



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA**

LEDA MARIA SIMÕES MELLO

**CARACTERIZAÇÃO DA RESISTÊNCIA TRANSMITIDA E VARIABILIDADE
GENÉTICA DO HIV-1 EM PACIENTES RECÉM-DIAGNOSTICADOS ATENDIDOS
NO CENTRO DE TESTAGEM E ACONSELHAMENTO (CTA) EM FORTALEZA**

FORTALEZA

2015

LEDA MARIA SIMÕES MELLO

CARACTERIZAÇÃO DA RESISTÊNCIA TRANSMITIDA E VARIABILIDADE
GENÉTICA DO HIV-1 EM PACIENTES RECÉM-DIAGNOSTICADOS NO CENTRO DE
TESTAGEM E ACONSELHAMENTO DE FORTALEZA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Patologia. Área de concentração: Patologia.

Orientador: Prof. Dr. Jeová Keny Baima Colares

FORTALEZA

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências da Saúde

-
- M479c Mello, Leda Maria Simões.
Caracterização da resistência transmitida e variabilidade genética do HIV-1 em pacientes recém-diagnosticados no centro de testagem e aconselhamento de Fortaleza/ Leda Maria Simões Mello. – Fortaleza, 2015.
104 f. : il.
- Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Patologia, Fortaleza, 2015.
Orientação: Prof. Dr. Jeová Keny Baima Colares.
1. Terapia Antirretroviral de Alta Atividade. 2. Farmacorresistência Viral. 3. Mutação. 4. Variação Genética. I. Título.

CDD 616.9792

LEDA MARIA SIMÕES MELLO

CARACTERIZAÇÃO DA RESISTÊNCIA TRANSMITIDA E VARIABILIDADE
GENÉTICA DO HIV-1 EM PACIENTES RECÉM-DIAGNOSTICADOS NO CENTRO DE
TESTAGEM E ACONSELHAMENTO DE FORTALEZA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Patologia. Área de concentração: Patologia.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Jeová Keny Baima Colares (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Luís Fernando de Macedo Brígido
Instituto Adolfo Lutz – São Paulo

Prof. Dr. Roberto da Justa Pires Neto
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Érico Antônio Gomes de Arruda
Hospital São José de Doenças Infecciosas (SESA - Ceará)

A Deus.

Aos meus pais, Inácio (in memoriam) e Leda

Ao meu marido, Jairo.

Aos meus filhos Davi, Levi e Leon.

AGRADECIMENTO

A Deus por me abençoar com capacidade física, mental, espiritual e emocional; permitindo a conclusão dessa jornada de conhecimento. Aos meus pais, pela sabedoria e retidão de valores sempre ensinada.

Ao meu orientador, professor Dr. Keny Colares, pelos ensinamentos, dedicação e acima de tudo por crê na minha capacidade de finalizar esse estudo. Muitíssimo obrigada!

A minha amiga Shirlene Telmos, pelo companheirismo, disponibilidade e por estar sempre ao meu lado me apoiando. Obrigada pela sua AMIZADE verdadeira!

Ao diretor do LACEN/CE, Dr. Ricardo Carvalho, sempre atencioso e disposto a ajudar no que fosse necessário na execução da pesquisa.

A Dra. Fernanda Montenegro, obrigada pelo empurrão, sem o seu incentivo, apoio e confiança não teria me lançado ao desafio do mestrado em Patologia.

Agradeço as valiosas sugestões e contribuições da banca de defesa, assim como da banca de qualificação: Prof. Dr. Luís Fernando de Macedo Brígido, Prof. Dr. Roberto da Justa Pires Neto, Prof. Dr. Érico Antônio Gomes de Arruda e Prof.^a Dra. Danielle Malta.

Aos funcionários do CTA e ao grupo do Projeto Primeiro Passo. Jaqueline, obrigada pela sua disposição de ajudar sempre; Stelânia, Samara, Emanuele e em especial ao André pelo seu incentivo e ajuda, principalmente nas tabelas, obrigada senhor Excel. A colega e amiga, Mariinha do setor de CD4 do CEMJA.

A todos os amigos do LACEN, principalmente a Bruna, Verinha e Ângela do setor de carga viral e aos técnicos de laboratório do LACEN, Neli, Tereza, Carla, Carmélia, Nilvânia e Cely; serei sempre grata pela cooperação. Em especial a Carol Perdigão pela importantíssima ajuda em filogenia.

Aos funcionários do Instituto Adolfo Lutz, Dr. Brígido, Giselly, Luana e todos que me receberam tão bem, obrigada pela boa acolhida e pelos preciosos conhecimentos repassados.

E principalmente a minha família, meu marido e filhos, por todo amor e por compartilharem comigo essa caminhada inesquecível; e minha mãe, por todas suas preces.

A FUNCAP (MS/CNPq/FUNCAP/SESA) pelo apoio financeiro, possibilitando desse modo a realização da pesquisa.

“A mente que se abre a uma nova ideia jamais
voltará ao seu tamanho original.”

(Albert Einstein)

RESUMO

A terapia antirretroviral tem por objetivo diminuir a morbidade e mortalidade das pessoas com HIV/AIDS, melhorando a qualidade e a expectativa de vida. Paradoxalmente, o tratamento irregular pode favorecer a seleção de variantes resistentes, representando uma das principais causas de falha terapêutica. Tais cepas resistentes podem ser transmitidas a outros indivíduos (resistência transmitida), predispondo à falha precoce do tratamento inaugural. Os testes de resistência, principalmente a genotipagem, permitem a detecção de mutações do genoma viral. O objetivo deste estudo foi caracterizar as mutações de resistência transmitida do HIV-1 aos antirretrovirais em pacientes recém-diagnosticados no Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA) de Fortaleza. Durante o período de outubro de 2013 a setembro de 2014, foram recrutados pacientes com teste reagente para o HIV realizado no CTA. Foram colhidas amostras para realização de quantificação da carga viral (Abbott RealTime), contagem de linfócitos CD4+ (FACSCalibur BD) e genotipagem HIV-1 (TruGene Siemens). As sequências genéticas foram alinhadas pelo programa MEGA e BioEdit. Os subtipos do vírus HIV-1 foram determinados e identificados empregando análises no banco de dados do REGA HIV Subtyping Tool. A análise das mutações de resistência aos antirretrovirais foi realizada utilizando o algoritmo da Universidade de Stanford (HIVdb Program) e as mutações de resistência transmitida foram identificadas empregando a Calibração de Resistência Populacional. Foram obtidas amostras biológicas de 108 pacientes, sendo que em 105 delas foi possível realizar a reação de sequenciamento e a avaliação quanto à presença de mutações de resistência associadas aos antirretrovirais. A prevalência global de resistência transmitida encontrada neste estudo foi de 9,5% (N=10), sendo 2,9% aos análogos, 5,7% aos não análogos e 1,9% aos inibidores de protease. A mutação mais prevalente foi a K103N (25%). A identificação de subtipos foi realizada em 105 amostras, tendo sido mais prevalente o subtipo B (86,7%), seguido do F1 (3,8%) e C (2,8%), além de formas recombinantes (5,7%). Foi detectado pela primeira vez no Ceará o CRF02_AG (1,9%). Foram encontrados 3,8% de recombinantes BF, sendo subtipo F na protease e subtipo B na transcriptase reversa e um desses foi classificado como CRF12_BF. A vigilância da prevalência das mutações de resistência transmitida e a caracterização da diversidade genética da epidemia na população da região são fundamentais para a definição de políticas públicas de saúde.

Palavras-chave: Terapia Antirretroviral de Alta Atividade, farmacorresistência viral, mutação, variação genética.

ABSTRACT

Antiretroviral therapy aims to reduce morbidity and mortality of people with HIV / AIDS, improving the quality and life expectancy. Paradoxically, the irregular treatment may favor the selection of resistant variants, representing a major cause of treatment failure. Such resistant strains can be transmitted to other individuals (transmitted resistance) predisposing to early failure of the inaugural treatment. Resistance tests, particularly genotyping, allow mutation detection in the viral genome. The aim of this study was to characterize the transmitted resistance HIV-1 mutations to antiretroviral drugs in newly diagnosed patients in the Counseling and Testing Center (CTC) in Fortaleza. During the period October 2013 to September 2014, patients with reagent test for HIV were recruited at CTC. Samples for viral load quantitation (Abbott RealTime), CD4 lymphocytes count (BD FACSCalibur) and HIV-1 genotyping (TRUGENE Siemens), were collected. Genetic sequences were aligned by MEGA and BioEdit program. The subtypes of HIV-1 were determined and identified using analysis in REGA HIV subtyping Tool database. The analysis of the antiretroviral resistance mutation was performed using the algorithm of Stanford University (HIVdb Program) and transmitted mutation resistance was identified using the Calibrated Population Resistance (CPR). Biological samples were obtained from 108 patients, among which in 105 was possible to perform the sequencing reaction and evaluation for the presence of mutations to confer antiretroviral drug resistance. The overall prevalence of transmitted resistance in this study was 9.5% (N=10), of those, 2.9% to the NRTI, 5.7% to NNRTI and 1.9% to protease inhibitors. The most prevalent mutation was K103N (25%). The identification of subtypes was performed on 105 samples, being most prevalent subtype B (86.7%), followed by F1 (3.8%) and C (2.8%), as well as recombinant forms (5.7%). It was detected for the first time in Ceará the CRF02_AG (1.9%). BF recombinants were found in 3.8%, F subtype in protease and subtype B in reverse transcriptase, one of those was classified as CRF12_BF. The surveillance of the prevalence of transmitted resistance mutations and the genetic diversity description of the epidemic in the region's population are fundamental to the definition of public health policies.

Keywords: Highly Active Antiretroviral Therapy, drug viral resistance, mutation, genetic variation

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01 – Diagrama esquemático da estrutura do vírus HIV-1	20
Figura 02 – O genoma do HIV-1 e HIV-2.....	20
Figura 03 – Classificação do HIV	23
Figura 04 – Ciclo Replicativo do HIV	25
Figura 05 – Sítios de ação das principais classes de antirretroviral	31
Figura 06 – Lista de mutações do HIV associadas à Resistência Transmitida aos ITRN, ITRNN, IP	41
Figura 07 – Estrutura da TR e os sítios de mutações de resistência aos ITRN e ITRNN	45
Figura 08 – Sítios de mutações de resistência aos IP	46
Figura 09 – Análise do eletroferograma no software TRUGENE	59
Figura 10 – Fluxograma do estudo	63
Figura 11 – Desenho esquemático mostrando os resultados dos pacientes do subtipo C no banco de dados do REGA HIV Subtyping Tool.....	69
Figura 12– Desenho esquemático mostrando o resultado do paciente 38_CE recombinante AG (CRF02_AG) no banco de dados do REGA HIV Subtyping Tool.....	70
Figura 13– Desenho esquemático mostrando o resultado do paciente 60_CE recombinante AG (CRF02_AG) no banco de dados do REGA HIV Subtyping Tool.....	71
Quadro 1 – Recomendações para início de terapia antirretroviral em pessoas vivendo com HIV/AIDS (PVHA)	33
Quadro 2 – Mecanismo de ação e de resistência aos antirretrovirais.....	40
Gráfico 1 – Diversidade genética nos genes PR e TR dos participantes.....	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características sócio demográficas e epidemiológicas dos participantes.....	64
Tabela 2 – Dados laboratoriais e clínicos dos participantes.....	65
Tabela 3 – Mutações do HIV-1 relacionadas à resistência transmitida.....	66
Tabela 4 – Características clínico-epidemiológicas dos pacientes com mutações relacionadas à resistência transmitida.....	67
Tabela 5 – Características clínico-epidemiológicas dos pacientes com subtipo não B.....	72
Tabela 6 – Características epidemiológicas e virológicas dos pacientes com CD4<200cél/ μ L.....	73

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3TC	Lamivudina
ABC	Abacavir
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (do inglês “acquired immuno deficiency syndrome”)
ARV	Antirretroviral
ATV	Atazanavir
AZT/ZDV	Zidovudina
cDNA	DNA complementar
CA	Capsídeo viral
CRF	Forma recombinante circulante (do inglês “circulating recombinant form”)
CV	Carga Viral
DRV	Darunavir
ddI	Didanosina
d4T	Estavudina
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EFV	Efavirenz
ETV	Etravirina
FR	Forma recombinante
FPV	Fosamprenavir
gp	Glicoproteína
HAART	Terapia Antirretroviral Altamente Ativa (do inglês “highly active antirretroviral therapy”)

HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana (do inglês “human immunodeficiency virus”)
HSH	Homem que faz sexo com homem
IDV	Indinavir
IN	Integrase
IP	Inibidor de protease
ITRN/ITRNt	Inibidor da transcriptase reversa análogo de nucleosídeos ou nucleotídeos
ITRNN	Inibidor da transcriptase reversa não análogo de nucleosídeos
Kb	Kilobases
Kd	Kilodaltons
LACEN/CE	Laboratório Central de Saúde Pública do Estado do Ceará
LTR	Long Terminal Repeats
LPV	Lopinavir
MA	Matriz proteica
MDR	Resistência a múltiplas drogas
MS	Ministério da Saúde
NFV	Nelfinavir
NVP	Nevirapina
OMS	Organização Mundial da Saúde
PR	Protease
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PVHA	Pessoas vivendo com HIV/AIDS
RAL	Raltegravir
RENAGENO	Rede Nacional de Genotipagem

RENIC	Rede de Isolamento e Caracterização do HIV
RPV	Rilpivirina
RTV	Ritonavir
RNA	Ácido ribonucleico
RT-PCR	Transcrição reversa - Reação em cadeia da polimerase
SQV	Saquinavir
SINAN	Sistema de informação de agravos de notificação
SISCEL	Sistema de Controle de Exames Laboratoriais de CD4 e CV
SIV	Vírus da Imunodeficiência Símia
SU	Proteína de superfície
TAM	Mutações associadas aos análogos de Timidina
TARV	Terapia antirretroviral
TasP	Tratamento como prevenção
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TDF	Tenofovir
TM	Proteína transmembranária
TPV	Tipranavir
TR	Transcriptase reversa
UDI	Usuário de Drogas Injetáveis
URF	Forma Recombinante Única (do inglês, “unique recombinant form”)
WHO	World Health Organization

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
1.1	Estrutura do vírus HIV	19
1.2	Classificação filogenética do HIV	22
1.3	Ciclo replicativo	24
1.4	Variabilidade genética do HIV	26
1.5	Subtipos do HIV-1 no Brasil	27
1.6	Antirretrovirais	29
1.6.1	<i>Terapia Antirretroviral (TARV)</i>	32
1.6.2	<i>Falha virológica</i>	33
1.6.3	<i>Falha Terapêutica</i>	34
1.6.4	<i>Testes de genotipagem</i>	35
1.7	Resistência do HIV aos antirretrovirais	36
1.7.1	<i>Mecanismos de Resistência e mutações</i>	39
1.7.2	<i>Resistência associada aos Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos de Nucleotídeos e Nucleosídeos – ITRN</i>	42
1.7.3	<i>Resistência associada aos Inibidores da Transcriptase Reversa não Nucleosídeos – ITRNN</i>	44
1.7.4	<i>Resistência associada aos Inibidores de Protease – IP</i>	45
1.7.5	<i>Resistência associada aos Inibidores de Fusão</i>	47
1.7.6	<i>Resistência associada aos Inibidores de Integrase</i>	47
1.7.7	<i>Antagonistas de CCR5</i>	48
1.7.8	<i>Genotipagem pré-tratamento e Resistência Transmitida</i>	49
1.8	Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA)	50
2	OBJETIVOS	52
2.1	Objetivo geral	52
2.2	Objetivos específicos	52
3	CASUÍSTICA E MÉTODOS	53
3.1	Desenho do Estudo	53
3.2	Área do estudo	53
3.3	População Alvo	53
3.4	Critério de inclusão e exclusão	54

3.5	Coleta e processamento das amostras biológicas	54
3.6	Métodos laboratoriais	55
3.6.1	Genotipagem – Extração do DNA	55
3.6.2	Transcrição Reversa e Amplificação PCR (RT-PCR)	56
3.6.3	Reação de sequenciamento (CLIP®)	57
3.6.4	Eletroforese dos produtos de reação CLIP	57
3.6.5	Análise dos dados TRUGENE	58
3.7	Análise genotípica e de resistência aos antirretrovirais	59
3.8	Análise dos dados	60
3.9	Aspectos Éticos	60
4	RESULTADOS	61
4.1	Características da população estudada	61
4.2	Resistência Transmitida do HIV-1 nos genes da PR e fragmento TR	65
4.3	Resistência Transmitida do HIV-1 aos ITRN	66
4.4	Resistência Transmitida do HIV-1 aos TTRNN	67
4.5	Resistência Transmitida do HIV-1 aos IP	67
4.6	Diversidade genética do HIV-1 nos genes da PR e TR	68
5	DISCUSSÃO	74
6	CONCLUSÕES	80
	REFERÊNCIAS	81
	ANEXO A – TCLE	89
	ANEXO B – FORMULÁRIO SI-CTA	91
	ANEXO C – QUESTIONÁRIO SÓCIO COMPORTAMENTAL	96
	ANEXO D – QUESTIONÁRIO CLÍNICO-LABORATORIAL	100
	ANEXO E – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	102
	ANEXO F – CARTA DE ANUÊNCIA	105

1 INTRODUÇÃO

A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (Acquired Immuno Deficiency Syndrome, AIDS) causada pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (Human Immunodeficiency Virus, HIV) é uma doença de comportamento pandêmico e permanece como um dos maiores problemas de saúde pública do mundo, com aproximadamente 35 (33,2 a 37,2) milhões de pessoas vivendo com HIV em 2013. A pandemia é dinâmica, houve um aumento de pessoas recebendo antirretrovirais e um declínio de novos casos de HIV de 3,4 (3,3 a 3,6) milhões em 2001 para 2,1 (1,9 a 2,4) milhões em 2013 de novos infectados no mundo (queda de 38%). Ao mesmo tempo o número de mortes por AIDS está em declínio com 1,5 (1,4 a 1,7) milhões de mortes em 2013, comparado aos 2,3 (2,1 a 2,6) milhões em 2005 (queda de 35%) (UNAIDS, 2014).

No Brasil, desde o início da epidemia de AIDS até junho de 2014, foram registrados 757.042 casos, o que representa uma taxa estimada de prevalência de 0,4% na população em geral, sendo 491.747 (65,0%) casos de AIDS em homens e 265.251 (35,0%) em mulheres. A maior concentração dos casos de AIDS no Brasil está entre os indivíduos com idade entre 25 a 39 anos em ambos os sexos; entre os homens, essa faixa etária corresponde a 54,0% e entre as mulheres 50,3% do total de casos (BRASIL, 2014a).

Na população jovem, a prevalência da infecção pelo HIV apresenta tendência de aumento, o aumento mais significativo ocorreu na população de HSH (homem que faz sexo com homem) jovens, cuja prevalência subiu de 0,56% em 2002 para 1,2% em 2007 (BRASIL, 2013a, 2014a).

Nos grupos populacionais com mais de 18 anos em situação de maior vulnerabilidade, estudos realizados entre 2008 e 2009 estimaram prevalência de HIV de 5,9% entre usuários de drogas, de 10,5% entre HSH e de 4,9% entre mulheres profissionais do sexo; e entre usuários de crack, um estudo realizado em 2013, encontrou uma prevalência de 5,0%. Esses resultados mostram que a epidemia do HIV no Brasil está concentrada nas populações em situação de maior risco e vulnerabilidade, pois apresentam maior prevalência de infecção pelo HIV quando comparadas à população geral (BRASIL, 2013a, 2014a).

Nos últimos 10 anos, a taxa de detecção de AIDS no Brasil sofreu uma elevação de cerca de 2%. No entanto, observam-se diferenças significativas entre as cinco regiões. No período de 2003 a 2012, houve uma diminuição de 18,6% e 0,3%, respectivamente, na taxa de

detecção na Região Sudeste e Sul, enquanto nas regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste houve um aumento de 92,7%, 62,6% e 6,0% (BRASIL, 2013a).

No Ceará até 2014 foram registrados 14.732 casos de AIDS no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), desde o primeiro caso da doença em 1983. A região Nordeste registrou 14,3% dos casos de AIDS no país no período de 1980 a 2014. A taxa de detecção de casos de AIDS é de 14,0 por 100.000 habitantes no CEARÁ em 2013. No contexto da região Nordeste, o Ceará com 4,4% da população brasileira, registrou 2,1% dos casos do país. O aumento observado na incidência e mortalidade na região Nordeste sinaliza a necessidade de compreensão das características locais da epidemia (BRASIL, 2014; CEARÁ, 2013; 2015).

Em 30 anos muitas mudanças aconteceram no perfil epidemiológico da AIDS no Brasil com alteração na história natural da doença. Este fato deve-se, principalmente, a introdução da terapia antirretroviral (TARV) em 1996 com a Lei 9113/96 que garantiu o acesso gratuito a todos os indivíduos, proporcionando um aumento importante na sobrevivência e melhoria na qualidade de vida (BRASIL, 1996; CEARÁ, 2013).

Em dezembro de 2013, o Brasil deu outro passo inovador para a resposta à epidemia de HIV sendo o primeiro país em desenvolvimento e o terceiro do mundo a recomendar o início imediato da TARV para todas as PVHA (pessoas vivendo com HIV/AIDS), independentemente da contagem de CD4 (BRASIL, 2013c). O tratamento como prevenção (TasP) tem sido reconhecido como uma das mais importantes medidas de saúde pública para o controle da transmissão do HIV (WILSON, 2009; COHEN *et al.* 2011; MONTANER *et al.*, 2010).

A TARV tem por objetivo controlar a replicação viral, preservar o sistema imune e evitar a seleção de cepas resistentes às drogas disponíveis. O desenvolvimento de resistência aos antirretrovirais continua sendo um dos maiores obstáculos para supressão sustentada do HIV durante a terapia antirretroviral altamente ativa (*highly active antiretroviral therapy*, HAART) (BRINDEIRO *et al.*, 2003).

Estudos realizados em diferentes regiões do Brasil pela Rede de Isolamento e Caracterização do HIV (RENIC) em 2002 (BRINDEIRO *et al.*, 2003) e 2008 (INOCENCIO *et al.*, 2009) avaliaram a resistência transmitida de pacientes HIV positivo recém-diagnosticados, virgens de tratamento e encontraram prevalência de 6,6% e 8,1% respectivamente. A prevalência da resistência transmitida, em estudos recentes no Brasil, tem variado de 4,6 a 14%, como mostrado nos estudos de Cavalcanti *et al.*, em 2012 (4,6%),

Ferreira *et al.*, em 2008 (8,8%), Arruda *et al.*, em 2011 (9,5%) Gräf *et al.*, em 2011 (11%), Alencar *et al.*, em 2013 (12,2%) e Sanabani *et al.*, em 2011 (13,9%). Tais resultados têm caracterizado o Brasil como um dos países com ocorrência de resistência em níveis intermediários (5% a 15%), segundo a OMS (STANFORD, 2014; UNAIDS, 2013).

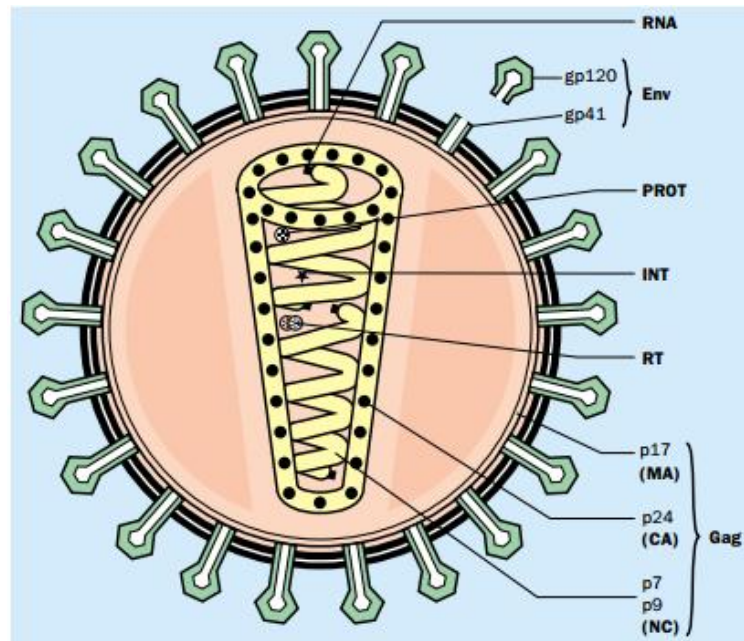
No Brasil, em 2013, aproximadamente 355 mil pessoas estavam em TARV, 293 mil apresentavam supressão da carga viral (CV) com valor inferior a 1.000 cópias/mL e 255 mil possuíam carga viral indetectável (inferior a 50 cópias/mL) (BRASIL, 2014). O aumento da proporção de pessoas em TARV e com CV indetectável (baixo risco de transmissão do HIV) auxiliam a estratégia do tratamento como prevenção (TasP). O sucesso do TasP depende do início da TARV antes que a carga viral aumente, principalmente para manter os pacientes em tratamento eficaz por longo prazo. Internacionalmente, o monitoramento da ampliação do diagnóstico é realizado pelo acompanhamento da proporção de PVHA virgens de tratamento que chegam ao serviço de saúde com comprometimento imunológico significativo, estimado pelo valor da contagem de linfócitos CD4+ (PAHO; WHO, 2014).

1.1 Estrutura do vírus HIV

O HIV é uma partícula esférica, que mede de 100 a 120 nm de diâmetro e pertence ao gênero *Lentivirinae* da família *Retroviridae*. Apresentam em seu núcleo duas cópias de RNA de cadeia simples, encapsuladas por uma camada proteica ou núcleo-capsídeo, capsídeo e um envelope externo composto por uma bicamada fosfolipídica (Figura 1) (BARRÉ-SINOUSSE, 1996; BRASIL, 2014b).

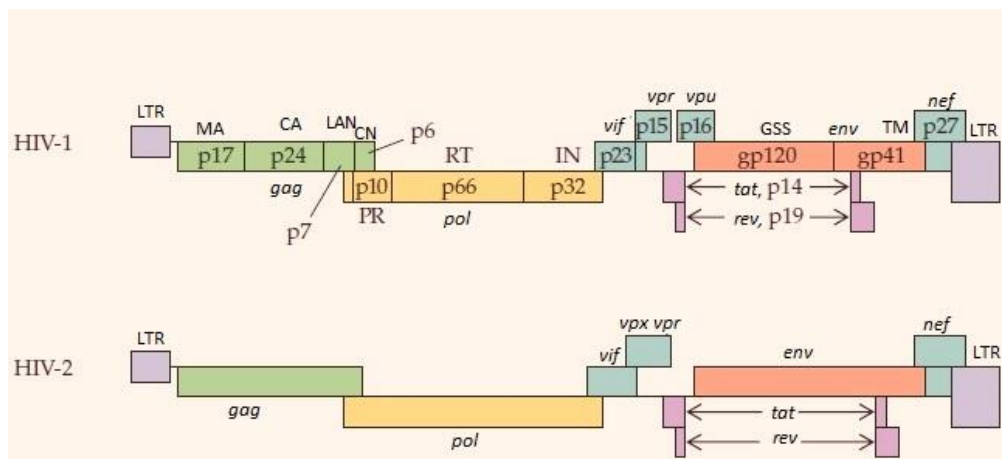
O genoma do HIV, de aproximadamente 10 Kb, possui nove genes e duas regiões LTR (*Long Terminal Repeats*), que contêm sequências necessárias para transcrição reversa, integração, início e término da transcrição do genoma viral integrado ao DNA celular e ligação da proteína reguladora *tat*. Os genes podem ser divididos em dois grupos: os que codificam as proteínas estruturais (*gag*, *env* e *pol*) e os que codificam proteínas não estruturais (*tat*, *rev*, *nef*, *vif*, *vpu*, *vpr*). Os genes não estruturais podem ser subdivididos em regulatórios (*rev* e *tat*) e em genes acessórios (*vif*, *vpu*, *vpr* e *nef*) (Figura 2) (BARRÉ-SINOUSSE, 1996).

Figura 1 - Diagrama esquemático da estrutura do vírus HIV-1



Fonte: Barré- Sinoussé (1996)

Figura 2 - O genoma do HIV-1 e HIV-2



Fonte: Hoffmann e Gallant (2007)

O gene *gag* (antígeno de grupo) codifica a proteína p55, a partir da qual quatro proteínas estruturais do capsídeo são formadas: proteínas nucleares (NC ou p6, p9), a matriz proteica (MA ou p17) e o capsídeo viral (CA ou p24). O capsídeo que circunda o ácido nucleico viral contém p24, p6 e p9, enquanto a p17 se encontra em uma camada entre o núcleo proteico e o invólucro, denominada matriz proteica, a qual reveste a superfície interna da membrana viral. A nomenclatura das proteínas virais utiliza a abreviação “gp” para

glicoproteína ou “p” para proteína, seguida de um número que indica o peso molecular em kilodaltons (kd) (BARRÉ-SINOUSI, 1996).

O gene *env* (envelope) codifica uma proteína inicial de 160 kd, proteína precursora, que é clivada para formar a proteína de superfície (SU ou gp120) e a proteína transmembrana (TM ou gp41). A gp120 se projeta na superfície viral na forma trimérica, com cinco regiões variáveis intercaladas por regiões conservadas. Um dos epítomos variáveis, designado alça V3, é composto por 35 aminoácidos unidos por ponte dissulfeto. Ambas, gp120 e gp41 estão envolvidas na ligação aos receptores de superfície e fusão com a membrana citoplasmática da célula hospedeira. Essa região é imunodominante, ou seja, contra ela são produzidos anticorpos neutralizantes (BARRÉ-SINOUSI, 1996).

O gene estrutural *pol* (polimerase) codifica as enzimas virais: transcriptase reversa (TR ou p51/p66), que também possui atividade de Rnase H; protease (PR ou p10) e integrase (IN ou p32). A enzima transcriptase reversa (TR) é necessária à replicação do HIV, a integrase medeia a integração do DNA viral no genoma das células do hospedeiro e a protease cliva precursores proteicos em unidades ativas menores. Essas proteínas estão localizadas no núcleo, sendo associadas ao RNA do HIV (BARRÉ-SINOUSI, 1996; BRASIL, 2013b).

Outros genes do HIV codificam produtos com função reguladora ou acessória. Embora não seja parte integrante da estrutura viral, atuam no controle da replicação viral e infectividade. O gene *tat* (transativador de transcrição) codifica a p14, uma proteína reguladora que ativa a transcrição de genes provirais do HIV. O gene *rev* (transativador pós transcricional) codifica a p19, proteína que regula a expressão das proteínas do vírion e transporta o RNA viral para a tradução no citoplasma. O gene *nef* codifica a p27, a qual apresenta múltiplas funções, incluindo a modificação da célula hospedeira para aumentar a replicação viral e torná-la menos suscetível a ser destruída pelo sistema imune do hospedeiro. O gene *vpu* (proteína viral “U”) codifica a p16, uma proteína com múltiplos papéis, incluindo a montagem de forma eficiente e brotamento dos virions das células hospedeiras infectadas e a promoção da morte da célula hospedeira. O gene *vpr* (proteína viral “R”) codifica a p15, que auxilia na integração do DNA do HIV no núcleo da célula hospedeira. O gene *vif* (fator de infectividade) codifica a p23, que atua como um fator de infecciosidade viral, estabilizando o DNA HIV recém-sintetizado e facilitando o seu transporte para o núcleo (BARRÉ-SINOUSI, 1996; BRASIL, 2013b).

O HIV-2 também apresenta os genes *gag*, *env*, *pol* e genes regulatórios e acessórios com funções semelhantes às observadas no HIV-1. A homologia entre os genomas

dos dois vírus é de aproximadamente 50%. As regiões *gag* e *pol* do genoma viral apresentam maior homologia entre os diferentes tipos virais, ao contrário da região *env*, que apresenta diferenças significativas no HIV-1 e HIV-2. As proteínas do HIV-2 têm funções equivalentes às do HIV-1; entretanto, apresentam diferenças na composição de aminoácidos e no peso molecular. Também existem diferenças muito importantes entre o HIV-1 e HIV-2 com relação à sensibilidade às drogas. Os inibidores da transcriptase reversa não nucleosídeos (ITRNN) só são ativos contra a enzima transcriptase reversa (RT) do HIV-1 e demonstram pouca atividade contra a RT do HIV-2 (BRASIL, 2013b; KANTOR; KATZENSTEIN, 2004; NYAMWEYA *et al.*, 2013).

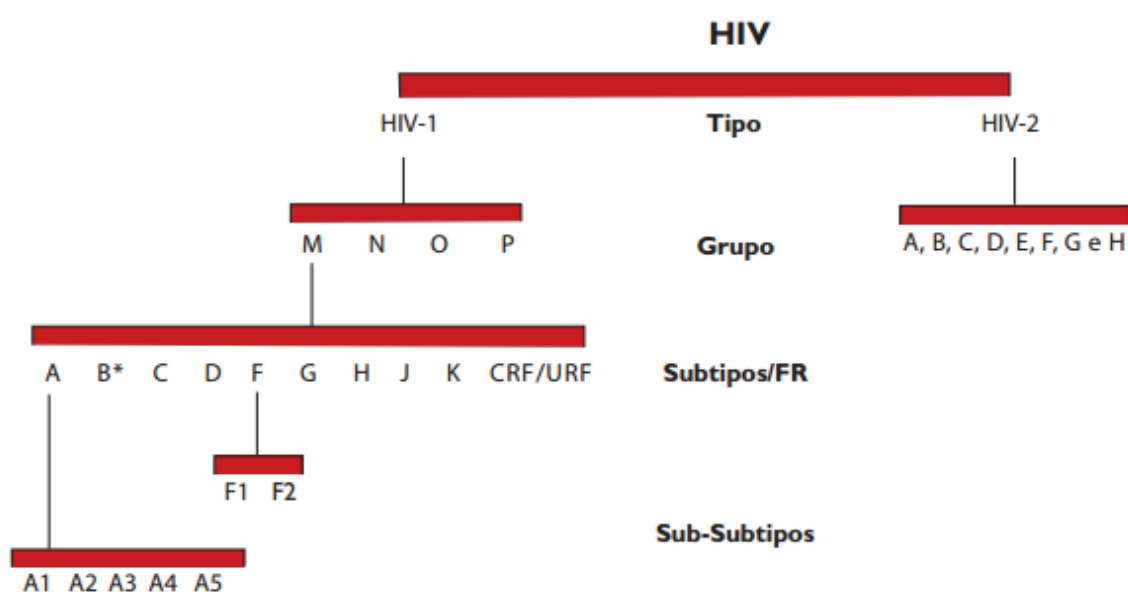
1.2 Classificação filogenética do HIV

A classificação do HIV é feita por meio da análise filogenética de sequências nucleotídicas dos vírus. A classificação consiste em tipos, grupos, subtipos, sub-subtipos e formas recombinantes (Figura 3). O HIV-1 e o HIV-2 são tipos distintos do vírus, mais distantes filogeneticamente, diferem no peso molecular de suas proteínas, como também apresentam diferenças nos seus genes acessórios (BARRÉ-SINOUSI *et al.*, 1983; CLAVEL *et al.*, 1986, KANTOR; KATZENSTEIN, 2004; PINTO; STRUCHINER, 2006). Os dois tipos do vírus pertencem à família *Retroviridae*, ambos causam AIDS, porém indivíduos infectados pelo HIV-2 apresentam maior período de latência clínica e baixa morbidade, enquanto que indivíduos infectados pelo HIV-1 podem progredir rapidamente para AIDS, mas também podem permanecer assintomáticos por muitos anos (BARRÉ-SINOUSI, 1996; NYAMWEYA *et al.*, 2013).

A localização geográfica da origem da pandemia do HIV-1 é o Centro Oeste da África, onde a transmissão entre espécies de SIVcpz (vírus da imunodeficiência símia em chimpanzés) ocorreu a partir de chimpanzés (*Pan troglodytes troglodytes*) ao ser humano. A partir desse evento de transmissão do vírus, o HIV-1 foi gradualmente disseminado por todo o mundo. As formas genéticas do HIV-1 atualmente presentes na África Central e Ocidental, “ponto zero” da pandemia, podem esclarecer os eventos iniciais desse processo histórico. A caracterização da diversidade genética do HIV-1 em diferentes regiões do mundo tem revelado agrupamentos monofiléticos distintos de linhagens denominadas de subtipos (CARR *et al.*, 2010; KEELE *et al.*, 2006; LEMEY *et al.*, 2004).

A reconstrução das relações evolutivas entre os dois tipos de HIV e os vírus SIV permitiu a identificação das espécies de símios que albergavam os ancestrais diretos dos vírus humanos. Outra inferência importante é que a epidemia da AIDS, na realidade, resulta de pelo menos sete eventos de transmissão zoonótica de vírus de primatas, das quais, quatro deram origem aos subtipos de HIV-2 enquanto as outras três fundaram, cada uma, os grupos M, N e O do HIV-1 (HAHN; COCK; SHARP, 2000; PINTO; STRUCHINER, 2006).

Figura 3 - Classificação do HIV



Fonte: Brasil (2014b)

A análise de sequências do HIV-1 possibilitou a classificação em quatro grupos diferentes denominados M, N, O e P. O grupo M (do inglês, *major* ou majoritário) é composto pela maioria das linhagens do HIV-1 responsável pela maior parte das infecções em todo o mundo e é composto por nove subtipos filogeneticamente distintos, denominados A, B, C, D, F, G, H, J e K, cujas sequências de genes diferenciam entre si em cerca de 20%. O subtipo A é composto por cinco sub-subtipos denominados A1, A2, A3, A4 e A5. O subtipo F é composto por dois sub-subtipos: F1 e F2 (BRASIL, 2013b, 2014b; PINTO; STRUCHINER, 2006; KANTOR; KATZENSTEIN, 2004; ROBERTSON *et al.*, 1999). Um vírus isolado em Chipre foi classificado como um novo subtipo I, posteriormente foi reclassificado como uma forma recombinante A/G/I. Este vírus representa uma CRF ainda mais complexa que inclui subtipos A, G, H, K e regiões não classificadas. A designação "I" não é mais usada (GAO *et al.*, 1998).

O grupo N (do inglês, *new ou not-M, not-O* ou novo, não-M, não-O), é uma cepa descoberta em 1998 em Camarões, extremamente rara. Poucos isolados foram identificados e sequenciados. O grupo O (do inglês, *outlier ou out-group*) é o mais divergente dentre os grupos, está restrito ao centro oeste africano. Foi originado através de transmissão do SIV de chimpanzé para humanos, aproximadamente em 1920 (1890-1940), o mesmo tempo estimado para o grupo M. E ainda o grupo P, uma nova cepa descoberta em 2009, encontrada em uma mulher em Camarões, muito próxima ao vírus da imunodeficiência símia do gorila (LEMEY *et al.*, 2004; LOS ALAMOS, 2015).

Eventos de recombinação são responsáveis pela formação de genomas mosaicos de HIV-1, compostos por diferentes subtipos. Quando um indivíduo é portador de uma infecção mista, composta por dois ou mais vírus de linhagens (subtipos) diferentes, pode ocorrer transferência de material genético entre eles, dando origem às formas recombinantes (FR) ou RF (do inglês, *recombinant forms*). A superinfecção do HIV ocorre quando um indivíduo previamente infectado adquire uma nova cepa do HIV distinta da anterior (REDD *et al.*, 2011). Caso a transmissão de uma forma recombinante tenha sido documentada em mais de três indivíduos epidemiologicamente não relacionados, passa a ser denominada como forma recombinante circulante (CRF) (do inglês, *circulating recombinant form*) (AVERT, 2014; BURKE, 1997; ROBERTSON *et al.*, 1999). Foram descritas 72 formas recombinantes circulantes (CRF) que são responsáveis por 18% do total das infecções no mundo (LOS ALAMOS, 2015).

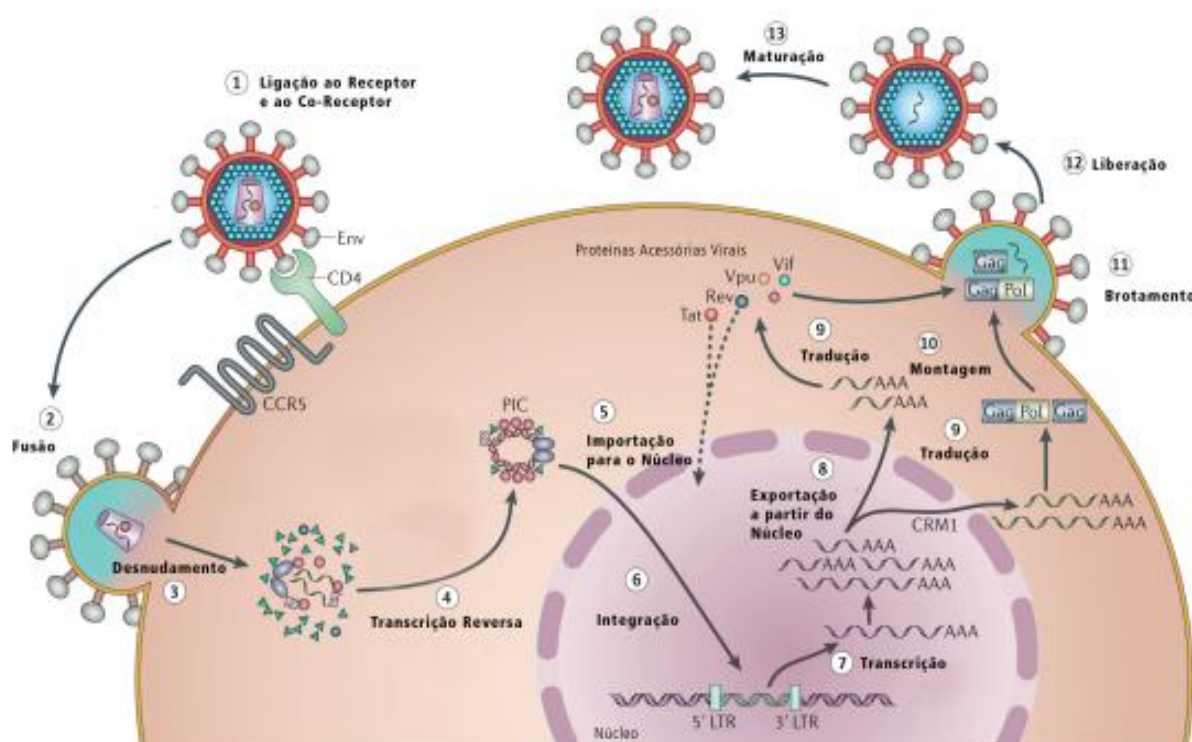
Formas recombinantes que foram identificadas, mas cuja transmissão é desconhecida ou não relatada, são definidas como forma recombinante única (URF) (do inglês, *unique recombinant form*). A variação genética do HIV tem implicações tanto na biologia do vírus e sua transmissão, quanto na reatividade e reação cruzada em testes diagnósticos que detectam a presença de anticorpos específicos para os antígenos virais (BRASIL, 2013b; HEMELAAR *et al.*, 2011; MILLER, 2010).

1.3 Ciclo Replicativo

A primeira etapa do ciclo replicativo (Figura 4) é o reconhecimento do sítio de ligação do receptor CD4 da célula alvo (linfócitos, macrófagos, células da micróglia e células de Langerhans) pela gp120 do envelope viral. Esta interação envolve a ligação da proteína de superfície do envelope do HIV (gp120) ao receptor de CD4 existente na célula hospedeira.

Para que a infecção prossiga, os correceptores celulares também devem ligar-se à gp120, causando alteração conformacional e exposição de outra proteína do envelope do HIV, a gp41. A proteína gp41 media a fusão das membranas viral e celular, ao se inserir na membrana celular e sofre uma alteração que aproxima as membranas viral e celular, favorecendo a fusão e entrada do vírus (BARRÉ-SINOUSI, 1996; ENGELMAN; CHEREPANOV, 2013; HOFFMANN; GALLANT, 2007).

Figura 4 - Ciclo Replicativo do HIV



Fonte: Adaptado de Engelman e Cherepanov (2013)

A célula T CD4⁺ expressa receptor CCR5 ou CXCR4, enquanto os monócitos expressam predominantemente apenas CCR5. De forma típica, a infecção por HIV sexualmente transmissível envolve cepas que se ligam no início de modo preferencial ao CCR5 (cepas com tropismo por R5), até que a ocorrência de mutações na gp120 permita a ligação ao CXCR4 (cepas com tropismo por X4). A mudança para o fenótipo com tropismo por X4 está associada à doença mais avançada e à progressão mais rápida da doença, embora a relação causal ainda seja indeterminada (AVERT, 2014; ENGELMAN; CHEREPANOV, 2013; GROTO; PARDINI, 2006; HOFFMANN; GALLANT, 2007).

A expressão celular do correceptor CCR5 está associada à significativa variação genética, e certos indivíduos homozigotos para uma mutação de deleção em CCR5 (deleção de 32 pares de base) podem se expor repetidas vezes ao HIV sem adquirir a infecção. Indivíduos heterozigotos para mutação delta-32 não possuem proteção contra a infecção pelo HIV, mas inicialmente manifestam uma progressão mais lenta da doença. A manifestação em homozigose ocorre em cerca de 1% da população branca (ENGELMAN; CHEREPANOV, 2013; GROTO; PARDINI, 2006; HOFFMANN; GALLANT, 2007; HÜTTER *et al.*, 2009).

Após a fusão das membranas viral e celular, o capsídeo viral entra na célula e a enzima transcriptase reversa do HIV converte o RNA viral de fita única em DNA de fita dupla, que é denominado DNA proviral (GROTO; PARDINI, 2006; HOFFMANN; GALLANT, 2007).

O DNA pró-viral forma um complexo de pré-integração com a integrase e transcriptase reversa do HIV, além de outras proteínas do hospedeiro e do vírus. Este complexo está localizado no núcleo e catalisa a integração do pró-vírus HIV aos genes ativos localizados nos cromossomos da célula hospedeira. Subsequentemente, as enzimas celulares transcrevem o pró-vírus em RNA mensageiro (mRNA) submetido ou não ao *splicing*, que codifica os genes regulatórios (*tat e rev*) e genes estruturais, além de servir de transcrito genômico integral (AVERT, 2014; ENGELMAN ; CHEREPANOV, 2013; HOFFMANN; GALLANT, 2007).

Este processo ocorre de modo organizado, com os genes regulatórios *tat e rev* (nos transcritos submetidos ao *splicing*) expressos primeiro, seguidos do transporte dos transcritos integrais para o citoplasma. Estes transcritos são, então, traduzidos nas proteínas estruturais ou servem de RNA genômico para a progênie de vírions. Os estágios tardios da replicação viral envolvem a montagem das partículas virais, com incorporação ao core viral de duas cópias do genoma do RNA viral, e o brotamento do vírus na superfície celular. A protease do HIV exerce papel importante neste processo tardio, clivando a poliproteína *gag* em componentes funcionais menores e permitindo, assim, a formação de vírions maduros e infecciosos (ENGELMAN; CHEREPANOV, 2013; HOFFMANN; GALLANT, 2007).

1.4 Variabilidade genética do HIV

Como outros vírus RNA, o HIV possui alta variabilidade genética. Principalmente devido à enzima transcriptase reversa (TR) que é bastante suscetível a erros e introduz

mutações em proporção aproximada de uma em 10^4 pares de bases, ou cerca de uma mutação em cada vírion produzido. Esses erros são substituições de base, deleções e recombinações; explicando, portanto a grande variabilidade viral e a facilidade no surgimento de cepas mutantes resistentes. A enzima TR não possui a propriedade de correção das fitas recém-originadas durante o processo de replicação viral, resultando na elevada taxa de erro na incorporação de nucleotídeos (BARRÉ-SINOUSSE, 1996; HOFFMANN; GALLANT, 2007).

Além disso, durante a replicação normal, a enzima TR salta de uma fita de ácido nucleico para outra, a fim de completar a síntese das fitas-filhas. Esta migração entre as fitas pode possibilitar a recombinação entre diferentes cepas virais que estejam infectando uma mesma célula (BURK, 1997; HOFFMANN; GALLANT, 2007).

Mutações e recombinação geram um amplo espectro de cepas virais geneticamente relacionadas, porém distintas, chamadas de quasiespécies. Cada uma destas variantes tem potencial de se transformar na cepa dominante. A maioria apresenta mutações deletérias ou mutações que desaceleram a velocidade de seu crescimento (DIAZ, 2011).

Entretanto, até mesmo uma pequena proporção de mutações funcionais gera uma população significativa de genomas modificados, devido à alta taxa de replicação, aproximadamente de 10^9 a 10^{10} vírions são produzidos diariamente. As cepas com uma mutação que lhes confere uma vantagem de crescimento em um determinado ambiente em particular (p. ex., na presença de antirretrovirais) vencerão a competição com as demais quasiespécies e se tornarão a cepa viral dominante na população. Até mesmo as cepas com mutações causadoras de comprometimento da replicação (em comparação às cepas não mutantes) ainda podem acumular mutações adicionais durante a replicação, e algumas destas mutações conseguem sobrepujar o defeito replicativo da cepa (BARRÉ-SINOUSSE, 1996; HOFFMANN; GALLANT, 2007; DIAZ, 2011).

Esta enorme variabilidade genética é observada tanto nas populações virais que infectam um único indivíduo quanto entre isolados de diferentes regiões geográficas (DIAZ, 2011).

1.5 Subtipos do HIV-1 no Brasil

A epidemia do HIV no Brasil é complexa quanto à distribuição e prevalência dos diferentes subtipos de HIV-1, se comparada aos outros países da América do Sul. O subtipo B do HIV-1 tem sido descrito como o mais prevalente no Brasil, seguido pelo F1 e formas

recombinantes únicas B/F1 nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste, enquanto que na região Sul observa-se uma alta prevalência do subtipo C e do CRF31_BC. Além desses, já foram relatados alguns casos de infecções pelos subtipos A, D, CRF02_AG e genomas mosaicos em potencial, envolvendo recombinação ou infecção dupla entre B/F1, B/C e F1/D e pelo menos 5 CRF_BF1 (MORGADO *et al.*, 1998; COUTO-FERNANDEZ; WILSON *et al.*, 2005; ARRUDA *et al.*, 2011; COHEN *et al.*, 2011; CAVALCANTI *et al.*, 2012) e o CRF31_BC (VELASCO-DE-CASTRO *et al.*, 2014). O CRF BF surgiu na América do Sul, tendo como origem o subtipo F da África (DIAZ, 2006; LOS ALAMOS, 2015).

Diferenças genéticas e antigênicas também foram descritas entre linhagens do subtipo B circulantes no Brasil, com a identificação de uma variante denominada B''. Esta difere do subtipo B clássico pela presença do motivo GWGR no topo da alça V3 de gp120 do envelope, no lugar de GPGR. Em algumas áreas do Brasil, a variante B'' mostrou-se altamente prevalente, correspondendo a 57% dos subtipos B detectados em Ribeirão Preto (SP) e 37% dos subtipos B do Rio de Janeiro (RJ). O tempo de sobrevivência sem AIDS, é superior para os pacientes infectados pelo subtipo BBr em relação àqueles infectados pelo subtipo B (BRASIL, 2013b; MORGADO *et al.*, 1998; PINTO; STRUCHINER, 2006).

A reconstrução da história da epidemia no Brasil mostra que a linhagem dos subtipos circulantes no Brasil se agrupou com sequências do subtipo B de várias regiões no mundo, não havendo origem direta e única com algum país ou continente. O Rio de Janeiro e o Rio Grande do Sul foram os dois pontos de entrada do subtipo B no Brasil, migrações observadas posteriormente, apresentavam o sentido Sul – Norte e para o Centro-Oeste e Nordeste do país. É plausível a hipótese de que a epidemia do subtipo C na América foi iniciada pela introdução de linhagens originadas do Leste da África; e possivelmente o Paraná seja o ponto central a partir do qual as linhagens se espalharam para São Paulo, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (VÉRAS, 2010). A introdução na população brasileira do subtipo B ocorreu no final dos anos 1960 e do subtipo C no fim dos anos 1970, posteriormente ambas se espalharam lentamente nos anos 1980 (BELLO *et al.*, 2007).

A circulação geográfica dos grupos, subtipos e CRF do HIV-1 permitem que estas variantes sejam empregadas como marcadores da epidemia e que a caracterização dos vírus circulantes em cada país seja útil aos programas de vigilância epidemiológica local (HAHN; COCK; SHARP, 2000; PINTO; STRUCHINER, 2006).

A epidemia do HIV resulta de pelo menos sete eventos de transmissão zoonótica de vírus de primatas, entretanto a pandemia está associada predominantemente aos subtipos e formas recombinantes do grupo M (PINTO; STRUCHINER, 2006).

A análise filogenética das sequências das variantes do vírus permite a abordagem de outras questões referentes à epidemia como, por exemplo, o momento em que determinadas variantes foram introduzidas em uma população (PINTO; STRUCHINER, 2006). A recombinação é uma estratégia importante para a evolução do HIV e um mecanismo de escape às drogas e do sistema imune (BURKE, 1997).

1.6 Antirretrovirais

Para os alvos críticos onde se pode bloquear a replicação viral, várias classes de drogas foram desenvolvidas e aprovadas para comercialização. No Brasil, em 13 de novembro de 1996, foi sancionada a lei Nº 9.313 que disponibiliza o acesso gratuito aos antirretrovirais de alta atividade (*highly active antiretroviral therapy* – HAART) para pacientes infectados pelo HIV (BRASIL, 1996).

As drogas atualmente utilizadas para tratar a infecção pelo HIV-1 pertencem a seis classes distintas (TANG; SHAFER, 2012):

Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos de Nucleosídeos e Nucleotídeos –

ITRN

- Zidovudina (AZT)
- Didanosina (ddI)
- Lamivudina (3TC) /Emtricitabina (FTC)
- Estavudina (d4T)
- Abacavir (ABC)
- Tenofovir (TDF)

Inibidores da Transcriptase Reversa Não Análogos de Nucleosídeos – ITRNN

- Nevirapina (NVP)
- Efavirenz (EFV)
- Etravirina (ETV)
- Rilpivirina (RPV)

Inibidores de Protease – IP

- Atazanavir (ATV)
- Indinavir (IDV)
- Fosamprenavir (FPV)
- Nelfinavir (NFV)
- Saquinavir (SQV)
- Lopinavir (LPV)
- Tipranavir (TPV)
- Darunavir (DRV)
- Ritonavir (RTV ou /r)

Inibidor de Fusão

- Enfuvirtida (T20)

Inibidor de Integrase

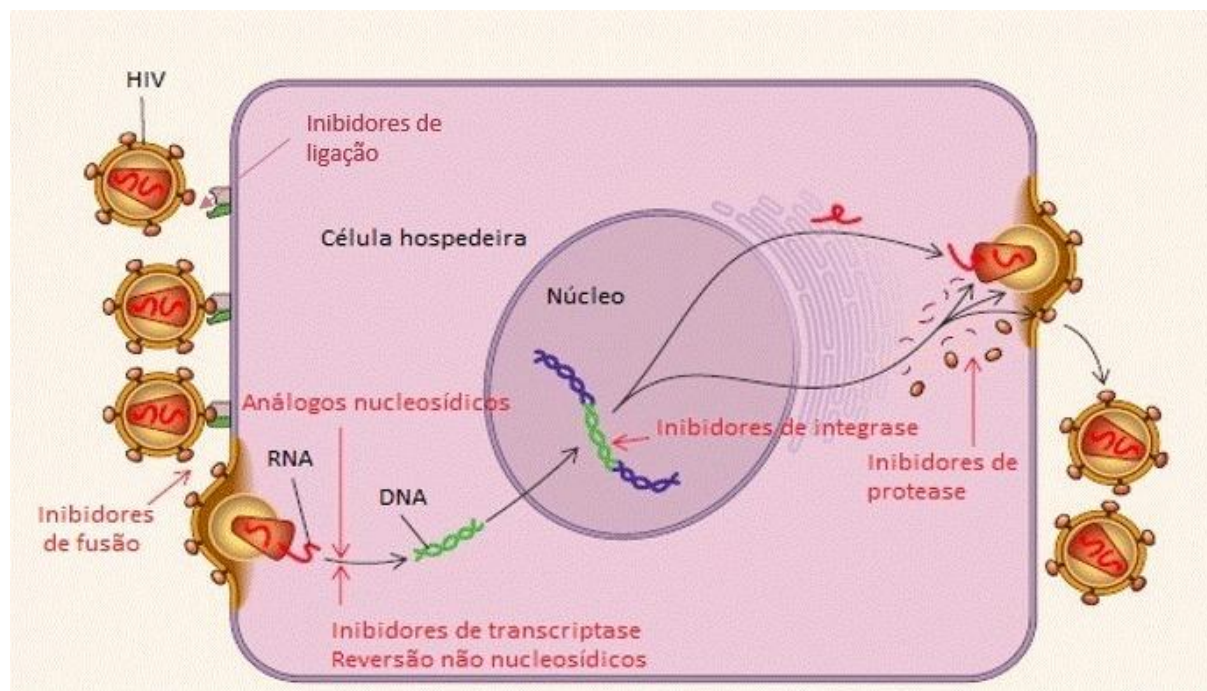
- Raltegravir (RAL)
- Dolutegravir (DTG)

Antagonistas de CCR5

- Maraviroque (MVQ)

Os inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos ou nucleotídeos (ITRN) atuam como terminadores de cadeia de DNA, inibindo de forma competitiva a transcrição reversa do genoma do RNA viral em DNA, um evento importante que ocorre numa fase precoce do ciclo de vida viral. Os inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos (ITRNN) se ligam e inibem diretamente a transcriptase reversa, resultando em mudança conformacional (inibição alostérica) da enzima. Os inibidores da protease (IP) têm como alvo a protease viral, enzima necessária para a clivagem das proteínas precursoras (*gag* e *gag-pol*), permitindo a montagem final do núcleo interno das partículas virais. Os inibidores de entrada (ligação e fusão) bloqueiam a penetração de virions de HIV nas suas células alvo (Figura 5) (CLAVEL; HANCE, 2004).

Figura 5 - Sítios de ação das principais classes de antirretroviral



Fonte: Adaptado de Hoffmann e Gallant (2007)

A terapia combinada, tipicamente associando três drogas, dificulta o processo de seleção da resistência, devido aos mecanismos múltiplos necessários para ocorrer resistência a todas as drogas no esquema terapêutico. Mesmo que pequeno número de variantes com potencial para resistência a cada droga já exista antes do tratamento, se torna improvável que cada uma dessas variantes seja capaz de exibir resistência a todas as drogas do esquema. Desta forma, múltiplas drogas suprimem a replicação viral com maior eficácia que agentes isolados, reduzindo a carga viral a níveis indetectáveis e proporcionando benefícios clínicos duradouros (GULICK *et al.*, 1997; HAMMER *et al.*, 1997; VELLA *et al.*, 1996; ZHANG *et al.*, 1999). É importante enfatizar que no contexto de HAART, a resistência é muito mais uma consequência do que uma causa de falência na terapia inicial (COFFIN, 1995).

Depois da introdução da terapia antirretroviral, a AIDS passou a ser considerada uma doença crônica, diminuindo consideravelmente a probabilidade de adoecimento e morte das pessoas vivendo com HIV, se houver manejo clínico adequado (ENGELMAN; CHEREPANOV; 2013; BRASIL, 2013c). Além disso, estudos recentes evidenciaram que a terapia antirretroviral não é apenas eficaz no controle da doença e melhoria da qualidade de vida, mas também é capaz de reduzir de forma acentuada a transmissão do vírus (COHEN *et al.*, 2011; WILSON *et al.*, 2009).

1.6.1 Terapia Antirretroviral (TARV)

A TARV tem por objetivo diminuir a morbidade e mortalidade das pessoas com HIV/AIDS, melhorando a qualidade e a expectativa de vida (BRASIL, 2013c). A TARV é composta por uma combinação de drogas que visa interferir no ciclo do vírus, com o objetivo de impedir a replicação do HIV e preservar ou restaurar a função imune (GÜNTARD *et al.*, 2014).

Desde o surgimento dos primeiros esquemas antirretrovirais, buscou-se definir critérios para início do tratamento com base nas estimativas de risco de infecções oportunistas, evolução para AIDS e óbito (BRASIL, 2013c).

Hoje se observa redução da morbimortalidade com o início mais precoce de TARV. Além do impacto clínico favorável, o início mais precoce da TARV vem sendo demonstrado como ferramenta importante na redução da transmissão do HIV. Deve-se considerar a importância da adesão e o risco de efeitos adversos no longo prazo. Entretanto, as evidências de benefícios clínicos e de prevenção da transmissão do HIV, aliada à disponibilidade de opções terapêuticas mais cômodas e bem toleradas, justificam o estabelecimento de novos critérios para o início do tratamento antirretroviral, que inclui a recomendação de início imediato de TARV para todas PVHA, independentemente da contagem de linfócitos T CD4+, também com o objetivo de redução da transmissibilidade do HIV (BRASIL, 2013c; GÜNTARD *et al.*, 2014).

Em 2013, 355 mil pessoas no Brasil estavam em TARV (BRASIL, 2014), usando combinações de três drogas antirretrovirais, de acordo com o protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para manejo da infecção pelo HIV em adultos de 2013 (Quadro 1).

i) Primeira linha de tratamento (Composição do esquema antirretroviral com ITRNN) - A terapia inicial deve sempre incluir combinações de três antirretrovirais, com dois ITRN/ITRNt associados a um ITRNN (Zidovudina ou Tenofovir + Lamivudina + Efavirenz ou Nevirapina).

ii) Segunda linha de tratamento - Em situações em que o uso de Efavirenz e Nevirapina esteja impossibilitado, deve-se proceder à sua substituição por um Inibidor de Protease, potencializado por baixa dose de Ritonavir, de modo que o esquema ARV (antirretroviral) fique da seguinte forma: dois ITRN + IP/r. O Lopinavir/Ritonavir deve ser o

IP/r preferencial seguido do Atazanavir/Ritonavir e Fosamprenavir/Ritonavir (BRASIL, 2013c).

Para a seleção da TARV inicial devem-se considerar alguns fatores importantes, tais como: CD4 basal e Carga Viral do HIV-1, idade, sexo, comorbidades, potencial de adesão, medicações simultâneas, tolerabilidade e toxicidade da droga em longo prazo, farmacocinética, tropismo e genética do paciente. A individualização da terapia, ou seja, a avaliação das particularidades de cada caso merece destaque na escolha do esquema, para o manuseio das condições relacionadas à idade mais avançada, principalmente no tratamento em longo prazo (MENDONÇA, 2013).

Quadro 1 – Recomendações para início de terapia antirretroviral em pessoas vivendo com HIV/AIDS (PVHA)

Todas as PVHA, independentemente da contagem de CD4	
Estimular início imediato da TARV, na perspectiva de redução da transmissibilidade do HIV, considerando a motivação da PVHA.	
Sintomáticos (incluindo tuberculose ativa), independentemente da contagem de CD4	
Iniciar TARV	
Assintomáticos	
CD4 \leq 500 células/mm ³	Iniciar TARV
CD4 > 500 células/mm ³	Iniciar TARV na coinfeção HIV-HBV com indicação de tratamento para hepatite B Considerar TARV nas seguintes situações: <ul style="list-style-type: none"> • neoplasias não definidoras de aids com indicação de quimioterapia ou radioterapia • doença cardiovascular estabelecida ou risco cardiovascular elevado (acima de 20%, segundo escore de Framingham) • coinfeção HIV-HCV • carga viral do HIV acima de 100.000 cópias/mL
Sem contagem de LT-CD4+ disponível	Na impossibilidade de se obter contagem de CD4, não se deve adiar o início do tratamento
Gestantes	
Iniciar TARV	

Fonte: Brasil (2013c)

1.6.2 Falha virológica

A duração de cada esquema antirretroviral está diretamente relacionada a fatores que incluem: potência da combinação antirretroviral, comorbidades, tolerabilidade, incluindo níveis de toxicidade e a barreira genética à emergência de cepas virais resistentes (DIAZ, 2011). A falha virológica é caracterizada por carga viral plasmática detectável após seis meses do início ou modificação do tratamento antirretroviral ou por detecção persistente da carga

viral nos indivíduos que a mantinham indetectável na vigência do tratamento. Em todos os casos, a viremia deve ser confirmada em coleta consecutiva após intervalo de pelo menos quatro semanas da anterior. A falha virológica pode reduzir os benefícios em relação à recuperação imunológica e aumentar o risco de progressão de doença, além de levar à emergência de resistência aos antirretrovirais. Portanto, deve ser o principal parâmetro para a definição de falha à terapia antirretroviral, particularmente após a terapia inicial (BRASIL, 2013c).

A ocorrência de doenças oportunistas na ausência de falha virológica não indica necessariamente falha da TARV, mas pode refletir a recuperação imunológica insuficiente, falha da quimioprofilaxia para infecções oportunistas ou síndrome inflamatória de reconstituição imune. A falha virológica é o principal parâmetro para a caracterização da falha terapêutica (BRASIL, 2013c).

No Brasil, em 2012, das quase 720 mil PVHA, 236 mil (33%) apresentavam carga viral indetectável (inferior a 50 cópias/ml). Dentre os 313 mil indivíduos em TARV, 76% apresentavam carga viral indetectável, valor 13,2% maior do que o observado em 2008 (67,4%). Destacando que 86% dos indivíduos em TARV tinham carga viral inferior a 1.000 cópias/ml em 2012 (BRASIL, 2013).

1.6.3 Falha Terapêutica

Os principais fatores associados à falha terapêutica são: baixa adesão ao tratamento, potência virológica insuficiente, fatores farmacológicos e resistência viral (BRASIL, 2013c; GÜNTARD, 2014).

Considerada uma das causas mais frequentes de falha virológica, a baixa adesão à TARV relaciona-se, sobretudo, à complexidade posológica e à ocorrência de efeitos adversos. A supressão viral pode ser obtida, mesmo sem alteração da TARV, nos casos de falha associada à má adesão, quando precocemente identificados (BRASIL, 2013c).

A utilização de esquemas subótimos, potência virológica insuficiente, tais como terapia tripla contendo apenas ITRN ou número insuficiente de medicamentos ativos, pode levar à supressão viral incompleta (BRASIL, 2013c).

Deve-se considerar a possibilidade de administração incorreta dos ARV, tais como fracionamento de comprimidos, interações medicamentosas ou erros de prescrição,

além de outros fatores que resultem em má absorção ou eliminação acelerada dos medicamentos (BRASIL, 2013c).

A resistência genotípica do HIV aos antirretrovirais pode ser identificada no momento da falha em até 90% dos casos, podendo ser tanto causa como consequência (BRASIL, 2013c).

1.6.4 Testes de genotipagem

Os ensaios de genotipagem identificam a resistência às drogas ARVs pelas mudanças genéticas no genoma viral, que bloqueiam ou diminuem a interação das drogas com as enzimas virais (SHAFER; KANTOR; GONZALES, 2000). Dois métodos de avaliação estão disponíveis: a genotipagem, que detecta mutações de resistência e a fenotipagem, que avalia diretamente a susceptibilidade viral às drogas *in vitro*. Também está disponível a fenotipagem virtual, que prediz a susceptibilidade aos ARVs baseado em resultados combinados de genotipagem e fenotipagem, associados em grandes bancos de dados (MEDEIROS, 2011). Os testes de genotipagem baseiam-se na análise de mutações associadas à resistência que são determinadas pelo sequenciamento direto do genoma do vírus amplificado e determinam a sequência genômica da região que codifica as enzimas RT e PR do HIV-1 (DIAZ, 2011; MEDEIROS, 2011).

A genotipagem baseia-se no sequenciamento automatizado, utilizando terminadores dideoxinucléotídeos fluorescentes, descrito por Sanger e colaboradores em 1977. Dois kits comerciais são utilizados no Brasil, o kit TruGene® Genotyping Assay e OpenGene® DNA Sequencing System (Siemens Diagnostics, USA) e o kit ViroSeq HIV-1 Genotyping System (Applied Biosystems, USA), além de métodos genotípicos desenvolvidos *in house*. Existem outras metodologias como o sequenciamento por hibridização por sonda (LIPA) ou por *microchip* (Affimetrix) (DIAZ, 2011).

A desvantagem dos métodos de sequenciamento por genotipagem é a incapacidade do teste de detectar variantes resistentes do HIV-1 com prevalência inferior a 30% do total da população viral, fornecendo uma medida indireta da resistência às drogas. A dificuldade técnica de detecção em amostras com viremia inferior a 1000 cópias/ml também é um limitador na detecção de mutação nesses pacientes (SIEMENS, 2008).

1.7 Resistência do HIV aos antirretrovirais

A utilização de combinações de fármacos antirretrovirais provou ser extremamente eficaz no controle da progressão da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), prolongando a sobrevida, mas esses benefícios podem ser comprometidos com o desenvolvimento de resistência. Resistência à droga é a consequência de mutações que surgem nas proteínas virais alvo de agentes antirretrovirais (CLAVEL, 2004). Uma mutação pode gerar alterações de aminoácidos, levando a alteração da estrutura e função da proteína (KANTOR; KATZENSTEIN, 2004).

A eficácia dos esquemas ARVs depende da atividade da droga individualmente e o número de mutações necessárias para o desenvolvimento de resistência a cada ARV (a barreira genética para a resistência). A resistência prejudica a resposta à terapia em pacientes com resistência transmitida, podendo resultar em falha inicial ao tratamento e múltiplas falhas virológicas (TANG; SHAFER, 2012).

A resistência aos antirretrovirais pode ser primária ou secundária. Atualmente os termos mais utilizados são respectivamente resistência transmitida e resistência adquirida. Resistência adquirida é aquela que emerge em decorrência da pressão seletiva exercida pelas drogas antirretrovirais. A resistência transmitida é aquela já presente mesmo antes do uso da medicação antirretroviral pelo indivíduo infectado. A presença de HIV com mutações de resistência em pessoas virgens de tratamento antirretroviral é exclusivamente relacionada à transmissão de cepas resistentes e não da emergência natural desses vírus, como foi especulado há algum tempo (DIAZ, 2011; SHAFER, 2007; SOARES; BRINDEIRO; TANURI, 2004; VELLA; PALMISANO, 2005).

De forma efetiva, a terapia ARV é capaz de reduzir a replicação viral a níveis inferiores aos dos limites de detecção dos testes mais sensíveis e consequentemente possibilitar uma grande redução na progressão da doença e na mortalidade. Entretanto, a falha na supressão efetiva da replicação viral pode levar a seleção de cepas do HIV mutantes e resistentes a um ou mais medicamentos em uso naquele momento. Apesar de serem muitos os fatores que possam contribuir para a falha terapêutica ao tratamento do HIV-1, a emergência de cepas resistentes aos medicamentos antirretrovirais tem papel fundamental em limitar o sucesso virológico em longo prazo desse tratamento. Devido a um número maior de ARVs e de novas classes ARVs, a supressão virológica tornou-se possível na maioria dos pacientes com esquemas anteriores falhados. Identificar e compreender a resistência pode, portanto,

ajudar a evitar o uso de ARVs poucos ativos em favor de novos ARVs totalmente ou quase totalmente ativos. Portanto, estratégias para diminuir a emergência de cepas resistentes aos ARVs e testes de monitoramento de resistência tem um papel relevante no manuseio dos pacientes em tratamento (BRASIL, 2013c; TANG; SHAFER, 2012).

Vários estudos retrospectivos e prospectivos têm demonstrado uma enorme correlação entre o número de medicamentos ativos em um esquema terapêutico (vírus do paciente é sensível) e a resposta virológica a esse esquema; confirmando que o uso dos testes de resistência auxiliam as decisões terapêuticas e ajudam na obtenção de um melhor desempenho na resposta virológica (BRASIL, 2013c).

A terapia antirretroviral pode selecionar as mutações no gene *pol* associadas com resistência aos inibidores da transcriptase reversa e inibidores da protease que constituem os alvos da terapia ARV; os dados sobre os tratamentos eficazes após falha virológica e a seleção de resistência às drogas é amplamente associado ao HIV-1 subtipo B, o mais prevalente na América do Norte e Europa (KANTOR; KATZENSTEIN, 2004).

Casos de transmissão de vírus resistentes têm sido relatados desde o início da década de 90. Como o primeiro ARV a ser utilizado foi a zidovudina (AZT ou ZDV), os primeiros relatos de transmissão de vírus com mutação de resistência relacionavam-se a mutações a esse fármaco. Com a disponibilização de novos ARVs, iniciaram-se, também, os relatos de transmissão de vírus com mutações relacionados às outras drogas (DIAZ, 2011).

Para países em desenvolvimento, a OMS caracterizou a resistência primária em três níveis: baixa quando se detecta taxa inferior a 5%, intermediária quando está entre 5% e 15% e elevada quando é superior a 15%. A determinação da prevalência de resistência primária em diferentes localidades do mundo é de extrema importância para o monitoramento da epidemiologia molecular do HIV-1, podendo orientar terapêutica empírica inicial dos pacientes de determinada área geográfica (DIAZ, 2011). Segundo a OMS, a vigilância da resistência transmitida do HIV é uma ação indispensável para a orientação das políticas de atenção, tratamento e cuidado; reduzindo a emergência de vírus resistente e potencializando a efetividade do tratamento em longo prazo (BERTAGNOLIO *et al.*, 2008).

No mundo, a prevalência de resistência transmitida a pelo menos uma droga antirretroviral varia de 2,2% a 24% mesmo em diferentes regiões de um mesmo continente. Essa variação parece estar relacionada com o acesso a terapia (universal vs. limitada). No EUA a prevalência de resistência transmitida é de 8% a 15%, na Europa é de 5% a 18%, na

Ásia 13,8% e na África de 2,2% a 24% (CECCHERINI-SILBERSTEIN *et al.*, 2010; YANIK *et al.*, 2012).

Um estudo realizado no Sudeste dos EUA em 720 pacientes com infecção aguda e crônica encontrou alta prevalência (16%) de resistência transmitida, sendo os ITRNN a classe mais elevada e a mais baixa a classe dos IP (YANIK *et al.*, 2012). Outro dado importante relaciona-se ao aumento progressivo da prevalência de resistência primária nos EUA entre indivíduos com infecção primária/recente, de 13% entre 1995-1998 a 20% nos anos de 1999-2000 (PILLAY, 2004; SOARES, 2004). Ficou evidente, a partir dos anos 90 que a tendência mundial é de aumento específico da resistência aos ITRNN. Em parte, devido ao aumento da utilização ITRNN nos esquemas terapêuticos e também a persistência de mutações comuns, tais como a K103N, que permanecem mesmo na ausência de antirretrovirais, principalmente no trato genital. Em contraste, na Europa os estudos têm mostrado estabilização e, possivelmente, tendência de queda na prevalência de resistência transmitida nos últimos anos (YANIK *et al.*, 2012).

No Brasil, estudo realizado pela Rede de Isolamento e Caracterização do HIV (RENIC) em 2003 em oito estados (Rio Grande do Sul, Paraná, São Paulo, Rio de Janeiro, Mato Grosso do Sul, Pará, Bahia e Ceará) utilizando 535 amostras (incluindo 30 amostras do Ceará) obtidas de indivíduos com teste positivo para o HIV, recrutados em 13 Centros de Testagem e Aconselhamento, com o objetivo de monitoramento da resistência transmitida aos ARVs, mostrou prevalência global de 6,6%, sendo 4,42% para os ITRN e ITRNN; 2,2% para os IP. Curiosamente com o predomínio de resistência aos análogos de nucleosídeos e sem prevalência de resistência a múltiplas classes de ARVs (BRINDEIRO, *et al.*, 2003).

Estudo subsequente, utilizando a mesma estratégia, em 210 amostras coletadas em 2007-2008 em seis cidades (São Paulo, Rio de Janeiro, Salvador, Porto Alegre, Brasília e Belém), mostrou que a incidência global brasileira de resistência transmitida aumentou para 8,1%, sendo entre 5% e 15% em São Paulo, Rio de Janeiro, Brasília e Belém, e abaixo de 5% em Salvador e Porto Alegre. Dessa vez, a prevalência de resistência foi superior nos ITRNN (4,3%), de forma semelhante ao que se observa em países desenvolvidos (INOCÊNCIO *et al.*, 2009). Prevalência muito elevada de resistência transmitida entre as pessoas com infecção recente foi detectada na cidade de Santos, São Paulo (36%) (SUCUPIRA *et al.*, 2007), sendo também considerada alta na cidade de Salvador, Bahia (18,9%) (PEDROSO *et al.*, 2007).

Um estudo com 341 doadores de sangue HIV soropositivos das cidades de São Paulo, Recife, Belo Horizonte e Rio de Janeiro, encontrou prevalência primária global de

12,2%, sendo a prevalência de doadores de sangue de São Paulo de 19,4% (ALENCAR *et al.*, 2013).

De fato, a prevalência de resistência transmitida tem sido considerada como intermediária no Brasil, é importante ressaltar as diferenças metodológicas entre os estudos, como uso dos critérios IAS-USA (Internacional AIDS Society) ou a lista de mutações da OMS para a vigilância de resistência transmitida; que dificultam a comparação dos níveis de resistência nas diferentes regiões do país.

1.7.1 Mecanismos de resistência e mutações

A emergência de resistência aos ARVs consiste em mecanismo de seleção natural. Significa que, com a pressão seletiva do meio ambiente do vírus, as cepas virais mais adaptadas a esse meio ambiente serão selecionadas e prevalecerão na presença de ARVs. A seleção acontece muito rapidamente em função do ciclo de vida dinâmico do vírus. As mudanças nos vírus acontecem em função das mutações genéticas que emergem no HIV. Quando se leva em consideração: o índice de erros naturais da enzima transcriptase reversa (TR), o altíssimo índice de replicação do vírus, em que uma pessoa cronicamente infectada e sem tratamento produz e elimina 10 bilhões de vírus diariamente e o tamanho do genoma do vírus; todas as mutações possíveis são geradas diariamente ao longo do genoma do HIV -1 (DIAZ, 2011).

A diversidade genética do HIV o torna capaz de escapar da vigilância do sistema imune e da atividade dos ARVs, através da resistência (DIAZ, 2011). O desenvolvimento de resistência ocorre quando a supressão da replicação viral é parcial, principalmente por doses subótimas do medicamento. O medicamento inibe os vírus selvagens, sensíveis à ação das drogas e após um tempo, os vírus mutantes resistentes se tornam predominantes.

O Quadro 2 mostra um resumo dos principais mecanismos de ação das drogas ARVs e os seus mecanismos de resistência. As mutações denominadas *transitions* são as mais frequentes, a troca de bases nitrogenadas do mesmo grupo (purina em purina e pirimidina em pirimidina) e ocorrem em aproximadamente 80% dos casos. Os 20% restantes são *transversions*, onde há troca de pirimidina em purina ou vice-versa. Mutações do tipo *frameshifts*, com duplicação e supressão de inserção, são mais raras (VELOSO; FINK; LIMA, 2010).

Quadro 2 – Mecanismo de ação e de resistência aos antirretrovirais

Drogas	Mecanismos de ação	Mecanismos de Resistência
Análogos de nucleosídeo Zidovudina Lamivudina Estavudina Didanosina Zalcitabina Abacavir	Agem como derivados trifosfatados ativos incorporados na nascente do DNA viral terminando prematuramente a síntese do DNA do HIV.	Mutações análogas de timidina promovem a excisão ATP e pirofosfato mediada do terminal incorporado. Complexos M184V ou Q151M impedem a incorporação de análogos de nucleosídeos.
Análogos de Nucleotídeo Tenofovir	Mesmo que análogos de nucleosídeos.	K65R impede incorporação do tenofovir no DNA. Mutações análogas de timidina geralmente associam-se com resistência cruzada ao tenofovir.
Inibidores não da transcriptase reversa Nevirapina Efavirenz Delavirdina	Bloqueiam o bolso hidrofóbico da transcriptase reversa do HIV1, e a polimerização do DNA viral, inativos contra HIV-2.	Mutações diminuem a afinidade do inibidor pela enzima.
Inibidores de Protease Saquinavir Ritonavir Indinavir Nelfinavir Amprenavir Lopinavir	Estrutura derivada de substratos peptídicos naturais da protease HIV tipo 1, ligam-se ao sítio ativo da protease.	Mutações diminuem a afinidade do inibidor pela enzima. Alto nível de resistência requer acúmulo de mutações.
Inibidores de fusão Enfuvirtida	Aminoácido peptídico 36 derivado do domínio HR2 da glicoproteína 41, interfere com a fusão da membrana dependente da glicoproteína 41.	Mutações afetam HR1, um domínio de glicoproteína 41 que interage com HR2 promovendo a fusão da membrana.

Fonte: Adaptado de Clavel e Hance (2004).

Mais de 200 mutações estão associadas à resistência aos antirretrovirais das seis classes de antirretrovirais. São mais de 50 mutações na transcriptase reversa associadas com resistência aos ITRN, incluindo M184V, TAMs (mutações associadas aos análogos de timidina, do inglês thymidine analogue mutations) e mutações associadas aos não análogos de timidina. Mais de 40 mutações na transcriptase reversa estão associadas aos ITRNN incluindo mutações principais e secundárias, mutações secundárias não polimórficas. São mais de 60 mutações associadas à resistência aos IP, incluindo mutações principais, acessórias e

mutações nos sítios de clivagem da protease. Mais de 30 mutações na integrase estão associadas ao raltegravir. Mais de 15 mutações na gp41 estão associadas ao inibidor de fusão enfuvirtida. Resistência aos inibidores de CCR5 resulta de mutações que promovem a ligação da gp120 a um inibidor do receptor CCR5 ou tropismo CXCR4 (SHAFER; SCHAPIRO, 2008). Com o crescente uso de drogas ARVs no tratamento da infecção pelo HIV-1, as mutações associadas à resistência aos antirretrovirais e a transmissão de cepas resistentes tem sido um empecilho ao controle da epidemia (Figura 6).

Figura 6 - Lista de mutações do HIV associadas à Resistência Transmitida aos ITRN, ITRNN, IP.

NRTI		NNRTI		PI	
M41	L	L100	I	L23	I
K65	R	K101	E, P	L24	I
D67	N, G, E	K103	N, S	D30	N
T69	D, Ins	V106	M, A	V32	I
K70	R, E	V179	F	M46	I, L
L74	V, I	Y181	C, I, V	I47	V, A
V75	M, T, A, S	Y188	L, H, C	G48	V, M
F77	L	G190	A, S, E	I50	V, L
Y115	F	P225	H	F53	L, Y
F116	Y	M230	L	I54	V, L, M, A, T, S
Q151	M			G73	S, T, C, A
M184	V, I			L76	V
L210	W			V82	A, T, F, S, C , M, L
T215	Y, F, I, S, C, D, V, E			N83	D
K219	Q, E, N , R			I84	V, A, C
				85	V
				N88	D, S
				L90	M

New mutations are in **bold**

from **Drug Resistance Mutations for Surveillance of Transmitted HIV-1 Drug-Resistance: 2009 Update**,
 Authors: Diane E. Bennett¹, Ricardo J. Camacho², Dan Otelea³, Daniel R. Kuritzkes⁴, Hervé Fleury⁵, Mark Kiuchi⁶, Walid Heneine⁷, Rami Kantor⁸, Michael R. Jordan⁹, Jonathan M. Schapiro⁶, Anne-Mieke Vandamme¹⁰, Paul Sandstrom¹¹, Charles A.B. Boucher^{12,13}, David van de Vijver¹¹, Soo-Yon Rhee⁶, Tommy F Liu⁶, Deenan Pillay¹⁴, Robert W. Shafer⁶

Fonte: Stanford (2014).

1.7.2 Resistência associada aos Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos de Nucleotídeos e Nucleosídeos – ITRN

Os ITRN são medicamentos estruturalmente semelhantes aos nucleosídeos (adenosina, guanosina, citosina e timina). Durante o processo da transcrição reversa, os ITRN substituirão os nucleosídeos verdadeiros de forma competitiva. ZDV e o d4T são análogos de timina; o 3TC e o FTC são análogos de citosina; o ddI e o TDF são análogos de adenosina e o ABC é análogo da guanosina. Desse modo, durante a polimerização do vírus, a TR pode, em vez de usar o nucleotídeo verdadeiro, inserir seu análogo no final da cadeia e assim, interromper essa etapa do ciclo replicativo do HIV. Os ITRN precisam ser trifosforilados. A diferença entre os análogos de nucleotídeos (TDF) e os análogos de nucleosídeos, consiste no fato de que os primeiros já vêm pré-fosforilados, necessitando de uma etapa a menos de fosforilação que os últimos (CLAVEL, 2004; DIAZ, 2011; MEDEIROS, 2011; SHAFER, 2000).

Dois mecanismos principais são responsáveis pela resistência aos ITRN: impedimento da incorporação do análogo no DNA e remoção do análogo da cadeia terminal do DNA (CLAVEL, 2004; CLAVEL; HANCE, 2004; MEDEIROS, 2011; SHAFER, 2000).

a) Impedimento na incorporação dos análogos

Várias mutações ou grupos de mutações na TR podem promover resistência ao alterar seletivamente a afinidade da TR na incorporação do análogo à nova cadeia de DNA. As mutações ocorrem próximo ao sítio catalítico da TR, resultando num aumento da discriminação por esta enzima (TANG; SHAFER, 2012).

As principais mutações são M184V/I, K65R, K70E/G, L74V, Y115F e o complexo de mutações Q151M (Figura 7). Essas mutações permitem a TR discriminar entre terminadores de cadeia didesoxi e os dNTPs produzidos naturalmente, impedindo assim ITRN de serem incorporados a uma cadeia de DNA viral crescente (TANG; SHAFER, 2012).

A mutação M184V substitui a metionina por valina na posição 184 da transcriptase reversa, e é a principal mutação que confere resistência à Lamivudina. A metionina 184 está localizada no centro do sítio catalítico da transcriptase reversa e a sua substituição por uma valina, que tem uma cadeia lateral diferente, interfere com o posicionamento adequado da lamivudina trifosfatada no sítio catalítico. A mutação M184V induz a níveis muito elevados de resistência à lamivudina. Quando a lamivudina é usada como

agente único, cepas resistentes superam a replicação do vírus selvagem em poucas semanas, e quando a lamivudina faz parte de um esquema antirretroviral em falha, a mutação M184V é quase sempre a primeira a emergir (CLAVEL; HANCE, 2004).

O grupo de mutações referido como o complexo Q151M é mais frequentemente selecionada durante falha dos esquemas com d4T e ddI. Esta via sempre começa com a substituição Q151M, um resíduo localizado na proximidade imediata do local de ligação de nucleotídeos da transcriptase reversa e é seguido pelo acúmulo gradual de mutações secundárias que aumentam a resistência e a atividade da enzima. O complexo Q151M é relativamente raro em amostras clínicas (menos de cinco por cento de todas as cepas HIV com resistência a análogos nucleosídeos), mas pode conferir resistência para a maioria dos análogos, exceto lamivudina e tenofovir. O complexo Q151M é mais frequente em indivíduos infectados com o vírus HIV-2 do que com o HIV-1 (CLAVEL, 2004, CLAVEL; HANCE, 2004).

A mutação K65R é vista com maior frequência em pacientes nos quais a terapia com análogos nucleosídeos ou nucleotídeos falham, especialmente quando o esquema inclui tenofovir ou abacavir. Esta mutação parece conferir resistência à maioria dos análogos, com a exceção de zidovudina (CLAVEL, 2004, CLAVEL; HANCE, 2004).

b) Remoção do análogo da cadeia terminal do DNA

A remoção do análogo de nucleosídeos a partir da cadeia de DNA terminal está associada o grupo de mutações designado como TAMs (M41L, D67N, K70R, L210W, T215Y/F, K219Q/E) (Figura 7). Mutações deste grupo são as mais frequentes após falha dos inibidores análogos de timidina (AZT e d4T), promovendo a resistência a quase todos os análogos de nucleosídeos e nucleotídeos, incluindo o Tenofovir (CLAVEL, 2004, CLAVEL; HANCE, 2004; TU *et al.*, 2010).

Estas mutações ocorrem gradualmente e sua ordem de emergência pode variar. Mutações de análogos de timidina promovem a resistência através da remoção de ATP fosforilado ou a remoção mediada por pirofosfato de análogos de nucleosídeos da extremidade 3' da cadeia de DNA terminal. ATP e pirofosfato, embora sejam abundantes em linfócitos normais, não participam da reação de polimerização de DNA, mas a estrutura de uma transcriptase reversa expressa mutações aos análogos da timidina e facilita a sua entrada em um local adjacente ao análogo incorporado (CLAVEL, 2004, CLAVEL; HANCE, 2004, TU *et al.*, 2010, MEDEIROS, 2011, TANG; SHAFER, 2012). Nesta posição, o ATP ou

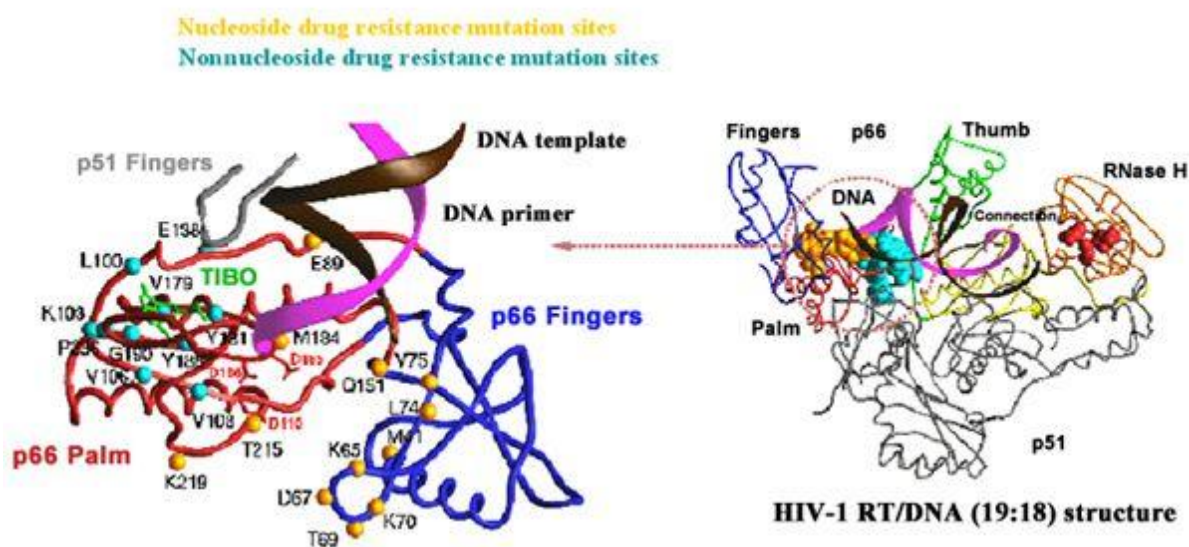
pirofosfato pode atacar a ligação fosfodiéster que liga o análogo de DNA, resultando na remoção do análogo. A eficácia deste processo, conhecido como "resgate de primer", pode ser significativamente diminuída pela presença de outras mutações na transcriptase reversa, como a M184V, que retarda a seleção de mutações e podem aumentar a atividade antirretroviral residual de alguns análogos como o tenofovir, apesar da presença de mutações aos análogos de timidina (CLAVEL, 2004, CLAVEL; HANCE, 2004, SHAFER; KANTOR; GONZALES, 2000). A M184V na presença de TAMs confere resistência não somente a zidovudina, mas também a outros ITRN, inclusive ao d4T, ddI e ABC. As TAMs apresentam dois padrões de resistência. As TAMs do tipo I incluem as mutações M41L, L210W e T215Y, que causam altos níveis de resistência aos análogos da timina e em menor grau ao ABC, ddI e TDF. As TAMs do tipo II incluem as mutações D67N, K70R, T215F e K219Q/E. A mutação D67N também ocorre frequentemente com a TAM do tipo I (SHAFER; SCHAPIRO, 2008).

1.7.3 Resistência associada aos Inibidores da Transcriptase Reversa Não Nucleosídeos – ITRNN

Inibidores da transcriptase reversa não nucleosídeos são inibidores não competitivos que se ligam a um sítio alostérico da enzima e têm uma forte afinidade pelo bolso hidrofóbico localizado perto do domínio catalítico da transcriptase reversa. A ligação dos inibidores afeta a mobilidade e flexibilidade da enzima, bloqueando assim a sua capacidade de síntese de DNA (CLAVEL, 2004, CLAVEL; HANCE, 2004, TANG; SHAFER, 2012).

As mutações selecionadas por essa classe de droga estão localizadas no bolso alvo destes compostos e reduzem a afinidade aos fármacos. Apresentam fraca barreira genética, uma ou duas mutações causam elevada resistência aos ITRNN. O HIV-1 subtipo O e HIV-2 são intrinsecamente resistentes aos ITRNN (CLAVEL, 2004, CLAVEL; HANCE, 2004, TANG; SHAFER, 2012).

Figura 7- Estrutura da TR e os sítios de mutações de resistência aos ITRN e ITRNN.



Fonte: PRLOG (2014)

As mutações mais frequentes dos ITRNN são L100I, K101EP, K103NS, V106AM, Y181CIV, Y188L, G190ASE e M230L (Figura 7). A mutação K103N é a mutação mais comum e confere resistência a todas as drogas pertencentes a essa classe e ainda mantém o fitness viral adequado. Com exceção da L100I, todas causam alta resistência a Nevirapina. Com exceção da V106A e Y181CIV, essas mutações causam resistência intermediária a alta ao Efavirenz. A K103N ou Y188L isolados podem reduzir substancialmente a atividade de todos os ITRNN (CLAVEL, 2004, CLAVEL; HANCE, 2004, TANG; SHAFER, 2012).

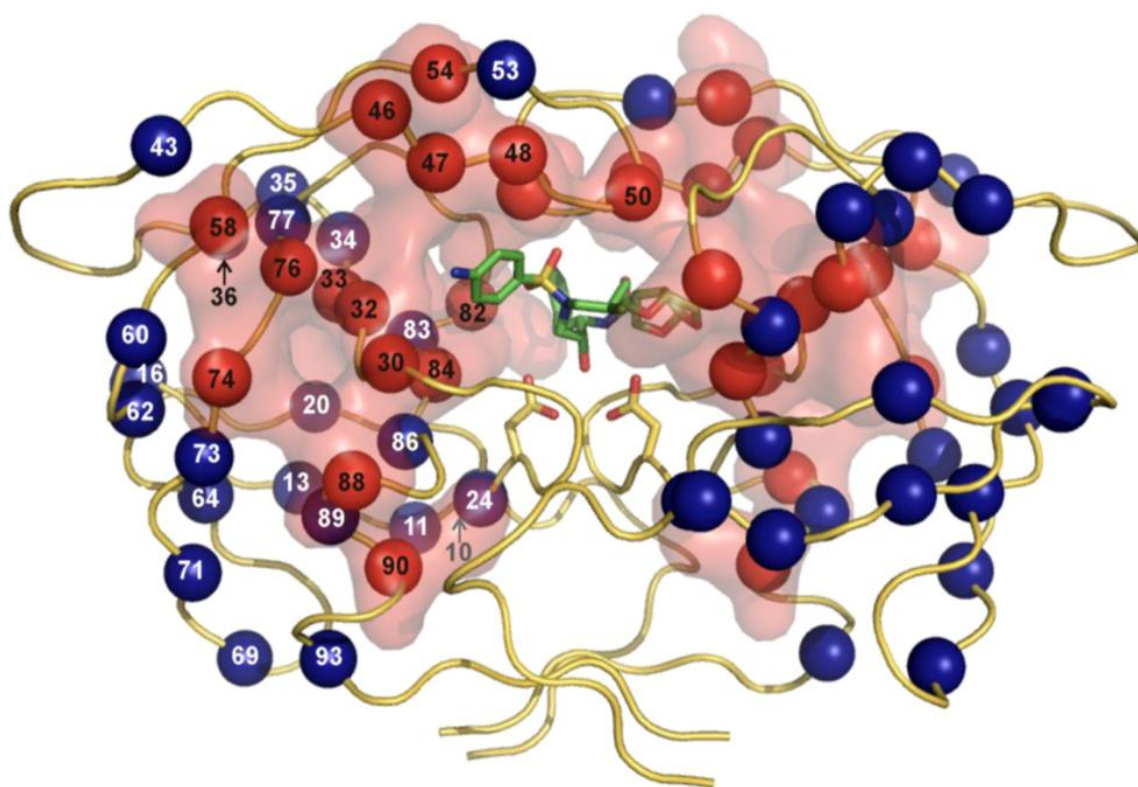
1.7.4 Resistência associada aos Inibidores de Protease – IP

A protease (PR) cliva as poliproteínas precursoras dos genes *gag* e *gag-pol*, liberando as proteínas estruturais e enzimas necessárias para a montagem de partículas virais infectantes. Na ausência de uma protease funcional, são produzidas partículas virais, mas estas são imaturas e não infectantes. A protease do HIV é uma enzima homodimérica com uma cavidade central de ligação do substrato. Os inibidores imitam a estrutura química dos peptídeos virais que são reconhecidos e clivados pela protease. Estes compostos apresentam uma forte afinidade pela a substância ativa da protease e inibem a atividade catalítica da enzima de modo altamente seletivo. A resistência aos inibidores de protease costuma ser consequência das substituições de aminoácidos que surgem no interior do domínio de ligação

do substrato da enzima ou próximo. Direta ou indiretamente, as mudanças de aminoácidos modificam os pontos de contato entre os inibidores e a protease, reduzindo a sua afinidade pela enzima (Figura 8) (CLAVEL, 2004).

As mutações principais são D30N, V32I, M46IL, G48VM, I50VL, I54VTALM, L76V, V82ATFS, I84V, N88S e L90M. A mutação D30N é selecionada pelo Nelfinavir e a I50L pelo Atazanavir, causam alto nível de resistência a um único IP (TANG; SHAFER, 2012).

Figura 8 - Sítios de mutações de resistência aos IP.



Fonte: Pokorná *et al* (2009)

A mutação de resistência V82A reduz o tamanho de um resíduo de aminoácido, em que a protease é mais importante para a ligação da maior parte dos inibidores do que para a ligação do substrato natural da proteína viral. Os inibidores de protease se ligam à protease com afinidade máxima e tendem a ocupar mais espaço dentro do sítio ativo do que os substratos naturais. Existe uma sobreposição considerável entre as combinações de mutações de cepas HIV que desenvolvem resistência aos inibidores da protease. Esta sobreposição

explica a resistência cruzada que é geralmente observado dentro desta classe de drogas. A resistência aos inibidores de protease também pode ser promovida por mutações em alguns dos substratos naturais virais da protease. Substituições característica de aminoácidos próximos aos locais de clivagem da poliproteína *gag* podem aumentar o nível de resistência e da capacidade de replicação do vírus ao facilitar a clivagem quando a quantidade de enzima ativa é subótima (CLAVEL, 2004).

1.7.5 Resistência associada aos Inibidores de Fusão

Os Inibidores de Fusão impedem a penetração do vírus nos linfócitos. O vírus entra na célula alvo através de uma sequência de interações entre o complexo de glicoproteína do envelope do HIV (gp120-gp41) e receptores específicos da superfície celular. Os processos iniciais permitem ao gp41 interagir com a membrana celular. A membrana do vírus e a célula alvo se aproximam iniciando a fusão por rearranjo da gp41. Neste momento, uma região hidrofóbica distal, HR2, liga-se a uma região hidrofóbica mais proximal, HR1, efetivamente, encurtando a molécula. O fármaco enfuvirtida, é um aminoácido peptídico de 36 Kb, derivado do HR2, que desestabiliza esse processo, ligando-se ao HR1 e bloqueando a infectividade do HIV-1 (CLAVEL, 2004, TANG; SHAFER, 2012).

A enfuvirtida tem baixa barreira genética. A resistência viral a essa droga resulta de mutações localizadas num perímetro de 10 aminoácidos do HR1. Mudanças na gp41 ou gp120 são associadas com diferenças na susceptibilidade viral a esta droga. Mutações na gp41 do códon 36-45, a região que a enfuvirtida se liga, são as principais responsáveis pela resistência a essa droga. As mutações G36DEV, V38EA, Q40H, N42T e N43D causam alto nível de resistência a enfuvirtida (CLAVEL, 2004, TANG; SHAFER, 2012).

1.7.6 Resistência associada aos Inibidores de Integrase

A integrase é uma enzima fundamental para a replicação viral do HIV. Depois que a TR produz a fita dupla de RNA do HIV, a integrase tem a função de incorporar o genoma transcrito do HIV no genoma celular do hospedeiro. A enzima integrase se liga às extremidades do DNA do HIV, a porção proximal, a região 5' e a porção final, a região 3' (DIAZ, 2011).

Destarte, o DNA do HIV fica numa forma circular com as duas extremidades ligadas a integrase. A enzima então leva o DNA do HIV ao interior do núcleo celular, promovendo a catálise do DNA humano em uma determinada posição e inserindo o genoma do HIV no genoma do hospedeiro (integração). Os inibidores da integrase, raltegravir e etravirina se ligam a uma alça da enzima integrase entre os resíduos proteicos que correspondem aos aminoácidos 140 e 149. Essa é justamente a região da enzima conhecida como domínio catalítico, que faz com que exista uma “quebra” no genoma do hospedeiro para “introdução” do genoma do HIV. Além disso, a interação mais potente desses inibidores se dá com os resíduos Y143, Q148, N155 ou E92, alguns dentro e outros fora da alça. A ligação dos inibidores nessa alça diminui a flexibilidade da enzima integrase e impede a ligação da região terminal (região 3') do genoma do HIV à região do genoma humano. Essa alça, onde se ligam os inibidores, também perde a flexibilidade quando mutações de resistência são selecionadas. Essa flexibilidade é a condição necessária para catalisar a integração. Essas mutações de resistência selecionadas na integrase ainda permitem a integração do HIV, mas com uma dinâmica menor, repercutindo na perda do fitness do vírus mutante (DIAZ, 2011).

A resistência ao raltegravir ocorre por três vias: N155H seguido de E92Q; Q148HRK+G140SA e Y143CR+T97A (TANG; SHAFER, 2012).

1.7.7 Antagonistas de CCR5

O maraviroc atua sobre a membrana da célula humana hospedeira, impedindo o processo de entrada do vírus no linfócito T CD4. No mecanismo de entrada do HIV-1, a região conservada da gp120 (C4) se une a molécula de CD4 celular, a região hipervariável da gp120 (V3) se liga ao correceptor CCR5 ou CXCR4 celular e a gp41 se liga ao receptor conhecido como domínio de fusão, que é um glicosaminoglicano presente na superfície celular (DIAZ, 2011). O maraviroc é uma molécula pequena que se liga ao correceptor CCR5, porém não no sítio de ligação do HIV, essa ligação promove uma mudança de conformação no correceptor, impedindo a interação do vírus com seu sítio de ligação, uma inibição alostérica e não competitiva.

O maraviroc inibe a ligação da glicoproteína gp120 do envelope viral do HIV ao correceptor do hospedeiro CCR5 (R5). O maraviroc é um antagonista seletivo dos receptores de quimiocinas; previne a interação da glicoproteína gp120 ao receptor CCR5. As mutações relacionadas à resistência a esse medicamento serão encontradas na região do gene que

codifica o envelope viral. O motivo de falha ao maraviroc é a presença de variantes minoritárias do vírus com tropismo para o receptor CXCR4 ou X4. O HIV-1 pode desenvolver resistência ao maraviroc através de mutações que permitam a gp120 se ligarem a um inibidor ligado ao receptor R5.

Logo após a infecção, predominam cepas que utilizam o correceptor CCR5, ou seja, cepas com tropismo R5. Na infecção avançada, tende a surgir a variante X4, que utiliza o correceptor CXCR4 para entrar na célula, cepas com tropismo X4 (DIAZ, 2011).

1.7.8 Genotipagem pré-tratamento e Resistência Transmitida

No Brasil, a genotipagem pré-tratamento está indicada para pessoas que tenham se infectado com parceiro em uso de TARV (atual ou progresso), uma vez que a possibilidade de transmissão de mutações de resistência parece ser mais provável nessa situação. A genotipagem pré-tratamento também está indicada para gestantes e crianças infectadas pelo HIV (BRASIL, 2013c).

O impacto da genotipagem pré-tratamento foi avaliado a partir de uma revisão sistemática de estudos publicados sobre resistência primária ou transmitida, com informações sobre desfecho terapêutico. A maioria desses estudos é retrospectiva e apresenta resultados conflitantes. Alguns demonstraram maior probabilidade de falha virológica em pacientes com mutações de resistência antes do início da terapia, enquanto outros não encontraram diferenças em relação a esse desfecho (BRASIL, 2013c).

Mais recentemente, novas técnicas de detecção de populações virais minoritárias, mais sensíveis do que a genotipagem convencional, permitiram detectar uma maior proporção de mutações de resistência, correlacionando-as com maior chance de falha virológica. Outro aspecto importante para a análise de efetividade e custo-efetividade da genotipagem pré-tratamento seria a prevalência da resistência primária ou transmitida do HIV-1 na população, uma vez que esta determina o número de testes de genotipagem necessários para encontrar um caso em que o exame efetivamente influenciaria na decisão terapêutica. Desse modo, considerando que a prevalência da resistência primária ou transmitida apresenta significativas diferenças regionais, a avaliação de custo-efetividade dessa estratégia deve ser avaliada em cada contexto epidemiológico (BRASIL, 2013c).

Estudos realizados nos EUA e Europa sugerem que a prevalência de resistência primária, a pelo menos um antirretroviral, varia entre 6% e 16% (BRASIL, 2013c). A

prevalência de resistência transmitida na América Latina é 7,7%; Caribe 4,3%; México 3,9% e Brasil 9,4% (PINEDA- PENÃ *et al.*, 2012); na Venezuela e Argentina, utilizando a metodologia recomendada pela OMS, a prevalência foi de 5% e 8,4%, respectivamente (BRASIL, 2013c).

Os dados disponíveis no Brasil, relativos à prevalência de resistência virológica são discrepantes, seja pela heterogeneidade metodológica dos estudos ou por possíveis diferenças na prevalência regional (BRASIL, 2013c). Dois estudos adotaram o critério da padronização das mutações de resistência transmitida (MRT), propostas pela OMS, incluindo amostras das cinco regiões do Brasil, embora não representativas do país, ou mesmo das regiões brasileiras. A prevalência nacional de mutações de resistência primária global encontrada foi de 8,1% (2009) e 12,2% (2013) (ALENCAR *et al.*, 2013; INOCENCIO, *et al.*, 2009).

Em síntese, inexistem evidências publicadas com metodologia adequada que sustentem de modo inequívoco o benefício da implantação rotineira de genotipagem pré-tratamento no Brasil. É preciso ponderar vantagens e desvantagens de sua utilização, incluindo o potencial retardo no início da TARV e o impacto desfavorável na Rede Nacional de Genotipagem (RENAGENO), sendo necessários estudos representativos para avaliar a magnitude da resistência transmitida do HIV no Brasil (BRASIL, 2013c).

1.8 Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA)

Uma das respostas nacionais à epidemia de AIDS foi a ampliação do acesso à saúde e a prevenção como um direito de todos. As estratégias de acesso à testagem para o HIV, hepatites virais e outras DST foram estruturadas, no Brasil, resguardando o sigilo, a confidencialidade e a liberdade de escolha, como valores intrínsecos ao processo (BRASIL, 2010).

A partir da década de 80, a estruturação dos Centros de Testagem e Aconselhamento (CTA), oferecendo a testagem gratuita, confidencial e anônima, partindo da educação em saúde e do aconselhamento como abordagens de redução de risco e vulnerabilidade. Desde então, mais de 400 CTA foram implantados em todo território nacional, de forma a ampliar o acesso da população brasileira à testagem, prioritariamente os segmentos populacionais mais vulneráveis (BRASIL, 2010).

A partir de 2003, o processo de descentralização da testagem e aconselhamento para o HIV na atenção básica intensificou-se, possibilitando maior cobertura e acessibilidade. No caso das hepatites virais, a inclusão da testagem sorológica nos CTA se deu a partir de 2004, o que implicou a readequação destes e a reestruturação da rede de referência, a capacitação dos profissionais sobre os modos de transmissão e medidas de controle e a interpretação de marcadores sorológicos. A necessidade de descentralizar e ampliar o acesso, aliada à introdução de novas tecnologias de testagem, a exemplo do teste rápido, estabeleceram mudanças estratégicas na rotina do CTA como indutor e retaguarda desse processo no sistema de saúde, assim como executor e formador no uso de novas tecnologias e como espaço de acolhimento e prevenção, principalmente para segmentos populacionais mais vulneráveis. Nesse sentido, o CTA exerce papel central na efetivação do princípio da equidade no SUS, incluindo a particularidade de grupos prioritários – homens que fazem sexo com homens, profissionais do sexo, usuários de álcool e outras drogas e travestis, entre outros – na construção de um sistema de saúde universal. Após vinte e cinco anos da implantação do primeiro CTA no país e dezoito anos de acesso universal à terapia antirretroviral, os CTA continuam a serviço do enfrentamento das DST, AIDS e das hepatites B e C. Sua construção está baseada nos dados do estudo “Diagnóstico Situacional dos Centros de Testagem e Aconselhamento (CTA) do Brasil”. A atualização continua das diretrizes e sua incorporação em todos os CTA do país pode fortalecer a rede de serviços, renovando a importância e a competência dos CTA como pontos estratégicos para a política de enfrentamento da epidemia da AIDS (BRASIL, 2010).

O Centro de Testagem e Aconselhamento Carlos Ribeiro (CTA) de Fortaleza localizado no bairro Jacarecanga é um serviço de saúde, que tem como principal característica a disponibilização de aconselhamento e testagem sorológica de forma rápida e simples, seguindo o modelo de atendimento proposto pelo Ministério da Saúde, realizando gratuitamente os testes rápidos para o HIV, hepatites e sífilis (BRASIL, 2010).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Conhecer as características individuais e dos isolados virais de pacientes com infecção pelo HIV, virgens de terapia antirretroviral, recém-diagnosticado no Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA) de Fortaleza.

2.2 Objetivos Específicos

- a) Estimar a prevalência de infecção pelo HIV na população de usuários do CTA;
- b) Descrever o perfil sócio comportamental dos pacientes com diagnóstico recente de infecção pelo HIV;
- c) Avaliar os parâmetros imunológicos e virológicos de pacientes com diagnóstico recente de infecção pelo HIV, buscando inferir a precocidade do diagnóstico;
- d) Avaliar a prevalência de mutações associadas à resistência transmitida do HIV-1 aos antirretrovirais em pacientes com diagnóstico recente;
- e) Identificar a distribuição dos subtipos do HIV-1 nas sequências genéticas virais identificadas em pacientes com diagnóstico recente;
- f) Descrever as características epidemiológicas e clínicas de pacientes com isolados virais com identificação de mutações associadas à resistência transmitida ou subtipo não-B.

3 CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1 Desenho do Estudo

Estudo observacional, transversal e descritivo envolvendo usuários do Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA) do município de Fortaleza que durante o período de outubro de 2013 a setembro de 2014 procuraram o serviço com o objetivo de realização de testes para HIV, hepatites e sífilis.

3.2 Área do Estudo

O Centro de Testagem e Aconselhamento Carlos Ribeiro (CTA) no município de Fortaleza está localizado no bairro Jacarecanga, na Rua Jacinto Matos número 944. O CTA é um serviço de saúde, que tem como principal característica a disponibilização de aconselhamento e testagem sorológica de forma rápida e descomplicada, seguindo o modelo de atendimento proposto pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2010), realizando gratuita e, quando necessário, anonimamente os testes rápidos para o HIV, hepatites e sífilis, comunicando imediatamente aos usuários o resultado dos mesmos. O serviço também oferece suporte emocional com vários profissionais treinados para realizar o aconselhamento pré e pós-teste, como enfermeiros, assistentes sociais e médicos. A população de usuários do CTA costuma representar casuística diferenciada, devido a maior procura por parte de indivíduos de maior vulnerabilidade e probabilidade de identificação de infecção recente pelo HIV-1, pois se supõe que a maior parte dos usuários tenha procurado o serviço motivado por exposição de risco prévio, muitas vezes recente (BRASIL, 2010).

3.3 População Alvo

Os indivíduos que espontaneamente procuraram o Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA) do município de Fortaleza no período do estudo foram convidados a participar do mesmo. Os indivíduos com resultado reagente para o HIV tinham agendadas consultas de enfermagem dentro do prazo aproximado de uma semana. Neste momento os mesmos eram convidados a participar do estudo, após explicação objetiva das suas principais características. Os voluntários que se dispuseram a participar foram entrevistados utilizando o

Questionário Sócio comportamental (ANEXO C) e o Questionário Clínico-Laboratorial (ANEXO D) além do preenchimento do Formulário SI-CTA (ANEXO B). Estes também recebiam as solicitações dos exames de rotina e do estudo.

3.4 Critérios de inclusão e exclusão

Os pacientes foram recrutados entre os usuários do Centro de Testagem e Aconselhamento Carlos Ribeiro (CTA) do município de Fortaleza durante o período do estudo de acordo com os seguintes critérios de inclusão: Homens ou mulheres com idade igual ou acima de 18 anos, com dois testes rápidos reagentes para o HIV. Os testes rápidos utilizados eram baseados em imunocromatografia (Rapid Check HIV 1/2 e Bio Manguinhos HIV 1/2).

Os critérios de exclusão eram o conhecimento prévio do estado sorológico, além daqueles indivíduos com qualquer contraindicação para coleta de amostras de sangue ou que apresentavam dificuldade em compreender os termos do Consentimento Livre e Esclarecido.

3.5 Coleta e processamento das amostras biológicas

Dois testes rápidos foram realizados na rotina do serviço do CTA, a partir de punção digital, sendo o sangue colocado em dispositivos de testagem. O resultado foi interpretado e, em cerca de meia hora, entregue ao paciente.

Posteriormente, os pacientes recrutados coletaram amostras de sangue mediante punção venosa, na sala de coleta do laboratório do Centro de Especialidades Médicas José de Alencar (CEMJA) para os exames de rotina para abordagem inicial, recomendados pelo protocolo do Ministério da Saúde. Além destes, foram coletados três tubos contendo o anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético (EDTA). O primeiro deles com o objetivo de determinação da contagem dos linfócitos T CD4+ no CEMJA. Os restantes foram encaminhados para o LACEN, com o objetivo de determinação da quantificação da carga viral e para o exame de genotipagem do HIV-1. O plasma foi separado do sangue total usando uma centrífuga com rotação de 2.500 rpm por 15 minutos. Em seguida foram separadas duas alíquotas de plasma em *ependorfs* estéreis, livres de RNase e DNase e armazenados em freezer a uma temperatura de -70°C até a realização do teste de genotipagem do HIV-1.

A Contagem de Células T CD4+/CD8+ e Carga Viral do HIV fazem parte da rotina laboratorial recomendada pelo Ministério da Saúde para a abordagem inicial de paciente infectado pelo HIV.

3.6 Métodos laboratoriais

A contagem de linfócitos T CD4+ e CD8+ foi realizada pela metodologia de citometria de fluxo do sistema BD FACSCalibur (Becton-Dickinson Immunocytometry Systems, Califórnia, USA), seguindo as especificações e procedimentos do fabricante.

A quantificação de carga viral do HIV-1 foi realizada com o kit comercial Abbott RealTime HIV-1 Assay (Abbott Molecular, Des Plaines, IL, USA), de acordo com os procedimentos e instruções do fabricante. Este método permite determinar a quantidade de RNA viral presente no plasma do paciente pelo método qRT-PCR.

A Genotipagem (sequenciamento) do HIV-1 foi realizada utilizando o kit comercial TruGene® Genotyping Assay e OpenGene® DNA Sequencing System (Siemens Diagnostics, USA) (GRANT, R.M.; KURITZKES, D.R. *et al*, 2003), conforme protocolo do fabricante. As amostras que não amplificaram com o kit TruGene® foram sequenciadas no Instituto Adolfo Lutz em São Paulo, utilizando a técnica de Nested PCR in-house, com equipamento automático ABI 3130 (SNOECK, 2006).

O limite de detecção do teste Genotipagem HIV-1 TruGene® é considerado com a carga viral maior do que 1.000 cópias/ml. A Genotipagem do HIV-1 TruGene® Genotyping Assay foi realizada em cinco etapas: extração do RNA viral, reação RT-PCR (transcrição reversa e reação em cadeia da polimerase), sequenciamento por reação CLIP®, eletroforese em gel de poliacrilamida e análise das mutações com emissão de laudo (SIEMENS, 2008).

3.6.1 Genotipagem - Extração do DNA

O DNA genômico foi extraído a partir de 140µl de plasma usando o kit QIAamp® Viral RNA Mini kit (Qiagen®, Germany), conforme instruções do fabricante. O kit combina propriedades de ligação seletiva de membrana baseado em gel de sílica com a velocidade de micro centrifugação. A amostra é inicialmente submetida à lise sob condições altamente desnaturante para desativar as RNases e para garantir o isolamento de RNA viral. Condições de tampão são ajustadas para promover uma boa ligação do RNA à membrana QIAamp e a

amostra é carregada na coluna QIAamp. O RNA liga-se à membrana e os contaminantes são retirados em dois passos usando dois tampões de lavagens diferentes. RNA de alta qualidade é eluído num tampão especial livre de RNase, preparado para uso direto. O RNA purificado é livre de proteínas, nucleases e outros contaminantes de inibidores. A membrana QIAamp garante recuperação extremamente elevada de RNA puro (QIAGEN, 2007).

3.6.2 Transcrição Reversa e Amplificação PCR (RT-PCR)

Após o processo de extração, o RNA viral foi transcrito em cDNA e amplificado por RT-PCR, resultando um fragmento nucleotídico de aproximadamente 1,3 kilobases (Kb). O DNA amplificado foi sequenciado pelo método de Sanger modificado pela reação CLIP, usando terminadores de cadeia (dideoxynucleotídeos) com corantes fluorescentes e *primers* marcados. O kit possibilita o sequenciamento do gene da enzima transcriptase reversa e o gene da enzima protease, respectivamente localizados nas posições 1835 - 4678 (incluindo a região RNase H) na região *pol* do genoma HIV-1 LAV-1 (GenBank nº K02013). Devido à natureza altamente polimórfica do HIV-1, uma mistura de vários *primers* especificados como as variantes virais mais comuns são utilizadas neste kit (SIEMENS, 2008).

As amostras de RNA extraídas foram adicionadas nos tubos de reação em que ocorreu a transcrição reversa e amplificação por PCR. A reação de transcrição reversa foi realizada utilizando uma versão de engenharia genética da transcriptase reversa do Vírus Leucemia Murino Moloney para transcrever o HIV-1 RNA no cDNA. A amplificação foi realizada com DNA polimerases termoestáveis. A mistura reacional foi então aquecida e a seguir esfriada à temperatura específica para permitir que os *primers* oligonucleotídeos se anelassem especificamente ao RNA HIV-1 alvo. Na presença de um excesso de desoxinucleotídeos trifosfato (dNTPs), a enzima RT amplificou os *primers* anelados formando o DNA/RNA complementar híbrido (cDNA/RNA). Seguindo a transcrição reversa do RNA HIV-1 alvo, a mistura foi aquecida para desnaturar o cDNA/RNA híbrido e expor as sequencias do cDNA HIV-1 alvo. A mistura foi esfriada e os *primers* se anelaram na cadeia cDNA e as polimerases catalisaram a reação de extensão para sintetizar uma segunda cadeia de DNA. Ao fim do primeiro ciclo de PCR resultou em uma cópia de DNA de cadeia dupla da região alvo do RNA HIV-1. Este processo de aquecimento e resfriamento foi repetido por 36 ciclos, cada ciclo duplica o total de *amplicons*. A amplificação ocorreu somente na região

do genoma HIV-1 entre os *primers* RT-PCR (o genoma total do HIV-1 não é amplificado) (SIEMENS, 2008).

3.6.3 Reação de sequenciamento (CLIP®)

A reação CLIP do DNA sequencia simultaneamente as duas cadeias da hélice dupla de DNA. Um tubo de ensaio foi preparado contendo oito *primers*. Os *primers* posterior (sense) e reverso (antisense) foram marcados com corantes fluorescentes diferentes. Quando hibridizados ao DNA, os *primers* foram orientados a permitir uma extensão da cadeia entre eles (um *primer* na cadeia sense e outro na cadeia antisense). O tubo com os reagentes necessários para a extensão da cadeia junto com um dos quatro trifosfatos dideoxynucleotídeo terminais de cadeia (ddNTPs); dideoxiadenosina trifosfato (ddATP), dideoxiguanosina (ddGTP) ou dideoicitimidina (ddCTP) ou dideoxitimidina (ddTTP) marcados com corantes fluorescentes de comprimento de onda diferentes. A reação iniciou com a adição da amostra e uma enzima DNA polimerase termoestável com alta afinidade por ddNTPs. À medida que a mistura reacional foi submetida à ciclos térmicos, os *primers* se hibridizavam ao molde de DNA e foram estendidas (alongadas), terminadas em algum local ao longo da sequência DNA alvo. Quatro reações CLIP resultaram na sequência posterior e reversa do alvo entre os dois *primers* CLIP. A reação foi repetida por 30 ciclos. Depois de completar o programa de ciclagem foi adicionado o reagente Solução STOP em todos os tudo de ensaio (SIEMENS, 2008).

3.6.4 Eletroforese dos produtos de reação CLIP

Antes da eletroforese em gel de poliacrilamida foi realizada a desnaturação. A placa foi aquecida para separar os fragmentos de DNA de cadeia dupla. Uma fração de cada reação foi então carregada na parte superior de um cartucho Microcel 500 que contém o gel de poliacrilamida polimerizado. O gel de poliacrilamida contém alta concentração de uréia com o objetivo de manter os fragmentos de DNA no estado desnaturado de cadeia simples. Nesse momento, um campo elétrico de alta voltagem foi aplicado, forçando os fragmentos de DNA negativamente carregados a migrarem através do gel em direção ao ânodo. A velocidade de migração dos fragmentos de DNA está relacionada com a dimensão dos poros formados pela matriz de gel de poliacrilamida e dimensão dos fragmentos DNA, esperando-se

a migração mais rápida dos fragmentos menores. Próximo à base do gel de poliacrilamida, um raio laser excita o corante fluorescente ligado aos fragmentos DNA que se movem pelo laser e os detectores medem o total de luz e comprimentos de onda produzidos pelo corante fluorescente. Estas medições de luz são coletadas pelo sequenciador e transmitidas para a estação de trabalho que grava os dados. Cada reação de sequenciamento necessita de quatro partes para cada um dos quatro dideoxinucleotídeos terminais (ddATP, ddCTP, ddGTP, ddTTP) (SIEMENS, 2008).

Para cada “template”, duas regiões do *amplicon* (protease e RT) foram sequenciadas bidirecionalmente utilizando quatro módulos *primer* CLIP:

Protease: Uma sequência bidirecional da região da protease (códon 10 a 99) e uma sequência em pelo menos uma direção a partir dos códon 1 a 9.

P2: Uma sequência bidirecional da região protease (códon 21 a 99) e uma sequência em pelo menos uma direção a partir dos códon 7 a 20.

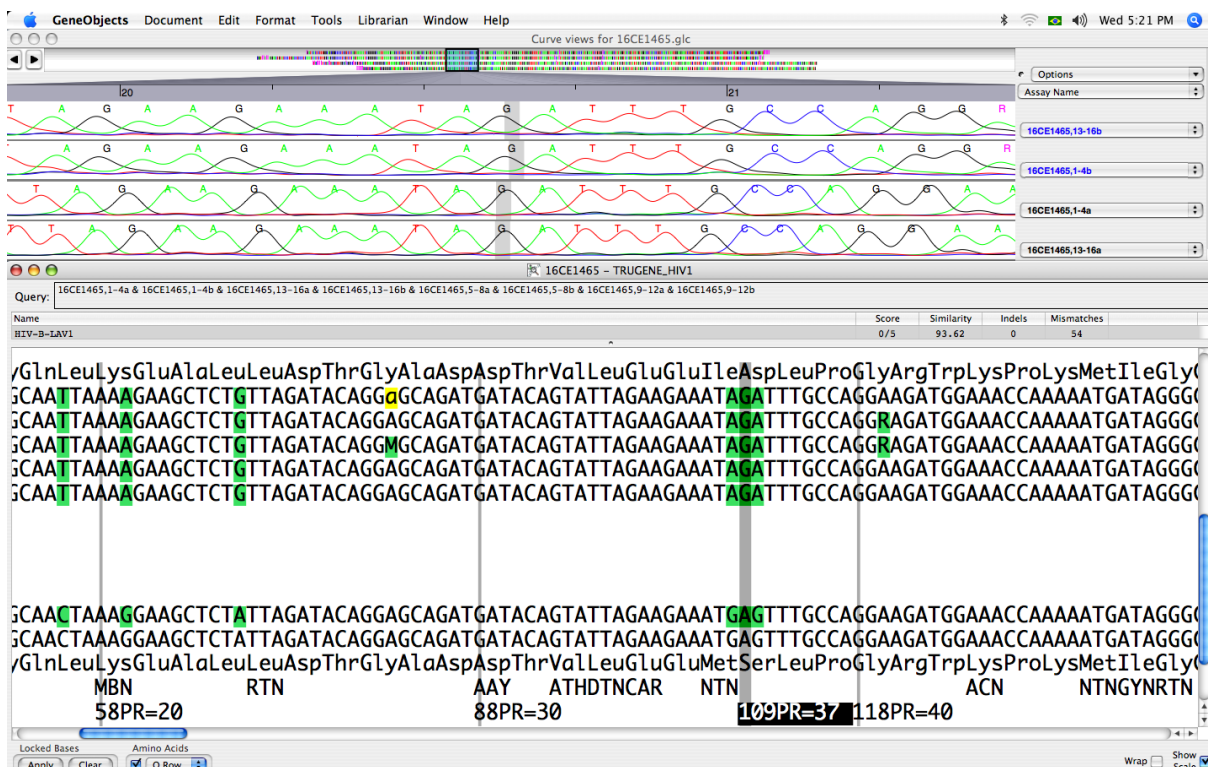
RT Inicial: Uma sequência bidirecional do início da região transcriptase reversa (códon 41 a 139) e uma sequência em pelo menos uma direção a partir dos códon 140 a 142 e códon 40.

RT Mediano: Uma sequência bidirecional da metade da região da transcriptase reversa (códon 148 a 237) e uma sequência em pelo menos uma direção a partir dos códon 138 a 147 e a partir dos códon 238 a 247 (SIEMENS, 2008).

3.6.5 Análise dos dados TRUGENE

Os dados posteriores e reversos da sequência CLIP foram combinados e comparados à sequência do HIV-1 LAV-1 com o software do sistema para determinar a presença de todas as mutações, incluindo as mutações de resistência às drogas. Foi analisada toda sequência do genoma para revisar inserções e deleções. Todas as bases em cada um dos códon associados com resistência foram selecionadas pelo software e revisados pela pesquisadora (Figura 9). O software prepara um relatório que é baseado em um conjunto de critérios definidos, desenvolvido por um painel clínico internacional de pesquisadores especializados, sendo implementado no GuideLines Rules 17.0 usado no software do sistema (SIEMENS, 2008).

Figura 9 - Análise do eletroferograma no software TRUGENE.



Fonte: Elaborado pela autora.

3.7 Análise genotípica e de resistência aos antirretrovirais

A Genotipagem do HIV foi realizada no Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN/CE) com sequenciamento da região *pol* do HIV-1 usando o kit TruGene® Genotyping Assay (Siemens Diagnostics, USA) e no Instituto Adolfo Lutz em São Paulo com a técnica de Nested PCR *in-house* com equipamento automático ABI 3130. As seqüências genéticas geradas da protease e da transcriptase reversa foram analisadas pelo OpenGene® DNA Sequencing System (Siemens Diagnostics, USA). As seqüências foram alinhadas pelo programa MEGA e BioEdit; as seqüências de SIVcpz foram utilizadas como outgroup. As análises de mutações de resistência aos antirretrovirais foram determinadas utilizando algoritmo disponível na página da Universidade de Stanford (<http://hivdb.stanford.edu/>) – HIVdb Program- Genotypic Resistance Interpretation Algorithm (sierra2.stanford.edu/sierra/servlet/JSierra). As mutações de resistência transmitida foram identificadas empregando a ferramenta de bioinformática Calibração de Resistência Populacional versão 6.0 (do inglês *Calibrated Population Resistance*, CPR) disponibilizada na página da Universidade de Stanford - Stanford HIV Drug Resistance Database,

(<http://cpr.stanford.edu/cpr.cgi>). Os subtipos do vírus HIV-1 foram determinados e identificados empregando análises no banco de dados do REGA HIV Subtyping Tool (www.bioafrica.net/rega-genotype/html).

A CPR é um programa usado para analisar sequências de HIV-1 e constitui uma abordagem padrão para determinar as sequências que contêm uma mutação sugestiva de transmissão HIV-1 resistente aos antirretrovirais, gerando uma lista de mutações de vigilância de resistência transmitida às drogas. Esta abordagem foi aprovada pela OMS para a vigilância epidemiológica de resistência transmitida do HIV-1.

3.8 Análise dos dados

Os dados epidemiológicos foram retirados do formulário de atendimento do SI-CTA (ANEXO B), ferramenta padronizada em todo território nacional (BRASIL, 2010), utilizada na rotina do CTA e os dados comportamentais retirados do questionário sócio comportamental (ANEXO C). Todos os dados obtidos foram armazenados no programa estatístico EPI-INFO, versão 7,0. Os resultados da Contagem de Células T CD4+/CD8+ e Carga Viral do HIV foram retirados do SISCEL (Sistema de Controle de Exames Laboratoriais da Rede Nacional de Contagem de Linfócitos CD4+/CD8+ e Carga Viral). Todos dados foram transferidos para Excel versão 2013, o qual foi utilizado para fazer a estatística descritiva dos dados, tabelas e gráficos. Os resultados das análises de sequenciamento, resistência às drogas e subtipos do HIV também foram inseridos em planilhas Excel versão 2013.

3.9 Aspectos Éticos

Por se tratar de um estudo envolvendo seres humanos, de acordo com a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde, o estudo foi submetido para avaliação ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade de Fortaleza (UNIFOR) e aprovado sob o número CEP 302.336/2013. Os pacientes foram informados em detalhes sobre o estudo e foi oferecida a participação voluntária em nosso estudo, através do consentimento por escrito do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (ANEXO A), tendo a opção de não participarem da amostragem caso discordassem.

4 RESULTADOS

4.1 Características da população estudada

Foram atendidos no CTA 5.469 indivíduos no período do estudo que fizeram o teste anti-HIV. Destes, 5.211 (95,3%) pessoas obtiveram resultado não reagente (negativo) no teste anti-HIV e 258 indivíduos com resultado reagente (positivo), subtraindo 60 pessoas que já haviam realizado o teste anteriormente, temos um total de 198 (3,6%) pessoas com resultado reagente (positivo) em dois testes rápidos para o HIV. Dentre os 258 indivíduos diagnosticados com infecção pelo HIV, 221 (85,7%) eram do gênero masculino e 37 (14,3%) do gênero feminino. Foram incluídos no estudo 119 indivíduos e 108 destes coletaram material para os exames laboratoriais.

A partir das amostras coletadas de 108 pacientes inicialmente selecionados para o estudo, foi possível realizar o sequenciamento dos genes da transcriptase reversa e protease, na região *pol* do genoma do HIV em 105 amostras (Figura 10).

As principais características sócio-demográficas e epidemiológicas desses pacientes estão na Tabela 1. Houve predomínio do sexo masculino com 86,7% (91/105) e 13,3% (14/105) do sexo feminino. A mediana da idade foi de 27 anos, com 56 pacientes na faixa etária de 18 a 28 anos (53,4%) e 88 pacientes (83,8%) na faixa etária de 18 a 39 anos. O contato sexual representou a via principal de exposição (100%), sendo HSH (76,2%) a categoria predominante de exposição dos quais 5,7% pacientes relatam ser bissexuais. Do total de pacientes, 33,3% tiveram DST nos últimos 12 meses. Quatro indivíduos (3,8%) relataram ser profissionais do sexo e 1,9% Travesti/Transexual.

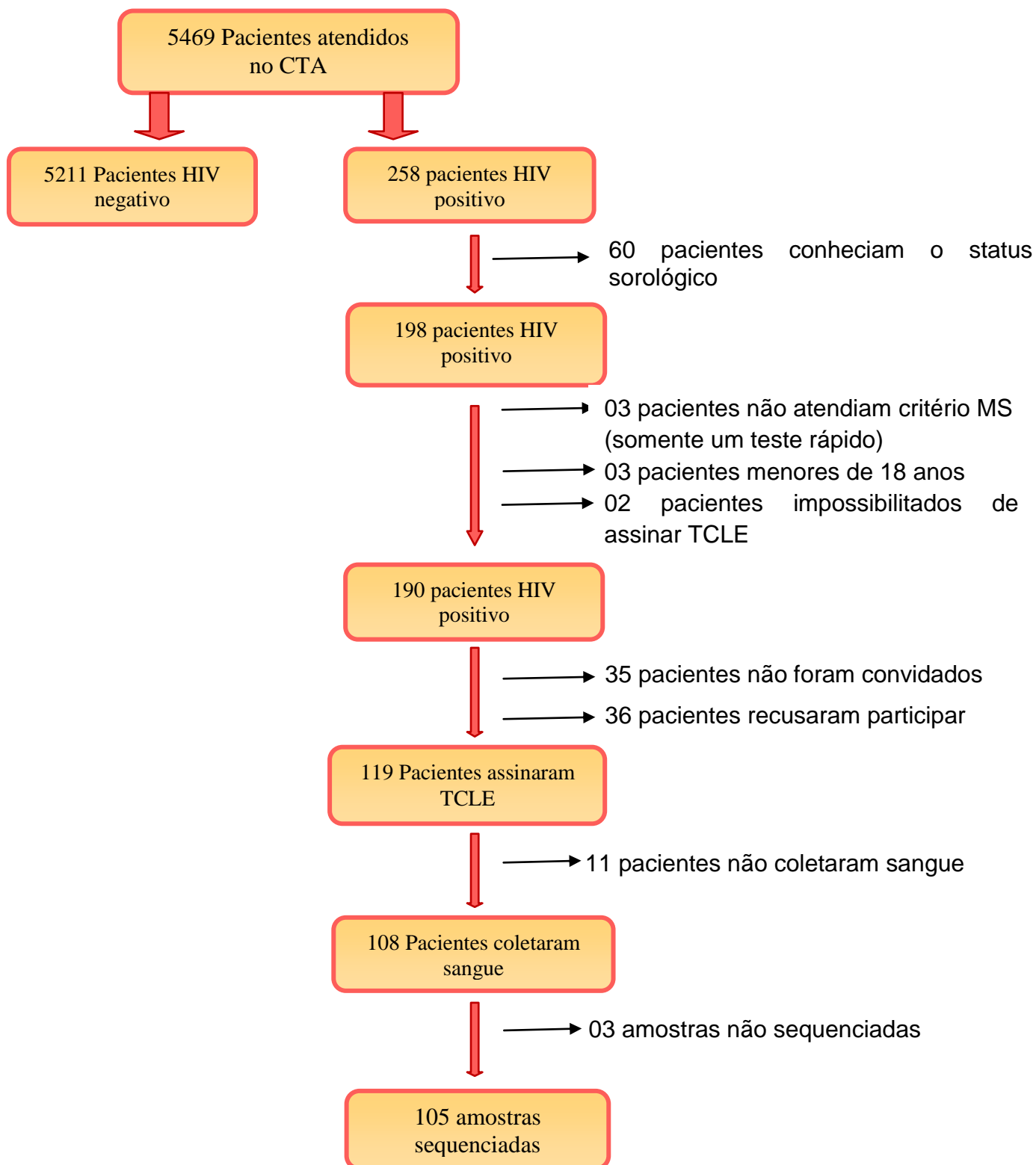
Com relação ao nível de escolaridade dos pacientes com diagnóstico recente, 55,2% cursaram de 4 a 11 anos de estudo e 28,6% estudaram 12 ou mais anos. Os 105 pacientes residem em Fortaleza ou área metropolitana, 74,3% são solteiros ou não vivem com companheiro.

A mediana da contagem de Linfócitos T (LT) CD4+ foi de 457 células/ μ l (7 - 1.609) e a mediana da Carga Viral foi de 4,34 log (2,44 - 7,01) e 22.106 cópias/ml (277 - 10.000.000) (Tabela 2). O total de 17 pacientes (16,3%) apresentava contagem de LT CD4 inferior a 200 células/ μ l, 39,4% entre 201 e 500 células/ μ l e 44,3% com CD4 superior a 501 células/ μ l. Quanto à carga viral (CV), 63,9% dos pacientes apresentavam níveis acima de

10.000 cópias/ml, 26,8% tinham viremia entre 1.000 e 10.000, enquanto 9,3% (10 pacientes) estavam abaixo de 1.000 cópias/ml.

Os 17 pacientes com contagem de LT CD4 inferior a 200 células/ μ l têm média de idade de 38 anos e mediana de 37 anos. A média de LT CD4 é 90 células/ μ l e mediana de 80 células/ μ l com variação de 7-184 células/ μ l. Sendo 16 pacientes do sexo masculino (94,1%) e 11 pacientes (64,7%) HSH. Um paciente é caminhoneiro, um profissional da saúde e dois são usuários de drogas (Tabela 6).

Figura 10 - Fluxograma do estudo



Fonte: Elaborado pela autora

Tabela 1 - Características sócio demográficas e epidemiológicas dos participantes

Variável	N	%
Faixa etária		
18 - 28 anos	56	53,4
29 - 39 anos	32	30,5
40 ou mais	17	16,1
Escolaridade		
1 a 3 anos	03	2,9
4 a 11 anos	58	55,2
12 ou mais	30	28,6
Não Informado	14	13,3
Gênero		
Feminino	14	13,3
Masculino	91	86,7
Estado civil		
Casado/Amigado	26	24,8
Solteiro/Separado	78	74,3
Não Informado	01	0,9
Tipo de exposição		
	HSH	74 70,5
Sexual	Heterossexual	25 23,8
	Bissexual	06 5,7
DST últimos 12 meses		35 33,3
Profissional do sexo		04 3,8
Travesti/Transexual		02 1,9

HSH – Homem que faz sexo com homem;
DST – Doença Sexualmente Transmissível.

Fonte: Elaborada pela autora

Tabela 2 - Dados laboratoriais e clínicos dos participantes

Variável	N (%)
Carga Viral (Cópias/ml)	
Mediana	22.106 (277 - 10.000.000)
Carga Viral (Log 10)	
Mediana	4,34 (2,44 - 7,01)
CD4 (Células/μl)	
Mediana	457 (7 - 1.609)
< 200	17 (16,3)
201 a 350	11 (10,6)
351 a 500	30 (28,8)
501 a 750	27 (26,0)
> 751	19 (18,3)
CD8(Células/μl)	
Mediana	1.239 (211 - 3.348)

Fonte: Elaborada pela autora

4.2 Resistência Transmitida do HIV-1 nos genes da PR e fragmento TR

Foi realizada a genotipagem do HIV-1 no LACEN em 108 amostras de pacientes inicialmente recrutados, 88 foram sequenciadas com sucesso e em 20 o procedimento foi inviável quando utilizado o kit TRUGENE. Estas 20 amostras foram enviadas e sequenciadas no Instituto Adolfo Lutz em São Paulo com a técnica de Nested PCR in-house com equipamento automático ABI 3130 (SNOECK, 2006); destas, três amostras não foram sequenciadas. Total de 105 amostras sequenciadas na região do gene *pol* (PR e TR) do HIV-1.

As mutações que conferem resistência viral aos ITRN, ITRNN, IP foram encontradas em 10 (9,5%) pacientes (Tabela 3). Dos casos com mutação de resistência a uma das três classes de drogas, sete eram do sexo masculino e três do sexo feminino. Entre esses pacientes, nove foram infectados com HIV-1 do subtipo B e um com subtipo C (Tabela 4). Entre os homens, todos os sete pacientes relataram categoria de exposição HSH, sendo um profissional do sexo, dois bissexuais e um com parceiro HIV soro positivo. Entre as mulheres, duas eram casadas e uma solteira.

4.3 Resistência Transmitida do HIV-1 aos ITRN

Entre os 10 pacientes com resistência transmitida, três (2,9%) apresentaram mutações que conferem resistência aos ITRN. As mutações encontradas foram D67N (n=1), T69D (n=1), V75A (n=1) e V75M (n=1). As mutações D67N e T69D foram encontradas no mesmo paciente. A análise de resistência pelo algoritmo da Universidade de Stanford (HIV db Program), sugeriu que essas mutações resultariam em baixa resistência ao AZT e d4T e resistência intermediária ao ddI.

Tabela 3 - Mutações do HIV-1 relacionadas à resistência transmitida.

Nº da amostra	Classe de Drogas			Perfil de Resistência		
	ITRN	ITRNN	IP	Alto	Intermediário	Baixo
16CE1409		K103N		NVP, EFV		
16CE1415			V82L		TPV	ATV, FPV, IDV, LPV, NFV, SQV
16CE1430		K101E			NVP, RPV	EFV, ETR
16CE1431			M46I			ATV, FPV, IDV, LPV, NFV
16CE1432	V75M				d4T	AZT, ddI
16CE1442		G190A		NVP	EFV	ETV, RPV
16CE1488		K101E			NVP, RPV	EFV, ETR
16CE1497	D67N, T69D	K103N		EFV, NVP	ddI	AZT, d4T
16CE14101		K103N		NVP, EFV		
16CE14110	V75A					d4T, ddI

Fonte: Elaborada pela autora

Tabela 4 - Características clínico-epidemiológicas dos pacientes com mutações relacionadas à resistência transmitida.

Nº da amostra	Subtipo	Sexo	Idade	Exposição	DST	CD4 (Células/ μ l)	Carga Viral (Log)
16CE1409	C	M	23	HSH - Bissexual	Sim	800	4,07
16CE1415	B	F	26	HT	Não	509	4,21
16CE1430	B	M	31	HSH	Sim	313	5,74
16CE1431	B	M	42	HSH	Sim	881	2,59
16CE1432	B	M	26	HSH - Bissexual	Não	496	4,41
16CE1442	B	M	27	HSH	Sim	782	3,52
16CE1488	B	M	24	HSH	Sim	821	4,75
16CE1497	B	F	19	HT	Não	338	3,60
16CE14101	B	F	30	HT	Não	323	4,28
16CE14110	B	M	44	HSH	Não	45	3,71

HSH – Homem que faz sexo com Homem;

HT – Heterossexual.

Fonte: Elaborada pela autora

4.4 Resistência Transmitida do HIV-1 aos ITRNN

Dos dez pacientes com mutação de resistência transmitida, seis (5,7%) pacientes apresentaram mutações que conferem resistência aos ITRNN. As mutações foram K101E (n=2), K103N (n=3) e G190A (n=1). A mutação mais prevalente foi a K103N, uma mutação que causa nível elevado de resistência a NVP e EFV. A mutação K101E causa resistência intermediária à NVP e baixo nível de resistência a EFV, ETR e RPV. A mutação G190A confere alto nível de resistência à NVP e nível intermediário de resistência ao EFV. Pode reduzir também a susceptibilidade em nível baixo a ETR e RPV.

4.5 Resistência Transmitida do HIV-1 aos IP

Dentre os dez pacientes com mutação de resistência viral, dois (1,9%) pacientes apresentaram mutações de resistência viral aos IP. As mutações de resistência aos IP foram a M46I (n=1) e V82L (n=1). A mutação M46I é selecionada pelos IPs e reduz a susceptibilidade do IDV, NFV, FPV, LPV e ATV. A mutação V82L costuma ser selecionada pelo TPV e reduz a susceptibilidade a esta droga.

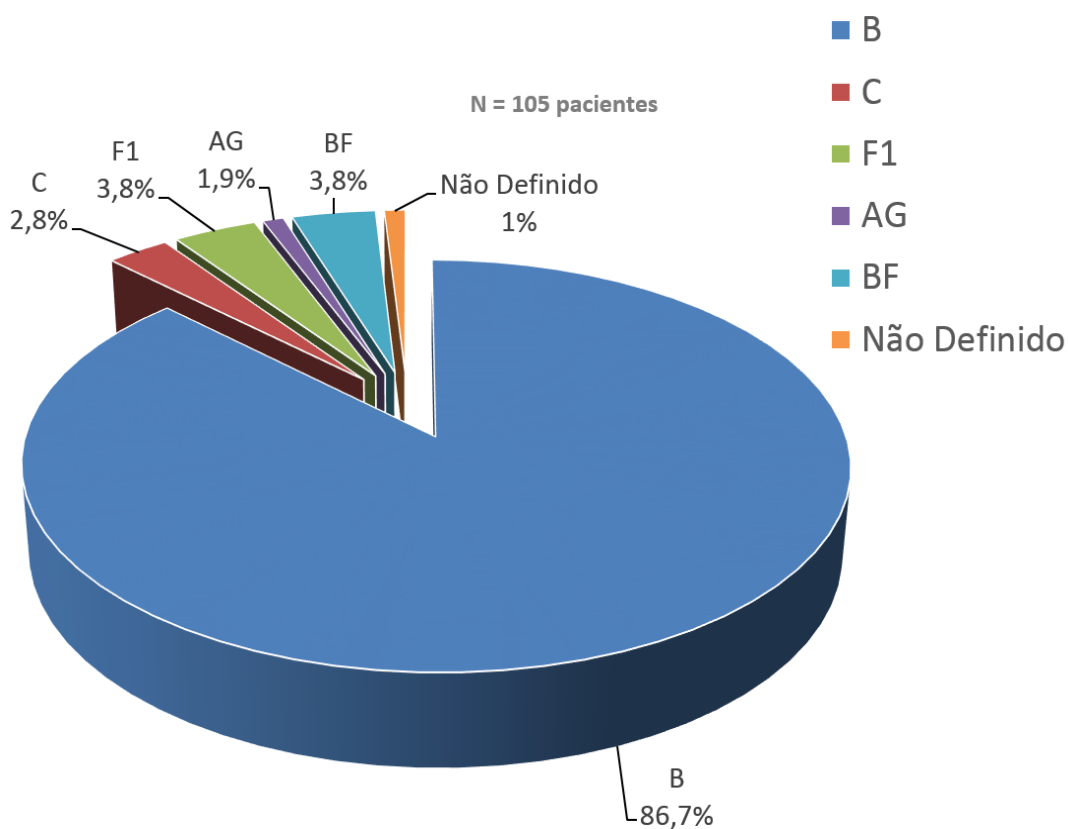
4.6 Diversidade genética do HIV-1 nos genes da PR e TR

A análise da diversidade genética do HIV-1 na região *pol* nos genes da protease (PR) e transcriptase reversa (TR) foi realizada em 105 amostras sequenciadas (Gráfico 1), indicando o predomínio do subtipo B, que foi identificado em 86,7% das amostras. O subtipo F1 foi identificado em 3,8% e o subtipo C em 2,8% (Figura 11).

Foram identificados como recombinantes intersubtipos 5,7% das amostras. Sendo recombinante BF nos genes da PR e TR em 3,8% das amostras e caracterizados como subtipo F na protease e subtipo B na transcriptase reversa ($F^{PR}B^{TR}$). A análise dos recombinantes BF identificou um paciente como CRF12_BF. Foi encontrado também 1,9% (2/105) recombinantes AG e identificado como CRF02_AG (Figura 12).

Dentre os 13 pacientes (12,4%, 13/105) identificados como subtipo não B, 23,1% (3/13) do gênero feminino e 76,9% (10/13) do gênero masculino. A média da idade foi 30,5 anos (18-67) e mediana 28 anos. Dentre os homens, 50% (5/13) são HSH e 50% (5/13) são heterossexuais. Do total de 105 pacientes, 13,3% eram mulheres e três foram classificadas com subtipo não B. Portanto, 21,4% de toda população feminina foi classificada como portadoras de subtipo não B. A média de CD4 na população com subtipo não B foi de 445 células/ μ l (7 – 1.609) e a média de carga viral (Log) foi de 4,68 (3,48 - 7,01) (Tabela 5).

Gráfico 1 – Diversidade genética nos genes PR e TR dos participantes



Fonte: Elaborado pela autora

Figura 11 - Desenho esquemático mostrando os resultados dos pacientes do subtipo C no banco de dados do REGA HIV Subtyping Tool

HIV Genotyping Tool Results

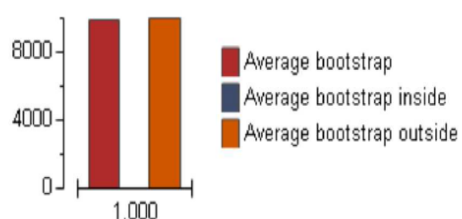
Name	Length	Report	Assignment	Support	Genome
37_CE	945bp	Report	HIV-1 Subtype C	100.0	
16CE1409_R	918bp	Report	HIV-1 Subtype C	100.0	
16CE14100_RR	918bp	Report	HIV-1 Subtype C	100.0	

Fonte: Elaborado pela autora

Figura 12 - Desenho esquemático mostrando o resultado do paciente recombinante AG (CRF02_AG) no banco de dados do REGA HIV Subtyping Tool

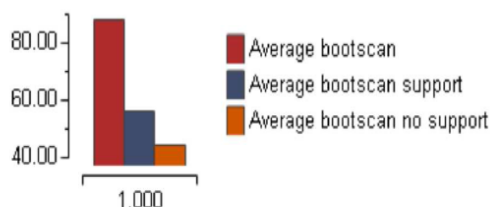
Phylogenetic statistics

NJ Tree Statistics



HIV-1 CRF 02_AG		
Number of sequences	1	
Average bootstrap	98.00	(98.00 - 98.00)
Average bootstrap inside	0.00	(0.00 - 0.00)
Average bootstrap outside	99.00	(99.00 - 99.00)

Bootscan Statistics



HIV-1 CRF 02_AG		
Number of sequences	1	
Average bootscan	0.88	(0.88 - 0.88)
Average bootscan support	0.56	(0.56 - 0.56)
Average bootscan no support	0.44	(0.44 - 0.44)

You may bookmark this page to revisit these results later.

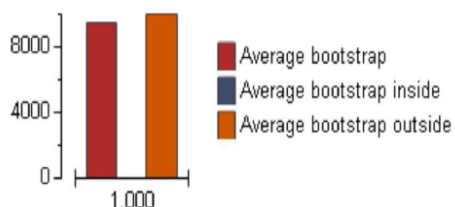
Name	Length	Report	Assignment	Support	Genome
38_CE	996	Report	HIV-1 CRF 02_AG	96.0	

Fonte: Elaborado pela autora

Figura 13 - Desenho esquemático mostrando o resultado do paciente recombinante AG (CRF02_AG) no banco de dados do REGA HIV Subtyping Tool

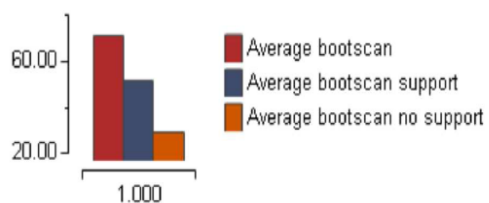
Phylogenetic statistics

NJ Tree Statistics



HIV-1 CRF 02_AG		
Number of sequences	1	
Average bootstrap	94.00	(94.00 - 94.00)
Average bootstrap inside	0.00	(0.00 - 0.00)
Average bootstrap outside	100.00	(100.00 - 100.00)

Bootscan Statistics



HIV-1 CRF 02_AG		
Number of sequences	1	
Average bootscan	0.71	(0.71 - 0.71)
Average bootscan support	0.51	(0.51 - 0.51)
Average bootscan no support	0.29	(0.29 - 0.29)

You may bookmark this page to revisit these results later.

Name	Length	Report	Assignment	Support	Genome
60_CE	1163	Report	HIV-1 CRF 02_AG	99.0	

Fonte: Elaborado pela autora

Tabela 5 – Características clínico-epidemiológicas dos pacientes com subtipo não B.

Amostra	CD4	CV LOG	Subtipo / Recombinante	Sexo	Idade	Exposição	DST
16CE1401	327	5,92	F1	M	24	HT	Sim
16CE1403	546	4,82	BF (CRF12_BF)	M	30	HSH	Não
16CE1405	174	2,44	BF	M	67	HT	Sim
16CE1409	800	4,07	C	M	23	HSH	Sim
16CE1437	75	7,01	C	M	32	HT	Não
16CE1438	07	5,58	AG (CRF02_AG)	F	29	HT	Sim
16CE1439	289	4,44	F1	F	33	HT	Sim
16CE1457	467	2,48	F1	M	28	HSH	Não
16CE1460	1609	4,21	AG (CRF02_AG)	M	26	HT	Não
16CE1477	365	5,48	BF	F	27	HT	Não
16CE1478	22	5,99	BF	M	37	HT	Não
16CE1480	515	3,48	F1	M	22	HSH	Não
16CE14100	586	5,01	C	M	18	HSH	Não

HSH – Homem que faz sexo com homem;

HT – Heterossexual.

Fonte: Elaborada pela autora

Tabela 6 – Características epidemiológicas e virológicas dos pacientes com CD4 < 200 cél/μL

Amostra	CD4	Sexo	Idade	Exposição	DST	Subtipo / Recombinante
16CE1405	174	M	67	HT	Sim	BF
16CE1406	14	M	45	HSH	Sim	B
16CE1408	24	M	52	HT	Não	B
16CE1411	109	M	33	HT	Não	B
16CE1425	94	M	24	HSH	Não	B
16CE1434	63	M	35	HSH	Sim	B
16CE1437	75	M	32	HT	Não	C
16CE1438	7	F	29	HT	Sim	AG (CRF02_AG)
16CE1440	53	M	41	HSH	Não	B
16CE1446	136	M	22	HSH	Sim	B
16CE1472	178	M	23	HSH	Sim	B
16CE1478	22	M	37	HT	Não	BF
16CE1481	122	M	45	HSH	Sim	B
16CE1485	80	M	34	HSH	Não	B
16CE1498	184	M	45	HSH	Não	B
16CE14104	154	M	37	HSH	Não	B
16CE14110	45	M	44	HSH	Não	B

HSH – Homem que faz sexo com homem;

HT – Heterossexual.

Fonte: Elaborada pela autora

5 DISCUSSÃO

Este estudo investigou as características dos indivíduos com diagnóstico recente de infecção pelo HIV, realizado no CTA de Fortaleza, com especial atenção na avaliação da variabilidade genética dos seus isolados virais.

Os achados gerais do estudo sugerem que a epidemia do HIV-1 em Fortaleza reflete algumas das principais tendências nacionais, com predominância de novos casos entre homens (86,7%), jovens (18 a 28 anos) (53,4%), de categoria HSH (76,2%), caracterizando como o grupo populacional de maior vulnerabilidade, com taxa de prevalência bem mais alta que a encontrada na população geral (BRASIL, 2014a).

Segundo relatório do Programa das Nações Unidas (UNAIDS, 2014), aproximadamente 50% das novas infecções pelo HIV ocorreu em populações específicas (HSH, pessoas privadas de liberdade, profissionais do sexo, transexuais ou travestis). A prevalência de novos casos de infecção pelo HIV na população de usuários atendidos no CTA foi de 3,6%, sendo nove vezes mais elevada que na população geral (0,4%) (BRASIL, 2013a), provavelmente devido ao perfil do grupo populacional de risco mais elevado atendido no CTA.

O diagnóstico oportuno da infecção pelo HIV é um dos pontos importantes para o sucesso do tratamento como prevenção, não só para alcançar níveis indetectáveis de carga viral com objetivo de melhoria da qualidade de vida individual como também para a redução da transmissão da infecção pelo HIV. De acordo com o Boletim Epidemiológico de 2014, há uma tendência de declínio da proporção de indivíduos com $CD4^+ < 200$ células/ μ l no momento do diagnóstico, nos diferentes serviços de saúde do país, que foi reduzida de 31% em 2009 para 26% até outubro de 2014 (BRASIL, 2014a). Os pacientes diagnosticados já com CD4 inicial baixo, tem menor capacidade de recuperação das células T (BRASIL, 2013c). A recuperação imunológica em pacientes com CD4 inicial baixo, costuma ser mais lenta e limitada, sendo esta proporcional ao CD4 inicial (EGGER, 2002). Níveis baixos de linfócitos T $CD4^+$ são considerados fator preditor de risco aumentado de ocorrência da Síndrome Inflamatória associada à Reconstituição Imune (SIRI) quando do início da terapia específica (BRASIL, 2013c).

Neste estudo, uma proporção significativa dos indivíduos apresentou níveis de linfócitos T $CD4^+$ mais elevados, com mediana de 457 células/ μ l. Em 26,9% dos casos a contagem de linfócitos T $CD4^+$ estava abaixo de 350 células/ μ l e somente 16,3% dos casos

apresentavam linfócitos T CD4+ abaixo de 200 células/ μ l, caracterizando doença avançada (AIDS). Por outro lado, 73,1% apresentavam CD4+ superior a 351 células/ μ l, 44,3% acima de 501 células/ μ l e 18,3% acima de 751 células/ μ l, sugerindo que o diagnóstico tardio pode estar diminuindo (BRASIL, 2014a), principalmente devido às ações que facilitam o acesso ao teste de HIV para as populações mais afetadas, como é o caso dos usuários do CTA em Fortaleza. Por outro lado, existe o contraste entre os dados disponíveis do Estado do Ceará, que mostram que 32% dos casos aqui diagnosticados costumam apresentar níveis de CD4 inferiores a 200 células/ μ l, a quinta maior proporção no país, sugerindo que a população do CTA pode ter características distintas da população geral do estado (BRASIL, 2014).

A ampliação do acesso ao diagnóstico da infecção pelo HIV permite aos indivíduos infectados procurar precocemente o acompanhamento e tratamento nos serviços de saúde, podendo resultar em melhora da sobrevida, da qualidade de vida e menor probabilidade de transmissão viral, portanto sendo fundamental para a proteção do indivíduo e controle da epidemia. A qualidade da assistência prestada nos serviços de saúde e o diagnóstico precoce são as principais estratégias na atenção básica de saúde para a redução da mortalidade e morbidade à AIDS e principalmente na prevenção da transmissão do HIV (BRASIL, 2013b).

A prevalência global de resistência transmitida aos ARVs encontrada neste estudo foi de 9,5%, sendo 2,9% aos ITRN, 5,7% aos ITRNN e 1,9% aos IP, que segundo os critérios da OMS, é considerada como prevalência intermediária (5 a 15%). Estes resultados corroboram com alguns estudos realizados em diversas regiões do Brasil com prevalência de resistência transmitida de 13,9% em São Paulo em 2011 (SANABANI *et al.*, 2011); 11% em Florianópolis em 2011 (GRÄF *et al.*, 2011); 8,8% em Curitiba em 2008 (FERREIRA *et al.*, 2008); 7,6% em São Paulo em 2013 (FERREIRA *et al.*, 2013) e 4,6% em Recife em 2012 (CAVALCANTI *et al.*, 2012).

No Ceará, estudo realizado em 2008/2009 em Fortaleza (ARRUDA *et al.*, 2011) avaliou 74 pacientes (64 adultos e 11 crianças) virgens de terapia antirretroviral, atendidos em duas unidades de referência secundária e terciária, apresentando mediana de CD4+ de 418 células/ μ l e CV de 4,41 log nos adultos, sendo evidenciada prevalência global de resistência primária de 9,5%, sendo 4,1% aos ITRN, 2,7% aos ITRNN e 4,1% aos IP. Neste sentido, parece ter havido alguma mudança após cinco anos, no perfil de resistência aos ARVs em Fortaleza, com aumento da ocorrência de transmissão de mutações de resistência para a classe dos ITRNN. Em estudo de 2012 em Recife (CAVALCANTI *et al.*, 2012) o grupo de

mutações mais prevalente também foi aquele relacionado aos ITRNN, sendo o mesmo encontrado em São Paulo (FERREIRA *et al.*, 2013) e (BRÍGIDO *et al.*, 2007). A alta prevalência de resistência aos ITRNN se configura em um problema importante no Brasil, visto que o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas (BRASIL, 2013c) recomenda a classe dos ITRNN, especialmente o Efavirenz como antirretroviral preferencial na composição do esquema de primeira linha. Considerando a baixa barreira genética dos ITRNN, de apenas uma única mutação para conferir resistência a toda classe (TANG, SHAFER, 2012; FERREIRA *et al.*, 2013), a presença de resistência transmitida aos ITRNN em indivíduos que iniciam o tratamento inaugural deve consistir em terapia dupla funcional, podendo resultar em supressão viral parcial e favorecer a emergência de mutações adicionais, com consequente extensão da resistência terapêutica à classe dos ITRN (resistência cruzada).

As mutações de Resistência Transmitida relacionadas aos ITRNN encontradas nesse estudo foram a K103N, K101E, G190A, sendo a primeira mais prevalente. Tais mutações causam nível elevado de resistência a nevirapina e efavirenz; os antirretrovirais preferenciais em esquemas de primeira linha na terapia inicial, podendo causar falha primária à TARV, resistência ampliada aos ITRNN, podendo restringir significativamente as opções terapêuticas futuras. O indivíduo infectado com vírus resistente; poderá desenvolver falha terapêutica em duas ou quatro semanas do início do tratamento, comprometendo o regime atual e os subsequentes, acarretando aumento de custos com novas drogas (MEDEIROS, 2011). Estudo realizado no Ceará entre 2002-2004 envolvendo pacientes com falha terapêutica detectou principalmente a mutação K103N, com 27,3% de resistência aos ITRNN (MEDEIROS, 2011). O perfil de resistência transmitida tem variado nos últimos dez anos, com aumento significativo da prevalência de resistência aos ITRNN, possivelmente relacionado ao aumento crescente do uso desta classe de medicamento no Brasil. Também parece ter havido leve aumento da resistência aos IP e redução da resistência aos ITRN (BENNETT, 2008). A prevalência de resistência transmitida depende de muitos fatores, sendo o mais importante o perfil de utilização de ARV na região e principalmente quantos estão em falha terapêutica (BENNETT, 2008). A prevalência de resistência aos ITRNN (27,3%) em pacientes em falha terapêutica no Ceará em 2011, explica de certo modo, o perfil de resistência transmitida aos ITRNN mais elevado encontrado nesse estudo em 2014. O aumento na prevalência de vírus resistentes em pacientes com infecção crônica pode estar associado com a maior frequência de transmissão de vírus resistentes em pacientes recém-infectados (BENNETT, 2008).

As mutações de Resistência Transmitida aos ITRN encontradas nesse estudo foram D67N, T69D, V75A e V75M, que estão relacionadas a nível intermediário de resistência a didanosina e a estavudina, além de baixo nível de resistência à Zidovudina. As Mutações de Resistência Transmitida aos IP encontradas nesse estudo foram M46I e V82L, que estão relacionadas a nível intermediário de resistência ao tipranavir e baixo nível de resistência ao atazanavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir e fosamprenavir. As mutações 82L e 46I dos IP podem reduzir a barreira genética e selecionar rapidamente cepas resistentes (STANFORD, 2014).

A diversidade genética do HIV-1 também está relacionada ao surgimento de diversos grupos, subtipos, sub-subtipos e formas recombinantes circulantes (CRFs). O subtipo B é o mais prevalente no Brasil, com mais recente tendência de aumento da prevalência do subtipo C, especialmente nas Regiões Sul e Sudeste do país (BRÍGIDO *et al.*, 2011). No Brasil a epidemia apresenta três padrões: nas Regiões Sudeste, Nordeste e Centro-Oeste a epidemia é caracterizada por uma maior presença do subtipo B e formas recombinantes BF1; na Região Sul é caracterizado pela presença do subtipo B e C e as formas recombinantes contendo ambos os subtipos; na Região Norte é caracterizado pela presença dos subtipos B e F e as formas recombinantes contendo ambos os subtipos, com ausência do subtipo C (FERREIRA *et al.*, 2011). No Brasil, o subtipo B costuma representar até 90% das linhagens de HIV-1 circulantes no Nordeste (COUTO-FERNANDEZ *et al.*, 1999; GADELHA *et al.*, 2003; ARRUDA *et al.*, 2011) e Centro-Oeste (CERQUEIRA *et al.*, 2004; STEFANI *et al.*, 2007).

Vários estudos caracterizaram os subtipos circulantes no Brasil. O estudo de Brindeiro *et al.*, 2003, realizado em 2002, avaliou 409 amostras de seis capitais, sendo somente 48 do Nordeste (30 amostras do Ceará e 18 amostras da Bahia), foi encontrado predominância do subtipo B (86,4%) e subtipo F (4,6%). O estudo de Inocêncio *et al.*, 2009, realizado em 2007/8, com 210 amostras de seis capitais, incluindo somente a Bahia da Região Nordeste, encontraram que o subtipo B (72%) é o mais prevalente, exceto em Porto Alegre que predomina o subtipo C (69%), seguido do subtipo F e recombinantes BF (13%). O estudo de Cavalcanti *et al.*, 2007, em 502 amostras provenientes da Região Nordeste, incluindo 241 amostras do Ceará, encontrou prevalência de 82,4% do subtipo B, 11,8% do subtipo F no Nordeste (sendo 5,9% do subtipo F no Ceará), 1% do subtipo C e 4,6% de recombinantes.

Nesse estudo foram identificados os subtipos em 105 amostras, sendo mais prevalente o subtipo B (86,7%), seguido pelo F (3,8%), C (2,8%) e formas

recombinantes (5,7%). Foi detectada pela primeira vez no Ceará a forma recombinante circulante CRF02_AG (1,9%). Foram encontrados 3,8% de recombinantes BF nos genes da PR e TR, consistindo na combinação de subtipo F na protease e subtipo B na transcriptase reversa, sendo um desse classificado como CRF12_BF. Os dados encontrados ratificam aqueles previamente encontrados no Ceará em 2003 (GADELHA *et al.*, 2003); em 2007 (CAVALCANTI *et al.*, 2007) e 2011 (ARRUDA *et al.*, 2011). Em 2003 foram encontrados pela primeira vez no Ceará, o subtipo F (2,7%) e recombinantes BF (2,7%) (GADELHA *et al.*, 2003). Em 2011 foi encontrado pela primeira vez no Ceará o subtipo C (5,4%) (ARRUDA *et al.*, 2011), com achados semelhantes sendo encontrados nesse estudo (2,8% de subtipo C).

Como os subtipos B, F1 e C circulam no Brasil em grupos populacionais diferentes, podem ocorrer emergência de recombinantes intersubtipos, CRFs e URFs. Neste estudo foram encontrados 5,7% de recombinantes. O recombinante BF foi encontrado em quatro indivíduos, sendo uma amostra classificada como a forma recombinante circulante CRF_12 BF. Recombinantes BF foram descritos desde 1986/87 em países da América do Sul, Argentina e Uruguai. Os vários recombinantes BF incluindo a CRF12_BF, derivam de um ancestral comum, sendo a primeira CRF com origem no continente americano e provavelmente a mais antiga de todas as CRFs de origem não africana (CARR, 2001; DIAZ, 2006). Como no MERCOSUL há livre circulação de pessoas entre os países da América do Sul e o Brasil, facilitando as relações sócio econômicas e o turismo, possivelmente indicando uma relação com as epidemias do HIV-1 das grandes metrópoles (BRÍGIDO *et al.*, 2005). A forma recombinante circulante CRF_12 BF foi encontrada em várias cidades como Rio de Janeiro (COUTO FERNANDEZ *et al.*, 2005), São Paulo (BRÍGIDO *et al.*, 2005; DE SOUZA *et al.*, 2008) e Amazonas (CUNHA *et al.*, 2012).

O recombinante AG (1,9%), constituído pelos subtipos A e G, foi encontrado pela primeira vez no Ceará neste estudo, um achado compatível com o aumento da diversidade genômica do vírus HIV-1, principalmente devido à intensa circulação de indivíduos infectados em viagens internacionais, sendo o Ceará rota turística com grande fluxo de pessoas de vários países do mundo, além de também aumento dos intercâmbios com universidades africanas no Ceará. Algumas formas recombinantes circulantes são mais frequentes do que o subtipo puro em determinadas regiões, a CRF02_AG é o quarto mais prevalente recombinante no mundo, sendo predominante na África Central e Ocidental, aonde chega a representar 50-70% dos vírus em circulação (DIAZ, 2006; HEMELAAR *et al.*, 2011). A CRF02_AG foi encontrado pela primeira vez no Rio de Janeiro (COUTO-FERNANDEZ *et*

al., 2005) e o mosaico G em São Paulo (BRÍGIDO *et al.*, 2005) e posteriormente no Pará (MACHADO *et al.*, 2009), São Paulo (SANABANI *et al.*, 2011; FERREIRA *et al.*, 2013), mostrando assim a possível introdução de novo subtipo do grupo M na epidemia do HIV-1 no Brasil. Houve um aumento significativo da proporção das CRFs, decréscimo das URFs e um aumento global dos recombinantes (20%), sendo os mais prevalentes no mundo CRF02_AG (8%) e CRF01_AE (5%) (HEMELAAR *et al.*, 2011).

Apesar dos diversos estudos de caracterização de resistência transmitida e diversidade genética do HIV-1 terem sido realizados em amostras da população brasileira, ainda há poucos dados relativos à Região Nordeste e ao Estado do Ceará. A maioria dos estudos foi realizada em pacientes das Regiões Sul e Sudeste, onde se concentram mais da metade dos pacientes com HIV/AIDS do Brasil. Estudos periódicos da epidemia regional devem ser realizados para o conhecimento da evolução da diversidade genômica, da disseminação de cepas resistente e da emergência de formas recombinantes.

Com a política do tratamento como prevenção (TasP), desde dezembro de 2013 no Brasil, 62 mil novos indivíduos infectados iniciaram tratamento até outubro de 2014; somando quase 400 mil estão em TARV (BRASIL, 2014). A transmissão de cepas do HIV-1 resistentes pode implicar no aumento da possibilidade de falha primária e na amplificação de resistência, restringindo as opções terapêuticas posteriores. Por isso, estudos de vigilância de mutações de resistência aos ARVs são fundamentais para o monitoramento da epidemia regional e para o planejamento da gestão em saúde, principalmente no contexto do uso ampliado de TARV no Brasil.

6 CONCLUSÕES

O estudo possibilitou obter as seguintes conclusões:

- A prevalência de novos casos de infecção pelo HIV na população de usuários do CTA em Fortaleza no período do estudo foi nove vezes mais elevada (3,6%) que na população geral (0,4%) do Brasil.

- A grande proporção de indivíduos jovens do sexo masculino, HSH, dentre os novos casos de infecção pelo HIV-1, reforça a necessidade de atenção especial para a prevenção da transmissão do HIV nesse segmento da população, principalmente, porque todos os pacientes com mutação de resistência transmitida relatavam categoria HSH.

- A contagem de linfócitos T CD4+ superior a 351 células/ μ l em 73,1% dos pacientes e linfócitos T CD4+ inferior a 200 células/ μ l em apenas 16,3% dos pacientes que procuraram o CTA, cerca de metade da média estadual (32%), indica a importância deste serviço na promoção do diagnóstico precoce e oportuno de seus usuários.

- Os indivíduos com diagnóstico recente apresentaram prevalência intermediária (9,5%) de resistência transmitida aos ARVs, sendo as mutações relacionadas à classe dos ITRNN as mais frequentes. Este dado é preocupante, pelo o fato dessa classe pertencer ao esquema terapêutico preferencial para o início da terapia recomendado pelo Ministério da Saúde. O achado reforça a importância da vigilância contínua de resistência e a necessidade do acompanhamento estreito dos indivíduos com diagnóstico recente de infecção pelo HIV, para orientação da escolha do regime terapêutico inicial.

- A mutação K103N foi a mais prevalente nesta população, sendo esta associada à resistência aos ITRNN, causando impacto na susceptibilidade ao Efavirenz e a Nevirapina, drogas de primeira linha dos esquemas ARVs no Brasil.

- O estudo também mostrou alta variabilidade genética no gene *pol* do HIV-1, com predomínio dos subtipos B, F1 e C, demonstrando a importância da vigilância da circulação de subtipos na região.

- Há aumento na diversidade genética do HIV-1 na população estudada, em relação aos estudos prévios, caracterizado especialmente pelo encontro de 5,7% de formas recombinantes BF e AG.

- Foi encontrada pela primeira vez no Ceará a forma recombinante circulante CRF02_AG.

REFERÊNCIAS

- ALENCAR, C.S.; SABINO, E.C.; CARVALHO, S.M.T. *et al.* HIV genotypes and primary drug resistance among HIV seropositive blood donors in Brazil: role of infected blood donors as sentinel populations for molecular surveillance of HIV. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.** v. 63, p. 387-392, 2013
- ARRUDA, E.; SIMÕES, L.; SUCUPIRA, M.C.; MEDEIROS, M.; ARRUDA, E.; DIAZ, R.S.; LIMA, A. Short Communication: Intermediate Prevalence of HIV Type 1 Primary Antiretroviral Resistance in Ceará State, Northeast Brazil. **AIDS Research and Human Retroviruses**, v. 27, n. 2, p. 153-156, 2011.
- AVERT. **HIV and Aids Science**. UK, 1986-2014. Disponível em: <<http://www.avert.org/hivandscience.htm>>. Acesso em: 14 ago. 2014.
- BARRÉ-SINOUSSE, F., CHERMANN, J.C., REY, F., NUGEYRE, M.T. *et al.* Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). **Science**, v. 220, p. 868-871, 1983.
- BARRÉ-SINOUSSE, F. HIV as the cause of AIDS, **THE LANCET**, v. 348, p. 31-35, 1996
- BERTAGNOLIO, S.; DERDELINCKX, I.; PARKER, M., *et al.* World Health Organization/HIVResNet Drug Resistance Laboratory Strategy. **International Medical Press. Antiviral Therapy**, v. 13, suppl 2, p. 49-57, 2008
- BELLO, G.; EYER-SILVA, W.A.; COUTO-FERNANDEZ, J.C. *et al.* Demographic history of HIV-1 subtypes B and F in Brazil. **Infec. Gen. and Evol.**, v. 7, n. 2, p. 263-270, 2006.
- BENNETT, D.E.; BERTAGNOLIO, S.; SUTHERLAND, D.; GILKS, C.F. The World Health Organizations global strategy for prevention and assessment of HIV drug resistance. **Antivir. Ther.**, v. 13, suppl 2, p. 1-13, 2008
- BRASIL. **Lei federal nº 9.313, de 13 de novembro de 1996**. Dispõe sobre a distribuição gratuita de medicamentos aos portadores do HIV e doentes de AIDS. Brasília, DF, 1996
- BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Diretrizes para organização e funcionamento dos CTA do Brasil**. Brasília, DF, 2010.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Boletim Epidemiológico HIV AIDS**. Brasília, DF, ano II, n. 1, dez. 2013a.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Manual Técnico para o Diagnóstico da infecção pelo HIV**. Brasília, DF, 2013b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Adultos**. Brasília, DF, 2013c. 218p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Boletim Epidemiológico HIV AIDS**, ano III, n. 1, Brasília, DF, 2014a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Manual Técnico para o Diagnóstico da infecção pelo HIV**. Brasília, DF, 2014b.

BRINDEIRO, R.M.; DIAZ, R.S; SABINO, E.C.; MORGADO, M.G.; PIRES, I.L.; BRIGIDO, L. *et al.* Brazilian network for HIV drug resistance surveillance (HIV-BResNet): a survey of chronically infected individuals. **AIDS**, v. 17, p. 1063–1069, 2003.

BRÍGIDO, L.F.M.; FRANCO, H.M. *et al.* Molecular Characteristics of HIV Type 1 circulating in São Paulo, Brazil. **AIDS Research and Human Retroviruses**, v. 21, n. 7, p. 673-682, 2005.

BRÍGIDO, L.F.M.; NUNES, C.C.; OLIVEIRA, C.M.; FERREIRA, J.L.P. HIV type 1 subtype C and CB Pol Recombinants Preval at the cities with the highest AIDS prevalence rate in Brazil. **AIDS Research and Human Retroviruses**, v. 23, p. 1579-1586, 2007.

BRÍGIDO, L.F.M; FERREIRA, J.L.P.; ALMEIDA, V.C. *et al.* Southern Brazil HIV type 1 C expansion into the State of São Paulo, Brazil. **AIDS Research and Human Retroviruses**, v. 27, p. 339-344, 2011.

BURKE, D.S. Recombination of HIV: an important viral evolutionary strategy, **Emerging Infectious Diseases**, v. 3, n. 3, p. 253-259, 1997.

CARR, J.K.; SALMINEN, M.O.; ALBERT, J.A.; SANDERS-BUELL, E. *et al.* Full Genome Sequences of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Subtypes G and A/G Intersubtype Recombinants. **Virology**, v. 247, p. 22–31, 1998.

CARR, J. K.; AVILA, M.; GOMEZ CARRILO, M.; SALOMON, H. *et al.* Diverse BF recombinants have spread widely since the introduction of HIV-1 into South America. **AIDS**, v. 15, n. 15, p. 41-47, 2001

CARR, J.K.; WOLFE, N.D.; TORIMIRO, J. N.; TAMOUFE, U. *et al.* HIV-1 recombinants with multiple parental strains in low-prevalence, remote regions of Cameroon: Evolutionary relics? **Retrovirology**, v. 7, p. 39, 2010.

CAVALCANTI, A.M.; BRITO, A.M.; SALUSTIANO, D.M.; LIMA, K.O.; SILVA, S.P.; DIAZ, R.S.; LACERDA, H.R.. Primary resistance of HIV to antiretroviral among individuals recently diagnosed at voluntary counselling and testing centers in the metropolitan region of Recife, Pernambuco. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 107, p. 450-457, 2012.

CAVALCANTI, A.M.; LACERDA, H.R. *et al.* Antiretroviral resistance in individuals presenting therapeutic failure and subtypes of the human immunodeficiency virus type 1 in the Northeast Region of Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 102, n. 7, p. 785-792, 2007. CEARÁ, Secretaria da Saúde. Coordenadoria de Promoção e Proteção à Saúde. Núcleo de Epidemiologia. **Informe Epidemiológico - AIDS**. Novembro, Fortaleza, 2013

CEARÁ, Secretaria da Saúde. Coordenadoria de Promoção e Proteção à Saúde. Núcleo de Epidemiologia. **Informe Epidemiológico - AIDS**. Janeiro, Fortaleza, 2015

CECCHERINI-SILBERSTEIN, F.; CENTO, V.; CALVEZ, V.; PERNO, C-F. The use of human immunodeficiency virus resistance tests in clinical practice. **Clin. Microbiol Infect.**, v. 16, p. 1511-1517, 2010.

CERQUEIRA, D.M.; AMORIM, R.M. *et al.* Antiretroviral resistance and genetic diversity of human immunodeficiency virus type 1 isolates from Federal District, Central, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 99, n. 8, p. 877-882, 2004

CLAVEL, F.; GUETARD, D.; BRUN-VEZINET, F.; CHAMARET, S.; REY, M.A.; SANTOS-FERREIRA, M.O. *et al.* Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. **Science**, v. 233, p. 343-346, 1986.

CLAVEL, F., Mechanisms of HIV drug resistance: a primer. **The PRN Notebook**, v. 9, n. 1, New York, 2004

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

COFFIN, J.M. HIV pathogenesis. Lines drawn in epitope wars. **Nature**; v. 375, n. 6532, p. 534-535, 1995.

COHEN, M.S.; CHEN, Y.Q.; McCAULEY, M., *et al.* Prevention of HIV-1 Infection with early antiretroviral therapy. **N. Engl. J. Med.**, v. 365, n. 6, p. 493-505, 2011.

COUTO-FERNANDEZ, J.C.; MORGADO, M.G. *et al.* HIV-1 subtyping in Salvador, Bahia, Brazil: a city with African sociodemographic characteristics. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 22, n. 3, p. 288-293, 1999.

COUTO-FERNANDEZ, J.C.; SILVA-DE-JESUS, C.; VELOSO, V.G. *et al.* Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) genotyping in Rio de Janeiro, Brazil: assessing subtype and drug-resistance associated mutations in HIV-1 infected individuals failing highly active antiretroviral therapy. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 1, p. 73-78, 2005.

CUNHA, L.K.H.; KASHIMA, S.; AMARANTE, R.; HADAAD, R. *et al.* Distribution of human immunodeficiency virus type 1 subtypes in the State of Amazonas, Brazil, and subtype C identification. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 45, n. 2, p. 104-112, 2012.

DE SOUZA, A.C.; DE OLIVEIRA, C.M.; RODRIGUES, C. L. *et al.* Short Communication: Molecular Characterization of HIV type 1 BF pol recombinants from São Paulo, Brazil. **AIDS**, v. 24, p. 1521-1552, 2008.

DIAZ, R.S. **Guia para o manuseio de resistência antirretroviral**. São Paulo: Ed. Permanyer Brasil, 2011. 233p.

DIAZ, R. S. (Ed.). **Tendências em HIV/AIDS**. São Paulo: UNIFESP, 2006. v. 1, n. 2.

EGGER, M.; MAY, M.; CHÊNE, G.; PHILLIPS, A.N., LEDERGERBER, B. *et al.*, Prognosis of HIV-1-infected patients starting highly active antiretroviral therapy: a collaborative analysis of prospective studies. **Lancet**, v. 360, p. 119-129, 2002

ENGELMAN, A., CHEREPANOV, P. The structural biology of HIV-1: mechanistic and therapeutic insights. **Nat. Rev. Microbiol.**, v. 10, n. 4, p. 279-290, 2013

FERREIRA, J.L.P.; THOMAZ, M.; RODRIGUES, R. *et al.* Molecular characterization of newly identified HIV-1 infections in Curitiba, Brazil: preponderance of clade C among males with recent infections. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 103, p. 800-808, 2008.

FERREIRA, J.L.P.; RODRIGUES, R. *et al.* Transmitted drug resistance among people living with HIV/Aids at major cities of Sao Paulo State, Brazil. **Advances in Virology**, v. 2013, p. 1-7, 2013

FERREIRA, Adriana Santarém. **Resistência Primária aos Antirretrovirais e Mapeamento Genético do HIV-1 no Estado do Mato Grosso**. 2011, 99f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011.

GADELHA, S.R.; SHINDO, N. *et al.* Molecular epidemiology of human immunodeficiency virus-1 in the state of Ceará, Northeast Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 98, p. 461-464, 2003.

GAO, F.; ROBERTSON, D.L.; CARRUTHERS, C.D.; LI, Y. *et al.* An isolate of human immunodeficiency virus type 1 originally classified as subtype I represents a Complex Mosaic comprising three different group M subtypes (A, G, and I). **Journal of Virology**, v. 72, n. 12, p. 10234-10241, 1998

GRÄF, T., PASSAES, C.P., FERREIRA, L.G. *et al.* HIV-1 genetic diversity and drug resistance among treatment naïve patients from Southern Brazil: an association of HIV-1 subtypes with exposure categories. **Journal of Clinical Virology**, v. 51, p. 186–191, 2011.

GRANT, R.M.; KURITZKES, D.R. *et al.* Accuracy of the TRUGENE hiv-1 Genotyping Kit, **Journal of Clin. Microb.**; v. 41, n. 4, p. 1586-1593, 2003

GROTO, R.M.T.; PARDINI, M.I.M.C. **Biologia Molecular do HIV-1 e Genética da resistência humana à AIDS**. **Arq. Ciência Saúde**, v. 13, n. 3, p. 61-64, 2006.

GULICK, R.M.; MELLORS, J.W.; HAVLIR, D.; ERON, J.J.; GONZALEZ, C. *et al.* Treatment with indanavir, zidovudine and lamivudine in adults with human immunodeficiency virus infection and prior antiretroviral therapy. **N. Engl. J. Med.**, v. 337, p. 734-739; 1997

GÜNTHARD, H.F.; ABERG, J.A.; ERON, J.J. *et al.* Antiretroviral treatment of adult HIV Infection 2014 recommendations of the international antiviral society–USA Panel. Clinical Review & Education, Special Communication, **JAMA**, v. 312, n. 4, p. 410-425, 2014.

HAMMER, S.M.; SQUIRES, K.E.; HUGHES, M.D.; GRIMES, J.M.; DEMETER, L.M.; CURRIER, J.S. *et al.* A controlled trial of two nucleoside analogues plus indinavir in persons with human immunodeficiency virus infection and CD4 cell counts of 200 per cubic millimeter or less. AIDS clinical trials group 320 study team. **N. Engl. J. Med.**, v. 337, p. 725-733, 1997.

HAHN, B.H.; DE COCK, K.M.; SHARP, P.M.; AIDS as a zoonosis and public health implications. **Science**, v. 287, n. 5453, p. 607-614, 2000.

HEMELAAR, J.; GOUWES, E.; GHYS, P.D.; OSMANOV, S. *et al.* Global trends in molecular epidemiology of HIV-1 during 2000-2007. **AIDS**, v. 25, n. 5, p. 679-689, 2011.

HOFFMANN, C.J., GALLANT, J.E. HIV and AIDS. **ACP Medicine**, Canadá, p. 1-33, 2007

HÜTTER, G.; NOWAK, D.; MOSSNER, M.; GANEPOLA, S. *et al.* Long-Term control of HIV by CCR5 Delta32/Delta32 stem-cell transplantation. **N. Engl. J. Med.**, v. 360, n. 7, p. 692-698, 2009.

INOCENCIO, L.A.; PEREIRA, A.A.; SUCUPIRA, M.C.; FERNANDEZ, J.C.; JORGE, C.P. *et al.* Brazilian network for HIV drug resistance surveillance: a survey of individuals recently diagnosed with HIV. **Journal Internacional AIDS Society**, v. 12, p. 20, 2009.

KANTOR, R.; KATZENSTEIN, D. Drug resistance in non-subtype B HIV-1. **Journal of Clinical Virology**, v. 29, p. 152–159, 2004.

KEELE, B.F.; VAN HENVERSWYN, F.; LI, Y.; BALES, E. *et al.* Chimpanzee reservoirs of pandemic and nonpandemic HIV-1. **Science**, v. 313, p. 523-526, 2006.

LEMEY, P.; PYBUS, O.G.; RAMBAUT, A. *et al.* The Molecular Population Genetics of HIV-1 Group O. **Genetics Society of America**, v. 67, p. 1059–1068, 2004.

LOS ALAMOS, Los Alamos Laboratory. USA, 2015. Disponível em <www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/CRFs/CRFs>. Acesso em: 2 jan. 2015.

MACHADO, L.F.A.; ISHAK, M.O.G.; VALLINOTO, A.C.R. *et al.* Molecular epidemiology of HIV type 1 in northern Brazil: Identification of subtypes C and D and introduction of CRF02_AG in the Amazon Region of Brazil. **AIDS Research na Human Retroviruses**, v. 25, n. 10, p. 961-966, 2009.

MEDEIROS, M.S. **Genotipagem e Perfil de resistência aos antirretrovirais do vírus da imunodeficiência tipo-1 em população com falha terapêutica no Ceará, Brasil – 2002 a 2004.2006.** 194f. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Farmacologia e Fisiologia. Faculdade de Medicina. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.

MENDONÇA, J.S. **Adultos e adolescentes com HIV**: análise de regimes iniciais de TARV com proposição de algoritmo. Atividade científica. São Paulo: Edição 60, 2013. (Publicação técnico-científica da BMS Virologia).

MILLER, L.E. Laboratory Diagnosis of HIV Infection. *In*: STEVENS, C.D. **Clinical immunology and serology**: a laboratory perspective. 3. ed. Philadelphia: F.A. Davis Company. 2010. 476 p.

MONTANER, J.S.G.; LIMA, V.S.; BARRIOS, R.; YIP, B.; WOOD, E.; KERR, T. *et al.* Association of highly active antiretroviral therapy coverage, population viral load, and yearly new HIV diagnoses in British Columbia, Canada: a population-based study. **Lancet Infect. Dis.**, v. 376, s 1, p. 532-39, 2010.

MORGADO, M.G.; GUIMARÃES, M.L. *et al.* Molecular Epidemiology of HIV in Brazil: Polymorphism of the Antigenically Distinct HIV-1 B Subtype Strains. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 93, n. 3, p. 383-386, 1998.

NYAMWEYA, S.; HEGEDUS, A.; JAYE, A.; ROWLAND-JONES, S. *et al.* Comparing HIV-1 and HIV-2 infection: Lessons for viral immunopathogenesis. **Rev. Med. Virol.**, v. 23, p. 221-240, 2013.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION; WORLD HEALTH ORGANIZATION. **HIV continuum of care monitoring framework**. 2014. Disponível em: <http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=25746&Itemid=>. Acesso em: 20 dez. 2014.

PEDROSO, C.; QUEIROZ A.T.; ALCANTARA, L.C. *et al.* High prevalence of primary antiretroviral resistance among HIV-1-infected adults and children in Bahia, a northeast state of Brazil. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 45, p. 251-253, 2007.

PILLAY, D. Current patterns in the epidemiology of primary HIV drug resistance in North America and Europe. **Antiviral therapy**, v. 9, n. 5, p. 695-702, 2004.

PINEDA-PENÁ, A.C.; BELLO, D.C. *et al.* HIV-1 Transmitted Drug Resistance in Latin America and Caribbean. What do we know?, **AIDS Rev.**, v. 14, p. 256-267, 2012

PINTO, M.E.; STRUCHINER, C.J. A diversidade do HIV-1: uma ferramenta para o estudo da pandemia, **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 3, p. 473-484, mar. 2006.

POKORNÁ, J.; MACHALA, L.; REZÁCOVÁ, P.; KONVALINKA, J. Current and novel inhibitors of HIV-1 protease. **Viruses**, v. 1, p. 1209-1239, 2009

PRLOG, Press Release Distribution. Disponível em: < www.prlog.org/12076454/4>. Acesso em 10 dez. 2014.

QIAGEN, **QIAamp Viral RNA Mini Handbook**, 3rd ed. USA, 2007

REDD, A.D.; COLLINSON-STRENG, A.; MARTENS, C.; RICKLEFS, S. *et al.* Identification of HIV superinfection in seroconcordant couples in Rakai, Uganda, by use of

next- generation deep sequencing, **Journal of Clinical Microbiology**, v. 49, n. 8, p. 2859-2867, 2011.

ROBERTSON, D.L.; ANDERSON, J.P. *et al.* HIV nomenclature proposal: a reference guide to HIV-1 classification. *In* : KUIKEN, C.; FOLEY, B. *et al.* (Ed.). **The human retroviruses and Aids 1999 compendium: theoretical biology and biophysics group**, USA: Los Alamos, 1999.

SANABANI, S.; PASTENA, E.R. *et al.* Characterization of partial and near full-length genomes of HIV-1 strains sampled from recently infected individuals in São Paulo, Brazil. **PLoS One** , v. 6, n. 10, p. 1-11, 2011.

SHAFER, R.W.; KANTOR, R.; GONZALES, M.J. The Genetic Basis of HIV-1 resistance to reverse transcriptase and protease inhibitors **AIDS Reviews**; v.2, p. 211-228, 2000

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

SHAFER, R.W.; RHEE, S.Y.; PILLAY, D.; MILLER, V. HIV-1 protease and reverse transcriptase mutations for drug resistance surveillance. **AIDS**, v. 21, n. 2, p. 215-223, 2007

SIEMENS, **Manual operacional renageno**; para uso com o OpenGene DNA Sequencing System. revisão 6.0, 2008

SNOECK, J.; KANTOR R.; SHAFER,R.W. *et al.* Discordances between interpretation algorithms for genotypic resistance to protease and reverse transcriptase inhibitors of human immunodeficiency virus are subtype dependent. **Antimicrob. Agents Chemother.**; v. 50, p. 694-701, 2006

SOARES, M.A.; BRINDEIRO, R.M.; TANURI, A. Primary HIV-1 drug resistance in Brasil. **AIDS**, v. 18, suppl 3. S9- S13, 2004.

STANFORD. **Stanford HIV Drug Resistance Database**. Disponível em:
< <http://hivdb.stanford.edu/>>. Acesso em: 20 nov. 2014.

STEFANI, M.M.; PEREIRA, G.A. *et al.* Molecular screening shows extensive HIV-1 genetic diversity in Central West, Brazil. **J. Clin. Virol.**, v. 39, n. 3, p. 205-209, 2007

SUCUPIRA, M.C.; CASEIRO, M.M.; ALVES, K. *et al.* High levels of primary antiretroviral resistance genotypic mutations and B/F recombinants in Santos, Brazil. **AIDS Patient Care STDS**, v. 21, p. 116-128, 2007.

TANG, M.W.; SHAFER, R.W.; HIV-1 Antiretroviral resistance scientific principles and clinical applications. **USA Drugs**, Stanford, v. 72, n. 9, p. e1-e25, 2012

TU, X.; DAS, K.; HAN, Q.; BAUMAN, J.D.; CLARK, A.D.Jr; HOU, X. *et al.* Structural basis of HIV-1 resistance to AZT by excision. **Nat. Struct. Mol. Biol.**, v. 17, n. 10, p.1202–1209, 2010.

UNAIDS. **Global reports:** UNAIDS report on the global AIDS epidemic. Genebra, Suíça, 2013.

UNAIDS. **The GAP report.** Genebra, Suíça, 2014

UNIVERSIDADE DE STANFORD. - <http://hivdb.stanford.edu/> - HIVdb Program - Genotypic Resistance Interpretation Algorithm - sierra2.stanford.edu/sierra/servlet/JSierra- Stanford HIV Drug Resistance Database - <http://cpr.stanford.edu/cpr.cgi>.

VELLA, S.; PALMISANO, L. The global status of resistance to antiretroviral drugs. **Clinical Infectious Diseases**, n 41, p. S239-46, 2005.

VELLA, S.; GALLUZZO, C; GIANNINI, G.; PIRILLO, M.F.; DUNCAN, I.; JACOBSEN, H. *et al.* Saquinavir/zidovudine combination in patients with advanced HIV infection and no prior antiretroviral therapy: CD4+lymphocyte/plasma RNA changes, and emergence of HIV strains with reduced phenotypic sensitivity. **Antiviral Res.**, v. 29, p. 91–93, 1996.

VELASCO-DE-CASTRO, C.A.; GRINSZTEJN, B.; VELOSO, V.G. *et al.* HIV-1 Diversity and Drug Resistance Mutations among People Seeking HIV Diagnosis in Voluntary Counseling and Testing Sites in Rio de Janeiro, Brazil. **PLOS ONE**, v. 9, Issue 1; 2014

VELOSO, A.C.R.; FINK, H.T.K., LIMA, L.M.O. Resistência genotípica do vírus da Imunodeficiência Humana tipo 1 aos antirretrovirais. **Com. Ciências Saúde**, v. 21, n. 1, p. 49-60, 2010

VÉRAS, N.M.C. **História Evolutiva do HIV-1 no Brasil.** 228f. Tese (Doutorado) – Departamento de Biologia Celular do Instituto de Ciências Biológicas. Universidade de Brasília, Brasília, 2010.

YANIK, E.L.; NAPRAVNIK, S.; HURT, C.B. *et al.* Prevalence of Transmitted Antiretroviral Drug Resistance Differs between Acutely and Chronically HIV-Infected Patients. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 61, n. 2, p. 258–262, 2012

ZHANG, L.; RAMRATNAM, B.; TENNER-RACZ, K.; HE, Y.; VESANEN, M.; LEWIN, S. *et al.* Quantifying residual HIV-1 replication in patients receiving combination antiretroviral therapy. **N Engl J Med.**, v. 340, n. 21, p. 1605–1613, 1999.

WILSON, D.P. Data are lacking for quantifying HIV transmission in the presence of effective antiretroviral therapy. **AIDS**, v. 23, p. 1431-1433, 2009

ANEXO A – TCLE



FUNDAÇÃO EDSON QUEIROZ
UNIVERSIDADE DE FORTALEZA

Consentimento Livre Esclarecido

Nome da Pesquisa: **“Características epidemiológicas, clínicas e virológicas de pacientes com infecção recente ou crônica pelo HIV-1 diagnosticada no CTA de Fortaleza”**

Pesquisadores responsáveis: Prof. Dr. Jeová Keny Baima Colares
Profa. Dr. Danielle Malta Lima

A Universidade de Fortaleza, com a colaboração de outras instituições, está executando pesquisa em indivíduos que receberam diagnóstico recente de infecção pelo HIV, após procura espontânea ao Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA) de Fortaleza. Neste estudo procuraremos inicialmente determinar o subgrupo de pacientes cuja infecção foi adquirida recentemente (últimos 6 meses), utilizando alguns testes laboratoriais. Esta pesquisa permitirá a obtenção de informações importantes relacionadas à situação dos indivíduos recém-diagnosticados, quanto a presença de sintomas e os resultados de seus principais exames laboratoriais de rotina. Também irá estudar as características do vírus em cada paciente, com atenção especial para a detecção de resistência do HIV aos medicamentos antirretrovirais. Estas informações poderão ter grande utilidade na organização do atendimento de pacientes no Sistema Único de Saúde (SUS), além de poder contribuir nas decisões relacionadas a escolha de medicamentos no seu tratamento. Espera-se que pelo menos 200 indivíduos de ambos os sexos e maiores de 18 anos sejam incluídos nesta pesquisa.

Para a realização deste estudo será oferecido acompanhamento médico em alguma das unidades de referência de nossa cidade, onde você terá consultas rotineiras e realizará exames regulares, de forma semelhante a todos outros pacientes do SUS. Será necessária a retirada de pequena quantidade adicional de seu sangue, com o objetivo de realizar os estudos sobre a resistência do HIV. Uma ou mais coletas posteriores podem ser solicitadas a você, mas a autorização para uma única coleta agora não o obriga a aceitar coletas posteriores. O sangue por você doado, além de permitir o isolamento e a caracterização do HIV, também deverá ter uma parte preservada para análises posteriores em instituições ligadas à Universidade de Fortaleza, sempre dentro dos objetivos descrito acima. Caso as informações obtidas por esta pesquisa possam beneficiá-lo, elas serão prontamente utilizadas para lhe oferecer o tratamento mais adequado. Você não tem obrigação alguma de contribuir para este ou outro estudo e, se decidir não participar, seu direito à assistência médica e tratamento não será afetado. Este estudo não prevê a utilização de nenhuma medicação diferenciada da rotina recomendada pelo Ministério da Saúde brasileiro.

Se você concordar em participar desta pesquisa, acontecerá o seguinte:

1. Algum profissional de saúde poderá fazer uma breve entrevista e, após consulta ao seu questionário, deverá preencher um formulário no qual deverá constar seu nome, dados de identificação, entre outras informações. Todas essas informações serão anotadas de forma confidencial. Mesmo participando do estudo você poderá se recusar a fornecer qualquer informação solicitada. O resultado desta pesquisa, se divulgado, irá garantir o total anonimato dos participantes e o caráter confidencial das informações.
2. Será retirado 10ml de sangue de seu braço. Como em qualquer coleta de sangue, costuma haver desconforto local (picada da agulha) e risco de infecção (raro) e de formação de hematomas leves. Todas as medidas habituais serão tomadas para que isso não aconteça.

Mesmo assinando este documento você poderá a qualquer momento recusar qualquer um dos procedimentos oferecidos.

Qualquer dúvida, favor entrar em contato com o Ambulatório de Infectologia (85 3477-3626) do Núcleo de Atenção Médica Integrada da Universidade de Fortaleza ou no fone móvel do Projeto Primeiro Passo (85 9193-3236).

Eu, Jeová Keny Baima Colares, médico infectologista registrado no Conselho Regional de Medicina do Ceará sob o número 5716, responsabilizo-me pelo cumprimento das condições aqui expostas.

Assinatura do pesquisador:

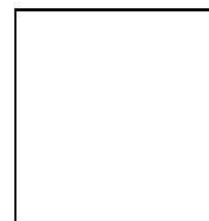
Após leitura e avaliação de todas as informações contidas neste formulário de consentimento, afirmo ter compreendido o propósito da pesquisa e concordo voluntariamente em participar.

Nome do paciente: _____

Assinatura do paciente: _____

Testemunha: _____

Telefones para contato: _____



Paciente

Impressão digital

Fortaleza, ___/___/_____

ANEXO B – FORMULÁRIO SI-CTA

República Federativa do Brasil Ministério da Saúde PN-DST/AIDS		CTA - CENTROS DE TESTAGEM E ACONSELHAMENTO FORMULÁRIO DE ATENDIMENTO DO SI-CTA		Nº Requisição	
Dados Orientação	1 Local (instituição) de Origem / Encaminhamento	2 Data Atendimento	3 Tipo de Orientação (Pré-Teste) [1] Individual [3] Nenhuma [2] Coletiva [4] Individual e Coletiva		
	4 Orientador(es)/Profissional	5 1ª Atendimento no CTA [1] Sim [2] Não	6 Vai Fazer Coleta [1] Sim [2] Não	7 1ª Amostra [1] Sim [2] Não	
	8 Nº Requisição Anterior (obrigatório p/ 2ª Amostra)	9 Teste Nominal [1] Sim [2] Não	10 Mostra Nome Etiqueta [1] Sim [2] Não		
Dados do Usuário	11 Nº do Prontuário/Protocolo	12 Nome do Usuário ou Senha			
	13 Sexo [1] Masc. [2] Fem.	14 Gestante [1] Sim [2] Não	15 Idade Gestacional (Meses)	16 Data Nascimento	
	17 Estado Civil (Situação conjugal) [1] Casado/Amigado [3] Separado [2] Solteiro(a) [4] Viúvo [99] Não infor		18 Raça/Cor [1] Branca [3] Amarela [5] Indígena [2] Preta [4] Parda [99] Ignorado	19 Escolaridade (anos estudos concluídos) [1] Nenhuma [3] De 4 a 7 [5] De 12 a mais [2] De 1 a 3 [4] De 8 a 11 [99]-Ignorado	20 Ocupação
	21 Número do Cartão SUS	22 Nome da mãe			
	Autorização p/ Contato	23 Permite Contato * [1] Sim [2] Não	24 Tipo de Contato [1] Telefone [3] e-mail [5] Outros: [2] Correio [4] Visita Domiciliar		
Assinatura do Usuário					
* Caso não venha buscar o resultado, autorizo este serviço de saúde a entrar em contato comigo, respeitando o meu direito a privacidade e sigilo das informações.					
Dados de Residência	25 Logradouro (rua, avenida...)	26 Complemento (apto, casa ...)	27 Número		
	28 Município	29 Bairro	30 UF		
	31 CEP	32 (DDD) Telefone	33 Zona [1] Urbana [2] Rural	34 País (se residente fora do Brasil)	
	Dados Complementares				
Dados da Requisição	35 Motivo da Procura [1] Exposição a situação de risco [10] Janela imunológica [2] Encaminhado por serviço de saúde [11] Suspeita de DST [3] Encaminhado por banco de sangue [12] Prevenção [4] Encaminhado por clínicas de recuperação [13] Exame pré-nupcial [5] Sintomas relacionados a AIDS [14] Testagem para hepatite [6] Admissão em emprego/Forças Armadas [15] Contato domicil. p/ hepatites [7] Conhecimento de status sorológico [16] Oficina em escola [8] Exame pré-natal [97] Outros: [9] Conferir resultado anterior [99] Não Informado		36 Origem da Clientela (como ficou sabendo do serviço) [1] Material de divulgação [7] ONG [2] Amigos/Usuários do serviço [8] Internet [3] Jornais/Rádio/Televisão [9] Campanha [4] Banco de sangue [10] Escola [5] Serviço/Profissional de Saúde [97] Outros: [6] Serviços de informação telef. [99] Não informado		
	37 Encaminhamento Pré-Teste (até 3 opções) [1] Nenhum [6] Tratamento de DST [11] Realizar hepatite C [2] Repeti Exame/Inconclusivo [7] Orientações Gerais [12] Realizar hepatite D [3] Repetir Ex./Janela imunológica [8] Realizar ex. HIV [13] Realizar todos os Exames [4] Repetir Exame /2ª amostra [9] Realizar Ex. Sífilis [97] Outros [5] Assistência Psicossocial [10] Realizar hepatite B		38 Local Encaminhamento		
Notas da Orientação	39 Notas da Orientação Pré-Teste / Observações:				
	Notas da Orientação Pós-Teste / Observações:				

Continuação da Requisição -Página 2						
Antecedentes Epidemiológicos	40	Procurou Banco de Sangue para se testar nos últimos 12 meses [1] Sim [2] Não	41	Apresentou DST nos últimos 12 meses [1] Sim [2] Não	42	Se apresentou DST nos últimos 12 meses, como tratou [1] Serviço de saúde [3] Auto-medicação [5] Não tratou [99] Não informado [2] Farmácia [4] Não lembra [98] Não se aplica
	43	Usou Drogas nos últimos 12 meses [1] Sim [2] Não	44	Se Fez uso de drogas nos últimos 12 meses, Especifique Quais e Suas Frequências [1] Alcool [3] Cocaina Aspirada [5] Crack [7] Anfetaminas [2] Maconha [4] Cocaina Injetavel [6] Heroína [8] Outras	Legendas p/ frequência de uso de drogas: 1- Nunca usou 2- Já usou, mas não usa mais 3- Usa vez em quando 4- Usa frequentemente	
	45	Compartilhou Seringas/Agulhas nos últimos 12 meses [1] Sim [2] Não [3] Não lembra [98] Não se aplica [99] Não informado				
	46	Tipo de Parcerias Sexuais e Quantidade (em números) nos últimos 12 meses	[1] Homens [4] Travestis/Transsexuais [99] Não informado	[2] Mulheres [98] Não se aplica		
Informações de Uso de Preservativos	47		Tipo de Exposição (marque com X até 2 opções de resposta)			
	[1] Relação Sexual [3] Compart. seingas/agulhas [5] Ocupacional (exp. mat. biologico) [7] Não relata risco Biolog. [99] Não informado		[2] Transf. de sangue/hemod. [4] Hemofilia [6] Transmissão vertical [97] Outros			
	48	Uso do Preservativo c/ Parceiro Fixo (atual) nos últimos 12 meses [1] Usou todas as vezes [4] Usou mais da metade das vezes [2] Não usou [98] Não se aplica [3] Usou menos da metade das vezes [99] Não informado	49	Uso do Preservativo na Última Relação com Parceiro Fixo [1] Sim [4] Sim, mas rompeu [2] Não [98] Não se aplica [3] Não lembra [99] Não informado		
	50	Motivo de Não Usar Preservativos com Parceiro Fixo [1] Não gosta [6] Confia no parceiro [11] Negociou não usar [17] Disfunção sexual [2] Não acredita na eficácia [7] Sob efeito de drogas/álcool [12] Não tinha informação [18] Violência sexual [3] Não sabe usar [8] Não consegue negociar [13] Não tem condições de comprar [19] Alergia ao Produto [4] Parceiro(a) não aceita [9] Achou que o outro não tinha HIV [14] Não deu tempo/tesão [97] Outros [5] Não dispunha no momento [10] Acha que não vai pegar [15] Desejo de ter filho [98] Não se aplica [16] Tamanho do preservativo pq/gd [99] Não informado				
Recorte	51		Risco do Parceiro Fixo			
	[1] Relações bissexuais [3] Usuário de drogas injetáveis [5] Soropositivo p/ HIV [7] Outros [99] Não informado		[2] Transfusão de sangue/hemofílico [4] Uso de outras drogas [6] Tem ou teve DST [98] Não se aplica			
	52	Uso do Preservativo c/ Parceiro(s) Eventual(is) nos últ. 12 meses [1] Usou todas as vezes [4] Usou mais da metade das vezes [2] Não usou [98] Não se aplica [3] Usou menos da metade das vezes [99] Não informado	53	Uso do Preservativo na Última Relação c/ Parceiro Eventual [1] Sim [4] Sim, mas rompeu [2] Não [98] Não se aplica [3] Não lembra [99] Não informado		
	54	Motivo de Não Usar Preservativos com Parceiro Eventual [1] Não gosta [6] Confia no parceiro [11] Negociou não usar [17] Disfunção sexual [2] Não acredita na eficácia [7] Sob efeito de drogas/álcool [12] Não tinha informação [18] Violência sexual [3] Não sabe usar [8] Não consegue negociar [13] Não tem condições de comprar [19] Alergia ao Produto [4] Parceiro(a) não aceita [9] Achou que o outro não tinha HIV [14] Não deu tempo/tesão [97] Outros [5] Não dispunha no momento [10] Acha que não vai pegar [15] Desejo de ter filho [98] Não se aplica [16] Tamanho do preservativo pq/gd [99] Não informado				
Encaminhamentos Pós-Teste	55		Recorte Populacional (marque com X até 3 opções de resposta)			
	[1] População em geral [4] Profissional do sexo [7] Usuário de outras drogas [12] Travesti/Transsexual [2] População confinada [5] Homem que faz sexo com homem [8] Pessoa vivendo com HIV/aids [13] Pessoa em exclusão social [3] Caminhoneiro [6] Usuário de drogas injetáveis [9] Portador de DST [14] Portador Hepatite B/C/D [10] Hemofílico e politransfundido [15] Estudante [11] Profissional de saúde [97] Outros:					
Resultado Laboratorial	56		Encaminhamento(s) Pós-Teste (até 3 opções)		57	
	[1] Nenhum [7] Tratamento para hepatites [2] Repetir exame HIV/Inconclusivo [8] Tratamento para HIV [3] Repetir/Janela imunológica [9] Repetir ex. Hepatite/incon. [4] Repetir exame/2ª amostra [10] Tratamento de Sífilis [5] Assistência psicossocial [11] Vacina Hepatite B [6] Tratamento de DST [97] Outros:		58		Local (is) de Encaminhamento (s) Pós-Teste	
				59		
				Materias / Preser. fornecidos:		
Dados de Resultado						
60		61		62		
HIV		Tipo da Amostra:		Data Entrega:		
Detalhamento do tipo de teste realizado: [1] Elisa [2] Elisa e Confirmatorio [3] Teste Rápido:		Resultado do Tipo do Teste:		63 Hepatite C Anti-HCV [] D Anti-HDV [] B HBsAg [] Anti-HBc total [] ANTI-HBs []		
Informações do Teste Rápido: Algoritmo: Resultado: T1: [] [] T2: [] [] T3: [] []		Legenda do Algoritmo do Teste Rápido: 1- Determine HIV 1/2 2 - Teste Rápido HIV 1/2 Bio-Manguinhos		64 Sífilis VDRL [] Titulação: [] Doença Ativa [] Cicatriz Sorológ.		
Resultado Final Algoritmo HIV :				65		
				Outras Doenças e Seus Resultados		
				Legendas de Resultados: 1-Não Reagente/Negativo 2-Reagente/Positivo 3-Indeterminado 4-Ignorado 5-Não realizado		

INSTRUÇÕES DE PREENCHIMENTO DO FORMULÁRIO DE ATENDIMENTO - SICTA v.2005

Instruções Gerais:

- O CTA pode optar por um atendimento simplificado no pré-teste (preenchendo apenas a primeira página do formulário e a página seguinte preencher durante o pós-teste) ou por atendimento completo (preenchendo as duas páginas do formulário logo no pré-teste).
- Dados de orientação: as questões de 1 a 10 deverão ser preenchidas para todos os usuários que buscarem o CTA.
- Dados do Usuário: todas as questões deverão ser preenchidas, as questões 21 e 22 deverão ser preenchidas apenas para usuários que optarem por teste nominal. Dados de residência (questões 25 a 34): no caso de usuários que não autorizarem contato do serviço (questão 23), deverão ser preenchidas apenas os campos "28 - município e 29-Bairro". Os demais dados residenciais não deverão ser preenchidos.
- Todos os demais campos (35 a 63) deverão ser preenchidos para todos os usuários.

Instruções dos Campos da 1ª página :

- 1 - Local de Origem. Refere-se à unidade de saúde (instituição) que encaminhou o usuário. Caso seja demanda espontânea é o próprio CTA.
- 2 - Data de atendimento - Introduzir a data de realização do atendimento pré-teste no CTA. Deverá ser anotada no formato dd/mm/aaaa.
- 3 - Tipo de orientação (Pré-Teste) - Registrar se o usuário passou pelo aconselhamento pré-teste individual, coletivo ou individual e coletivo. Não é esperado que qualquer usuário realize coleta de sangue sem qualquer abordagem (individual e coletiva), mas caso isto tenha acontecido, registrar "nenhuma" orientação/aconselhamento pré-teste.
- 4 - Orientador(es)/Profissional - Introduzir o nome do(s) profissional(is) responsável(is) pelo(s) atendimento(s) pré-teste.
- 5 - 1º atendimento no CTA - Introduzir a resposta fornecida pelo usuário quanto ao fato de ser ou não a primeira vez que é atendida neste CTA.
- 6- Vai fazer coleta - Refere-se à coleta de sangue. Registrar se o usuário decidiu submeter-se a quaisquer das testagens oferecidas: HIV, Sífilis, Hepatites B, C e D.
- 7 - 1ª amostra - Registrar "sim" se corresponder à primeira coleta realizada para testagem (triagem sorológica). Registrar "não" apenas quando for coleta para exame confirmatório do resultado da primeira amostra (ou seja, quando o primeiro resultado tiver sido positivo/reagente ou indeterminado/inconclusivo). Todas as outras situações entram como 1ª amostra. Ex.: pessoa que retorna para realizar novo exame porque estava em janela imunológica entra como 1ª amostra .
- 8- Nº da requisição anterior - Introduzir o número que identifica a requisição anterior do mesmo usuário atendido outras vezes no CTA. O preenchimento desta informação é particularmente importante (obrigatório) nos casos de segunda amostra, permitindo vincular a exame anterior.
- 9 - Teste nominal - Registrar se o usuário optou por identificar-se ou manter o anonimato.
- 10 - Mostra nome na etiqueta - Opção de imprimir ou não o nome do usuário na etiqueta.
- 11 - Nº do Prontuário/Protocolo - Introduzir o número do prontuário/protocolo do usuário no serviço (se houver). Esta informação facilita a identificação e consulta do mesmo no sistema, principalmente daqueles que se identificaram e realizaram mais de uma testagem no CTA.
- 12 - Nome (Senha) - Introduzir o nome do usuário ou a senha escolhida por ele. No caso de testes nominais, o nome completo deve ser checado com documentos.
- 13 - Sexo - Masculino ou feminino
- 14 - Gestante - Registrar se a mulher está gestante ou não.
- 15 - Idade gestacional - Registrar o tempo de gestação (em meses) referido pela mulher.
- 16 - Data de nascimento - Registrar a data de nascimento do usuário - preencher no formato dd/mm/aa
- 17 - Estado civil/ Situação conjugal - Registrar a situação conjugal atual do usuário. Casado/amigado será definido pelo fato de morar com o(a) parceiro(a). Por exemplo, se uma mulher é viúva e atualmente está amigada com alguém, prevalece a situação atual - casada/amigada.
- 18 - Raça/cor - Pedir ao usuário que refira, dentre as opções disponíveis, sua raça/cor. É importante observar que esta classificação deverá ser auto-referida, isto é, o profissional deverá pedir ao usuário que ele relate sua própria cor dentre as categorias oferecidas.
- 19 -Escaridade - Registrar o número de anos de estudo concluídos pelo usuário, dentro das faixas disponíveis. Lembretes: até 3ª série do ensino fundamental marcar "1 a 3 anos de estudo concluídos"; 4ª a 7ª série do ensino fundamental marcar "4 a 7 anos de estudo concluídos"; ensino fundamental completo ou ensino médio marcar "8 a 11 anos de estudo concluídos"; ensino superior completo ou incompleto marcar "de 12 a mais anos de estudo concluídos".
- 20 -Ocupação - Deverá ser preenchida de acordo com a Classificação Brasileira de Ocupações. Não se trata de registrar a profissão/categoria profissional, mas sim de registrar a ocupação (trabalho) atual do usuário.
- 21 - Nº do cartão SUS - Registrar o número do cartão do SUS, caso o usuário possua. Este campo deverá ser preenchido apenas por usuários que optarem por teste nominal. Para aqueles que optaram por teste nominal e não possuírem o cartão, registrar "não possui".
- 22 -Nome da mãe - Este campo deverá ser preenchido somente nos casos em que o usuário tenha optado por fazer o teste nominal.
- 23 - Permite contato - O preenchimento deste campo é obrigatório e requer atenção especial dos profissionais. O profissional deverá perguntar ao usuário se ele permite que o serviço entre em contato com ele em caso de necessidade; por exemplo, se ele não retornar para buscar resultados de exames, ou se o serviço necessitar mudar data de agendamento. Além de uma autorização de contato, implica também na assunção de compromisso ético dos profissionais. Através desta permissão, os aconselhadores comprometem-se a fazer uso cauteloso das informações prestadas, sempre visando resguardar ao máximo o sigilo e confidencialidade das informações. Na prática isto significa, por exemplo, não identificar o remetente (no caso, o CTA) nas correspondências enviadas e respeitar estritamente a forma de contato que o usuário autorizou. Com isso, o que se busca é evitar qualquer impacto social negativo que possa advir da realização deste procedimento.
- 24 -Tipo de contato - Caso o usuário autorize o contato do serviço, deverão ser registradas as formas de contato por ele autorizadas. Informações adicionais e outras formas de contato autorizadas devem ser registradas no campo reservado às anotações do aconselhamento pré-teste. IMPORTANTE: Caso o usuário autorize que o serviço entre em contato, ele deverá assinar o formulário, no campo ao lado da questão 24.
- 25 - Logradouro - Refere-se ao endereço de residência do usuário - nome da rua, avenida, entre outros. Observar que as informações de endereços (exceto município) só deverão ser preenchidas caso o usuário autorize contato.
- 26 - Complemento - Refere-se ao complemento de residência, podendo ser casa, apartamento, fundos etc. Se o usuário morar em prédio, registrar aqui o número do apartamento.
- 27 - Número - Número da casa ou do prédio em que reside o usuário.

INSTRUÇÕES DE PREENCHIMENTO DO FORMULÁRIO DE ATENDIMENTO - SICTA v.2005

Instruções dos Campos da 1ª página :

- 28 - Município - Refere-se ao município, cidade de residência do usuário.
- 29 - Bairro - Refere-se ao bairro de residência do usuário.
- 30 - UF - Introduzir a sigla da Unidade Federada (Estado) de residência do usuário.
- 31 - CEP - Introduzir o Código de Endereço Postal correspondente ao endereço de residência do usuário.
- 32 - Telefone - Registrar o telefone fornecido pelo usuário.
- 33 - Zona - Registrar se o usuário reside em zona rural ou urbana.
- 34 - País - Registrar o nome do país de residência, caso o usuário não resida no Brasil.
- 35 - Motivo da procura - Registrar o motivo que levou o usuário a procurar o CTA. Observe-se, por exemplo, que nem todas as gestantes vão ao CTA para realizar exame pré-natal; podem chegar ao CTA, por exemplo, por terem vivido uma situação de risco, ou em função do aparecimento de sinais de DST.
- 36 - Origem da clientela (como ficou sabendo o serviço) - Registrar a forma através da qual o usuário ficou sabendo do CTA.
- 37 - Encaminhamentos pré-teste - Registrar o(s) encaminhamento(s) realizados após atendimento pré-teste. Poderão ser registrados até três encaminhamentos.
- 38 - Local de encaminhamento - Registrar o nome dos locais para onde foi encaminhado o usuário após o atendimento pré-teste.
- 39 - Notas da orientação pré-teste/orientações - Registro de informações complementares do atendimento pré-teste, quando houver.
- . Notas da Orientação pós-Teste /orientações. Registro de informações complementares do atendimento pré-teste, quando houver.

Instruções dos Campos da 2ª página :

- 40 - Procurou banco de sangue para se testar nos últimos 12 meses - Registrar se nos últimos 12 meses o usuário fez doação de sangue com o intuito de testar-se.
- 41 - Apresentou DST nos últimos 12 meses - É papel do aconselhador ajudar o usuário a identificar se teve ou não uma DST nos últimos 12 meses, verificar com ele se teve sinais/sintomas de DST (por exemplo, úlcera genital, corrimento uretral, corrimento vaginal/cervical, verrugas genitais, bolhas).
- 42 - Se apresentou DST nos últimos 12 meses, como tratou - Caso o usuário relate ter tido DST nos últimos 12 meses, registrar o tipo de tratamento que ele buscou.
- 43 - Usou Drogas nos últimos 12 meses - refere-se ao uso, relatado pelo usuário, de qualquer droga (inclusive o álcool) nos últimos 12 meses.
- 44 - Se fez uso de drogas nos últimos 12 meses - Especificar a frequência com que o usuário relata ter usado cada uma das drogas descritas, no período de 12 meses, observando a legenda no quadro ao lado da questão. Exemplo: no caso de um usuário que faça uso frequente de álcool e cocaína aspirada, já fez uso de merla, mas nunca usou outras drogas: álcool: 4; maconha: 0; cocaína aspirada: 4; cocaína injetável: 0; crack: 0; heroína: 0; anfetaminas: 0; merla: 2.
- 45 - Compartilhou seringas nos últimos 12 meses - Caso o usuário relate uso de drogas injetáveis, de anabolizantes ou de silicone injetável (prática bastante frequente entre as travestis), o aconselhador deverá investigar se ele faz uso de seringas e agulhas descartáveis ou se compartilha com outros usuários. Se o usuário não relatar uso de substâncias injetáveis, deverá ser preenchido o campo "não se aplica".
- 46 - Tipo de parceria(s) sexual(is) e quantidade - Registrar o número de parceiros homens, de parceiras mulheres e de parceiras travestis com os quais o usuário refere ter se relacionado sexualmente nos últimos 12 meses. Se o usuário não tiver tido relações sexuais com umas destas parcerias, deverá ser registrado 0 (zero). Se o usuário não tiver tido relações sexuais nos últimos 12 meses, deverá ser registrado o campo "não se aplica".
- 47 - Tipo de exposição - Registrar de que formas o usuário relata ter se exposto ao risco de infecção pelo HIV. Poderão ser assinaladas até duas formas de exposição.
- 48 - Uso de preservativo com parceiro(a) fixo(a) nos últimos 12 meses - Registrar com que frequência o usuário relata ter usado preservativo masculino ou feminino nas relações sexuais com seu(s) parceiro(s) fixo(s). Por "menos da metade das vezes" entenda-se "na maioria das vezes não usou preservativo" e para "usa mais da metade das vezes" entenda-se "usou preservativo na maioria das relações sexuais que teve" nos últimos 12 meses.
- 49 - Uso do preservativo na última relação com parceiro fixo - Refere-se ao uso do preservativo na última relação sexual que o usuário teve com parceiro fixo, nos últimos 12 meses.
- 50 - Motivo de não usar preservativos com parceiro(a) fixo(a) - Caso o usuário relate não usar sempre o preservativo com seu(s) parceiro(s) fixo(s), investigar qual a principal razão que a leva a não usar. Esta questão não deve ser lida para o usuário, mas preenchida após exploração do tema com usuário. A partir desta conversa o aconselhador deve registrar a principal razão identificada para o não uso do preservativo nos últimos 12 meses com parceiro fixo.
- 51 - Risco do parceiro fixo - O aconselhador deve procurar identificar junto ao usuário que riscos ele identifica em seu/sua parceiro(a) fixo(a) e caso ele não identifique nenhum risco, registrar "não se aplica".
- 52 - Uso do Preservativo com parceiro(s) eventual(is) nos últimos 12 meses - Registrar com que frequência o usuário relata ter usado preservativo masculino ou feminino nas relações sexuais com seu(s) parceiro(s) eventuais(s) nos últimos 12 meses. Por "menos da metade das vezes" entenda-se "na maioria das vezes não usou preservativo" e para "usa mais da metade das vezes" entenda-se "usou preservativo na maioria das relações sexuais que teve" nos últimos 12 meses.
- 53 - Uso do preservativo na última relação com parceiro(a) eventual - Refere-se ao uso do preservativo na última relação sexual que o usuário teve com um parceiro eventual.
- 54 - Motivo de não usar preservativos com parceiro eventual - Caso o usuário relate não usar sempre o preservativo com seu(s) parceiro(s) eventual(is), investigar qual a principal razão que o leva a não usar e registrá-la.

INSTRUÇÕES DE PREENCHIMENTO DO FORMULÁRIO DE ATENDIMENTO - SICTA v.2005

Instruções dos Campos da 2ª página :

55 - Recorte populacional - Identificar a qual dos grupos populacionais relacionados o(a) usuário(a) pertence. Caso o usuário pertença a mais de um grupo, é permitido registrar até três opções. Por exemplo: Um usuário pode ser HSH, portador de DST e profissional do sexo. Obs: Mulheres que fazem sexo com mulheres devem ser categorizadas em "outros". Importante: A categoria "Pessoa vivendo com HIV/AIDS" refere-se ao portador do HIV/AIDS.

56 - Registrar os encaminhamentos feitos após a entrega do resultado ao usuário. Poderão ser assinalados até três encaminhamentos.

57 - Local(is) de encaminhamento(s) pós-teste - Descrever para que serviços de saúde, ONG, ou outro local, o(a) usuário(a) foi encaminhado(a) após ter recebido o resultado de seus exames.

58 - Orientador da Entrega - Identificar o profissional que realizou o aconselhamento pós-teste e a entrega do resultado dos exames.

59 - Materiais/ Preservativos fornecidos --Se houve entrega de materiais informativos e de preservativos, identificar qual e quantos foram disponibilizados para o usuário.

DADOS DE RESULTADO:

RESULTADO HIV:

60 - Tipo de teste realizado para diagnóstico da infecção do HIV. Selecione (1) para Elisa, (2) para Elisa e Confirmatório e (3) para Teste Rápido. Caso tenha sido solicitado o teste confirmatório, registrar somente o campo Elisa e confirmatório (com o resultado do confirmatório), não havendo necessidade de registrar o campo Elisa.

- No caso de realização dos Testes Rápidos, sempre devem ser preenchidos no mínimo dois campos de resultados. Registrar os testes realizados (T1, T2, T3), de acordo com o algoritmo da Portaria Nº 34/SVS/MS, de 28/07/2005 e resultados. Observar as legendas dos resultados no canto inferior direito do formulário.

Resultado final algoritmo HIV: O registro do resultado final do algoritmo do HIV será feito automaticamente pelo sistema.

61 - Tipo da Amostra - Descreva a amostra utilizada para o teste HIV (soro, plasma ou sangue total)

62 - Data de entrega - Registrar a data de entrega do resultado HIV.

RESULTADO HEPATITE:

63 - Anti-HCV - registrar o resultado da triagem sorológica para hepatite C; Anti-HDV - registrar o resultado da triagem sorológica para hepatite D; Para Hepatite B registrar, segundo legenda, se há presença dos marcadores HbsAg, Anti-HBc total, Anti-HBs.

RESULTADO SÍFILIS:

64 - VDRL - Registrar qual o título de VDRL foi encontrado. Ex: 1:1; 1:2; 1:4; 1:8 etc.

Informações técnicas que apóiam o preenchimento dos resultados dos exames de sífilis: Doença ativa: considerar VDRL reagente em qualquer titulação, desde que não haja resultado de exames confirmatórios (FTA-abs, TPHA, ELISA) com resultado "negativo" ou "não reagente".

Cicatriz sorológica: VDRL com títulos até 1:4 podem ser considerados "cicatriz" sorológica se houver documentação de tratamento anterior para sífilis, com queda de 2 títulos ou quatro vezes (por exemplo, de 1:8 para 1:2 sem elevação que sugira re-infecção ou nova infecção). Caso não haja comprovação do tratamento e queda dos títulos considerar como doença ativa.

VDRL com titulação até 1:4, pode significar também um falso positivo (em razão de outras doenças), doença inicial (menos de 30 dias de infecção) ou com muitos anos de evolução e por isso requer a realização de testes confirmatórios e seguimento. VDRL reagente em qualquer titulação, caso não seja possível afastar cicatriz sorológica ou falso positivo, indica a necessidade de encaminhamento à unidade de saúde de referência; VDRL não reagente: considerar como não infectado; avaliar história clínica e epidemiológica para, se necessário, promover nova investigação laboratorial em 30 a 60 dias;

65 - Especificar outras doenças e seus resultados - Caso o usuário tenha feito mais exames registrar seus resultados.

ANEXO C – QUESTIONÁRIO SÓCIO COMPORTAMENTAL

Projeto Primeiro Passo

Características epidemiológicas, clínicas e virológicas de pacientes com infecção recente ou crônica pelo HIV-1 diagnosticada no CTA de Fortaleza

Questionário Sociocomportamental

Nº Projeto: _____

Data inclusão: ___ / ___ / _____

Dados orientação

2. Data atendimento: ___ / ___ / _____

5. Primeiro atendimento CTA? () Sim () Não

E1. Caso item 5 for “Não”:

Último atendimento CTA (tempo ou data): _____ ou ___ / ___ / _____

Orientada segunda coleta (± 30 dias)? () Não () Sim (Data primeira: ___ / ___ / _____)

E2. Último resultado sorologia anti-HIV: (Data exame: ___ / ___ / _____)

() Nunca realizou () Positivo () Negativo () Indeterminada (duvidoso)

E3. Apresentou exposição (sexual ou parenteral) de risco nos últimos 6 meses?

() Não lembra () Não () Sim (tempo ou data): _____

E4. Apresentou quadro febril com duração maior que 3 dias nos últimos 6 meses?

() Não lembra () Não () Sim (tempo ou data): _____

() Quanto tempo durou a febre? _____

() Sintomas associados: _____

Sintomas de infecção aguda: febre, dor de garganta, caroços (gânglios) no pescoço, manchas vermelhas na pele (exantema), dor de cabeça (cefaleia) e no corpo (mialgias/artralgias). Pode ser confundida com dengue (febre até 7 dias).

E5. Apresenta (ou apresentou recentemente) sintomas de HIV/Aids?

() Não () Sim; quais? _____

Sintomas importantes: Candidíase oral, herpes zoster, diarreia (>1 mês), febre (>1 mês), perda de peso (> 10%), tuberculose, doenças oportunistas.

Dados do usuário

11. Prontuário / no. CTA: _____ 12. Nome / senha: _____

13. Sexo: () Masculino () Feminino 14. Gestante?() Sim () Não

16. Data de nascimento: ___ / ___ / _____

17. Estado civil: 1. Casado(a)/amigado(a) () 3. Separado(a) ()

2. Solteiro(a) () 4. Viúvo(a) () 99. Não informado ()

19. Escolaridade: 1. Nenhuma () 3. 4 a 7 anos () 5. 12 ou mais anos ()
 2. 1 a 3 anos () 4. 8-11 anos () 99. Ignorado ()

E.6 Renda pessoal mensal: _____

E.7 Renda familiar mensal: _____

Autorização para contato

23. Permite contato? S () N () _____

24. Tipo contato: _____

Dados de residência

25. Logradouro: _____ 27. No. _____

28. Município: () Fortaleza () Outro: _____

29. Bairro: _____

30. Estado (se diferente de Ceará): _____

31. CEP: _____ - _____

Dados da requisição

35. Motivo da procura: Código () OBS: _____

36. Origem da clientela: Código () OBS: _____

37. Encaminhamento pré-teste: Código (até 3) () () ()

Antecedentes epidemiológicos

40. Procurou banco de sangue para realizar teste (últimos 12 meses)? () Sim () Não

41. Apresentou DST (últimos 12 meses)? () Sim () Não

43. Usou drogas (últimos 12 meses)? () Sim () Não

44M. Em caso afirmativo (últimos 12 meses), especifique (marque com x):

() Não se aplica

() Álcool () Maconha () Cocaína aspirada () Cocaína injetável

() Crack () Heroína () Anfetaminas () Outras: _____

45. Compartilhou seringas/ agulhas (últimos 12 meses)?

1. Sim () 2. Não 3. Não lembra () 98. Não se aplica 99. Não informado ()

46M. Tipo de parcerias sexuais e quantidade (no. parceiros) nos últimos 12 meses:

() Homens () Mulheres () Travestis/transsexuais 98. Não se aplica ()

OBS: Marcar 00 (zero) se nenhum. 99. Não informado ()

47. Tipo de exposição (marque até duas opções):

- Relação sexual Transfusão Compartilhamento de seringas/agulhas
 Hemofilia Ocupacional Transmissão vertical
 Não relata Não informado Outros: _____

E8. Tipo de exposição sexual nos últimos 12 meses:

- | Vaginal: | Anal: | Oral: |
|--|--|--|
| <input type="checkbox"/> Receptivo | <input type="checkbox"/> Receptivo | <input type="checkbox"/> Receptivo |
| <input type="checkbox"/> Insertivo | <input type="checkbox"/> Insertivo | <input type="checkbox"/> Insertivo |
| <input type="checkbox"/> Não informado | <input type="checkbox"/> Não informado | <input type="checkbox"/> Não informado |

Informações de uso de preservativos

48. Uso de preservativo com parceiro fixo (atual) nos últimos 12 meses?

1. Todas () 4. Usou (>50%) ()
 2. Não usou () 98. Não se aplica ()
 3. Usou (<50%) 99. Não informado ()

49. Uso de preservativo última relação com parceiro fixo?

1. Sim () 4. Sim, mas rompeu ()
 2. Não () 98. Não se aplica ()
 3. Não lembra () 99. Não informado ()

51M. Risco do parceiro fixo:

1. Relação bissexual () 4. Outras drogas () 7. Outros ()
 2. Transfusão/hemofílico () 5. Soropositivo HIV () 8. Profissional do sexo ()
 3. Drogas injetáveis () 6. Tem ou teve DST ()
 98. Não se aplica () 99. Não informado ()

52. Uso de preservativo com parceiro(s) eventual(is) nos últimos 12 meses?

1. Todas () 4. Usou (>50%) ()
 2. Não usou () 98. Não se aplica ()
 3. Usou (<50%) 99. Não informado ()

53. Uso de preservativo última relação com parceiro(s) eventual(is)?

1. Sim () 4. Sim, mas rompeu ()
 2. Não () 98. Não se aplica ()
 3. Não lembra () 99. Não informado ()

E9. Risco do parceiro eventual:

- | | | |
|------------------------------|-------------------------|-----------------------------|
| 1. Relação bissexual () | 4. Outras drogas () | 7. Outros () |
| 2. Transfusão/hemofílico () | 5. Soropositivo HIV () | 8. Profissional do sexo () |
| 3. Drogas injetáveis () | 6. Tem ou teve DST () | |
| 98. Não se aplica () | 99. Não informado () | |

55. Recorte populacional (marcar até 3 opções):

- | | | |
|---------------------|------------------------------|----------------------------------|
| 1. Geral () | 6. Uso drogas injetáveis () | 11. Profis. saúde |
| 2. Confinamento () | 7. Uso outras drogas () | 12. Travesti/transsexual () |
| 3. Caminhoneiro () | 8. Pessoa vivendo HIV () | 13. Exclusão social () |
| 4. Profis. sexo () | 9. Portador DST () | 14. Portador hepatites B/C/D () |
| 5. HSH () | 10. Politransfundido () | 15. Estudante () |
| | | 97. Outros (): _____ |

Encaminhamento pós-teste**56. Encaminhamento pós-teste (até 3 opções)**

- | | | |
|-----------------------------|---------------------------------|----------------------------|
| 1. Nenhum () | 5. Assistência psicossocial () | 9. Repetir hepatite () |
| 2. Repetir HIV/inconcl. () | 6. Tratamento DST () | 10. Tratamento sífilis () |
| 3. Repetir HIV (janela) () | 7. Tratamento hepatites () | 11. Vacina hepatite B () |
| 4. Repetir HIV (2ª amostra) | 8. Tratamento HIV () | 97. Outros |

57. Serviço(s) de encaminhamento(s) pós-teste:

Resultado laboratorial (testes rápidos):

- HIV (Data: ___/___/_____)

Resultado: () Positivo () Negativo () Indeterminado () Não realizado
- Hepatite B

Resultado: () Positivo () Negativo () Indeterminado () Não realizado
- Hepatite C

Resultado: () Positivo () Negativo () Indeterminado () Não realizado
- Sífilis

Resultado: () Positivo () Negativo () Indeterminado () Não realizado

ANEXO D – QUESTIONÁRIO CLÍNICO-LABORATORIAL

Projeto Primeiro Passo

Características epidemiológicas, clínicas e virológicas de pacientes com infecção recente ou crônica pelo HIV-1 diagnosticada no CTA de Fortaleza

Questionário Clínico-laboratorial

Nº Projeto: _____

Data inclusão: ___ / ___ / _____

E11. Avaliação infecção recente

- Clínico-epidemiológica () Recente () Não () Não disponível
- Imunológica
 - BED-1 () Recente () Não () Não disponível
 - BED-2 () Recente () Não () Não disponível
- Virológica () Recente () Não () Não disponível

E12. Exames laboratoriais (Data: ___/___/_____)

Opções de preenchimento (ver tabela):

- Valores do exame
- Positivo (+)
- Negativo (-)
- Indeterminado (IND)
- Não realizado (NR)
- Normal
- Alterado

Exame	Resultado	Observações
Hematócrito		
Hemoglobina		
Leucócitos		
Linfócitos (%)		
Linfócitos (Absoluto)		
Plaquetas		
Ureia		
Creatinina		
Albumina		
Globulinas		
TAP/INR		
Bilirrubinas totais		
B. direta		
B. indireta		
Colesterol total		
HDL		
LDL		
Triglicerídeos		
Glicemia		
TGO/AST		
TGP/ALT		
F. alcalina		
g-GT		
LDH		
CPK		
Amilase		
SOROLOGIAS		
HBsAg		
Anti-HBc IgG ou Total		
Anti-HBc IgM		
Anti-HBs		
Anti-HCV		
VDRL		
FTA-ABS		
CMV IgG		
CMV IgM		
Toxo IgG		
Toxo IgM		
Chagas		
Leishmania		
PPD		
S. urina		
P. fezes		
Rx tórax		
ESTADIAMENTO		
LT CD4+ (Absoluto)		
LT CD4+ (%)		
LT CD8+ (Absoluto)		
LT CD8+ (%)		
Relação CD4/CD8		
C. viral (absoluto)		
C. viral (Log ₁₀)		

ANEXO E – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

UNIVERSIDADE DE
FORTALEZA (UNIFOR)/
FUNDAÇÃO EDSON QUEIROZ



Continuação do Parecer: 355.528

Conhecer o perfil sócio-demográfico e comportamental dos usuários do serviço do COAS/CTA Carlos Ribeiro ζ Fortaleza; Estimar a incidência geral da infecção pelo HIV em nosso meio, avaliando também sua distribuição em diferentes segmentos da população, utilizando análises sorológicas e de ambiguidade genômica; Avaliar o perfil epidemiológico dos pacientes com infecção recente e crônica analisando os dados pessoais e

comportamentais utilizando dados provenientes do formulário de atendimento no CTA; Analisar parâmetros imunológicos, utilizando a quantificação de linfócitos T CD4 e CD8, como marcadores de evolução da doença, procurando estimar a proporção entre diagnóstico precoce e tardio; Avaliar a prevalência de co-infecções, analisando os dados de exames complementares utilizados na avaliação inicial dos novos pacientes; Estudar as

sequências genéticas dos isolados virais (segmentos dos genes env, pol e gag) com o objetivo de contribuir no monitoramento da evolução da diversidade viral e na determinação da presença de mutações associadas à resistência aos anti-retrovirais; Contribuir no monitoramento da emergência de variantes resistentes às drogas pertencentes às classes disponíveis de antirretrovirais; Monitorar o impacto do tempo de diagnóstico na evolução clínica dos pacientes; Monitorar o impacto da presença de variantes resistentes na evolução clínica e resposta terapêutica dos pacientes; Dar suporte ao acompanhamento clínico de indivíduos soroconvertedores, subsidiando o manejo clínico de tais pacientes em suas respectivas unidades de saúde.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

No mesmo momento da coleta dos exames de rotina de caso novo, preconizados pelo Ministério da Saúde, serão retirados 10ml adicionais de sangue do paciente. Como em qualquer coleta de sangue por punção venosa, costuma haver desconforto local e raramente risco de infecção ou formação de hematomas leves. Como será realizada a coleta em um único momento, consideramos mínimo o incremento no risco relacionado à adição de 10ml no volume de sangue retirado.

Benefícios:

O nosso projeto deverá permitir uma melhor compreensão da epidemia de HIV/Aids de nossa cidade, na medida que poderá estimar, a partir da casuística do CTA, a incidência da infecção, tanto na população geral, quanto em subgrupos de interesse. Também será possível conhecer melhor as características demográficas do novo usuário de nossa rede de saúde, a partir do estudo das informações disponíveis no formulário de atendimento do SI-CTA (idade, gênero, estado civil,

Endereço: Av. Washington Soares 1321 Bloco da Reitoria
Bairro: sala da VRPPG - Edson Queiroz **CEP:** 60.811-905
UF: CE **Município:** FORTALEZA
Telefone: (85)3477-3122 **Fax:** (85)3477-3056 **E-mail:** coetica@unifor.br

UNIVERSIDADE DE
FORTALEZA (UNIFOR)/
FUNDAÇÃO EDSON QUEIROZ



Continuação do Parecer: 355.528

etnia, escolaridade, ocupação, procedência), além de dados relacionados ao comportamento (comparecimento a bancos de sangue, antecedentes de DST, uso de substâncias, comportamento sexual), utilização de preservativos e recorte

populacional. O estudo dos dados clínicos, como a presença de sintomas e níveis de linfócitos T CD4/CD8, poderá auxiliar na definição da proporção entre pacientes com e sem sintomas, refletindo a capacidade Tamanho da Amostra no Brasil: 200

do sistema de saúde na detecção mais precoce de pacientes. Além disto, o estudo dos dados laboratoriais provenientes da rotina de exames laboratoriais preconizada pelo Ministério da Saúde poderá fornecer informações valiosas sobre a prevalência de co-infecções por tuberculose, sífilis, hepatite B e C, toxoplasmose, citomegalovirose, leishmaniose e doença de Chagas. O estudo dos dados virológicos poderão prestar informações

importantes em relação às iniciativas de monitoramento da distribuição geográfica de subtipos virais, além da prevalência de resistência transmitida

em nosso meio. Tais dados poderão servir para avaliar o impacto da variabilidade genética viral na evolução clínica e resposta terapêutica aos

medicamentos antirretrovirais, além de poder beneficiar a condução do caso clínico dos pacientes, quando isto for necessário. As medidas organizacionais, necessárias para garantir o cumprimento dos objetivos do nosso estudo, certamente resultarão em um aperfeiçoamento das rotinas de prevenção, diagnóstico e tratamento de pessoas vivendo com HIV/Aids em nossa cidade. A colaboração com o Laboratório de Retrovírus do

Instituto Adolfo Lutz certamente favorecerá para a evolução estrutural e científica de nosso grupo na obtenção e estudo de sequências virais, favorecendo o desenvolvimento científico local. Em resumo: Aperfeiçoar o processo de avaliação e monitoramento da rede municipal de saúde, quanto à sua capacidade de detecção precoce da infecção pelo HIV. Conhecimento mais detalhado dos novos pacientes detectados pela rede, favorecendo a elaboração de políticas de prevenção, diagnóstico e tratamento. Reconhecimento da circulação de variantes virais em nosso meio, fortalecendo as iniciativas de vigilância virológica de diversidade e resistência viral, além de guiar as políticas de diagnóstico e tratamento, especialmente quanto a indicação de esquemas antirretrovirais preferenciais e realização de exames para a detecção de resistência viral (genotipagem do HIV).

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante pela temática e pelo caráter interinstitucional. O estudo pode permitir a avaliação da capacidade da rede de saúde em detectar precocemente os pacientes

Endereço: Av. Washington Soares 1321 Bloco da Reitoria
Bairro: sala da VRPPG - Edson Queiroz **CEP:** 60.811-905
UF: CE **Município:** FORTALEZA
Telefone: (85)3477-3122 **Fax:** (85)3477-3056 **E-mail:** coetica@unifor.br

UNIVERSIDADE DE
FORTALEZA (UNIFOR)/
FUNDAÇÃO EDSON QUEIROZ



Continuação do Parecer: 355.528

infectados pelo HIV, além de permitir a estimativa da prevalência de co-infecções, possibilitando o planejamento mais efetivo das ações na rede de saúde.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados todos os documentos necessários para a adequada apreciação ética.

Recomendações:

Não há recomendações a serem feitas ao projeto de pesquisa.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sugere-se a Aprovação.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O colegiado está de acordo com o parecer da relatoria quanto a Aprovação do projeto de pesquisa visto atender às determinações da Res. CNS/MS 196/96.

FORTALEZA, 09 de Agosto de 2013

Assinador por:

Marília Joffily Pereira da Costa Parahyba
(Coordenador)

Endereço: Av. Washington Soares 1321 Bloco da Reitoria
Bairro: sala da VRPPG - Edson Queiroz **CEP:** 60.811-905
UF: CE **Município:** FORTALEZA
Telefone: (85)3477-3122 **Fax:** (85)3477-3056 **E-mail:** coetica@unifor.br

ANEXO F – CARTA DE ANUÊNCIA



CARTA DE ANUÊNCIA

A Diretoria de Ensino e Pesquisa do Laboratório Central de Saúde Pública do Ceará (LACEN/CE) declara estar ciente e de acordo com a realização da pesquisa intitulada “**Caracterização da Resistência Transmissível do HIV-1 em pacientes recém-diagnosticados atendidos no Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA) em Fortaleza**” desenvolvida pela orientanda Leda Maria Simões Mello, aluna do Curso de Mestrado em Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará – UFC, sob orientação do Prof. Dr. Jeová Keny Bayma Colares. Declaro conhecer e cumprir as Resoluções Éticas Brasileiras, em especial a Resolução CNS 466/12. Esta instituição está ciente de suas co-responsabilidades como instituição co-participante do presente projeto de pesquisa e de seu compromisso no resguardo da segurança e bem-estar dos sujeitos de pesquisa nela recrutado, dispondo de infraestrutura necessária para garantia de tal segurança e bem-estar.

Fortaleza, 09 de Setembro de 2013

Ricardo Carvalho de Azevedo e Sá – Diretor do LACEN/CE

Ricardo Carvalho de Azevedo e Sá
CPF: 210.559.633-91
DIRETOR DO LACEN