado pelo HIV e uma vez que o domínio externo da gp 120 se liga ao CD4, ocorre uma mudança de conformação nessa estrutura que permite a ligação do vírus com os correceptores celulares (CLAPHAM, MCKNIGHT, 2002). A terceira região variável (V3) consiste de 35 aminoácidos que irão determinar qual correceptor celular será utilizado pelo vírus (tropismo viral) (HUANG, 2005). O CCR5 e o CXCR4 são os principais correceptores do HIV-1. De acordo com o correceptor utilizado para a ligação do vírus pode-se classificar os isolados do HIV-1 em vírus R5 (não formadores de sincício) quando fazem uso do CCR5, como vírus X4 (formadores de sincício) que se ligam ao CXCR4, ou vírus R5X4 quando são capazes de utilizar ambos correceptores (BERGER, et al., 1998; COETZER, et al., 2006).

Uma vez que ocorreu a ligação com os correceptores, a gp41 fica exposta levando à fusão da partícula viral com a célula do hospedeiro, permitindo que o material genético do vírus entre. A figura 7 indica as etapas de ligação das glicoproteínas do envelope viral com os receptores CD4 e correceptores celulares (SIERRA; KUPFER; KAISER, 2005).

FIGURA 7 – LIGAÇÃO DO HIV COM O RECEPTOR E CORRECEPTORES CELULARES



FONTE: Adaptado de SIERRA; KUPFER; KAISER (2005).

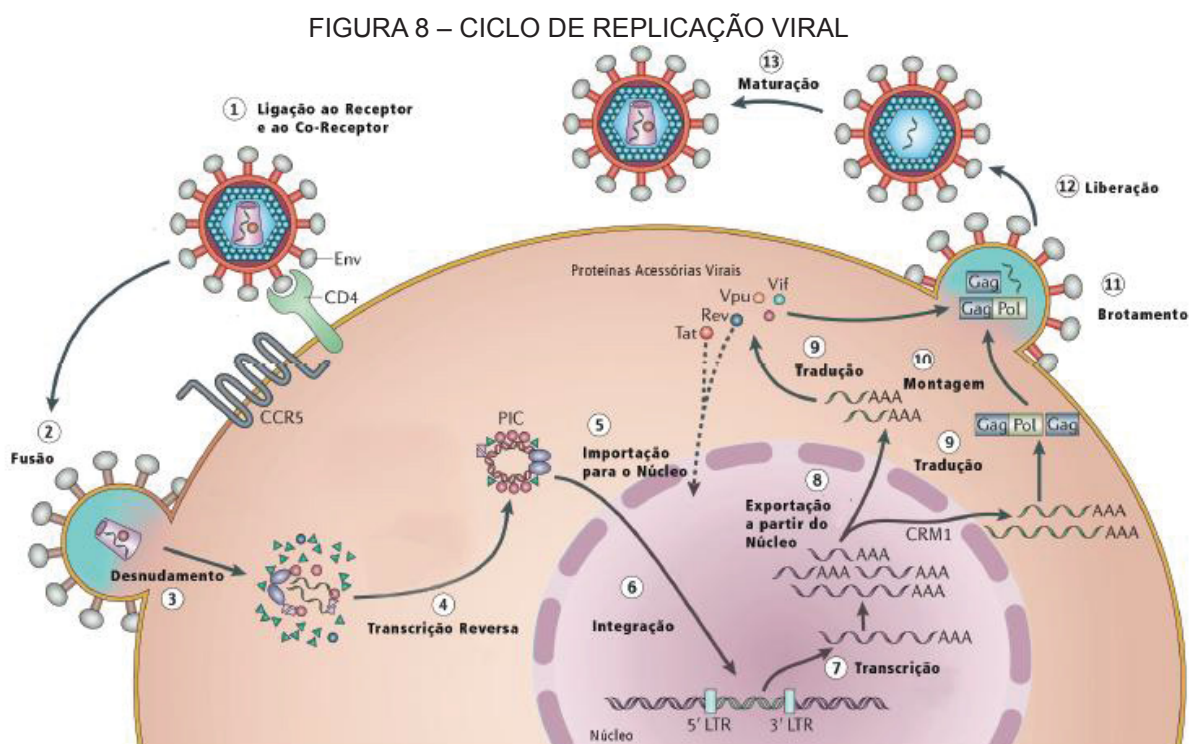
Pesquisas sugerem que a ligação com diferentes correceptores pode estar associada a diferentes padrões de progressão da doença. De modo geral, a infecção pelo HIV-1 se inicia utilizando os correceptores CCR5, e em 50% a 60% dos pacientes as cepas virais capazes de utilizar o CXCR4 irão emergir no curso da infecção (SIERRA; KUPFER; KAISER, 2005). Estima-se que, para amostras do subtipo B, o tropismo viral pelo CXCR4 tenha sido reportado em 18% das sequências do envelope. Para amostras do subtipo C, que parecem estar vinculadas a um curso mais brando da infecção, foram identificados poucos vírus X4 mesmo nos estágios tardios da doença (COETZER, et al., 2006; ARIËN; VANHAM; ARTS, 2007; FERREIRA et al., 2008). Acredita-se que a região V3 das cepas R5 do subtipo C são menos capazes de tolerar as substituições de aminoácidos envolvidas na aquisição do fenótipo X4 e, por isso, acaba aparecendo em menor quantidade (HARTLEY et al., 2005).

Em um estudo realizado por Ferreira e colaboradores (2008) com amostras de pacientes do município de Curitiba, todos os pacientes do subtipo C apresentaram tropismo CCR5, ao passo que dentre os pacientes do subtipo B, 26% apresentaram tropismo CXCR4.

4.3 CICLO REPLICATIVO DO HIV-1 E A PATOGENIA DA AIDS

O ciclo replicativo do HIV-1 se inicia com a ligação e entrada do vírus nas células T CD4+, normalmente com o auxílio dos correceptores CCR5 e/ou CXCR4 (LEVY, 2010; FANALES-BELASIO et al., 2010). Estas células são infectadas mais facilmente justamente devido à presença abundante destes receptores para quimiocinas, que servem de correceptores para o HIV e também pela presença de fatores de transcrição nuclear necessários para a expressão do DNA proviral (WIGG, 2008).

Em virtude desta fusão, ocorre a liberação do material genético viral no citoplasma da célula. A transcriptase reversa inicia a transcrição do RNA viral para DNA e, através da enzima integrase, o DNA proviral é inserido no cromossomo da célula do hospedeiro, originando a estrutura conhecida por provirus. A partir daí o vírus terá seu material genético sintetizado pelos mecanismos de leitura da célula infectada. Uma vez que as estruturas virais tenham sido produzidas ocorre a montagem e liberação da nova partícula viral (Figura 8) (LEVY, 2010; FANALES-BELASIO et al., 2010).

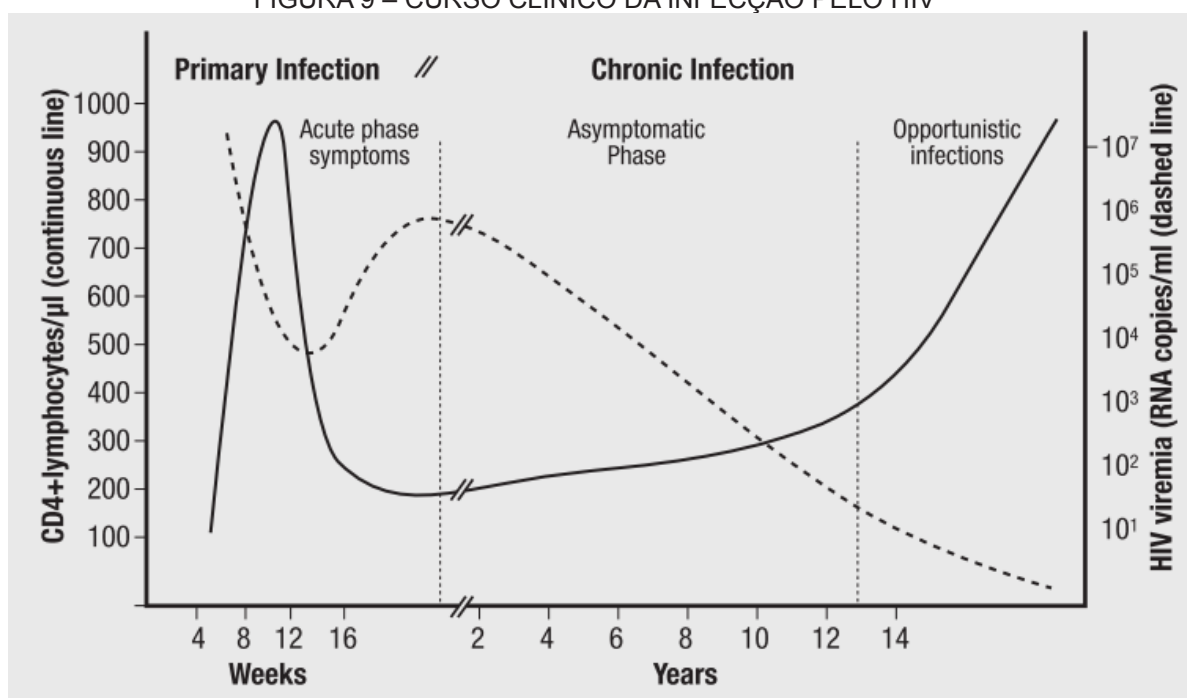


FONTE: Adaptado por BRASIL (2014) de ENGELMAN; CHEREPANOV, 2012.

Uma vez que ocorreu a infecção existem três estágios clínicos pelos quais o paciente irá passar: fase aguda sintomática, crônica assintomática (latência clínica) e outra fase crônica com presença de doenças oportunistas que caracteriza o quadro clínico da aids (Figura 9) (FANALES-BELASIO et al., 2010).

Na fase aguda da infecção pelo HIV a maioria das pessoas poderá apresentar sintomas como febre, perda de peso, exantema maculopapular, mal estar e mialgia (FANALES-BELASIO et al., 2010). Estes sintomas constituem a Síndrome Retroviral Aguda (SRA) e costumam ocorrer nas primeiras semanas após a infecção (LEVY, 2010). A sorologia para a detecção de anticorpos anti-HIV geralmente é negativa nessa fase, mas o diagnóstico pode ser realizado com a utilização de métodos moleculares para a detecção do RNA viral (BRASIL, 2015). Neste período existe uma elevada carga viral combinada com um declínio acentuado das células T CD4+ (FANALES-BELASIO et al., 2010), e os altos níveis de viremia tornam o indivíduo altamente infectante (BRASIL, 2015).

FIGURA 9 – CURSO CLÍNICO DA INFECÇÃO PELO HIV



FONTE: FANALES-BELASIO et al (2010)

Quando o sistema imunológico responde a esta infecção, produzindo anticorpos, ocorre a soroconversão. Com isso, a carga viral declina e os valores de linfócitos T CD4+ aumentam, porém não retornam aos níveis iniciais. Poucas semanas depois da fase aguda o paciente entra em um período clínico

assintomático (latência clínica) normalmente associado com uma baixa carga viral. Os níveis de linfócitos T CD4+ vão reduzindo lentamente ao longo dos anos o que favorece a replicação viral com o comprometimento do sistema imunológico e o aparecimento de doenças oportunistas quando se define o estágio da aids. As doenças oportunistas mais comuns são causadas por *Pneumocystis jirovecii*, *Candida albicans*, citomegalovirus, herpes zoster, *Cryptosporidium sp*, *Giardia lamblia* e *Isospora belli*. Esta fase é caracterizada por uma grande perda de massa corporal, febre, doenças gastrointestinais e respiratórias (FANALES-BELASIO et al., 2010). Também podem ocorrer doenças neoplásicas, as mais comuns são o sarcoma de Kaposi, o linfoma não Hodgkin e o câncer de colo uterino em mulheres jovens. Nestas situações a contagem de células T CD4+ costuma estar abaixo de 200 células/mm³, indicando um grande comprometimento do sistema imunológico (BRASIL, 2015).

De acordo com o tempo decorrido desde o início da infecção, diferentes marcadores sorológicos e RNA viral são expressos. O primeiro marcador que aparece, logo nas primeiras semanas de infecção, é o RNA viral, cujos níveis aumentam exponencialmente. Conforme novos vírus são sintetizados, em torno do 20º dia da infecção, é possível detectar a proteína p24 que compõe o capsídeo viral. Quando o organismo percebe a infecção o sistema imunológico começa a combatê-la, reduzindo os níveis de RNA viral drasticamente, até se alcançar o ponto de equilíbrio (*set-point*) da infecção (BUTTÒ et al., 2010). A partir da terceira ou quarta semana são detectados os anticorpos IgM, específicos do HIV e, em média a partir da quarta ou quinta semanas são detectados os anticorpos IgG. O intervalo de tempo que existe desde o momento da infecção até o aparecimento dos primeiros anticorpos específicos para HIV é conhecido como janela imunológica e pode variar de um paciente a outro, conforme o tempo de resposta do organismo (BUTTÒ et al., 2010; BRASIL, 2014). Conhecer a dinâmica imunológica e molecular destes marcadores é importante para a escolha do teste a ser empregado no diagnóstico da infecção e para caracterizar em qual fase da infecção o paciente está inserido.

4.4 COINFECÇÃO COM HEPATITES VIRAIS

Os vírus da imunodeficiência humana e das hepatites B e C compartilham as mesmas vias de transmissão e representam um aspecto importante nas questões de saúde pública. Estudos apontam que a infecção pelo HIV acelera doenças no fígado causadas pelas hepatites (LACOMBE; ROCKSTROH, 2012), e que, em pacientes coinfectedados com o vírus da Hepatite C há um aumento de seis a 20% no risco de transmissão vertical do HIV e de 3% na transmissão pela via sexual (OLIVEIRA; MERCHAN-HAMANN; AMORIM, 2014).

Estima-se que no mundo, cerca de 30% das pessoas vivendo com HIV possuam coinfecção com os vírus das Hepatites B ou C (LACOMBE; ROCKSTROH, 2012). Em uma breve comunicação apresentada por Oliveira, Merchan-Hamann e Amorim (2014), foi indicado que, no Brasil, de 1999 a 2010, foram reportados 3724 casos de coinfecções do HIV com Hepatite B (HIV/HBV) (81,0% homens, 19% mulheres) e 5932 casos de coinfecções do HIV com Hepatite C (HIV/HCV) (73,7% homens, 26,3% mulheres). O estudo mostrou que as mulheres têm menor frequência de coinfecção que os homens e que o risco de coinfecções aumentam com a idade. A região Sul ocupa o segundo lugar no *ranking* nacional no que se refere à coinfecção do HIV com os vírus das Hepatites B e C, compreendendo 23,2% e 28,5% das coinfecções do país, respectivamente.

Estudos conduzidos no Brasil mostram que cerca de 6% dos indivíduos com HIV são positivos para HBV e de 5% a 18% são positivos para HCV (OLIVEIRA; MERCHAN-HAMANN; AMORIM, 2014), mas as taxas de coinfecção HIV/HCV podem chegar a 54% dependendo da região investigada e do desenho do estudo (TIZZOT, et al., 2014). No município de Curitiba, estudos conduzidos em um hospital universitário terciário, dentre os pacientes HIV positivos foi encontrada uma taxa de 1,3% de coinfecção HIV/HBV e de 4% a 12,9% de coinfecção HIV/HCV (TIZZOT, et al., 2014; AVANZI et al., 2017). Avanzi e colaboradores (2017) demonstraram haver uma associação do tempo de infecção pelo HIV com uma maior probabilidade de coinfecção com hepatites virais; maior frequência de hepatites nos pacientes do subtipo C do HIV-1 e uma maior frequência dos vírus R5 (64,7%). Estudos apontam uma alta frequência de UDI em pacientes coinfectedados com HIV/HCV e um maior predomínio desta coinfecção no público masculino (TIZZOT, et al., 2014; AVANZI et al., 2017). De

acordo com dados apontados por Tizzot e colaboradores (2014), no município de Curitiba a presença hepatite C em pacientes HIV pode chegar a ser 88 vezes maior do que na população geral.

4.5 TERAPIA ANTIRRETROVIRAL E ADESÃO AO TRATAMENTO

O Ministério da Saúde (2015) estima que pessoas portadoras do HIV-1 e que não realizam nenhum esquema de terapia antirretroviral (TARV) levam em média dez anos para atingir o estágio final da doença, onde ocorre o aparecimento de doenças oportunistas. Este tempo pode variar de acordo com a resposta imunológica de cada indivíduo. A utilização ampla e precoce da TARV visa diminuir os níveis de transmissão do HIV e diminuir a morbidade e mortalidade dos portadores do HIV melhorando a qualidade e a expectativa de vida (BRASIL, 2015).

Os primeiros medicamentos antirretrovirais surgiram na década de 80, sendo gradualmente substituídos por medicamentos altamente efetivos (HAART), que combinados, atuam em diferentes etapas do processo de replicação viral, impedindo a destruição das células do sistema imunológico, aumentando o tempo e a qualidade de vida dos portadores da doença. Desde 1996, o Brasil distribui gratuitamente os medicamentos para todos os pacientes que apresentem indicação do tratamento. Atualmente, existem 22 medicamentos divididos em cinco classes que variam conforme o mecanismo de ação. São elas: Inibidores Nucleosídeos da Transcriptase Reversa, Inibidores Não Nucleosídeos da Transcriptase Reversa, Inibidores de Protease, Inibidores de fusão; Inibidores da Integrase (BRASIL, 2017).

Desde 2015 a recomendação atual da OMS é estimular o início imediato da TARV para todas as pessoas que vivem com HIV/aids, independente dos valores de LT CD4+. No entanto, é preciso haver concordância por parte do paciente, com entendimento dos riscos e benefícios envolvidos no início das medicações. A adesão do paciente é fator crucial no bom desempenho da terapia e, uma vez que o esquema seja começado não deve ser interrompido (BRASIL, 2015).

O uso dos medicamentos antirretrovirais diminuiu significativamente, mas não elimina completamente o risco da transmissão do HIV, e a presença de IST são fatores que aumentam as possibilidades de transmissão e, por isso, mesmo que os níveis da carga viral sejam indetectáveis, é importante recomendar a utilização de preservativos. Assim, o monitoramento laboratorial da infecção pelo HIV através da contagem de células T CD4+ e da carga viral é importante, sobretudo para identificar possíveis falhas terapêuticas. A contagem das células T CD4+ permite avaliar o grau de comprometimento do sistema imunológico e a recuperação da resposta imunológica diante de uma TARV vigente. Estudos indicam que a contagem periódica de células T CD4+ para pacientes com carga viral indetectável e LT CD4+ superior a 350 células/mm³, não traz benefícios no monitoramento clínico-laboratorial. Assim, conforme a situação clínica do paciente não é indicada a realização da contagem de LT CD4+ na mesma periodicidade da carga viral. O Ministério da Saúde indica diferentes fluxogramas para a realização dos exames conforme o quadro clínico de cada paciente (BRASIL, 2015).

5 METODOLOGIA

5.1 CASUÍSTICA

Trata-se de um estudo transversal com coleta retrospectiva de dados a partir de uma amostra inicial de 513 pacientes, do sexo feminino, HIV-1 positivas, que foram atendidas no Complexo Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (CHC-UFPR) no período de março de 2013 a março de 2014 e que realizaram coleta de sangue para análise da carga viral neste serviço, portanto trata-se de uma amostragem por conveniência.

No referido Hospital, localizado no município de Curitiba, o atendimento é exclusivo do Sistema Único de Saúde (SUS) e referenciado para pacientes de média e alta complexidade. No período de março de 2013 a março de 2014 o ambulatório de Infectologia atendeu cerca de 1250 pacientes HIV positivos, dos quais 556 (44,5%) foram mulheres. Destas, 513 realizaram o exame de contagem da carga viral através do CHC-UFPR e possuíam amostras de *buffy coat* (concentrado de leucócitos) previamente estocadas à -80°C decorrente do trabalho realizado por Santos (2017).

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas em Seres Humanos do CHC da UFPR, sob o número CAAE 54131716.2.0000.0096 (Anexo 1).

5.1.1 Critérios de inclusão

Para efeitos de inclusão no estudo considerou-se:

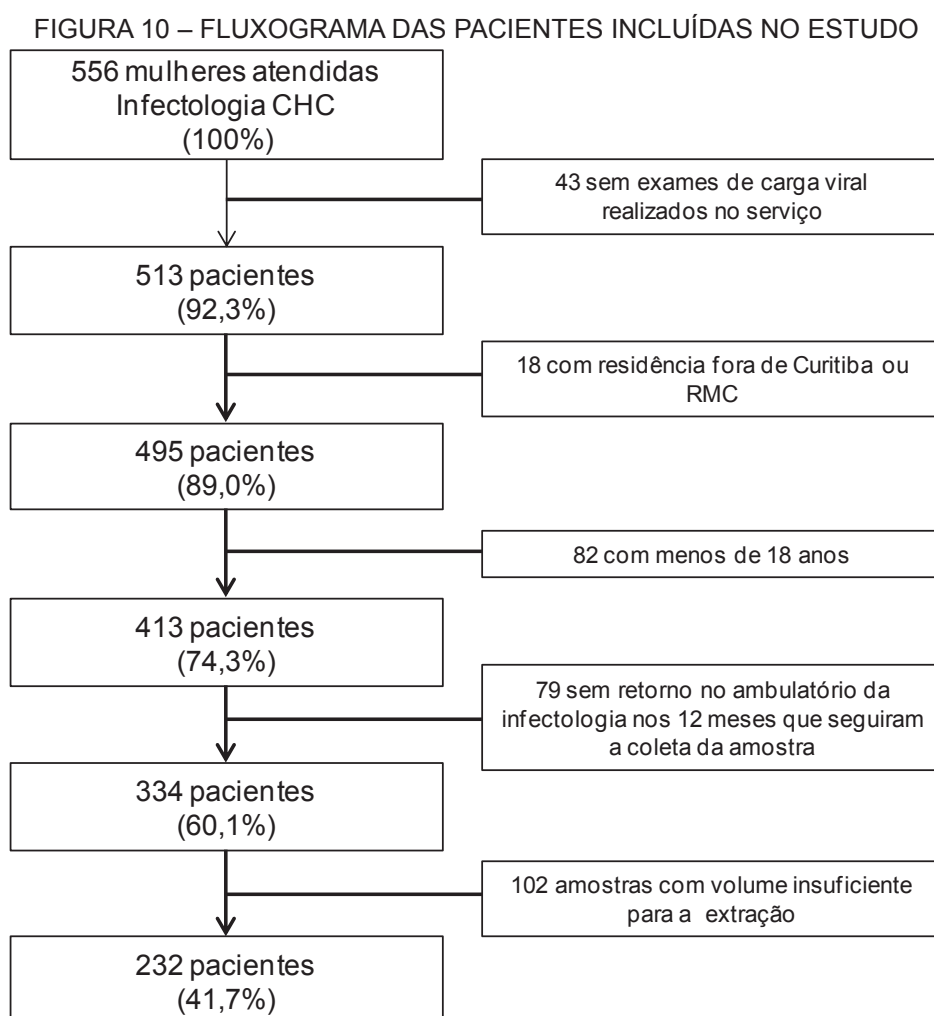
- Mulheres HIV-1 positivas que tiveram coleta de sangue para contagem da carga viral no CHC-UFPR entre março de 2013 a março de 2014
- Idade igual ou superior a 18 anos
- Residentes em Curitiba ou Região Metropolitana
- Pelo menos um retorno no ambulatório da infectologia do CHC-UFPR nos 12 meses que seguiram a coleta da amostra

5.1.2 Critérios de exclusão

Como critérios de exclusão no estudo considerou-se:

- Pacientes cuja amostra tivesse volume de *buffy coat* insuficiente para a extração do DNA proviral.

Após a aplicação dos critérios de exclusão, a amostra resultou em um universo de 232 pacientes (Figura 10).



FONTE: O autor (2018).

5.2 REVISÃO DOS PRONTUÁRIOS E TCLE

Para a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), foram consultados os retornos agendados no Sistema de Informação Hospitalar (SIH) do CHC-UFPR de todas as pacientes incluídas no estudo e a aplicação do termo se deu nos ambulatórios, anteriormente à consulta da paciente de modo que não houvesse prejuízo ao andamento das consultas e foi realizada sempre pelo mesmo pesquisador.

A análise dos prontuários para levantamento dos dados clínicos e epidemiológicos ocorreu mediante a solicitação junto ao Serviço de Arquivo Hospitalar do CHC-UFPR. Apenas dois pesquisadores foram envolvidos nesta etapa e, a fim de padronizar as análises, foi gerada uma ficha a ser preenchida durante a consulta dos dados nos prontuários médicos (Apêndice 2).

Nos prontuários médicos coletou-se informações acerca de resultados para os marcadores sorológicos, HBsAg, HBcIgM e anti HBcIgG, anti-HCV, histórico obstétrico, início do uso de medicação antirretroviral, ano e circunstância do diagnóstico, provável modo de infecção, óbito e valores de células T CD4+ e da Carga Viral.

A determinação do tempo de diagnóstico considerou dados obtidos junto ao Serviço de Epidemiologia do CHC-UFPR e também da revisão dos prontuários. Uma vez coletados estes dados, optou-se por separar as pacientes em dois grupos: a) 0-10 anos de diagnóstico e, b) diagnóstico superior a 10 anos, contados com relação ao ano em que houve a coleta da amostra utilizada no presente estudo (março 2013 a março 2014).

Os dados de Carga Viral, contagem das células T CD4+ e uso de antirretrovirais foram verificados em dois momentos: no mesmo período em que houve a coleta da amostra utilizada no presente estudo (março de 2013 a março 2014) e, também, nos valores mais recentes disponíveis no prontuário médico, que variou de 2015 a 2017 de acordo com o retorno ambulatorial das pacientes.

Dentre as circunstâncias do diagnóstico houve a classificação da seguinte maneira: presença de infecções oportunistas, gestação, diagnóstico no companheiro ou no filho, transmissão vertical, doação de sangue, exame por iniciativa própria ou investigação de outros sintomas. Os fatores classificados como “investigação de outros sintomas” compreenderam as seguintes situações:

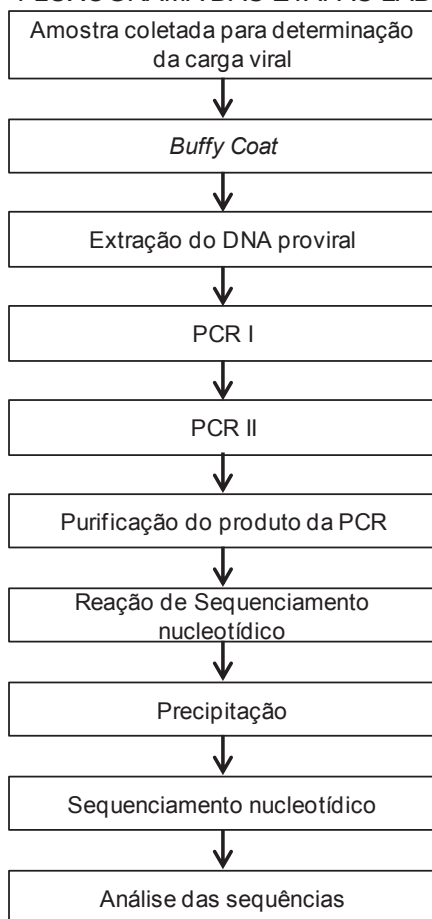
investigação de meningites, hepatites, sífilis, IST, púrpura, neoplasias, infertilidade, lesões de pele, uso de drogas, perda de peso, vômitos e dores abdominais.

Através de consulta ao SICLOM (Sistema de Controle Logístico de Medicamentos) foi possível verificar a frequência de retirada da medicação das pacientes nas unidades de dispensação. Assim, considerando-se o período de 2013 a 2017, as pacientes foram divididas em dois grupos: as que possuíam retiradas de medicação igual ou superior a 95% das vezes e as que possuíam frequência de retirada de medicamento inferior a 95%.

5.3 METODOLOGIAS DIAGNÓSTICAS

A figura 11 sintetiza as etapas das metodologias diagnósticas empregadas no estudo.

FIGURA 11 – FLUXOGRAMA DAS ETAPAS LABORATORIAIS



FONTE: O autor (2018).

5.3.1 Obtenção do concentrado de leucócitos (*buffy coat*)

As amostras de sangue, coletadas em frascos com o anticoagulante EDTA foram processadas para obtenção do concentrado de leucócitos (*buffy coat*). Utilizou-se o reagente *Histopaque®-1077* (*Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA*) de densidade 1.077g/mL seguindo as informações do fabricante para o processamento da amostra clínica a fim de se obter uma concentração na ordem de 10^7 células/mL. Cada amostra foi estocada à -80°C até a etapa de extração do DNA proviral.

5.3.2 Extração do DNA proviral

A extração do DNA proviral do HIV-1 foi realizada utilizando-se o Kit comercial *Purelink® Genomic DNA Mini Kit* (*Invitrogen, CA, USA*) conforme as especificações do fabricante. Em um tubo de 1,5mL transferiu-se 200 μL do concentrado de leucócitos, adicionou-se 20 μL de proteinase K e 20 μL de RNase A. O tubo foi submetido à leve homogeneização em agitador tipo vórtex e mantido em temperatura ambiente por dois minutos. Acrescentou-se 200 μL de tampão de lise e realizou-se nova homogeneização por dez segundos. Os microtubos foram incubados a 55°C por 10 minutos. Após a incubação, adicionou-se 200 μL de etanol PA (96% a 100%) e homogeneizou-se em agitador por cinco segundos. A mistura foi transferida para tubo contendo a coluna de sílica e centrifugado por um minuto a $10.000\times g$. A coluna de sílica foi colocada sob um novo tubo de coleta, adicionou-se 500 μL de tampão de lavagem e centrifugou-se por um minuto a $10.000\times g$. Descartou-se o filtrado, adicionou-se mais 500 μL de tampão de lavagem e realizou-se nova centrifugação por três minutos em velocidade máxima. A coluna de sílica foi transferida para novo tubo de coleta e 80 μL do tampão de eluição foram adicionados diretamente sobre a membrana de sílica. O material foi mantido em temperatura ambiente por um minuto e centrifugado na velocidade máxima por um minuto. O material recuperado foi utilizado nas reações moleculares subsequentes.

Após a extração o material foi quantificado no espectrofotômetro DeNovix® modelo DS-11, e permaneceu estocado à -20°C até a etapa de amplificação do material genético.

5.3.3 Amplificação do material genético

A amplificação do material genético ocorreu por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), utilizando-se a enzima *Taq Platinum® PCR SuperMix (Invitrogen Life Technologies)* e oligonucleotídios iniciadores (*primers*) que amplificam a região V3-V5_{gp120} do envelope viral conforme descrito por Delwart e colaboradores (1995).

Esta etapa consistiu de duas reações. Na primeira, para cada amostra utilizou-se de 150-300ng de DNA, 5µL de tampão da enzima, 1,5µL de MgCl₂, 1µL de mix de dNTP (10mM), 1µL de cada iniciador (ED5 e ED12) à 10pmol/µL e 0,25µL da enzima *Taq Platinum®*, totalizando um volume final de 50 µL que foi completado com a adição de água ultrapura. Tal reação permitiu a amplificação da região V1 até a região V5, correspondente à cerca de 1200 pares de base (pb). Na segunda PCR (*nested-PCR*), utilizou-se 5µL do produto amplificado (*amplicons*) da primeira PCR, 5µL de tampão a enzima, 1,5µL de MgCl₂, 1µL de mix de dNTP (10mM), 1µL de cada iniciador (ES7 e ES8) à 10pmol/µL e 0,25µL da enzima *Taq Platinum®*, totalizando um volume final de 50µL. Esta reação permitiu a amplificação da região V3-V5, correspondente a um produto de cerca de 666pb. O quadro 2 descreve a sequência de oligonucleotídeos utilizados bem como a posição na fita de DNA proviral de cada iniciador em relação à sequência referência K03544 (HXB2) depositada no *GenBank* (disponível em www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore). Para todos os testes foram incluídos controles negativos.

QUADRO 2 – SEQUÊNCIA DOS OLIGONUCLEOTÍDEOS INICIADORES UTILIZADOS

Iniciadores	Sequência de nucleotídeos (5' - 3')	Posição em HXB2
ED5	5'-ATGGGATCAAAGCCTAAAGCCATGTG	6556-6581
ED12	5'-AGTGCTTCCTGCTGCTCCAAGAACCCAAG	7822-7792
ES7	5'-tgtaaaacgacgccagctCTGTTAAATGGCAGTCTAGC	7001-7020
ES8	5'-caggaaacagctatgaccCACTTCTCCAATTGTCCCTCA	7647-7667

FONTE: Adaptado de DELWART et al., (1995)

As condições utilizadas para a termociclagem na primeira PCR foram: um ciclo de 94°C por dois minutos; seguido de 35 ciclos de 94°C por 30 segundos (desnaturação), 50°C por 30 segundos (anelamento) e 72°C por um minuto e 30 segundos (extensão). A *nested* PCR foi realizada nas mesmas condições alterando apenas a etapa de extensão que durou um minuto. Ambas PCRs foram realizadas no termociclador *Veriti® Thermal Cycler (Applied Biosystems®)*.

5.3.4 Visualização do produto amplificado

A visualização do produto amplificado ocorreu com a aplicação de 10µL do produto da *nested* PCR em um gel de agarose 1,5%, corado com brometo de etídio 0,1µL/mL. As condições para a eletroforese se deu em tampão TBE 1X por cerca de 50 minutos a 100V. A visualização do gel se deu em transiluminador, sob luz ultravioleta e, por meio da comparação com um peso molecular conhecido (KASVI K9-100L, de 100pb). Os géis foram fotografados e as bandas foram analisadas utilizando-se o programa E-capt. Apenas amostras com banda na altura esperada (666pb) foram selecionadas para a purificação.

5.3.5 Purificação e quantificação do produto de PCR

Para as amostras que tiveram a visualização de banda na altura esperada, o produto obtido da *nested-PCR* foi purificado utilizando-se o Kit comercial *QIAquick Gel Extraction® (Qiagen, Hilden, Germany)*. Assim, a cada amostra adicionou-se 120µL de Buffer QG em 40µL do produto amplificado e manteve-se por três minutos em temperatura ambiente. A mistura foi transferida para uma coluna de sílica e mantida por um minuto antes de ser centrifugada à 11000xg por um minuto. O filtrado foi descartado e adicionado 750µL de Buffer PE. Aguardou-se por três minutos e submeteu-se a amostra a nova centrifugação a 11000xg por um minuto. Descartou-se o filtrado e a centrifugação foi repetida. A coluna de sílica foi transferida para novo tubo de coleta e 50µL de tampão de eluição foi adicionado no centro da coluna. Após dois minutos em temperatura ambiente a amostra foi centrifugada por um minuto em velocidade máxima.

Após a purificação as amostras foram novamente quantificadas no espectrofotômetro *DeNovix®* modelo *DS-11* e 5µL do produto purificado foram

aplicados em gel de agarose 1,5% corado com brometo de etídio 0,01%. O produto purificado permaneceu estocado à -80°C até a etapa de sequenciamento nucleotídico.

5.3.6 Reação de sequenciamento nucleotídico

Cerca de 30ng de cada produto purificado foram submetidos a uma reação de amplificação de marcação fluorescente com o *Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit* (Applied Biosystems Division, Foster City, CA, USA). A reação foi realizada em microplaca de 96 poços (MicroAmp Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) e foram realizadas duas reações para cada produto amplificado. Para cada amostra foi utilizado 1µL do Pré Mix Big Dye, 1,5µL do tampão, 0,5µL do inicializador desejado (ES7 - para a fita senso e ES8 - para a fita anti-senso, à 10pmol/µL) e água ultrapura suficiente para completar o volume final e 10µL.

As condições utilizadas para a termociclagem foram: um ciclo de 96°C por um minuto; seguido de 35 ciclos de 96°C por 15 segundos (desnaturação), 50°C por 15 segundos (anelamento) e 60°C por quatro minutos (extensão). A reação ocorreu no termociclador *Veriti® Thermal Cycler* (Applied Biosystems®).

Concluída a reação de sequenciamento, o produto da reação de marcação fluorescente foi purificado e precipitado. Para tal, foi acrescentado 66µL de etanol absoluto, 2µL de acetato de amônio 7,5mol/L e 10µL de água ultrapura em cada amostra, manteve-se as amostras em gelo e ao abrigo da luz por 15 minutos. Centrifugou-se as amostras a 2200xg por 45 minutos e o sobrenadante foi descartado por inversão. Adicionou-se 100µL de etanol 70% preparado no momento do uso, procedeu-se nova centrifugação de 2200xg por 20 minutos e foi descartado o sobrenadante. As amostras foram mantidas em temperatura ambiente, ao abrigo da luz por um período de 12 a 14 horas. Após, as amostras permaneceram estocadas à -20°C até o sequenciamento nucleotídico.

O sequenciamento nucleotídico foi realizado no Departamento de Bioquímica, no Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná. As amostras precipitadas foram solubilizadas com 10µL de formamida *HiDi™* (Applied Biosystems, Inc. USA), aquecidas à 96°C por 5 minutos e mantidas em

gelo até o início do sequenciamento realizado no sequenciador automático modelo 3500xL *Genetic Analyzer* (Applied Biosystems, Inc. USA).

5.3.7 Análise das sequências obtidas e determinação dos subtipos do HIV-1

As sequências obtidas foram analisadas e editadas por meio do software *DNASTAR Lasergene SeqMan Program version 7.0* (DNASTAR, Inc., Madison, WI). A análise das sequências consenso geradas foi realizada com o auxílio de ferramentas *online* disponíveis no *sítio web* do *Los Alamos National Laboratory HIV Database* (LANL) (<http://www.hiv.lanl.gov/content/index>) e *REGA HIV-1 Subtyping Tool - Version 3.0* (<http://dbpartners.stanford.edu:8080/RegaSubtyping/stanford-hiv/typingtool/>) para fazer uma determinação inicial do subtipo viral na região *env* analisada.

Para o alinhamento das sequências consenso com as sequências referências do grupo M do HIV-1, extraídas do banco de dados *LANL*, utilizou-se a ferramenta *Clustal W* (HIGGINS et al., 1994) implementada no programa *MEGA* versão 7.0 (KUMAR; STECHER; TAMURA, 2016). A reconstrução filogenética foi realizada pelo método de Máxima Verossimilhança (*Maximum Likelihood - ML*), com o modelo de substituição nucleotídica *GTR+G+I*, com um *Bootstrap* de 500 replicatas para estimar os padrões de confiabilidade das ramificações da árvore filogenética, através do programa *MEGA* versão 7.0.

A identificação de amostras recombinantes ocorreu com emprego do software *SimPlot 3.5.1* (LOLE et al., 1999) e também da ferramenta *RIP* (*recombinant identification program*), disponível em <https://www.hiv.lanl.gov>. A confirmação se deu por meio da análise filogenética individual de cada parte das amostras recombinantes.

5.3.8 Predição do tropismo viral

A predição do tropismo viral foi realizada por meio da avaliação das sequências de aminoácidos da região da alça $V3_{gp120}$, na plataforma online *Geno2Pheno* (coreceptor), disponível em <http://www.geno2pheno.org>, com razão de falso positivo (FPR) de 10% (LENGAUER et al., 2007; ARRUDA, et al., 2014).

5.3.9 Análise das variantes do Subtipo B do HIV-1

A determinação das variantes do subtipo B do HIV-1 foram realizadas a partir da análise visual dos aminoácidos 15-18 da alça V3 da gp 120 do gene *env* (posição 7158-7169 na referência HXB2) conforme descrito por JUNQUEIRA et al., (2013). As amostras com o motivo GPGR foram categorizadas como variante Pandêmica, com o motivo GPGS como variante Coreana e com o motivo GWGR como a variante Brasileira.

5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis foram analisadas por estatística descritiva e analítica.

Os dados obtidos da análise de prontuários foram digitados em planilha do *Excel*®, analisados pelos softwares *GraphPad Prism*® versão 5.03 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, EUA) e *JMP Statistical Discovery*TM (Copyright © SAS Institute Inc., SAS Campus Drive, Cary, North Carolina 27513, USA).

Testes de Qui-quadrado ou exato de *Fisher* foram utilizados para analisar as variáveis categóricas, e para as variáveis contínuas foram utilizados os testes de *Mann-Whitney* e *Kruskal-Wallis* para comparação dos dados entre os grupos.

Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

6 RESULTADOS

Das 232 amostras de pacientes incluídas no estudo, em 148 foi possível obter material genético amplificado de modo satisfatório para proceder com as demais análises moleculares.

6.1 DADOS DEMOGRÁFICOS E EPIDEMIOLÓGICOS

Foram revisados os prontuários médicos das 148 pacientes para coletar as informações referentes ao perfil demográfico, epidemiológico e clínico das mesmas.

A faixa etária da população pesquisada variou de 18 a 73 anos, com uma mediana de 38 anos (IIQ 30-49). A maioria da população da amostra foi branca, (81,1%) e residente no município de Curitiba (56,1%). Com relação à escolaridade, a mediana foi de oito anos (IIQ 4,75-11), (tabela 1).

TABELA 1 – DADOS DEMOGRÁFICOS DA POPULAÇÃO ESTUDADA

Características	N=148 (%)
Raça	
Branca	120 (81,1%)
Parda	16 (10,8%)
Negra	12 (8,1%)
Residência	
Curitiba	83 (56,1%)
Região Metropolitana	65 (43,9%)
Idade	
<20 anos	7 (4,7%)
20 – 29 anos	27 (18,2%)
30 – 39 anos	47 (31,8%)
40 – 49 anos	32 (21,6%)
50 – 59 anos	22 (14,9%)
≥60 anos	13 (8,8%)

FONTE: O autor (2018).

De acordo com as informações contidas no prontuário médico, com relação ao uso de drogas, 13/148 (8,8%) relataram abuso de bebidas alcoólicas, 56/148 (37,8%) referiram o uso de cigarro e 16/148 (10,8%) já tinham feito uso de drogas ilícitas. Destas, 4/16 (25,0%) haviam informado a utilização de drogas injetáveis.

Com relação ao tempo de diagnóstico confirmado, considerando-se a data de inclusão no estudo, foi encontrada uma mediana de oito anos (IIQ 4-13,25), onde, 93/148 (62,8%) tiveram um diagnóstico mais recente, compreendido entre zero e dez anos e 55/148 (37,2%) possuíam diagnóstico superior a dez anos, sendo que o mais antigo foi de 22 anos.

A maioria das pacientes, 89,2% (132/148) teve como modo provável de infecção a via sexual, seguida por 6,1% (9/148) de transmissões verticais, 2,7% (4/148) pelo uso de drogas injetáveis (UDI) e 1,3% (2/148) em decorrência de transfusão sanguínea. De acordo com o tempo de diagnóstico houve diferença estatística significativa na via de infecção sexual e na infecção decorrente da transmissão vertical (tabela 2).

TABELA 2 – VIA PROVÁVEL DE INFECÇÃO DE ACORDO COM O TEMPO DE CONHECIMENTO DA SOROLOGIA POSITIVA PARA O HIV

Modo de provável de infecção	Total		Tempo de diagnóstico				valor de <i>p</i>
	N=148	(%)	0-10 anos		+ 10 anos		
			N=93	(%)	N=55	(%)	
Sexual	132	(89,2)	88	(94,6)	44	(80,0)	0,0113
TV	9	(6,1)	2	(2,2)	7	(12,8)	0,0135
UDI	4	(2,7)	3	(3,2)	1	(1,8)	1,0000
Transfusão	2	(1,3)	0	(0,0)	2	(3,6)	-
SI	1	(0,7)	0	(0,0)	1	(1,8)	-

FONTE: O autor (2018).

Legenda: TV – transmissão vertical; UDI – usuária de droga injetável; SI – sem informação

Considerando-se o momento de inclusão no estudo, para as pacientes infectadas em decorrência da transmissão vertical, o tempo de diagnóstico confirmado variou de nove a 21 anos, com uma faixa etária de 18 a 30 anos e dois óbitos ocorridos após 2014. Para as pacientes infectadas devido à transfusão sanguínea o diagnóstico ocorreu há 15 e 21 anos e ambas tiveram conhecimento da sorologia após o diagnóstico do HIV nos filhos.

No que se refere à circunstância do diagnóstico para o HIV, em 40,5% dos casos o conhecimento da sorologia se deu no momento da gestação, seguido por 17,6% em decorrência de infecções oportunistas devido ao HIV, 16,2% em decorrência da investigação de outros sintomas e 11,5% em virtude do diagnóstico da sorologia no parceiro, representando as quatro situações mais frequentes, totalizando 85,8% dos casos. Entre os grupos de tempo de diagnóstico não houve diferença estatística na comparação entre o conhecimento

da sorologia em virtude da investigação de outros sintomas, havendo, nos anos mais recentes, expressivo aumento no número de mulheres diagnosticadas durante a gestação e redução no diagnóstico relacionado a outras circunstâncias, como transmissões verticais e o diagnóstico no filho ou companheiro (tabela 3).

TABELA 3 – CIRCUNSTÂNCIA DO DIAGNÓSTICO DE ACORDO COM O TEMPO DE CONHECIMENTO DA SOROLOGIA POSITIVA PARA O HIV

Circunstância do diagnóstico	Total N=148 (%)		Tempo de diagnóstico				valor de p
			0-10 anos N=93 (%)		+ 10 anos N=55 (%)		
Infecções oportunistas	26	(17,6)	21	(22,6)	5	(9,1)	0,0446
Investigação de outros sintomas	24	(16,2)	13	(13,9)	11	(20,0)	0,3369
Gestação	60	(40,5)	49	(52,7)	11	(20,0)	<0,0010
Dx companheiro	17	(11,5)	7	(7,5)	10	(18,2)	0,0495
Outras circunstâncias	21	(14,2)	3	(3,3)	18	(32,7)	<0,0010
<i>Dx filho</i>	8	(5,4)	1	(1,1)	7	(12,7)	
<i>TV</i>	7	(4,7)	0	(0,0)	7	(12,7)	
<i>Exame por iniciativa própria</i>	2	(1,4)	1	(1,1)	1	(1,8)	
<i>Doação de sangue</i>	3	(2,0)	1	(1,1)	2	(3,7)	
<i>SI</i>	1	(0,7)	0	(0,0)	1	(1,8)	

FONTE: O autor (2018).

Legenda: Dx – diagnóstico; TV – transmissão vertical; UDI – usuária de droga injetável; SI – sem informação.

Dentre as principais circunstâncias de diagnóstico, comparando-se os valores de contagem das células T CD4⁺ nadir (tabela 4), nas mulheres cujo diagnóstico se deu na gestação foram encontrados os melhores valores de LT CD4⁺ nadir, com mediana de 266 (IIQ: 184-376,5).

TABELA 4 – VALORES DE LT CD4⁺ NADIR ENTRE AS PRINCIPAIS CIRCUNSTÂNCIAS DE DIAGNÓSTICO

Circunstância do diagnóstico	Células T CD4 ⁺ nadir (cels/ μ L)		
	Mediana	IIQ	
Infecções oportunistas	30	14,5	86,5
Investigação de outros sintomas	123	47	193,75
Gestação	266	184	376,5
Diagnóstico do companheiro	156	117	280

FONTE: O autor (2018).

Com relação à coinfeção com hepatites (tabela 5), não foi encontrada diferença estatística entre o número de coinfeções de HIV com hepatites B ou C entre os grupos de tempo de diagnóstico, no entanto pôde-se verificar maior frequência de coinfeção HIV/HCV em relação à coinfeção de HIV/HBV.

TABELA 5 – TAXA DE COINFEÇÃO HIV/HBV E HIV/HCV CONFORME O TEMPO DE DIAGNÓSTICO

Coinfeção	Total		Tempo de Diagnóstico				valor de p
			0-10 anos		+ 10 anos		
	N=148	(%)	N = 93	(%)	N = 55	(%)	
Hepatite B							
Sim	7	(4,7)	4	(4,3)	3	(5,5)	0,7112
Não	141	(95,3)	89	(95,7)	52	(94,5)	
Hepatite C							
Sim	20	(13,5)	9	(9,7)	11	(20,0)	0,0759
Não	128	(86,5)	84	(90,3)	44	(80,0)	

FONTE: O autor (2018).

Dados referentes a outras infecções sexualmente transmissíveis (IST) não foram analisados neste estudo uma vez que muitos prontuários não dispunham destas informações.

A análise dos dados obstétricos mostrou que durante o período de coleta das amostras, 23,6% (35/148) das pacientes estavam gestantes. O número de gestações ao longo da vida das pacientes variou de zero a dez, com mediana de três gestações (IIQ 2-4) e um total de filhos entre zero a oito, com mediana de dois (IIQ 2-3). A maioria das participantes, 85,8% (127/148), teve o diagnóstico do HIV antes dos 45 anos de idade e, destas, 71,6% (91/127) tiveram filhos após o diagnóstico. Do total das participantes 12,2% (18/148) tiveram pelo menos um filho com o diagnóstico confirmado para HIV, com mediana do tempo de diagnóstico de 12 anos (IIQ: 8,5-15), considerando-se o momento da inclusão no estudo. Em 44,4% (8/18) dos casos a paciente teve o diagnóstico da sorologia apenas após o diagnóstico do filho. Entre as pacientes que tiveram o conhecimento da sorologia ainda em idade fértil e que tiveram filhos após o diagnóstico, a TV ocorreu em 14,3% (13/91) dos casos. O prontuário dos filhos das participantes não foi avaliado no presente estudo.

Com relação aos óbitos ocorridos na população estudada, considerando-se o ano da coleta da amostra até 2017, foi encontrada uma frequência de 4,1% (6/148). Em apenas um dos casos o motivo do óbito não foi descrito como tendo correlação com a infecção pelo HIV. As duas pacientes que foram a óbito na faixa etária dos 20 aos 29 anos tiveram como modo provável de infecção a transmissão vertical. Houve um óbito na faixa etária dos 30 aos 39 anos e os demais ocorreram em mulheres que apresentavam 57 anos ou mais (quadro 3).

QUADRO 3 – IDADE, TEMPO DE DIAGNÓSTICO, VIA DE INFECÇÃO E DESCRIÇÃO DAS CAUSAS DO ÓBITO

N	Idade (anos)	Tempo de diagnóstico (anos)	Ano do óbito	Modo de provável de infecção	Subtipo do HIV	Causas do óbito conforme declaração de óbito
1	20	17	2016	Transmissão Vertical	C	Síndrome do desconforto respiratório, pneumonia, tuberculose pulmonar, HIV
2	25	9	2015	Transmissão Vertical	B	Insuficiência respiratória aguda, pneumopatia, aids
3	33	12	2017	Sexual	B	Hipertensão intracraniana, neurotoxoplasmose, aids
4	57	11	2017	Sexual	B	Choque e acidose metabólica grave. Coagulopatia grave, aids
5	58	12	2017	Sexual	C	Sarcoma uterino invasivo, metástase pulmonar, doença de chagas
6	62	21	2016	Transfusão	B	Insuficiência respiratória, candidemia, aids, insuficiência cardíaca, artrite reumatoide

FONTE: O autor (2018).

Com relação à utilização de antirretrovirais, no momento da coleta das amostras 94,6% (140/148) das pacientes faziam uso de medicações, ao passo que no momento do último exame disponível todas as pacientes tinham TARV prescrito. Em uma análise que levou em consideração apenas a frequência de retirada da medicação nas unidades de dispensação, desde 2013 até 2017, foi possível categorizar as pacientes em dois grupos: o primeiro quando houve frequência de retirada da medicação igual ou superior a 95% das vezes e, o segundo, quando a retirada foi inferior a 95%. Assim, em 52,0% dos casos (77/148) houve ótima frequência na retirada da medicação, com menores valores de carga viral, tanto para valores indetectáveis (<40 cópias/mL) como para valores abaixo de 1000 cópias/mL (tabela 6).

TABELA 6 – ADESÃO AO TRATAMENTO DE ACORDO COM OS REGISTROS DE RETIRADA DE MEDICAÇÃO

Frequência de retirada da medicação (2013-2017)	N (%)	Carga Viral (cópias/mL)					
		<40		<200		<1000	
		N	Valor p	N	Valor p	N	Valor p
≥95%	77 (52)	65/77	<0,001	70/77	<0,001	77/77	<0,0010
<95%	71 (48)	30/71		41/71		49/71	

FONTE: O autor (2018).

6.2 SUBTIPOS VIRAIS DO HIV-1 E DADOS CLÍNICOS

A avaliação das sequências nucleotídicas da região V3-V5_{gp120} do gene *env* do HIV-1 permitiu a classificação das amostras nos subtipos B, C, F e na forma recombinante BC para a região avaliada. A tabela 7 apresenta a distribuição dos subtipos virais de acordo com o tempo de diagnóstico do HIV-1. Considerando as 148 amostras, o subtipo mais prevalente foi o C (49,3%), seguido pelo B (43,2%) e pelo F (6,1%). Foram encontradas duas amostras recombinantes (1,4%) na região avaliada apenas em indivíduos pertencentes ao grupo de diagnóstico mais recente.

TABELA 7 – DISTRIBUIÇÃO DOS SUBTIPOS DO HIV-1 CONFORME O TEMPO DE DIAGNÓSTICO

Subtipo do HIV-1	Total		Tempo de diagnóstico		Valor de p
	N=148	(%)	0-10 anos N=93 (%)	+ 10 anos N=55 (%)	
B	64	(43,2)	38 (40,9)	26 (47,3)	0,4467
C	73	(49,3)	47 (50,5)	26 (47,3)	0,7010
F	9	(6,1)	6 (6,5)	3 (5,4)	-
BC	2	(1,4)	2 (2,1)	0 (0,0)	-

FONTE: O autor (2018).

Apesar da maior prevalência do subtipo C no grupo com diagnóstico de zero a dez anos, não houve diferença estatística na proporção dos subtipos B e C ao longo do tempo ($p=0,5467$). Já para as amostras pertencentes ao subtipo F foi observada maior frequência no grupo de pacientes com diagnóstico mais recente ($p<0,001$), apesar disso, o número de amostras pertencentes a esse subtipo pode não ser representativa.

Com relação ao modo provável de infecção, o sexual representa a maior parcela das infecções, seguido pela TV e por UDI. Não foi observada diferença estatística entre os subtipos B e C no que se refere ao modo de transmissão. No entanto, ainda que o número de mulheres que tenham contraído o HIV-1 decorrente do uso de drogas injetáveis não seja representativo, 75,0% (3/4) são pertencentes ao subtipo C. No que se refere à circunstância do diagnóstico, não houve diferença estatística entre os subtipos em nenhuma das situações consideradas (tabela 8).

TABELA 8 – VIAS DE INFECÇÃO E CIRCUNSTÂNCIA DO DIAGNÓSTICO DE ACORDO COM O SUBTIPO DO HIV-1

Infecção pelo HIV	Subtipo do HIV-1 na região V3-V5 _{gp120} do gene <i>env</i>								valor de p*
	B		C		F		BC		
	N=64	(%)	N=73	(%)	N=9	(%)	N=2	(%)	
Modo de provável de infecção									
Sexual	57	(89)	65	(89)	9	(100)	1	(50)	0,9968
TV	5	(7,8)	3	(4,1)	0	-	1	(50)	0,4729
UDI	1	(1,6)	3	(4,1)	0	-	0	-	-
Transfusão	1	(1,6)	1	(1,4)	0	-	0	-	-
SI	0	-	1	(1,4)	0	-	0	-	-
Circunstância do diagnóstico									
Infecções oportunistas	12	(19)	10	(13,7)	4	(44,4)	0	-	0,4217
Investigação de outros sintomas	10	(16)	13	(17,8)	1	(11,1)	0	-	0,7330
Gestação	27	(42)	29	(39,7)	2	(22,2)	1	(50)	0,7700
Dx companheiro	8	(12)	7	(9,6)	2	(22,2)	0	-	0,5862
Outras circunstâncias	7	(11)	14	(19,2)	0	-	1	(50)	0,1816
<i>Dx filho</i>	2	(3,1)	6	(8,2)	0	-	0	-	0,7052
<i>TV</i>	4	(6,3)	3	(4,1)	0	-	1	(50)	0,2832
<i>Exame por iniciativa própria</i>	0	-	2	(2,7)	0	-	0	-	-
<i>Doação de sangue</i>	1	(1,6)	2	(2,7)	0	-	0	-	-
<i>SI</i>	0	-	1	(1,4)	0	-	0	-	-

FONTE: O autor (2018).

NOTA: *Cálculo estatístico realizado considerando-se apenas as amostras indicadas como subtipos B e C.

Legenda: Dx – diagnóstico; TV – transmissão vertical; UDI – usuário de droga injetável; SI – sem informação.

A tabela 9 descreve a mediana e o IIQ entre os subtipos B, C e F no que se refere à idade, tempo de diagnóstico e óbitos ocorridos na população durante o período do estudo. Para estes parâmetros não foram observadas diferenças estatísticas entre os subtipos B e C.

TABELA 9 – IDADE, TEMPO DE DIAGNÓSTICO E ÓBITOS ENTRE OS SUBTIPOS DO HIV-1

Características	Subtipo B	Subtipo C	Subtipo F	Valor de p*
	N=64	N=73	N=9	
Idade, anos, mediana (IIQ)	38 (27-46,3)	38 (32-50)	35 (30-51)	0,4208
Tempo de diagnóstico, anos, mediana (IIQ)	8 (4-14)	8 (4-12)	5 (5-11)	0,3383
Óbitos	4 (6,3%)	2 (2,7%)	0	0,4177

FONTE: O autor (2018).

NOTA: *Cálculo estatístico realizado considerando-se apenas as amostras indicadas como subtipos B e C.

Com relação à coinfeção com hepatites B e C, não foi encontrada coinfeção no subtipo F e nem nas formas recombinantes BC. No que se refere aos subtipos B e C, não houve diferença estatística na coinfeção HIV/HBV, mas,

para a coinfeção HIV/HCV houve grande incidência no subtipo C (23,3%) com valor de p significativo (0,0029) (tabela 10).

TABELA 10 – TAXA DE COINFEÇÃO HIV/HBV E HIV/HCV CONFORME O SUBTIPO DO HIV-1

Coinfeção	Subtipo do HIV-1 na região V3-V5 _{gp120} do gene <i>env</i>				valor de p
	B		C		
	N = 64	(%)	N = 73	(%)	
Hepatite B					
Sim	4	(6,2)	3	(4,1)	0,7052
Não	60	(93,8)	70	(95,9)	
Hepatite C					
Sim	3	(4,7)	17	(23,3)	0,0029
Não	61	(95,3)	56	(76,7)	

FONTE: O autor (2018).

Com o auxílio da plataforma *Geno2Pheno – Coreceptor*, a análise da região 7110-7217 (Referência HXB2) em cada uma das sequências permitiu verificar o tropismo viral para as 148 amostras. Assim, em 121/148 (81,8%) das amostras o HIV-1 encontrado caracteriza-se como um vírus R5 com um tropismo para o correceptor CCR5. A maior proporção de vírus R5 em relação ao X4 foi observada em todos os subtipos, no entanto, na comparação da distribuição do tropismo, observou-se um aumento significativo na utilização do correceptor CXCR4 para o subtipo B (tabela 11).

TABELA 11 – DISTRIBUIÇÃO DO TROPISMO DE ACORDO COM O SUBTIPO DO HIV-1

Correceptor (FRP 10%)	Total		Subtipo do HIV-1 na região V3-V5 _{gp120} do gene <i>env</i>						Valor de p*		
	N=148	(%)	B		C		F			BC	
			N=64	(%)	N=73	(%)	N=9	(%)		N=2	(%)
CCR5	121	(81,8)	47	(74)	64	(88)	8	(89)	2	(100)	0,0340
CXCR4	27	(18,2)	17	(26)	9	(12)	1	(11)	0	-	

FONTE: O autor (2018).

NOTA: *Cálculo estatístico realizado considerando-se apenas as amostras indicadas como subtipos B e C.

Considerando-se apenas os subtipos mais prevalentes, em uma análise da distribuição do tropismo viral de acordo com o tempo de diagnóstico, não foi observada diferença significativa entre a utilização dos correceptores virais nem no subtipo B, nem no subtipo C, de modo que a proporção do tropismo parece manter-se constante em ambos os subtipos apesar do tempo decorrido da infecção (tabela 12).

TABELA 12 – DISTRIBUIÇÃO DO TROPISMO DE ACORDO COM O SUBTIPO DO HIV-1 E O TEMPO DE DIAGNÓSTICO

Subtipo do HIV-1	Tropismo viral	Tempo de diagnóstico		Valor de p
		0-10 anos	+10 anos	
B	R5	28	19	0,9569
	X4	10	7	
C	R5	42	22	0,7124
	X4	5	4	

FONTE: O autor (2018).

Com relação à contagem das células T CD4+, não foi encontrada diferença estatística entre os subtipos B e C em nenhum dos momentos analisados (tabela 13).

Na análise da carga viral, no momento da inclusão no estudo houve diferença estatística quando comparadas as amostras indetectáveis e as detectáveis para os subtipos B e C ($p=0,0213$). No entanto, considerando os dados mais recentes de carga viral, esta diferença passa a não ser mais significativa. Já a avaliação dos valores da carga viral entre os pacientes com amostras detectáveis não apresentou diferença estatística em nenhum dos momentos (tabela 13).

TABELA 13 – COMPARAÇÃO DOS VALORES DE CARGA VIRAL E DE CONTAGEM DE CÉLULAS T CD4 ENTRE OS SUBTIPOS DO HIV-1

Características	Subtipo B N=64	Subtipo C N=73	Subtipo F N=9	Valor de p*
Células T CD4+, Nadir, cels/ μ L, mediana (IIQ)	169 (42,8 - 290)	211 (79-303)	88 (45-126)	0,2415
Células T CD4+, coleta, cels/ μ L, mediana (IIQ)	477 (309-678)	477 (316-669)	413 (324-502)	0,7122
Células T CD4+, último exame, Cels/ μ L, mediana (IIQ)	606 (414-849)	520 (336-696)	546 (496-826)	0,1031
Carga viral log₁₀, coleta				
Não detectável (%)	44 (69%)	36 (49%)	6 (67%)	0,0213
Detectável, mediana (IIQ)	3,4 (2,8-4,1)	3,4 (2,3-4,2)	3,3 (2,5-3,4)	0,6432
Carga viral log₁₀, último exame				
Não detectável (%)	43 (67%)	46 (63%)	7 (78%)	0,6094
Detectável, mediana (IIQ)	2,9 (1,85-4,1)	2,5 (2,0-3,1)	2,2 (1,9-2,4)	0,3340

FONTE: O autor (2018).

NOTA: *Cálculo estatístico realizado considerando-se apenas as amostras indicadas como subtipos B e C.

No que se refere ao tropismo, no momento da coleta da amostra, não houve diferença estatística entre os valores de LT CD4+, nem entre os valores da carga viral para nenhum dos subtipos avaliados (tabela 14).

TABELA 14 – COMPARAÇÃO DOS VALORES DE CARGA VIRAL E DE CONTAGEM DE CÉLULAS T CD4 ENTRE OS SUBTIPOS DO HIV-1 DE ACORDO COM O TROPISMO VIRAL

Características	Subtipo B		Valor de p	Subtipo C		Valor de p
	R5 (47)	X4 (17)		R5 (64)	X4 (9)	
Células T CD4+, coleta, Cels/ μ L, mediana (IIQ)	485 (323-683)	452 (278-665)	0,9594	474 (298-669)	522 (362-587)	0,8196
Carga viral log₁₀, coleta						
Não detectável (%)	33	11	0,6746	30	6	0,3081
Detectável, mediana (IIQ)	3,6 (3,0-4,4)	3,0 (2,6-3,4)	0,0753	3,6 (2,2-4,4)	2,7 (2,5-2,8)	0,3761

FONTE: O autor (2018).

6.3 ANÁLISES MOLECULARES E FILOGENÉTICAS

A confirmação dos subtipos virais envolveu a aplicação de análises filogenéticas para a construção da árvore de máxima verossimilhança e levou em consideração 130 sequências. Dezesesseis amostras foram excluídas dessa análise por não terem amplificado de modo satisfatório para o emprego nesta avaliação, ainda que tenha sido possível aplicar os dados nas ferramentas de predição e, as duas amostras recombinantes (BR_0070PR e BR_0093PR) foram analisadas separadamente. A figura 12 mostra a árvore filogenética resultante da análise da região V3-V5_{gp120} do gene *env* do HIV-1 nas amostras estudadas. As sequências referências utilizadas no teste foram obtidas no banco de dados do *Los Alamos National Laboratory*.

Para as amostras classificadas como subtipo B do HIV-1, a análise na posição dos aminoácidos 15-18 da alça V3 do gene *env*, (nucleotídeos 7158-7169 na linhagem HXB2), permitiu determinar as variantes do subtipo B, bem como o motivo correlacionado a elas. A distribuição das variantes foi de 54,7% (35/64) vinculadas ao motivo GPGR (Pandêmica), 23,4% (15/64) vinculadas ao motivo GWGR (Brasileira) e 6,3% (4/64) como variante Coreana (motivo GPGS). Dez amostras (15,6%) apresentaram motivos diversos. A tabela 15 mostra a comparação de algumas características epidemiológicas e clínicas entre as variantes Brasileiras e as outras variantes do Subtipo B encontradas na população estudada. Nenhum dado apresentou diferença estatística nestas comparações.

TABELA 15 – VARIANTES DO SUBTIPO B DO HIV-1

Características	Variantes do Subtipo B		Valor de p
	Brasileira (15)	Outras variantes (49)	
Idade, anos, mediana (IIQ)	39 (35,5-44,5)	37 (26-47)	0,6789
Tempo de diagnóstico, anos, mediana (IIQ)	12 (8-14,5)	8 (3-14)	0,0983
Óbitos (%)	1 (6,7%)	3 (6,1%)	1,0000
Células T CD4+, Nadir, cels/ μ L, mediana (IIQ)	164 (63,5-281,5)	174 (30-282)	0,8554
Células T CD4+, coleta, cels/ μ L, mediana (IIQ)	531 (287,5-669,5)	469 (315-672)	0,9694
Células T CD4+, último exame, Células/ μ L, mediana (IIQ)	606 (366-834)	631 (467,8-854)	0,6755
Carga viral log₁₀, coleta			
Não detectável (%)	10	34	1,0000
Detectável, mediana (IIQ)	3,4 (2,91-3,94)	3,4 (2,69-4,16)	0,7705
Carga viral log₁₀, último exame			
Não detectável (%)	9	34	0,4980
Detectável, mediana (IIQ)	1,8 (1,73-1,89)	3,6 (2,60-4,12)	0,0715

FONTE: O autor (2018).

6.3.1 Formas recombinantes

A análise da região da alça V3-V5_{gp120} do gene *env* do HIV-1, por meio das ferramentas *SimPlot* 3.5.1 e *RIP*, permitiu identificar que duas amostras apresentavam recombinação entre os subtipos B e C na região avaliada. Deste

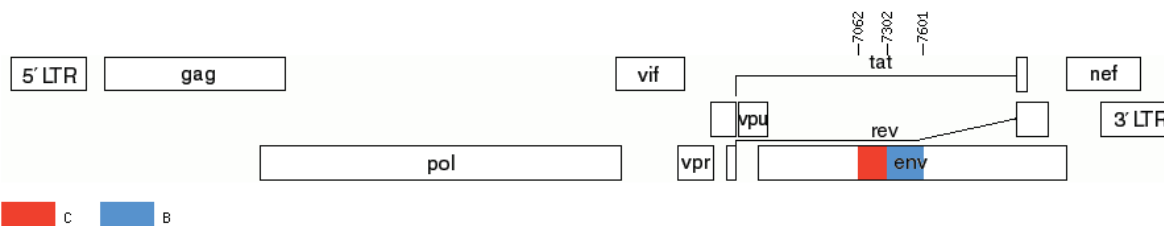
modo, baseando-se nas coordenadas da sequência referência HXB2, para a amostra BR_0070PR, na posição 7044-7273 a mesma foi compatível com subtipo C, enquanto que a sequência da posição 7274-7601 foi compatível com o subtipo B. Para a amostra BR_0093PR, na posição 7062-7302, a mesma foi compatível com o subtipo C, enquanto da posição 7303-7601 com o subtipo B. A figura 14 apresenta a região analisada e indica o início e o final referente a cada subtipo.

FIGURA 13 – INDICAÇÃO DA RECOMBINAÇÃO ENCONTRADA NA REGIÃO V3-V5_{gp120} DO GENE *env* DO HIV-1

a) Amostra BR_0070PR



b) Amostra BR_0093PR



■ C ■ B

FONTE: O autor (2018).

NOTA: A figura “a” representa a amostra BR_070PR e a figura “b” representa a amostra BR_093PR.

A confirmação da recombinação se deu, para ambas as amostras, com a realização da análise filogenética individual de cada segmento recombinante.

Com base nos dados disponíveis nos prontuários médicos, parece não haver correlação epidemiológica entre estas pacientes apesar de ambas possuírem 33 anos e terem tido conhecimento da sorologia positiva para HIV na gestação. Embora para a paciente vinculada à amostra BR_070PR o diagnóstico confirmado para o HIV ocorreu há apenas nove anos, os dados do prontuário apontam a TV como modo provável de infecção. Já para a paciente correlacionada à amostra BR_093PR, o diagnóstico ocorreu há oito anos e a via provável de infecção é a sexual.

7 DISCUSSÃO

Desde a descoberta do HIV e a sua vinculação com a aids, inúmeras pesquisas e avanços científicos vem sendo realizados com o intuito de minimizar os impactos gerados por essa infecção. No entanto, dados relativos à infecção, acompanhamento e tratamento nas mulheres portadoras do HIV são escassos, visto que a maioria dos estudos e trabalhos desenvolvidos apresentam resultados com enfoque nas populações mais vulneráveis ao vírus, havendo uma carência de estudos e campanhas de prevenção voltados ao público feminino de maneira geral.

Em 2016 cerca de 36,7 milhões de pessoas estavam infectadas pelo HIV no mundo, um milhão foram a óbito por motivos relacionados à aids e apenas pouco mais da metade das pessoas infectadas tiveram acesso à terapia antirretroviral. Na tentativa de conter a propagação do vírus, metas internacionais têm sido estabelecidas e governos passaram a tratar o HIV como questão de Saúde Pública, garantindo o acesso gratuito à medicação, intensificando as testagens para o conhecimento do estado sorológico, investindo em medidas preventivas e na conscientização da população quanto às formas de infecção. Questões socioculturais e biológicas são algumas das causas que podem contribuir para o aumento do número de casos de HIV nas mulheres. Em algumas situações a dependência econômica da mulher ao homem pode estar associada ao medo de exigir o uso de preservativo nas relações sexuais, elevando o risco de contaminação com o HIV.

O Complexo Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná é um serviço de atendimento à saúde de alta complexidade, vinculado ao Sistema Único de Saúde. No período de março de 2013 a março de 2014, no ambulatório de infectologia foram atendidos cerca de 1250 pacientes HIV positivos, dos quais quase 45% eram mulheres. Apesar do gênero masculino ainda representar a maior parcela dentre as pessoas que vivem com o HIV no Brasil (BRASIL, 2017), o elevado número de pacientes femininas em atendimento neste serviço provavelmente decorre do fato das mulheres procurarem com maior frequência os serviços de saúde (IBGE, 2015), promovendo um cenário interessante para a captação de dados relacionados ao público feminino. O elevado número de

mulheres dessa população, e também a escassez de trabalhos voltados para esse público instigaram a investigação das características abordadas no presente estudo.

Com base nos dados demográficos, mais da metade das pacientes atendidas no ambulatório da Infectologia do CHC-UFPR residiam no município de Curitiba e as demais moravam na Região Metropolitana. As análises apresentadas não levaram em consideração a distinção entre o município de residência destas pacientes uma vez que existe estreita relação de proximidade entre os habitantes destas regiões, não havendo implicação direta deste quesito com a distribuição filogenética do HIV-1.

O Boletim Epidemiológico de Curitiba (2017) aponta a utilização do tempo de escolaridade como sendo um fator indireto de avaliação do nível social. No presente estudo as pacientes apresentaram menor tempo de escolaridade que os apresentados pelo Município. Tal característica pode estar relacionada ao fato de se tratar de um Hospital com vínculo de atendimento exclusivo pelo Sistema Único de Saúde, que abrange uma população com menor poder aquisitivo. Apesar disso, a distribuição da população de acordo com a raça concordou com os dados observados no Município, onde há maior porcentagem de brancos, dado já esperado uma vez que a região Sul do País apresenta 76,8% da população declarada como branca (IBGE, 2017).

Quanto ao número de casos de contaminação com o HIV por uso de drogas injetáveis, no presente estudo a taxa de infecção ficou menor que os dados estaduais (5,3%) e maior que os nacionais (1,9% para as mulheres). Ainda que o número de casos encontrados não represente uma parcela expressiva da população, os dados chamam a atenção para lacunas que possam estar envolvidas na questão da transmissão do HIV em UDI, população chave no controle da infecção.

A transmissão pela via sexual representou um importante foco na dinâmica da infecção pelo HIV uma vez que foi a principal via de contaminação. Na população estudada praticamente todas as mulheres que se infectaram com o HIV pela via sexual, referiram ter relações exclusivamente heterossexuais, dados já esperados e concordantes com os apresentados em vários estudos (SILVA et al., 2010; TOLEDO et al., 2010; RABONI et al., 2010; BRASIL, 2017).

É importante ressaltar que as pacientes com diagnóstico mais recente, não apresentaram como via de transmissão a transfusão e, em apenas duas delas a contaminação se deu por transmissão vertical, indicando claramente a eficiência das ações no âmbito da saúde pública no que se refere ao controle de hemoderivados e, também, nos esforços referentes à redução da transmissão vertical do HIV (BRASIL, 2017; CURITIBA, 2017).

Considerando-se o histórico de gestações nas pacientes integrantes do estudo, em 12,2% dos casos foi confirmada TV para os filhos das mesmas. Cabe ressaltar que, dentre estas situações, quase metade das mulheres tiveram conhecimento da infecção apenas após o diagnóstico do filho, indicando que a presença do HIV na mulher deva ser anterior ao nascimento da criança. Esses dados refletem um cenário mais antigo, onde o controle da transmissão vertical não estava completamente implementado e, portanto, não corresponde à realidade atual nesta população. Em 1999, Curitiba iniciou a oferta do teste anti-HIV para todas as gestantes atendidas nas unidades de saúde e, desde então, o município vem apresentando menores taxas de transmissão vertical, uma vez que o diagnóstico precoce permite uma assistência mais adequada à gestante. No ano de 2017, o município de Curitiba foi o primeiro do País a obter a certificação de eliminação da transmissão vertical do HIV (CURITIBA, 2017). Das pacientes que estiveram gestantes no período de estudo, em nenhuma delas houve a transmissão da infecção para o bebê, refletindo a eficácia das medidas de saúde públicas de controle da transmissão.

É importante perceber que para boa parte das mulheres a gestação é a primeira oportunidade de investigação do HIV, o que reflete diretamente na efetividade da redução da transmissão para o bebê, além de atuar como uma forma de diagnóstico precoce no público feminino. Mais de 80% das pacientes do presente estudo tomaram o conhecimento da sorologia positiva para o HIV ainda em idade reprodutiva e em quase a metade delas o diagnóstico foi realizado durante a gestação. Isso reforça a importância da testagem do HIV durante o pré-natal, mas questiona se outras formas de abordagem ao público feminino não deveriam ser estudadas no sentido de garantir que mulheres não gestantes tenham maior acesso a testagem para o HIV (SANTANNA; SEIDL, 2009; VILLELA; BARBOSA, 2017). Outro aspecto a ser considerado é que o diagnóstico na gestação em geral antecipa o diagnóstico da sorologia pelo público feminino,

mas há uma tendência da população em postergar a opção da maternidade e, sendo este o principal meio de diagnóstico em mulheres, o conhecimento do *status* sorológico tenderia a ocorrer de forma mais tardia. Há um entendimento do Ministério da Saúde (BRASÍLIA, 2017) de que, no alcance das metas propostas pela cascata 90-90-90, há mais mulheres diagnosticadas do que homens, mas não há um apontamento do motivo para estes valores. Com base nos dados encontrados neste estudo, é provável que este maior diagnóstico nas mulheres realmente decorra das testagens do HIV no público gestante.

A princípio seria de se esperar que, com a intensificação das campanhas para conhecimento do estado sorológico, tratamento e prevenção do HIV, o número de casos diagnosticados em decorrência do aparecimento de infecções oportunistas tenderia a diminuir com o passar dos anos. No entanto, na comparação entre o tempo de diagnóstico nas participantes, houve maior frequência de conhecimento da sorologia em decorrência de infecções oportunistas para as mulheres com tempo de diagnóstico igual ou inferior a dez anos. É possível inferir que, por estarmos analisando uma população vinculada a um serviço terciário de atendimento, e referenciado para pacientes de alto risco, este dado possa representar um viés de informação, uma vez que apresenta uma amostra com maior tendência a possuir indivíduos com a saúde mais debilitada. Além disso, a mediana de idade deste grupo de mulheres está acima do período fértil, tratando-se de um grupo sem gestações recentes e que, conseqüentemente, acabaram não sendo diagnosticadas antes do aparecimento das infecções oportunistas. Como consequência disso, a análise dos valores de células T CD4+ Nadir neste grupo, aponta valores muito abaixo dos apresentados pelas demais circunstâncias de diagnóstico. Esse contexto reforça a necessidade de intensificação de medidas de diagnóstico mais precoce para o público feminino independente da gestação.

O diagnóstico indireto, em virtude do conhecimento do estado sorológico do parceiro apresentou uma redução significativa para o grupo de mulheres com diagnóstico mais recente, provavelmente como reflexo do aumento do conhecimento da sorologia na gestação. Apenas o diagnóstico em decorrência da investigação de outros sintomas clínicos não apresentou diferença estatística entre os grupos com diferentes tempos de diagnóstico, representando um dado estável na população.

A Organização Mundial de Saúde (2015), desde 2015 estimula o início imediato da TARV, independente da contagem das células T CD4+, na perspectiva de reduzir a transmissibilidade do HIV. Ainda que as pacientes contempladas no presente estudo tenham diferentes tempos de diagnóstico, no momento da inclusão do estudo quase 95% delas faziam uso de antirretrovirais e no momento do último exame disponível todas tinham TARV prescrito. Na tentativa de analisar os valores de carga viral das pacientes em função do uso da medicação, foi avaliada a retirada regular dos medicamentos nas unidades de dispensação. E, ainda que tal frequência de retirada não garanta o uso correto da TARV, a falta da mesma, sim, reflete um uso insuficiente do medicamento. Assim, verificou-se que todas as pacientes cuja frequência de retirada da medicação esteve igual ao superior há 95% das vezes, apresentavam carga viral abaixo do limite máximo estabelecido pela UNAIDS como necessário para categorizar uma supressão viral, sendo suficiente para atingir a terceira meta proposta pela cascata dos 90-90-90.

Uma vez conhecido o perfil epidemiológico e demográfico da população, a distribuição dos subtipos tentou compreender a dinâmica molecular do HIV-1 circulante na região. Com relação à frequência dos subtipos encontrados, diferente das proporções relatadas na literatura (FERREIRA, et al., 2008; SILVA et al., 2010; TOLEDO et al., 2010; RABONI et al., 2010) o subtipo C esteve presente em quase 50% das infecções, seguido pelos subtipos B e F. Quando as amostras foram separadas de acordo com o tempo de diagnóstico, aquelas com mais de 10 anos de infecção mostraram igual frequência entre os subtipos B e C. Estudos anteriores já apontavam uma tendência de aumento na frequência do subtipo C na população heterossexual, sobretudo nas mulheres mas, de qualquer modo, para o estado do Paraná e para o município de Curitiba, o subtipo B vinha sendo prevalente mesmo entre as mulheres.

Embora as análises estatísticas realizadas não tenham demonstrado maior afinidade de determinado subtipo com alguma via de infecção ou circunstância de diagnóstico, estudos prévios apontam maiores taxas de UDI nas populações infectadas pelo subtipo C (RABONI, et al., 2010). Analisando os valores absolutos encontrados pode-se dizer que existe uma tendência dos UDI estarem mais vinculados a este subtipo viral.

No que se refere à coinfeção com hepatites virais (B ou C) a região Sul ocupa o segundo lugar no *ranking* nacional de coinfeção com o HIV-1, e o compartilhamento das mesmas vias de transmissão desperta atenção especial para esta questão (LACOMBE; ROCKSTROH, 2012; OLIVEIRA; MERCHAN-HAMANN; AMORIM, 2014). No presente estudo, as taxas encontradas vão de encontro com as distribuições apresentadas previamente na literatura, havendo maior coinfeção do HIV com a hepatite C. Pesquisadores sugerem que mulheres estão menos propensas a este tipo de coinfeção e o risco de infecção é diretamente proporcional à idade e ao tempo de diagnóstico do HIV (OLIVEIRA; MERCHAN-HAMANN; AMORIM, 2014; AVANZI et al., 2017). No presente estudo não foi encontrada diferença significativa no número de coinfeção para pacientes diagnosticadas há mais tempo, talvez por se tratar justamente de um público exclusivamente feminino, vinculado à menor propensão à coinfeção com hepatites virais. No entanto, na análise da coinfeção HIV/HCV, foi observado um valor significativamente maior nas pacientes portadoras do subtipo C do HIV-1. Avanzi e colaboradores (2017) já haviam apontado maior frequência de pacientes do subtipo C infectados com hepatites virais no município de Curitiba.

Pesquisas sugerem que a ligação do HIV-1 a diferentes correceptores celulares pode estar associada a diferentes padrões de progressão da doença (COETZER, et al., 2006; ARIËN; VANHAM; ARTS, 2007; FERREIRA et al., 2008). Neste sentido, a análise da alça V3 do gene *env* do HIV-1 possibilitou determinar o tropismo viral circulante e verificar a associação de padrões nesta população. Para as amostras estudadas, os vírus R5 foram encontrados em maior frequência, havendo uma tendência do subtipo B do HIV-1 possuir mais linhagens dos vírus X4. Dados da literatura apontam uma progressão mais branda da infecção nos pacientes do subtipo C e uma baixa identificação de vírus X4 nestas amostras em virtude do maior número de mutações necessárias no subtipo C para que este possa apresentar tropismo pelos correceptores CXCR4 (COETZER, et al., 2006; ARIËN; VANHAM; ARTS, 2007; FERREIRA et al., 2008). Contudo, no presente estudo, a comparação dos dados de carga viral e de contagem de células T CD4+ não evidenciou correlação direta da progressão da doença com o tropismo viral.

A análise da carga viral entre os subtipos do HIV-1 no momento de inclusão das participantes no estudo apresentou maior número de casos

indetectáveis para o subtipo B, mas esta diferença não se manteve na análise dos dados referentes ao último exame disponível, indicando que, ao longo do tempo, ambos os subtipos responderam de maneira similar ao tratamento no que se refere ao controle da carga viral.

A contagem das células T CD4+, foi um parâmetro muito utilizado para avaliar o risco de doença oportunista na fase final da doença, caracterizando o quadro de aids. Com a melhor compreensão dos mecanismos da infecção e a introdução precoce da terapia antirretroviral, os pacientes passaram a manter valores mais elevados das células T CD4+ e, com isso, garantiram melhor qualidade de vida quando o número de infecções oportunistas torna-se minimizado. No presente estudo os valores de células T CD4+ mantiveram-se equivalentes entre os grupos, parecendo que, para esta população, a resposta do organismo independe do subtipo ou do tropismo viral. Mesmo na comparação dos valores referentes ao CD4+ nadir, as medianas calculadas não mostraram diferenças significativas.

Alguns estudos apresentam que para as variantes Brasileiras do subtipo B do HIV-1, a presença do triptofano (W) na posição do aminoácido 16 está relacionada a uma variante menos patogênica do que outros isolados do HIV-1. Essa característica decorre, provavelmente, de uma maior atividade dos anticorpos nesta região, o que contribui para a progressão mais lenta da doença, número de células T CD4+ maiores e menores valores de carga viral (CASSEB et al., 2004; BRITO et al., 2006; ARAUJO et al., 2010). No presente estudo, contudo, não foi verificada diferença estatística para os valores de CV, células T CD4+, idade e tempo de diagnóstico decorrido entre as variantes brasileiras e outras variantes do subtipo B. Apesar de apenas 15 amostras terem sido classificadas como Bbr, a distribuição das variantes pandêmica e brasileira acompanharam as distribuições apresentadas na literatura (LEAL; VILLANOVA, 2010; JUNQUEIRA; ALMEIDA, 2016). Na distribuição das amostras na árvore de máxima verossimilhança, as variantes Brasileiras permaneceram, em sua maioria, agrupadas, reforçando a proximidade filogenética destas amostras.

A alta variabilidade genética do HIV decorrente da presença das regiões hipervariáveis do gene *env*; elevada taxa de mutação; alta taxa replicativa e frequente recombinação viral, sobretudo em populações onde vários subtipos cocirculam faz com que o número de formas recombinantes descritas aumente

constantemente (RAMBOUT, A. et al, 2004; LEVY, 2010). Para duas das amostras estudadas, verificou-se a presença de recombinação entre os subtipos B e C na região V3-V5_{gp120} do gene *env* do HIV-1. Essa recombinação é interessante uma vez que a referida região não corresponde a nenhuma das 96 formas recombinantes circulantes descritas para o HIV-1 até 29 de julho de 2018 e disponibilizadas no sítio eletrônico do *Los Alamos HIV*. Como essa recombinação, até o presente momento, não aparece em pelo menos três indivíduos epidemiologicamente distintos pode-se dizer que se trata de uma forma recombinante única. Cabe lembrar que o presente estudo teve o intuito de avaliar os subtipos das amostras considerando apenas a região V3-V5_{gp120} do gene *env* do HIV-1. A identificação dos subtipos B, C e F não excluiu a possibilidade destas amostras serem formas recombinantes em outras regiões do genoma viral não estudadas neste trabalho. Apesar disso, a identificação da recombinação na região avaliada amplia o universo de possibilidades para a continuidade deste estudo e instiga a curiosidade no sentido de verificar se existem outras sequências com a mesma recombinação.

8 CONCLUSÕES

O sequenciamento nucleotídico da região V3-V5_{gp120} do gene *env* do HIV-1 foi realizada para 148 amostras de pacientes femininas, maiores de 18 anos e residentes no município de Curitiba e região metropolitana.

- Para esta população o subtipo do HIV-1 mais frequente foi C, seguido dos subtipos B, F e da forma recombinante BC. As amostras do subtipo B apresentaram a variante pandêmica em mais de 50% das amostras, seguidas de mais de 20% de variantes Brasileiras.
- Não houve diferença estatística na distribuição dos subtipos de HIV-1 entre os grupos de tempo de diagnóstico.
- A maioria das amostras apresentou vírus com tropismo para o correceptor CCR5, predomínio verificado para todos os subtipos encontrados.
- Para 40% das mulheres o diagnóstico do HIV ocorreu durante a Gestaçã, havendo um aumento significativo nesta forma de conhecimento da sorologia no grupo compreendido de zero a dez anos de diagnóstico, indicando um aumento na antecipaçã do conhecimento da sorologia em mulheres independente do subtipo viral.
- A coinfeçã do HIV com hepatites virais foi verificada em menor proporçã para a HIV/HBV, sendo maior para a HIV/HCV, onde foi observada diferençã estatística significativa na distribuiçã dessas coinfeções para os pacientes do subtipo C do HIV-1, que apresentaram maiores taxas de coinfeçã com hepatites virais.

9 LIMITAÇÕES

O presente estudo apresentou algumas limitações, dentre elas:

- Definir o momento em que ocorreu a infecção pelo HIV nem sempre é possível, principalmente em estudos retrospectivos, assim, a determinação do tempo do diagnóstico não corresponde necessariamente ao tempo de infecção, principalmente para pacientes diagnosticados em decorrência de infecções oportunistas ou através do diagnóstico de seus filhos. Não sendo possível determinar o momento exato da infecção, padronizou-se que a data do primeiro exame confirmatório para HIV-1 seria utilizada no estudo;
- É possível que a proporção de UDI esteja subestimada na população uma vez que muitos pacientes omitem esse tipo de informação;
- Informações referentes à IST não foram consideradas por não estarem disponíveis em boa parte dos prontuários;
- Conhecimento da sorologia do parceiro nem sempre estava disponível e não pode ser avaliada.

10 PERSPECTIVAS

- Buscar nos bancos de dados da região sul do País se existe o depósito de outras sequências do HIV-1 com a mesma recombinação (BC) na região V3-V5_{gp120} do gene env;
- Realizar o sequenciamento nucleotídico de todo o genoma viral para as duas amostras recombinantes.

REFERÊNCIAS

ARAUJO, A. F. et al. Lower prevalence of human immunodeficiency virus type 1 Brazilian subtype B found in northeastern Brazil with slower progression to AIDS. **AIDS Res Hum Retroviruses**, v. 26, n. 11, p. 1249-1254, Nov 2010

ARIËN K.K., VANHAM G., ARTS E.J. Is HIV-1 evolving to a less virulent form in humans?. **Nature Reviews Microbiology**. [S.l.], v. 5, n. 2, p.141-151, jan. 2007.

ARRUDA, L. B. et al. Determination of viral tropism by genotyping and phenotyping assays in Brazilian HIV-1-infected patients. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 56, n. 4, p. 287-290, 2014.

AVANZI, V. M. et al. Profile of HIV subtypes in HIV/HBV- and HIV/HCV-coinfected patients in Southern Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S.l.], v. 50, n. 4, p.470-477, ago. 2017.

BARRE-SINOUSSE, F. et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). **Science**, [S.l.], v. 220, n. 4599, p.868-871, mai.1983.

BARRÉ-SINOUSSE, F. HIV as the cause of AIDS. **The Lancet**, [S.l.], v. 348, n. 9019, p.31-35, jul. 1996.

BELLO, G. et al. Origin and evolutionary history of HIV-1 subtype C in Brazil. **AIDS**, v. 22, n. 15, p. 1993-2000, Oct 2008.

BELLO, G. et al. Phylogeographic analysis of HIV-1 subtype C dissemination in Southern Brazil. **PLoS One**, v. 7, n. 4, p. e35649, 2012b.

BERGER, E. A. et al. A new classification for HIV-1. **Nature**, [s.l.], v. 391, n. 6664, p.240-240, jan. 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Recomendações para Profilaxia da Transmissão Vertical do HIV e Terapia Antirretroviral em Gestantes**: manual de bolso. Elaborado por Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Programa Nacional de DST e Aids. – Brasília: Ministério da Saúde, 2010.

_____. Ministério da Saúde. **Manual Técnico Para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV**. 2. ed. Elaborado por Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em

Saúde, Programa Nacional de DST e Aids – Brasília: Ministério da Saúde, 2014. 73 p.

_____. Ministério da Saúde. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para manejo da infecção pelo HIV em adultos**. 2015. Elaborado pelo Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais da Secretaria de Vigilância em Saúde.

_____. Ministério da Saúde. **Manual Técnico Para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV**. 3. ed. Elaborado por Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Programa Nacional de DST e Aids – Brasília: Ministério da Saúde, 2016. 85 p.

_____. Adeilson Loureiro Cavalcante. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde (Ed.). **Boletim Epidemiológico: HIV Aids 2017**. Brasília: Ministério da Saúde, 2017. 60 p. (Ano V). Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2017/boletim-epidemiologico-hiv-2017>>. Acesso em: 01 jun. 2018.

BRASÍLIA. Ana Roberta Pati Pascom. Ministério da Saúde (Org.). **Relatório de Monitoramento Clínico do HIV**. Brasília: Ministério da Saúde, 2017. 113 p. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2017/relatorio-de-monitoramento-clinico-do-hiv>>. Acesso em: 20 mar. 2018.

BRITO, Ana Maria de et al. Tendência da transmissão vertical de Aids após terapia anti-retroviral no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, [S.l.], v. 40, n. , p.18-22, abr. 2006.

BUONAGURO, L., TORNESELLO, M. L., BUONAGURO, F. M. Human Immunodeficiency Virus Type 1 Subtype Distribution in the Worldwide Epidemic: Pathogenetic and Therapeutic Implications. **Journal Of Virology**, [S.l.], v. 81, n. 19, p.10209-10219, jul. 2007.

BUTTÒ, Stefano et al. Laboratory diagnostics for HIV infection. **Annali Dell'istituto Superiore di Sanità**, [s.l.], v. 46, n. 1, p.24-33, mar. 2010.

CASE, K. Nomenclature: human immunodeficiency virus. **Annals Of Internal Medicine**, [S.l.] v. 105, n. 1, p. 133, Jul 1986.

CASSEB, Jorge et al. Human immunodeficiency virus type 1 Brazilian subtype B variant showed an increasing avidity of the anti-V3 antibodies over time compared to the subtype B US/European strain in São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [s.l.], v. 99, n. 1, p.69-71, fev. 2004.

CDC. Centers for disease control and prevention. USA. U.S. Department of Health & Human Services. **HIV Transmission**. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/hiv/>>. Acesso em: 08 out. 2016.

CHINEN, J., SHEARER, W.T. Molecular virology and immunology of HIV infection. **Journal Of Allergy And Clinical Immunology**, [S.l.], v. 110, n. 2, p.189-198, ago. 2002.

CLAPHAM, Paul R.; MCKNIGHT, Áine. Cell surface receptors, virus entry and tropism of primate lentiviruses. **Journal Of General Virology**, [s.l.], v. 83, n. 8, p.1809-1829, 1 ago. 2002.

COETZER, M. et al. Genetic characteristics of the V3 region associated with CXCR4 usage in HIV-1 subtype C isolates. **Virology**, [S.l.], v. 356, n. 1-2, p.95-105, dez. 2006.

CUELLAR, M. L. HIV infection-associated inflammatory musculoskeletal disorders. **Rheumatic Disease Clinics of North American**, [S.l.], v. 24, n. 2, p.403-421, mai. 1998.

CURITIBA. Cléa Elisa Lopes Ribeiro. Centro de Epidemiologia. Coordenação de Vigilância Epidemiológica. Coordenação Municipal de DST/HIV/AIDS/Hepatites Virais. Secretaria Municipal da Saúde de Curitiba. **Boletim Epidemiológico HIV/Aids**. Curitiba: Secretaria Municipal da Saúde de Curitiba, 2016. 51 p.

_____. Cléa Elisa Lopes Ribeiro. Secretaria Municipal da Saúde de Curitiba. Centro de Epidemiologia. Coordenação de Vigilância Epidemiológica. Coordenação Municipal de DST/HIV/AIDS/Hepatites Virais. **Boletim Epidemiológico HIV/Aids**. 4. ed. Curitiba, 2017. 41 p.

DAMOND, Florence et al. Identification of a Highly Divergent HIV Type 2 and Proposal for a Change in HIV Type 2 Classification. **Aids Research And Human Retroviruses**, [s.l.], v. 20, n. 6, p.666-672, jun. 2004.

DELGADO, R. Características virológicas del VIH. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, [S.l.], v. 29, n. 1, p.58-65, jan. 2011.

DELWART, E. L. et al. Genetic subtyping of human immunodeficiency virus using a heteroduplex mobility assay. **PCR Methods Appl**, v. 4, n. 5, p. 202-216, Abr. 1995.

FANALES-BELASIO, E. et al. HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. **Annali Dell'istituto Superiore di Sanità**, [S.I.], v. 46, n. 1, p.5-14, mar. 2010.

FERREIRA, J. L. et al. Molecular characterisation of newly identified HIV-1 infections in Curitiba, Brazil: preponderance of clade C among males with recent infections. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [S.I.], v. 103, n. 8, p.800-808, dez. 2008.

FRANKEL, A.D.; YOUNG, J. A. T.. HIV-1: Fifteen Proteins and an RNA. **Annual Review Of Biochemistry**, [S.I.], v. 67, n. 1, p.1-25, jun. 1998.

GALLO, R. et al. Isolation of human T-cell leukemia virus in acquired immune deficiency syndrome (AIDS). **Science**, [S.I.], v. 220, n. 4599, p.865-867, mai. 1983.

GENO2PHENO [CORECEPTOR]. **Geno2pheno [coreceptor] 2.5**. Disponível em: <<http://coreceptor.geno2pheno.org/>>. Acesso em: 12 set. 2017.

GONDA, M. A., et al. Sequence Homology and Morphologic Similarity of HTLV-III and Visna Virus, a Pathogenic Lentivirus. **Science**, v. 227, n. 4683, 173-177, 1985.

GRÄF, T. et al. HIV-1 genetic diversity and drug resistance among treatment naïve patients from Southern Brazil: an association of HIV-1 subtypes with exposure categories. **J Clin Virol**, v. 51, n. 3, p. 186-191, Jul 2011.

GUYADER, Mireille et al. Genome organization and transactivation of the human immunodeficiency virus type 2. **Nature**, [s.l.], v. 326, n. 6114, p.662-669, abr. 1987

HARTLEY, O. et al. V3: HIV's Switch-Hitter. **Aids Research And Human Retroviruses**, [s.l.], v. 21, n. 2, p.171-189, fev. 2005.

HEMELAAR, J. The origin and diversity of the HIV-1 pandemic. **Trends In Molecular Medicine**, [S.I.], v. 18, n. 3, p.182-192, mar. 2012.

HIGGINS D., et al. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids**.1994.

HUANG, C. C. et al. Structure of a V3-Containing HIV-1 gp120 Core. *Science*, [s.l.], v. 310, n. 5750, p.1025-1028, 11 nov. 2005.

IBGE. Ministério da Saúde. Pesquisa Nacional de Saúde: Acesso e utilização dos serviços de saúde, acidentes e violências. Rio de Janeiro. 2015. Disponível em <<https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv94074.pdf>>. Acesso em 03 Abr 2018.

_____. Saraiva. A. Estatísticas Sociais: População chega a 205,5 milhões, com menos brancos e mais pardos e pretos. 2017. Disponível em <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/pt/2012-agencia-de-noticias/noticias/18282-pnad-c-moradores.html>>. Acesso em 14 mai 2018.

JUNQUEIRA, D.M. et al. Detection of the B: unveiling the complexity of the human immunodeficiency virus-1 subtype B epidemic. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [S.l.], v. 108, n. 6, p.735-740, set. 2013.

JUNQUEIRA, D. M. ; ALMEIDA, S. E. de M. HIV-1 subtype B: Traces of a pandemic. **Virology**, [S.l.], v. 495, p.173-184, ago. 2016.

KAUSHIC, C. HIV-1 Infection in the Female Reproductive Tract: Role of Interactions between HIV-1 and Genital Epithelial Cells. **American Journal Of Reproductive Immunology**, [S.l.], v. 65, n. 3, p.253-260, 12 jan. 2011.

KORBER, B. et al. Evolutionary and immunological implications of contemporary HIV-1 variation. *British Medical Bulletin*, [s.l.], v. 58, n. 1, p.19-42, 1 set. 2001.

KUMAR, Sudhir; STECHER, Glen; TAMURA, Koichiro. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. **Molecular Biology And Evolution**, [s.l.], v. 33, n. 7, p.1870-1874, 22 mar. 2016.

LACOMBE, K., ROCKSTROH, J. HIV and viral hepatitis coinfections: advances and challenges. **Gut**, [S.l.], v. 61, n. 1, p.47-58, 12 abr. 2012.

LANL - LOS ALAMOS NATIONAL LABORATORY HIV DATABASE. **HIV Databases**. Disponível em: <<https://www.hiv.lanl.gov/content/index>>. Nov. 2016.

LEAL, É. , VILLANOVA, F. E. Diversity of HIV-1 Subtype B: Implications to the Origin of BF Recombinants. **Plos One**, [S.l.], v. 5, n. 7, p.1-7, jul. 2010.

LEITE, T.C.N.F. et al. Impact of HIV-1 Subtypes on AIDS Progression in a Brazilian Cohort. **Aids Research And Human Retroviruses**, [S.l.], v. 33, n. 1, p.41-48, jan. 2017.

LENGAUER, T. et al. Bioinformatics prediction of HIV coreceptor usage. **Nat Biotechnol**, v. 25, n. 12, p. 1407-1410, Dez 2007

LEVY, J. A. **HIV e a patogenia da AIDS**. [São Paulo, SP]: UNIFESP, [2010]. 688 p.

LIHANA, R.W., et al. Update on HIV-1 diversity in Africa: a decade in review. **Aids Revs.** [S.l.], v. 14, n. 2, p. 83-100, abr-jun. 2012.

LOLE, K.S. et al. Full-length human immunodeficiency virus type 1 genomes from subtype C infected seroconverters in India, with evidence of intersubtype recombination. **J.Virol**, v. 73, p.152-160, 1999.

LOUREIRO, R. et al. Prevalência e fatores de risco associados ao Subtipo C do HIV-1 em pacientes soropositivos em acompanhamento no Ambulatório de Dermatologia Sanitária da Secretaria da Saúde do RGS. **Boletim da Saúde**, Rio Grande do Sul, v. 16, n. 2, p.82-90. 2002.

MALIM, M. H.; EMERMAN, M. HIV-1 accessory proteins ensuring viral survival in a hostile environment. **Cell Host Microbe**, v. 3, n. 6, p. 388-398, Jun 2008.

MELAKU, Y.A. et al. Fertility desire among HIV-positive women in Tigray region, Ethiopia: implications for the provision of reproductive health and prevention of mother-to-child HIV transmission services. **Bmc Women's Health**, [S.l.], v. 14, n. 1, p.1-10, 19 nov. 2014.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das IST, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. **Curitiba recebe certificação de eliminação da transmissão vertical do HIV**. 04 dez. 2017.

MORGADO, M.G. et al. V3 Region Polymorphisms in HIV-1 from Brazil: Prevalence of Subtype B Strains Divergent from North American/European Prototype and Detection of Subtype F. **Aids Research And Human Retroviruses**, [S.l.], v. 10, n. 5, p.569-576, maio 1994.

NEIL, S.J.D., ZANG, T., BIENIASZ, P.D. Tetherin inhibits retrovirus release and is antagonized by HIV-1 Vpu. **Nature**, [S.I.], v. 451, n. 7177, p.425-430, jan. 2008.

OLIVEIRA, S.B., MERCHAN-HAMANN, E., AMORIM, L.D.A.F. HIV/AIDS coinfection with the hepatitis B and C viruses in Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, Brasília, v. 30, n. 2, p.433-438, fev. 2014.

OLIVEIRA, F. et al. Detection of numerous HIV-1/MO recombinants in France. **Aids**, [S.I.], v. 32, n. 10, p.1289-1299, jun. 2018.

OPAS – Organización Panamericana de la Salud. **Estrategia de Monitoreo Regional**: Estrategia y plan de acción para la eliminación de la transmisión materno-infantil del VIH y de la sífilis congénita. Departamento de Enfermedades Transmisibles y Análisis de Salud. Washington, D.C. 2014

PLANTIER, J. C. et al. A new human immunodeficiency virus derived from gorillas. **Nature Medicine**, [S.I.], v. 15, n. 8, p.871-872, ago. 2009.

PLOTTS, K.E. et al. Genetic heterogeneity of the V3 region of the HIV-1 envelope glycoprotein in Brazil. Brazilian Collaborative AIDS Research Group, **AIDS**, [S.I.], v. 7, n. 9, p. 1191- 1197, set. 1993.

RABONI, S.M. et al. Molecular epidemiology of HIV-1 clades in Southern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [S.I.], v. 105, n. 8, p. 1044-1049, dez. 2010.

RAMBAUT, A. et al. The causes and consequences of HIV evolution. **Nature Reviews Genetics**, [S.I.], v. 5, n. 1, p.52-61, jan. 2004.

ROYLE, C. M. et al. HIV-1 and HIV-2 Differentially Mature Plasmacytoid Dendritic Cells into IFN-Producing Cells or APCs. **The Journal Of Immunology**, [S.I.], v. 193, n. 7, p.3538-3548, 25 ago. 2014.

SANTANNA, A.C.C., SEIDL, E.M.F. Efeitos da condição sorológica sobre as escolhas reprodutivas de mulheres HIV positivas. **Psicologia: Reflexão e Crítica**, [s.l.], v. 22, n. 2, p.244-251, 2009.

SANTOS, J.S. **Indivíduos HIV-1 positivos não progressores por longo tempo - LTNP: características virais e do hospedeiro**. 2017. 171 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Medicina Interna, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2017

SIERRA, S.; KUPFER, B.; KAISER, R. Basics of the virology of HIV-1 and its replication. **Journal Of Clinical Virology**, [S.l.], v. 34, n. 4, p.233-244, dez. 2005.

SILVA, M.M.G. et al. HIV subtype, epidemiological and mutational correlations in patients from Paraná, Brazil. **The Brazilian Journal Of Infectious Diseases**, [S.l.], v. 14, n. 5, p.495-501, set. 2010.

TIZZOT, M. R. et al. Seroprevalence of HCV markers among HIV infected patients from Curitiba and metropolitan region. **Revista da Associação Médica Brasileira**, [S.l.], v. 62, n. 1, p.65-71, fev. 2016.

TRIQUES, K.. et al. Near-Full-Length Genome Sequencing of Divergent African HIV Type 1 Subtype F Viruses Leads to the Identification of a New HIV Type 1 Subtype Designated K. **Aids Research And Human Retroviruses**, [s.l.], v. 16, n. 2, p.139-151, 20 jan. 2000.

TOLEDO, P.V.M. et al. Genetic diversity of human immunodeficiency virus-1 isolates in Paraná, Brazil. **The Brazilian Journal Of Infectious Diseases**, [s.l.], v. 14, n. 3, p.230-236, mai. 2010.

UNAIDS (Org.). USA. **UNAIDS and Luxembourg promote the 90–90–90 treatment target**. 2015. Disponível em: <http://www.unaids.org/en/resources/presscentre/featurestories/2015/november/20151109_lux_909090>. Acesso em: 15 nov. 2015

_____ (Org.). USA. **Global Aids Update**. 2016. Disponível em: <http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/global-AIDS-update-2016_en.pdf>. Acesso em: 08 out 2016.

_____ (Org.). Brasil. RESUMO INFORMATIVO. Dia Mundial Contra a AIDS 2017: estatísticas Globais sobre o HIV. (2017). Disponível em: <https://unaids.org.br/wp-content/uploads/2017/12/UNAIDSBR_FactSheet.pdf>. Acesso em 02 jun 2018.

VERAS, N. M. et al. High-resolution phylogenetics and phylogeography of human immunodeficiency virus type 1 subtype C epidemic in South America. **J Gen Virol**, v. 92, n. Pt 7, p. 1698-1709, Jul 2011.

VILLELA, W.V., BARBOSA, R.M. Trajetórias de mulheres vivendo com HIV/aids no Brasil. Avanços e permanências da resposta à epidemia. **Ciência & Saúde Coletiva**, [S.l.], v. 22, n. 1, p.87-96, jan. 2017.

WHO. World Health Organization. **HIV/AIDS**. 2015. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs360/en/>>. Acesso em: 15 nov 2017.

_____. World Health Organization. **HIV/AIDS**. Global guidance on criteria and processes for validation: elimination of mother-to-child transmission of HIV and syphilis, 2nd edition 2017. Disponível em: <<http://www.who.int/reproductivehealth/publications/emtct-hiv-syphilis/en/>>. Acesso em 25 mar 2018.

WIGG, M. D. Vírus da Imunodeficiência Humana. In: SANTOS, N. S. de O.; ROMANOS, M. T. V.; WIGG, M. D. **Introdução à Virologia Humana**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. Cap. 14. p. 410-447.

APÊNDICE 1 – TCLE



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidada a participar de um estudo intitulado “Perfil epidemiológico, clínico e molecular das pacientes HIV positivas atendidas no Hospital de Clínicas da UFPR”. A participação neste trabalho é voluntária e você pode se recusar ou deixar de participar a qualquer momento. A sua recusa não implicará na interrupção de seu atendimento e/ou tratamento, que está assegurado. Se você concordar em participar da pesquisa, pediremos que assine duas vias deste documento, uma das vias ficará com você e outra ficará em nossos arquivos.

O objetivo desta pesquisa é estudar diferentes características do vírus da imunodeficiência humana (HIV) (clínicas, epidemiológicas e moleculares) nas mulheres portadoras deste vírus e que foram atendidas no HC-UFPR. Pretende-se utilizar amostras de sangue previamente coletadas para exames de rotina da carga viral e que permanecem estocadas por um período de cinco anos, não sendo necessária a coleta de material para este estudo. A partir das amostras existentes e da autorização prévia, será realizado um estudo para determinar o subtipo viral de cada participante. Com base nestas informações e dados coletados no prontuário da paciente será verificada a relação entre os diferentes subtipos de HIV e a presença de outras infecções associadas.

Caso você participe da pesquisa não será necessária a coleta de sangue uma vez que amostras coletadas na rotina da carga viral encontram-se estocadas como forma de controle. A participação da pesquisa não implica em nenhum risco às pacientes. Como benefícios espera-se encontrar informações que possam contribuir para o avanço científico e auxiliar no tratamento futuro de pessoas que sejam portadoras do HIV.

Os pesquisadores Meri Bordignon Nogueira, Luíne Rosele Renaud Vidal e Indianara Rotta, Farmacêuticas-Bioquímicas; Sônia Mara Raboni, médica; Talita Bessani, Bióloga e mestranda do Programa de Pós-graduação de Tocoginecologia; Jucelia Stadinicki, Bióloga e doutoranda do Programa de Pós-graduação em Medicina Interna, responsáveis por este estudo, poderão ser contatados no telefone (41) 3360-7974 das 08:00 às 18:00 horas; pelo e-mail virologia@hc.ufpr.br; ou no Laboratório de Virologia - Rua Padre Camargo, 280, para esclarecer eventuais dúvidas e fornecer-lhe as informações desejadas, antes, durante ou depois de encerrado o estudo.

Se você tiver dúvidas sobre seus direitos como participante de pesquisa, poderá contatar o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos – CEP/HC/UFPR pelo Telefone 3360-1041. Este comitê é composto por um grupo de indivíduos com conhecimento científicos e não científicos que realizam a revisão ética inicial e continuada do estudo de pesquisa para mantê-lo seguro e proteger seus direitos.

A sua identidade será sempre preservada e será mantida a confidencialidade. Quando os resultados forem publicados, não aparecerá seu nome, e sim um código.

Eu, _____ li esse termo de consentimento e compreendi a natureza e objetivo do estudo do qual concordei em participar. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação a qualquer momento sem justificar minha decisão. Eu entendi e fui informado que a pesquisa não terá nenhum custo para mim.

(Nome e Assinatura do participante da pesquisa ou responsável legal)
Curitiba, ____/____/____

Rubricas:
Participante da Pesquisa e /ou responsável legal _____
Pesquisador Responsável ou quem aplicou o TCLE _____

(Nome e Assinatura do Pesquisador ou quem aplicou o TCLE)
Curitiba, ____/____/____


MARIA JOSÉ MOCELIN
Membro do Comitê de Ética em Pesquisa
em Seres Humanos do HC/UFPR
Matricula 7462

APÊNDICE 2 – FICHA DE COLETA DE DADOS NOS PRONTUÁRIOS

I – IDENTIFICAÇÃO:

Nome: _____ Registro: _____

Raça: ()Branca ()Parda ()Negra ()Amarela ()Indígena ()SI Data de Nasc: _____

Escolaridade: _____ Profissão: _____

II - TIPO DE EXPOSIÇÃO:

Cigarro ()Não ()Sim Álcool ()Não ()Sim Tatuagem ()Não ()Sim Piercing ()Não ()Sim

Droga: ()Não ()Sim Qual: _____ Qdo: _____

Tx Sang. ()Não sabe informar ()Não ()Sim Qdo: _____

Atividade Sexual () com H () com M () com H/M () Preservativo antes HIV () Sempre () Nunca () AV

Nº total parceiros _____ Algum companheiro HIV+: ()Não ()Sim Qts _____ Qdo _____

Nº filhos/ano _____ G ___ P ___ C ___ A ___ Filhos HIV+ ()Não ()Sim Qts _____

Companheiro atual ()Não ()Sim HIV+: ()Não ()Sim () NS Preservativo após HIV () S () N () AV

Outras contracepções após HIV+: ()Não ()Sim Qual: _____ Desde qdo: _____

III – INVESTIGAÇÃO DE HIV

Circunstância do dx: _____ Data: _____ CDC: _____

Início ARV: _____ Esquema inicial: _____

ARV 2013/2014: _____

ARV 2016/2017: _____

Nº esquemas ARV: _____ Principal motivo de troca: _____

1º teste positivo: CV: _____ CD4: _____ CD8: _____ Data: _____

2013/2014: CV: _____ CD4: _____ CD8: _____ Data: _____

Último exame CV: _____ CD4: _____ CD8: _____ Data: _____

CD4 Nadir: _____ Data: _____ CV: _____

Genotipagem HIV: () N () S Data: _____ Subtipo: _____

Mut. ITRN: _____ Mut. ITRNN: _____

Drogas inibidoras TR (I/R): _____

Outros polimorf. TR: _____

Mut. Resistência Inibidores de Protease: _____

Drogas inibidoras Protease (I/R): _____

Outros polimorf. Protease: _____

IV – COMORBIDADES - Histórico

Hepatite B ()Não ()Sim Quando: _____

Hepatite C ()Não ()Sim Quando: _____

Sífilis ()Não ()Sim Quando: _____

HPV ()Não ()Sim Quando: _____

Toxo ()Não ()Sim Quando: _____

CMV ()Não ()Sim Quando: _____

HVS - herpes ()Não ()Sim Quando: _____

Clamídia ()Não ()Sim Quando: _____

Herpes Zóster ()Não ()Sim Quando: _____

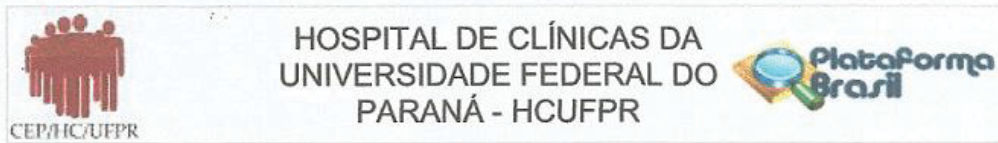
Gonorréia ()Não ()Sim Quando: _____

Depressão ()Não ()Sim Quando: _____

HTLV ()Não ()Sim Quando: _____

Outras comorbidades/Quando: _____

ANEXO 1 – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: PERFIL EPIDEMIOLÓGICO, CLÍNICO E MOLECULAR DAS PACIENTES HIV POSITIVAS ATENDIDAS NO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UFPR

Pesquisador: Meri Bordignon Nogueira

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 54131716.2.0000.0096

Instituição Proponente: Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.556.274

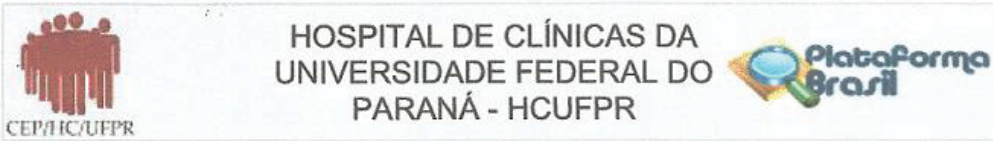
Apresentação do Projeto:

Tendo em vista a escassez de trabalhos correlacionando o perfil clínico, epidemiológico e molecular dos portadores do HIV em Curitiba e região metropolitana, este estudo objetiva identificar diferentes questões relacionadas ao perfil epidemiológico, clínico e molecular do HIV na população do gênero feminino, residentes na cidade de Curitiba e região metropolitana, atendidas no HC-UFPR. Trata-se de um estudo transversal com coleta retrospectiva de dados de cerca de 400 pacientes atendidas no HC-UFPR no período de março de 2013 a março de 2014. As amostras a serem utilizadas encontram-se estocadas no Laboratório de Virologia do HC-UFPR, pois foram processadas para obtenção de concentrado de leucócitos e análise de carga viral, que é feita de rotina neste laboratório para monitoramento do tratamento do paciente com HIV. Para a realização do estudo, o material genético viral será extraído para obtenção do DNA proviral, amplificado por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), purificado e submetido ao sequenciamento nucleotídico. A partir da análise molecular da região env do vírus, pretende-se identificar os subtipos virais bem como correlacioná-los com o perfil clínico das pacientes.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar o perfil epidemiológico, clínico e molecular das pacientes HIV positivas, com idade igual ou

Endereço: Rua Gal. Carneiro, 181
Bairro: Alto da Glória **CEP:** 80.060-900
UF: PR **Município:** CURITIBA
Telefone: (41)3360-1041 **Fax:** (41)3360-1041 **E-mail:** cep@hc.ufpr.br



Continuação do Parecer: 1.556.274

superior a 18 anos, atendidas no HC-UFPR, no período de março de 2013 à março de 2014 e que residam em Curitiba ou região metropolitana.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Material já coletado (estocadas no Laboratório de Virologia do HC-UFPR, pois foram processadas para obtenção de concentrado de leucócitos e análise de carga viral, que é feita de rotina neste laboratório para monitoramento do tratamento do paciente com HIV.

Sem necessidade de novas coletas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trabalho de Mestrado UFPR.

Sem custos para instituição de acordo com declaração do Laboratório HC (conta com verbas de projetos remanescentes)

Dados de prontuários.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

TCLE foi elaborado e adequado.

Recomendações:

É obrigatório trazer ao CEP/HC uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido que foi aprovado, para assinatura e rubrica, devidamente formatado. Após, xerocar este TCLE em duas vias, uma ficará com o pesquisador e uma para o participante da pesquisa.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

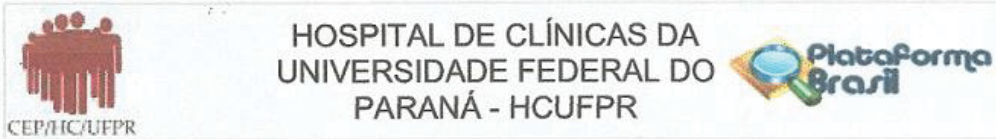
Projeto com tema cientificamente relevante e de acordo com os padrões éticos exigidos na pesquisa.

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do HC-UFPR, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/2012 e na Norma Operacional Nº 001/2013 do CNS, manifesta -se pela aprovação do projeto conforme proposto para início da Pesquisa. Solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios semestrais sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos. Manter os documentos da pesquisa arquivado.

É dever do CEP acompanhar o desenvolvimento dos projetos, por meio de relatórios semestrais dos pesquisadores e de outras estratégias de monitoramento, de acordo com o risco inerente à pesquisa.

Endereço: Rua Gal. Carneiro, 181
 Bairro: Alto da Glória CEP: 80.060-900
 UF: PR Município: CURITIBA
 Telefone: (41)3360-1041 Fax: (41)3360-1041 E-mail: cep@hc.ufpr.br



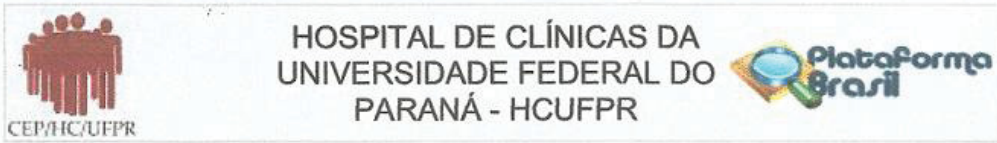
Continuação do Parecer: 1.556.274

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_671486.pdf	04/05/2016 12:47:14		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Talita_final.pdf	03/05/2016 09:23:40	Talita Bessani	Aceito
Folha de Rosto	Folha_rosto_para_pesquisa_envolvendo seres humanos.pdf	14/03/2016 13:09:41	Talita Bessani	Aceito
Declaração de Pesquisadores	18_Anexos_a_Plataforma_Brasil.pdf	11/03/2016 16:36:56	Talita Bessani	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	17_Projeto_de_pesquisa.pdf	11/03/2016 16:35:57	Talita Bessani	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	16_Dispensa_do_termo_de_consentimento.pdf	11/03/2016 16:35:16	Talita Bessani	Aceito
Declaração de Pesquisadores	12_Termo_de_guarda_material_biológico.pdf	11/03/2016 16:34:59	Talita Bessani	Aceito
Declaração de Pesquisadores	11_Qualificacao_de_todos_pesquisadores_colaboradores.pdf	11/03/2016 16:34:12	Talita Bessani	Aceito
Declaração de Pesquisadores	10_Termo_de_responsabilidade_com_a_pesquisa.pdf	11/03/2016 16:33:51	Talita Bessani	Aceito
Declaração de Pesquisadores	09_Declaracao_de_compromisso_dos_pesquisadores.pdf	11/03/2016 16:33:33	Talita Bessani	Aceito
Declaração de Pesquisadores	08_Termo_de_compromisso_para_utilizacao_de_dados_de_arquivos.pdf	11/03/2016 16:33:19	Talita Bessani	Aceito
Declaração de Pesquisadores	07_Declaracao_de_uso_especifico_do_material_dados_coletados.pdf	11/03/2016 16:33:00	Talita Bessani	Aceito
Declaração de Pesquisadores	06_Declaracao_de_tornar_publicos_os_resultados.pdf	11/03/2016 16:32:20	Talita Bessani	Aceito
Declaração de Pesquisadores	05_Termo_de_confidencialidade.pdf	11/03/2016 16:32:02	Talita Bessani	Aceito
Declaração de Pesquisadores	04_Concordancia_das_unidades_de_servico_Un_lab_analises_clinicas.pdf	11/03/2016 16:31:45	Talita Bessani	Aceito
Declaração de Pesquisadores	04_Concordancia_das_unidades_de_servico_Tocoginecologia.pdf	11/03/2016 16:31:36	Talita Bessani	Aceito
Declaração de Pesquisadores	04_Concordancia_das_unidades_de_servico_Infectologia.pdf	11/03/2016 16:31:23	Talita Bessani	Aceito
Declaração de Pesquisadores	03_Declaracao_do_orientador_do_aluno.pdf	11/03/2016 16:29:25	Talita Bessani	Aceito
Declaração de Pesquisadores	01_Carta_de_encaminhamento_do_pesquisador_ao_CEP.pdf	11/03/2016 16:26:46	Talita Bessani	Aceito

Situação do Parecer:

Endereço: Rua Gal. Carneiro, 181
 Bairro: Alto da Glória CEP: 80.060-900
 UF: PR Município: CURITIBA
 Telefone: (41)3360-1041 Fax: (41)3360-1041 E-mail: cep@hc.ufpr.br



Continuação do Parecer: 1.556.274

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CURITIBA, 23 de Maio de 2016

Assinado por:
Renato Tambara Filho
(Coordenador)

Endereço: Rua Gal. Carneiro, 181
Bairro: Alto da Glória **CEP:** 80.060-900
UF: PR **Município:** CURITIBA
Telefone: (41)3360-1041 **Fax:** (41)3360-1041 **E-mail:** cep@hc.ufpr.br

