



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ**  
**NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS TROPICAIS**

**GENOTIPAGEM DO HIV-1 NO PARÁ EM PACIENTES EXPERIMENTANDO  
FALHA TERAPÊUTICA ANTIRRETROVIRAL**

**CARMEN ANDRÉA FREITAS LOPES**

**Belém-PA**

**2011**

CARMEN ANDRÉA FREITAS LOPES

**GENOTIPAGEM DO HIV-1 NO PARÁ EM PACIENTES EXPERIMENTANDO FALHA  
TERAPÊUTICA ANTIRRETROVIRAL**

Dissertação apresentada ao Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará para obtenção do título de Mestre em Doenças Tropicais.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Rita de Cássia Costa Monteiro.

Belém-PA

2011

**Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP) –  
Biblioteca do Hospital Universitário João de Barro Barreto**

---

Lopes, Carmen Andréa Freitas.

Genotipagem do HIV-1 no Pará em pacientes experimentando falha terapêutica antirretroviral / Carmen Andréa Freitas Lopes, orientadora Prof<sup>a</sup>. Dra. Maria Rita de Cássia C. Monteiro – 2006.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais, Núcleo de Medicina Tropical, Universidade Federal do Pará, Belém, 2011.

1. AIDS (Doença) - Pará. 2. HIV (Virus). I. Monteiro, Maria Rita de Cássia C., orient.  
II. Título.

---

CDD - 22. ed. 616.9792098115

CARMEN ANDRÉA FREITAS LOPES

**GENOTIPAGEM DO HIV-1 NO PARÁ EM PACIENTES EXPERIMENTANDO FALHA  
TERAPÊUTICA ANTIRRETROVIRAL.**

Dissertação apresentada ao Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará para obtenção do título de Mestre em Doenças Tropicais.

Data da defesa: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Conceito: \_\_\_\_\_

Banca examinadora:

---

Orientadora: Profa. Dra. Maria Rita de Cássia C. Monteiro (HUJBB/UFPA).

---

Prof. Dr. Luiz Fernando Almeida Machado (Depto. Patologia/CCB/UFPA).

---

Prof. Dr. José Alexandre Rodrigues de Lemos (Depto. Genética/CCB/UFPA).

---

Profa. Dra. Lizomar de Jesus Maués Pereira Mota (HUJBB/UFPA).

**Aos meus filhos *Ciro Andrey* e *Carla Andressa*  
pelo carinho e compreensão.**

## AGRADECIMENTOS

A **DEUS**, pois a vontade Dele foi feita ao conseguir superar adversidades e chegar a mais uma etapa de minha formação.

À Profa. Dra. Maria Rita de Cássia Costa Monteiro pela contribuição na elaboração desta pesquisa.

Ao meu filho Ciro Andrey por sua paciência, carinho e apoio dados nas horas difíceis da elaboração deste trabalho.

À minha filha Carla Andressa que mesmo ainda não compreendendo, em horas cansativas me fez sorrir.

À minha mãe Vera Lúcia que foi avó e mãe dos meus filhos nos momentos que me ausentei em razão desta pesquisa.

À pesquisadora do Instituto Evandro Chagas Olinda Macêdo por sua atenção, disponibilidade e estímulo importantes na elaboração deste estudo.

Aos colegas de trabalho, médicos da clínica de infectologia do Hospital Universitário João de Barros Barreto pelo incentivo, apoio, compreensão e amizade.

Aos pacientes que convivem com o HIV, pois despertaram em mim a curiosidade pela pesquisa, essencial ao aprendizado.

**“Paciência e perseverança tem o efeito mágico de fazer as dificuldades desaparecerem e os obstáculos sumirem”.**

John Quincy Adams

## RESUMO

Terapia supressiva antirretroviral reduz significativamente morbidades e mortalidade relacionadas ao HIV, mas a emergência de vírus resistentes pode limitar o sucesso do tratamento. Objetivou-se neste estudo descrever, em portadores de HIV/sida experimentando falha à terapia antirretroviral (TARV), no estado do Pará, a prevalência de mutações nas enzimas transcriptase reversa e protease do HIV-1 e correlacioná-las à resistência aos antirretrovirais (ARV). Foi um estudo descritivo, retrospectivo, do tipo transversal, com dados obtidos na Unidade de Referência Especializada em Doenças Infecciosas e Parasitárias Especiais de Belém do Pará, de pacientes com perfil laboratorial de falha terapêutica. A presente amostra incluiu genotipagem de cinquenta pacientes no período de janeiro de 2004 a dezembro de 2005. Os critérios de inclusão foram: adesão à terapia imediata a genotipagem, falha terapêutica, perfil de resistência viral à TARV e ser paciente da rede pública de saúde. Foram descritos aspectos demográficos da população estudada, perfil de uso de TARV previamente a genotipagem, tempo conhecido de infecção pelo HIV, perfil quantitativo de células CD4+ e de carga viral, além do teste de genotipagem realizado. A resistência encontrada predominou em pacientes residentes em Belém (72%), no sexo masculino (90%) e na faixa etária de 30 a 49 anos de idade. As maiores prevalências de mutações na transcriptase reversa do HIV-1 foram: 214F (86%), 184V (76%), 215FY (56%), 211K (48%), 219QEN, 67N e 103N (42%) cada, 41L (32%), 70R (28%) e 210W (20%). Na protease 46IL (38%), 90M (32%) e 82AFT (20%) foram as mais prevalentes dentre as mutações principais e, dentre as secundárias, 63P (74%), 93LM (52%), 10FIV (48%) e 35D (46%). Atribuiu-se estas mutações a pressão seletiva dos ARV mais utilizados: 3TC, AZT, D4T, DDI, EFZ, IDV, NFV, RTV e SQV. O uso de múltiplos esquemas ARV, favoreceu a prevalência das mutações encontradas. Houve impacto dentro das classes com 32% de resistência completa a uma classe, 22% a duas classes e 4% a três classes. Conclui-se que pacientes expostos a única TARV previamente à genotipagem comparados aos expostos a mais de uma TARV, apresentaram menor prevalência de resistência aos ARV, com possibilidade de resgate terapêutico com ARV ativos disponíveis na época que, entretanto foi a minoria.

Palavras - Chave: HIV/sida. Genotipagem. Transcriptase reversa. Protease. Mutações de resistência. Resistência. Antirretrovirais.



## ABSTRACT

Suppressive antiretroviral therapy significantly reduces morbidity and mortality related to HIV, but the emergence of resistant virus may limit the success of treatment. The objective of this study describe, in HIV / AIDS experiencing failure with antiretroviral therapy, in state of Pará, the prevalence of mutations in reverse transcriptase and protease enzymes of HIV-1 and correlate them to resistance to antiretrovirals. A descriptive, retrospective cross-sectional data obtained in the Reference Unit Specialized in Special Infectious and Parasitic Diseases from Belem-Pará, profile of patients with laboratory evidence of treatment failure. This sample was represented by genotyping of fifty patients from January 2004 to December 2005. Inclusion criteria were: adherence to therapy prior to genotype, treatment failure, viral resistance profile to antiretroviral therapy and be patient of public health. We described the demographic population profile of antiretroviral therapy prior to genotyping, long known HIV infection, quantitative profile of CD4 + and viral load, in addition to genotype testing performed. The predominant resistance found in patients living in Belém (72%), males (90%) and aged 30 to 49 years old. The highest rates of mutations in reverse transcriptase of HIV-1 were: 214F (86%), 184V (76%), 215FY (56%), 211K (48%), 219QEN, 67N and 103N (42% each), 41L (32%), 70R (28%) and 210W (20%). In 46IL protease (38%), 90M (32%) and 82AFT (20%) were most prevalent among the major replacements and, among the secondary, 63P (74%), 93LM (52%), 10FIV (48%), and 35D (46%) predominated. Was attributed to selective pressures these mutations most commonly used antiretrovirals: 3TC, AZT, D4T, DDI, EFV, IDV, NFV, RTV and SQV. The use of multiple antiretroviral regimens, boosted the prevalence of these mutations, with an impact within the classes in which there was 32% complete resistance to one class, 22% two classes and 4% to three classes of antiretrovirals. We conclude that patients exposed to HAART only prior to genotyping compared to those exposed to more than one HAART had a lower prevalence of resistance to antiretrovirals, with the possibility of rescue therapy with antiretrovirals assets available at the time that was the minority however.

Key - words: HIV / AIDS. Genotyping. Reverse transcriptase. Protease. Resistance mutations. Resistance. Antiretrovirals.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> - Estrutura genômica do HIV-1.....	<b>19</b>
<b>Figura 2</b> - Alvo da terapia antirretroviral nas diferentes etapas do ciclo replicativo do HIV- .....	<b>24</b>
<b>Figura 3</b> - Modelo estrutural da transcriptase reversa do HIV-1 mostrando códons de mutações de resistência viral referentes aos ITRN .....	<b>33</b>
<b>Figura 4</b> - Modelo estrutural da transcriptase reversa do HIV-1 mostrando códons de mutações de resistência viral referentes aos ITRNN .....	<b>34</b>
<b>Figura 5</b> - Estrutura da enzima protease do HIV-1 mostrando códons de mutações de resistência viral referentes aos IP.....	<b>35</b>
<b>Gráfico 1</b> - Prevalência de terapias antirretrovirais utilizadas previamente a genotipagem.....	<b>57</b>
<b>Gráfico 2</b> - Prevalência de mutações na transcriptase reversa do HIV-1 relacionadas aos TRN.....	<b>60</b>
<b>Gráfico 3</b> - Prevalência de mutações na transcriptase reversa do HIV-1 relacionadas aos ITRNN .....	<b>61</b>
<b>Gráfico 4</b> - Prevalência de mutações na protease do HIV-1, mutações principais e acessórias, relacionadas aos IP.....	<b>62</b>
<b>Gráfico 5</b> - Prevalência de resistência do HIV-1 a algum antirretroviral por classe e resistência completa à classe antirretroviral.....	<b>66</b>
<b>Gráfico 6</b> - Prevalência de resistência completa do HIV-1 aos antirretrovirais abrangendo uma, duas e três classes terapêuticas, de acordo com o teste de genotipagem.....	<b>67</b>
<b>Gráfico 7</b> - Prevalência de resistência do HIV-1 aos ITRN e ITRNN, entre os oito pacientes que utilizaram única terapia antirretroviral precedendo o teste de genotipagem genotipagem, conforme interpretação do algoritmo brasileiro.....	<b>68</b>
<b>Gráfico 8</b> - Prevalência de resistência do HIV-1 aos IP, entre os oito pacientes que utilizaram que utilizaram única terapia antirretroviral precedendo o teste de genotipagem conforme interpretação do algoritmo brasileiro.....	<b>68</b>
<b>Gráfico 9</b> - Prevalência de resistência do HIV-1 aos ITRN e ITRNN, entre os quarenta e dois pacientes que utilizaram única terapia antirretroviral	

precedendo o teste de genotipagem, conforme interpretação do algoritmo brasileiro.....**69**

**Gráfico 10** - Prevalência de resistência do HIV-1 aos IP, entre os oito pacientes que utilizaram única terapia antirretroviral precedendo o teste de genotipagem, conforme interpretação do algoritmo brasileiro.....**70**

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Distribuição da população estudada de acordo com a faixa etária e sexo.....	<b>53</b>
<b>Tabela 2</b> - Distribuição do perfil de resistência do HIV-1, de acordo com o município de residência dos pacientes.....	<b>54</b>
<b>Tabela 3</b> - Frequência de uso de terapia antirretroviral utilizada previamente a genotipagem, por modalidade e classe terapêutica.....	<b>55</b>
<b>Tabela 4</b> - Frequência e média aritmética do uso em meses dos antirretrovirais previamente a genotipagem.....	<b>56</b>
<b>Tabela 5</b> - Perfil laboratorial de infecção pelo HIV e exposição aos antirretrovirais de acordo com o número de terapia antirretroviral utilizada previamente a genotipagem.....	<b>58</b>
<b>Tabela 6</b> - Prevalência de substituições de aminoácidos na transcriptase reversa e protease do HIV-1, relacionada à resistência aos antirretrovirais por classe terapêutica entre os 50 pacientes do estudo.....	<b>59</b>
<b>Tabela 7</b> - Prevalência de mutações na transcriptase reversa do HIV-1 relacionadas aos ITRN de acordo com o grupo de pacientes que utilizou uma TARV e mais de uma TARV.....	<b>63</b>
<b>Tabela 8</b> - Prevalência de mutações na transcriptase reversa do HIV-1 relacionadas aos ITRNN de acordo com o grupo de pacientes que utilizou uma TARV e mais de uma TARV.....	<b>64</b>
<b>Tabela 9</b> - Prevalência de mutações na protease do HIV-1 relacionadas aos IP de acordo com o grupo de pacientes que utilizou uma TARV e mais de uma TARV...	<b>65</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

3TC: lamivudina

A: adenosina

ABC: abacavir

AIDS: *acquired immunodeficiency syndrome*

APV: amprenavir

ARV: antirretrovirais

ATV: atazanavir

AZT ou ZDV: zidovudina

CASA-DIA: Centro de Atenção a Saúde e Doenças Infecciosas Adquiridas

C: citosina

cDNA: ácido desoxiribonucleico complementar

CRF: forma recombinante circulante

DDC: zalcitabina

DDI: didanosina

D4T: estavudina

DRV: darunavir

DHHS: *Department of Health and Human Services*

DLV: delavirdina

DNA: ácido desoxiribonucleico

EFZ: efavirenz

ENF ou T-20: enfuvirtida

ETR: etravirina

FDA: *Food and Drug Administration*

FPV: fosamprenavir

G: guanosina

gp 120: glicoproteína 120 do envelope do HIV

gp 160: glicoproteína precursora que dá origem as gp 120 e 41 do envelope do HIV

gp 41: glicoproteína 41 do envelope do HIV

HAART: *highly active antiretroviral therapy*

HUJBB: Hospital Universitário João de Barros Barreto

HIV: Vírus da Imunodeficiência Humana

I: perfil de resistência intermediário a determinado antirretroviral

IAS: *International AIDS Society*

IDV: indinavir

## LISTA DE ABREVIATURAS (continuação)

INSTI: inibidor de integrase viral

IP: inibidor de protease

ITRN: inibidor de transcriptase reversa nucleosídeo

ITRNN: inibidor de transcriptase reversa não-nucleosídeo

Log<sub>10</sub>: logaritmo na base dez

LPV: lopinavir

LTR: *long terminal repeats*

MRG: médico de referência em genotipagem

NAM: mutações associadas aos análogos nucleosídeos

NFV: nelfinavir

NVP: nevirapina

PCR: reação em cadeia da polimerase

PR: protease

R: perfil de resistência resistente total a determinado antirretroviral

/r: ritonavir em dose de reforço aos inibidores de protease

RAL: raltegravir

RNA: ácido ribonucléico

RENAGENO: Rede Nacional de Genotipagem

RTV: ritonavir em dose terapêutica plena

SQV: saquinavir

S: perfil de resistência de sensibilidade total a determinado antirretroviral

sida: síndrome da imunodeficiência adquirida

T: timidina

TAM: mutações associadas aos análogos da timidina

TARV: terapia antirretroviral

TR: transcriptase reversa

TDF: tenofovir

URE-DIPE: Unidade de Referência Especializada em Doenças infecciosas e Parasitárias Especiais.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	15
2. JUSTIFICATIVA.....	17
3. REVISÃO DE LITERATURA .....	18
3.1- Etiologia e subtipos de HIV.....	18
3.2- Ciclo replicativo do HIV.....	20
3.3- Fatores importantes na variabilidade genética do HIV.....	21
3.4- Tratamento da infecção pelo HIV.....	22
3.5- Definições em resistência viral.....	27
3.6- Pressão seletiva da TARV e emergência de resistência do HIV.....	30
3.7- Diversidade do HIV relacionada à susceptibilidade e resistência aos ARV.....	31
3.8- Mecanismos de ação dos ARV e mecanismos de resistência viral a TARV.....	32
3.9- Perfil de resistência aos antirretrovirais.....	36
3.9.1- Resistência aos ITRN.....	36
3.9.2- Resistência aos ITRNN.....	37
3.9.3- Resistência aos IP.....	38
3.10- Testes para mensuração de resistência do HIV.....	40
3.11- Interpretação do teste de genotipagem.....	42
3.12- Prevalência de resistência do HIV a TARV.....	43
3.13- TARV em pacientes com resistência viral ampla aos ARV.....	44
4. OBJETIVOS .....	46
5. METODOLOGIA .....	47
5.1- Tipo de estudo.....	47
5.2- Local da pesquisa.....	47
5.3- População de referência.....	47
5.4- População de estudo.....	47
5.5- Tamanho amostral.....	48
5.6- Período da pesquisa.....	48
5.7- Critérios de inclusão.....	48
5.8- Critérios de exclusão.....	48
5.9- Variáveis estudadas.....	48
5.10- Procedimentos.....	49
5.11- Aspectos éticos.....	52

5.12-	Análise dos dados.....	52
6.	RESULTADOS.....	53
6.1-	Dados gerais.....	53
6.2-	Perfil do uso da terapia antirretroviral.....	54
6.3-	Prevalência de mutações de resistência .....	59
6.3.1-	Mutações de resistência na TR relacionadas aos ITRN.....	59
6.3.2-	Mutações de resistência na TR relacionadas aos ITRNN.....	60
6.3.3-	Mutações de resistência na PR relacionadas aos IP.....	61
6.3.4-	Mutações de resistência na TR relacionadas aos ITRN entre os pacientes que utilizaram uma TARV e mais de uma TARV.....	62
6.3.5-	Mutações de resistência na TR relacionadas aos ITRNN entre os pacientes que utilizaram uma TARV e mais de uma TARV.....	63
6.3.6-	Mutações de resistência na PR relacionadas aos IP entre os pacientes que utilizaram uma TARV e mais de uma TARV.....	64
6.4-	Perfil de resistência aos antirretrovirais.....	66
6.4.1-	Resistência às classes antirretrovirais.....	66
6.4.2-	Resistência aos antirretrovirais.....	67
6.4.2.1-	Resistência aos antirretrovirais entre os que experimentaram TARV única precedendo a enotipagem.....	67
6.4.2.2-	Resistência aos antirretrovirais entre os que experimentaram mais de uma TARV precedendo a genotipagem.....	69
7.	DISCUSSÃO .....	71
7.1-	Dados gerais.....	71
7.2-	Perfil do uso da terapia antirretroviral.....	72
7.3-	Prevalência de mutações de resistência .....	74
7.4-	Perfil de resistência aos antirretrovirais.....	78
7.4.1-	Resistência às classes antirretrovirais.....	78
7.4.2-	Resistência aos antirretrovirais.....	79
8.	CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	82
	REFERÊNCIAS.....	84
	ANEXOS.....	93



## 1. INTRODUÇÃO

A terapia antirretroviral (TARV), tornou a infecção pelo HIV doença de evolução crônica, pois ao ser diagnosticada a síndrome da imunodeficiência adquirida (sida) e instituída a TARV potente, haverá supressão da replicação do *Vírus da imunodeficiência humana* (HIV), diminuindo as morbidades e mortalidade associadas à infecção pelo HIV. Entretanto, pode ocorrer uma diminuição da eficácia terapêutica consequente ao desenvolvimento de resistência viral aos antirretrovirais (ARV). (LAZARRI et al., 2004; MACHADO et al., 2004; MACHADO et al., 2005).

A resistência é preocupação mundial e problema de saúde pública, pois, o paciente infectado por cepas virais resistentes, poderá manifestar morbidades próprias de imunodeficiência avançada. Desta forma, torna-se oneroso às instituições que lhe prestam assistência e à sociedade, na qual se encontra inserido, além de constituir um potencial transmissor de cepas virais de difícil tratamento, caso não se adote medidas de prevenção à disseminação da doença (KOZAL et al., 2004).

A terapia de resgate nos casos de resistência é mandatória, e estudos comprovam a utilidade do teste de genotipagem, uma vez que este conhecimento facilita a adoção de regimes terapêuticos adaptados ao perfil genético do vírus em questão, e mais eficazes para a supressão viral desejada (DURAN et al, 1999; BAXTER et al., 2000; MEYNARD et al., 2002; TURAL et al., 2002).

O Brasil é destaque mundial no cenário de assistência aos pacientes infectados pelo HIV particularmente na assistência terapêutica e até março de 2010 aproximadamente 200.000 brasileiros receberam TARV. Existe toda uma política do uso racional e sequencial de terapias alternativas a falha terapêutica e a partir de 2001 tornou-se disponível o teste de genotipagem para subsidiar a melhor escolha terapêutica mediante a falha (BRASIL, 2008; HALLAL et al., 2010). Na região norte do Brasil, contudo o exame passa a ser acessível em 2004.

As populações menos favorecidas do ponto de vista social apresentam grande vulnerabilidade quanto ao aumento da incidência da sida. Assim, nos países mais pobres, com o crescimento da epidemia, observa-se um aumento dos casos da síndrome entre os mais jovens, mulheres, comunidades rurais e estratos de baixo

nível socioeconômico (UNAIDS/WHO, 2009). Belém, em seus centros de referência para o tratamento de HIV/Sida, atende pacientes que se enquadram neste perfil.

## **2. JUSTIFICATIVA**

Nos serviços de atendimento especializados no estado do Pará a TARV é iniciada, mas o perfil genético de resistência dos que falham ao tratamento é desconhecido até então, sendo de extrema importância estes dados, diante da necessidade de adequação terapêutica e na adoção de medidas de prevenção de transmissão de cepas virais resistentes.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1- Etiologia e subtipos de HIV

A infecção pelo Vírus da imunodeficiência humana, agente etiológico da sida, é causa importante de morbimortalidade no mundo. Até dezembro de 2009, a estimativa global de adultos e crianças infectados com o HIV foi de 33,3 milhões, havendo o registro de 1,3 milhões de mortes devido à sida somente na África sub-saariana que notificou o maior número de pessoas vivendo com o HIV neste período, aproximadamente 22,5 milhões (UNAIDS/WHO, 2009).

O HIV pertence ao gênero Lentivírus da família Retroviridae. Apresenta seu genoma constituído por duas fitas simples de ácido ribonucléico (RNA), que juntamente com as enzimas transcriptase reversa (TR), integrase (IN) e protease (PR), necessárias à replicação e maturação viral, situam-se no interior do capsídeo viral cuja forma é cônica. Seu envelope fosfolipídico é de membrana derivada de células do hospedeiro e nele encontra-se a glicoproteína de superfície “gp120” e a glicoproteína transmembrana “gp41”, importantes no processo de fusão do envelope viral à membrana celular (CHINEN and SHEARER, 2002).

O ácido desoxiribonucleico (DNA) próviral do HIV tem, aproximadamente, 10Kb de comprimento (figura 1) e é composto por nove genes e duas regiões conhecidas como LTR (*long terminal repeats*). Estas funcionam como elementos regulatórios para a integração viral no genoma do hospedeiro, expressão do gene viral e transcrição do RNA mensageiro. Genes de grande importância, o *gag*, *pol* e *env*, codificam proteínas estruturais. Assim, o gene *gag* codifica a matriz protéica, o capsídeo viral e as proteínas nucleares; o *pol* codifica as enzimas transcriptase reversa, protease e integrase; e o *env* codifica a proteína “160kd”, precursora da gp160, que ao ser clivada origina a “gp41” e a “gp120”. Os demais genes - *tat*, *rev*, *vif*, *vpr*, *vpu* e *nef*, codificam proteínas acessórias, as quais são importantes para regulação e expressão gênica (CLEGHORN et al., 2005).

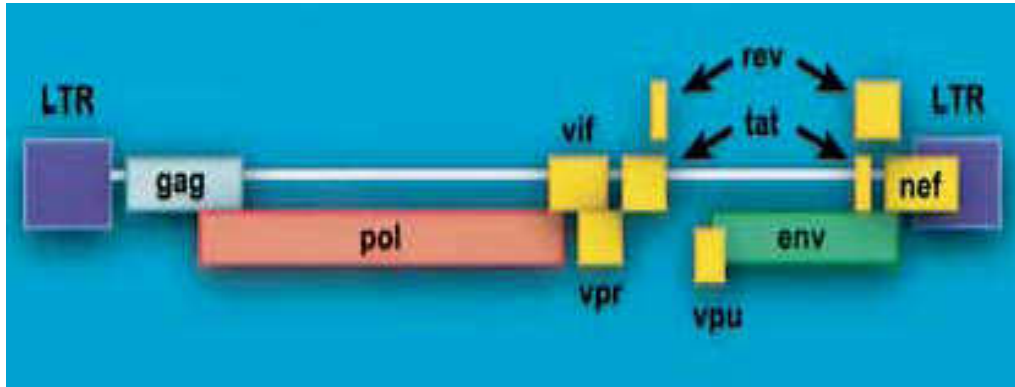


Figura 1 - Estrutura genômica do HIV-1 (adaptado de CHINEN and SHEARER, 2002).

Epidemiologicamente, as evidências genéticas distinguem dois tipos de HIV: o HIV-1 e o HIV-2. O HIV-1 exibe alto grau de variabilidade genética, sendo característico na epidemia da sida, pois é o mais transmissível e o mais patogênico. Sua diversidade gerada por mutações e recombinações, proporcionou subtipos virais importantes para saúde pública e conseqüentemente geração de vírus resistentes a TARV. Isto pode comprometer o desenvolvimento da vacina contra o HIV, assim como a acurácia de testes de sensibilidade ao diagnóstico do vírus (TATT et al., 2001).

O HIV-1 é subdividido em três grupos: M (*Major*), O (*Outying*) e N (*New*). O grupo M é o mais prevalente no mundo e geneticamente evoluiu formando subtipos que vão de A a J, denominados de *clades*. Estes subtipos, ao infectarem a célula podem assumir combinações formando as chamadas formas recombinantes (SWITZERLAND, 1997; SPIRA et al., 2003 ). De acordo com Simon et al. (2006), há nove subtipos diferentes do HIV-1 e muitas formas recombinantes circulantes (FRC), como a A/E designada como FRC\_01 e a A/G designada como FRC\_02. Tatt et al. (2001), designaram estas nove formas de A a D, F a H e J a K. Os subtipos E e I, como inicialmente proposto, na verdade são formas recombinantes e não subtipos.

Variações no envelope viral ajudam a diferenciar o HIV-1 do HIV-2, ocorrendo diferenças de constituição gênica entre os dois grupos de vírus em até 30% e entre os subtipos de 15 a 25% (LEVY, 2009).

Estudos sugerem ocorrer graus diferentes de virulência e transmissibilidade do HIV de acordo com o subtipo envolvido (SWITZERLAND, 1997; TATT et al., 2001; LEVY, 2009). Estes subtipos podem proporcionar co-

infecção ou superinfecção<sup>1</sup> pelo HIV, prejudicando o curso da terapia se a infecção ocorrer por vírus com o perfil de resistência às drogas (SMITH et al., 2005).

Levy (2009), avaliou que a superinfecção estaria ocorrendo com maior frequência nos estágios iniciais da infecção pelo HIV em relação a infecção crônica pelo vírus.

Embora o subtipo C seja o mais prevalente no mundo (Soares et al., 2003; Levy, 2009) e este seja estimado em torno de 55% a 60%, de acordo com Simon et al. (2006). Na América do Norte e Europa, a maioria dos subtipos isolados pertence ao subtipo B e a disponibilidade de drogas, até então desenvolvidas para o tratamento da sida testa a susceptibilidade apenas deste subtipo. Mas, particularmente na Europa, está ocorrendo um aumento progressivo na frequência de isolados não-B, com a crescente migração populacional, havendo cerca de 40% de novas infecções com variantes não-B procedentes da Ásia e África (SHAFER, 2002; SPIRA et al., 2003).

No Brasil, o subtipo com maior circulação é o B, em torno de 80%, seguido dos subtipos F e C, prevalentes na região sul do Brasil, ocorrendo também formas recombinantes circulantes. Mapeamentos prévios no país mostraram frequência em torno de 3% do subtipo C. Entretanto, Soares et al. (2003), demonstraram que em torno de 30% dos vírus circulantes no sul e sudeste do Brasil pertencem ao subtipo C e a elevada incidência do subtipo B, na mesma região, favoreceu a ocorrência dos recombinantes B/C e C/B em proporções elevadas. Os estados do Rio Grande do Sul e Paraná contribuíram com um percentual de 45% e 30% do subtipo C do HIV-1, respectivamente.

### **3.2- Ciclo replicativo do HIV**

As principais células infectadas pelo HIV são as que apresentam em sua superfície a molécula CD4 (linfócitos T4 ou helper e macrófagos). A ligação do HIV a estas células é mediada pelo complexo glicoproteico viral gp120-gp41. A gp120 ao

---

<sup>1</sup> Co-infecção ocorre quando há infecção simultânea de duas cepas de HIV ou em um curto período de tempo antes que se estabeleça uma resposta imune. Na superinfecção, após uma resposta imune já estabelecida, há uma re-infecção por nova cepa de HIV havendo, porém, algumas divergências devido a elevada variabilidade genética do HIV (SMITH et al., 2005).

conectar-se ao receptor celular CD4 é induzida a uma alteração conformacional, possibilitando sua ligação a receptores de quimiocinas (CCR5 ou CXCR4)<sup>2</sup>, os quais funcionam como co-receptores adicionais na superfície da célula. Com esta ligação, a gp41 assume uma conformação que permite a exposição do peptídeo de fusão nela contido, ocorrendo então, a fusão das membranas viral e celular, estabelecendo-se a entrada do vírus na célula (CHINEN and SHEARER, 2002; SIMON and HO, 2003; CLEGHORN et al., 2005; KLIMAS et al., 2008).

Ao penetrar na célula hospedeira, o HIV utiliza sua própria enzima, a transcriptase reversa, para a transcrição do RNA viral em DNA viral de fita dupla. O DNA complementar (cDNA) é, então, transportado até o núcleo celular e, através da enzima integrase, é incorporado a este, formando o genoma próviral, a partir do qual ocorrerá transcrição em RNA viral regulada pelas LTR. As proteínas virais e os novos genomas do HIV passam então a ser sintetizados, ocorrendo uma intensa atividade da enzima protease, que faz a maturação final destas partículas ao clivar os precursores proteicos, com consequente brotamento na superfície celular dos vírus infectantes (CLEGHORN et al., 2005; KLIMAS et al., 2008).

### **3.3- Fatores importantes na variabilidade genética do HIV**

As mutações no genoma do HIV são geradas já na etapa inicial da replicação do vírus, devido à transcrição imprecisa da TR (COFFIN, 1995; SIMON et al., 2006). Há um posicionamento incorreto de nucleotídeos, que ocorre a cada 10.000 – 30.000 pares de base durante a formação da fita cDNA. Como o genoma do HIV tem, aproximadamente, 10.000 pares de base, em média uma mutação ocorre cada vez que o genoma viral é replicado. A elevada capacidade replicativa associada aos erros inatos da TR gera independente do uso de antirretrovirais, elevada variabilidade genética viral. Surgem, então, variantes virais distintas, mas geneticamente relacionadas, pois são oriundas de uma população viral inicialmente

---

<sup>2</sup> Cepas do HIV com tropismo por macrófagos utilizam o co-receptor CCR5 (vírus R5), cujas quimiocinas são denominadas RANTES, MIP-1 $\alpha$  e MIP-1 $\beta$ . Quando o tropismo ocorre por linfócitos T o HIV se fixa ao co-receptor CXCR4 (vírus X4), os quais se ligam à quimiocina SDF1 (CHINEN and SHEARER 2002; LEVY, 2009).

homogênea ao infectar um indivíduo, denominadas *quasiespécies* do HIV (WINTERS and GRANT, 2006).

Outro fator importante na seleção de variantes virais diferentes e que pode contribuir para resistência do HIV-1 é a recombinação gênica, que se dá por infecção das células por mais de um vírus, representando *quasiespécies* distantes (SIMON et al., 2006). A TR ao acaso salta de uma fita de RNA para outra, durante a replicação viral, trocando segmentos de informação gênica entre os genomas virais (WINTERS and GRANT, 2006).

A terapia antirretroviral, portanto não produz resistência e sim seleciona variantes virais pré-existentes. A resistência do HIV-1 a TARV segue os princípios darwinianos, os quais direcionam a evolução natural das espécies. Replicação viral continua irá proporcionar competitividade entre as espécies, com conseqüente adaptação dos vírus mais capacitados. Adaptação viral significa capacidade suficiente para este replicar-se em tempo hábil e garantir a transmissão de seu material genético a gerações subsequentes, mesmo em presença de pressão seletiva de um meio (COFFIN, 1995).

### **3.4- Tratamento da infecção pelo HIV**

Nos países de baixa renda mundialmente, até dezembro de 2009, aproximadamente 5,2 milhões pessoas receberam TARV. A Organização Mundial de Saúde recomenda o início de TARV em adultos, adolescentes e mulheres grávidas com níveis de contagem de CD4 iguais ou inferiores a 350 células/mm<sup>3</sup>, e não mais com a contagem inferior a 200 células/mm<sup>3</sup>, independentemente de sintomas clínicos. Com isto, o aumento de cobertura de TARV no mundo já é realidade, estimando-se uma cobertura acrescida de 30% em dezembro de 2008 para 36% no final de 2009 (UNAIDS/WHO, 2009).

Até março de 2010 aproximadamente 200.000 brasileiros receberam TARV e 25.000 iniciaram seu tratamento ainda em 2009. De acordo com as recomendações para terapia antirretroviral em adultos infectados pelo HIV no Brasil em 2008, a visão de terapia sequencial com preservação de ARV futuros é consenso. Com objetivo de manter o acesso a TARV na busca da supressão viral, novos medicamentos foram incorporados a esta política de acesso universal ao



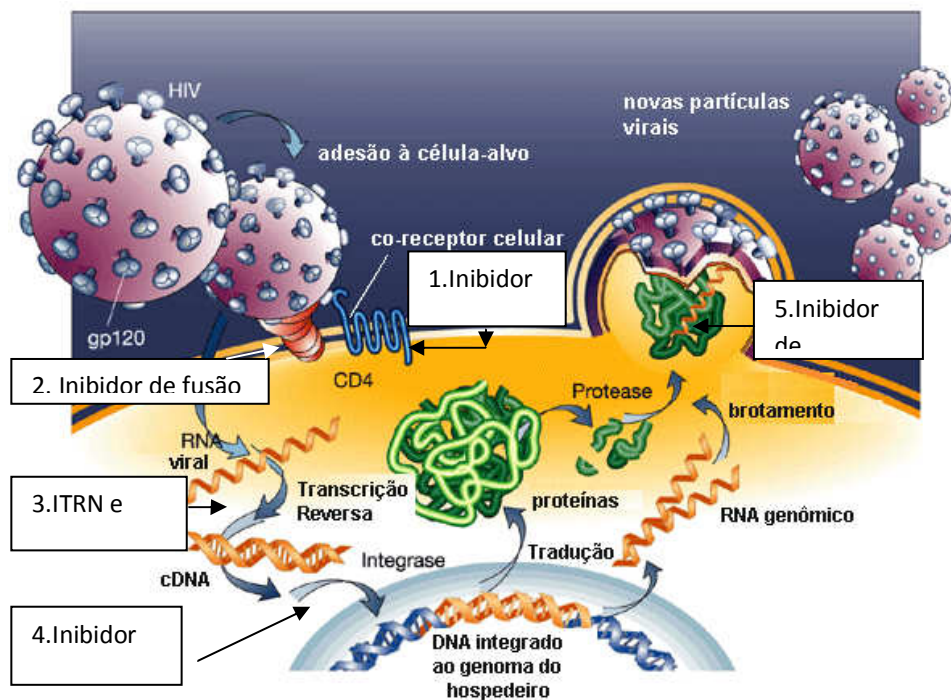
tratamento e pelo menos 5.000 pessoas são considerados multiexperimentados aos ARV e utilizam estes novos medicamentos de reserva (HALLAL et al., 2010).

Klimas et al. (2008), descreveram a disponibilidade de seis classes de drogas para o tratamento da infecção pelo HIV, as quais objetivam alvos diferentes da replicação viral incluindo sua entrada na célula (figura 2).

1. Antagonista de CCR5 que inibe a fixação do vírus ao co-receptor CCR5 na superfície da célula T CD4+. Etapa inicial sem a qual o vírus com tropismo CCR5 não consegue entrar na célula, pois depende da fusão da gp120 com o receptor CD4 e co-receptor para inserção do peptídeo de fusão;
2. Inibidor de fusão que impede a fusão viral à célula, ao mimetizar o domínio HR2<sup>3</sup> da gp41 e se ligar irreversivelmente ao domínio HR1<sup>3</sup> da mesma;
3. Inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos ou nucleotídeos (ITRN);
4. Inibidores da transcriptase reversa não-análogos de nucleosídeos (ITRNN), os quais, da mesma forma que os ITRN, atuam bloqueando a ação da transcriptase reversa em formar o cDNA viral necessário a integração do DNA celular;
5. Os inibidores da integrase viral (INSTI) que impedem a integração do DNA viral ao DNA celular no núcleo da célula e assim evitam iniciar-se a replicação do HIV;
6. E finalmente, os inibidores da protease (IP), que bloqueiam a protease do HIV-1, impedindo a clivagem do polipeptídeo viral pela protease para subsequente montagem do HIV.

---

<sup>3</sup> Para entrar na célula o HIV necessita da gp120 e gp41. A gp120 ao se ligar ao CD4 e co-receptor (CCR5 ou CXCR4) sofre modificação conformacional expondo a gp41 que perfura a membrana celular. Esta estruturalmente é composta por dois domínios HR1 e HR2 (*“heptad repeat”*) interconectados. O inibidor de fusão mimetiza o HR2 ligando-se irreversivelmente ao HR1 e assim impede a entrada do vírus na célula (HIRSCH et al., 2008).



**Figura 2 - Alvo da terapia antirretroviral nas diferentes etapas do ciclo replicativo do HIV-1. (1) Inibidor de CCR5; (2) Inibidor de fusão; (3) ITRN e ITRNN; (4) Inibidor de Integrase (5) IP (disponível em [www.flstdhivptc.com/html/hiv\\_aids.html](http://www.flstdhivptc.com/html/hiv_aids.html)).**

O tratamento proposto atualmente para adultos e adolescentes, associa três drogas que inclui pelo menos duas classes de ARV sendo dois ITRN e um ITRNN ou um IP como terceira droga, e isto pode reduzir a níveis indetectáveis a carga viral plasmática havendo, paralelamente, benefício clínico (BRASIL, 2008; KLIMAS et al., 2008). Porém, a completa supressão viral e por tempo sustentado não é realidade comum a todos os pacientes que experimentam a TARV, e a emergência de cepas virais resistentes e com possibilidade de resistência cruzada passa a ser preocupante no monitoramento destes pacientes (TANURI et al., 2001).

No Brasil, a implantação da política de acesso aos medicamentos ARV ocorreu em 1991, com o oferecimento da zidovudina. Contudo, somente a partir de 1996, com a disponibilidade de outros ARV, é que o Ministério da Saúde adotou a política de distribuição gratuita de drogas antirretrovirais e, até o final de 2008, o país teve cerca de 180 mil pacientes utilizando estas drogas através do sistema público de saúde (BRASIL, 2008).

Encontram-se disponíveis, até então, para uso clínico no país, os medicamentos (BRASIL, 2008; BRASIL, 2009; BRASIL, 2010a):

1. ITRN: abacavir (ABC), didanosina (DDI), estavudina (D4T), lamivudina (3TC), zidovudina (AZT ou ZDV) e um análogo ao nucleotídeo, o tenofovir (TDF).
2. ITRNN: efavirenz (EFZ) e nevirapina (NVP), ITRNN de primeira geração, além de etravirina (ETR) ITRNN de segunda geração, que foi incorporado recentemente.
3. IP: atazanavir (ATV), darunavir (DRV), fosamprenavir (FPV), indinavir (IDV), lopinavir-ritonavir (LPV/r), ritonavir (RTV) e saquinavir (SQV).
4. INSTI: raltegravir (RAL)
5. Inibidor de Fusão: enfuvirtida (ENF) ou T-20.

O ITRN didanosina (DDC) e o ITRNN delavirdina (DLV) foram excluídos do consenso brasileiro de terapia antirretroviral para o HIV na versão 2000. Estas drogas, além de seus efeitos adversos, não ofereciam comodidade posológica e apresentavam resistência cruzada dentro das classes a que pertenciam. Estas propriedades aliadas à disponibilidade de outros inibidores da transcriptase reversa favoreceram suas retiradas do consenso (BRASIL, 2000).

O AZT foi o primeiro antirretroviral disponível para o tratamento da sida (1987) e, portanto, foi disponibilizado em monoterapia por algum tempo (FAUCI, 2003; POMERANTZ and HORN, 2003). Seus benefícios foram limitados, com rápida emergência de variantes virais resistentes (SIMON and HO, 2003).

A partir do conhecimento cumulativo da dinâmica da replicação viral, estratégias de bloqueio a esta replicação foram desenvolvidas. Somente, após dois estudos (ACTG 175 e Delta), nos quais foi demonstrada a superioridade da terapia combinada é que surgiram os IP para uso clínico, classe de antirretrovirais aprovada pelo *Food and Drug Administration* (FDA) em 1995/1996 e que compõe, desde então, junto com os ITRN e ITRNN a *Highly active antiretroviral therapy* (HAART), potente terapia contra o HIV (BRUN et al., 1996; HAMMER et al., 1996; FAUCI, 2003; POMERANTZ and HORN, 2003).

A despeito da HAART, supressão viral completa pode não ser sustentada por longo período e pacientes com resistência ampla entre os ITRN, ITRNN e IP necessitam de uma terapia sequencial de resgate. Diante disto, novos ARV dentro de classes já existentes ou em novas classes ARV são necessários ao desafio da supressão viral. Geralmente duas ou três drogas ativas devem fazer parte da nova

TARV buscando-se esta supressão quando constatado falha terapêutica (TEMESGEN et al., 2006; NAPRAVNIK et al., 2007; YAZDANPANA, 2009).

A genotipagem permitiu que esses esquemas antirretrovirais de resgate fossem construídos a partir de estudos clínicos que usaram dois braços terapêuticos, um deles chamado de *optimized background* (terapia de base otimizada) e o outro placebo. No primeiro braço o ARV a ser testado é utilizado, assim os estudos RESIST (tipranavir/ritonavir), POWER 1 e 2 (darunavir/ritonavir), MOTIVATE 1 e 2 (maraviroque), DUET 1 e 2 (etravirina) e BENCHMRK 1 e 2 (raltegravir) foram aprovados, utilizando-se na terapia de base otimizada a enfuvirtida (YAZDANPANA, 2009).

Enfuvirtida foi aprovada pelo FDA em 2003, darunavir em 2006, raltegravir e maraviroque em 2007 e etravirina em 2008. A enfuvirtida, assim como DRV, RAL e ETR foram incorporados a TARV brasileira em 2005, 2008, 2009 e 2010, respectivamente. Mas somente são autorizados para uso de acordo com o consenso brasileiro, em pacientes experimentados e em falha as três classes de ARV mais antigas ITRN, ITRNN e IP (HALLAL et al., 2010).

Em julho de 2005, foi aprovado também pelo FDA o IP tipranavir, contudo ainda não disponibilizado no Brasil (POMERANTZ and HORN, 2003; JOHNSON et al., 2005).

A combinação de três drogas envolvendo classes terapêuticas diferentes tem demonstrado boa redução da morbidade e mortalidade atribuídas ao HIV, nos países da América do Norte e Europa (SIMON and HO, 2003) e no Brasil (BRASIL, 2008), os quais recebem ampla cobertura da TARV. Níveis indetectáveis de viremia plasmática, tidos como inferiores a 50 cópias/ml de RNA do HIV em um teste padronizado com detecção ultra-sensível, não implicam em parada de replicação viral, e os chamados "*blips*"<sup>4</sup>, podem, em alguns casos, estar associados à emergência de variantes virais resistentes a drogas, embora geralmente não estejam relacionados com aumento do risco de falha ao tratamento (SIMON and HO, 2003).

---

<sup>4</sup> Entende-se por "*blips*", a detecção de baixos níveis de viremia plasmática do HIV, geralmente 1000 cópias/ml, que ocorrem de forma intermitente, em pacientes em uso de *highly active antiretroviral therapy* (HAART) (SIMON and HO, 2003).

Mesmo por períodos prolongados havendo importante supressão viral do HIV pela TARV, este tem a propriedade de se evadir do sistema imune. Esta evasão poderá ocorrer através da presença de anticorpos neutralizantes em seu envelope, por meio de gerações de vírus com mutações de escape, o que impede a resposta do linfócito T citotóxico e também por gerações de formas latentes que persistem em células T de memória. Não ocorrendo, desta forma, a ação das drogas antirretrovirais ou uma resposta imune do organismo infectado (BAILEY et al., 2004).

### **3.5- Definições em resistência viral**

Uma simples mutação pode significar alto grau de resistência ARV, como a que ocorre em relação à lamivudina e a todas as drogas da classe dos inibidores da transcriptase reversa não-análogos de nucleosídeos de segunda geração. Para outros ARV como a zidovudina, abacavir e tenofovir, e a maioria dos inibidores de protease, há a necessidade de um acúmulo de mutações, em uma menor ou maior proporção e que surgem de forma progressiva, estabelecendo-se o fenômeno de resistência (HIRSCH et al., 2003; HIRSCH et al., 2008).

A resistência primária ocorre em pacientes virgens de TARV e a secundária a partir da pressão seletiva das drogas ARV, portanto neste último caso são todas as mutações que surgem quando há falha terapêutica. A primária geralmente surge por aquisição de cepas virais resistentes ou ainda se dá por geração de mutantes resistentes, justificada pelo elevado índice replicativo do HIV-1 (SHAFER, 2002).

Detectado resistência secundária, as mutações podem ser principais ou primárias e acessórias ou secundárias. A mutação principal, normalmente é a primeira que surge decorrente da pressão seletiva do ARV, proporcionando perda de susceptibilidade ao ARV em questão. As acessórias, surgem para resgatar a capacidade replicativa viral perdida decorrente da mutação ou mutações principais. O acúmulo de mutações secundárias pode levar a uma sensibilidade diminuída proporcional às principais (SHAFER, 2002).

As mutações primárias relacionadas aos IP, situam-se internamente ao sítio ativo da protease e normalmente são diferenciadas às drogas da classe. Enquanto que, as mutações secundárias localizam-se externamente ao sítio ativo da protease e tendem a ser comuns à classe terapêutica proporcionando eficácia

diminuída de terapias sucessivas após falha terapêutica (MO et al., 2005; PAREDES et al., 2006).

Para Temesgen et al. (2006), falha terapêutica significa perda de atividade adequada da TARV, termo que engloba falência clínica ou virológica, estando a primeira caracterizada por progressão da doença e ocorrência de infecções oportunistas e a segunda por não supressão da replicação viral, havendo um consequente rebote de carga viral do HIV-1.

Falha virológica é definida por não obtenção ou não manutenção de carga viral indetectável (BRASIL, 2008). Os *guidelines* de tratamento dos Estados Unidos definem esta falha, através de duas consecutivas cargas virais superiores a 400 cópias/ml após 24 semanas de início da TARV ou maior que 50 cópias/ml, após 48 semanas de tratamento (YAZDANPANA, 2009).

Nos Estados Unidos e na Europa, aproximadamente 10% a 20% de novas infecções ocorrem com cepas HIV-1 resistentes a pelo menos uma droga das três classes de antirretrovirais que incluem ITRN, ITRNN e IP (SHAFER, 2002; DESCAMPS et al., 2005).

Brindeiro et al. (2003), analisaram a prevalência de mutações de resistência do HIV, na população brasileira virgem de tratamento, em 535 pacientes HIV positivos cronicamente infectados, de todo o país, incluindo amostras do estado do Pará. O estudo encontrou um percentual de resistência primária aos inibidores da protease de 2,24%, aos inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos de 2,36% e aos inibidores da transcriptase reversa não-análogos de nucleosídeos de 2,06%.

Mutações específicas podem ser selecionadas por um mesmo antirretroviral, mas surgem através de vias diferentes ao que se chama de vias mutacionais. São de importância, pois algumas delas podem implicar em resistência cruzada com outros antirretrovirais (geralmente da mesma classe), aumento de resistência à droga que as selecionaram, e podem interferir diminuindo a susceptibilidade conferida por algumas mutações, comprometendo desta forma substituições na terapêutica antirretroviral (USA, 2006).

Mutações associadas aos análogos de timidina (TAM) podem ocorrer em duas vias mutacionais: TAM 1 com as substituições M41L, L210W e T215Y, e TAM 2 com as substituições D67N, K70R, T215F e K219Q/E (HIRSCH et al., 2003; SHAFER and SCHAPIRO, 2008).

O HIV tem habilidade para replicar-se em meio específico, em presença de ARV, ao que se chama de *fitness* viral ou capacidade replicativa. Diferenças no *fitness* são variáveis ao subtipo de vírus e mutações por ele selecionadas. O vírus selvagem, de constituição genética ainda não modificada, tem melhor capacidade replicativa na ausência de TARV. Entretanto, quando há pressão seletiva pelo uso da TARV, permanecem as variantes virais mais adaptadas que são as mutantes (BRENDAN, 2001; NIJHUIS et al., 2001).

O *fitness* viral durante a TARV ocorre em duas fases distintas. Inicialmente há diminuição de susceptibilidade ao ARV, indicando resistência viral a droga e paralelamente há capacidade replicativa viral reduzida. Sequencialmente, acontece a geração e seleção de mutações compensatórias, com objetivo de melhorar a replicação, sendo esta última fase frequentemente observada com o uso e inibidores de protease (NIJHUIS et al., 2001).

Nijhuis et al. (2001), demonstraram em pacientes em falha virológica há mais de dois anos, cuja TARV continha um IP, capacidade replicativa viral baixa com níveis elevados de CD4. Contudo, ao ser descontinuada a TARV nestes pacientes, houve um aumento expressivo de carga viral com queda substancial de CD4. Isto pode explicar benefícios experimentados com o tratamento, apesar da presença de *quasiespécies* resistentes (USA, 2004).

A barreira genética para resistência aos antirretrovirais significa proximidade genética para aquisição de resistência aos antirretrovirais. Pode ocorrer conforme ao número de mutações necessárias ao decréscimo da atividade do ARV, de acordo a facilidade ou rapidez com que as mesmas são selecionadas na estrutura genética do HIV pelo ARV (SHAFER, 2002) ou ainda de acordo com o perfil de mutações diante de um esquema ARV (LANDMAN et al., 2004).

Os ITR geralmente têm uma barreira genética menor em relação aos IP ao se considerar o número de mutações. Os primeiros sofrem impacto considerável em sua susceptibilidade com poucas mutações ou até com uma apenas como ocorre com os ITRNN de primeira geração (SHAFER, 2002). A substituição M184V pela lamivudina e a K103N pela nevirapina, são exemplos clássicos da facilidade e rapidez com que algumas mutações emergem. Já os IP, principalmente se potencializados com ritonavir, precisam de pelo menos de três ou mais mutações, para que algum impacto da susceptibilidade a estas drogas ocorram (JOHNSON et al., 2005).

Quanto a associação de ARV, algumas podem ter pequena durabilidade com falha virológica em pouco tempo em decorrência da baixa barreira genética. Landman et al. (2004), observaram 12 falhas virológicas em estudo de 36 pacientes previamente virgens de tratamento e que utilizavam a combinação ABC, 3TC e TDF após 24 semanas. Nos 12 pacientes encontrou-se a M184V inviabilizando, portanto o 3TC e em 11 a K65R, substituição de resistência ao TDF e que conjuntamente a M184V proporciona resistência viral ao ABC.

### **3.6- Pressão seletiva da TARV e emergência de resistência do HIV**

Na pessoa infectada pelo HIV e não tratada, o vírus ao replicar gera continuamente todas as variantes virais fisicamente possíveis. Contudo, nem todas são viáveis a esta replicação, fato decorrente das mutações que elas contêm. Por pressão seletiva medicamentosa, se não há supressão completa, os vírus persistentes sobrevivem, replicam-se rapidamente e originam subpopulações geneticamente relacionadas e resistentes a esta pressão (CONDRA and EMINI, 1997).

A intensidade da pressão seletiva antirretroviral é importante para promover ou evitar o desenvolvimento de resistência aos antirretrovirais:

Um baixo nível de atividade ARV proporciona pouca pressão seletiva e isto favorecerá as variantes virais resistentes pré-existentes em relação às selvagens, mas como as selvagens continuam a replicar-se e são dominantes na população, há uma diminuição da probabilidade de resistência ocorrer. Em outro extremo, quando a atividade ARV é elevada e há supressão viral máxima, variantes virais resistentes pré-existentes são incapazes de emergir. Contudo, em níveis intermediários desta atividade a probabilidade de resistência é muito elevada porque a pressão seletiva é suficiente para separar os susceptíveis, a partir dos resistentes pré-existentes, eliminando os primeiros. Além do mais, os resistentes replicam-se e dentro de pouco tempo podem se tornar dominantes na população de HIV (CONDRA and EMINI, 1997).

Mutações de resistência no genoma viral do HIV-1 têm comprometido todos os antirretrovirais utilizados no tratamento do HIV, sendo importante considerar as propriedades farmacocinéticas das drogas, a barreira genética das mesmas e o fator aderência a TARV (MUGAVERO and HICKS, 2004).



Os ITRNN apresentam longa meia vida plasmática e baixa barreira genética, além de uma relação aderência-resistência menos favorável, pois, pode ocorrer ampla resistência viral apesar de aderência aos compostos desta classe (MUGAVERO and HICKS, 2004).

Em janeiro de 2008 o FDA licenciou a etravirina, um ITRNN que quebrou o padrão da baixa barreira genética à classe. Este é um ITRNN que impede a replicação do HIV-1 sensível e resistente aos ITRNN (DLV, EFZ e NVP) o que lhe confere a denominação ITRNN de segunda geração, necessitando diferentemente dos ITRNN anteriores, de combinações de mutações na TR para se estabelecer resistência viral ao mesmo (BRASIL, 2010a).

Inibidores de protease e ITRN possuem aderência e resistência similares, tendo sido bem caracterizados estes eventos nos IP, uma vez administrados com ou sem o IP ritonavir o que, na primeira situação, mostra uma melhor interação com redução da resistência (MUGAVERO and HICKS, 2004).

### **3.7- Diversidade do HIV relacionada à susceptibilidade e resistência aos ARV**

Pouco é descrito sobre a susceptibilidade e resistência dos diversos subtipos de HIV aos ARV, e embora evidências sugiram que todos mostrem similaridade de sensibilidade às drogas, alguns subtipos não-B mostram menor susceptibilidade a TARV e maior desenvolvimento de mutações de resistência viral, quando relacionados ao subtipo B (SPIRA et al., 2003).

Montes et al. (2004), através de estudo comparativo de mutações de resistência em pacientes infectados com variantes HIV-1 não-B e HIV-1 subtipo B, observaram que a diversidade genética do HIV-1 dentro do grupo M não apresentou importância quanto à resistência a TARV para variantes não-B do HIV-1. Ao contrário, detectou-se uma tendência a baixos níveis de resistência a ZDV e aos IP nos pacientes infectados com variantes não-B do HIV-1, sugerindo não haver um comprometimento da eficácia terapêutica nos países em que há maior prevalência de variantes não-B do HIV-1.

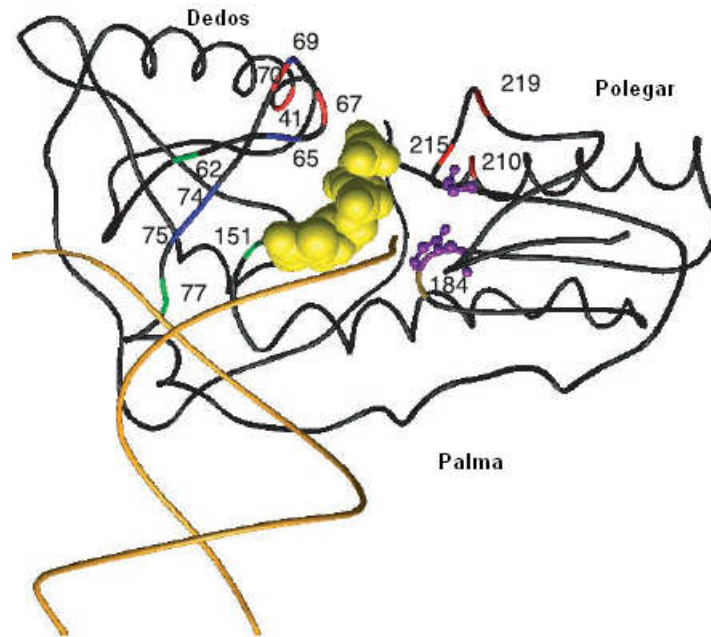
Couto-Fernandez et al. (2005), analisando a população do estado do Rio de Janeiro, cronicamente infectada pelo HIV e em falência terapêutica, observaram que os padrões de mutação entre subtipos B e não-B foram semelhantes

relacionados a TR, entretanto o mesmo não ocorreu quanto as mutações de resistência na PR. Mutações secundárias ou menores na protease como a M36I e a L63P, foram mais observadas no subtipo B e não-B respectivamente, o que pode proporcionar diferentes níveis de resistência aos ARV, de acordo com a barreira genética destas drogas.

### **3.8- Mecanismos de ação dos ARV e mecanismos de resistência viral a TARV**

A resistência desenvolvida pelo HIV à terapia antirretroviral é o resultado de mutações que ocorrem no genoma viral selvagem, determinando a produção de cepas virais capazes de replicar-se mesmo na presença de TARV (BRENDAN, 2001). Estas mutações surgem nos genes que codificam as proteínas do HIV que constituem o alvo dos ARV durante o ciclo replicativo do vírus (CLAVEL and HANCE, 2004).

Mecanismos têm sido identificados para explicar como as mutações proporcionam resistência aos ARV. A transcriptase reversa é uma enzima responsável pela polimerização do DNA viral RNA dependente. É constituída pelas subunidades p66 e p51, estando composta a p51 pelos primeiros 440 aminoácidos, enquanto a p66 pelo total de 560 aminoácidos do gene da TR, situando-se nesta porção o sítio ativo da enzima. Nela há cinco regiões dentre as quais as designadas como dedos, palma e polegar, por semelhança à mão, regiões que concentram a maioria das mutações de resistência (BRENDAN, 2001; SHAFER, 2002). A figura 3 mostra os principais códons da enzima TR do HIV-1 sujeitos às substituições de aminoácidos relacionados à resistência viral aos ITRN (41, 62, 65, 67, 69, 70, 74, 75, 77, 151, 184, 210, 215 e 219).



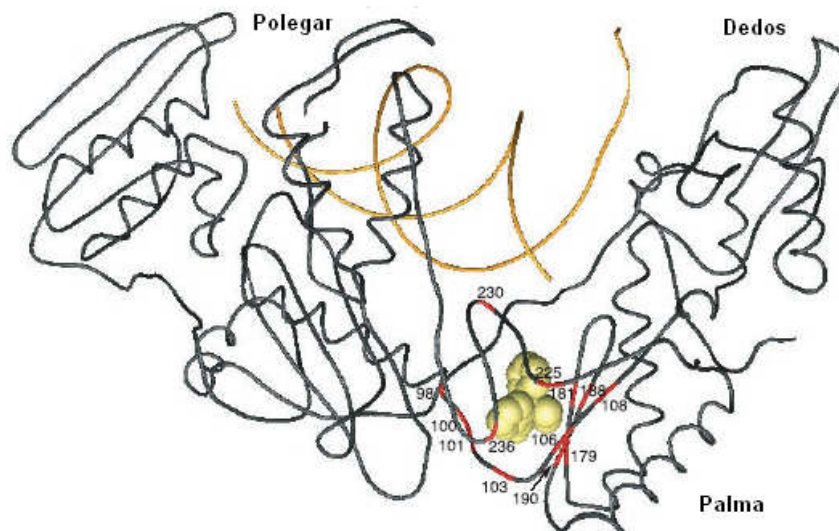
**Figura 3 - Modelo estrutural da TR do HIV-1 mostrando os principais códons de mutações de resistência viral referentes aos ITRN. Um nucleosídeo preenche o espaço central da estrutura (adaptado de SHAFER, 2002).**

Como os ITRN são antirretrovirais estruturalmente semelhantes aos nucleosídeos verdadeiros adenosina (A), guanosina (G), citosina (C) e timidina (T), e a transcriptase reversa não apresenta um sistema revisor na montagem da cadeia de cDNA, estes fármacos competitivamente irão substituir os nucleosídeos verdadeiros interrompendo a formação do DNA pró-viral, mecanismo conhecido como terminação da cadeia de DNA (WINTERS and GRANT, 2006). O AZT e D4T competem pela timidina, o 3TC e DDC pela citosina, DDI e TDF pela adenosina e o ABC pela guanosina. Assim, na polimerização do cDNA viral, a TR encaixa um falso nucleosídeo em sua cadeia que será finalizada interrompendo-se, desta forma, esta etapa do ciclo de replicação do HIV (CLAVEL and HANCE, 2004).

Um dos mecanismos que explica a resistência aos ITRN ocorre por mutações na TR do HIV-1, no qual a enzima discrimina o ITRN do substrato natural (nucleosídeo verdadeiro), optando a mesma pela incorporação do substrato natural em detrimento do ITRN. Desta forma, é mantida a continuação do alongamento da cadeia de DNA. As substituições M184V, Q151M, L74V e K65R, emergem por este mecanismo (BRENDAN, 2001; CLAVEL and HANCE, 2004).

Para Winters and Grant (2006), a pirofosforólise via adenosina trifosfato (ATP) ou excisão nucleotídica é outro mecanismo que explica a resistência viral aos ITRN. Através deste a TR elimina o ITRN já incorporado ao final da cadeia, permitindo que a síntese da cadeia de DNA viral seja retomada. As TAM, proporcionam a interação de ATP com a TR e conseqüentemente a remoção da droga já fixada (BRENDAN, 2001; CLAVEL and HANCE, 2004).

A figura 4 mostra os códons da enzima transcriptase reversa do HIV-1 sujeitos às substituições de aminoácidos que proporcionam resistência viral aos ITRNN, destacando-se o códon 100, 101, 103, 181, 190 e 225.

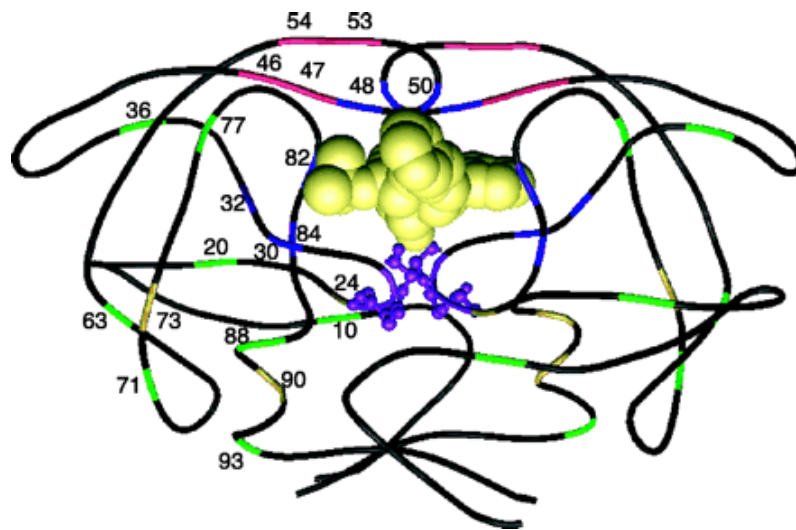


**Figura 4 - Modelo estrutural da TR do HIV-1 mostrando códons de mutações de resistência viral referentes aos ITRNN. A TR está cocristalizada com a nevirapina, que preenche o espaço central da estrutura, e as posições associadas com as substituições que levam a resistência cercam o núcleo hidrofóbico para o qual a nevirapina e outros ITRNN se ligam (adaptado de SHAFER, 2002).**

Os ITRNN têm uma forte afinidade pelo núcleo localizado próximo ao sítio ativo da TR, bloqueando desta maneira a polimerização do DNA pela enzima. Diferentemente dos ITRN, eles não agem competitivamente, mas de modo direto, interagindo com a enzima TR determinando sua inativação, especificamente contra o HIV-1 (CLAVEL and HANCE, 2004).

A enzima protease apresenta a forma de um dímero, cuja função é clivar grandes poliproteínas virais antes do encapsulamento viral. Estruturalmente é

composta por 99 aminoácidos e apresenta uma cavidade central na qual o substrato é fixado para então sofrer ação enzimática (figura 5). Da mesma forma que os inibidores da transcriptase reversa, os IP foram desenhados para atuarem competitivamente, neste caso, pelo sítio ativo da protease, evitando assim a ocupação pelo seu substrato natural, as poliproteínas virais, interrompendo o ciclo replicativo do HIV (CLAVEL and HANCE, 2004; SHAFER, 2002).



**Figura 5 - Estrutura da enzima protease do HIV-1 mostrando os principais códons de mutações de resistência viral referentes aos IP. Houve co-cristalização com indinavir, o qual preenche a porção central da enzima (SHAFER, 2002)**

Quando ocorrem mutações de resistência selecionadas pelos IP há uma alteração na conformação tridimensional da protease, havendo consequente diminuição do tempo de ligação dos IP à protease e também diminuição do tempo que a protease levaria para clivar o substrato ligado à mesma. Logo, haverá uma vantagem do substrato natural pela competição do sítio ativo da protease (CLAVEL and HANCE, 2004).

O inibidor de fusão atua bloqueando a fusão do envelope viral à membrana celular, pois se fixa a gp41 impedindo a exteriorização do peptídeo de fusão (FAUCI, 2003; KILBY and HERON, 2003). A enfuvirtida representante da classe foi aprovada pelo FDA em 2003 e substituições de aminoácidos no segmento entre as posições 36 e 45 da fração HR-1 levam resistência viral a droga, embora

mutações na HR-2 possam também conferir resistência (ESTE and TELENTI, 2007; HIRSCH et al., 2008).

A enzima integrase do HIV cataliza os passos necessários a incorporação do DNA pró-viral do citoplasma ao núcleo da célula infectada, assim como a integração deste DNA ao DNA celular para que ocorra a replicação viral. Assim, como para os IP as mutações que ocorrem na integrase são designadas como principais e acessórias, mas os mecanismos para tal resistência ainda não são claros (HIRSCH et al., 2008).

O inibidor de CCR5 é um inibidor de entrada do HIV-1. Atua ligando-se ao co-receptor celular CCR5, daquelas cepas que utilizam esse co-receptor para entrar na célula, ou seja, os CCR5 trópicos, bloqueando sua ligação a gp120 viral. Substituições na gp120 viral em sua alça V3 do gen *env* explicam um dos mecanismos de resistência viral. Mas, pode ocorrer mudança do tropismo viral, geralmente por cepa CXCR4 (vírus X4) ou duplo-mixta, pré-existente, e que quando do início do uso do inibidor CCR5 constituíam população minoritária (ESTE and TELENTI, 2007; HIRSCH et al., 2008).

### **3.9- Perfil de resistência aos antirretrovirais**

#### **3.9.1- Resistência aos ITRN**

As substituições nos aminoácidos da TR do HIV-1 que conferem resistência aos ITRN podem resultar de pressão seletiva de diferentes drogas da classe: assim, a exemplo, a M184V resulta do uso do 3TC levando resistência a este e à entricitabina, um análogo da citosina; as TAM por pressão do AZT e D4T. Resistência viral ao DDI emerge com a L74V e ao TDF ocorre pela K65R. Entretanto, resistência cruzada é comum e acontece devido à seleção de mutações que conferem resistência a diferentes drogas, como a proporcionada pelas TAM (TURNER et al., 2004; SHAFER and SCHAPIRO, 2008).

A emergência das TAM via mutacional TAM 1 (M41L, L210W e T215Y) e TAM 2 (D67N, K70R, T215F e K219Q/E) geram impacto diferente entre os ITRN. A TAM 1 propicia mais resistência ao ABC, DDI e TDF. Na primeira via aumenta o nível de resistência ao AZT, há grande resistência cruzada aos ITRN e pequena redução de resistência na presença da M184V, ocorrendo exatamente o contrário

quando a segunda via se estabelece. As TAM em grande número confere resistência cruzada a todos os ITRN e esta resistência é proporcional ao acúmulo destas mutações (USA, 2006; SHAFER and SCHAPIRO, 2008).

TAM e K65R, substituição do TDF, mostram antagonismo, logo normalmente vírus contendo a K65R e TAM são incomuns (HIRSCH et al., 2003; SHAFER and SCHAPIRO, 2008).

A presença da M184V atenua o impacto de resistência *in vitro* ao AZT, D4T e TDF, mas aumenta a resistência ao 3TC, ABC e DDI (NAEGER et al., 2001; SHAFER and SCHAPIRO, 2008). Entretanto, o efeito desta susceptibilidade pode ser limitado pelo surgimento de mutações adicionais que restauram a resistência a estas drogas. (HIRSCH et al., 2003; USA, 2006).

Existem três padrões de multiresistência aos ITRN bem definidos: complexo Q151M, complexo de inserção no códon 69 (caracteristicamente T69S, seguida da inserção de dois ou mais aminoácidos) e as mutações dos análogos de nucleosídeos (NAM), mais especificamente as TAM as quais estão associadas a elevados graus de resistência aos ITRN (HIRSCH et al., 2003; JOHNSON et al., 2005; SHAFER and SCHAPIRO, 2008). A substituição Q151M vem precedida geralmente de A62V, V75I, F77L e F116Y, ocorrendo este complexo em apenas 5% dos multiresistentes (TURNER et al., 2004; SHAFER and SCHAPIRO, 2008).

### 3.9.2- Resistência aos ITRNN

Os ITRNN em um curto período de duas a quatro semanas, se utilizados em terapia subótima, selecionam mutações na TR com impacto dentro de toda classe, o que caracteriza uma baixa barreira genética à classe. Estas mutações não tem impacto na capacidade replicativa viral que continua a ocorrer (DEEKS et al., 2002).

A substituição K103N, isoladamente, e o acúmulo de múltiplas substituições que incluem L100I, V106A, V181C, G190S/A, M230L e raramente Y188L, determinam o padrão de multiresistência aos ITRNN. As drogas desta classe apresentam um extenso padrão de resistência cruzada (HIRSCH et al., 2003; WAINBERG, 2003; WAINBERG, 2006).

Atualmente, com a disponibilidade de ITRNN de segunda geração, representado pela etravirina, resistência viral a esta geração de ITRNN necessita de

associação de substituições que incluem geralmente a L100I, Y181C, G190E, M230L e Y318F (BRASIL, 2010a).

### 3.9.3- Resistência aos IP

As mutações selecionadas pelos IP podem ser principais e acessórias. O espectro de mutações relacionadas a esta classe é bem diverso, e sua interpretação pode ser difícil quando muitas mutações coexistem em um mesmo vírus ou algum padrão não usual é encontrado (PAREDES et al., 2006; SHAFER and SCHAPIRO, 2008).

Aos IP mais antigos: saquinavir, nelfinavir, indinavir e ritonavir, há um elevado grau de resistência cruzada, em decorrência de substituições em códons afins 82, 84 e 90. Outras substituições na PR não se relacionam com resistência cruzada, como a D30N que emerge por pressão seletiva do NFV e a I50L, relacionada ao ATV (USA, 2006).

A L90M é uma substituição principal na protease do HIV-1, relacionada ao uso de SQV, NFV, IDV e RTV, que confere resistência cruzada *in vitro* a vários inibidores de protease (SHAFER, 2002). O NFV pode selecionar por vias diferentes, resistência viral através da substituição D30N ou por meio da substituição L90M. Quando a L90M emerge associada a substituições acessórias, pode proporcionar ampla resistência cruzada aos IP, principalmente ao SQV, RTV, IDV, TPV e LPV/r, mas, também ao APV e ATV (PAREDES et al., 2006).

Mutações secundárias podem estar presentes assim como os polimorfismos comuns na protease do HIV-1 em pacientes virgens de tratamento. Elas podem favorecer o surgimento de mutações primárias como a substituição L90M, presente em aproximadamente 40% a 50% dos pacientes com falha virológica múltipla aos IP. Esta mutação tem elevado *fitness*, permanecendo no genoma do HIV-1, mesmo após interrupção dos IP (PERNO et al., 2004).

De maneira geral as substituições que comprometeriam a susceptibilidade aos IP são: L23I, D30N, M46I/L, G48V/M, I84V, N88D/S e L90M (NFV). A I50L e N88S (ATV/r). A 48V/M, I84V e L90M (SQV/r) e as substituições no códon 82 e I84V (IDV/r). Pouco é conhecido em relação às substituições que contra-indicariam LPV/r, TPV/r e DRV/r, exceção a I47A para o LPV/r e V82L/T ao tipranavir. (SHAFER and SCHAPIRO, 2008).



De acordo com Johnson et al. (2010), as substituições I47V, I54M, T74P e I84V impactam em redução de susceptibilidade ao DRV/r.

Em pacientes experimentados com IP o acúmulo de seis ou mais mutações na protease do HIV-1 diminuem a resposta de supressão virológica do LPV/r. Sete a oito mutações proporcionam resistência completa a este IP e há evidências que a I47A, e possivelmente I47V e V32I, estejam associadas com elevada resistência ao LPV/r (JOHNSON et al., 2010).

Os polimorfismos na protease podem ocorrer independentemente de TARV e embora, os IP sejam os antirretrovirais com melhor barreira genética, variantes virais resistentes a estas drogas surgem proporcionalmente ao acúmulo de mutações, das quais as principais têm importância crucial. Geralmente, duas substituições de aminoácidos em códons principais da PR do HIV-1 proporcionam ampla resistência cruzada aos IP, especialmente se um deles for o códon 90 (SHAFER, 2002).

Tanuri et al. (2001), analisando mutações de resistência a TARV no Brasil, em pacientes com falha terapêutica, mostraram uma forte correlação entre mutações no gene da TR, no gene da PR e falência terapêutica. As principais substituições nos aminoácidos encontradas na TR foram: M184V (48%), T69D/N (47%), T215Y(46%), M41L(39%) e L74V(7%). Estas substituições são implicadas em resistência, particularmente à zidovudina e à lamivudina, previamente utilizadas na maioria dos pacientes do estudo. Na protease, a substituição L90M foi a mais prevalente (cerca de 26%), seguida da associação L90M e V82A (6%).

Análises em pacientes virgens de tratamento com IP mostram que a ocorrência de falha terapêutica quando ocorre a utilização de IP com ritonavir, não está associada com mutações na protease do vírus, as quais surgem menos frequentemente (USA, 2006).

Estrategicamente na TARV, com o objetivo de diminuir o acúmulo de mutações na PR do HIV utiliza-se o ritonavir em baixas doses consideradas de reforço, 100 a 200mg, associado a outros IP, como por exemplo, o LPV/r, AMP/r e SQV/r, condição que proporciona maiores níveis circulantes do IP com consequente melhor supressão viral (HIRSCH et al., 2003; JOHNSON et al., 2005; USA, 2004; USA, 2006).

### 3.10- Testes para mensuração de resistência do HIV

Dentre os métodos utilizados para mensurar resistência viral a fenotipagem possibilita observar a capacidade replicativa do HIV em cultura de células na ausência ou em concentrações diferentes de drogas antirretrovirais. A genotipagem permite determinar a presença de mutações nos genes codificadores da transcriptase reversa e protease do HIV-1, capazes de modificar as proteínas virais, e com isto levar a um bloqueio ou diminuição da interação droga com as enzimas do vírus (BOUCHER, 1999; HIRSCH et al., 2008).

A fenotipagem é de fácil interpretação, pois avalia a quantidade de droga necessária para supressão da replicação viral, identificando não somente a susceptibilidade viral reduzida às drogas, mas também a intensidade desta resistência. O resultado proporciona a informação de quantas vezes concentrações diferentes das drogas são necessárias para inibir o vírus testado comparado ao vírus selvagem, ao que se chama de *fold change* (FC), ou variação de concentração, assim resistência viral para IP com reforço de RTV geralmente é definida com 10 FC (O'BRIEN, 2006).

A inferência de resistência obtida pela genotipagem tem por base estudos que demonstraram uma diminuição de resposta virológica para drogas específicas, em pacientes abrigando vírus com mutações e também através de diminuição da susceptibilidade viral à droga, obtida a partir de teste fenotípico (O'BRIEN, 2006).

Evidências documentadas com testes de genotipagem, auxiliam a melhor opção terapêutica ao paciente, destacando-se dois grandes estudos prospectivos (o europeu – VIRADAPT, 1999 e o americano – GART 2000). O VIRADAPT, com fins de subsidiar a troca terapêutica em pacientes sem resposta satisfatória a TARV, comparou um grupo submetido à genotipagem com um grupo-controle e observou resposta virológica melhor e sustentada por doze meses naquele submetido ao teste de resistência. Mesmo no grupo-controle, para o qual foi oferecido o teste somente aos seis meses do estudo, também ocorreu benefício de resposta virológica (DURANT et al., 1999; BAXTER et al., 2000).

O estudo multicêntrico *Genotypic Antiretroviral Resistance Testing* (GART) selecionou os pacientes em um grupo GART e outro não-GART, para subsidiar a troca terapêutica de pacientes com falha a TARV. Apenas no GART a genotipagem e avaliação de especialistas na interpretação dos testes foram

utilizadas, havendo uma supressão viral melhor e por mais tempo neste grupo (DURANT et al., 1999; BAXTER et al., 2000).

Outros estudos realizados documentaram a importância da genotipagem: o estudo HAVANA (TURAL et al., 2002) que avaliou grupos randomizados com e sem genotipagem de acordo com o número de falha terapêutica e o NARVAL (MEYNARD et al., 2002), primeiro a comparar genotipagem e fenotipagem. Este investigou aleatoriamente três grupos, um monitorado por genotipagem, outro por fenotipagem e o terceiro grupo por critério clínico. Nos dois estudos, os pacientes subsidiados em sua troca terapêutica, por genotipagem, obtiveram uma carga viral indetectável após doze semanas de tratamento com a nova opção de tratamento.

Cepas virais resistentes que não atingem até 20% do total da população viral, constituindo o que se conhece como populações minoritárias, podem não ser detectadas pelo teste de resistência, assim como aquelas populações existentes em reservatórios virais<sup>5</sup> (USA, 2006).

Um outro fator limitante, diz respeito à capacidade do vírus selvagem substituir rapidamente o vírus mutante na ausência de pressão seletiva dos antirretrovirais. E por fim, em termos operacionais, há a necessidade de uma carga viral mínima para que se proceda ao teste, podendo isto, se tornar um problema naqueles pacientes com falha virológica precoce, sem carga viral ideal para a realização do teste (USA, 2006).

Quando as amostras para genotipagem são coletadas e analisadas, já em vigência de novo esquema terapêutico, ou quando ocorreu suspensão da terapia antecedendo a coleta do exame, os resultados podem ser falso-negativos, pois, vírus susceptíveis podem se superpor aos resistentes. Um exemplo disto é a substituição M184V, que pode não ser detectada em poucas semanas após a retirada da lamivudina (HIRSCH et al., 2003). Para Temesgen et al. (2006), em quatro a seis semanas após a retirada dos ARV haverá uma reversão da população viral para vírus selvagens.

---

<sup>5</sup> Os compartimentos teciduais ou reservatórios celulares constituem os chamados reservatórios virais, representados geralmente pelo sistema nervoso central e semem. Estes locais abrigam populações de HIV e estas evoluem independentemente do vírus existente na corrente sanguínea (POMERANTZ and HORN, 2003).

A *International AIDS Society* nos Estados Unidos da América (IAS-USA) recomenda testes de resistência ao HIV em pacientes com infecção recente, naqueles em falha terapêutica e para mulheres grávidas infectadas pelo HIV (HIRSCH et al., 2008). De forma semelhante, o *Department of Health and Human Services* (DHHS-EUA) aconselha estes em pacientes com falha terapêutica e para mulheres grávidas portadoras do HIV, devendo ser considerado o teste para as pessoas com infecção primária para o vírus (GRANT et al., 2002).

No Brasil foi implantada, no final de 2001, a Rede Nacional de Genotipagem do HIV-1 (RENAGENO), objetivando atender aos pacientes da rede pública de saúde infectados pelo HIV em falha terapêutica aos antirretrovirais. Esta rede disponibiliza, nas diferentes macro-regiões do país, vinte e três laboratórios executores e um de resgate. Atualmente é possível estimar nas diferentes áreas geográficas do país o subtipo circulante (BRASIL, 2010b).

### **3.11- Interpretação do teste de genotipagem**

As alterações genotípicas do HIV são padronizadas obedecendo a uma ordem letra-número-letra. Diante disto, a substituição M184V significa que no códon 184 da TR, o aminoácido metionina representado pela letra M, e normalmente encontrado nesta posição foi substituído pelo aminoácido valina, representado pela letra V, caracterizando a mutação. Ocorreu, portanto, mudança nos nucleotídeos, pois, o ATG (que codifica a metionina) foi trocado na posição 184 pelo GTG que codifica a valina (JOHNSON et al., 2005). O anexo A mostra a codificação dos aminoácidos (BRASIL, 2002).

Há discordância dos sistemas de interpretação de resistência e, particularmente, quando relacionada aos ITRN e IP pode gerar interpretações inadequadas com conseqüentes falhas quanto a resultados virológicos de terapias subsequentes. As interpretações são baseadas em substituição de aminoácidos relacionada ao vírus subtipo B. Em países onde a prevalência é maior dos subtipos não-B, existe a possibilidade de uma interpretação errônea destes resultados. Um exemplo disto é que algumas mutações do subtipo C podem contribuir para resistência ao lopinavir, mas, geralmente, estas não foram incluídas até então nos algoritmos, por ter baixa prevalência no subtipo C (LUCA and PERNO, 2003).

É complexa a interpretação dos resultados de genotipagem, principalmente devido à interação de mutações. Há duas maneiras de realizá-la: a mais empregada utiliza algoritmos baseados em regras desenvolvidas por especialistas, mas pode gerar resultados conflitantes, havendo a necessidade de atualizações constantes destas regras. Deste modo, algoritmos foram criados como o da *International AIDS Society* (IAS) dos Estados Unidos, o Europeu *HIV Drug Resistance* e o Francês *Agence Nationale de Recherches sur Le SIDA* (ANRS). Através de pareamento de genótipos e fenótipos de isolados clínicos também é possível interpretar a genotipagem (O'BRIEN, 2004; WINTERS and GRANT, 2006).

Em 2004, ocorreu o lançamento do algoritmo brasileiro para os testes de genotipagem nos Estados Unidos no Instituto *Johns Hopkins* (BRASIL, 2010b).

### **3.12- Prevalência de resistência do HIV a TARV**

Uma proporção aumentada do número de pacientes infectados pelo HIV resistentes a TARV (3% em 1995-1998 a 12% em 1999-2000) tem sido registrada na América do Norte, sendo justificado este aumento pelo início de terapia subótima, decorrente da monoterapia ou associação de apenas duas drogas, na década de 1980 e início de 1990 (LAZZARI et al., 2004).

Richman et al. (2004), demonstraram em estudo realizado nos Estados Unidos, uma prevalência de resistência do HIV significativamente maior em pacientes com história de exposição a TARV, doença avançada pelo HIV e elevada carga viral plasmática associada à baixa contagem de células CD4. A resistência foi maior entre os pacientes que utilizaram precocemente os ARV ou que estavam tomando ITRN no início da era HAART, em 1996, quando comparados aos que estavam sem uso da TARV no mesmo período.

Terapia subótima proporcionada por apenas dois antirretrovirais combinados pode conduzir a um rápido desenvolvimento de resistência. Machado et al. (2004), em estudo que analisou resistência genotípica em crianças HIV-1 em terapia antirretroviral dupla e tripla, demonstraram importante correlação entre elevada frequência de mutações de resistência e resistência cruzada com o uso prévio de TARV, particularmente quando se utilizou a terapia dupla. Semelhantemente, Machado et al., (2005) também estudando população pediátrica, obtiveram percentual elevado de resistência (90%).

### 3.13- TARV em pacientes com resistência viral ampla aos ARV

Cepas virais do HIV-1 resistentes à terapia antirretroviral é preocupação constante no seguimento terapêutico dos pacientes que a adquirem, pois pode ocorrer resistência a múltiplas drogas da mesma classe ou não, caracterizando a multiresistência (YERLY et al., 1999).

Objetivando estudar a evolução de mutações de resistência em pacientes sob potente terapia antirretroviral, mas, que mantinham viremia detectável Napravnik et al. (2005), observaram que o risco de aquisição das mutações foi proporcional a maior média de carga viral. A evolução de resistência foi diretamente proporcional ao aumento de carga viral, pois, *quasiespécies* com reduzida susceptibilidade às drogas e em contínua pressão seletiva, ganham vantagens sobre as outras, resultando em um aumento dos níveis de RNA viral das cepas mais adaptadas.

Como variantes HIV-1 resistentes aos antirretrovirais podem ser menos patogênicas que o vírus tipo selvagem, por sua reduzida capacidade replicativa, a continuação da TARV, nestes casos, poderá ainda fornecer algum benefício clínico (HIRSCH et al., 2003; LUCAS et al., 2004).

Mecanismos pelos quais há algum benefício da terapia nos casos de ampla resistência viral podem ser explicados de algumas formas, tais como: por atividade residual dos ARV contra a variante viral resistente; manutenção seletiva de vírus com reduzida capacidade replicativa e preservação intra-tímica de produção de células T, além de sustentado aumento do número e função de linfócitos T. Conservar uma TARV, mesmo com perfil de resistência viral, significa impedir a emergência de vírus selvagem mantendo-se, desta forma, o de menor *fitness* e talvez o menos virulento resistente à droga (DEEKS et al., 2005).

Resistência viral à lamivudina, pode ainda proporcionar benefícios terapêuticos, devido à reduzida capacidade replicativa viral, na presença da substituição M184V. Esta atividade residual é bem documentada por diversos autores (NIJHUIS et al., 2001; MILLER et al., 2002; TURNER et al., 2004; CAMPBELL et al, 2005; DEEKS et al., 2005).

A morbidade e mortalidade em relação ao HIV sofreram um importante decréscimo com a TARV, mas há uma crescente difusão no mundo de pacientes portadores de HIV e com resistência viral ao tratamento, tornando os testes de

detecção de resistência essenciais no seu seguimento clínico e laboratorial (LAZZARI et al., 2004; RICHMAN et al., 2004; TEMESGEN et al., 2006).

## **4. OBJETIVOS**

### **1. Geral:**

- Descrever a prevalência das mutações nos genes das enzimas transcriptase reversa e protease do HIV-1 e relacioná-las à resistência aos antirretrovirais, nos portadores de HIV/Sida em uso de TARV e que estão em falha terapêutica na cidade de Belém do Pará.

### **2. Específicos:**

2.1- Descrever aspectos demográficos da população investigada;

2.2- Estimar o tempo de infecção conhecido pelo HIV e dados imunoviológicos dos pacientes previamente a genotipagem;

2.3- Traçar o perfil terapêutico utilizado pelos pacientes até a realização da genotipagem e relacioná-lo com as mutações de resistência encontradas.

2.4- Descrever a prevalência de mutações principais ou primárias e acessórias ou secundárias, nos genes da transcriptase reversa e protease do HIV-1, que proporcionaram resistência aos inibidores de transcriptase reversa (análogos e não-análogos de nucleosídeos) e aos inibidores da protease, respectivamente.



## **5. METODOLOGIA**

### **5.1- Tipo de estudo**

Este é um estudo descritivo retrospectivo do tipo transversal, pois relata a prevalência de mutações do HIV-1 em um período de tempo definido.

### **5.2- Local da pesquisa**

No estado do Pará, os serviços especializados para o atendimento do portador de HIV/Sida, ao detectarem falha terapêutica encaminham estes pacientes à Unidade de Referência Especializada em Doenças Infecciosas e Parasitárias Especiais (URE-DIPE), onde através de critérios estabelecidos pela Rede Nacional de Genotipagem (RENAGENO) e sob supervisão de um médico de referência em genotipagem (MRG) ocorre a seleção dos pacientes à realizarem o exame, estando arquivados neste serviço as informações necessárias ao desenvolvimento desta pesquisa. Considerando este fluxograma, a URE-DIPE constituiu o local de pesquisa.

### **5.3- População de referência**

A população de referência deste estudo foi formada por todos os pacientes portadores de HIV/Sida que estavam em tratamento antirretroviral nos serviços de atendimento especializado para o HIV em Belém do Pará, representados pela URE-DIPE, pelo Centro de Atenção à Saúde e Doenças Infecciosas Adquiridas (CASA-DIA) e pelo Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUJBB), abrangendo também os Serviços de Atendimento Especializado (SAE) de outros municípios do estado.

### **5.4- População de estudo**

Os pacientes em uso de terapia antirretroviral, com perfil laboratorial indicativo de falha terapêutica e que realizaram genotipagem no período de 2004 e 2005, constituíram a população de estudo.

### **5.5- Tamanho amostral**

A genotipagem no estado do Pará foi disponibilizada a partir do início de 2004. No período de janeiro de 2004 a dezembro de 2005, 117 genotipagens foram solicitadas no estado e destas, 15 foram indeferidas por não preencherem os critérios da RENAGENO. Das 102 requisições deferidas, 9 pacientes não comparecem ao laboratório para realizar o exame e das 93 amostras coletadas, apenas 52 (55,9%) foram amplificadas com sucesso, pela técnica de reação em cadeia de polimerase, e posteriormente submetidas ao sistema de genotipagem *ViroSeq<sup>TM</sup>*. Destas, o perfil de resistência foi detectado em 50, as quais constituíram a amostra para o estudo.

### **5.6- Período da pesquisa**

A pesquisa foi desenvolvida no período de janeiro de 2004 a dezembro de 2005.

### **5.7- Critérios de inclusão**

Foram definidos como critérios de inclusão:

- 1) Estar em vigência de terapia antirretroviral;
- 2) Ter evidência laboratorial de falha terapêutica caracterizada por persistência de carga viral acima de cinco mil cópias por ml de sangue, após seis meses de tratamento com o último esquema antirretroviral prescrito;
- 3) Ter teste de reação em cadeia de polimerase (PCR) reagente e com sequenciamento de DNA viral compatível com perfil de resistência à terapia antirretroviral;
- 4) Ser paciente da rede pública de saúde do Estado do Pará.

### **5.8- Critérios de exclusão**

- 1- Apresentar genotipagem anterior mostrando multiresistência;
- 2- Não ter sequenciamento de DNA viral compatível com perfil de resistência a pelo menos uma classe antirretroviral;

### **5.9- Variáveis estudadas**

Foram estudadas as variáveis referentes:

- 1- A características demográficas da população de estudo;
- 2- Ao tempo conhecido de infecção pelo HIV e perfil imunoviológico;
- 3- Ao perfil de uso da terapia antirretroviral utilizada pelos pacientes previamente a genotipagem;
- 4- Ao teste de genotipagem para o HIV.

### **5.10- Procedimentos**

As informações necessárias a presente pesquisa, foram obtidas a partir da revisão de formulários de solicitação do exame de genotipagem, padronizados pela Coordenação Nacional de DST-AIDS (Anexo B) e a partir do resultado do teste de genotipagem, do qual se obteve as mutações na transcriptase reversa e protease do HIV-1. Os formulários e os resultados de genotipagem fazem parte do arquivo da URE-DIPE.

As variáveis pesquisadas foram assim descritas:

- 1- Para apresentar o perfil demográfico da população:
  - 1.1- Idade;
  - 1.2- Sexo;
  - 1.3- Cidade de residência.
- 2- Para descrever o tempo conhecido de infecção pelo HIV e perfil imunoviológico:
  - 2.1- Data do diagnóstico sorológico da infecção pelo HIV (mês/ano);
  - 2.2- Contagem de linfócitos TCD4 previamente a genotipagem;
  - 2.3- Quantificação viral do HIV previamente a genotipagem.
- 3- Para descrever o perfil antirretroviral utilizado pelos pacientes previamente a genotipagem:
  - 3.1- Data de início de TARV;
  - 3.2- Uso de monoterapia e por quanto tempo;
  - 3.3- Uso de terapia dupla e por quanto tempo;
  - 3.4- Uso de Inibidores de Transcriptase Reversa Não Nucleosídeos;
  - 3.5- Uso de Inibidores de Protease com ritonavir;
  - 3.6- Uso de Inibidores de Protease sem ritonavir;
  - 3.7- Número de TARV utilizadas até a realização da genotipagem;
  - 3.8- Descrição de cada TARV utilizada por paciente;

3.9- Tempo em meses de cada antirretroviral utilizado por paciente.

4- Descrição das mutações através do teste de genotipagem:

O comitê RENAGENO elaborou um grupo de regras com o objetivo de orientar a interpretação do teste de genotipagem e ajudar na escolha da melhor opção terapêutica de resgate (ANEXO C). Estas regras compõem uma tabela com os ARV disponíveis para o tratamento do HIV, são periodicamente atualizadas (ANEXO D e E) e para cada droga foram definidos critérios para considerar variante viral com resistência completa (R), parcial ou intermediário (I) ou não detectável, portanto susceptível (S). Para facilitar a utilização destas regras foi desenvolvido um *software* que automaticamente vincula o padrão de mutações com a interpretação sugerida (BRASIL, 2010b).

As interpretações do teste de genotipagem consideradas nesta pesquisa abrangem as versões 03/2004, 04/2005 e 06/2006 do algoritmo brasileiro, conforme realizados cronologicamente os exames. Atualmente a versão disponível é 10/2009 (BRASIL, 2010b).

Para realizar o teste de genotipagem através da rede pública de saúde, o paciente deve obedecer a um fluxograma estabelecido pela RENAGENO (BRASIL, 2010b), descrito a seguir:

- 1- O médico assistente encaminha ao MRG a solicitação do teste de genotipagem;
- 2- O MRG avalia a solicitação deferindo ou indeferindo o pedido, de acordo com os critérios da RENAGENO;
- 3- Ao ser deferido o pedido, o paciente é encaminhado ao laboratório;
- 4- Em caso de não autorizado o exame, o MRG envia justificativa ao médico assistente;
- 5- São coletados no laboratório, 2 amostras de 5ml (total 10ml) de sangue periférico, com anticoagulante EDTA ou ACD-A, em tubos a vácuo estéreis. Estas amostras são armazenadas em geladeira até o seu processamento (separação do plasma sanguíneo), mas podem ser conservadas em um período máximo de 4 horas à temperatura ambiente (até 25°). Caso as amostras não possam ser processadas dentro deste prazo elas podem ser armazenadas a temperatura de -28° por um período máximo de 24 horas a partir da coleta (BRASIL, 2002).
- 6- Após execução laboratorial do teste de genotipagem o perfil de substituição de aminoácidos com laudo laboratorial e de interpretação pelo algoritmo brasileiro é liberado ao MRG para interpretação clínica;

7- O MRG, com base no perfil de substituição dos aminoácidos, dados clínicos e de TARV utilizadas pelo paciente, sugere ao médico assistente alternativas de troca terapêutica antirretroviral;

8- O laudo com a sugestão terapêutica é encaminhado ao prontuário do paciente que, em consulta médica, é informado acerca do resultado pelo médico assistente.

No laboratório, por meio da utilização do sistema de genotipagem de HIV-1 *ViroSeq<sup>TM</sup>*, o perfil de mutações da TR e PR do HIV-1 é descrito. Este, em etapa posterior é analisado através do algoritmo de interpretação brasileira do teste de genotipagem, cujo acesso é permitido através do site da RENAGENO.

O sistema de genotipagem de HIV-1 *ViroSeq<sup>TM</sup>* (ABBOTT Laboratórios do Brasil) é um *software* utilizado para detectar mutações na TR e PR do gene *pol* do HIV-1. Inicialmente o sangue periférico é processado com separação do plasma sanguíneo para, então, o processo de genotipagem propriamente dito começar, o qual consiste, primeiramente, em isolamento e purificação do RNA viral plasmático, seguido de síntese de cDNA com amplificação deste genoma através da reação em cadeia de polimerase. O gene inteiro da protease e dois terços do gene da TR são amplificados e geram um amplicon de 1,8 kb. Este serve como molde de sequenciamento para 7 *primers* que geram uma sequência de aproximadamente 1,3kb. O *software* compara então a sequência consenso com uma referência conhecida, HXB2, determinando as mutações da amostra. Finalmente, o *software* utiliza um algoritmo patenteado e analisa as mutações gerando um relatório de resistência às drogas.

As substituições compatíveis com resistência mais prevalentes são descritas em principais ou acessórias e dentro das classes terapêuticas.

Nesta pesquisa foi considerado perfil resistente dentro de uma classe quando pelo menos um antirretroviral na classe apresentou o perfil resistente ou intermediário de acordo com o algoritmo brasileiro. Quanto ao perfil completamente resistente a uma classe terapêutica (resistência à classe) foi considerado que todos os antirretrovirais por classe terapêutica exibiram o perfil resistente e intermediário sem, portanto qualquer antirretroviral sensível nesta situação.

As mutações de resistência foram descritas de acordo com a classe terapêutica a qual geram impacto entre os pacientes do estudo. De outra forma estas mutações e a resistência aos antirretrovirais, interpretada de acordo com o

algoritmo brasileiro, foram descritas e relacionadas aos antirretrovirais previamente utilizados, conforme a distribuição por frequência em dois grupos: um de expostos a única TARV e outro de expostos a mais de uma TARV.

### **5.11- Aspectos éticos**

O protocolo deste estudo foi elaborado de acordo com as normas da resolução 196/1996 do Conselho Nacional de Saúde e foi submetido a apreciação ética do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário João de Barros Barreto sendo aprovado em 04/04/2006 (Anexo VI).

### **5.12- Análise dos dados**

Os dados obtidos foram inseridos em um banco de dados criado utilizando-se o programa microsoft EXCEL 2003, o qual também foi utilizado para fazer a estatística descritiva dos dados, tabelas e gráficos.

## 6. RESULTADOS

### 6.1- Dados gerais

Descreveu-se cinquenta genotipagens de pacientes que preencheram os critérios de inclusão no estudo previamente definidos. A mediana do tempo de infecção em meses para o HIV na população estudada foi de 75,5 (P25=52,25 e P75=104,5) próximo da média de 78,6, com desvio padrão de 36,8 meses.

Dados imunoviológicos, encontrados previamente a genotipagem, mostra em relação ao CD4 uma mediana de 118,5 células (P25=70,5 e P75=202,75) um pouco inferior a média que foi de 156,8 células com desvio padrão de 138 células (o mínimo de células CD4 foi de 18 e o máximo de 853 células). Quanto a carga viral a mediana foi de 85000 cópias de HIV-1 RNA – 4.9293 log10 (P25=45000 - 4.6529 log10 e P75=197500 – 5.2955 log10) com média 267114 – 4.9738 log10 e desvio padrão de 0.5718 log10.

A maior prevalência de resistência antirretroviral do HIV-1 ocorreu na faixa etária de 30 a 59 anos, na qual o sexo masculino também foi superior com 91,1% (41/45) dos casos. O sexo masculino foi predominante com 90% (45/50) dos casos (tabela 1).

**Tabela 1- Distribuição da população estudada, de acordo com a faixa etária e sexo, no estado do Pará, entre 2004 e 2005.**

Faixa etária	Sexo				TOTAL	
	Masculino		Feminino			
	<sup>(1)</sup> nº	%	<sup>(2)</sup> nº	%	<sup>(3)</sup> nº	%
18-29	3	75,0	1	25,0	4	100,0
30-49	35	90,0	4	10,0	39	100,0
50-70	7	100,0	0	0,0	7	100,0
TOTAL	45	90,0	5	10,0	50	100,0

FONTE: URE-DIPE.

Nota: (1) n° e %- número absoluto e percentual de p acientes do sexo masculino; (2) n° e %- número absoluto e percentual de pacientes do sexo feminino e (3) n° e %- número absoluto e percentual total de pacientes.

A média de idade por ocasião da realização do exame de genotipagem foi de 40,1 anos (idade mínima de 25 e máxima de 69), com mediana de 38 anos (P25=35 e P75=43,75) e desvio padrão de 8,6.

A maioria dos pacientes, 72% (36/50) reside na região metropolitana de Belém, enquanto, os demais 28% (14/50) residem no interior do estado na seguinte proporção: Ananindeua (3/50); Augusto Correa, Bragança e Marituba (2/50), cada. Nos municípios de Acará, Castanhal, Marabá, Santa Bárbara e Santa Izabel do Pará há 1 paciente habitante com perfil de HIV-1 resistente a TARV (tabela 2).

**Tabela 2- Distribuição do perfil de resistência do HIV-1, de acordo com o município de residência dos pacientes, no estado do Pará, entre 2004 e 2005.**

Município	<sup>(1)</sup> nº	(%)
Acará	1	2,0
Ananindeua	3	6,0
Augusto Correa	2	4,0
Belém	36	72,0
Bragança	2	4,0
Castanhal	1	2,0
Marabá	1	2,0
Marituba	2	4,0
Santa Bárbara	1	2,0
Santa Izabel do Pará	1	2,0
TOTAL	50	100,0

FONTE: URE-DIPE.

Nota: (1) n<sup>o</sup> número absoluto de pacientes por município e (2) %- percentual de pacientes por município.

## 6.2- Perfil do uso da terapia antirretroviral

Oito por cento dos pacientes (4/50) ao serem submetidos ao exame de genotipagem haviam experimentado monoterapia com AZT e 34% (17/50) haviam utilizado ou estavam em terapia dupla, composta geralmente por um análogo timidínico e lamivudina.



De acordo com as classes de antirretrovirais utilizadas, 100% experimentaram ITRN. Em 62% (31/50) houve a utilização de ITRNN e em relação aos IP 88% (44/50) os utilizaram sem o reforço do ritonavir, contrastando com 44% (22/50) de utilização de IP com ritonavir (tabela 3).

**Tabela 3- Frequência de uso de terapia antirretroviral utilizada previamente a genotipagem, por modalidade e classe terapêutica, no estado do Pará, entre 2004 e 2005.**

	(1) n°	(2) %
<b>Modalidade terapêutica</b>		
Monoterapia	4	8,0
Terapia dupla	17	34,0
<b>Classe terapêutica</b>		
ITRN <sup>(3)</sup>	50	100,0
ITRNN <sup>(4)</sup>	31	62,0
IP com RTV <sup>(5)</sup>	22	44,0
IP sem RTV <sup>(6)</sup>	44	88,0

FONTE: URE-DIPE.

Nota: (1) n° número absoluto de pacientes; (2) %- percentual de pacientes; (3) ITRN- inibidores de transcriptase reversa análogos de nucleosídeos; (4) ITRNN- inibidores de transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos; (5) IP com RTV – inibidores de protease potencializados com ritonavir; (6) IP sem RTV- inibidores de protease não potencializados com ritonavir.

A utilização dos antirretrovirais na população estudada, quanto a frequência e a média de uso em meses, está descrita na tabela 4.

Entre os ITRN a maior frequência percentual dos pacientes acompanhou a maior frequência de uso em meses dos medicamentos: lamivudina (94% e 49,7 meses), zidovudina (84% e 36,1 meses), estavudina (70% e 22,4 meses) e didanosina (56% e 10,4 meses). A exceção da delavirdina que não foi utilizada, o mesmo ocorreu com os ITRNN: efavirenz (42% e 11,3 meses) e nevirapina (24% e 4,1 meses).

Quanto aos IP o indinavir foi o mais utilizado e por mais tempo: 60% e em média por 21,6 meses. Na sequência: nelfinavir (36% e 6,7 meses), lopinavir/ritonavir (32% e 5,5 meses), ritonavir (26% e 6,8 meses) e saquinavir (12% e 2,8 meses de utilização).

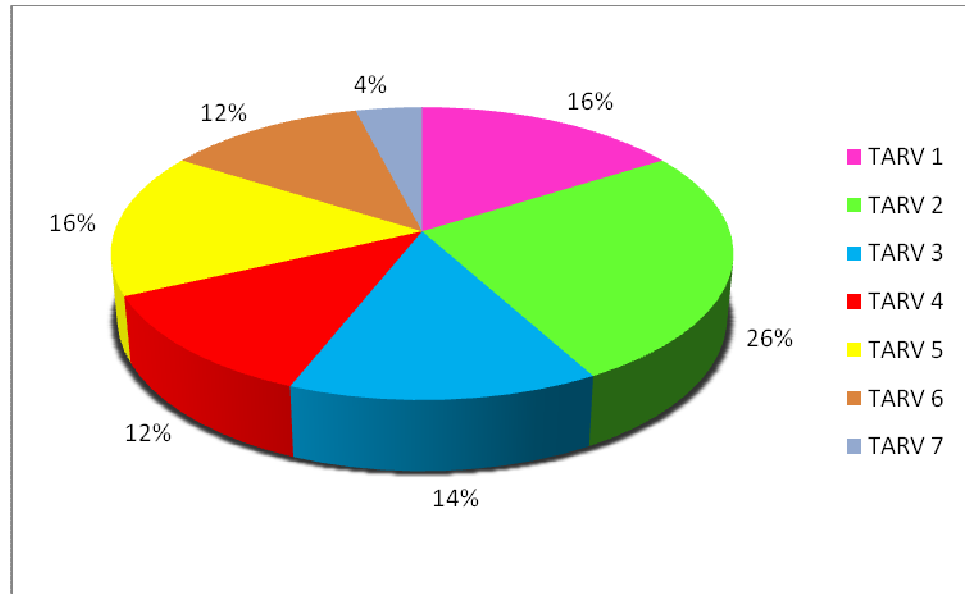
**Tabela 4- Frequência e média aritmética do uso em meses dos antirretrovirais previamente a genotipagem, no estado do Pará, entre 2004 e 2005.**

<sup>(1)</sup> ARV por classe terapêutica	<sup>(2)</sup> n°	<sup>(3)</sup> %	<sup>(4)</sup> Média de uso de ARV em meses
<sup>(5)</sup> ITRN			
Abacavir	1	2,0	0,5
Didanosina	28	56,0	10,4
Estavudina	35	70,0	22,4
Lamivudina	47	94,0	49,7
Zalcitabina	3	6,0	0,7
Zidovudina	42	84,0	36,1
Tenofovir	4	8,0	2,2
<sup>(6)</sup> ITRNN			
Delavirdina	0	0	0
Efavirenz	21	42,0	11,3
Nevirapina	12	24,0	4,1
<sup>(7)</sup> IP			
Atazanavir	5	10,0	1,1
Amprenavir	3	6,0	0,8
Indinavir	30	60,0	21,6
Lopinavir/ritonavir	16	32,0	5,5
Nelfinavir	18	36,0	6,7
Ritonavir	13	26,0	6,8
Saquinavir	6	12,0	2,8
Amprenavir/ritonavir	2	4,0	1,6
Saquinavir/ritonavir	2	4,0	2,3
Indinavir/ritonavir	4	8,0	1,3
Atazanavir/ritonavir	2	4,0	0,2

FONTE: URE-DIPE.

Nota: (1) ARV por classe terapêutica: antirretroviral por classe terapêutica; (2) n°: número absoluto de pacientes; (3) %: percentual de pacientes; (4) Média de uso de ARV em meses: média de uso de antirretrovirais em meses; (5) ITRN: inibidores de transcriptase reversa análogos de nucleosídeos; (6) ITRNN: inibidores de transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos e (7) IP: inibidores de protease.

Apenas 16% (8/50) dos pacientes, ao se submeterem a genotipagem, haviam experimentado único esquema terapêutico antirretroviral. Os demais utilizaram previamente ao teste, duas, três, quatro, cinco, seis e sete tratamentos diferentes com as prevalências respectivas: 26% (13/50), 14% (7/50), 12% (6/50), 16% (8/50), 12% (6/50) e 4% (2/50). Gráfico 1.



FONTE: URE-DIPE.

**Gráfico 1- Prevalência de terapias antirretrovirais utilizadas previamente a genotipagem, no estado do Pará, entre 2004 e 2005.**

O perfil laboratorial da infecção pelo HIV e exposição dos pacientes, a cada ARV, pelo número de TARV utilizadas está descrito na tabela 5.

Entre os grupos a média do tempo de infecção pelo HIV variou de 51,31 a 150 meses, a média de contagem de CD4 de 51 a 224 células e a de carga viral de 5,1 a 5,7 em log de 10.

A frequência de exposição média aos ARV em meses, de acordo com o número de TARV utilizadas (tabela 5) variou entre 33,5 a 86 à lamivudina; 21,6 a 54,5 à zidovudina; 13,6 a 41,4 à estavudina e 3,6 a 25 à didanosina. Já ao abacavir foi de 0 a 11,5; a zalcitabina 0 a 2,5 e ao tenofovir 0 a 9,9 meses de utilização. Dentre os IP a utilização do indinavir variou entre 11,6 a 41,5 meses; o nelfinavir entre 4,3 e 8,5; o ritonavir entre 0 a 15,7 e o lopinavir/ritonavir entre 0 e 22 meses. A exceção do LPV/r, os IP que podem ser potencializados com ritonavir: amprenavir/ritonavir, saquinavir/ritonavir, indinavir/ritonavir e atazanavir/ritonavir, tiveram médias de zero a 9,7 meses de utilização. O atazanavir/ritonavir foi utilizado apenas em um grupo e por 1,5 meses em média.

**Tabela 5- Perfil laboratorial da infecção pelo HIV e exposição aos antirretrovirais, de acordo com o número de terapia antirretroviral utilizada previamente a genotipagem, no estado do Pará, entre 2004 e 2005.**

Perfil laboratorial	<sup>(1)</sup> TARV 1 (n= 8)	<sup>(2)</sup> TARV 2 (n= 13)	<sup>(3)</sup> TARV 3 (n= 7)	<sup>(4)</sup> TARV 4 (n= 6)	<sup>(5)</sup> TARV 5 (n= 8)	<sup>(6)</sup> TARV 6 (n= 6)	<sup>(7)</sup> TARV 7 (n= 2)
<sup>(8)</sup> Média infecção pelo HIV	51,75	51,31	75,428	85,5	107,75	107,5	150
<sup>(9)</sup> Média de CD4	170,9	148,7	224,3	147,3	102	195	51
<sup>(10)</sup> Média de C viral (log 10)	5,1879	5,7149	5,3165	5,2879	5,14105	5,0749	5,6734
<b>Exposição aos ARV</b>							
<b>1. <sup>(11)</sup>ITRN (média)</b>							
Abacavir	0	0	0	0	0	0	11,5
Didanosina	3,6	9,9	9,7	4,3	19,3	23,3	25
Estavudina	21,3	13,6	21,4	17,3	41,4	24,8	19
Lamivudina	39,3	33,5	54,7	49,8	86	39,7	64
Zalcitabina	0	1,1	0	0	0,5	2,5	0
Zidovudina	21,6	26,5	50,8	40,5	45,8	35,7	54,5
Tenofovir	0	1,1	0	0	9,9	2,5	0
<b>2. <sup>(12)</sup> ITRNN (média)</b>							
Delavirdina	0	0	0	0	0	0	0
Efavirenz	5,5	9,7	5,6	6,7	28,9	14,2	0
Nevirapina	3,6	6,7	0	8,2	0,4	5,2	3,5
<b>3. <sup>(13)</sup> IP (média)</b>							
Atazanavir	0	0	0	2,2	1,3	5,2	0
Amprenavir	0	0	0	0	0	2,8	11,5
Indinavir	26,25	11,6	32	18,8	21,3	21,2	41,5
Lopinavir/ritonavir	0	2,6	7,1	3,2	10	7,7	22
Nelfinavir	7,5	6,2	8,1	7,5	4,3	8,5	4,5
Ritonavir	0	5,5	6,3	0	12,4	15,7	15,5
Saquinavir	0	0	5,9	0	7,3	5,3	3,5
Amprenavir/ritonavir	0	0	0	0	8,8	1,7	0
Saquinavir/ritonavir	0	0	0	9,7	7,3	0	0
Indinavir/ritonavir	0	0,5	0,4	0	0,5	8,3	0
Atazanavir/ritonavir	0	0	0	0	1,5	0	0

FONTE: URE-DIPE.

NOTA: (1) TARV 1 e n=8: oito pacientes utilizaram uma terapia antirretroviral; (2) TARV 2 e n= 13: treze pacientes utilizaram duas terapias antirretroviral; (3) TARV 3 e n= 7: sete pacientes utilizaram três terapias antirretroviral; (4) TARV 4 e n= 6: seis pacientes utilizaram quatro terapias antirretroviral; (5) TARV 5 e n= 8: oito pacientes utilizaram cinco terapias antirretroviral; (6) TARV 6 e n=6: seis pacientes utilizaram seis terapias antirretroviral;(7) TARV 7 e n=2: dois pacientes utilizaram sete terapias antirretroviral; (8) Média de infecção pelo HIV: média aritmética em meses de infecção pelo HIV; (9) Média de CD4: média aritmética da contagem de linfócitos TCD4; (10) Média de C viral (log 10): média aritmética de quantificação viral do HIV em logaritmo de 10; (11) ITRN (média): média aritmética em meses de uso de inibidores de transcriptase reversa análogos de nucleosídeos; (12) ITRNN (média): média aritmética em meses de uso de inibidores de transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos e (13) IP (média): média aritmética em meses de uso de inibidores de protease.

### 6.3- Prevalência de mutações de resistência

A tabela 6 apresenta a prevalência de substituição de aminoácidos na transcriptase reversa e protease do HIV-1, que caracterizam as mutações no gene *pol* do HIV-1. As mutações de resistência são descritas de acordo com a classe terapêutica a qual geram impacto entre os pacientes do estudo.

**Tabela 6- Prevalência de substituições de aminoácidos na transcriptase reversa e protease do HIV-1, relacionada a resistência aos antirretrovirais por classe terapêutica entre os cinquenta pacientes do estudo, no estado do Pará, entre 2004-2005.**

Códon	<sup>(1)</sup> TR - ITRNN		Códon	<sup>(2)</sup> TR - ITRNN		Códon	<sup>(3)</sup> PR - IP	
	<sup>(4)</sup> Nº	%		<sup>(5)</sup> Nº	%		<sup>(6)</sup> Nº	%
M41L	16	32	L100I	4	8	L10FIV	24	48
T69N	6	12	K103N	21	42	K20IMRTV	20	40
<b>K65R</b>	1	2	Y181C	5	10	<b>D30N</b>	4	8
D67N	21	42	G190A	5	10	E35D	23	48
<sup>(7)</sup> <b>69INS</b>	2	4	P225H	4	8	M36I	19	38
K70R	14	28				<b>M46IL</b>	19	38
V118I	9	18				I54V	13	26
<b>Q151M</b>	2	4				I62V	20	40
<b>M184V</b>	38	76				L63P	37	74
L210W	10	20				A71V	18	36
R211K	24	48				V77I	11	22
L214F	43	86				<b>V82AFT</b>	10	20
<b>T215FY</b>	28	56				<b>I84V</b>	8	16
Q219QEN	21	42				<b>L90M</b>	16	32
						I93LM	26	52

FONTE: URE-DIPE.

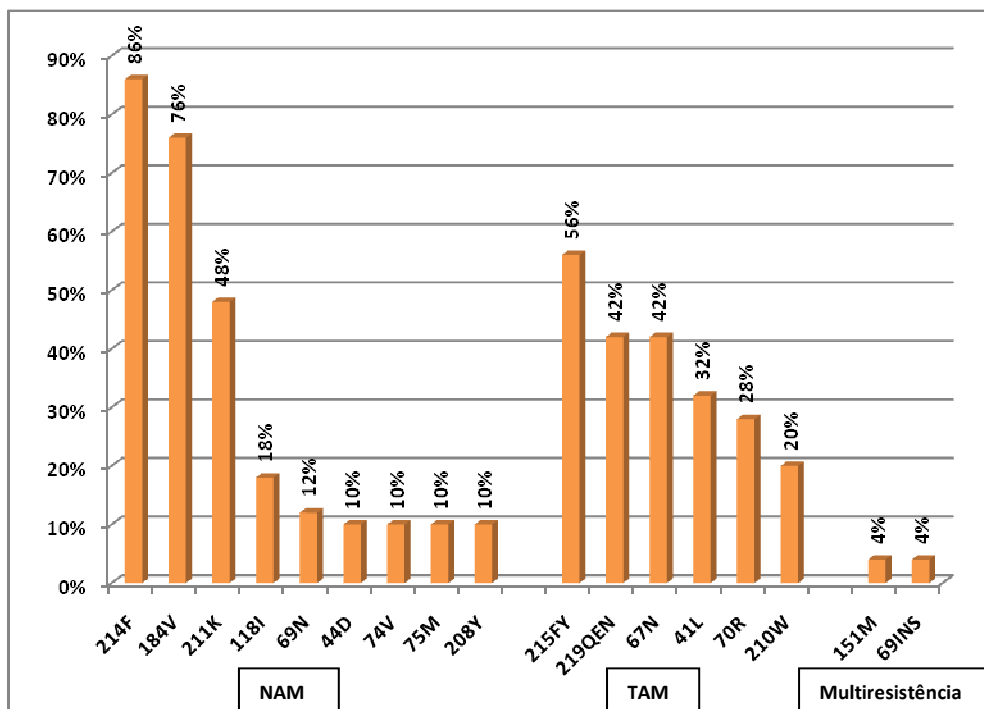
Nota: As substituições de aminoácidos caracterizadas como principais estão destacadas em negrito de acordo com a *International Aids Society – USA* (<http://www.iasusa.org>).

(1) TR – ITRN: transcriptase reversa – inibidores de transcriptase reversa análogos de nucleosídeos; (2) TR – ITRNN: transcriptase reversa – inibidores de transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos; (3) PR – IP: protease – inibidores da protease; (4) Nº e % - número absoluto e percentual de mutações na TR relacionadas aos ITRN; (5) Nº e % - número absoluto e percentual de mutações na TR relacionadas aos ITRNN; (6) Nº e % - número absoluto e percentual de mutações na PR relacionadas aos IP e (7) 69INS: inserção no códon 69.

#### 6.3.1- Mutações de resistência na TR relacionadas aos ITRN

Em três blocos distintos observa-se: mutações dos análogos nucleosídeos (NAM), mutações dos análogos da timidina (TAM) e mutações de

multiresistência. Dentre as NAM a de maior prevalência foi a mutação 214F 86% (n=43), seguida da 184V 76% (n=38), 211K 48% (n=24), 118I 18% (n=9), 69N 12% (n=6) e na mesma proporção de 10% (n=5) as mutações 44D, 74V, 75M e 208Y. Quanto as TAM a prevalência foi: 215FY 56% (n=28), 219QEN e 67N 42% cada uma (n=21), 41L 32% (n=16), 70R 28% (n=14) e 210W 20% (n=10). Finalmente, a Q151M a 69INS, que representam multiresistência a classe contribuíram cada uma com 4% (n=2) na proporção de resistência (gráfico 2).

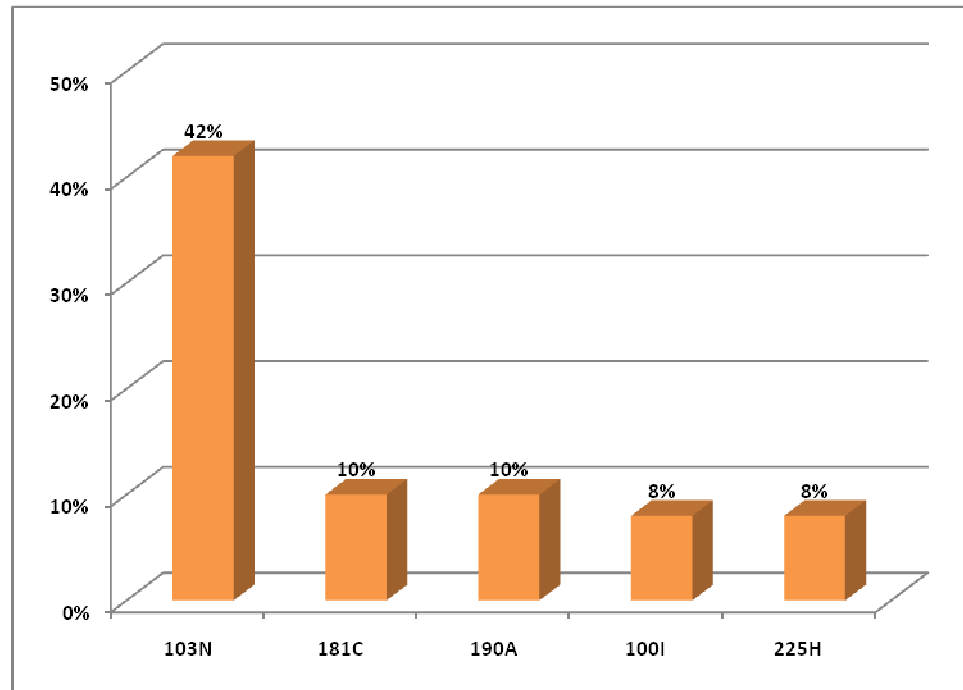


FONTE: URE-DIPE.

Gráfico 2- Prevalência das mutações na TR do HIV-1 relacionadas aos ITRN, no estado do Pará, entre 2004 e 2005.

### 6.3.2- Mutações de resistência na TR relacionadas aos ITRNN

As mutações na TR relacionadas aos ARV desta classe terapêutica encontradas foram: 103N em 42% dos pacientes (n=21), seguida da 181C e 190A na mesma proporção 10% (n=5) e 100I e 225H 8% (n=4) cada (gráfico 3).

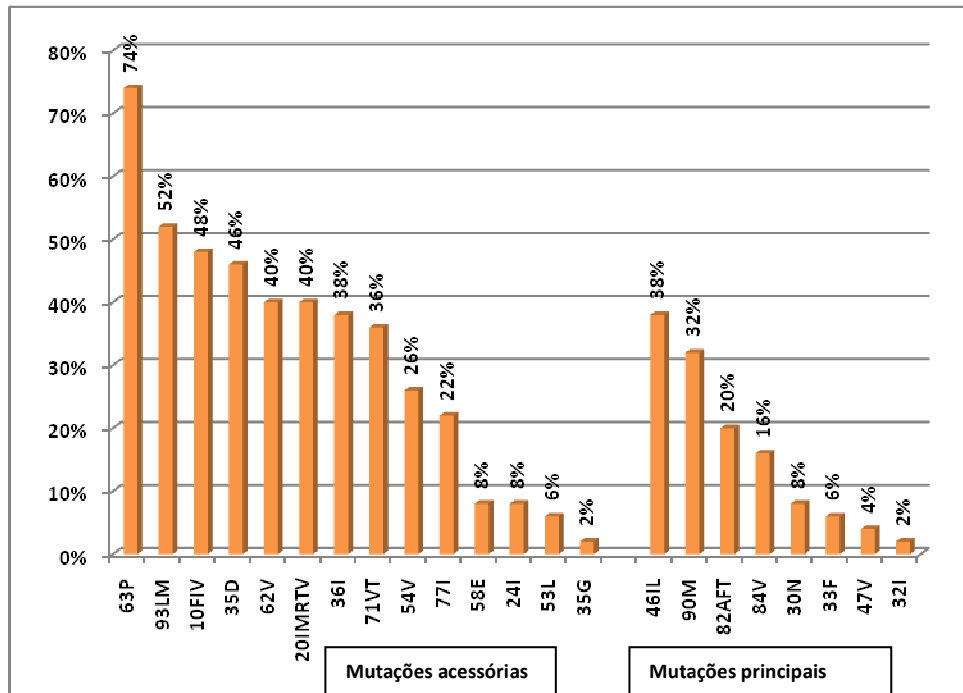


FONTE: URE-DIPE.

Gráfico 3- Prevalência das mutações na TR do HIV-1 relacionadas aos ITRNN, no estado do Pará, entre 2004 e 2005.

### 6.3.3- Mutações de resistência na PR relacionadas aos IP

As mutações na protease do HIV-1 são mostradas no gráfico 4. Dentre as secundárias observa-se a seguinte proporção: 63P em 74% (n=37), 93LM em 52% (n=26), 10FIV em 48% (n=24), E35D em 46% (n=23), 62V e 20IMRTV em 40% (n=20) cada, 36I em 38% (n=19), 71VT em 36% (n=18), 54V em 26% (n=13), 77I em 22% (n=11), 58E e 24I em 8% (n=4) cada, 53L em 6% (n=3) e 35G em 2% (n=1) dos pacientes. Quanto às principais descreve-se: a 46IL em 38% (n=19), a 90M em 32% (n=16), a 82AFT em 20% (n=10), a 84V em 16% (n=8), a 30N em 8% (n=4), a 33F em 6% (n=3), a 47V em 4% (n=2) e a 32I em 2% (n=1) dos pacientes.



FONTE: URE-DIPE.

Gráfico 4 – Prevalência de mutações na protease do HIV-1, mutações principais e acessórias, no estado do Pará, entre 2004 e 2005.

#### 6.3.4 - Mutações de resistência na TR relacionadas aos ITRN entre os pacientes que utilizaram uma TARV e mais de uma TARV

A tabela 7 relaciona as principais mutações na TR (atribuídas aos ITRN) aos pacientes que utilizaram TARV única e mais de 1 TARV. Descreve-se cada mutação e a frequência com que a mesma ocorreu de acordo com a utilização de 1 TARV ou mais de 1 TARV respectivamente, destacando-se: 41L (25 e 33,3%), 67N (25 e 45,2%), 70R (12,5 e 30,9%), 69INS (0 e 4,7%), 151M (0 e 4,7%), 184V (87,5 e 73,8%), 210W (0 e 23,8%), 215FY (50 e 57,1%) e 219QEN (12,5 e 47,6%).



**Tabela 7- Prevalência de mutações na transcriptase reversa do HIV-1 relacionadas aos inibidores de transcriptase reversa análogos de nucleosídeos de acordo com o grupo de pacientes que utilizou uma terapia antirretroviral (TARV) e mais de uma TARV, no estado do Pará, entre 2004 e 2005.**

Mutação	<sup>(1)</sup> N	1 TARV		Mais de 1 TARV	
		<sup>(2)</sup> n	<sup>(3)</sup> %	<sup>(4)</sup> n	<sup>(5)</sup> %
41L	16	2	25	14	33,3
44D	5	0	0	5	11,9
67N	21	2	25	19	45,2
69N	6	0	0	6	14,3
70R	14	1	12,5	13	30,9
69INS	2	0	0	2	4,7
74V	5	0	0	5	11,9
75M	5	0	0	5	11,9
118I	9	1	12,5	8	19
151M	2	0	0	2	4,7
184V	38	7	87,5	31	73,8
208Y	5	0	0	5	11,9
210W	10	0	0	10	23,8
211K	24	4	50	20	47,6
214F	43	6	75	37	88
215FY	28	4	50	24	57,1
219QEN	21	1	12,5	20	47,6

FONTE: URE-DIPE.

Nota: (1) N – número total de casos com a mutação; (2) n- número absoluto de mutações de acordo com a utilização de 1 TARV; (3) % - prevalência de cada mutação de acordo com a utilização de 1 TARV; (4) n – número absoluto de mutações de acordo com a utilização de mais de 1 TARV; (5) % - prevalência de cada mutação de acordo com a utilização de mais de 1 TARV.

### **6.3.5 - Mutações de resistência na TR relacionadas aos ITRNN entre os pacientes que utilizaram uma TARV e mais de uma TARV**

A tabela 8 relaciona as principais mutações na TR (atribuídas aos ITRNN) aos pacientes que utilizaram TARV única e mais de 1 TARV. Descreve-se cada mutação e a frequência com que a mesma ocorreu de acordo com a utilização de 1 TARV ou mais de 1TARV respectivamente: 100I (0 e 9,5%), 103N (25 e 45,2%), 181C (0 e 11,9%), 190A (0 e 11,9%) e 225H (12,5 e 7,1%).

**Tabela 8- Prevalência de mutações na transcriptase reversa do HIV-1 relacionadas aos inibidores de transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos conforme o grupo de pacientes que utilizou uma terapia antirretroviral (TARV) e mais de uma TARV, no estado do Pará, entre 2004 e 2005.**

Mutação	<sup>(1)</sup> N	1 TARV		Mais de 1 TARV	
		<sup>(2)</sup> n	%	<sup>(4)</sup> n	%
100I	4	0	0	4	9,5
103N	21	2	25	19	45,2
181C	5	0	0	5	11,9
190A	5	0	0	5	11,9
225H	4	1	12,5	3	7,1

FONTE: URE-DIPE.

Nota: (1) N – número total de casos com a mutação; (2) n- número absoluto de mutações de acordo com a utilização de 1 TARV; (3) % - prevalência de cada mutação de acordo com a utilização de 1 TARV; (4) n – número absoluto de mutações de acordo com a utilização de mais de 1 TARV; (5) % - prevalência de cada mutação de acordo com a utilização de mais de 1 TARV.

### **6.3.6 - Mutações de resistência na PR relacionadas aos IP entre os pacientes que utilizaram uma TARV e mais de uma TARV**

A tabela 9 relaciona as principais mutações na PR (atribuídas aos IP) aos pacientes que utilizaram TARV única e mais de 1 TARV. Descreve-se cada mutação e a frequência com que a mesma ocorreu de acordo com a utilização de 1 TARV ou mais de 1TARV respectivamente: 10FIV (37,5 e 52,3%), 20IMRTV (25 e 40,4%), 24I (12,5 e 7,0%), 30N (12,5 e 7,0%), 32I (0 e 2%), 33F (0 e 7%), 35D (50 e 45,2%), 35G (0 e 2%), 36I (50 e 35,7%), 46IL (25 e 40,4%), 47V (0 e 4,7%), 53L (0 e 7,0%), 54V (12,5 e 28,5%), 58E (0 e 9,5%), 62V (25 e 42,8%), 63P (75 e 73,8%), 71VT (37,5 e 35,7%), 77I (12,5 e 23,8%), 82AFT (25 e 19%), 84V (12,5 e 16,6%), 90M (37,5 e 30,9%) e 93LM 50 e 52,3%).

**Tabela 9- Prevalência de mutações na protease do HIV-1 relacionadas aos inibidores de protease conforme o grupo de pacientes que utilizou uma terapia antirretroviral (TARV) e mais de uma TARV, no estado do Pará, entre 2004 e 2005.**

Mutação	<sup>(1)</sup> N	1 TARV		Mais de 1 TARV	
		<sup>(2)</sup> n	%	<sup>(4)</sup> n	%
10FIV	24	3	37,5	22	52,3
20IMRTV	20	2	25	17	40,4
24I	4	1	12,5	3	7,0
30N	4	1	12,5	3	7,0
32I	1	0	0	1	2,0
33F	3	0	0	3	7,0
35D	23	4	50	19	45,2
35G	1	0	0	1	2,0
36I	19	4	50	15	35,7
46IL	19	2	25	17	40,4
47V	2	0	0	2	4,7
53L	3	0	0	3	7,0
54V	13	1	12,5	12	28,5
58E	4	0	0	4	9,5
62V	20	2	25	18	42,8
63P	37	6	75	31	73,8
71VT	18	3	37,5	15	35,7
77I	11	1	12,5	10	23,8
82AFT	10	2	25	8	19
84V	8	1	12,5	7	16,6
90M	16	3	37,5	13	30,9
93LM	26	4	50	22	52,3

FONTE: URE-DIPE.

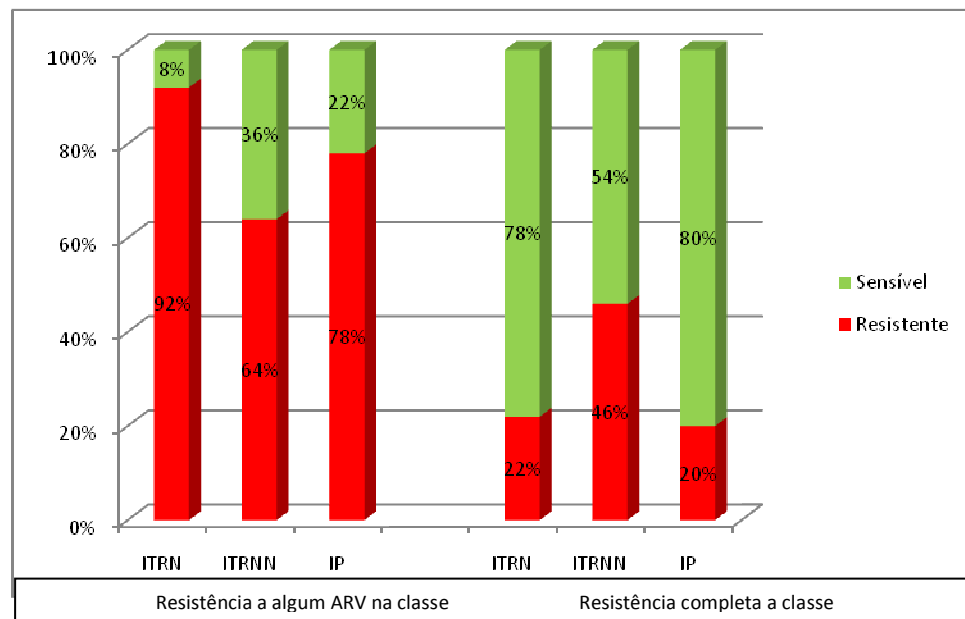
Nota: (1) N – número total de casos com a mutação; (2) n- número absoluto de mutações de acordo com a utilização de 1 TARV; (3) % - prevalência de cada mutação de acordo com a utilização de 1 TARV; (4) n – número absoluto de mutações de acordo com a utilização de mais de 1 TARV; (5) % - prevalência de cada mutação de acordo com a utilização de mais de 1 TARV.

## 6.4- Perfil de resistência aos antirretrovirais

### 6.4.1- Resistência às classes antirretrovirais

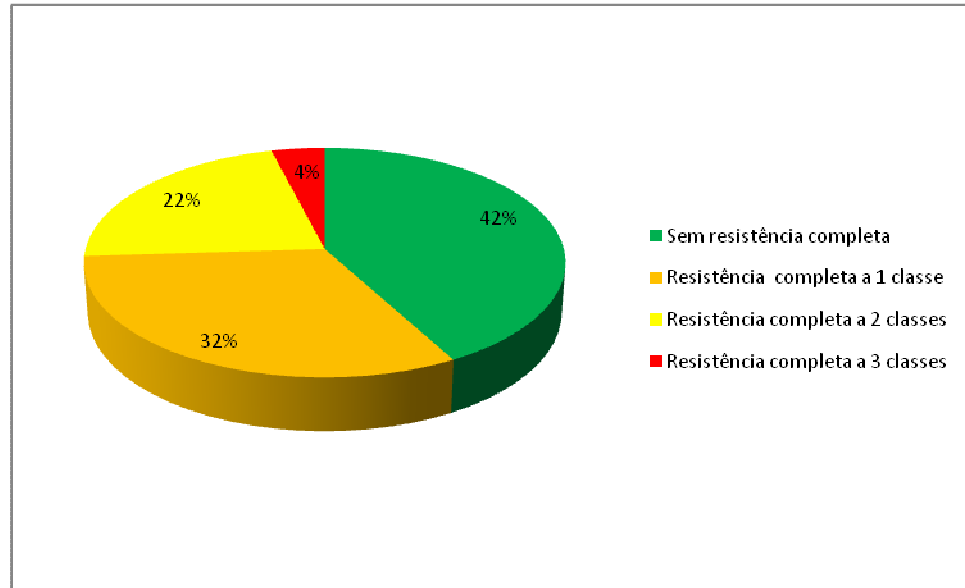
A prevalência de resistência aos antirretrovirais encontrada dentro das classes terapêuticas foi de 92% entre os ITRN, 78% entre os IP e 64% entre os ITRNN 64% e resistência completa à classe foi de 46% aos ITRNN, seguido de 22% aos ITRN e 20% aos IP (gráfico 5).

Resistência viral completa do HIV-1 a uma, duas e a três classes terapêuticas são mostradas no gráfico 6: 32% (16/50) têm perfil de resistência viral completa a uma classe antirretroviral, 22% (11/50) a duas e 4% (2/50) a três classes simultaneamente.



FONTE: URE-DIPE.

**Gráfico 5- Prevalência de resistência do HIV-1 a algum antiretroviral por classe e resistência completa por classe antirretroviral, no estado do Pará, entre 2004 a 2005.**



FONTE: URE-DIPE.

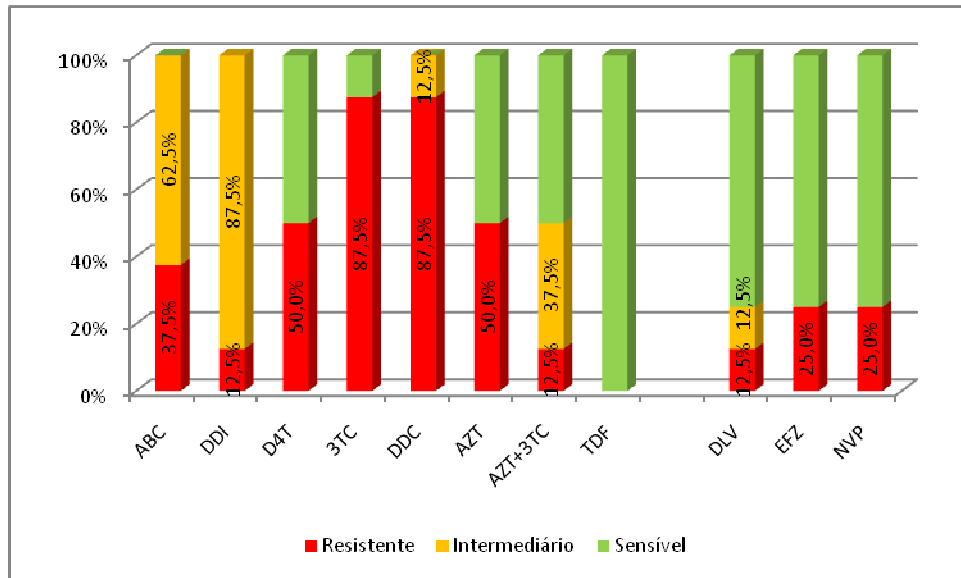
**Gráfico 6- Prevalência de resistência completa do HIV-1 aos antirretrovirais abrangendo uma, duas e três classes terapêuticas, de acordo com o teste de genotipagem, no estado do Pará, entre 2004 e 2005.**

## 6.4.2- Resistência aos antirretrovirais

### 6.4.2.1- Resistência aos antirretrovirais entre os que experimentaram TARV única precedendo a genotipagem

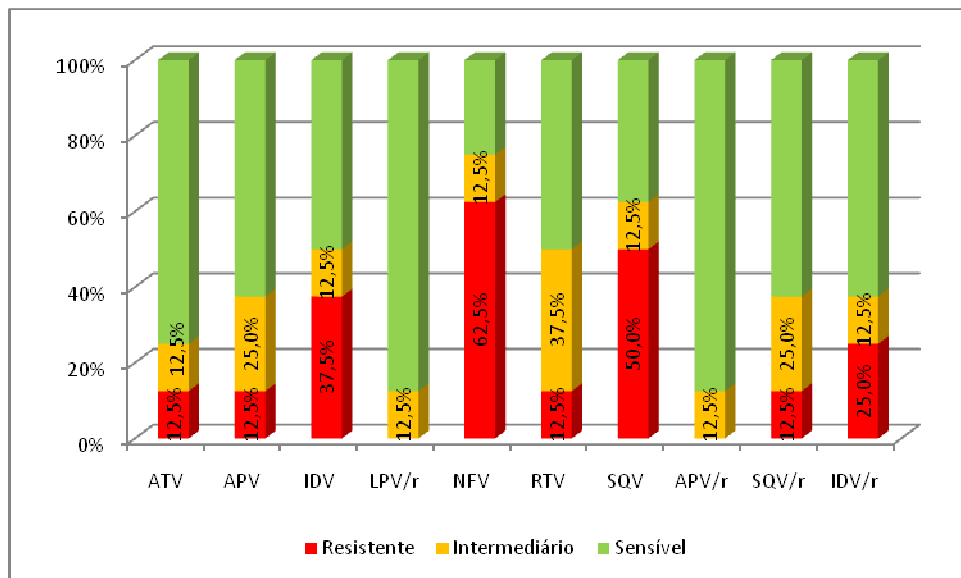
A prevalência de resistência viral com o perfil resistente, encontrada entre os oito pacientes deste grupo, relacionadas aos ITRN foi variável: 3TC e DDC (87,5%), D4T e AZT (50%), ABC (37,5%), DDI e AZT+3TC (12,5%). Apenas ao TDF não foi encontrado qualquer perfil de resistência viral. Quanto aos ITRNN a prevalência de resistência foi de 25% ao EFZ e NVP seguido de 12,5% a DLV (gráfico 7).

Aos IP a frequência do perfil de resistência resistente descrito foi: ao NFV (62,5%), SQV (50%), IDV (37,5%) e IDV/r (25%). ATV, APV, RTV e SQV/r (12,5%) cada. Ao LPV/r e APV/r encontrou-se 12,5% do perfil de resistência perfil intermediário (gráfico 8).



FONTE: URE-DIPE.

Gráfico 7- Prevalência de resistência do HIV-1 aos ITRN e ITRNN, entre os oito pacientes que utilizaram única terapia antirretroviral precedendo o teste de genotipagem, conforme interpretação do algoritmo brasileiro, no estado do Pará, entre 2004 e 2005.

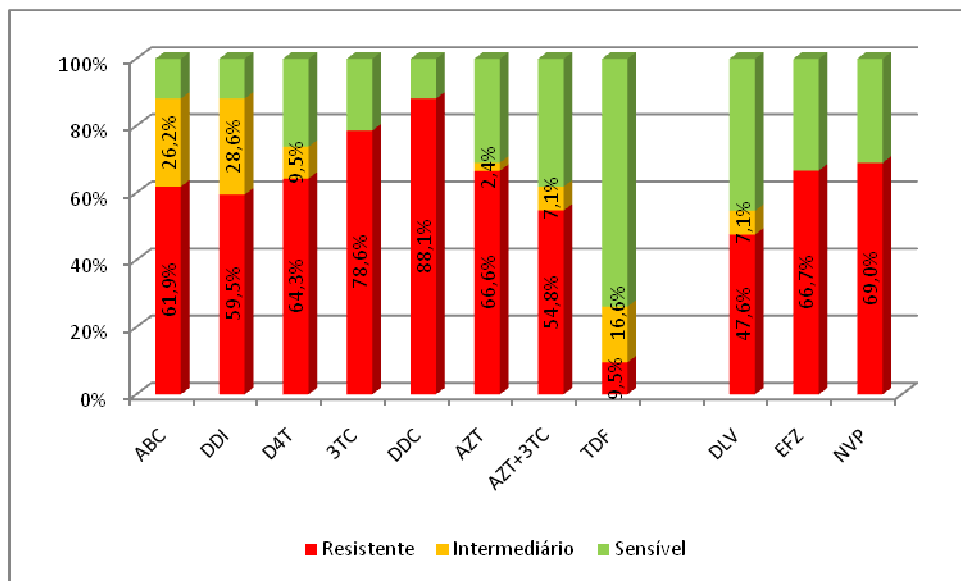


FONTE: URE-DIPE.

Gráfico 8- Prevalência de resistência do HIV-1 aos IP, entre os oito pacientes que utilizaram única terapia antirretroviral precedendo o teste de genotipagem, conforme interpretação do algoritmo brasileiro, no estado do Pará, entre 2004 e 2005.

### 6.4.2.2- Resistência aos antirretrovirais entre os que experimentaram mais de uma TARV precedendo a genotipagem

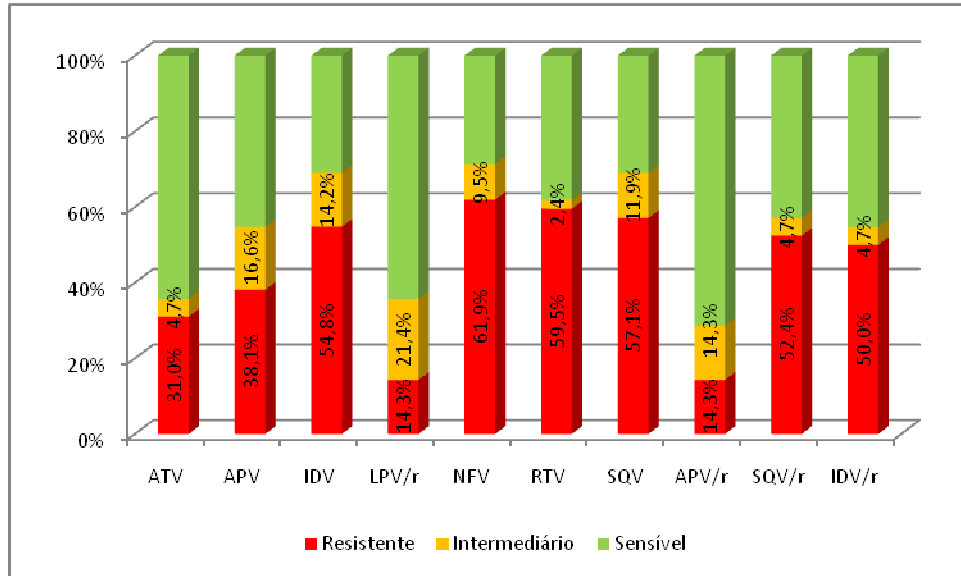
Entre os quarenta e dois pacientes deste grupo encontrou-se aos ITRN a seguinte prevalência de resistência: DDC (88,1%), 3TC (78,6%), AZT (66,6%), D4T (64,3%), ABC (61,9%), DDI (59,5%), AZT+3TC (54,8%) e TDF (9,5%). Quanto aos ITRNN a prevalência de resistência encontrada foi de 69% a NVP, 66,7% ao EFZ e 47,6% a DLV (gráfico 9).



FONTE: URE-DIPE.

Gráfico 9- Prevalência de resistência do HIV-1 aos ITRN e ITRNN, entre os quarenta e dois pacientes que utilizaram mais de uma terapia antirretroviral precedendo o teste de genotipagem, conforme interpretação do algoritmo brasileiro, no estado do Pará, entre 2004 e 2005.

No gráfico 10 é mostrado a prevalência de resistência aos IP: NFV (61,9%), RTV (59,5%), SQV (57,1%), IDV (54,8%), SQV/r (52,4%), IDV/r (50%), APV (38,1%), ATV (31%), LPV/r e APV/r (14,3%) cada.



**FONTE: URE-DIPE.**

**Gráfico 10- Prevalência de resistência do HIV-1 aos IP, entre os quarenta e dois pacientes que utilizaram mais de uma terapia antirretroviral precedendo o teste de genotipagem, conforme interpretação do algoritmo brasileiro, no estado do Pará, entre 2004 e 2005.**



## 7. DISCUSSÃO

### 7.1- Dados Gerais

Embora Durant et al, (1999) e Baxter et al., (2000) já tenham mostrado benefícios na substituição de TARV orientada por genotipagem, a Rede Nacional de Genotipagem foi implantada no Brasil somente no final de 2001 (BRASIL, 2010b). Justificou-se sua implantação para investigar mutações de resistência no genoma viral do HIV-1, em pacientes com falha terapêutica atendidos na rede pública de saúde, visando auxiliar a terapia de resgate. O estado do Pará foi beneficiado com o teste de genotipagem apenas a partir do final de 2003, com os primeiros resultados no início de 2004, quando o teste tornou-se disponível no monitoramento clínico e cuidado destes pacientes, na cidade de Belém do Pará.

A amostragem aqui apresentada poderia ser mais representativa, entretanto, o RNA viral foi amplificado pela PCR, com sucesso, em apenas 55,9% das amostras coletadas no laboratório de referência em genotipagem. A técnica de PCR teoricamente teria uma eficiência de amplificação correspondente a 100%, mas, na prática esta ocorre em torno de 78% a 97% dependendo basicamente da sequência de DNA a ser amplificada e dos *primers* utilizados (BRASIL, 2002). Esta limitação técnica, e a possibilidade de ocorrência de cepas virais minoritárias resistentes às drogas antirretrovirais (USA, 2006), nas amostras estudadas, muito provavelmente, contribuíram para este baixo percentual de amplificação.

A população estudada é cronicamente infectada, tem elevada replicação viral, é imunologicamente comprometida e houve importante exposição a TARV (tabela 5). De acordo com Richman et al., (2004) há maior prevalência de resistência em expostos a TARV, em doença avançada pelo HIV e quando há elevada carga viral e baixa contagem de linfócitos TCD4+. Paralelamente, disseminação de cepas resistentes fica mais provável de ocorrer se não adotadas medidas preventivas (KOZAL et al., 2004; KOZAL et al., 2005).

Não há dados disponíveis, no estado do Pará, que permitam estimar a proporção de homens e mulheres utilizando terapia antirretroviral, dificultando a discussão acerca da proporção de resistência viral a TARV elevada no sexo

masculino observada neste estudo, assim como a maior prevalência na faixa etária, entre 30 a 59 anos no sexo masculino.

Setenta e dois por cento dos pacientes do estudo reside na cidade de Belém, que concentra três serviços especializados no atendimento de HIV/sida: CASA-DIA, URE-DIPE e HUIBB, o que favoreceu a maior prevalência encontrada. Entretanto, considerável percentual (28%) mora no interior do Pará, em municípios distantes da capital como Acará, Augusto Corrêa, Bragança e Marabá, concordando com a tendência epidemiológica nos últimos anos de interiorização da doença (<http://www.aid.gov.br>).

## **7.2- Perfil de uso da terapia antirretroviral**

Até março de 2010 aproximadamente 200.000 brasileiros receberam TARV e 25.000 iniciaram seu tratamento ainda em 2009 (HALLAL et al., 2010). O benefício, contudo pode ser limitado quando não há supressão viral completa, proporcionando a emergência de variantes virais resistentes, o que possibilitará dano imunológico com repercussão clínica subsequente e até óbito de acordo com Zicarelli et al. (2005).

O fato de a população estudada ter apresentado um tempo médio de infecção pelo HIV de 78,6 meses, provavelmente, contribuiu para a exposição dos pacientes a múltiplos ARV sequencialmente, em combinações com duas ou três drogas, até que uma combinação com três ARV fosse orientada. Os esquemas não supressivos possibilitaram a emergência de mutações de resistência descritas na pesquisa. De acordo com Lucas et al. (2004), o uso prolongado de TARV com supressão viral incompleta tem forte associação com resistência aos ARV.

Monoterapia ou terapia dupla assim como a utilização de IP sem ritonavir atualmente é considerado terapia subótima. Trinta e quatro por cento dos pacientes foram expostos à terapia dupla em algum momento e importante percentual da população estudada, 88% utilizou IP sem ritonavir. Contudo, na época não havia recomendações consensuais no Brasil a cerca desta modalidade e associação terapêutica (tabela 3).

Machado et al. (2004), ao estudar população pediátrica que utilizou terapia dupla e tripla mostrou a importância da terapia tríplice na melhor supressão

viral. Nossos resultados mostram 8% e 34%, respectivamente, de exposição a monoterapia e a terapia com apenas duas drogas, consideradas atualmente subótimas por não haver supressão viral completa com carga viral a limites inferiores de 50 cópias/ml (tabela 3).

As mutações na protease podem ser minimizadas com disponibilidade aumentada dos IP a partir da combinação reforçada com pequenas doses de ritonavir, a exceção do nelfinavir. O ritonavir tem a propriedade de inibir o sistema enzimático de metabolização das drogas, citocromo p450, o que leva a diminuição de metabolização dos outros IP concomitantes à dose de reforço do RTV. Como consequência há maior disponibilidade sérica dos IP e amplia-se a barreira genética dos mesmos (MUGAVERO and HICKS, 2004; TEMESGEN et al., 2006).

Até o início de 2004, as substituições dos esquemas terapêuticos no estado do Pará, ao ser constatado a falha terapêutica, realizavam-se sem base no teste de resistência. Esta situação associada ao elevado tempo de infecção pelo HIV, e consequente prolongado tempo de utilização de TARV pelos pacientes, pode ter prejudicado a melhor escolha da terapia de resgate, levando a vários tratamentos experimentados que chegaram até sete nesta população (gráfico 1).

Apenas 16% da população estudada utilizava pela primeira vez TARV previamente à genotipagem (gráfico 1). Não se pode afirmar ou estratificar os fatores que levaram à utilização de múltiplos esquemas. Os dados são limitados, mas é possível que o critério clínico (infecções oportunistas); o conhecimento da dinâmica de replicação viral adquirido ao longo dos anos, em que as terapias deixaram de ser mono ou dupla de acordo com POMERANTZ and HORN (2003); a falta de adesão e a falha virológica evidenciada por quantificação viral crescente ou persistente, assim como queda de linfócitos T-CD4, tenham contribuído para tantas modificações terapêuticas.

A lamivudina, os análogos da timidina e a didanosina foram os ITRN mais utilizados na população de estudo. O ITRNN EFZ (42%) e o IP IDV (60%) destacaram-se como os mais experimentados (tabela 4). Justifica-se esta utilização, de acordo com o licenciamento pelo FDA destas drogas: AZT (em 1987) seguindo-se DDI (1991), D4T (1994) e lamivudina em 1995 (FAUCI, 2003). A lamivudina provavelmente por induzir menos eventos adversos quando comparada ao DDI e D4T, passou amplamente a ser utilizada em associação com o AZT. Quanto aos IP muito embora a HAART tenha sido introduzida em 1995 com o saquinavir, talvez sua

baixa disponibilidade justifique o maior uso do IDV introduzido alguns meses depois do SQV. Nevirapina foi licenciada em 1996 e o EFZ em 1998 (FAUCI, 2003; POMERANTZ and HORN, 2003) e é provável que o maior uso do EFZ em nossa população tenha decorrido de comodidade posológica.

Ao longo do uso de múltiplas TARV, contagens de CD4 baixas e que no geral tenderam a diminuir, mas com manutenção de carga viral em torno de  $5 \log_{10}$ , foram observadas (tabela 5). Talvez a capacidade replicativa baixa atribuída a mutações que conferem um baixo *fitness* viral como a induzida pelo 3TC de acordo com Campbell et al., 2005 e provavelmente as induzidas pelos IP justifiquem esses níveis de quantificação viral.

### 7.3- Prevalência de mutações de resistência

Justifica-se as maiores prevalências das substituições na TR relacionadas aos ITRN L214F (86%) , M184V (76%) , R211K (48%) e todas as TAM (gráfico 2) pela pressão seletiva do AZT, D4T e 3TC amplamente utilizados (tabelas 4 e 5). De acordo com Shafer (2002), as substituições L214F e R211K são implicadas em resistência viral à associação AZT/3TC, quando integradas a mutações nos códons 41, 184 ou 215, as quais, no presente estudo, foram encontradas com alta prevalência de 32%, 76% e 56%, respectivamente.

Brindeiro et al. (2002), descreveram em crianças infectadas verticalmente pelo HIV e em falha terapêutica, a substituição M184V em maior prevalência (84,6%) abrangendo subtipos B e não-B do HIV-1, seguida da R211K em 49% e 85% entre os subtipos B e não-B respectivamente. No mesmo estudo, a L214F contribuiu para 20,5 e 7,7% dos casos, respectivamente aos subtipos investigados.

Couto-Fernandez et al. (2005), também observaram que a substituição M184V foi a mais prevalente (67,7%), seguida da T215Y/F (65,1%), em estudo realizado na cidade do Rio de Janeiro abrangendo pacientes em falência a TARV, não havendo diferenças quanto aos subtipos B ou não-B.

É bem claro de acordo com MUGAVERO and HICKS 2004, que o bloqueio da dinâmica de replicação viral não pode ser atingido, com sucesso, sem a combinação de drogas que atuem em diferentes etapas do ciclo replicativo do HIV-1. A monoterapia com o AZT (8%) ou terapia dupla contendo, geralmente, um análogo timidínico 34%, aliados aos sucessivos esquemas, nos quais o AZT foi mantido,

predispôs muito provavelmente a substituições no códon 215, T215Y ou T215F, advindo *quasiespecies* resistentes ao respectivo análogo de nucleosídeo. Por outro lado, com a elevada exposição ao 3TC, emergiu em alta prevalência a M184V, o bastante para se expressar a importância da L214F e R211K (tabela 6).

Para Wainberg (2006), os códons de multiresistência relacionados aos ITRN: Q151M e 69INS, surgem menos frequentemente em relação a substituição K103N que confere resistência aos ARV da classe ITRNN de primeira geração. O resultado deste estudo está de acordo com o referido autor, pois houve uma baixa prevalência da Q151M e 69INS, contrastando com uma elevada prevalência da K103N (tabela 6).

A terapia dupla combinando DDI com AZT ou D4T, segundo Shafer (2002), proporciona a emergência da Q151M. De acordo com este autor e Turner et al. (2004), o complexo Q151M tem baixa prevalência (menor que 5%), mas proporciona níveis variáveis de resistência viral aos ITRN, a depender da presença de mutações que se incluem no complexo conhecidas pelas substituições A62V, V75I, F77L e F116Y. Baixo nível de resistência ao 3TC e TDF é conferido por este complexo segundo (SHAFER, 2002) e não há resistência viral ao TDF de acordo com (TURNER et al., 2004).

A prevalência da 69INS 4%, em nosso estudo, foi superior à estimativa relatada em literatura. De acordo com SHAFER (2002), inserções no códon 69 ocorrem em aproximadamente 2% de pacientes expostos aos ITRN, proporcionando elevada resistência viral a estes ARV quando associadas às substituições T215Y/F ou outras que conferem resistência ao AZT. Turner et al. (2004), relataram que 69INS proporciona resistência viral, inclusive ao TDF, existindo também alto nível de resistência, quando associado, com as TAM.

O 3TC é ITRN com baixa barreira genética o que possibilita a rápida emergência da M184V, substituição de resistência à droga e resistência cruzada ao DDC. Paradoxalmente, esta aumenta a susceptibilidade viral ao TDF, revertendo totalmente a resistência viral a este análogo de nucleotídeo mesmo na presença da Q151M e K65R, única substituição *in vitro* relacionada ao TDF, mas que pode ser selecionada pelo DDC, ABC e DDI (TURNER et al., 2004).

As TAM podem proporcionar resistência viral a quase todos os análogos de nucleosídeos, incluindo o análogo nucleotídeo TDF. Elas surgem gradualmente, de forma variada, mediante a pressão seletiva dos análogos da timidina e podem

representar multiresistência aos ITRN. Quando presente, porém, a substituição M184V associada as TAM esta proporciona reversão parcial da susceptibilidade do HIV aos análogos AZT, D4T e TDF (USA, 2006). Em algum momento da terapêutica instituída, a população estudada experimentou, em 84% (AZT) e em 70% (D4T) como observado na tabela 4, ocorrendo uma proporção variada das TAM, entre 20 a 58% (gráfico 2).

Hirsh et al. (2003), atribuíram às drogas ARV algum grau de resistência viral em comum, ocorrendo um grande impacto negativo de resistência viral à classe ITRNN com apenas uma mutação. A substituição K103N, prevalente em 42% desta pesquisa, conferiu elevada resistência viral aos ITRNN, mas outras substituições como a Y181C, a G190A, a L100I e a P225H, também contribuíram para o perfil de resistência encontrado na classe (tabela 6). Felizmente o ITRNN etravirina quebrou este paradigma em 2008, sendo necessárias combinações de mutações para que resistência ocorra (BRASIL, 2010a).

Pacientes experimentados com NVP e que abrigam variantes virais com a substituição Y181C/I, tendem a não ter sucesso terapêutico com o EFZ. Moderada susceptibilidade viral a DLV pode ser proporcionada pela G190A e P225H, quando na utilização do EFZ, mesmo na emergência da K103N (WAINBERG, 2003).

De acordo com Shafer (2002) e Spira et al. (2003), a substituição K103N confere resistência aos ITRNN, mas quando surge associada a G190A, selecionada pelo EFZ ou NVP, torna a delavirdina susceptível *in vitro*.

Mutações primárias selecionadas por diferentes IP podem ser distintas, contudo, as secundárias tendem a ser comuns a estas drogas podendo limitar a utilização de IP subsequentemente (MO et al., 2005). A resistência viral aos IP tem relação com o acúmulo de substituições nos aminoácidos da PR, sendo considerados os IP drogas de elevada barreira genética. Os resultados deste estudo mostram que as substituições acessórias no gene da protease tiveram prevalência expressiva em relação às principais (gráfico 4).

Os IP IDV, NFV, LPV/r e RTV foram os mais utilizados pelos pacientes do estudo (tabela 4) e a exceção do LPV/r, de maior barreira genética neste grupo, os demais selecionam mutações principais nos códons 82, 84 e 90 estas com prevalência elevada em nosso estudo (gráfico 4), assim como a mutação 63P (74%) a mais prevalente dentre as acessórias.

Segundo Perno et al. (2004), frequentemente as mutações acessórias estão presentes como polimorfismos comuns na PR do HIV, em pacientes virgens de tratamento com IP. A substituição L90M, ao contrário da substituição D30N, proporciona um elevado *fitness* viral, principalmente quando associada a L63P. Diante disto, os achados de nossa pesquisa estão de acordo com o descrito pelo autor.

Em pacientes experimentando múltiplas falhas virológicas com IP, a emergência de mutações principais como a L90M é favorecida, sendo encontrada em cerca de 40% a 50% destes pacientes (PERNO et al., 2004).

A prevalência encontrada em nosso estudo da L90M de 32%, foi próxima a encontrada por Couto-Fernandez et al. (2005), 29,6%. Ela emerge em pacientes com exposição ao SQV, NFV, IDV e RTV, mas especialmente em relação ao SQV, sendo implicada na resistência cruzada observada a maioria dos IP disponíveis para uso clínico. A D30N é substituição que ocorre única e exclusivamente pelo NFV não proporcionando resistência cruzada a outros IP (SHAFER, 2002; SHAFER and SCHAPIRO, 2008).

A substituição M46I/L, a mais prevalente em nosso estudo dentre as principais (38%) impacta em redução de susceptibilidade ao FPV/r, IDV/r e NFV (SHAFER and SCHAPIRO, 2008).

A substituição V82A ocorre por pressão seletiva do IDV e RTV, podendo ocorrer decréscimo de suscetibilidade ao LPV/r. A I84V é descrita em pacientes com exposição ao IDV, RTV, SQV e APV, com tendência de emergir naqueles pacientes, nos quais já foi selecionada a L90M. (SHAFER, 2002; SHAFER and SCHAPIRO, 2008).

É observado nas tabelas 7 e 8 que os pacientes que utilizaram mais de uma TARV apresentaram as maiores prevalências de mutações na TR relacionadas aos ITRN e ITRNN. Destacou-se todas as TAM, assim como a 151M e 69INS, estas últimas descritas apenas neste grupo, e que proporcionam multiresistência aos ITRN. A 103N, foi prevalente nos dois grupos justificada pela baixa barreira genética, assim como a 184V. Já as mutações na PR como observado na tabela 9 entre os grupos não mostra uma prevalência díspare entre os grupos, sendo contudo prevalente nos dois grupos. Para Napravnik et al. (2005), há uma tendência na aquisição de mutações conforme exposição aos ARV.

## **7.4- Perfil de resistência aos antirretrovirais**

### **7.4.1- Resistência às classes antirretrovirais**

De acordo com Napravnik et al. (2005), a probabilidade de aquisição de mutações associadas aos ARV, em um período de dezoito meses é de 60%, estimando-se em 37% para os ITRN, 46% aos ITRNN e 40% aos IP.

Houve elevada prevalência de resistência viral abrangendo as três classes: ITRN, ITRNN e IP no presente estudo (gráficos 5 e 6), superiores aos descritos em literatura. Provavelmente, a exposição maior dentre os ITRN aos análogos da timidina e à lamivudina (tabela 4 e 5) a baixa barreira genética aos ITRNN de primeira geração utilizados pela população e a elevada percentagem de uso de IP sem ritonavir 88% (tabela 3) contribuíram para a alta prevalência de resistência a estas classes e também para a prevalência de resistência completa as mesmas.

Zacarelli et al. (2005), ao analisarem o efeito da resistência viral ampla, entre os ITRN, ITRNN e IP, na sobrevivência de pacientes infectados pelo HIV que estavam em falha terapêutica, verificaram que a progressão aumentada de resistência a múltiplas classes foi significativamente associada com elevado risco de doenças e morte relacionada à sida.

A uma e duas classes terapêuticas, percentuais significativos de resistência viral foram encontrados em nosso estudo 32% e 22%, respectivamente. Isto infelizmente limitará esquemas alternativos, o que ocorreu provavelmente com a população estudada, pois drogas para bloquear eficientemente a replicação viral, com melhor barreira genética como o IP darunavir/ritonavir e o ITRNN de segunda geração etravirina, ARV de outras classes como o inibidor de integrase raltegravir e o de fusão enfuvirtida, no período do estudo não estavam ainda disponíveis no Brasil (BRASIL, 2008; BRASIL, 2009; BRASIL, 2010).

Nos Estados Unidos, a estimativa de prevalência de resistência do HIV nos primeiros três anos de utilização de TARV em, 1999, foi de 78%, ocorrendo em 70% para os ITRN, 42% aos IP e 31% aos ITRNN (HIRSCH et al., 2003).

Tamalet et al. (2003), em estudo coorte europeu, no período de 1997 a 2002, ao analisarem 4.087 pacientes em diversas terapias antirretrovirais que



incluiram terapia com uma, duas e três drogas, encontraram resistência viral a pelo menos um ITRN em 78,3% do grupo, a algum IP em 47,0% e a pelo menos um ITRNN 38,9%.

Deeks et al. (2002), objetivando estudar as consequências imunológicas de continuidade da TARV com IP, apesar da falha virológica e risco de contínua evolução viral para a resistência, verificaram que os pacientes que permaneciam em falência de TARV com IP, tiveram uma resposta de contagem de CD4 melhor e mais duradoura do que aqueles que descontinuaram seus tratamentos, independentemente do nível de replicação viral. Contudo, com uma média de três anos do início da falência virológica se estabeleceu a falência imunológica.

#### **7.4.2- Resistência aos antirretrovirais**

O perfil de resistência resistente aos inibidores de transcriptase reversa nucleosídeos e não nucleosídeos, no grupo que utilizou TARV única e no grupo que utilizou mais de uma TARV precedendo a genotipagem foi variável, mas no geral o resultado indicou menor sensibilidade aos ARV destas classes no segundo grupo, no qual acima ou em torno de 60% de prevalência de resistência foi encontrado, exceção ao TDF. Ao considerarmos o perfil intermediário de resistência esta resistência pode ser ampliada a 50% na associação AZT+3TC ainda na primeiro esquema ARV e a 61,9% no segundo grupo (gráficos 7 e 9).

Os percentuais de resistência aos ITRNN são consideravelmente maiores entre os pacientes que utilizaram mais de 1TARV quando comparados aqueles que utilizaram sua primeira TARV (gráficos 7 e 9).

Quanto aos IP: NFV, SQV e IDV apresentam as maiores prevalências do perfil de resistência resistente e ao ser considerado o perfil intermediário alcançam até 75% de resistência também ainda no primeiro tratamento ARV. Esta resistência se estendeu a todos os IP quando mais de uma TARV foi utilizada, embora com menor prevalência aos IP de melhor barreira genética LPV/r e APV/r (gráficos 8 e 10).

É preocupante a alta prevalência de resistência para a associação AZT+3TC, já na primeira TARV e provavelmente isto ocorreu por pressão seletiva da lamivudina e dos análogos de timidina muito utilizados até o exame. Alternativas

dentro da classe podem ficar restritas, mas de acordo com Deeks et al. (2005), o efeito residual do 3TC, ao manter a M184V, diminui o *fitness viral* e até torna possível a utilização do TDF+3TC, observando-se contudo que o 3TC não é mais uma droga ativa. Em relação ao TDF, naqueles que experimentaram TARV única este se manteve sensível em 100%, sendo possível este compor um novo esquema como droga ativa.

Por ter uma baixa barreira genética, em um curto período de tempo, de duas a quatro semanas, aos ITRNN pode ser observado resistência viral, que tem pouco impacto na diminuição da capacidade replicativa viral. (DEEKS et al., 2002).

O NFV, SQV, IDV e RTV foram os mais utilizados entre os pacientes do estudo, devido sua disponibilidade na época. Estes não são na atualidade os IP que os consensos de terapia antirretroviral no mundo adotam para início de tratamento. Também é consensual que os IP de melhor barreira genética são os reforçados com doses pequenas de RTV, o que ocorreu em cerca 44% dos pacientes (tabela 3).

Os IP acima descritos foram os primeiros da classe a serem utilizados na prática clínica em 1995 e 1996. Apresentam códons de resistência principal, comuns a outros IP, e estes ao associarem-se com outras mutações, geralmente acessórias e pré-existentes a TARV, contribuem para resistência. (SHAFER, 2002). São drogas geralmente sem comodidade posológica, devido ao número de comprimidos ou cápsulas ao dia e interferem nos hábitos alimentares do paciente. Assim o IDV, muito utilizado neste estudo, precisa ser ingerido distante dos alimentos além de exigir uma ingestão hídrica abundante. Estes fatores não favorecem adesão a TARV e podem proporcionar terapia supressiva subótima, com consequente emergência de resistência viral a estes IP o que pode justificar nossos achados.

Para Paredes et al. (2006), o NFV tem baixa barreira genética, bastando apenas uma substituição a D30N ou a L90M para que sua eficácia seja comprometida, contudo a primeira preserva os demais IP, enquanto que a L90M proporciona resistência cruzada às drogas da classe.

O LPV/r, IP co-formulado com ritonavir licenciado pelo FDA em 2000 era o IP e o ARV de melhor barreira genética até então, felizmente a partir de 2003 outros ARV como a enfuvirtida e fosamprenavir (2003), darunavir (2006), raltegravir e maraviroque (2007) e etravirina (2008) foram também licenciados para uso e disponibilizados pouco depois pelo Ministério da Saúde do Brasil (BRASIL, 2008; BRASIL, 2009; BRASIL, 2010). Diante destes novos fármacos, é possível uma nova

estruturação de tratamento aos pacientes infectados de longa data pelo HIV, com exposição ampla aos ARV e com perfil de resistência a ITRN, ITRNN e IP.

## 8. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo possibilitou obter as seguintes conclusões e considerações:

1. A população estudada é cronicamente infectada pelo HIV.
2. Imunovirologicamente os pacientes por ocasião da genotipagem tinham uma média baixa de contagem de linfócitos TCD4<sup>+</sup> (156 células) contra elevada carga viral em média de 4,9738log<sub>10</sub>.
3. A maior prevalência de resistência antirretroviral ocorreu no sexo masculino e na faixa etária de 30-49 anos, o que compromete atividades produtivas de sustento e vida sexual ativa. Mas, o extremo de idade no limite superior é compatível com a cronicidade da doença, diante da disponibilidade de terapia antirretroviral.
4. A maior concentração de pacientes na cidade de Belém com perfil de resistência é atribuída a três SAE na capital ao monitoramento destes pacientes. Não é, contudo desprezível no interior do estado o número de casos e esta prevalência pode ser compatível com a questão de interiorização da AIDS.
5. Quanto ao perfil de utilização de antirretrovirais previamente a genotipagem, provavelmente tiveram impacto na seleção de mutações de resistência encontradas: 1º As modalidades terapêuticas utilizadas: monoterapia, terapia dupla e esquemas com IP sem reforço do ritonavir. 2º Alguns ARV de baixa barreira genética: 3TC, EFZ e NVP; e ARV que induziram multirresistência dentro da classe como os análogos da timidina AZT e D4T. 3º A utilização dos primeiros IP (SQV, IDV, RTV e NFV) em relação aos atuais têm menor barreira genética e não têm comodidade posológica dificultando adesão dos pacientes que, contudo não foi avaliada no estudo.
6. As mutações encontradas na TR relacionadas aos ITRN e ITRNN, foram compatíveis com a pressão seletiva dos inibidores de transcriptase reversa mais utilizados pelos pacientes: 3TC, AZT, D4T, DDI e EFZ. Quanto aos IP, a exceção do LPV/r, os achados também foram compatíveis com a pressão seletiva exercida pelo IDV, NFV, RTV e SQV.
7. Elevada prevalência de resistência a algum antirretroviral entre as classes e resistência completa por classe superou o descrito em literatura. Fato lamentável, pois no período de realização da pesquisa (2004-2005), não havia

disponibilidade de ARV ativos que pudessem compor uma nova TARV efetiva na supressão viral do HIV.

8. Finalmente, observa-se que pacientes expostos a única TARV previamente à genotipagem comparados aos expostos a mais de uma TARV, apresentaram menor prevalência de resistência aos antirretrovirais, com possibilidade de resgate terapêutico com ARV disponíveis na época, que entretanto, foi a minoria.

Terapia antirretroviral supressiva levando a níveis indetectáveis de carga viral, inferiores a 50 cópias/ml, e sustentada por longo período, é o que se deseja no monitoramento clínico laboratorial dos pacientes portadores de HIV/sida. A população estudada foi pequena e muito diversificada em relação ao número de terapias e esquemas terapêuticos utilizados até a realização da genotipagem constituindo fator importante na limitação da pesquisa.

## REFERÊNCIAS

- BAILEY, J. et al. Mechanisms of HIV-1 escape from immune responses and antiretroviral drugs. **Current Opinion in Immunology**. v.16, p.470-476, 2004.
- BAXTER, J.D. et al. A randomized study of antiretroviral management based on plasma genotypic antiretroviral resistance testing in patients failing therapy. **AIDS**, v.14, n.9, p.F83-F93, 2000.
- BOUCHER, C.A.B. HIV drug resistance tests are here to stay. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v.12, n.1, p.27-32, fev. 1999.
- BRASIL, Ministério da saúde. Secretaria de políticas de saúde. Coordenação Nacional de DST e AIDS. **Manual de genotipagem de HIV**. São Paulo, 2002.
- BRASIL, Ministério da Saúde. **Recomendações para terapia anti-retroviral em adultos e adolescentes infectados pelo HIV 2000**. Disponível em <<http://www.aids.gov.br/data/Pages/LUMISBD82883FPTBRIE.htm>> Acesso em 24 nov. 2006.
- BRASIL, Ministério da Saúde. **Recomendações para terapia antirretroviral em adultos infectados pelo HIV 2008**. Disponível em [www.aids.gov.br](http://www.aids.gov.br). 2008.
- BRASIL, Ministério da Saúde. **Recomendações para terapia antirretroviral em adultos infectados pelo HIV 2008**. Suplemento I - Manejo de Falha Terapêutica: Novos Critérios de Indicação do Darunavir, Raltegravir e Enfuvirtida. Disponível em [www.aids.gov.br](http://www.aids.gov.br). 2009.
- BRASIL, Ministério da Saúde. **Recomendações para terapia antirretroviral em adultos infectados pelo HIV 2008**. Suplemento IV - Manejo de Falha Terapêutica: Critérios de Indicação de Etravirina para Pacientes Experimentados em Terapia Antirretroviral. Disponível em [www.aids.gov.br](http://www.aids.gov.br). 2010a.
- BRASIL, Ministério da Saúde. **RENAGENO**. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/pagina/rede-nacional-de-laboratorios-de-genotipagem>> Acesso em 15 dezembro, 2010b.
- BRENDAN, L. Mechanisms of HIV-1 drug resistance. **AIDS**, v.15, n.5, p.S27 -S34, 2001.
- BRINDEIRO, P. A. et al. Testing genotypic and phenotypic resistance in human immunodeficiency virus type 1 isolates of clade B and other clades from children failing antiretroviral therapy. **Journal of Clinical Microbiology**, v.40, p.4512-4519, 2002.
- BRINDEIRO, R.M. et al. Brazilian network for HIV drug resistance surveillance (HIV-BResNet): a survey of chronically infected individuals. **AIDS**, v.17, n.7, p.1063-1069, 2003.
- BRUN, V.F. et al. A randomised double-blind controlled trial comparing combinations of zidovudine plus didanosine or zalcitabine with zidovudine alone in HIV-infected individuals. **The Lancet**, v.348, p.283-291, 1996.
- CAMPBELL, B. T. et al. Antiviral activity of lamivudine in salvage therapy for multidrug-resistant HIV-1 infection. **Clinical Infectious Diseases**. v.41, p.236-242, jul.2005.

CHINEN, J.; SHEARER, W.T. Molecular virology and immunology of HIV infection. **Journal Allergy Clinical Immunology**, v.110, n.2, p.189-198, aug. 2002.

CHOW, Y.K. et al. Use of evolutionary limitations of HIV-1 multidrug resistance to optimize therapy. **Nature**, v.361, p.650-654, fev.1993.

CLAVEL, F.; HANCE, A. J. HIV drug resistance. **The New England Journal of Medicine**, v.350, n.10, p.1023-1035, mar. 2004.

CLEGHORN, F.R. et al. Human immunodeficiency viruses: In BENNETT, J.E.; DOUGLAS, R.G.; MANDELL, G.L. **Principles and Practice of Infectious Diseases**. 6. ed. United States of America: Elsevier; Churchill Livingstone, 2005. cap. 166. p.2119-2133.

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

CONDRA, J.H.; EMINI, E.A. Preventing HIV-1 Drug Resistance. **Science & Medicine**. v.4, n.1, p.14-23, 1997.

COUTO-FERNANDEZ, J.C. et al. Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) genotyping in Rio de Janeiro, Brasil: assessing subtype and drug-resistance associated mutations in HIV-1 infected individuals failing highly avctive antiretroviral therapy. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v.100, n.1, p.73-78, fev., 2005.

DEEKS, S.G. et al. Duration and predicors of CD4 T-cell gains in patients who continue combination therapy despite detectable plasma viremia. **AIDS**, v.16, n.2, p. 201-207, 2002.

DEEKS, S.G. et al. Interruption of treatment with individual therapeutic drug classes in adults with multidrug-resistant HIV-1 infection. **The Journal of Infectious Diseases**, v.192, p.1537-1544, nov. 2005.

DESCAMPS, D et al. French national sentinel survey of antiretroviral drug resistance in patients with HIV-1 primary infection and in antiretroviral-naive chronically infected patients in 2001-2002. **Journal Acquired Immune Deficiency Syndrome**, v.38, n.5, p.545-552, abr. 2005.

DURANT, J. et al. Drug-resistance genotyping in HIV-1 therapy : the VIRADAPT randomised controlled trial. **The Lancet**. v.353, p.2195-2199, jun.,1999.

ESTE, J.A.; TELENTI, A. HIV entry inhibitors. **Lancet**, v.370, p.81-88, jul. 2007.

FAUCI, A.S. HIV and AIDS: 20 years of science. **Nature Medicine**, v.9, p.839-843, 2003.

GRANT, R.M. et al. Time trends in primary HIV-1 drug resistance among recently infected persons. **JAMA**, v.288, n.2, p.181-188, jul. 2002.

HALLAL et al. O acesso universal ao tratamento antirretroviral no Brasil. **Revista Tempus Actas em Saúde Coletiva**, v.4, n.2, p. 53-65, 2010. Disponível em [www.tempusactas.unb.br/index.php/tempus](http://www.tempusactas.unb.br/index.php/tempus).

HAMMER, S.M. et al. A trial comparing nucleoside monotherapy with combination therapy in HIV-infected adults with CD4 cell counts from 200 to 500 per cubic millimeter. **The New England Journal of Medicine**, v.335, p.1081-1090, 1996.

HIRSCH, M.S. et al. Antiretroviral drug resistance testing in adults infected with human immunodeficiency virus type 1: 2003 Recommendations of an International AIDS Society-USA Panel. **Clinical Infectious Diseases**, v.37, p.113-128, jul. 2003.

HIRSCH, M.S. et al. Antiretroviral drug resistance testing in adult HIV-1 infection: 2008 Recommendations of an International AIDS Society-USA Panel. **Clinical Infectious Diseases**, v.47, p.266-285, jun. 2008.

JOHNSON, V.A. et al. Update of the drug resistance mutations in HIV-1 : Fall 2005. **Topics HIV Medicine**, v.13, n.4, p.125-131, out/nov. 2005.

JOHNSON, V.A. et al. Update of the drug resistance mutations in HIV-1 : December 2010. **Topics HIV Medicine**, v.18, n.5, p.156-162, dez. 2010.

KILBY, J.M.; ERON, J.J. Novel therapies based on mechanisms of HIV-1 cell entry. **The New England Journal of Medicine**, v.348, p.2228-2238, may. 2003.

KLIMAS, N. et al. Overview of HIV. **Psychosomatic Medicine**, v. 70, p. 523-530, mar. 2008.

KOZAL, M.J. et al. Antiretroviral resistance and high-risk transmission behavior among HIV-positive patients in clinical care. **AIDS**, v.18, n.16, p.2185-2189, 2004.

KOZAL, M.J. et al. HIV drug resistance and HIV transmission risk behaviors among active injection drug users. **Journal Acquired Immune Deficiency Syndrome**, v.40, n.1, p.106-109, set. 2005.

LANDMAN, R. et al. Low genetic barrier to resistance is a possible cause of early virologic failures in once-daily regimen of abacavir, lamivudine and tenofovir: The tonus study. In 11<sup>th</sup> Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, San Francisco, EUA. Abstract n° 52, 2004.

LAZZARI, S. et al. HIV Drug resistance surveillance: Summary of an April 2003 WHO Consultation. **AIDS**, v.18, n.3, p.S49-S53, 2004.

LEVY, J.A. HIV pathogenesis: 25 years of progress and persistent challenges. **AIDS**, v. 23, n. 2, p. 147-160, 2009.

LUCA, A.D.; PERNO, C. F. Impact of different HIV resistance interpretation by distinct systems on clinical utility of resistance testing. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v.16, p.573-580, 2003.

LUCAS, G. M. et al. Relationship between drug resistance and HIV-1 disease progression or death in patients undergoing resistance testing. **AIDS**, v. 18, n.11, p.1539-1548, 2004.

MACHADO, D.M. et al. Analysis of HIV-type 1 protease and reverse transcriptase in Brazilian children failing highly active antiretroviral therapy (HAART). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. v.47, n.1, p.1-5, jan.-fev., 2005.

MACHADO, E.S. et al. Genotypic resistance and HIV-1 subtype in Brazilian children on dual and triple combination therapy. **Journal of Clinical Virology**. v.30, p.24-31, 2004.

MILLER et al. The impact of the M184V substitution in HIV-1 reverse transcriptase on treatment response. **HIV Medicine**. V.3, p. 135-145.,2002.



MEYNARD, J.L. et al. Phenotypic or genotypic resistance testing for choosing antiretroviral therapy after treatment failure: a randomized trial. **AIDS**. v. 16, n.5, p. 727-736, 2002.

MONTES, B. et al. Comparison of drug resistance mutations and their interpretation in patients infected with non-B HIV-1 variants and matched patients infected with HIV-1 subtype B. **Journal Acquired Immune Deficiency Syndrome**. v.35, n.4, p.329-336, abr. 2004.

MO, H. et al. Selection of resistance in protease inhibitor-experienced, human immunodeficiency virus type 1-infected subjects failing lopinavir -and ritonavir- based therapy: Mutation patterns and baseline correlates. **Journal of Virology**. v.79, p.3329-3338, mar. 2005.

MUGAVERO, M.J.; HICKS, C.B. HIV resistance and the effectiveness of combination antiretroviral treatment. **Infectious diseases**. v.1, n.4, p.529-535, 2004.

NAEGER, L.K. et al. Increased drug susceptibility of HIV-1 reverse transcriptase mutants containing M184V and zidovudine-associated mutations: analysis of enzyme processivity, chain-terminator removal and viral replication. **Antiviral Therapy**. V.6, p.115-126, 2001.

NAPRAVNIK, S. et al. HIV-1 Drug resistance evolution among patients on potent combination antiretroviral therapy with detectable viremia. **Journal Acquired Immune Deficiency Syndrome**. v.40, n.1, p.34-40, set. 2005.

NAPRAVINIK, S. et al. Triple-class antirretroviral drug resistance: risk and predictors among HIV-1 infected patients. **AIDS**. v. 21., p. 825-834, 2007.

NIJHUIS, M; DEEKS, S.; BOUCHER, C. Implications of antiretroviral resistance on viral fitness. *Current Opinion in Infectious Diseases*. v.14, p. 23-28, 2001.

O'BRIEN, W.A. Genotyping vs phenotyping: which test when? **Clinical Care Options HIV**. Disponível em: <<http://clinicaloptions.com/HIV/Treatment%20Updates.aspx>> Acesso em 9 set. 2006.

PAREDES, R.; RUIZ, L; CLOTET, B. Implications of protease inhibitor resistance patterns for sequential use of protease inhibitors. **Clinical Care Options HIV**. Disponível em: <<http://clinicaloptions.com/HIV/Treatment%20Updates.aspx>> Acesso em 9 set. 2006.

PERNO, C.F. et al. Minor mutations in HIV protease at baseline and appearance of primary mutation 90M in patients for whom their first protease-inhibitor antiretroviral regimens failed. **The Journal of Infectious Diseases**.v.189, p.1983-1987, jun. 2004.

POMERANTZ, R.J.; HORN, D.L. Twenty years of therapy for HIV-1 infection. **Nature Medicine**. V.9, n.7, jul.2003.

RICHMAN, D.D. et al. The prevalence of antiretroviral drug resistance in the United States. **AIDS**. v.18, n.10, p.1393-1401, 2004.

ROSS, L. et al. Phenotypic impact of HIV reverse transcriptase M184I/V mutations in combination with single thymidine analog mutations on nucleoside reverse transcriptase inhibitor resistance. **AIDS**. v.18, p.1691-1696, 2004.

SHAFER, R.W. Genotypic testing for human immunodeficiency virus Type 1 drug resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, v.15, n.2, p.247-277, abr. 2002.

SHAFER, R.W.; SCHAPIRO, J.M. HIV-1 Drug Resistance Mutations: an Updated Framework for the Second Decade of HAART. **AIDS Reviews**. v. 10, p. 67-84, 2008.

SIMON, V.; HO, D.D. HIV-1 Dynamics in vivo: implications for therapy. **Nature reviews Microbiology**. v.1, p.181-190, dez.2003.

SIMON, V.; HO, D.D.; KARIM, Q.A. HIV/AIDS epidemiology, pathogenesis, prevention, and treatment. **The Lancet**. v.368, p.489-504, ag. 2006.

SMITH, D.M.; RICHMAN, D.D.; LITTLE, S.J. HIV Superinfection. **The journal of Infectious Diseases**, v.192, p.438-444, ag. 2005.

SOARES, E.A.J.M. et al. Epidemiologic and molecular characterization of human immunodeficiency virus Type 1 in Southern Brazil. **Journal Acquired Immune Deficiency Syndrome**, v.34, n.5, p520-526, dez. 2003.

SOARES, M.A. et al. A specific subtype C of human immunodeficiency virus type 1 circulates in Brazil. **AIDS**, v.17, n.1, p.11-21, 2002.

SPIRA, S. et al. Impact of clade diversity on HIV-1 virulence, antiretroviral drug sensitivity and drug resistance. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 51, p.229-240, 2003.

SWITZERLAND. Expert group of the joint united nations programme on HIV/AIDS. Implications of HIV variability for transmission: scientific and policy issues. **AIDS**, v.11, n.4, p.UNAIDS1-UNAIDS15, 1997.

TAMALET, C. et al. Resistance of HIV-1 to multiple antiretroviral drugs in France: a 6-year survey (1997-2002) based on an analysis of over 7000 genotypes. **AIDS**, v.17, n.16, p.2383-2388, 2003.

TANURI, A. et al. Prevalence of mutations related to HIV-1 antiretroviral resistance in Brazilian patients failing HAART. **Journal of Clinical Virology**, v.25, p.39-46, 2001.

TATT, I.D. et al. The public health significance of HIV-1 subtypes. **AIDS**. v.15 (suppl 5), p.S59-S71, 2001.

TEMESGEN, Z. et al. 2006. Approach to salvage antiretroviral therapy in heavily antiretroviral-experienced HIV-positive adults. **Lancet Infectious Diseases**.v.6, p.496-507, ag. 2006.

TURAL, C. et al. Clinical utility of HIV-1 genotyping and expert advice: the Havana trial. **AIDS**. v 16, p.209-218, 2002.

TURNER, D.; BRENNER, B.; WAINBERG, M.A. Relationships among various nucleoside resistance-conferring mutations in the transcriptase of HIV-1. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.53, p.53-57, 2004.

UNAIDS/WHO. **AIDS epidemic update**, dez. 2009.

USA. International AIDS Society. Resistance and replication capacity assays: clinical utility and interpretation. **Topics in HIV Medicine** . v.12, n.2, p.52-56, 2004.

USA. International AIDS Society. Antiretroviral drug resistance and resistance testing. **Topics in HIV Medicine**. v.13, n.5, p.139-142, jan. 2006.

YAZDANPANA, Y. Multidrug resistance: a clinical approach. *Current Opinions in HIV and AIDS*. v.4, p.499-506. 2009.

YERLY, S. et al. Transmission of antiretroviral-drug-resistant HIV-1 variants, **The Lancet**, v.354, p.729-733, aug.1999.

WAINBERG, M. A. HIV resistance to nevirapine and other non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. **Journal Acquired Immune Deficiency Syndrome**, v.34, suppl. 1, set. 2003.

WAINBERG, M.A. Nucleoside-associated mutations in HIV-1 reverse transcriptase: mechanisms, mutational patterns and management. **Clinical Care Options HIV**. Disponível em: <<http://clinicaloptions.com/HIV/Treatment%20Updates.aspx>> Acesso em 9 set. 2006.

WEBER, J. et al. Role of baseline pol genotype in HIV-1 fitness evolution. **Journal Acquired Immune Deficiency Syndrome**, v.33, n.4, p.448-460, aug. 2003.

WINTERS, M.A; GRANT, R.M. Mechanisms of HIV-1 drug resistance. **Clinical Care Options HIV**. Disponível em: <<http://clinicaloptions.com/HIV/Topics/Resistance.aspx>> Acesso em 9 set. 2006.

WU.D.T. et al. Mutation Patterns and structural correlates in human immunodeficiency virus type 1 protease following different protease inhibitor treatments. **Journal of Virology**. v.77, p.4836-4847, abr. 2003.

ZACCARELI et al. Multiple drug class-wide resistance associated with poorer survival after treatment failure in a cohort of HIV-infected patients. **AIDS**, v.19, n. 2, p.1081-1089, abr. 2005.

## **ANEXOS**

## ANEXO A

**Aminoácidos encontrados nas proteínas, seus códigos de três e de uma letra com a trinca de nucleotídeos que os codificam.**

Aminoácido	Código de 3 letras	Código de 1 letra	Nucleotídeos
Alanina	Ala	A	GCT GCC GCA GCG
Arginina	Arg	R	CGT CGC CGA CGG AGA AGG
Aspargina	Asn	N	AAT AAC
Aspartato ou Ácido aspártico	Asp	D	GAT GAC
Cisteína	Cys	C	TGT TGC
Glutamina	Gln	Q	GAA GAG
Glutamato ou Ácido glutâmico	Glu	E	CAA CAG
Glicina	Gly	G	GGC GGA GGG
Histidina	His	H	TAC CAC
Isoleucina	Ile	I	ATT ATC ATA
Leucina	Leu	L	TTA TTG CTT CTC CTA CTG
Lisina	Lys	K	AAA AAG
Metionina	Met	M	ATA
Fenilalanina	Phe	F	TTT TTC
Prolina	Pro	P	CCT CCC CCA CCG
Serina	Ser	S	TCT TCC TCA TCG AGT AGC
Treolina	Thr	T	ACT ACC ACA ACG
Triptofano	Trp	W	TGG
Tirosina	Tyr	Y	TAT TAC
Valina	Val	V	GTT GTC GTA GTG

FONTE: Adaptado de BRASIL, 2002.

## ANEXO B

Ministério da Saúde		Formulário de Solicitação para Exame de Genotipagem *		Formulário A	
PN-DST/Aids		Secretaria de Vigilância em Saúde		Nº do parecer _____	
1. Unidade de Saúde onde realiza o tratamento					
2. CNPJ da Unidade de Saúde			3. Telefones de contato da Unidade de Saúde (DDD + número dos telefones)		
DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE					
4. Nome (por extenso, sem abreviações e em ordem direta)					
5. Número do cartão PN-DST/AIDS		6. Número de documento		7. Tipo de documento	
8. Data de nascimento		9. Sexo <input type="checkbox"/> Masculino <input type="checkbox"/> Feminino		10. Prontuário	
				11. Gestante <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
12. Cidade de nascimento					13. UF
14. Nome da mãe (por extenso, sem abreviações e em ordem direta)					
15. Cidade de residência atual					16. UF
17. CPF do responsável (se paciente menor de idade)					
18. Nome do responsável (se paciente menor de idade)					
DADOS CLÍNICOS					
19. Diagnóstico sorológico da infecção pelo HIV (mês/ano) ____/____ <input type="checkbox"/> IGN		20. Paciente compareceu às últimas 3 consultas médicas de retomo agendadas? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> IGN		21. História patológica progressiva. Doença definidora de Aids? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
				22. Estado clínico atual <input type="checkbox"/> Assintomático <input type="checkbox"/> Sintomático. Especificar: _____	
23. As condições clínicas do paciente ou uso de medicamentos contra-indicam a utilização de algum medicamento a ser utilizado em esquema ARV futuro? Quais? _____					
24. Resultado de Linfócitos T CD4+ (cél/mm <sup>3</sup> ) e (%) Último: _____ (Mês) / (Ano) Penúltimo: _____ / Mais baixo: _____ /			25. Resultado de Carga Viral (cópias/ml e log) (Método: N = NASBA; F = PCR; b = b-DNA) Carga Viral imediatamente antes do esquema ARV atual: _____ Log _____ Método: _____ Coleta: _____ / Carga Viral mais baixa durante o esquema ARV atual: _____ Log _____ Método: _____ Coleta: _____ / Última Carga Viral realizada: _____ Log _____ Método: _____ Coleta: _____ /		
26. Maior Carga Viral já apresentada pelo paciente Cópias: _____ Log: _____ Método: _____ Coleta: _____ /					
27. MEDICAÇÕES ANTI-RETROVIRAIS JÁ UTILIZADAS E ATUALMENTE EM USO PELO PACIENTE					
Esquema ARV		Início (mês/ano)		Fim (mês/ano)	
1º		/ /		/ /	
				<input type="checkbox"/> FT <input type="checkbox"/> INT <input type="checkbox"/> Outros: _____	
2º		/ /		/ /	
				<input type="checkbox"/> FT <input type="checkbox"/> INT <input type="checkbox"/> Outros: _____	
3º		/ /		/ /	
				<input type="checkbox"/> FT <input type="checkbox"/> INT <input type="checkbox"/> Outros: _____	
4º		/ /		/ /	
				<input type="checkbox"/> FT <input type="checkbox"/> INT <input type="checkbox"/> Outros: _____	
5º		/ /		/ /	
				<input type="checkbox"/> FT <input type="checkbox"/> INT <input type="checkbox"/> Outros: _____	
<small>Zidovudina (ZDV) Zalcitabina (ddC) Abacavir (ABC) Delavirdina (DLV) Efavirenz (EFV) Ritonavir (RTV) Nelfinavir (NFV) Lopinavir/ritonavir (LPV/r) Indinavir/ritonavir (IDV/RTV 800/200) Didanosina (ddI) Lamivudina (3TC) Estavudina (d4T) Nevirapina (NVP) Saquinavir (SQV) Indinavir (IDV) Amprenavir (APV) Indinavir/ritonavir (IDV/RTV 800/100) Tenofovir (TDF) Atazanavir (ATV)</small>					
28. Nome do médico solicitante					
29. Data do preenchimento		30. CRM do médico solicitante		31. Médico solicitante	
Data: ____ / ____ / ____		CRM/UF: ____ / ____			
Carimbo e assinatura					

\* Preencher todos os campos de forma legível para não inviabilizar a análise do formulário de solicitação.

Versão 7.0 página 1/1

## ANEXO C

Quadros para interpretação clínica do teste de genotipagem. Versão 03/2004.

ITRN	Regra	RENAGENO
<b>Abacavir</b>		
ABC 1	Ins 69 ou 151M ou del 67	R
ABC 2	184V/I + pelo menos uma (65R, 74V, 115F, 215Y/F).	R
ABC 3	1 de (65R, 74V, 115F, 184V/I, 215Y/F).	I
<b>DDI</b>		
ddl 1	Ins 69 ou 151M ou del 67	R
ddl 2	1 de (65R, 69A/D/S/N/G, 74V).	R
ddl 3	75T ou 184V/I	I
ddl 4	3 de (41L, 67N, 70R, 210W, 215Y/F, 219E/Q).	I
ddl 5	4 ou mais de (41L, 67N, 70R, 210W, 215Y/F, 219E/Q).	R
<b>3TC</b>		
3TC 1	Ins 69 ou 151M ou del 67	R
3TC 2	184V/I	R
3TC 3	157S	I
3TC 4	44D+118I	R
<b>D4T</b>		
d4T 1	Ins 69 ou 151M ou del 67	R
d4T 2	50T ou 75 M/S/A/T	R
d4T 3	215Y/F + 2 ou mais de (41L, 67N, 70R, 210W, 219E/Q).	R
d4T 4	215 Y/F + 184V/I	R
d4T 5	215 Y/F ou 69S/A/G	I
d4T 6	3 ou mais de (41L, 67N, 70R, 210W, 219E/Q)	I
<b>Tenofovir</b>		
TDF 1	Ins 69 ou del 67	R
TDF 2	(65R ou 151M ) sem a 184V/I	R
TDF 3	(41L + 210W) + pelo menos uma de (215Y/F, 67N, 70R, 219Q/E/N)	R
TDF 4	(41L + 210W + 184V/I) + pelo menos 1 das seguintes mutações: (215Y/F, 67N, 70R, 219Q/E/N)	I
<b>ddC</b>		
ddC 1	Ins 69 ou del 67 ou 151M	R
ddC 2	184V/I	R
ddC 3	65R ou 69G/D/S/N/A ou 74V	R
ddC 4	Pelo menos 4 (41L, 67N, 70R, 210W, 215Y/F, 219Q/E).	I
<b>AZT</b>		
AZT 1	Ins 69 ou del 67 ou 151M	R
AZT 2	215 F/Y	R
AZT 3	Pelo menos uma (41L, 67N, 70R 219Q/E).	I
AZT4	41L+ 70R	R
<b>AZT+3TC</b>		
AZT+3TC1	(215F/Y + 184V/I) + pelo menos 1 (208Y, 210W, 211K, 214F, 333D/E)	R
AZT+3TC2	(215F/Y ou 184V/I) + (44D+118I ou 157S)	I
AZT+3TC3	(215F/Y ou 184V/I) + pelo menos 1 (41L, 67N, 70R, 210W, 219E/Q).	I
AZT+3TC4	Ins69 ou 151M ou Del 67	R
AZT +3TC5	215 F/Y +184V/I	S

## ANEXO C continuação

ITRNN	Regra	RENAGENO
<b>DLV</b>		
DLV 1	1 ou mais de (100I , 181C/I, 188L, 230L, 236L) se não tiver 190	R
DLV 2	(225H ou 227L) + (106A ou 103N)	I
DLV3	(106A ou 103N) se não tiver a 190A ou 225H ou 227L	R
<b>EFV</b>		
EFV 1	1 ou mais de (100I, 103N,106A, 181C/I, 188C/H/L, 190A/E/S, 225H, 230L)	R
<b>NVP</b>		
NVP 1	1 ou mais de (100I, 103N, 106A, 108I, 188C/H/L, 190A/E/S, 227L, 238T/N,318F)	R
NVP 2	181C/I se não tiver a 236L	R
IP	Regra	RENAGENO
<b>APV</b>		
APV 1	(50V ou 84V) + 1 de (10I, 32I, 33F, 46I/L, 47V, 54V, 73S, 82A/F/T/S, 90M)	I
APV 2	(50V ou 84V) + 2 de (10I , 32I, 33F, 46I/L, 47V, 54V, 73S, 82A/F/T/S, 90M)	R
APV 3	3 de (10I , 32I, 33F, 46I/L, 47V, 54V, 73S, 82A/F/T/S, 90M)	I
APV 4	4 ou mais de (10I, 32I, 33F, 46I/L, 47V, 54V, 73S, 82A/F/T/S, 90M)	R
<b>IDV</b>		
IDV 1	(46I/L ou 82A/F/T ou 84V) + 1 de (10I/R/V, 20M/R, 24I, 33F, 36I, 58E, 63P, 71I/T/V, 73S, 88S, 93L).	I
IDV 2	Duas de (46I/L, 48V, 54L/V, 82A/F/T, 84V, 90M)	R
IDV 3	(46I/L ou 82A/F/T ou 84V) + 2 ou mais de (10I/R/V, 20M/R, 24I, 33F, 36I, 58E, 63P, 71I/T/V, 73S, 88S, 93L)	R
IDV 4	3 ou mais de (10I/R/V, 20M/R, 24I, 33F, 36I, 58E, 63P, 71I/T/V, 73S, 88S, 90M, 93L)	I
IDV 5	4 ou mais de (10I/R/V, 20M/R, 24I, 33F, 36I, 58E, 63P, 71I/T/V, 73S, 88S, 90M, 93L)	R
<b>LPV</b>		
LPV 1	Presença de 6-7 de (10I/R/V/F, 20M/R, 24I/V, 32I, 33F, 46I/L, 47A, 48V, 50V, 53L, 54LV, 63P, 71I/T/V, 73S/P, 82A/F/T, 84V, 89M/I/V, 90M)	I
LPV 2	8 ou mais de (10I/R/V/F, 20M/R, 24I/V, 32I, 33F, 46I/L, 47A, 48V, 50V, 53L, 54LV, 63P, 71I/T/V, 73S/P, 82A/F/T, 84V, 89M/I/V, 90M)	R
<b>NFV</b>		
NFV 1	30N ou 90M	R
NFV 2	4 ou mais de (10I/R/V/F, 20M/R, 36I, 46I/L, 48V, 54L/V, 62V, 63P, 71I/V/T, 77I, 82A/F/T, 84V, 88D/S, 93L)	R
NFV3	3 de (10I/R/V/F, 20M/R, 36I, 46I/L, 48V, 54L/V, 62V, 63P, 71I/V/T, 77I, 82A/F/T, 84V, 88D/S, 93L)	I
<b>RTV</b>		
RTV 1	1 de (46I/L,82A/F/T, 84V, 90M) + 1 de (10I/R/V/F, 20M/R, 24I, 32I, 33F, 36I, 48V, 53L, 54L/M/V, 63P, 71I/V/T)	I
RTV 2	2 de (46I/L, 82A/F/T, 84V, 90M)	R
RTV3	1 ou mais de (46I/L,82A/F/T, 84V, 90M) + 2 de (10I/R/V/F, 20M/R, 24I, 32I, 33F, 36I, 48V, 53L, 54L/M/V, 63P, 71I/V/T)	R
RTV4	3 de (10I/R/V/F, 20M/R, 24I, 32I, 33F, 36I, 48V, 53L, 54L/M/V, 63P, 71I/V/T)	I
RTV5	4 de (10I/R/V/F, 20M/R, 24I, 32I, 33F, 36I, 48V, 53L, 54L/M/V, 63P, 71I/V/T)	R



## ANEXO C continuação

<b>SQV</b>		<b>Regra</b>	
SQV 1	1de (48V ou 84V ou 90M) + 1 de (10I/R/V/F, 20M/R, 36I, 46I/L, 54L/M/V, 63P, 71I/V/T, 73S, 77I, 82A/F/T, 88S, 93L)		I
SQV 2	1 ou mais de (48V ou 84V ou 90M) + 2 de (10I/R/V/F, 20M/R, 36I, 46I/L, 54L/M/V, 63P, 71I/V/T, 73S, 77I, 82A/F/T, 88S, 93L)		R
SQV 3	3 de (10I/R/V/F, 20M/R, 36I, 46I/L, 54L/M/V, 63P, 71I/V/T, 73S, 77I, 82A/F/T, 88S, 93L)		I
SQV4	4 de (10I/R/V/F, 20M/R, 36I, 46I/L, 54L/M/V, 63P, 71I/V/T, 73S, 77I, 82A/F/T, 88S, 93L)		R
SQV5	2 ou mais de (48V ou 84V ou 90M)		R
<b>ATV</b>			
ATV1	5 ou mais de (10I/V/F, 20R/M/I, 24I, 33I/F/V, 46I/L/V, 48V, 50L, 54L, 71V, 73C/S/T/A, 82A/F/I/S/T, 84V/A/C, 88S, 90M)		R
ATV2	4 de (10I/V/F, 20R/M/I, 24I, 33I/F/V, 46I/L/V, 48V, 50L, 54L, 71V, 73C/S/T/A, 82A/F/I/S/T, 84V/A/C, 88S, 90M)		P
<b>AMP/r</b>			
AMP/r1	6 ou mais de (10I, 32I, 35D, 41K, 50V, 54V, 63P, 82A/F/T/S, 84V, 90M)		R
AMP/r2	5 de (10I, 32I, 35D, 41K, 50V, 54V, 63P, 82A/F/T/S, 84V, 90M)		I
<b>SQV/r</b>			
SQV/r1	5 ou mais de (10I/R/V/F, 20M/R, 36I, 46I/L, 48V, 54L/M/V, 63P, 71I/V/T, 73S, 77I, 82A/F/T, 84V, 88S, 90M, 93L)		R
SQV/r2	4 de (10I/R/V/F, 20M/R, 36I, 46I/L, 48V, 54L/M/V, 63P, 71I/V/T, 73S, 77I, 82A/F/T, 84V, 88S, 90M, 93L)		I
<b>IDV/r</b>			
IDV/r1	5 ou mais de (10I/R/V, 20M/R, 24I, 33F, 36I, 46I/L, 48V, 54M/L/V, 58E, 63P, 71I/T/V, 73S, 82A/F/T, 84V, 88S, 90M, 93L)		R
IDV/r2	4 de (10I/R/V, 20M/R, 24I, 33F, 36I, 46I/L, 48V, 54M/L/V, 58E, 63P, 71I/T/V, 73S, 82A/F/T, 84V, 88S, 90M, 93L)		I

Fonte: [http://www.aids.gov.br/final/tratamento/politicas/algorithmo\\_renageno.htm](http://www.aids.gov.br/final/tratamento/politicas/algorithmo_renageno.htm).

## ANEXO D

Quadros para interpretação clínica do teste de genotipagem. Versão 04/2005.

ITRN	Regra	RENAGENO
<b>Abacavir</b>		
ABC 1	69ins ou 151M ou 67del	R
ABC 2	184V/I + pelo menos uma (65R, 74V, 115F, 215Y/F).	R
ABC 3	1 de (65R, 74V, 115F, 184V/I, 215Y/F).	I
ABC4	184V mais pelo menos três de (41L, 67N, 70R, 210W, 215Y/F, 219E/Q)	R
<b>ddI</b>		
ddI 1	69ins ou 151M ou 67del	R
ddI 2	1 de (65R, 69A/D/S/N/G, 74V).	R
ddI 3	75T ou 184V/I	I
ddI 4	3 de (41L, 67N, 70R, 210W, 215Y/F, 219E/Q).	I
ddI 5	4 ou mais de (41L, 67N, 70R, 210W, 215Y/F, 219E/Q).	R
<b>3TC</b>		
3TC 1	69ins ou 151M ou 67del	R
3TC 2	184V/I	R
3TC 3	157S ou 65 R	I
3TC 4	44A/D+118I	R
<b>D4T</b>		
d4T 1	69ins ou 151M ou 67del	R
d4T 2	50T ou 75 M/S/A/T	R
d4T 3	215Y/F + 2 ou mais de (41L, 67N, 70R, 210W, 219E/Q).	R
d4T 4	215 Y/F + 184V/I	R
d4T 5	215 Y/F ou 69S/A/G	I
d4T 6	3 ou mais de (41L, 67N, 70R, 210W, 219E/Q)	I
<b>Tenofovir</b>		
TDF 1	69ins ou 67del	R
TDF 2	(65R ou 151M ) sem a 184V/I	R
TDF 3	Ausência de 184V/I + pelo menos 3 de (41L, 67N, 70R, 210W, 215Y/F, 219Q) sendo que pelo menos uma seja 41L ou 210W	R
TDF4	184V/I +pelo menos 3 de (41L, 67N, 70R, 210W, 215Y/F, 219Q) sendo que pelo menos uma seja 41L ou 210W	I
TDF5	Pelo menos 4 de (41L, 67N, 70R, 210W, 215Y/F, 219Q) sendo que pelo menos uma seja 41L ou 210W. (independente da presença de 184V/I)	R
<b>ddC</b>		
ddC 1	69ins ou 67del ou 151M	R
ddC 2	184V/I	R
ddC 3	65R ou 69G/D/S/N/A ou 74V	R
ddC 4	Pelo menos 4 (41L, 67N, 70R, 210W, 215Y/F, 219Q/E).	I
<b>AZT</b>		
AZT 1	69ins ou 67del ou 151M	R
AZT 2	215 F/Y	R
AZT 3	215C/D/S/I C	I
AZT 4	Pelo menos uma de (41L, 67N, 70R, 219Q/E).	I
AZT5	pelo menos 3 de (41L, 67N, 70R, 210W, 219Q/E).	R
<b>AZT+3TC</b>		
AZT+3TC1	(215F/Y + 184V/I) + pelo menos 1 (208Y, 210W, 211K, 214F, 333D/E)	R
AZT+3TC2	(215F/Y + 184V/I) + (44A/D+118I ou 157S)	I
AZT+3TC3	(215F/Y) + (44A/D+118I ou 157S) sem 184V/I	R
AZT+3TC4	215F/Y sem 184V/I	I
AZT+3TC5	3 (41L, 67N, 70R, 210W, 215Y, 219Q/E) sem 184V/I	I

## ANEXO D continuação

<b>AZT+3TC</b>	<b>Regra</b>	
AZT+3TC6	3 (41L, 67N, 70R, 210W, 215Y, 219Q/E) +184V/I	R
AZT+3TC7	69ins ou 151M ou 67del	R

<b>ITRNN</b>	<b>Regra</b>	<b>RENAGENO</b>
<b>DLV</b>		
DLV 1	1 ou mais de (100I , 181C/I/L, 188L, 230L, 236L) se não tiver 190A	R
DLV 2	(225H ou 227L) + (106A ou 103N)	I
DLV3	(106A ou 103N/ H/T/S/ V) se não tiver a 190A ou 225H ou 227L	R
DLV4	190E	R
<b>EFV</b>		
EFV 1	1 ou mais de (100I, 103N H/T/S/ V),106A/M, 181C/I, 188C/H/L, 190A/E/Q/S/T/V, 225H, 230L)	R
EFV2	98G	I
<b>NVP</b>		
NVP 1	1 ou mais de (98G, 100I, 103N/ H/T/S/ V), 106A, 108I, 181 C/I/S, 188C/H/L, 190A/C/E/Q/S/T/V, 227C, 238T/N,318F/W)	R
NVP2	227L	I

<b>IP</b>	<b>Regra</b>	<b>RENAGENO</b>
<b>APV</b>		
APV 1	(50V ou 84V) + 1 de (10F/I/V, 20M/R, 32I, 33F, 35D, 41K,46I/L, 47V, 54L/V/M,63P, 73S, 82A/F/I/T/S, 90M)	I
APV 2	(50V ou 84V) + 2 de (10F/I/V, 20M/R, 32I, 33F, 35D, 41K,46I/L, 47V, 54L/V/M,63P, 73S, 82A/F/I/T/S, 90M)	R
APV 3	3 de (10F/I/V, 20M/R, 32I, 33F, 35D, 41K,46I/L, 47V, 54L/V/M, 63P, 73S, 82A/F/I/T/S, 90M)	I
APV 4	4 ou mais de (10F/I/V, 20M/R, 32I, 33F, 35D, 41K,46I/L, 47V, 54L/V/M,63P, 73S, 82A/F/I/T/S, 90M)	R
<b>IDV</b>		
IDV 1	(46I/L ou 82A/F/T ou 84V) + 1 de (10I/R/V, 20M/R, 24I, , 36I, 58E, 63, 71I/T/V, 73S, 88S, 93L).	I
IDV 2	Duas de (46I/L, 48V, 54L/T/V, 82A/F/T, 84V, 90M)	R
IDV 3	(46I/L ou 82A/F/T ou 84V) + 2 ou mais de (10I/R/V, 20M/R, 24I, 36I, 54L/T/V , 58E, 63 A/I/P/Q/V/Y/T, 71I/T/V, 73S, 88S, 89M, 93L)	R
IDV 4	3 ou mais de (10I/R/V, 20M/R, 24I, 36I, 48V,54L/T/V ,58E, 63 A/I/P/Q/V/Y/T, 71T/V, 73S, 88S, 89M,90M, 93L)	I
IDV 5	4 ou mais de (10I/R/V, 20M/R, 24I, 36I, 48V, 54L/T/V ,58E, 63 A/I/P/Q/V/Y/T,71T/V, 73S, 88S, 89M,90M, 93L)	R
<b>LPV</b>		
LPV 1	Presença de 6-7 de (10I/R/V/F, 16A/E, 20 I/M/R, 24I/V, 32I, 33F, 34Q, 43T, 46I/L, 47A/V, 48V, 50V, 53L, 54A/M/L/S/T/V, 63P/T, 71I/T/V, 73S/P, 74S, 82A/F/S/T, 84V, 89M/I/V, 90M)	I
LPV 2	8 ou mais de (10I/R/V/F, 16A/E, 20I/M/R, 24I/V, 32I, 33F, 34Q, 43T, 46I/L, 47A/V, 48V, 50V, 53L, 54A/M/L/S/T/V, 63P/T, 71I/T/V, 73S/P, 74S, 82A/F/S/T, 84V, 89M/I/V, 90M)	R
<b>NFV</b>		
NFV 1	30N ou 90M	R
NFV 2	4 ou mais de (10I/R/V/F, 20M/R, 36I/V, 46I/L, 48V, 54L/T/V, 62V, 63P/I, 71I/V/T, 77I, 82A/F/T, 84V, 88D/S, 93L)	R
NFV3	3 de (10I/R/V/F, 20M/R, 36I/V, 46I/L, 48V, 54L/T/V, 62V, 63P/I, 71I/V/T, 77I, 82A/F/T, 84V, 88D/S, 93L)	I

## ANEXO D continuação

<b>RTV</b>		<b>Regra</b>	
RTV 1	1 de (46I/L,82A/F/T, 84V, 90M) + 1 de (8Q,10I/R/V/F, 20M/R, 24I, 32I, 33F, 36I, 48V, 53L, 54L/M/V, 62V,63 A/I/P,Q/V/Y/T, 71I/V/T)		I
RTV 2	2 de (46I/L, 82A/F/T, 84V, 90M)		R
RTV3	1 ou mais de (46I/L,82A/F/T, 84V, 90M) + 2 de (8Q, 10I/R/V/F, 20M/R, 24I, 32I, 33F, 36I, 48V, 53L, 54L/M/V, 62V, 63 A/I/P,Q/V/Y/T, 71I/V/T,73S)		R
RTV4	3 de (8Q,10I/R/V/F, 20M/R, 24I, 32I, 33F, 36I, 48V, 53L, 54L/M/V, 62V, 63P, 71I/V/T)		I
RTV5	4 ou mais de (8Q,10I/R/V/F, 20M/R, 24I, 32I, 33F, 36I, 48V, 53L, 54L/M/V, 63 A/I/P,Q/V/Y/T, 71I/V/T,73S)		R
<b>SQV</b>			
SQV 1	1de (48V ou 84V ou 90M) + 1 de (10I/R/V/F, 20M/R, 36I/V, 46I, 54L/T/V, 57R 58E, 60E/N/Y, 62V 63P/V/A, 71I/V/T, 73S, 74A/S, 82A/F/T)		I
SQV 2	1 ou mais de (48V ou 84V ou 90M) + 2 de (10I/R/V/F, 20M/R, 36I/V, 46I, 54L/T/V, 57R 58E, 60E/N/Y, 62V,63A/P/V, 71I/V/T, 73S, 74A/S, 82A/F/T,)		R
SQV 3	3 de (10I/R/V/F, 20M/R, 36I/V, 46I, 54L/T/V, 57R 58E, 60E/N/Y, 62V,63A/P/V, 71I/V/T, 73S, 74A/S, 82A/F/T)		I
SQV4	4 ou mais de (10I/R/V/F, 20M/R, 36I/V, 46I, 54L/T/V, 57R 58E, 60E/N/Y, 62V,63A/P/V, 71I/V/T, 73S, 74A/S, 82A/F/T)		R
SQV5	2 ou mais de (48V ou 84V ou 90M)		R
<b>ATV</b>			
ATV1	5 ou mais de (10I/V/F, 20R/M/I, 24I, 32I, 33I/F/V, 36I/L/V, 45R, 46I/L/V, 48V, 50L, 54L, 63P, 71V/I, 73C/S/T/A, 82A/F/I/S/T, 84V/A/C, 88S, 90M)		R
ATV2	4 de (10I/V/F, 20R/M/I, 24I, 32I, 33I/F/V, 36I/L/V, 45R, 46I/L/V, 48V, 50L, 54L, 63P, 71V/I, 73C/S/T/A, 82A/F/I/S/T, 84V/A/C, 88S, 90M)		I
<b>AMP/r</b>			
AMP/r1	6 ou mais de (10F/I/V, 20M/R, 32I, 33F, 35D, 41K,46I/L, 47V, 50V, 54L/V/M,63P, 73S, 82A/F/I/T/S, 84V, 90M)		R
AMP/r2	5 de (10F/I/V, 20M/R, 32I, 33F, 35D, 41K,46I/L, 47V, 50V, 54L/V/M,63P, 73S, 82A/F/I/T/S, 84V, 90M)		I
<b>SQV/r</b>			
SQV/r1	5 ou mais de (10I/R/V/F, 20M/R, 36I/V, 46I, 48V, 54L/T/V, 57R,58E, 60E/N/Y, 62V,63A/P/V, 71I/V/T, 73S, 74A/S, 82A/F/T, 84V,90M)		R
SQV/r2	4 de (10I/R/V/F, 20M/R, 36I/V, 46I, 48V, 54L/T/V, 57R 58E, 60E/N/Y, 62V,63A/P/V, 71I/V/T, 73S, 74A/S, 82A/F/T, 84V,90M)		I
<b>IDV/r</b>			
IDV/r1	5 ou mais de (10I/R/V, 20M/R, 24I, 36I, 46I/L, 48V, 54L/T/V, 58E,63 A/I/P/Q/V/Y/T, 71I/T/V, 73S, 82A/F/T, 84V 88S, 89M, 90M, 93L)		R
IDV/r2	4 de (10I/R/V, 20M/R, 24I, 36I, 46I/L, 48V, 54L/T/V, 58E, 63 A/I/P/Q/V/Y/T, 71I/T/V, 73S, 82A/F/T, 84V 88S, 89M, 90M, 93L)		I

Fonte: [http://www.aids.gov.br/final/tratamento/politicas/regras\\_renageno.htm](http://www.aids.gov.br/final/tratamento/politicas/regras_renageno.htm).

## ANEXO E

Quadros para interpretação clínica do teste de genotipagem. Versão 06/2006.

<b>Droga</b>	<b>Regra</b>	<b>RENAGENO</b>
<b>Abacavir</b>		
ABC 1	69ins ou 151M ou 67del	R
ABC 2	184V/I + pelo menos uma (65R, 74V, 115F, 215Y/F).	R
ABC 3	1 de (65R, 74V, 115F, 184V/I, 215Y/F).	I
ABC4	184V mais pelo menos três de (41L, 67N, 70R, 210W, 215Y/F, 219E/Q)	R
<b>ddI</b>		
ddI 1	69ins ou 151M ou 67del	R
ddI 2	1 de (65R, 69A/D/S/N/G, 74V).	R
ddI 3	75T ou 184V/I	I
ddI 4	3 de (41L, 67N, 70R, 210W, 215Y/F, 219E/Q).	I
ddI 5	4 ou mais de (41L, 67N, 70R, 210W, 215Y/F, 219E/Q).	R
<b>3TC</b>		
3TC 1	69ins ou 151M ou 67del	R
3TC 2	184V/I	R
3TC 3	157Sou 65 R	I
3TC 4	44A/D+118I	R
3TC 5	Apenas 1 de (44A/D ou 118I)	I
3TC 6	3 de (41L, 67N, 70R, 210W, 215Y/F, 219E/Q).	I
3TC 7	4 ou mais de (41L, 67N, 70R, 210W, 215Y/F, 219E/Q).	R
<b>D4T</b>		
d4T 1	69ins ou 151M ou 67del	R
d4T 2	50T ou 75 M/S/A/T	R
d4T 3	215Y/F + 2 ou mais de (41L, 67N, 70R, 210W, 219E/Q).	R
d4T 4	215 Y/F + 184V/I	R
d4T 5	215 Y/F ou 69S/A/G	I
d4T 6	3 ou mais de (41L, 67N, 70R, 210W, 219E/Q)	I
<b>Tenofovir</b>		
TDF 1	69ins ou 67del ou 65R ou 151M	R
TDF 2	Pelo menos 3 de (41L, 67N, 70R, 210W, 215Y/F, 219Q) sendo que pelo menos uma seja 41L ou 210W	R
<b>Tenofovir + 3TC</b>		
TDF+3TC 1	69ins ou 67del ou (151M+65R)	R
TDF+3TC 2	(151M ou 65R) sem M184V	R
TDF+3TC 3	(151M ou 65R) + M184V	S
TDF+3TC 4	Ausência de 184V/I + pelo 3 de (41L, 67N, 70R, 210W, 215Y/F, 219Q) sendo que pelo menos uma seja 41L ou 210W	R
TDF+3TC 5	184V/I + pelo menos 3 de (41L, 67N, 70R, 210W, 215Y/F, 219Q) sendo que pelo menos uma seja 41L ou 210W	I
<b>ddC</b>		
ddC 1	69ins ou 67del ou 151M	R
ddC 2	184V/I	R
ddC 3	65R ou 69G/D/S/N/A ou 74V	R
ddC 4	Pelo menos 4 (41L, 67N, 70R, 210W, 215Y/F, 219Q/E).	I

## ANEXO E continuação

<b>AZT</b>		
AZT 1	69ins ou 67del ou 151M	R
AZT 2	215 F/Y	R
AZT 3	215C/D/S/I C	I
AZT 4	Pelo menos uma de (41L, 67N, 70R, 219Q/E).	I
AZT5	pelo menos 3 de (41L, 67N, 70R, 210W, 219Q/E).	R
<b>AZT+3TC</b>		
AZT+3TC1	(215F/Y + 184V/I) + pelo menos 1 (208Y, 210W, 211K, 214F, 333D/E)	R
AZT+3TC2	215F/Y sem 184V/I	R
AZT+3TC3	3 de (41L, 67N, 70R, 210W, 219Q/E) sem 184V/I	R
AZT+3TC4	184 V/I + 3 de(41L, 67N, 70R, 210W, 215Y, 219Q/E)	I
AZT+3TC5	184 V/I +4 ou mais de (41L, 67N, 70R, 210W, 215Y, 219Q/E)	R
AZT+3TC6	69ins ou 151M ou 67del	R

<b>Droga</b>	<b>Regra</b>	<b>RENAGENO</b>
<b>DLV</b>		
DLV 1	1 ou mais de (100I, 181C/I/L, 188L, 230L, 236L) se não tiver 190A	R
DLV 2	(225H ou 227L) + (106A ou 103N)	I
DLV3	(106A/M ou 103N/ H/T/S/ V) se não tiver a 190A ou 225H ou 227L	R
DLV4	190E	R
<b>EFV</b>		
EFV 1	1 ou mais de (100I, 103N H/T/S/ V),106A/M, 108I,181C/I, 188C/H/L, 190A/C/E/Q/S/T/V, 225H, 230L)	R
EFV2	98G	I
<b>NVP</b>		
NVP 1	1 ou mais de (98G, 100I, 103N/ H/T/S/ V), 106A/M, 108I, 181 C/I/S, 188C/H/L, 190A/C/E/Q/S/T/V, 227C, 238T/N,318F/W)	R
NVP2	227L	I

<b>Droga</b>	<b>Regra</b>	<b>RENAGENO</b>
<b>APV</b>		
APV 1	(50V ou 84V) + 1 de (10F/I/V/R, 20M/R, 32I, 33F, 35D, 41K,46I/L, 47V, 54L/V/M, 73S, 82A/F/I/T/S, 90M)	I
APV 2	(50V ou 84V) + 2 de (10F/I/V/R, 20M/R, 32I, 33F, 35D, 41K,46I/L, 47V, 54L/V/M, , 73S, 82A/F/I/T/S, 90M)	R
APV 3	3 de (10F/I/V/R, 20M/R, 32I, 33F, 35D, 41K,46I/L, 47V, 54L/V/M, , 73S, 82A/F/I/T/S, 90M)	I
APV 4	4 ou mais de (10F/I/V/R, 20M/R, 32I, 33F, 35D, 41K,46I/L, 47V, 54L/V/M, 73S, 82A/F/I/T/S, 90M)	R

## ANEXO E continuação

IDV		
IDV 1	(46I/L ou 82A/F/T ou 84V) + 1 de (10I/R/V, 20M/R, 24I, 32I, 36I, 58E, 63 A/I/P/Q/V/Y/T, 71I/T/V, 73A/S, 77I, 88S, 93L).	I
IDV 2	Duas de (46I/L, 48V, 54L/T/V, 82A/F/T, 84V, 90M)	R
IDV 3	(46I/L ou 82A/F/T ou 84V) + 2 ou mais de (10I/R/V, 20M/R, 24I, 32I, 36I, 54L/T/V, 58E, 63 A/I/P/Q/V/Y/T, 71I/T/V, 73A/S, 77I, 88S, 89M, 93L)	R
IDV 4	3 ou mais de (10I/R/V, 20M/R, 24I, 32I, 36I, 48V, 54L/T/V, 58E, 63 A/I/P/Q/V/Y/T, 71I/T/V, 73A/S, 77I, 88S, 89M, 90M, 93L)	I
IDV 5	4 ou mais de (10I/R/V, 20M/R, 24I, 36I, 48V, 54L/T/V, 58E, 63 A/I/P/Q/V/Y/T, 71I/T/V, 73S, 88S, 89M, 90M, 93L)	R
LPV		
LPV 1	Presença de 6-7 de (10I/R/V/F, 16A/E, 20 I/M/R, 24I/V, 32I, 33F, 34Q, 43T, 46I/L, 47A/V, 48V, 50V, 53L, 54A/M/L/S/T/V, 63P/T, 71I/T/V, 73S/P, 74S, 82A/F/S/T, 84V, 89M/I/V, 90M)	I
LPV 2	8 ou mais de (10I/R/V/F, 16A/E, 20I/M/R, 24I/V, 32I, 33F, 34Q, 43T, 46I/L, 47A/V, 48V, 50V, 53L, 54A/M/L/S/T/V, 63P/T, 71I/T/V, 73S/P, 74S, 82A/F/S/T, 84V, 89M/I/V, 90M)	R
NFV		
NFV 1	30N ou 90M	R
NFV 2	4 ou mais de (10I/R/V/F, 20M/R, 36I/V, 46I/L, 48V, 54L/T/V, 62V, 63P/I, 71I/V/T, 77I, 82A/F/T, S 84V, 88D/S, 93L)	R
NFV3	3 de (10I/R/V/F, 20M/R, 36I/V, 46I/L, 48V, 54L/T/V, 62V, 63P/I, 71I/V/T, 77I, 82A/F/T/S, 84V, 88D/S, 93L)	I
RTV		
RTV 1	1 de (46I/L, 82A/F/T, 84V, 90M) + 1 de (8Q, 10I/R/V/F, 20M/R, 24I, 32I, 33F, 36I, 48V, 53L, 54L/M/V, 62V 63 A/I/P, Q/V/Y/T, 71I/V/T, 73S)	I
RTV 2	2 de (46I/L, 82A/F/T, 84V, 90M)	R
RTV3	1 ou mais de (46I/L, 82A/F/T, 84V, 90M) + 2 de (8Q, 10I/R/V/F, 20M/R, 24I, 32I, 33F, 36I, 48V, 53L, 54L/M/V, 62V 63 A/I/P, Q/V/Y/T, 71I/V/T, 73S).	R
RTV4	3 de (8Q, 10I/R/V/F, 20M/R, 24I, 32I, 33F, 36I, 48V, 53L, 54L/M/V, 62V 63 A/I/P, Q/V/Y/T, 71I/V/T, 73S)	I
RTV5	4 ou mais de (8Q, 10I/R/V/F, 20M/R, 24I, 32I, 33F, 36I, 48V, 53L, 54L/M/V, 62V 63 A/I/P, Q/V/Y/T, 71I/V/T, 73S)	R
IDV/r2	4 ou mais de (10I/R/V, 20M/R, 24I, 36I, 46I/L, 48V, 54L/T/V, 58E, 63 A/I/P/Q/V/Y/T, 71I/T/V, 73S, 82A/F/T, 84V 88S, 89M, 90M, 93L)	I
ATV/r		
ATV/r1	6 ou mais de (10I/V/F, 20R/M/I, 24I, 32I, 33I/F/V, 36I/L/V, 45R, 46I/L/V, 48V, 50L, 54L, 63P, 71V/I, 73C/S/T/A, 82A/F/I/S/T, 88S, 84V, 90M)	R
ATV/r2	5 de (10I/V/F, 20R/M/I, 24I, 32I, 33I/F/V, 36I/L/V, 45R, 46I/L/V, 48V, 50L, 54L, 63P, 71V/I, 73C/S/T/A, 82A/F/I/S/T, 84V, 88S, 90M)	I

## ANEXO F



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO JOÃO DE BARROS BARRETO  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



## TERMO DE APROVAÇÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário João de Barros Barreto da Universidade Federal do Pará analisou o projeto de pesquisa intitulado **“Perfil de resistência genotípica do HIV-1 em pacientes recebendo terapia anti-retroviral em Belém/Pará”**, protocolo nº 3736/2005, sob a responsabilidade da pesquisadora *Carmem Andréa Freitas Lopes* e Orientação da *Profa. Dra. Maria Rita de Cassia da Costa Monteiro*, obtendo **APROVAÇÃO** na reunião do dia 04/04/2006, por estar de acordo com a Resolução nº 196/96 e suas complementares, do Conselho Nacional de Saúde / Ministério da Saúde do Brasil.

Belém, 04 de abril de 2006

**Dr. Eduardo Leitão Maia**

COORDENADOR DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA / HJBB/UFPA