



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

ÉRICO ANTONIO GOMES DE ARRUDA

**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DO HIV-1 NO ESTADO DO
CEARÁ: PERFIL DE RESISTÊNCIA PRIMÁRIA E SUBTIPO**

FORTALEZA

2011

ÉRICO ANTONIO GOMES DE ARRUDA

**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DO HIV-1 NO ESTADO DO
CEARÁ: PERFIL DE RESISTÊNCIA PRIMÁRIA E SUBTIPO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Medicina.

Área de Concentração: Clínica Médica

Orientador: Prof. Dr. Aldo Ângelo Moreira Lima

Co-orientador: Prof. Ricardo Sobhie Diaz

FORTALEZA

2011

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca de Ciências da Saúde
da Universidade Federal do Ceará
©reprodução autorizada pelo autor

A817c Arruda, Érico Antonio Gomes de

Caracterização molecular do HIV-1 no Estado do Ceará: perfil de resistência primária e subtipo / Érico Antonio Gomes de Arruda. – Fortaleza, 2011.

134 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Aldo Ângelo Moreira Lima

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Fortaleza, Ceará.

1. HIV 2. HIV-1 3. Síndrome de Imunodeficiência Adquirida
4. Genótipo 5. Farmacorresistência Viral I. Lima, Aldo Ângelo
Moreira (orient.) II. Título.

CDD:616.9792

ÉRICO ANTONIO GOMES DE ARRUDA

**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DO HIV-1 NO ESTADO DO
CEARÁ: PERFIL DE RESISTÊNCIA PRIMÁRIA E SUBTIPO**

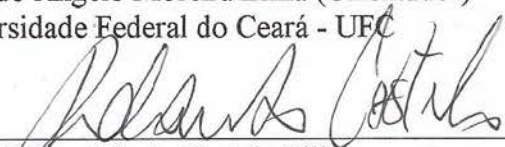
Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Medicina.

Aprovada em: 28/04/2011

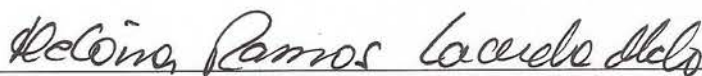
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Aldo Ângelo Moreira Lima (Orientador)
Universidade Federal do Ceará - UFC



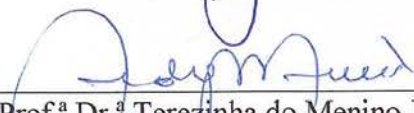
Prof. Dr. Adauto Castelo Filho
Universidade Federal de São Paulo - UNESP



Prof.ª Dr.ª Heloísa Ramos Lacerda de Melo
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE



Prof. Dr. Jeová Keny Baima Colares
Universidade de Fortaleza - UNIFOR



Prof.ª Dr.ª Terezinha do Menino Jesus Silva Leitão
Universidade Federal do Ceará - UFC

*Ao meu filho, Renato, que está sempre em
minha lembrança e que me ensinou, primeiro, o
que é o amor incondicional e a aceitar a finitude
da condição biológica humana.*

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À Judith, pelo amor dedicado e paciente que oferece a mim, aos nossos filhos e nossos pais.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Aldo Ângelo Moreira Lima, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará e da Unidade de Pesquisas Clínicas e Instituto de Biomedicina (UPC-IBMED), pela confiança e orientação na realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Ricardo Sobhie Diaz, do Laboratório de Retrovirologia da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) – Escola Paulista de Medicina, pelo apoio decisivo e incentivo na realização deste estudo.

À Dr.^a Lilian Amaral Inoscêncio, do Departamento Nacional de DST-Aids e Hepatites Virais, por permitir a utilização de reagentes e equipamentos da Rede Nacional de Genotipagem (RENAGENO), para realização dos exames de genotipagem.

À Dr.^a Maria Cecília Araripe Sucupira, do Laboratório de Retrovirologia da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) – Escola Paulista de Medicina, pelas orientações e coordenação da realização dos testes BED-CEIA.

À Dr.^a Leda Simões, do Laboratório Central (LACEN) da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará, pela colaboração na execução dos exames de genotipagem.

Aos colegas Dr.^a Melissa Medeiros, Dr. Bráulio Matias, Dr.^a Christiane Takeda e Dr.^a Thaís Lôbo, do Hospital São José de Doenças Infecciosas e do Centro de Especialidades Médicas José de Alencar, pela colaboração no recrutamento dos sujeitos da pesquisa.

Aos colegas Prof. Dr. Roberto da Justa Pires Neto, Prof. Dr. Jeová Keny Colares e Dr.^a Melissa Medeiros, pela inestimável colaboração na parte introdutória deste material.

Ao Prof. Dr. Alberto M. Soares, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará e da Unidade de Pesquisas Clínicas e Instituto de Biomedicina (UPC-IBMED), pela contribuição na construção e validação do banco de dados.

À Prof.^a Rosa Maria Salani Mota, do Departamento de Estatística e Matemática Aplicada da Universidade Federal do Ceará, pela contribuição na análise estatística dos dados.

Aos técnicos de laboratório Sra. Maria Vânia de Freitas Gonçalves e Sr. João Bezerra da Silva, do Hospital São José de Doenças Infecciosas e do Centro de Especialidades Médicas José de Alencar, pela fundamental ajuda na coleta do material, para exames laboratoriais.

E, principalmente, aos sujeitos que concordaram em participar desse estudo.

RESUMO

Os dados sobre a prevalência de resistência primária de HIV-1 a antirretrovirais no Brasil mostram grande variação. Em 2001 e 2009, na região Nordeste, a prevalência foi inferior a 5%. Não existem dados publicados sobre a prevalência de resistência primária do HIV-1, especificamente, no Estado do Ceará. Com esse objetivo, realizou-se um estudo transversal em pacientes infectados por HIV-1, não expostos à terapia antirretroviral combinada (TARC), no período de maio de 2008 a maio de 2009. Foram colhidos 10 ml de sangue para o teste genotípico de resistência (TRUEGENE HIV-1 GENOTYPING KIT®), realizado no Laboratório Central (LACEN-CE) e para identificação de infecção recente (Aware BED EIA HIV-1 Incidence Test®), realizado no Laboratório de Retrovirologia da Universidade Federal de São Paulo. As sequências foram agrupadas usando-se *software* da Universidade de Stanford. Análises estatísticas foram feitas pelo Epi-Info 6 e SPSS (16.1). Cem pacientes foram recrutados, 98 incluídos, 24 excluídos e 74 estudados. A idade variou de 8 meses a 67 anos, com mediana de 30,6 anos. Cinquenta e seis eram masculinos; 77% moravam na Capital do Estado ou na região metropolitana; 86,5% relataram a forma de transmissão sexual e a maioria pela relação homossexual; 70,3% eram assintomáticos. O T-CD4+ mediano basal foi de 418,5 e 960 cel/mm³, para indivíduos com idade ≥ 18 anos e < 18 anos, respectivamente. A carga viral mediana basal foi de 4,41 e 4,46 log₁₀, para os indivíduos com idade ≥ 18 anos e < 18 anos, respectivamente. O subtipo B foi o mais prevalente (85,1%), seguido do subtipo F (8,1%), que esteve mais relacionado com resistência primária ($p=0,009$), e do subtipo C (5,4%). Foram detectados sete casos (6,9%) de infecções recentes pelo HIV-1 e três deles apresentavam resistência primária. A prevalência de resistência primária no Estado do Ceará no período foi de 9,5%. As mutações identificadas foram 41L, 67N, 215D, 219Q, 101E e 103N, na transcriptase reversa e 32I, 46I, 54V, 82T e 90M, na protease.

Palavras-chave: HIV. HIV-1. Aids. Resistência antiretroviral. Genotipagem. Teste de resistência.

ABSTRACT

Prevalence of HIV-1 primary resistance to antiretroviral drugs in Brazil has been variable. In 2001 and 2009 such prevalence was lower than 5% in the Northeast region of the country. The lack of studies on the prevalence of HIV-1 antiretroviral primary resistance in the state of Ceará prompted us to conduct a cross-sectional study of HIV-1 infected patients not yet treated with combined antiretroviral therapy. Blood samples were collected for the genotyping resistance test (TRUEGENE HIV-1 GENOTYPING KIT®) and for the test to identify recent infections (Aware BED EIA HIV-1 Incidence Test®). Sequences were grouped using Stanford University software and statistical analyses were done using the packages Epi-Info 6 and SPSS 16.1. Of 100 patients recruited, 98 included, 24 excluded and 74 studied from May 2008 through May 2009. The age ranged from 8 months to 67 years old, with 30.6 years of median age. Fifty six patients were males, 77% of them lived in the capital city of Fortaleza or metropolitan region, 86.5% reported sex as the most likely form of acquiring HIV, and the majority of them were men who have sex with men. Of the studied patients, 70.3% were asymptomatic and the median CD4+ count at baseline was 418.5 and 960/mm³ for subjects ≥ 18 and < 18 years old, respectively. Median viral load at baseline was 4.41 and 4.46 log₁₀ for subjects ≥ 18 and < 18 years old, respectively. HIV subtype B was the most prevalent (85.1%), followed by subtype F (8.1%), which was significantly more related with primary resistance (p=0,009), and then subtype C (5.4%). Only 7 cases (6.9%) of recent HIV-1 infections were detected, but in 3 of them the virus was primarily resistant. The prevalence of HIV-1 antiretroviral primary resistance in the state of Ceará in the study period was 9.5%. The identified HIV mutations were 41L, 67N, 215D, 219Q, 101E and 103N in the reverse transcriptase region; and 32I, 46I, 54V, 82T and 90M in the protease region.

Key words: HIV. HIV-1. AIDS. Antirretroviral resistance. Genotype. Resistance Test.

LISTA DE FIGURAS

1	Esquema correspondente à estrutura do HIV, que de fora para dentro destaca as glicoproteínas (gp120 e gp41), a membrana ou envelope, a matriz protéica (p17), o capsídio (p24), o núcleocapsídio (p7), o genoma viral (RNA), a integrase (p31) e a transcriptase reversa (p66/p51).....	21
2	Esquema da organização do genoma do HIV-1, com as LTR, os genes estruturais (gag, pol e env) e as respectivas estruturas que codificam os genes regulatórios e os genes acessórios.....	22
3	História natural da infecção pelo HIV-1. Ilustração mostrando o comportamento da contagem de linfócitos T-CD4+ no sangue periférico e da quantificação da CV do HIV no plasma em relação ao tempo, em um indivíduo não tratado.....	30
4	Esquema mostrando os vários passos do BED-CEIA. Anticorpo anti-IgG HIV é mostrado em linhas sólidas e anticorpo anti-IgG não HIV em linhas fragmentadas.....	55
5	Algoritmo utilizado no teste BED, para detecção de infecção recente. $OD-n = \text{Densidade óptica normalizada (OD da amostra/OD do calibrador)}$	57
6	População de pacientes recrutados, incluídos, excluídos e estudados.....	58
7	Gráfico com o controle da reação do teste do BED.....	66

LISTA DE TABELAS

1	Dados demográficos, clínicos e epidemiológicos (variáveis categóricas) dos pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009.....	60
2	Dados demográficos e laboratoriais (variáveis numéricas) dos pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009.....	61
3	Mutações de resistência aos antirretrovirais (pelos parâmetros da Organização Mundial de Saúde – OMS, por meio do algoritmo da Universidade de Stanford e da Rede Nacional de Genotipagem - RENAGENO, mediante algoritmo próprio), das amostras de pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009.....	62
4	Lista das mutações detectadas, segundo critérios da Organização Mundial de Saúde – OMS, das amostras de pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009.....	63
5	Prevalência de subtipos (pelos parâmetros do algoritmo da Universidade de Stanford e da Rede Nacional de Genotipagem - RENAGENO, mediante algoritmo próprio), das amostras de pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009.....	64
6	Resultado Final do Teste BED, para as 72 amostras testadas, de pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, Ceará – maio de 2008 a maio de 2009	65
7	Resultado consolidado do tempo de infecção, considerando o resultado do Teste BED e os dados clínicos e epidemiológicos, de pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009.....	67
8	Análise da contagem de T-CD4+ e carga viral basais, entre aqueles com infecção recente, considerando o resultado do Teste BED e os dados clínicos e epidemiológicos, e aqueles com infecção tardia, excluindo os menores de 18 anos, de pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009.....	68
9	Análise de T-CD4+ e carga viral basais, entre aqueles com infecção recente, considerando o resultado do Teste BED e os dados clínicos e epidemiológicos, e aqueles com infecção tardia, incluindo todos os participantes, em pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009.....	68
10	Análise entre o subtipo do HIV-1 e resistência (pelos parâmetros da Organização Mundial de Saúde – OMS, por meio do algoritmo da Universidade de Stanford e da Rede Nacional de Genotipagem - RENAGENO, mediante algoritmo próprio), das amostras de pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009.....	70

- 11 Análise entre local de moradia e resistência do HIV-1 (pelos parâmetros da Organização Mundial de Saúde - OMS, por meio do algoritmo da Universidade de Stanford e da Rede Nacional de Genotipagem - RENAGENO, mediante algoritmo próprio), de pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009..... 71
- 12 Análise entre ter morado em outra cidade e resistência do HIV-1 (pelos parâmetros da Organização Mundial de Saúde - OMS, por meio do algoritmo da Universidade de Stanford e da Rede Nacional de Genotipagem - RENAGENO, mediante algoritmo próprio), de pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009..... 71
- 13 Análise entre o local onde provavelmente ocorreu a transmissão (Fortaleza X Outra cidade/Ignorado) e resistência do HIV-1 (pelos parâmetros da Organização Mundial de Saúde – OMS, por meio do algoritmo da Universidade de Stanford e da Rede Nacional de Genotipagem - RENAGENO, mediante algoritmo próprio), de pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009..... 72
- 14 Análise entre o sexo e resistência do HIV-1 (pelos parâmetros da Organização Mundial de Saúde – OMS, por meio do algoritmo da Universidade de Stanford e da Rede Nacional de Genotipagem - RENAGENO, mediante algoritmo próprio), de pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009..... 72
- 15 Análise entre a provável forma de transmissão, pelo comportamento sexual (Heterossexual e Transmissão Vertical X Homem que faz sexo com homem - HSH) e resistência do HIV-1 (pelos parâmetros da Organização Mundial de Saúde – OMS, por meio do algoritmo da Universidade de Stanford e da Rede Nacional de Genotipagem - RENAGENO, mediante algoritmo próprio), de pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009..... 73
- 16 Análise entre a idade (anos) e resistência do HIV-1 (pelos parâmetros da Organização Mundial de Saúde – OMS, por meio do algoritmo da Universidade de Stanford e da Rede Nacional de Genotipagem - RENAGENO, mediante algoritmo próprio), de pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009..... 73
- 17 Análise entre os Linfócitos T-CD4+ e cargas virais basais e resistência do HIV-1 (pelos parâmetros da Organização Mundial de Saúde – OMS, por meio do algoritmo da Universidade de Stanford e da Rede Nacional de Genotipagem - RENAGENO, mediante algoritmo próprio), pelo Teste de Mann-Whitney, de pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009..... 74
- 18 Análise entre o tempo decorrido (maior ou menor que 12 meses) entre o diagnóstico de HIV e realização de genotipagem e resistência do HIV-1 (pelos parâmetros da Organização Mundial de Saúde – OMS, por meio do algoritmo da Universidade de Stanford e da Rede Nacional de Genotipagem - RENAGENO, mediante algoritmo próprio), de pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009..... 75

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABC	Abacavir
AIDS	<i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i>
APV	Amprenavir
ATV	Atazanavir
AZT	Zidovudina
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CEMJA	Centro de Especialidades Médicas José de Alencar
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CRF	<i>Circulating recombinant forms</i>
CV	Carga viral
ddC	Zalcitabina
ddI	Didanosina
DLV	Delavirdina
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DRV	Darunavir
DST	Doença sexualmente transmissível
d4T	Estavudina
EFV	Efavirenz

ENF	Enfuvirtida
ETR	Etravirina
FTC	Emtricitabina
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HSH	Homem que faz sexo com homem
HSJ	Hospital São José de Doenças Infecciosas
IDV	Indinavir
IgG	Imunoglobulina G
IL-2	Interleucina 2
IP	Inibidor de protease
ITRNN	Inibidor de transcriptase reversa não-análogo de nucleosídeo
LACEN	Laboratório Central
LPV	Lopinavir
LTR	<i>Long terminal repeat</i>
MVQ	Maraviroque
NFV	Nelfinavir
NVP	Nevirapina
OMS	Organização Mundial de Saúde
ORF	<i>Open reading frames</i>
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PR	Protease

RAL	Raltegravir
RENAGENO	Rede Nacional de Genotipagem
RNA	Ácido ribonucleico
RTV	Ritonavir
SAE	Serviço de assistência especializada
SIV	Vírus da imunodeficiência símea
SIV _{cpz}	Vírus da imunodeficiência de chipanzés – <i>Pan troglodytes troglodytes</i>
SQV	Saquinavir
TARC	Terapia antirretroviral combinada
T-CD4+	Linfócito T-CD4+
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TDF	Tenofovir
TPV	Tipranavir
TR	Transcriptase reversa
3TC	Lamivudina

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	18
1.1	Epidemiologia da Infecção pelo HIV.....	18
1.2	Estrutura, Organização do Genoma e Ciclo Replicativo do HIV.....	20
1.3	Variabilidade Genômica do HIV.....	25
1.4	História Natural da Infecção pelo HIV e Fisiopatogenia.....	28
1.5	Terapia Antirretroviral.....	32
1.6	Testes de Resistência Antirretroviral.....	35
1.7	Resistência Primária ou Transmitida.....	42
2	HIPÓTESES.....	49
3	OBJETIVOS.....	50
3.1	Objetivo Geral.....	50
3.2	Objetivos Específicos.....	50
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	51
4.1	Delineamento do Estudo.....	51
4.2	Preceitos Éticos.....	51
4.3	População do Estudo.....	51
4.4	Critérios de Inclusão e Exclusão.....	52
4.4.1	Critérios de inclusão.....	52
4.4.2	Critérios de exclusão.....	52
4.5	Local do Estudo – Recrutamento.....	52
4.6	Coleta de Dados e Critérios Clínicos.....	53
4.7	Realização do Teste de Resistência Genotípica.....	54
4.8	Realização do Teste BED.....	55
4.9	Análise Estatística.....	57

5	RESULTADOS.....	58
6	DISCUSSÃO.....	76
7	CONCLUSÕES.....	83
8	RECOMENDAÇÕES.....	84
	REFERÊNCIAS.....	85
	APÊNDICE A.....	111
	APÊNDICE B.....	126
	APÊNDICE C.....	127
	ANEXO A.....	130
	ANEXO B.....	131
	ANEXO C.....	133

1 INTRODUÇÃO

1.1 Epidemiologia da Infecção pelo HIV

A infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) é um dos maiores problemas de saúde pública já enfrentado pela humanidade. Desde o início da década de 1980, quando foram descritos os primeiros casos de aids (denominação derivada da sigla na língua inglesa = *Acquired Immunodeficiency Syndrome*), mais de 25 milhões de óbitos ocorreram causados por essa doença, que rapidamente se tornou pandêmica.

Eram aproximadamente 33,3 milhões de pessoas infectadas em todo o mundo, até o final de 2009, com 1,8 milhão de mortos somente naquele ano. Em 2010, as estimativas foram de 2,6 milhões de novos casos (UNAIDS, 2010). Apesar desses números gigantescos, houve uma estabilização na disseminação da doença em quase todas as regiões. Os últimos dados epidemiológicos indicam redução de mais de 25% na incidência, em 33 países, incluindo 22 da região da África subsaariana, entre 2001 e 2009. Da mesma forma, houve redução global do número de mortes em 24%, em 2009, considerando o ano de 2004, que representou o pico, com 2,1 milhões de óbitos. Na América Latina, cuja prevalência é de 0,5%, entre a idade de 15 e 49 anos, existia 1,4 milhão de pessoas vivendo com HIV, com 92 mil novos casos e 58 mil mortes, no ano de 2009 (UNAIDS, 2010).

No Brasil, de 1980 a junho de 2010, foram identificados 592.914 casos de aids, com mais de 229.000 óbitos acumulados até 2009 (BRASIL, 2010). A taxa de incidência apresenta tendência de queda desde 2002, influenciada pela dinâmica da epidemia nas regiões Sul, Sudeste e Centroeste. O Norte e o Nordeste não apresentam redução de incidência (BRASIL, 2008). No ano de 2009, a incidência no País foi de 20,1 por 100.000 habitantes. O coeficiente de mortalidade, que em 2009 foi de 6,2 por 100.000 habitantes, apresenta tendência de redução, entre homens, desde o ano de 1996. Em mulheres, essa queda ocorreu apenas em 1997, mas, ao contrário do observado nos homens, a tendência de redução não persiste após o ano 2000. A queda da mortalidade do País é marcadamente influenciada apenas pela região Sudeste (BRASIL, 2010). A média de sobrevida, após o diagnóstico de aids, no Estado de São Paulo, aumentou de quatro meses, em 1992, para 50 meses, entre 1998 e 2001 (KILSZTAJN *et al.*, 2007). Observa-se ainda que a razão de sexo (M: F) no Brasil vem diminuindo ao longo da série histórica, passando de 15,1:1, em 1986 para 1,5:1, em

2008. Ao longo desse mesmo período, percebe-se ainda um incremento das taxas de incidência de aids na faixa etária de maiores de 50 anos, em ambos os sexos; crescimento proporcional da subcategoria de exposição heterossexual; estabilização entre homo/bissexuais e redução entre os usuários de drogas injetáveis (BRASIL, 2008, 2010).

No Ceará, de 1983, ano de registro do primeiro caso, até junho de 2010, foram notificados 12.062 casos de aids. Nos anos de 2002 a 2008, foram notificados, em média, 627 casos novos por ano. A taxa de incidência para o Estado, no ano de 2009, foi de 14,2 casos por 100.000 habitantes e para a Capital, Fortaleza, foi de 33,9 por 100.000 habitantes. São 3.426 casos de óbitos motivados pela aids no Estado, até o ano de 2009. Esse ano, que acumula a maior cifra desde o começo da epidemia, registrou 283 casos, com coeficiente de mortalidade de 3,6 por 100.000 habitantes. Esses números apontam para uma situação diversa da estabilidade e redução das cifras nacionais. Noventa e quatro por cento dos municípios do Estado já notificaram casos, mas em 16 deles (Aracati, Canindé, Cascavel, Caucaia, Crateús, Crato, Fortaleza, Iguatu, Itapipoca, Juazeiro do Norte, Limoeiro do Norte, Maracanaú, Pacajus, Quixadá, Russas e Sobral), estão concentrados 51% da população cearense e 80% dos casos de aids do Estado (CEARÁ, 2009; BRASIL, 2010). A epidemia no Estado tem seguido a tendência nacional de feminização (crescimento do número de casos entre mulheres) e interiorização (número crescente de pequenos municípios com casos notificados). A atual razão de homens/mulheres infectadas é de 1,9. No começo da epidemia, essa razão era de 11. Em 2009, as maiores taxas de incidência foram notificadas nas faixas etárias de 30-39 e 40-49 anos. Até abril de 2010, já eram 248 casos notificados em crianças menores de 13 anos, correspondendo a 2,7% do total de casos notificados (CEARÁ, 2010).

O HIV é transmitido de três maneiras principais: a) pela relação sexual não protegida por preservativo (heterossexual ou homossexual); b) por exposição a sangue e seus derivados (uso de drogas injetáveis ou transfusão de sangue e derivados); c) perinatal (gestação, parto ou amamentação). Adicionalmente, mas raramente, foram descritos casos em que a transmissão se deu por transplante de órgãos e inseminação artificial em bancos de sêmen. Além disso, a exposição ocupacional acidental em profissionais da área da saúde é outra maneira de transmissão do HIV, menos usual (REITZ; GALLO, 2010).

Dados recentes sugerem que, após sua introdução em humanos na África, por volta de 1931 (KORBER *et al.*, 2000), o HIV-1 foi introduzido no Haiti e depois nos Estados

Unidos, nos anos de 1960, e de lá se disseminou para vários outros países ocidentais (GILBERT *et al.*, 2007).

1.2 Estrutura, Organização do Genoma e Ciclo Replicativo do HIV

O HIV, primeiramente isolado em 1983 (BARRE-SINOUSSE *et al.*, 1983), é um retrovírus envelopado de aproximadamente 100 nm de diâmetro, pertencente à família *Retroviridae*, subfamília *Orthoretrovirinae*, do gênero *Lentivirus*, com dois tipos antigênicos identificados e envolvidos com a epidemia: HIV-1 e HIV-2. Trata-se de uma zoonose que evoluiu com um salto entre espécies, de primatas para humanos. A natureza zoonótica do HIV foi estabelecida pela proximidade filogenética entre HIV-2, inicialmente identificado em indivíduos do oeste africano, em 1986, e o vírus da imunodeficiência símea (SIV) em macacos *sooty mangabeys* (FAUCI, 2003). Em 1999, foi demonstrado que o HIV-1 foi provavelmente originado da espécie de chimpanzé, no qual o vírus evoluiu através dos séculos (GAO *et al.*, 1999). Portanto, o SIV_{cpz} (vírus da imunodeficiência de chimpanzés – *Pan troglodytes troglodytes*) é o precursor imediato do HIV-1 (SANTIAGO *et al.*, 2003). Como os chimpanzés eram mortos para alimentação em partes da África subsaariana, o salto das espécies provavelmente ocorreu por acidente. Enquanto o HIV-2 tem se mantido restrito quase que exclusivamente ao oeste do Continente Africano, o HIV-1 está associado à pandemia que envolve todos os continentes (GREENE, 1991; SCHWARTZ; NAIR, 1999). Além disso, o HIV-2 parece ser menos patogênico do que o HIV-1.

O HIV é uma partícula esférica, constituída por duas cópias de RNA de fita simples, não complementares, de senso positivo, medindo cada uma 9,8 Kb. Estão localizadas em um *core* revestido por envelope de dupla camada fosfolipídica, onde estão inseridas 72 estruturas protuberantes, oriundas de uma glicoproteína precursora (gp160), que são as glicoproteínas gp120 (trímero com localização externa à membrana) e gp41 (monômero transmembrana). A gp 120 contém os sítios de ligação aos receptores celulares e os principais domínios para neutralização. Apresenta cinco regiões variáveis intercaladas pelas regiões conservadas. Um dos epítomos variáveis, designado V3, é formado por uma alça composta de 35 aminoácidos unidos por pontes de dissulfetos. Essa região é imunodominante e contra ela são produzidos anticorpos neutralizantes. Internamente à dupla camada fosfolipídica,

encontra-se a matriz viral, constituída pela proteína p17 ligada ao ácido mirístico. O capsídeo, com padrão icosaédrico, é composto pelas proteínas p24 e p6. No seu interior, estão o nucleocapsídeo, composto pela proteína p7; o RNA com um tRNA_{Lys} na terminação 5', que serve como *primer* para a iniciação da síntese da fita de DNA de polaridade negativa; as enzimas transcriptase reversa, integrase e protease e a proteína Vpr, que contém um sinal de localização nuclear (GREENE, 1991; SCHWARTZ; NAIR, 1999), conforme demonstrado na Figura 1.

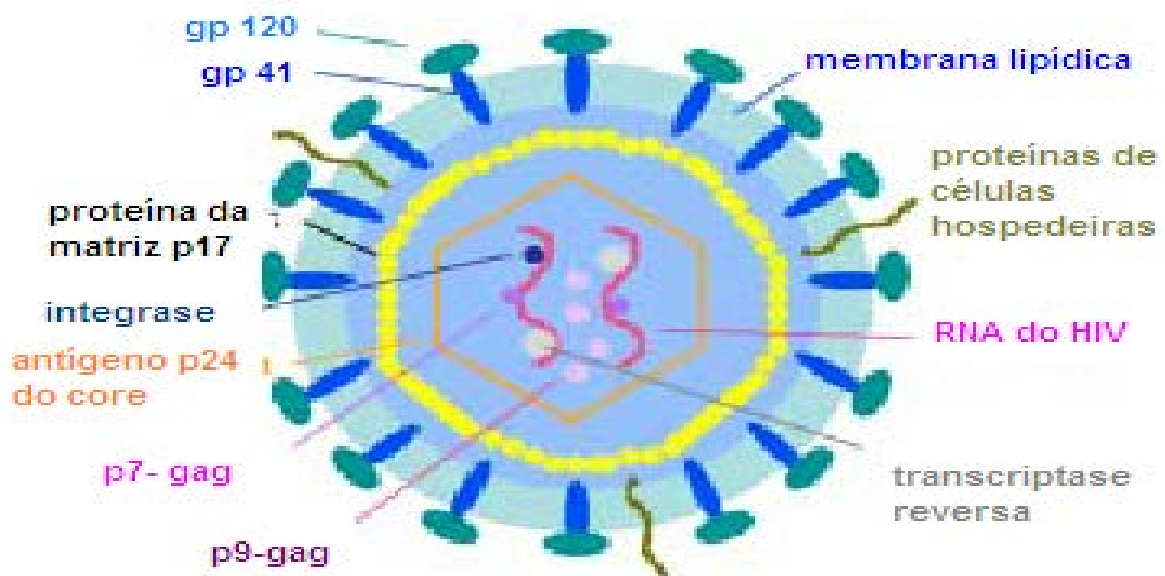


Figura 1- Esquema correspondente à estrutura do HIV, que de fora para dentro destaca as glicoproteínas (gp120 e gp41), a membrana ou envelope, a matriz proteica (p17), o capsídeo (p24), o nucleocapsídeo (p7), o genoma viral (RNA), a integrase (p31) e a transcriptase reversa (p66/p51).

Fonte: Adaptado de HOFFMANN; ROCKSTROH; KAMPS, 2005.

A transcriptase reversa (TR) é um heterodímero constituído de suas subunidades de 66 e 51kDa, sendo derivada da clivagem proteolítica do precursor Gag-Pol (p160) pela protease (PR) viral. A subunidade p66 pode ser visualizada como estrutura semelhante à mão direita, com o sítio ativo na palma da mão e os outros subdomínios formados pelos dedos. O domínio que tem função de polimerase liga-se ao domínio com função RNase-H, por meio do subdomínio de conexão. A integrase (IN) é uma proteína de 32kDa formada por três

domínios estruturalmente diferentes: domínio N-terminal, que contém zinco; outro com função catalítica e um domínio conservado C-terminal. A enzima protease é uma aspártico-protease de 11kDa, constituída de dois monômeros (WIGG, 2008).

O HIV possui um genoma com sequências de leitura aberta (*open reading frames* – *ORFs*), que codifica para várias proteínas virais. É uma estrutura genômica básica, comum à maioria dos retrovírus, contendo três genes estruturais principais, denominados *gag*, *pol* e *env*, flanqueados por duas longas sequências repetidas terminais (*long terminal repeat* - *LTRs*). Essas LTR, situadas nas duas extremidades do genoma viral (3' e 5'), contêm sequências reguladoras da transcrição, sinais processadores do RNA, sítios de empacotamento e de integração, mas não codificam para nenhuma proteína viral. A terminação 5' começa com o gene *gag*, que codifica as proteínas do *core* e da matriz. O gene *pol* codifica as enzimas integrase, protease e transcriptase reversa. O gene *env* codifica as glicoproteínas de superfície, gp41 e gp120. Além desses genes estruturais, há dois genes regulatórios (*tat* e *rev*) e quatro acessórios (*nef*, *vif*, *vpu* e *vpr*), que codificam suas respectivas proteínas (Tat, Rev, Nef, Vif, Vpr e Vpu) essenciais para a replicação (REITZ; GALLO, 2010), como visto na Figura 2.

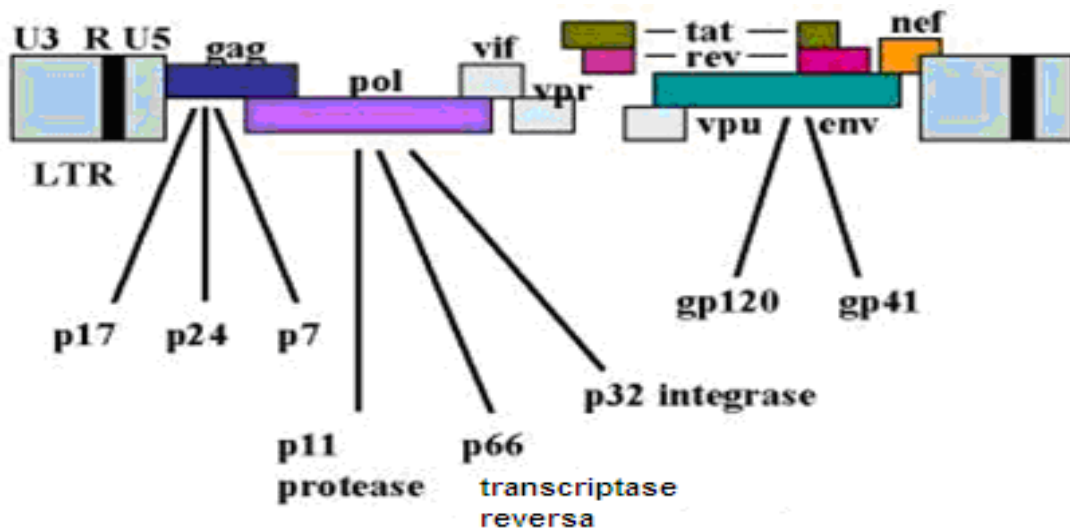


Figura 2- Esquema da organização do genoma do HIV-1, com as LTR, os genes estruturais (*gag*, *pol* e *env*) e as respectivas estruturas que codificam os genes regulatórios e os genes acessórios.

Fonte: Adaptado de HOFFMANN; ROCKSTROH; KAMPS, 2005.

A diferença genômica entre o HIV-1 e o HIV-2 reside na substituição do gene *vpu* por *vpx* (WIGG, 2008).

O ciclo viral do HIV pode ser dividido em duas fases distintas. Uma fase precoce ocorre em um curto intervalo, incluindo a ligação à célula, a entrada, a transcrição reversa, a entrada no núcleo e a integração do genoma pró-viral no DNA hospedeiro. A segunda fase repete-se por toda a vida da célula hospedeira, com proteínas virais e celulares regulando a produção de novos vírions (REITZ; GALLO, 2010). A infecção é iniciada pela ligação da glicoproteína viral gp120 à molécula T-CD4+ encontrada na superfície de alguns linfócitos T, macrófagos e células da micróglia. Esta molécula foi identificada como o receptor viral em estudos que demonstraram a suscetibilidade à infecção em células que possuem esta proteína de superfície e o efetivo bloqueio da infecção *in vitro* com o uso de anticorpos monoclonais anti-T-CD4+ (KLATZMANN *et al.*, 1984; DALGLEISH *et al.*, 1984). A transfecção de células HeLa humanas T-CD4- com o gene humano, responsável pela codificação desta molécula, as tornaram permissivas à infecção (MADDON *et al.*, 1988). Quando, porém, este procedimento foi realizado em célula de linhagem murina, não foi obtido o mesmo resultado, sugerindo que outros fatores poderiam ser necessários para possibilitar a entrada viral (BRODER; BERGER, 1995). A ligação ao T-CD4+ parecia não ser suficiente para a entrada do HIV, sendo necessária presença de correceptores. Logo em seguida, foi demonstrado que as quimiocinas RANTES, MIP-1 alfa, MIP-1 beta e SDF-1 eram capazes de inibir a replicação viral *in vitro* (COCCHI *et al.*, 1995). Estudos paralelos demonstraram que a transfecção de células T-CD4+ não humanas, com alguns receptores de quimiocinas, denominados fusina (CXCR-4 e CCR5), tornavam estas células permissivas à infecção pelo HIV e que o uso de anticorpos monoclonais específicos para tais receptores era capaz de bloquear a infecção (FENG *et al.*, 1996; SAMSON *et al.*, 1996; TRKOLA *et al.*, 1996). Posteriormente, foi demonstrado ser o CXCR-4 o receptor específico para a quimiocina SDF-1 e o receptor CCR5 para as quimiocinas RANTES, MIP-1 alfa e MIP-1 beta (DRAGIC *et al.*, 1995; ALKHATIB *et al.*, 1996). Outros estudos passaram também a demonstrar que indivíduos portadores de uma deleção de 32 nucleotídeos no gene do receptor de quimiocina CCR5 apresentavam proteção contra a infecção pelo HIV (PAXTON *et al.*, 1996; LIU *et al.*, 1996). O conjunto desses achados foi capaz de caracterizar o receptor CXCR4, como um correceptor em células de linhagem T e o receptor CCR5 em macrófagos (DENG *et al.*, 1996). Após a entrada na célula, inicia-se a transcrição reversa, que ocorre no citoplasma, iniciada pelo *primer* de RNA transportador, ligado à extremidade 5' do RNA genômico. A

enzima transcriptase reversa realiza a transcrição de uma forma ordenada em todos os retrovírus. O complexo de transcrição inicia-se na extremidade 5' do RNA, então salta para a terminação 3' do RNA e volta copiando o restante do RNA viral, completando a fita de DNA de polaridade negativa. Em seguida, o RNA viral é degradado pela ribonuclease H, uma subunidade da transcriptase reversa, com a exceção de duas regiões resistentes, ricas em purinas, que servirão como *primers* para a formação da fita positiva (PELISKA; BENKOVIC, 1992). Durante a formação da dupla fita de DNA, o complexo nucleoprotéico, também chamado complexo pré-integração, é importado para o núcleo (FARNET; HASELTINE, 1991). Nesta etapa, ocorre a integração da cópia de DNA no genoma da célula hospedeira, dependendo para isto da ação da enzima integrase. Não parece haver um sítio definido para esta integração, embora possa ocorrer preferencialmente dentro ou próximo de certas sequências repetitivas (L1 e Alu), que se movem por todo o genoma como *retrotransposons* (STEVENS; GRIFFITH, 1994). O DNA pró-viral passa a fazer parte do genoma da célula hospedeira, replicando-se junto com ela. Sua replicação ou transcrição ocorre sob a regulação de fatores virais e celulares, atuantes na ativação de promotores virais. Fatores externos, incluindo infecções e produção de citocinas inflamatórias, pela ativação celular, podem aumentar a replicação viral (HONDA *et al.*, 1998). As proteínas virais Tat, Rev, Nef, Vpu, Vpr e Vif agem como reguladoras da expressão dos genes do DNA pró-viral, determinando que tipo de mensagem ou proteína seja produzida. O empacotamento do RNA genômico no interior da partícula viral depende de um sinal específico, sem o qual se formam partículas desprovidas de RNA. A montagem da partícula viral madura ocorre na membrana celular, onde existe a associação da proteína p17 com o domínio citoplasmático da gp41, que por sua vez, liga-se à gp120 na superfície externa. O vírus em brotamento é formado pelas proteínas virais do envelope, a membrana celular, a matriz composta principalmente pela proteína p17 e um *core* interno contendo o RNA, a transcriptase reversa, integrase e proteínas do *core* (p6, p7, p24 e Vpr). A fase de maturação ocorre durante e logo após a liberação do vírus da célula. Certas proteínas virais, incluindo os componentes protéicos do *core* viral, são sintetizadas como polipeptídios precursores, codificados pelos genes *gag* e *gag-pol*, requerendo a clivagem pela protease viral para a produção de proteínas maduras. Durante o processo de brotamento, a protease viral cliva as poliproteínas do *core*, convertendo esta partícula em um *vírião* infeccioso (GREENE, 1991).

1.3 Variabilidade Genômica do HIV

O HIV apresenta grande heterogeneidade no que se refere às suas características biológicas, sorológicas e moleculares. Essa heterogeneidade está diretamente relacionada a alguns fatores: a) erro na transcrição reversa; b) elevada frequência de recombinação envolvendo a TR; c) grande quantidade de vírus produzidos na infecção e d) grande número de indivíduos infectados (GREENE, 1991; SCHWARTZ; NAIR, 1999; McCUTCHAN, 2000; WIGG, 2008). A transcrição reversa do genoma do HIV-1 é um evento naturalmente sujeito a erros. Durante este processo, à medida que o HIV-1 se replica, ocorre aproximadamente um erro a cada 10.000 nucleotídeos incorporados. Como o genoma do HIV-1 contém aproximadamente 10.000 nucleotídeos, estima-se que pelo menos uma nova mutação ocorra a cada novo vírus produzido no organismo (ROBERTS; BEBENEK; KUNKEL, 1988; TAKEUCHI; NAGUMO; HOSHINO, 1991; PRESTON, 1997). O HIV é considerado, portanto, uma *quasispecie*; ou seja, existem subpopulações de vírus no mesmo indivíduo infectado e não população única. Esse é o principal fator, entre os apresentados, para a variabilidade do HIV-1, que fica em torno de 6% em um mesmo paciente, podendo chegar a 50% entre indivíduos de regiões geográficas diferentes (WIGG, 2008).

O estudo da variabilidade genômica do HIV-1 é foco de atenção de pesquisadores no mundo todo, ante as potenciais implicações para o desenvolvimento de vacinas, bem como para o conhecimento de aspectos relacionados a transmissão e patogênese da infecção (LOUWAGIE *et al.*, 1993; DIAZ *et al.*, 1997; McCUTCHAN, 2000; FRANÇA *et al.*, 2010).

Análises filogenéticas de amostras de HIV-1 isoladas de diferentes regiões geográficas do mundo, nas quais se estudam as sequências das partes do genoma codificadas pelos genes *env* e *gag*, revelam que pode ser dividido em três grupos: M (*Major*), O (*Outlier*) e N (de *New, non-M, non-O*). Enquanto as amostras dos grupos O e N estão praticamente restritas ao Continente Africano, com alguns casos isolados de grupo O na Europa e América do Norte, as variantes do grupo M são responsáveis pela pandemia da aids, correspondendo a 95% dos isolados e foram subdivididas em subgrupos geneticamente relacionados, mas diferentes, incluindo nove subtipos ou *clades* (A, B, C, D, E, F, G, H, K) e alguns sub-subtipos (A1, A2, A3, F1, F2), que divergem entre si em torno de 30%, na região do envelope (SIMON *et al.*, 1998; WIGG, 2008). Ocasionalmente, dois vírus de diferentes subtipos podem infectar uma mesma célula, podendo ocorrer recombinação genética,

surgindo um vírus híbrido. Muitos desse vírus não conseguem se manter, mas em alguns casos se tornam formas recombinantes circulantes (CRF - *circulating recombinant forms*). Portanto, várias CRF, outros vírus recombinantes atípicos e vários outros genomas de HIV-1 não classificáveis têm sido identificados, bem como ocorrem infecções mistas (JANINI *et al.*, 1996; RAMOS *et al.*, 1999; FLORES *et al.*, 1999).

Os subtipos de HIV-1 estão amplamente distribuídos, com múltiplos subtipos e vírus recombinantes cocirculando em várias regiões. A prevalência desses subtipos varia em diferentes regiões do mundo e, em geral, há o predomínio de um ou dois subtipos. Na África, por exemplo, onde se concentram mais de 90% dos casos de aids, o subtipo do HIV-1 mais prevalente é o C. Nas Américas e na Europa, a maioria dos isolados de HIV-1 pertence ao subtipo B (COUTURIER *et al.*, 2000). Além disso, a prevalência de subtipos do HIV-1 pode variar significativamente de país para país e dentro de grupos populacionais, podendo ser objeto de mudanças com o tempo. Apesar de incerto, existem alguns indícios relacionando os subtipos com diferentes potenciais patogênicos (BAETEN *et al.*, 2007; KALEEBU *et al.*, 2007) e de transmissibilidade (YANG *et al.*, 2003; JOHN-STEWART *et al.*, 2005).

No Brasil, o conhecimento da epidemiologia molecular do HIV cresceu significativamente com o surgimento da perspectiva de pesquisas envolvendo vacinas preventivas contra HIV/Aids no início dos anos 1990. Vários estudos demonstraram a predominância do subtipo B do HIV-1 no Brasil, com a presença também dos subtipos F (MORGADO *et al.*, 1994, 1996, 1998; GALVÃO-CASTRO *et al.*, 1996; TANURI *et al.*, 1999), C (WHO, 1994; BONGERTZ *et al.*, 2000), D (MORGADO *et al.*, 1998; TANURI *et al.*, 1999) e, mais recentemente, do subtipo A (CARIDE *et al.*, 2001). Vírus recombinantes B/F e B/C também são descritos no Brasil (SABINO *et al.*, 1994; GAO *et al.*, 1996; CORNELISSEN *et al.*, 1996; TANURI *et al.*, 1999; VICENTE *et al.*, 2000; GUIMARÃES, MOREIRA; MORGADO, 2001; CABRAL *et al.*, 2006; SANTOS *et al.*, 2007). Em um estudo realizado na cidade de Santos-SP, os recombinantes B/F representaram 41,7% dos subtipos identificados em uma amostragem de pacientes com infecção crônica, entre os anos de 1999 e 2000 (SUCUPIRA *et al.*, 2007) e 28,9% no ano de 2006 (SA-FILHO *et al.*, 2008). Em crianças da cidade de São Paulo, nas amostras analisadas entre os anos de 2000 e 2006, 13,7% eram de vírus recombinantes B/F (OLIVEIRA *et al.*, 2008).

Diferenças genéticas e antigênicas também foram descritas entre cepas do subtipo B circulantes no Brasil. Uma variante do subtipo B foi descrita, denominada B', que difere dos vírus subtipo B clássicos pela presença do *motif* GWGR no topo da região hipervariável 3 (V3) da gp120 do envelope, em vez do *motif* GPGR (POTTS *et al.*, 1993; MORGADO *et al.*, 1994; BONGERTZ *et al.*, 2000), em decorrência de uma substituição da prolina por triptofano (COVAS *et al.*, 1998). Essa “variante brasileira” corresponde a cerca de 40% das cepas de subtipo B e pode ser identificada tanto por abordagem genética (MORGADO *et al.*, 1998a, COVAS *et al.*, 1998) como antigênica (HENDRY *et al.*, 1996; CASSEB *et al.*, 1998; BONGERTZ *et al.*, 2000).

Alguns estudos apontam para uma perspectiva de menor patogenicidade e consequente melhor perfil clínico, das cepas B'-GWGR (SANTORO-LOPES *et al.*, 2000; CASSEB *et al.*, 2002; CASSEB *et al.*, 2004; BRITO *et al.*, 2006).

Variações no perfil de subtipos do HIV-1 também são identificadas entre diferentes regiões do Brasil. Enquanto proporções similares de subtipos B e F foram observadas em estudo conduzido em Manaus-AM, na região Norte (VICENTE *et al.*, 2000), vários estudos demonstram grande predominância do subtipo B (85%) seguido pelo subtipo F (10 a 15%), no Sudeste (MORGADO *et al.*, 1994, 1998a; TANURI *et al.*, 1999; BONGERTZ *et al.*, 2000; BRINDEIRO *et al.*, 2003; FRANÇA *et al.*, 2010). Em relação a amostras das regiões Nordeste e Centroeste, uma ampla predominância do subtipo B (>90%) foi notada, com casos isolados de subtipos F e C (COUTO-FERNANDEZ *et al.*, 1999; STEFANI *et al.*, 2000). A presença do subtipo C no sul do Brasil foi primeiramente detectada em amostras coletadas em Porto Alegre-RS, em estudo internacional realizado pela OMS (WHO, 1994). Mais recentemente, vários estudos demonstraram alta prevalência desse subtipo na região Sul, alcançando percentuais de até 30% em algumas cidades (BRIGIDO *et al.*; 2007; FERREIRA *et al.*, 2008) e até mais de 50% no Estado do Rio Grande do Sul (SOARES *et al.*, 2003; SOARES *et al.*, 2005; RODRIGUES *et al.*, 2005).

No Ceará, de 149 amostras coletadas durante o ano 2000, a prevalência do subtipo B foi de 81,2% e, destas, 34% pertenciam à “variante brasileira” (GADELHA *et al.*, 2003).

É de se esperar, com o avançar do tempo em relação à epidemia, com a entrada de outros subtipos e pelas recombinações no indivíduo infectado, que possa haver modificação do perfil genético do HIV numa determinada região.

Além de favorecer a diversidade genética do HIV, a heterogeneidade, garantida principalmente pelo erro da transcrição reversa, favorece mutações que podem modificar estruturas que são alvo de ação de medicamentos antirretrovirais, produzindo cepas resistentes. Esse aspecto será discutido mais pormenorizadamente no tópico 1.6.

1.4 História Natural da Infecção pelo HIV e Fisiopatogenia

A infecção causada pelo HIV é uma doença infectocontagiosa de curso crônico e progressivo, caracterizada por apresentar, em seu estágio final, infecções oportunistas, neoplasias e outras manifestações clínicas decorrentes de um grave comprometimento do sistema imunológico. O curso da infecção pode variar amplamente de indivíduo para indivíduo. Após a infecção primária alguns pacientes podem permanecer assintomáticos e outros podem desenvolver, após três a seis semanas, síndrome aguda semelhante à mononucleose infecciosa. Este estágio inicial da infecção, também denominado de síndrome retroviral aguda, é caracterizado por elevada taxa de replicação viral e redução considerável da contagem de linfócitos T-CD4+ no sangue periférico (GAINES *et al.*, 1990; TINDALL; COOPER, 1991). Este quadro costuma acontecer em metade a dois terços dos indivíduos recentemente infectados. Os sintomas e sinais mais frequentemente relatados são: febre, sudorese, mal-estar, mialgia, anorexia, náuseas, diarreia, faringite não exsudativa, cefaleia, fotofobia, meningismo, exantema maculopapular e linfadenopatia (RUSTIN *et al.*, 1986; STERLING; CHAISSON, 2010).

Logo após a infecção primária, observa-se o aparecimento dos primeiros anticorpos específicos, caracterizando a fase de soroconversão do paciente (GAINES *et al.*, 1990; ALBERT *et al.*, 1990), que podem ser detectados, com os métodos de terceira geração, a partir do 22º. dia, em média (DEWAR; GOLDSTEIN; MALDARELLI, 2010). Em seguida, em função da resposta imunológica do hospedeiro, a taxa de replicação viral diminui, a contagem de linfócitos T-CD4+ no sangue periférico retorna ao normal ou próximo a isso e os

pacientes iniciam um longo período de infecção assintomática ou oligossintomática, que dura, em média, oito a 12 anos (LEMP *et al.*, 1990; GAINES *et al.*, 1990; TINDALL; COOPER, 1991; CAO *et al.*, 1995). Alguns indivíduos, entretanto, podem progredir mais rapidamente, em período inferior a cinco anos; enquanto outros, chamados de progressores lentos (*long-term non-progressors*), podem permanecer assintomáticos por período superior a uma década (PHAIR *et al.*, 1992; SHEPPARD *et al.*, 1993; PANTALEO *et al.*, 1995). Durante este período, o HIV continua a se replicar, causando danos ao sistema imunológico, principalmente com redução lenta e progressiva da contagem de linfócitos T-CD4+ (LANE; FAUCI, 1985). Nesta fase, o paciente pode apresentar sintomas pouco específicos, como linfadenopatia persistente generalizada, fadiga, febre baixa, sudorese noturna, exantema, diarreia intermitente e perda de peso (METROKA *et al.*, 1983; STERLING; CHAISSON, 2010). Outras manifestações, como trombocitopenia, polineuropatia, polirradiculopatia, demência e miopatia, que parecem processos imunologicamente mediados, resultantes da resposta do hospedeiro à infecção viral crônica, também podem ocorrer (KURTZBERG *et al.*, 1987; LAURIAN *et al.*, 1986; FULLER; JACOBS; GUILOFF, 1993).

Com o avançar da imunodeficiência, especialmente a do tipo celular, em um indivíduo não tratado, o período de latência clínica dá lugar a uma fase de manifestações oriundas de reativações de infecções latentes ou de novas infecções, que se caracterizam como doenças oportunistas, que podem levar ao óbito (LEMP *et al.*, 1990). A Figura 3 sumaria a evolução da doença, num paciente não tratado.

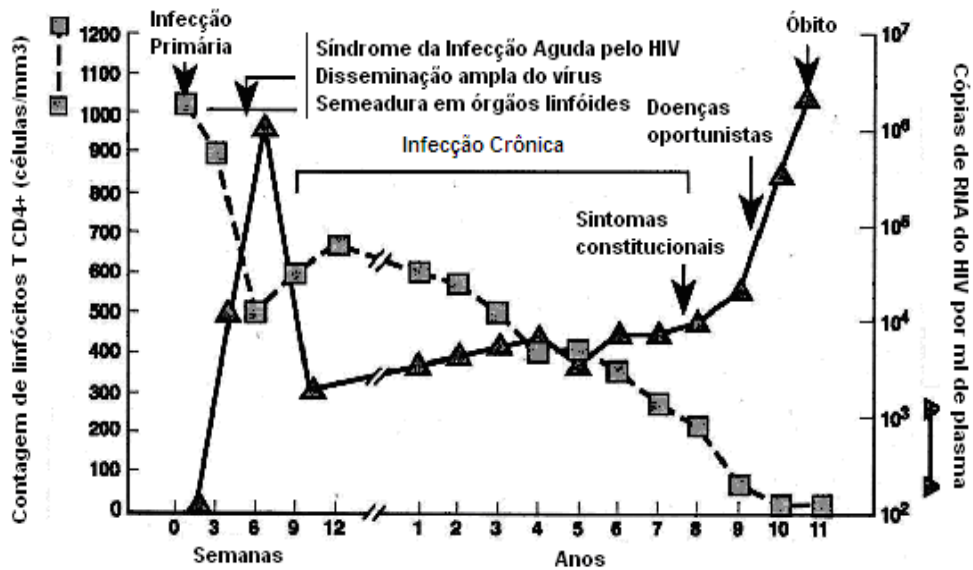


Figura 3- História natural da infecção pelo HIV-1. Ilustração mostrando o comportamento da contagem de linfócitos T-CD4+ no sangue periférico e da quantificação da CV do HIV no plasma em relação ao tempo, em um indivíduo não tratado.

Fonte: Adaptado de FAUCI *et al.*, 1996.

Mesmo antes do HIV ser identificado, era reconhecido o fato de que um aparente paradoxo existia entre a ativação aberrante do sistema imunológico e a imunodeficiência experimentada pelo indivíduo. Posteriormente, demonstrou-se que o fenômeno ocorria em virtude da combinação de secreção de várias quimiocinas e a intensa sinalização celular. A infecção pelo HIV está associada a uma ampla gama de alterações na função do sistema imunológico. São descritas alterações funcionais em todos os ramos do sistema imune, incluindo linfócitos B e T, células NK, células apresentadoras de antígenos e neutrófilos. Durante a evolução da doença, é observado um desarranjo progressivo na arquitetura do tecido linfóide, que resulta na perda do controle da replicação viral. Os mecanismos associados a este processo são complexos e pouco compreendidos, envolvendo infecção direta da célula dendrítica folicular, toxicidade celular por produtos virais e inflamatórios (ex: proteína Tat, gp120), além de indução de apoptose (MOIR; CONNORS; FAUCI, 2010).

O descobrimento da relação entre as células T-CD4+ e a carga viral do indivíduo constituiu um grande passo para o entendimento da imunopatogênese viral (HO *et al.*, 1995; WEI *et al.*, 1995).

A disfunção quantitativa e qualitativa de linfócitos T-CD4+ é o evento central da doença pelo HIV, sendo estas células o seu alvo principal (DALGLEISH *et al.*, 1984; KLATZMANN *et al.*, 1984).

Estudos *in vitro* comprovaram a existência do efeito citopático do HIV, levando à conclusão inicial de que a depleção destas células ocorreria por destruição direta (POPOVIC *et al.*, 1984; LEVY *et al.*, 1984). Estudos quantitativos, entretanto, demonstraram que uma minoria dos linfócitos T-CD4+ costuma estar acometida. Em um paciente assintomático, na fase inicial da infecção pelo HIV, a proporção de linfócitos T-CD4+ infectados no sangue periférico varia tipicamente entre 0,1 a 0,001% (SCHNITTMAN *et al.*, 1990; PANTALEO *et al.*, 1991). Embora este acometimento aumente durante a progressão da doença, raramente excede a proporção de 1%, mesmo em pacientes na fase mais avançada da doença (BAGNARELLI *et al.*, 1992; CONNOR *et al.*, 1993). Mecanismos alternativos foram propostos para tentar explicar a destruição de linfócitos durante o curso da doença pelo HIV. Existem evidências de que sinais intracelulares e extracelulares, produzidos pelo HIV, podem induzir a apoptose de linfócitos T-CD4+, contribuindo para a depleção destas células (LAURENT-CRAWFORD *et al.*, 1991; MEYAARD *et al.*, 1992; WESTENDORP *et al.*, 1995). Algumas evidências também sugerem a participação de um mecanismo autoimune, provavelmente estimulado por mimetismo molecular de componentes virais ou por liberação anormal de antígenos nucleares de células em apoptose (GOLDING *et al.*, 1989; GRANT *et al.*, 1990; GRASSI *et al.*, 1991; CASSANI *et al.*, 1991; MULLER *et al.*, 1992). O fenômeno descrito como “espectador inocente” (*innocent bystander*) tenta explicar a destruição de células saudáveis, muitas vezes ligadas a antígenos virais em sua superfície (ex: gp120), pelo sistema imune. A fusão de células infectadas e não infectadas, resultando em células multinucleadas gigantes ou sincício, foi observada *in vitro*. A formação de sincício, entretanto, é raramente observada em tecidos de pacientes infectados e parece não explicar a destruição de linfócitos *in vivo* (MOIR; CONNORS; FAUCI, 2010). A depleção linfocitária também parece estar associada a uma diminuição na produção de novas células. Esta pode ocorrer por um desarranjo no microambiente do timo ou por depleção dos timócitos induzidos pelo HIV (STANLEY *et al.*, 1993). Algumas populações de timócitos são susceptíveis à infecção *in vitro* pelo HIV (VALENTIN *et al.*, 1994). Também é demonstrado que populações de células tímicas progenitoras CD34+ expressam o receptor T-CD4+ e o correceptor CXCR-4, podendo ser infectadas *in vitro* pelo HIV (FOLKS *et al.*, 1988; STANLEY *et al.*, 1992; DEICHMANN; KRONENWETT; HAAS, 1997). Timócitos não infectados podem ser

induzidos ao fenômeno de apoptose, em pacientes infectados pelo HIV, num mecanismo indireto associado ao defeito da timopoiese (RE *et al.*, 1993). Além disso, apesar de controversa, a redistribuição entre os compartimentos sanguíneos e tecido linfóide, motivados por um tráfico exacerbado, mediado pela maior expressão de receptores e ligantes, poderia contribuir para a depleção periférica de T-CD4+ (McCUNE, 2001).

A disfunção qualitativa dos linfócitos T-CD4+ resulta da diminuição de sua capacidade de proliferação e diferenciação; desregulação da produção de IL-2 e outras citocinas; diminuição da expressão de receptores de IL-2 e formação deficiente de colônias de células T (PANTALEO; FAUCI, 1996). As células T de pacientes infectados manifestam uma variedade de anormalidades fenotípicas, como a redução na porcentagem de linfócitos T-CD4+ expressando a molécula CD28, um receptor necessário para a ativação das células T (CHOREMI-PAPADOPOULOU *et al.*, 1994).

1.5 Terapia Antirretroviral

O contínuo aumento na população de pessoas vivendo com HIV reflete o efeito combinado de altos níveis de novas infecções e o impacto benéfico da terapia antirretroviral, que vem reduzindo a mortalidade. Em dezembro de 2009, aproximadamente 5,2 milhões de pessoas vivendo em países com baixos ou médios recursos estavam recebendo o tratamento específico. Isso representava um aumento de 30% em comparação ao ano anterior e mais de 10x ao observado no ano de 2003. Na África, nesse mesmo período, a cobertura aumentou de 7% para 37% (UNAIDS, 2010). Esses números fazem estimar a soma de 2,9 milhões de vidas salvas, com a disponibilidade do tratamento efetivo, desde o ano de 1996, globalmente (UNAIDS, 2009).

A cobertura antirretroviral na América Latina em 2009 alcançava 42%; superior à média da cobertura mundial, especialmente nos países de baixos e médios recursos, que era de apenas 33% (UNAIDS, 2010). A cobertura de tratamento na América do Sul é superior ao da América Central (UNAIDS, 2008).

O Brasil é reconhecido como referência mundial na definição e execução de uma política pública para prevenção e tratamento da infecção pelo HIV/aids bem-sucedida (TEIXEIRA *et al.*, 2004). Desde 1996, uma das características desta política é a garantia do acesso universal à terapia antirretroviral para indivíduos portadores do HIV, segundo critérios definidos por comitês técnicos assessores (BRASIL, 2008b), em todo o Território Nacional. O percentual de cobertura no País é de aproximadamente 90%, determinante para o perfil favorável da América do Sul e da América Latina no quadro mundial.

Em adição ao impacto na mortalidade, acredita-se que a terapia possa ajudar na redução da incidência, por diminuir a transmissibilidade, às custas de uma menor viremia individual e coletiva. Uma recente metanálise sugere que a taxa de transmissão de uma pessoa em terapia antirretroviral seja aproximadamente 0,5 por 100 pessoas-ano, enquanto em pessoas sem tratamento essa taxa de transmissão seja 5,6 por 100 pessoas-ano (ATTIA *et al.*, 2009). Baseado em um modelo matemático, os cálculos sugerem que, com um incremento no acesso ao teste diagnóstico e ao tratamento antirretroviral, poder-se-ia reduzir de forma significativa a taxa de infecção (LIMA *et al.*, 2008; GRANICH *et al.*, 2009). A aplicabilidade desse modelo matemático para o mundo real ainda é incerta.

A terapia antirretroviral teve como marco inicial o ano de 1986, quando a zidovudina (AZT), um análogo de nucleosídeo inibidor da enzima transcriptase reversa do HIV, demonstrou atividade contra o HIV. No ano seguinte, já existiam dados clínicos da sua eficácia no tratamento da aids (FISCHL *et al.*, 1987). O AZT foi o primeiro antirretroviral de uma série que compõe a classe dos inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (ITRN). As drogas dessa classe, após fosforilação intracelular, atuam inibindo a transcrição reversa do RNA viral, mediante a ação competitiva com os nucleosídeos naturais, promovendo o término precoce da síntese da cadeia de DNA pró-viral. Outros exemplos de drogas da mesma classe dos ITRN são: estavudina (d4T), lamivudina (3TC), didanosina (ddI), abacavir (ABC) e emtricitabina (FTC). Além dessas, a zalcitabina (ddC), segundo ITRN a ser utilizado na prática clínica, hoje já inexistente. O tenofovir (TDF) é outra droga inibidora da transcriptase reversa, porém, diferentemente dos outros análogos de nucleosídeos, já se encontra originalmente fosforilada, sendo, portanto, um análogo de nucleotídeo (DE CLERQ, 2001). Estudos subsequentes logo revelaram a superioridade da terapia com duas drogas ITRN em relação à monoterapia com AZT (KATLAMA *et al.*, 1996; Delta Coordinating Committee, 1996).

As perspectivas da terapia antirretroviral aumentaram com o advento de mais duas classes de drogas: os inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos (ITRNN) e os inibidores da protease (IP). Os medicamentos da classe dos ITRNN são representados por delavirdina (DLV), já não existente, nevirapina (NVP), efavirenz (EFV) e, mais recentemente, etravirina (ETR). Esses medicamentos também inibem a síntese do DNA pró-viral, porém, diferentemente dos ITRN, atuam pela interação direta na região hidrofóbica da transcriptase reversa, localizada próxima ao sítio de ligação do substrato na enzima, causando uma inibição alostérica da sua função (DE CLERQ, 2001).

A atuação do IP ocorre pela interação direta com o sítio catalítico da protease do HIV-1, impedindo a clivagem da poliproteína viral em proteínas individuais e funcionais, interferindo na maturação e infectividade do vírus (TOMASSELLI; HEINRIKSON, 2000; DE CLERQ, 2001). Os medicamentos dessa classe são: saquinavir (SQV), ritonavir (RTV), indinavir (IDV), amprenavir (APV), nelfinavir (NFV), lopinavir (LPV), atazanavir (ATV), tipranavir (TPV) e darunavir (DRV).

Os IP apresentam uma biodisponibilidade baixa e variável, uma meia-vida plasmática curta, exceto o ATV, exigindo a administração em duas ou três ingestas diárias, muitas vezes com restrições alimentares, que dificultam a adesão dos pacientes ao tratamento, reduzindo assim a sua eficácia (COOPER *et al.*, 2003). O reconhecimento da propriedade do ritonavir de inibir o metabolismo via citocromo P450, associado à observação de que a maioria dos IP é objeto de metabolização neste sistema enzimático, levou à utilização desta droga como um reforço farmacológico de várias outras drogas desta classe (KEMPF *et al.*, 1997). Uma baixa dose de ritonavir (100-200 mg/dia) passou a ser utilizada com o objetivo de elevar os níveis séricos dos outros IP, numa estratégia denominada de “IP reforçado” (*Booster-PI* ou simplesmente IP-r). Tais combinações permitem o uso de doses menores ou menos frequentes desses medicamentos (MOYLE, 1998; COOPER *et al.*, 2003).

Outras classes de antirretrovirais foram disponibilizadas para uso clínico. Inibidor de fusão, inibidor de correceptor CCR5 e inibidor de integrase. O inibidor de fusão é a enfuvirtida (EFN), que impede a aproximação definitiva do envelope viral à membrana da célula hospedeira, comprometendo o estágio final de entrada do vírus. A molécula do medicamento mimetiza a fração HR1 da gp41, ligando-se e ocupando espaço na fração HR2, que se fixa ao envelope viral. Essa ligação bloqueia o mecanismo de “zipagem” ou união da

HR1, ancorada na membrana celular, com a HR2. Essa “zipagem” medeia a fusão da membrana da célula ao envelope viral (WILD; GREENWELL; MATTHEWS, 1993).

O inibidor de correceptor CCR5 é o maraviroque (MVQ), que se liga ao correceptores de membrana, modificando sua conformação estrutural e impedindo a ligação da gp120, bloqueando a aproximação do envelope viral, de um vírus com esse perfil fenotípico (utilização do correceptor CCR5 e não o CXCR4), à membrana celular. É uma droga antirretroviral que não tem como alvo o próprio vírus e sim um receptor celular relacionado à sua entrada (DORR *et al.*, 2005).

O inibidor de integrase é o raltegravir (RAL), que age inibindo a integração do DNA pró-viral no DNA cromossomal, na fase de transferência de cadeia; quando o DNA pró-viral recém-sintetizado pela TR e acoplado à enzima integrase, é carregado por esta para o núcleo da célula (KILBY *et al.*, 1998; HAZUDA *et al.*, 2000; MARKOWITZ *et al.*, 2006).

O desenvolvimento sucessivo de novos agentes farmacológicos direcionados a diferentes alvos do ciclo de replicação do HIV culminou com o emprego, a partir de 1996, da estratégia de terapêutica combinada envolvendo drogas de classes diferentes. O grau de supressão da replicação viral obtido com a terapia antirretroviral combinada (TARC) passou a ser mais intenso e duradouro do que o observado previamente com a monoterapia ou terapia com duas ou mais drogas de uma mesma classe. A repercussão deste avanço sucedeu sob a forma de redução no número de óbitos, diminuição do quantitativo de complicações e internamentos hospitalares, aumento da sobrevida e melhora da qualidade de vida dos pacientes (PALLELA, *et al.*, 1998). Além disso, o uso de drogas antirretrovirais durante a gravidez, associado a outras intervenções preventivas, permite reduzir a menos de 1% a transmissão vertical do HIV-1 (European Collaborative Study, 2005).

1.6 Testes de Resistência Antirretroviral

A resistência antirretroviral é uma consequência natural da capacidade mutante do HIV e da pressão seletiva de medicamentos; representando uma das mais preocupantes ameaças ao sucesso no controle da infecção pelo vírus, obtido com a TARC. Esta ameaça

forçou o desenvolvimento e utilização de métodos laboratoriais capazes de detectar a presença de resistência do HIV-1 (RICHMAN, 2000; HEILEK-SNYDER; BEAN, 2002; HIRSCH *et al.*, 2008).

Passou-se, então, a utilizar testes que podem avaliar a resistência pelo perfil genotípico e fenotípico. A nomenclatura desses testes reflete a própria denominação de um padrão de resistência antimicrobiana. A resistência fenotípica representa o “comportamento” do vírus em meio de cultura, na presença de antirretrovirais. A resistência genotípica representa as mutações no gene do HIV-1, mediante as quais se poderia prever as mudanças no “comportamento” (fenótipo) do vírus frente aos medicamentos. O princípio óbvio que subjaz é de que toda alteração fenotípica é decorrente de uma alteração genotípica (RICHMAN, 2000; HIRSCH *et al.*, 2008).

Os testes fenotípicos determinam a quantidade de medicamento necessária para inibir a replicação do HIV-1 *in vitro*, visto que as concentrações podem resultar em inibição de 50, 90 ou 95% (EC ou IC50, IC90 ou IC95). Os testes clássicos, usados em laboratórios de pesquisa, realizam a cocultura do vírus e a exposição aos medicamentos de forma bastante artesanal. Os testes padronizados com vírus recombinantes têm maior potencial de aplicabilidade na prática médica, diminuindo o tempo para o resultado (6-8 semanas nos testes convencionais, para 2-3 semanas nos padronizados) e reduzindo a variabilidade entre os ensaios. Geralmente cultivam o vírus na presença de cada um dos antirretrovirais, em concentrações diferentes de medicamentos, em duplicata. Os resultados dos vírus testados são comparados com resultados obtidos com base no vírus do tipo selvagem. Um dos detalhes importantes para o resultado de fenotipagem é a definição para “variação na concentração” ou “número de mudanças” (*fold change*) de antirretrovirais, que significa o quanto o medicamento foi necessário *in vitro* para inibição da replicação do vírus do paciente, comparado ao que foi necessário para inibição do vírus do tipo selvagem. A “variação na concentração” é feita dividindo o IC50 do vírus do paciente pelo IC50 do vírus do tipo selvagem. Se o IC50 do vírus do paciente fosse 5µM de um determinado antirretroviral, por exemplo, e o IC50 do vírus do tipo selvagem fosse 0,5µM, a “variação na concentração” seria igual a 10. Portanto, seria necessária concentração dez vezes superior do medicamento para inibir o vírus do paciente do que a necessária para inibir o vírus selvagem. Após as análises de ensaios clínicos, permite-se conhecer os pontos de corte (*cut-offs*) entre um vírus plenamente sensível, intermediariamente sensível ou resistente. Quando não se conhece o *cut-off* clínico,

utiliza-se o *cut-off* biológico, que é a análise de várias amostras de vírus selvagens de pacientes, em culturas de células, verificando a variação de atividade de um determinado medicamento. Voltando ao exemplo, se o *cut-off* biológico fosse igual a 2, o vírus do paciente (com FC de 10) seria resistente àquele determinado antirretroviral. A principal fragilidade do teste está na ausência de *cut-offs* clínicos para todos os medicamentos, além de ser consideravelmente mais trabalhoso, lento e caro do que os testes genotípicos (RICHMAN, 2000; HEILEK-SNYDER; BEAN, 2002; HIRSCH *et al.*, 2008). Todos os testes comercialmente disponíveis (PhenoSense® da Monogram Biosciences, Phenoscript® da Viralliance e Antivirogram® da Virco BVBA) usam essencialmente o mesmo procedimento, com pequenas variações metodológicas, que consiste em gerar um vírus recombinante, pela amplificação por PCR da região genômica de interesse do vírus do paciente, inserindo-a num clone de HIV do laboratório, que teve essa mesma região genômica suprimida. Grandes quantidades de vírus recombinante são produzidas por transfecção de células suscetíveis. De maneira sintética, os passos são os seguintes: 1) purificação do RNA do HIV-1 presente na corrente sanguínea do paciente; 2) transcrição reversa (transformação de RNA viral em DNA complementar); 3) amplificação da região da TR e PR pela metodologia da PCR (reação em cadeia da polimerase); 4) transfecção de células de cultura pela utilização de clones infecciosos selvagens (fragmento de DNA do HIV-1, com exceção do fragmento da TR e PR, que serão inseridos a partir dos genes amplificados no passo anterior), introduzindo-se o clone infeccioso do vírus selvagem e o fragmento da TR e PR do vírus do paciente no interior da célula, por metodologia conhecida como eletroporação, criando-se um recombinante (fragmento do genoma do vírus selvagem do laboratório sem os genes da TR e PR e fragmento do genoma contendo genes da TR e PR, do vírus do paciente); 5) cultura do vírus na presença de cada um dos antirretrovirais, em concentrações diferentes; 6) quantificação da perda de susceptibilidade do vírus testado, comparado o vírus do tipo selvagem, pelo IC50, através de curvas de inibição e 7) interpretação, gerando um laudo (HEILEK-SNYDER; BEAN, 2002; ZHANG *et al.*, 2005).

Os testes genotípicos analisam as mutações na sequência de ácido nucléico que causam substituições de aminoácidos, quando o RNAm é traduzido em proteína. Um só nucleotídeo substituído na trinca pode mudar o aminoácido. Essas mutações são codificadas por uma letra que representa o aminoácido substituído, seguida da localização (número do aminoácido na cadeia) e, posteriormente, pela letra que representa o aminoácido substituído. Assim, a mutação L90M significa que o aminoácido leucina foi substituído pela metionina na

posição 90 da protease (MacARTHUR, 2000). A genotipagem utiliza métodos de sequenciamento de DNA (PR e TR) e tem como vantagens o menor custo e, portanto, maior acessibilidade nos países em desenvolvimento. Além disso, tem maior rapidez de execução (os resultados são processados em cerca de 2-4 semanas) e pode detectar clones de cepas resistentes mesmo antes da evidência de uma resistência fenotípica. O plasma sanguíneo é a principal fonte viral utilizada nos testes de genotipagem. Assim, em razão da meia-vida viral plasmática ser de aproximadamente seis horas, apenas cepas ativamente replicantes podem ser isoladas desta fonte. Portanto, a sequência do vírus plasmático representa as *quasispecies* mais recentemente selecionadas pela terapia antirretroviral. Estes testes requerem grande seguimento do genoma do HIV-1 (>1Kb) para realização de extração, transcrição reversa e amplificação por PCR, em relação a métodos designados quantitativos (cerca de 100 bp necessários), que são, por isso, mais sensíveis. O processamento da amostra pode ser realizado por dois métodos de sequenciamento: dideoxinucleotídeo ou hibridização. Estudos comparativos evidenciam que o primeiro método é mais fidedigno na identificação de mutações para TR e PR do HIV-1. A hibridização não é capaz de detectar inserções ou deleções nas sequências virais, além da sua dificuldade na utilização em subtipos não B (SHAFER, 2002). Uma desvantagem da genotipagem é que o conhecimento acerca das mutações, que podem levar a uma diminuição da susceptibilidade às drogas, ainda é limitado e, no teste convencional, há pouca sensibilidade para as cepas minoritárias, que representem menos de 20% da população (RICHMAN, 2000; WILSON; BEAN, 2000; HANNA; D'AQUILA, 2001; HEILEK-SNYDER; BEAN, 2002; HIRSCH *et al.*, 2008).

A fenotipagem virtual, desenvolvida por uma empresa belga (Virco), é um instrumento quantitativo para prever a susceptibilidade fenotípica do HIV aos antirretrovirais, baseado em resultados de genotipagem. Não é por si um teste de susceptibilidade aos medicamentos *in vitro*. Na verdade, foi constituído um banco de dados com milhares de amostras analisadas por fenotipagem e genotipagem, pareadamente. Obtendo uma genotipagem, submete-se a sequência genômica a este banco de dados, que, mediante um sistema de informática, conhecido como *neural network*, identifica o perfil fenotípico mediano. Desta forma, como cada sequência de nucleotídeos do banco de dados (resultado de genotipagem) possui um resultado de fenotipagem correspondente, um laudo no formato de uma fenotipagem é obtido com suporte no perfil genotípico do vírus em estudo (DIAZ, 2004).

Existem técnicas mais sensíveis que permitem detectar variantes virais minoritárias (menos de 10%): *single-genome sequencing*, *allele-specific PCR (ASPCR)*, *parallel allele-specific sequencing (PASS)* e *ultra-deep sequencing (pyrosequencing)*. As sensibilidades desses métodos são variadas na capacidade de detecção de populações que representam apenas 2%, como no *single-genome sequencing* a menos de 0,5%, como no *ultra-deep sequencing* (CHARPENTIER *et al.*, 2004; PALMER *et al.*, 2005; WANG *et al.*, 2007; CAI *et al.*, 2007; SIMEN *et al.*, 2009). Além de mais caros, contudo, carecem de mais estudos clínicos que estabeleçam sua aplicabilidade.

A importância das populações virais minoritárias foi primeiramente demonstrada pela falha de tratamentos baseados em nevirapina, em mulheres tailandesas que receberam esse medicamento em dose única, previamente, para impedir a transmissão mãe-filho (JOURDAIN *et al.*, 2004). Nesse estudo, mesmo com genotipagem-padrão não detectando resistência à nevirapina, mais mulheres que a receberam em dose única falharam ao tratamento em comparação com as que receberam placebo, durante a gravidez. Em pacientes virgens de tratamento, dois estudos recentes (JOHNSON *et al.*, 2008; METZNER *et al.*, 2009) revelaram associação entre a presença de variantes minoritárias resistentes a drogas e subsequente falha virológica, especialmente quando a terapia era baseada em ITRNN. É observado, entretanto, o fato de que apenas uma porcentagem muito pequena de pacientes (<5%) falha à terapia antirretroviral de primeira linha, se nenhuma resistência for detectada na genotipagem-padrão (FESSEL *et al.*, 2008). A presença da mutação M184V, na transcriptase reversa, que confere resistência à lamivudina, foi detectada em 12,7% e 19,4% de 165 amostras de pacientes não tratados, no Reino Unido, através de genotipagem convencional e por técnica capaz de identificar variantes minoritárias, respectivamente (BUCKTON *et al.*, 2011). É provável que haja algum limite para que a variante minoritária resistente conduza à falha do esquema. Definir esse limiar é um desafio, como é provável que dependam da barreira de resistência da droga, da atividade antiviral das outras drogas do esquema, da carga viral basal e outras características dos pacientes, como padrões de adesão (GRANT; ZOLOPA, 2009). Análise recente de um ensaio clínico sugeriu que um limiar de cerca de 2% (2.000 cópias/ml) para K103N resultou em aumento de falha de um esquema baseado em efavirenz (GOODMAN *et al.*, 2010).

Vários estudos retrospectivos e prospectivos avaliaram o papel dos testes genotípicos e fenotípicos na terapia de resgate. Os estudos retrospectivos demonstraram a

associação entre falha virológica e mutações de resistência e a utilidade dos testes na previsão de falha virológica de um esquema antirretroviral de resgate (KATZENSTEIN *et al.*, 1996; LORENZI *et al.*, 1999; HARRIGAN *et al.*, 1999; ZOLOPA *et al.*, 1999; LANIER *et al.*, 1999; HAMMER *et al.*, 1999). Nestes estudos, porém, os testes de resistência não foram utilizados para orientar a escolha do novo tratamento antirretroviral.

Em análise prospectiva, vários ensaios clínicos randomizados foram conduzidos nos últimos anos. Alguns estudaram o uso de testes genotípicos (DURANT *et al.*, 1999; BAXTER *et al.*, 2000; TURAL *et al.*, 2002; CINGOLANI *et al.*, 2002), outros avaliaram o uso de testes fenotípicos (CALL *et al.*, 2001; COHEN *et al.*, 2002) e outros avaliaram ambos os testes (MEYNARD *et al.*, 2000; SARACINO *et al.*, 2004; DUNN *et al.*, 2005). Existe ainda estudo comparando a genotipagem com a fenotipagem virtual (HALES *et al.*, 2006) e fenotipagem virtual com fenotipagem (MAZZOTTA *et al.*, 2003; PEREZ-ELIAS *et al.*, 2003). De maneira geral, estes estudos demonstraram que a seleção de um esquema antirretroviral de resgate, com o auxílio de um teste de resistência, resultou em uma redução significativa da CV plasmática para HIV-1 e/ou supressão virêmica (CV não detectada) em uma grande proporção de pacientes. Além disso, na maioria, concluem que a fenotipagem e a fenotipagem virtual não melhoram a abordagem da terapia de resgate em relação à genotipagem.

No Brasil, em uma análise prospectiva, aberta e não randomizada, houve benefício entre escolher o novo tratamento guiado por genotipagem *versus* escolher o tratamento apenas pelo conhecimento clínico, mas numa amostra pequena de pacientes (TUPINAMBÁS *et al.*, 2006). Outro estudo, com número de pacientes parecido, não mostrou o mesmo benefício (PIRES NETO; COLARES; FONSECA, 2008). O primeiro estudo, com resultado favorável ao uso da genotipagem, tinha os dois grupos de pacientes recrutados em um mesmo serviço e aferiu adesão nos dois grupos. Porém, fez um seguimento de apenas 6 meses, após a intervenção. Por outro lado, o segundo estudo, que não mostrou vantagem em usar a genotipagem para garantir sucesso na terapia de resgate, seguiu os pacientes por um período mais longo (24 meses), mas tinha os dois grupos com alguma diferença quanto à intensidade de exposição a antirretrovirais, especialmente em relação a IP, que tinha sido menos usado no grupo de pacientes que não fez o exame. Além disso, esse grupo controle era constituído de pacientes de um único serviço, Hospital Universitário, enquanto o outro grupo, que realizou genotipagem, era constituído de pacientes de 4 serviços de assistência municipal,

potencialmente menos experientes na condução de casos multiexperimentados. Esses três fatores (maior exposição a IP, menor experiência na abordagem de pacientes com vírus resistente e falta de avaliação de adesão) podem ter contribuído para anular o provável benefício da estruturação de um esquema de resgate com a informação do perfil de resistência do vírus.

Alguns autores analisaram os dados dos trabalhos individuais de uma maneira conjunta, na perspectiva de condensar e melhorar a interpretação dos resultados (DeGRUTTOLLA *et al.*, 2000; HAUBRICH; DEMETER, 2001). À medida que os dados iam se avolumando, novas análises mais robustas foram feitas. Uma metanálise dos estudos prospectivos e randomizados publicados e apresentados até 2001 demonstrou benefício de curto prazo (até seis meses após a troca da terapia), quando a genotipagem foi utilizada para guiar a troca do tratamento em comparação com a abordagem apenas pelo conhecimento clínico. Além disso, a orientação de um profissional experiente, após analisar o resultado da genotipagem, melhorou a resposta ao tratamento. Nesse estudo, a fenotipagem não demonstrou benefício (TORRE; TAMBINI, 2002). Em outra metanálise, baseada em estudos prospectivos e randomizados, entre 1998 e 2004, foi demonstrado discreto benefício na redução da viremia, para um período de até seis meses após a troca do tratamento, em favor da geotipagem e da fenotipagem virtual (PANIDOU; TRIKALINOS; IOANNIDIS, 2004). Após essas publicações, um estudo de coorte demonstrou que a sobrevivência de pacientes em falha terapêutica foi superior, se realizavam exames de resistência do HIV, mesmo com análise ajustada para alguns fatores potencialmente confundidores e favoráveis a menor mortalidade (T-CD4+ mais elevado no basal, cor branca, pacientes de rede privada e não usar drogas injetáveis). Apesar disso, os autores admitiram a possibilidade de outro fator confundidor envolvido: realizar um teste de resistência do HIV poderia significar melhor acesso aos cuidados de saúde (PALELLA *et al.*, 2009).

Estes e outros estudos deram suporte científico para o uso clínico de testes de resistência do HIV-1. Nos últimos anos, é cada vez mais indicado, tanto para fins de resgate terapêutico como para guiar o início do tratamento.

Em outubro de 2001, considerando o número cada vez maior de pacientes em TARC de resgate e visando a enfrentar o problema da resistência do HIV-1 às drogas antirretrovirais, como fator relacionado a falha terapêutica, o Ministério da Saúde do Brasil

criou a Rede Nacional de Genotipagem do HIV-1, também denominada RENAGENO. O princípio de acesso universal foi mantido, sendo que a indicação de realização do exame ficou condicionada a critérios técnicos bem definidos. Tal iniciativa foi e ainda é pioneira no mundo. A RENAGENO é constituída por uma rede de laboratórios de referência em genotipagem (LRG) e por médicos de referência em genotipagem (MRG). O MRG tem a função de avaliar as solicitações vindas das unidades assistenciais, deferindo ou não a solicitação, de acordo com critérios técnicos estabelecidos, e interpreta o resultado do teste, emitindo laudo com sugestões de tratamento de resgate. Os LRG, por sua vez, são laboratórios públicos equipados para realização de testes de resistência genotípica.

1.7 Resistência Primária ou Transmitida

A replicação viral em um indivíduo sem tratamento pode gerar 10^{10-11} cópias virais por dia (PERELSON *et al.*, 1996). A TR do HIV não possui a função de correção de erros (*proofreading*) e estima-se que cause uma mutação a cada 10^5 ciclos de replicação (PRESTON; POIESZ; LOEB, 1988). Com arrimo nesses números, estima-se que possam ocorrer 10^4 mutações no genoma viral diariamente. Se algumas destas mutações conferirem vantagem seletiva a este vírus, como suscetibilidade reduzida a determinado agente antiviral, a *quasispecie* correspondente irá predominar. Em paciente virgem de terapia antirretroviral, estas variantes resistentes costumam representar uma população minoritária. Como estas de ordinário apresentam uma capacidade replicativa inferior à cepa selvagem, costumam sucumbir diante da competição pela infecção de uma nova célula. Na presença de antirretrovirais, entretanto, especialmente quando as concentrações séricas são reduzidas, mas suficientes para inibir a replicação das cepas sensíveis, estas variantes têm a possibilidade de infectar novas células, se integrar ao genoma do hospedeiro e se transformar na população viral predominante (CLAVEL; HANCE, 2004).

Adesão plena ao tratamento antirretroviral potente por longos períodos é meta difícil de cumprir. Este é considerado o principal fator para o desencadeamento de resistência aos medicamentos, pela pressão que as drogas exercem em níveis subterapêuticos, selecionando cepas mutantes e resistentes do vírus.

Dados nacionais, em serviços públicos do Estado de São Paulo, revelaram que 31% dos pacientes têm má adesão; com maior prevalência entre os indivíduos de menor escolaridade, menor renda pessoal, situação de desemprego, uso abusivo de drogas ou álcool, esquemas antirretrovirais com maior quantidade de comprimidos, pior qualidade do serviço de saúde e falta às consultas médicas (NEMES *et al.*, 2009). No Nordeste, no Estado do Rio Grande do Norte, em uma casuística de aproximadamente 500 sujeitos, no período de 1999 a 2001, revendo dados de prontuários médicos, a taxa de não-interrupção da terapia foi de 64,1% (BRITO *et al.*, 2006). Em uma metanálise de todos os estudos nacionais, publicados de 2004 a 2009, a taxa-síntese de não-adesão foi de 34,4% (ROCHA *et al.*, 2010).

O tratamento de um paciente infectado por um vírus resistente tem menor chance de sucesso (GRANT *et al.*, 2002; VIOLIN *et al.*, 2004). Houve o relato, na cidade de New York (USA), de um paciente que apresentou rápida progressão para aids, sem resposta terapêutica adequada, por ter se infectado com um vírus resistente a ITRN, ITRNN e IP (MARKOWITZ *et al.*, 2005). Alguns estudos retrospectivos, analisando amostras estocadas e comparando o tempo para falha terapêutica entre os grupos de pacientes com e sem mutações de resistência primária, demonstraram que aqueles com mutações de resistência antes do início da terapia tinham maior probabilidade de falha terapêutica (LITTLE *et al.*, 2002; KURITZKES *et al.*, 2008). Outro estudo, também utilizando estoque de amostras, analisou a chance de falha terapêutica em pacientes submetidos à terapia com ITRNN, que apresentavam mutações de resistência para essa classe de medicamento, por meio da genotipagem convencional e da genotipagem por pirosequenciamento. Os dados apontam que a maior sensibilidade do pirosequenciamento, permitindo detectar mais pacientes com mutações de resistência, correlacionou-se com maior chance de falha terapêutica (SIMEN *et al.*, 2009). Por outro lado, dois outros estudos retrospectivos não demonstraram maior risco de falha do tratamento com a presença de mutações de resistência antes do início dos medicamentos (CASCADE, 2006; BANNISTER *et al.*, 2008). Há ainda um estudo prospectivo, que avaliou a resposta terapêutica até a semana 48 e cujo esquema terapêutico inicial foi orientado pela genotipagem (OETTE *et al.*, 2006). Os índices de supressão da viremia foram semelhantes entre os dois grupos (pacientes com vírus com mutações e pacientes com vírus sem mutações de resistência primária), valorizando a importância da realização do exame para guiar o tratamento. Mais recentemente, dados de uma grande coorte européia foram publicados, mostrando que a presença de mutações de resistência primária, que correspondessem à resistência a pelo menos um antirretroviral utilizado no tratamento inicial, correlacionou-se

com risco aumentado de falha terapêutica, no primeiro ano de acompanhamento (WITTKOP *et al.*, 2011).

Ademais, foi demonstrado que a resistência primária é mais duradoura do que a secundária, mesmo na ausência de pressão seletiva antirretroviral (BARBOUR *et al.*, 2004). A explicação para esse fenômeno é que um indivíduo infectado por uma *quasispecie* resistente, oriunda de outro indivíduo que tenha feito uso inadequado de terapia antirretroviral, terá desde o começo da infecção um genoma de HIV com mutações de resistência. Mesmo com o decorrer do tempo, na ausência de pressão seletiva de antirretrovirais, por não haver outra população de vírus selvagem que pudesse competir e talvez se sobrepujar por melhor capacidade replicativa, permanecerá preponderando a população de vírus resistente; diferentemente do que ocorre em um paciente que selecionou uma população de vírus resistente, com uso de medicamentos, mas após ter se infectado com uma população de vírus selvagem (sensível aos medicamentos). Com o passar do tempo, na ausência da pressão seletiva dos medicamentos, a população de vírus selvagem, integrada e “arquivada” em células do sistema imune, por possuir melhor capacidade replicativa, volta a prevalecer por simples mecanismos de seleção natural, revertendo mais rapidamente o perfil mutacional de resistência detectado nos testes (PERELSON *et al.*, 1996; PRESTON; POIESZ; LOEB, 1988; CLAVEL; HANCE, 2004). Apesar disso, existem dados consistentes demonstrando que quanto mais recente ao momento da infecção é realizado o teste de resistência, maior a prevalência de mutações relacionadas. Portanto, as amostras colhidas de pacientes com infecção aguda têm maior prevalência de resistência, quando comparados aos pacientes com infecção crônica latente (NOVAK *et al.*, 2005; DESCAMPS *et al.*, 2005; BOOTH *et al.*, 2007; SUCUPIRA *et al.*, 2007; LITTLE *et al.*, 2008). Ou seja, mesmo que a variante resistente transmitida prevaleça e quase exclusivamente esteja presente, mutações espontâneas, garantidas pela típica diversidade genética evolutiva do HIV, reverterem progressivamente a um vírus selvagem (LITTLE *et al.*, 2008). Outra informação relevante adveio de um estudo na Espanha, em que os pesquisadores descrevem não haver maior prevalência de resistência primária em pacientes recentemente infectados e que apresentavam cepas de tropismo CXCR4 (DE MENDOZA *et al.*, 2007).

A transmissão de cepas HIV-1 resistentes é relatada na literatura há muitos anos (ERICE *et al.*, 1993; CONLON *et al.*, 1994), mas ganhou especial destaque quando testes de resistência genotípico e fenotípico foram realizados em uma coorte de pacientes

estadunidenses, com infecção recente, entre 1995 e 2000, demonstrando um aumento de resistência primária, quando comparados dois momentos desse período (1995-1998 e 1999-2000), de 3,4% para 12,4%, pela fenotipagem e de 8,0% para 22,7%, pela genotipagem (LITTLE *et al.*, 2002). Analisando a população de adolescentes com infecção recente nos EUA, foi detectada prevalência de 22% de resistência primária pela fenotipagem e 18% pela genotipagem, com um índice expressivo de resistência aos ITRNN na ordem de 18% e 15%, pela genotipagem e fenotipagem, respectivamente (VIANI *et al.*, 2006). Analisando apenas a população de homens que fazem sexo com homens com infecção recente, no mesmo país, foi detectada 15,9% de resistência primária (ESHLEMAN *et al.*, 2007). Dados semelhantes, mas com uma magnitude um pouco inferior, também refletem a situação da Europa (DESCAMPS *et al.*, 2005; WENSING *et al.*, 2005). Entre os anos de 2002-2005, analisando amostras de 20 países do Continente, a prevalência foi de 8,4% (VERCAUTEREN *et al.*, 2009). Outro grande estudo, analisando dados de 25 coortes daquele continente, com amostras colhidas entre os anos de 1998 e 2008, detectou 9,5% de mutações de resistência primária (WITTKOP *et al.*, 2011). No Reino Unido, estudo mais recente detectou 7,1% de resistência primária, com índice de 8,2% em pacientes com infecção recente (BOOTH *et al.*, 2007). Na França, numa casuística de pacientes com infecção recente, entre os anos de 1996 a 2006, a prevalência foi de 10,9% (CHAIX *et al.*, 2009). Na Alemanha, entre 1996 e 2007, apesar de manter-se em níveis estáveis, a prevalência de resistência primária foi de 12,4% (BARTMEYER *et al.*, 2010). Além disso, vários estudos demonstraram a transmissão perinatal de vírus resistentes, a partir de mulheres que já estavam em tratamento ou que faziam profilaxia com antirretrovirais (SIEGRIST *et al.*, 1994; PALUMBO *et al.*, 2001; PARKER *et al.*, 2003; KARCHAVA *et al.*, 2006; DELAUGERRE *et al.*, 2009). No Brasil, em Belo Horizonte-MG, 9,8% de um grupo de 41 crianças infectadas por transmissão vertical apresentavam resistência primária (FERREIRA *et al.*, 2010). Por outro lado, é comentado que a melhora da supressão viral, com os esquemas mais potentes e mais bem tolerados, é capaz de reduzir a incidência de detecção de resistência nos pacientes em tratamento, com potencial diminuição da transmissão de cepas resistentes (VERCAUTEREN *et al.*, 2008; GILL *et al.*, 2010). Apesar disso, os relevantes números de prevalência levaram os principais Guias Internacionais de Terapia Antirretroviral (BHIVA/08; DHHS/09; GESIDA/09, EACS/09; IAS-USA/10) a recomendarem a realização de testes de resistência para todos os pacientes recentemente diagnosticados (GAZZARD, 2008; DHHS, 2009; GESIDA, 2009; EACS, 2009; THOMPSON *et al.*, 2010). No Brasil, ainda não há essa recomendação (BRASIL, 2008b), exceto para casos de crianças e adolescentes infectados por transmissão vertical (BRASIL, 2009). Analisando dados de

amostras colhidas em 1998, no Estado do Rio de Janeiro, os autores concluem não haver indicação do teste rotineiro, uma vez que nenhum vírus albergava resistência antirretroviral (DUMANS *et al.*, 2002).

Na Argentina, a prevalência foi de 7,7%, entre 52 amostras de pacientes recentemente infectados, em Buenos Aires e três outras regiões (PETRONI *et al.*, 2006). No Peru, analisando amostras de homens que fazem sexo com homens não tratados, foi revelada prevalência de 3,3% (LAMA *et al.*, 2006). Na Venezuela, em um número pequeno de pacientes virgens de terapia, foram detectados 10% de resistência primária, pela presença de mutações na TR (BOUCHARD *et al.*, 2007). Em Cuba, o achado foi de 5,2% de mutações de resistência primária na TR e 3,2% de mutações de resistência primária na PR (PÉREZ *et al.*, 2007). Na Ásia, houve 4,3% de resistência primária na Coreia do Sul (CHOI *et al.*, 2008) e 3,8% na China (LIAO *et al.*, 2010).

Como visto, a prevalência de resistência primária varia muito entre diferentes países, entre regiões de um mesmo país e entre subpopulações. Ademais, as diferentes formas de interpretar o impacto potencial de uma lista de mutações encontradas na sensibilidade antirretroviral, amplia diferentes índices reportados. Isso levou um grupo de pesquisadores, com apoio da OMS, a estabelecer uma lista consensuada de mutações a serem consideradas como relacionadas à resistência transmitida (SHAFER *et al.*, 2007; BENNETT *et al.*, 2009).

Voltando à Venezuela, o segundo estudo, já utilizando a metodologia recomendada pela OMS, com uma casuística maior, encontrou uma taxa de mutações de resistência primária próxima a 5% (CASTILO *et al.*, 2009). Na Argentina, foi de 8,4%, como demonstrado em estudo muito recente (PANDO *et al.*, 2011). Em estudo multicêntrico do Continente Africano, a prevalência foi de 5% (PRICE *et al.*, 2011).

No Brasil, são poucos os estudos sobre a questão e com dados algo discrepantes. Em Santos-SP, entre janeiro de 1999 e 2000, foi detectada resistência primária em pacientes recentemente infectados na ordem de 32%, sendo 22,7% para ITRN e 13,6% para IP (SUCUPIRA *et al.*, 2004). Em Porto Alegre, analisando 108 amostras consecutivas de um Centro de Aconselhamento e Testagem, a prevalência de mutações de resistência primária foi de apenas 3% (RODRIGUES *et al.*, 2005). Numa análise com amostras das cinco regiões do País, em 2001, o Nordeste, representado pelos Estados do Ceará e Bahia, apresentou 4,8% de

resistência primária (BRINDEIRO *et al.*, 2003). Nessa publicação, não é possível interpretar os dados dos estados separadamente, porque foram analisados em conjunto. Em estudo utilizando um modelo transversal, proposto pela OMS para vigilância de resistência primária, em países de baixos recursos (MYATT; BENNETT, 2008), 8,1% das 210 amostras coletadas em seis capitais das cinco regiões do Brasil apresentavam resistência primária (INOCENCIO *et al.*; 2009). O Nordeste, representado pela cidade de Salvador, no Estado da Bahia, exibiu taxa inferior a 5%, que, pela metodologia, é considerada baixa. Entre 5 e 15% é intermediária e acima de 15% é alta (BENNETT *et al.*, 2008b). Em outro estudo, com outra metodologia e utilizando regras de resistência do painel da International Aids Society dos EUA (IAS-USA), com uma casuística majoritária do sul e sudeste do País, a taxa de resistência primária foi de 7% (SPRINZ *et al.*; 2009). No centro do Brasil, na cidade de Goiânia, utilizando lista de mutações posteriormente recomendada pela OMS, a prevalência foi de 10% (CARDOSO *et al.*, 2009) e no Norte, no estado de Tocantins, foi de 11,5% (CARVALHO *et al.*, 2011). Em recente levantamento Nacional, seguindo a mesma metodologia da OMS, 251 amostras das cinco regiões foram analisadas, com média de prevalência de 12,3%. A região Norte, com 8,5%; a região Nordeste, com amostras apenas do Estado da Bahia, com 19,1%; a região Centrooeste com 10,6%; a região Sudeste com 12,8% e a Sul com 9,0% (DE MORAES SOARES *et al.*, 2011).

Ante dados tão variados, questiona-se qual o percentual de prevalência primária que deva desencadear a realização de teste de resistência, considerando custo-benefício, numa determinada região. Algumas análises indicam que esse percentual seria de 5% (HECHT; GRANT, 2005) ou mesmo 1% (SAX *et al.*, 2005).

Não existem dados publicados de resistência primária do HIV, analisando índices do Estado do Ceará.

A maioria dos estudos demonstra que os índices de resistência primária são superiores na população recentemente infectada (LITTLE *et al.*, 2002; NOVAK *et al.*, 2005; DESCAMPS *et al.*, 2005; BOOTH *et al.*, 2007; SUCUPIRA *et al.*, 2007). Com vistas a discriminar o tempo de infecção, foram desenvolvidos testes sorológicos com o objetivo de estabelecer se a infecção é recente ou tardia. Um desses métodos é uma técnica sorológica de ensaio imunoenzimático com estratégia de testagem dupla (*detuned*), que discrimina infecções com tempo menor do que 180 dias (RAWAL *et al.*, 2003). Existe outro método, que é o teste

de avidéz de anticorpos, baseado em avidéz de guanidina (CHAWLA *et al.*, 2007). Mais recentemente, foi desenvolvida outra metodologia, que detecta níveis variáveis de IgG (quantitativo) por captura, para um antígeno sintético (peptídeo ramificado) da gp41, compatível com alguns subtipos do HIV-1, que lhe permite melhor performance, chamado de BED-CEIA, e que relaciona esses níveis de IgG anti-HIV com os níveis totais de IgG. Dependendo do *cut-off* utilizado, identifica infecções ocorridas até 153 dias da exposição ou até 160-191 dias, para valores de *cut-off* respectivos de 0,8 e 1,0 (DOBBS *et al.*, 2004; CALYPTE® BIOMEDICAL CORPORATION, 2005). Esse método passou a ser utilizado pelo CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*) dos Estados Unidos, associado às informações epidemiológicas, para estudos de incidência de infecção pelo HIV-1 (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2007). Ou seja, grosseiramente, quanto mais IgG específica anti-HIV, proporcionalmente aos níveis totais de IgG, mais antiga a infecção, ainda que possam ocorrer resultados falsos positivos. Além dos problemas técnicos de qualidade da amostra e da execução da reação, inespecíficos a este método, uma queda na produção de anticorpos (anticorpopogênese) em estádios finais da infecção e uso de antirretrovirais são fatores que podem falsear o resultado. Ou seja, indivíduos com testes positivos, não necessariamente têm infecção recente. Existem estudos mostrando que os falsos positivos no teste BED-CEIA podem superestimar o número de casos de infecção recente, existindo inclusive proposta de fator de ajuste, nas estimativas de incidência (MCDUGAL *et al.* 2006; HARGROVE, 2009; KIM *et al.*, 2010).

Além disso, mesmo para este teste, que tem menor variabilidade, há alguma diferença de sensibilidade intersubtipos (PAREKH *et al.*, 2011).

Considerando que não existem dados específicos sobre resistência primária do HIV-1 no Estado do Ceará, e que a prevalência dos subtipos pode se modificar com o passar do tempo, surgiu o interesse para realização deste estudo, buscando comparar, inclusive, possíveis variações entre os grupos de pacientes com infecção mais recente e mais tardia. A monitorização desses perfis, em determinada população, é ferramenta importante para detectar alterações no comportamento da epidemia, que pode favorecer não só a compreensão de sua evolução, como também mudanças de abordagem, mesmo no aspecto terapêutico.

2 HIPÓTESES

Baseado nos dados apresentados, especialmente nos que se referiram ao Brasil e à região Nordeste, considerou-se que a prevalência de resistência primária do HIV-1, no Ceará, estivesse entre 5 e 10%.

Devido ao “envelhecimento” da epidemia, houve mudanças em relação à prevalência dos subtipos do HIV-1, na população de pacientes infectados no Estado do Ceará.

São esperadas variações nos perfis de resistência primária e subtipos do HIV-1 entre os pacientes com infecção mais recente e mais antiga, no Estado do Ceará.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Conhecer a prevalência de resistência primária aos antirretrovirais do HIV-1 no Estado do Ceará e seus subtipos, analisando possíveis diferenças entre subgrupos de pacientes com infecção recente ou tardia.

3.2 Objetivos Específicos

Analisar a resistência primária do HIV-1 aos antirretrovirais e seus subtipos, no Estado do Ceará, durante o período de um ano, de amostras de pacientes virgens de tratamento.

Comparar os perfis de variabilidade genética e resistência primária entre os subgrupos de pacientes com infecção recente e infecção mais antiga, virgens de tratamento.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Delineamento do Estudo

Estudo transversal, com pacientes infectados pelo HIV e não expostos à terapia antirretroviral, no Estado do Ceará, no período de maio de 2008 a maio de 2009.

4.2 Preceitos Éticos

O projeto e seus adendos foram submetidos e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital São José de Doenças Infecciosas da Secretaria da Saúde do Ceará (ANEXOS A e C), respeitando as Diretrizes e Normas Regulamentares de Pesquisa em Seres Humanos estabelecidas na Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/MS e suas complementares. Os pacientes que concordaram em participar do estudo assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE (APÊNDICE B).

4.3 População do Estudo

A população-alvo para o estudo eram os pacientes com diagnóstico de infecção pelo HIV, segundo critério do Ministério da Saúde (BRASIL, 2003), de ambos os sexos e de qualquer idade, que não haviam recebido terapia antirretroviral, mesmo que apenas profilaticamente, e que estivessem iniciando ou já estivessem em acompanhamento em unidades de assistência e que potencialmente necessitassem de terapia antirretroviral.

O número de pacientes para amostra foi calculado com o emprego do programa Epi Info 6, baseado na média de novos pacientes submetidos a tratamento antirretroviral, nos três anos que antecederam ao período do estudo (2005, 2006 e 2007), que foi de 717 pacientes/ano (fonte: Coordenação de Assistência Farmacêutica da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará). Estimando-se uma prevalência atual de 10% de resistência primária, admitindo-se como menor valor aceitável 3%, com intervalo de confiança de 95%, chegou-se

ao número de 64 pacientes necessários para a amostra e programou-se o recrutamento de 100 pacientes para o estudo.

4.4 Critérios de Inclusão e Exclusão

4.4.1 Critérios de inclusão

- A) Diagnóstico de infecção pelo HIV, em qualquer idade, de ambos os sexos.
- B) Virgem de terapia antirretroviral.
- C) Concordância em participar do estudo, pela assinatura de TCLE.

4.4.2 Critérios de exclusão

- A) Ter iniciado terapia antirretroviral antes da coleta da genotipagem.
- B) Impossibilidade para realização do teste de genotipagem.

4.5 Local do Estudo – Recrutamento

Os pacientes foram identificados pelas equipes multiprofissionais, nos locais do estudo, que compreendiam as duas unidades ambulatoriais de maior demanda para assistência de pacientes infectados pelo HIV no Estado do Ceará. No Centro de Saúde José de Alencar – CEMJA - um serviço de assistência especializada (SAE) do município de Fortaleza - que iniciou suas atividades de assistência a pessoas vivendo com HIV/Aids em 2005 e que albergava, até dezembro de 2009, aproximadamente 1.000 pacientes em acompanhamento. O outro local de recrutamento foi o Hospital São José de Doenças Infecciosas – HSJ, que é da rede da Secretaria de Saúde do Estado e referência tanto no âmbito do ambulatorial, quanto hospitalar, para assistência dessa clientela. O HSJ foi o primeiro SAE a funcionar no Estado, em 1991 e, até dezembro de 2009, contava com aproximadamente 4.000 pacientes em acompanhamento ambulatorial. Os sujeitos, nesta unidade, foram recrutados tanto no ambulatório quanto nas unidades de internação (enfermarias).

4.6 Coleta de Dados e Critérios Clínicos

Os pacientes elegíveis foram identificados mediante um código numérico e por suas iniciais, para preenchimento de formulário, contendo dados epidemiológicos, clínicos e laboratoriais, se existentes. Após isso, eram colhidos aproximadamente 10 ml de sangue em tubo contendo EDTA, etiquetado apenas com o código e as letras iniciais dos nomes de cada paciente, antes do início da terapia antirretroviral, para realização dos exames do estudo, além da quantidade necessária para realização dos outros exames rotineiros.

Os dados clínicos, epidemiológicos e laboratoriais foram coletados diretamente com o paciente ou seu responsável, na entrevista da primeira consulta do estudo, após o recrutamento, por meio de anotações no formulário (APÊNDICE C), que foram preenchidas por quatro médicos assistentes infectologistas, além do autor, participantes do estudo. Esses dados foram atualizados por intermédio de consultas subsequentes aos prontuários (pelos menos duas para todos os pacientes e adicionais para todos os que necessitaram de complementação de informações). Os resultados das genotipagens foram entregues pelo laboratório diretamente ao autor. Após anotar-se nos formulários individuais, eram prontamente encaminhados aos prontuários dos pacientes acompanhados no HSJ e aos médicos assistentes do CEMJA, uma vez que nessa unidade os prontuários são eletrônicos. Naqueles pacientes que tinham vírus com perfil genotípico de resistência, uma sugestão terapêutica, considerando a possibilidade de tratamento antirretroviral, foi anexada ao resultado.

Foram adotadas quaisquer das seguintes manifestações clínicas, como critério para caracterizar o indivíduo, com > 18 anos, como sintomático: presença de sintomas de diarreia; perda de peso (>10% do peso habitual); candidíase oral e/ou esofágica; febre persistente; dermatite seborreica; dermatite eosinofílica; herpes zoster; tuberculose em qualquer sítio. Além desses, foram havidos como sintomáticos pacientes que apresentassem doença definidora de aids pela classificação do CDC - 1993 (CDC, 1992) ou ≥ 10 pontos pelo critério Rio de Janeiro/Caracas (BRASIL, 2003b).

Ainda para adultos, caracterizaram-se como diagnóstico de aids os seguintes critérios: 1) T-CD4+ < 200 cel/mm³ ou; 2) presença de doença definidora de aids pela

classificação CDC - 1993 (CDC, 1992) ou; 3); dez ou mais pontos pelo critério Rio de Janeiro/Caracas (BRASIL, 2003b).

Para indivíduos com < 18 anos, considerou-se como sintomáticos aqueles com evidência de imunodeficiência pelo diagnóstico de pelo menos duas condições/doenças indicativas de aids de caráter leve e/ou diagnóstico de pelo menos uma condição/doença indicativa de aids de caráter moderado ou grave e/ou contagem de linfócitos T-CD4+ menor do que o esperado para a idade (BRASIL, 2003b, 2007).

Como critério de necessidade de terapia antirretroviral imediata, foram adotadas as recomendações dos documentos nacionais de terapia antirretroviral para adultos e adolescentes e de pediatria, do Departamento de DST/Aids e Hepatites Virais, vigentes à época (BRASIL, 2007, 2008b).

4.7 Realização do Teste de Resistência Genotípica

As amostras foram encaminhadas ao Laboratório Central do Estado (LACEN), onde foram armazenadas a -80°C, até a realização do ensaio de resistência genotípica (extração de RNA, transcrição reversa, amplificação genômica, sequenciamento nucleotídico e edição das sequências) pelo TRUEGENE HIV-1 GENOTYPING KIT®, conforme recomendações do fabricante (Siemens Medical Solutions Diagnostics, Berkeley, CA, EUA). Depois de obtidas, as sequências foram agrupadas e colocadas no *software* (*Calibrated Population Resistance - CPR - Tool* – versão 4.3 beta – atualizada em 08 de julho de 2009) da Universidade de Stanford (hivdb.stanford.edu, acessada no dia 17 de julho de 2009), para identificação de mutações, de acordo com a lista de mutações para inquéritos de resistência primária da OMS (BENNETT *et al.*, 2009) e análise dos subtipos (APÊNDICE A). Além disso, as amostras foram também submetidas à análise do perfil mutacional pelo algoritmo de resistência RENAGENO, do Departamento Nacional de DST/Aids do Ministério da Saúde do Brasil (BRASIL, 2009b).

Alíquotas dessas amostras foram enviadas ao Laboratório de Retrovirologia da Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina, onde foram armazenadas a

-80°C, para repetições do exame de genotipagem, caso não tivessem gerado resultados no processamento no LACEN e para realização do ensaio do BED, para identificação de infecções recentes, como descrito no item 4.8, subsequente.

Uma alíquota de cada amostra foi armazenada para possíveis futuras análises de resistência primária do HIV-1 a novos e futuros antirretrovirais, de acordo com as normas estabelecidas pela Resolução 347, do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 2005), que normatiza a guarda de material biológico.

4.8 Realização do Teste BED

As amostras foram submetidas ao teste *Aware BED EIA HIV-1 Incidence Test®* (Calypte Biomedical Corporation, Portland-OR, USA), conforme recomendações do fabricante (DOBBS *et al.*, 2004; Calypte® Biomedical Corporation. Package Insert, 2005), cujos princípios gerais são apresentados na Figura 4.

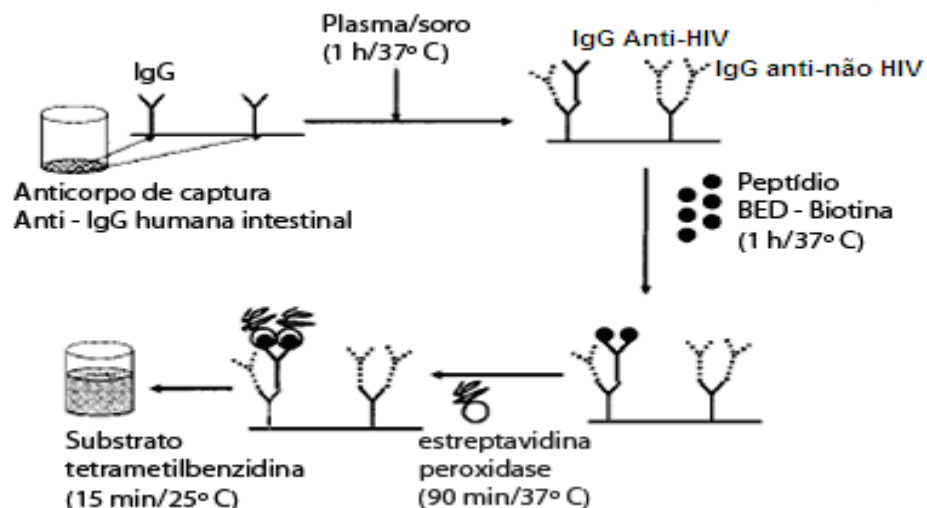


Figura 4- Esquema mostrando os vários passos do BED-CEIA. Anticorpo IgG anti-HIV é mostrado em linhas sólidas e anticorpo IgG anti-não HIV em linhas fragmentadas.

Fonte: Adaptado de DOBBS *et al.*, 2004.

As amostras foram diluídas na proporção 1:101, com 5µl da amostra em 500µl de diluente (*Sample Diluent*). Dessa diluição, foram retirados 100µl e colocadas numa placa de poços, juntamente com os controles negativos, calibradores, controles positivos altos e controles positivos baixos. Os poços já continham anticorpo anti-IgG. Na primeira reação, foram mantidos por 1h a 37°C, em estufa. Após isso, a placa foi lavada em solução de lavagem (água destilada e solução de lavagem na proporção de 9:1), por quatro ciclos. Após isso, foram adicionados aos poços 100µl da solução de peptídeo sintético (BED-peptídeo biotina), preparada em diluição na proporção de 1:1001 (12µl do peptídeo em 12ml do diluente “*buffer*”). A placa foi novamente incubada por 1h, a 37°C, em estufa. Após isso, novamente submetida a quatro ciclos de lavagem com a mesma solução descrita. No passo seguinte, foram adicionados aos poços 100µl da solução de conjugado estreptavidina-peroxidase, preparada em diluição na proporção de 1:1001 (12µl do conjugado em 12ml do diluente “*buffer*”). A placa foi outra vez incubada em estufa a 37°C, por 90 minutos. Novamente lavada por quatro vezes. Em seguida, foram colocados 100µl de tetrametilbenzidina (substrato-TMB) em cada poço e incubada a 25°C, por 15 minutos. Depois desse tempo, foram adicionados 100µl de solução de parada. A placa foi então colocada no espectrofotômetro, calibrado para 450nm de comprimento de onda, com referência entre 630 a 650nm. As amostras que apresentavam valores de *cut-off* abaixo de 1,2 foram submetidas a nova reação, dessa vez em triplicata, com as mesmas soluções, reagentes, diluição e leitura no espectrofotômetro, com a mesma calibração. As que apresentaram mediana (considerando o resultado triplo, para cada amostra) abaixo de 0,8 foram consideradas com o resultado compatível com infecção recente, conforme apresentado na Figura 5.

Por intermédio de um programa de computador, as leituras foram analisadas numa planilha e um gráfico de distribuição foi elaborado, para verificar a qualidade da reação.

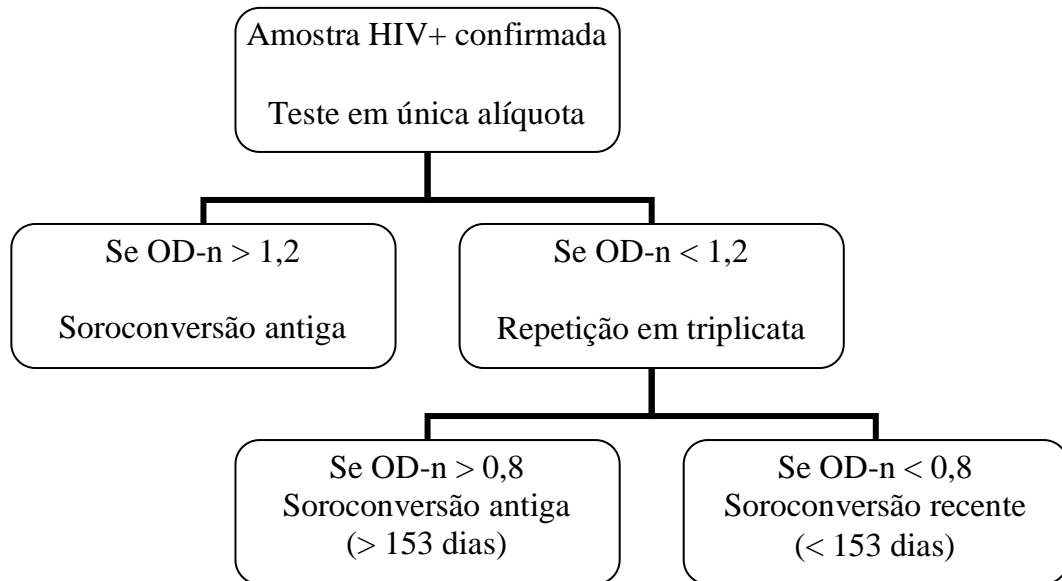


Figura 5- Algoritmo utilizado no teste BED, para detecção de infecção recente. OD-n= Densidade óptica normalizada (OD da amostra/OD do calibrador).

Os dados epidemiológicos e clínicos foram analisadas para cada uma dessas amostras consideradas positivas no BED, para validar o resultado.

4.9 Análise Estatística

Foi criado um banco de dados, alimentado por dois digitadores, em momentos diferentes, para perceber discrepâncias e consolidar as informações. Os dados foram, posteriormente, submetidos a análises estatísticas pelo SPSS (16.1). Para a comparação de duas subpopulações, em relação às médias das variáveis quantitativas, utilizou-se o Teste t-Student, para as variáveis com distribuição normal e, no caso da distribuição da variável não ser normal, aplicou-se o Teste de Mann-Whitney. A análise de normalidade das variáveis foi realizada pelo teste de Shapiro-Whilks. Para a análise de associação em tabelas de contingência, empregou-se o Teste Exato de Fisher. Valores de p igual ou menor que 0,05 foram considerados estatisticamente significantes.

5 RESULTADOS

Conforme detalhado na Figura 6, 100 pacientes foram recrutados, mas apenas 98 foram incluídos (um admitiu, posteriormente, já ter feito uso de TARC e o outro não tinha diagnóstico confirmado de infecção pelo HIV), no período de 15 de maio de 2008 a 15 de maio de 2009. Vinte e quatro pacientes foram excluídos, pelos seguintes motivos: 16 não colheram o exame de genotipagem até o encerramento do protocolo, apesar das tentativas por contato telefônico; seis iniciaram TARC antes da coleta da genotipagem, apesar das orientações contrárias oferecidas pelos investigadores; um foi excluído por ter tido sua amostra descartada, por erro de processamento no laboratório local, após insucesso na primeira tentativa de realização da genotipagem, e um foi excluído após insucesso na realização da genotipagem no laboratório local e no laboratório de referência.

Setenta e seis amostras foram processadas, para realização da genotipagem. Cinco tiveram má qualidade do sequenciamento e três dessas foram reprocessadas no laboratório de referência. No total, obtiveram-se dados de genotipagem de 74 pacientes e do teste BED de 72 pacientes, dos 98 incluídos.

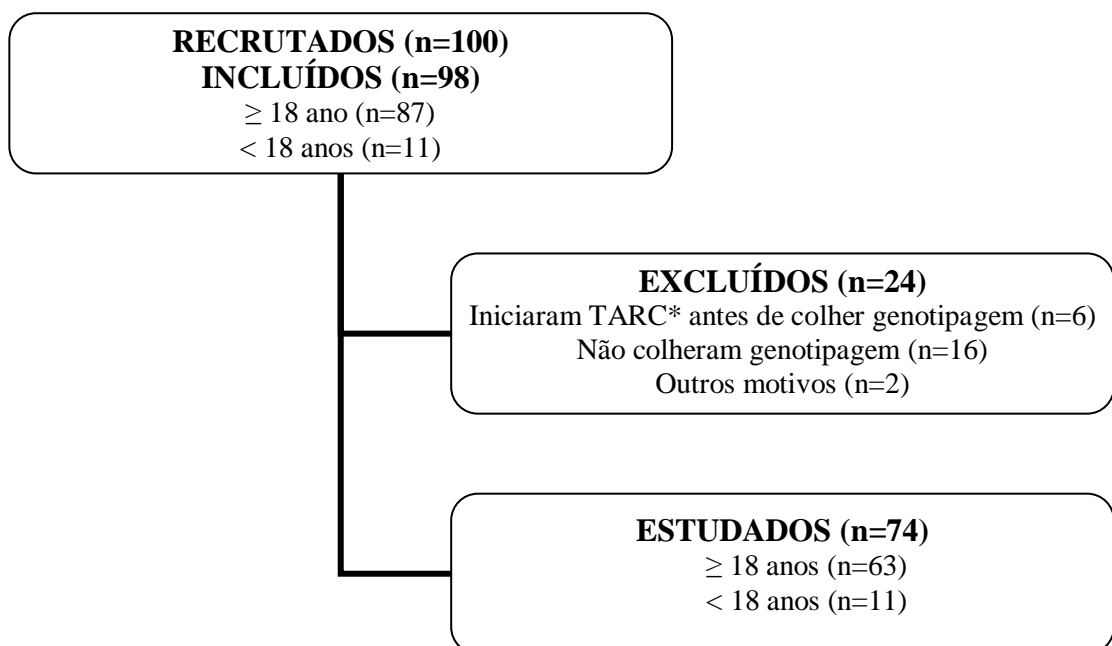


Figura 6- População de pacientes recrutados, incluídos, excluídos e estudados.

* Terapia Antirretroviral Combinada

Como se vê em detalhe nas Tabelas 1 e 2, que apresentam as características gerais da população de pacientes incluídos, houve predominância de indivíduos do sexo masculino, residentes na Capital, Fortaleza, onde acreditam que se infectaram, em maioria, predominantemente mediante relações sexuais. A idade mediana foi de 30,6 anos. O tempo decorrido entre o diagnóstico de infecção pelo HIV e a entrada no estudo teve mediana de quatro meses, tempo aproximado, também, para o intervalo mediano decorrido entre a entrada no estudo e a coleta da genotipagem. As contagens medianas do T-CD4⁺ e da carga viral basais foram de 453 cel/mm³ e 4,46 Log₁₀ cópias/ml, respectivamente.

Tabela 1- Dados demográficos, clínicos e epidemiológicos (variáveis categóricas) dos pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009.

Variáveis		N	%
Unidade de atendimento	CEMJA*	39	52,7
	HSJ#	35	47,3
	Total	74	100,0
Sexo	Masculino	56	75,7
	Feminino	18	24,3
	Total	74	100,0
Local de residência	Capital (Fortaleza)	62	83,8
	Cidade do Interior do Ceará	12	16,2
	Total	74	100,0
Morou em outra cidade nos últimos cinco anos	Não	59	79,7
	Sim	15	20,3
	Total	74	100,0
Outro lugar onde morou nos últimos cinco anos	Interior do Ceará	3	20,0
	Outro Estado do Nordeste	3	20,0
	Estado do Sudeste	3	20,0
	Outra cidade da Região Metropolitana	2	13,2
	Estado do Norte	1	6,7
	Estado do Sul	1	6,7
	Outro País	1	6,7
	Ignorado/Sem Informação	1	6,7
	Total	15	100,0
Acha que se infectou em Fortaleza	Não	14	18,9
	Sim	45	60,8
	Ignorado/Sem Informação	15	20,3
	Total	74	100,0
Outro lugar onde acha que se infectou	Interior do Ceará	7	50,0
	Outra cidade da Região Metropolitana	4	28,7
	Outro Estado do Nordeste	1	7,1
	Outro Estado do Sudeste	1	7,1
	Outro País	1	7,1
	Total	14	100,0
Forma de transmissão	Heterossexual	22	29,7
	HSH [§]	42	56,8
	Vertical	10	13,5
	Total	74	100,0
Estado Clínico	Assintomático	52	70,3
	Sintomático [†]	22	29,7
	Total	74	100,0
Diagnóstico de aids	Não	50	67,6
	Sim	24	32,4
	Total	74	100,0
Necessidade imediata de TARC [‡]	Não	37	50,0
	Sim	37	50,0
	Total	74	100,0
Iniciou TARC [‡] antes do resultado da genotipagem?	Não	47	63,5
	Sim	27	36,5
	Total	74	100,0
Trocou TARC [‡] após resultado da genotipagem?	Não	70	94,6
	Sim	4	5,4
	Total	74	100,0

*CEMJA=Centro de Especialidades Médicas José de Alencar; #HSJ=Hospital São José de Doenças Infecciosas; §HSH=Homem que faz sexo com homem; †Sintomático= presença de diarreia perda de peso (>10% do peso habitual), candidíase oral e/ou esofágica, febre persistente, dermatite seborreica, dermatite eosinofílica, herpes zoster, tuberculose em qualquer sítio, doença definidora de aids pela classificação do CDC - 1993 (CDC, 1992) ou ≥ 10 pontos pelo critério Rio de Janeiro/Caracas (BRASIL, 2003); ‡TARC=terapia antirretroviral combinada.

Tabela 2- Dados demográficos e laboratoriais (variáveis numéricas) dos pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009.

Variável	N	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo
Idade (anos) no início do estudo	74	0,8	23,3	30,6	38,9	67,0
Idade (anos) no início do estudo, para < 18	11	0,8	2,0	5,0	10,0	16,0
Idade (anos) no início do estudo, para ≥ 18	63	18,0	26,0	31,0	40,0	67,0
Tempo (mês) entre o diagnóstico HIV e entrada no estudo	70	0,3	2,0	4,0	17,0	141,5
Tempo (mês) entre o diagnóstico HIV e genotipagem	68	0,2	2,3	4,3	17,8	137,7
CD4* Basal (cel/mm ³)	73	12,0	218,5	453	660,5	2.964
CD4* Basal (cel/mm ³), para < 18 anos	11	12	400	960	1.650	2.964
CD4* Basal (%), para < 18 anos	09	1,0	10,3	20,2	26,0	33,8
CD4* Basal (cel/mm ³), para ≥ 18 anos	62	15	212	418,5	593	932
CV# Basal (Log ₁₀)	74	2,26	3,79	4,46	4,84	5,86
CV# Basal (Log ₁₀), para < 18 anos	11	3,43	4,06	4,46	5,67	5,90
CV# Basal (Log ₁₀), para ≥ 18 anos	63	2,26	3,77	4,41	4,80	5,70

*CD4= Linfócitos T-CD4+; #CV= Carga viral.

Entre as 74 amostras, 7 (9,5%) apresentavam mutações de resistência primária, pelo parâmetro da OMS e 23 (31,1%) exibiam mutações de resistência, pelo parâmetro da RENAGENO, conforme apresentado na Tabela 3.

Tabela 3- Mutações de resistência aos antirretrovirais (pelos parâmetros da Organização Mundial de Saúde – OMS, por meio do algoritmo da Universidade de Stanford e da Rede Nacional de Genotipagem - RENAGENO, mediante algoritmo próprio), das amostras de pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009.

Variáveis	N	%	
Resistência OMS	Ausência de mutação de resistência	67	90,5
	Presença de mutação de resistência	7	9,5
	Presença de mutação de resistência somente para ITRN	2	2,7
	Presença de mutação de resistência somente para ITRNN	2	2,7
	Presença de mutação de resistência somente para IP	2	2,7
	Presença de mutação de resistência para ITRN e IP	1	1,4
	Total	74	100,0
Resistência OMS	Presença de mutação de resistência para ITRN	3	4,1
	Presença de mutação de resistência para ITRNN	2	2,7
	Presença de mutação de resistência para IP	3	4,1
Resistência RENAGENO	Ausência de mutação de resistência	51	68,9
	Presença de mutação de resistência	23	31,1
	Presença de mutação de resistência somente para ITRN	2	2,7
	Presença de mutação de resistência somente para ITRNN	2	2,7
	Presença de mutação de resistência somente para IP	15	20,3
	Presença de mutação de resistência para ITRN e IP	1	1,4
	Presença de mutação de resistência para ITRNN e IP	2	2,7
	Presença de mutação de resistência para ITRN, ITRNN e IP	1	1,4
Total	74	100,0	
Resistência RENAGENO	Presença de mutação de resistência para ITRN	4	5,4
	Presença de mutação de resistência para ITRNN	5	6,8
	Presença de mutação de resistência para IP	19	25,7

ITRN=Inibidor de transcriptase reversa análogo de nucleosídeo; ITRNN=Inibidor de transcriptase reversa não análogo de nucleosídeo; IP=inibidor de protease.

Apenas uma amostra apresentava mutações de resistência, pelos critérios da OMS, a duas classes de antirretrovirais, como pode ser visto na Tabela 4.

Tabela 4– Lista das mutações detectadas, segundo critérios da Organização Mundial de Saúde – OMS, das amostras de pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009.

Código da Amostra	Mutações para ITRN	Mutações para ITRNN	Mutações para IP
16CE081007	M41L, D67N, T215D		V32I, M46I, I54V, V82T, L90M
16CE081022R		K101E	
16CE081050			M46I
16CE081058		K103N	
16CE091075R	D67N, K219Q		
16CE091083	M41L		
16CE091070R			M46I

ITRN=Inibidor de transcriptase reversa análogo de nucleosídeo; ITRNN=Inibidor de transcriptase reversa não análogo de nucleosídeo; IP=inibidor de protease.

A prevalência dos subtipos identificados, pelo seguimento sequenciado para análise do perfil mutacional na transcriptase reversa e protease, de acordo com as análises da RENAGENO e da Universidade de Stanford, revelou larga maioria para o subtipo B, seguido do subtipo F1 ou F, conforme o critério de análise (RENAGENO e Stanford) e pelo subtipo C, como apresentada na Tabela 5.

Tabela 5– Prevalência de subtipos (pelos parâmetros do algoritmo da Universidade de Stanford e da Rede Nacional de Genotipagem - RENAGENO, mediante algoritmo próprio), das amostras de pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009.

Variáveis		N	%
Subtipo Stanford	B	63	85,1
	F	6	8,1
	C	4	5,4
	CRF_28	1	1,4
	Total	74	100,0
Subtipo RENAGENO	B	63	85,1
	F1	5	6,8
	C	4	5,4
	BF1	2	2,7
	Total	74	100,0

Os resultados do teste BED, para definição de infecção recente ou tardia, demonstraram positividade para sete amostras, como detalhado nas Tabelas 6. A Figura 7 é o controle de qualidade da reação.

Tabela 6– Resultado Final do Teste BED, para as 72 amostras testadas, de pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, Ceará – maio de 2008 a maio de 2009.

	Código da Amostra	OD-n Inicial	Resultado Inicial	Mediana do valor OD-n confirmatório “Teste Confirmatório”	OD-n Final	Resultado Final
1	6	3,229	Tardia	-	3,229	Tardia
2	7	0,071	Confirmar	0,066	0,066	Recente
3	8	0,431	Confirmar	0,371	0,371	Recente
4	9	0,999	Confirmar	0,979	0,979	Tardia
5	10	1,868	Tardia	-	1,868	Tardia
6	11	1,743	Tardia	-	1,743	Tardia
7	12	1,595	Tardia	-	1,595	Tardia
8	13	1,817	Tardia	-	1,817	Tardia
9	14	2,120	Tardia	-	2,120	Tardia
10	15	2,115	Tardia	-	2,115	Tardia
11	16	1,167	Confirmar	1,115	1,115	Tardia
12	17	2,065	Tardia	-	2,065	Tardia
13	20	0,867	Confirmar	0,887	0,887	Tardia
14	21	1,956	Tardia	-	1,956	Tardia
15	22	0,281	Confirmar	0,282	0,282	Recente
16	23	1,168	Confirmar	1,093	1,093	Tardia
17	24	1,328	Tardia	-	1,328	Tardia
18	25	2,576	Tardia	-	2,576	Tardia
19	26	1,722	Tardia	-	1,722	Tardia
20	27	2,031	Tardia	-	2,031	Tardia
21	28	1,122	Confirmar	1,101	1,101	Tardia
22	29	2,117	Tardia	-	2,117	Tardia
23	30	1,194	Confirmar	1,208	1,208	Tardia
24	32	2,412	Tardia	-	2,412	Tardia
25	33	0,863	Confirmar	0,834	0,834	Tardia
26	37	2,515	Tardia	-	2,515	Tardia
27	38	2,132	Tardia	-	2,132	Tardia
28	39	1,456	Tardia	-	1,456	Tardia
29	42	3,242	Tardia	-	3,242	Tardia
30	43	2,576	Tardia	-	2,576	Tardia
31	44	3,078	Tardia	-	3,078	Tardia
32	45	2,482	Tardia	-	2,482	Tardia
33	46	2,308	Tardia	-	2,308	Tardia
34	47	1,654	Tardia	-	1,654	Tardia
35	49	2,808	Tardia	-	2,808	Tardia
36	50	1,289	Tardia	-	1,289	Tardia
37	53	2,316	Tardia	-	2,316	Tardia
38	54	2,189	Tardia	-	2,189	Tardia
39	55	3,046	Tardia	-	3,046	Tardia
40	57	2,380	Tardia	-	2,380	Tardia
41	58	0,777	Confirmar	0,575	0,575	Recente
42	61	1,242	Tardia	-	1,242	Tardia
42	61	1,242	Tardia	-	1,242	Tardia
43	62	2,035	Tardia	-	2,035	Tardia
44	63	2,476	Tardia	-	2,476	Tardia
45	64	3,084	Tardia	-	3,084	Tardia
46	65	1,105	Confirmar	1,013	1,013	Tardia
47	67	1,757	Tardia	-	1,757	Tardia
48	69	1,378	Tardia	-	1,378	Tardia
49	73	2,138	Tardia	-	2,138	Tardia
50	75	1,796	Tardia	-	1,796	Tardia
51	77	1,942	Tardia	-	1,942	Tardia
52	79	1,598	Tardia	-	1,598	Tardia
53	81	2,208	Tardia	-	2,208	Tardia
54	83	2,762	Tardia	-	2,762	Tardia
55	85	1,726	Tardia	-	1,726	Tardia
56	90	2,429	Tardia	-	2,429	Tardia
57	101	2,996	Tardia	-	2,996	Tardia
58	102	1,274	Tardia	-	1,274	Tardia
59	103	2,704	Tardia	-	2,704	Tardia
60	104	2,110	Tardia	-	2,110	Tardia
61	105	0,595	Confirmar	0,740	0,740	Recente
62	106	0,492	Confirmar	0,422	0,422	Recente
63	107	0,974	Confirmar	0,924	0,924	Tardia
64	108	0,119	Confirmar	0,115	0,115	Recente
65	109	1,169	Confirmar	1,070	1,070	Tardia
66	110	1,526	Tardia	-	1,526	Tardia
67	111	1,830	Tardia	-	1,830	Tardia
68	112	2,650	Tardia	-	2,650	Tardia
69	113	1,190	Confirmar	1,251	1,251	Tardia
70	114	1,108	Confirmar	1,084	1,084	Tardia
71	115	2,915	Tardia	-	2,915	Tardia
72	116	2,736	Tardia	-	2,736	Tardia

OD=Densidade Óptica da Amostra, OD-n=Densidade Óptica Normalizada (Densidade Óptica da Amostras/Densidade Óptica do Calibrador).

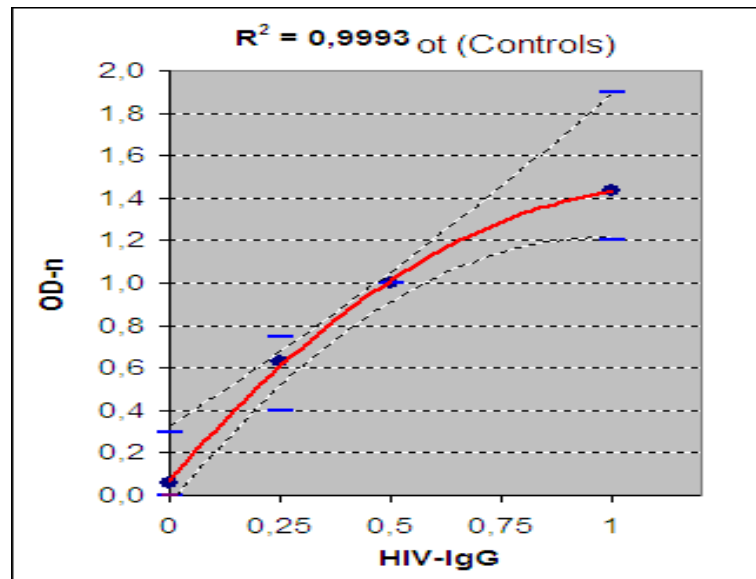


Figura 7- Gráfico com o controle da reação do teste do BED. Níveis relativos de IgG Anti-HIV (em relação aos controles e calibrador).

A Tabela 7 apresenta o resultado consolidado do tempo de infecção pelo resultado do Teste BED, considerando os dados clínicos e epidemiológicos, que reduz de 7(9,7%) para 5(6,9%) o número de amostras com infecção recente pelo HIV-1.

Tabela 7– Resultado consolidado do tempo de infecção, considerando o resultado do Teste BED e os dados clínicos e epidemiológicos, de pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009.

Variáveis		N	%
Teste BED	Negativo	65	90,3
	Positivo	7	9,7
	Total	72	100,0
Teste BED, descartando os casos que tinham tempo de diagnóstico conhecido superior a 153 dias	Negativo	65	90,3
	Positivo	5	6,9
	Falso-Positivo	2	2,8
	Total	72	100,0

Os dois pacientes descartados (falsopositivos), por terem tempo de diagnóstico superior ao tempo de infecção estabelecido pelo teste, para os exames considerados positivos, tratavam-se de crianças infectadas por transmissão vertical, que tinham idade de dez e cinco anos e diagnóstico de infecção pelo HIV há 58 e 40 meses, respectivamente. Os cinco pacientes com resultados positivos e com critérios epidemiológicos compatíveis com infecção recente eram adultos do sexo masculino. Quatro desses homens tiveram como forma de transmissão relação sexual com homens (HSH) e albergavam vírus do subtipo B; o outro teve forma de transmissão heterossexual e albergava vírus do subtipo F1.

Os dois pacientes que não tiveram suas amostras testadas pelo BED tratavam-se dos códigos 70 e 117, que eram um adulto (masculino) e uma criança (feminino) e que tinham diagnóstico de infecção pelo HIV há trinta meses e há dois meses, respectivamente. A criança tinha dois anos de vida e foi infectada por transmissão vertical. Tratavam-se, portanto, de infecções tardias, pelos critérios clinicoepidemiológicos. O homem adulto albergava vírus com mutação de resistência primária.

Na tabela 8, são apresentados dados comparativos entre T-CD4+ e carga viral basais entre as subpopulações de pacientes com infecção recente e infecção tardia, excluindo os menores de 18 anos.

Tabela 8– Análise da contagem de T-CD4+ e carga viral basais, entre aqueles com infecção recente, considerando o resultado do Teste BED e os dados clínicos e epidemiológicos, e aqueles com infecção tardia, excluindo os menores de 18 anos, de pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009

Variáveis	Infecção Recente	Infecção Tardia	<i>p</i>
Mediana CD4* basal em cel/mm ³ (variação)	83 (15-498)	433(17-932)	0,064
Mediana de CV [#] basal em Log ₁₀ (variação)	4,45 (3,93-5,04)	4,39 (2,26-5,7)	0,6

*CD4= Linfócitos T-CD4+; #CV= Carga viral.

Na tabela 9, são apresentados dados comparativos entre algumas variáveis categóricas entre as subpopulações de pacientes com infecção recente e infecção tardia, incluindo pacientes de todas as idades.

Tabela 9– Análise de T-CD4+ e carga viral basais, entre aqueles com infecção recente, considerando o resultado do Teste BED e os dados clínicos e epidemiológicos, e aqueles com infecção tardia, incluindo todos os participantes, em pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009

Variáveis	Infecção Recente (N acometidos/N total)	Infecção Tardia (N acometidos/N total)	<i>p</i>
Sintomáticos	2/5	20/69	0,47
Diagnóstico de aids	3/5	20/69	0,17
Necessidade Imediata de TARC	3/5	33/69	0,47

[‡]TARC=Terapia antirretroviral combinada.

Ainda sobre o tempo de infecção, dos cinco pacientes com infecção recente (BED-positivo e confirmação com dados clinicoepidemiológicos), três albergavam vírus com mutação de resistência primária, pelos critérios da OMS, contra quatro de 69 com infecção tardia, que também apresentavam mutações de resistência pelos mesmos critérios. Essa análise demonstrou significância estatística para essa correlação (Teste Exato de Fisher $p=0,005$, com IC95% de 1,9-334,7). Pelos parâmetros da RENAGENO, dos cinco pacientes com infecção recente (BED-positivo e confirmação com dados clinicoepidemiológicos), quatro tinham vírus com mutação de resistência primária. Por outro lado, 19 de 69 com infecção tardia também apresentavam mutações de resistência pelos mesmos critérios (Teste Exato de Fisher $p=0,03$, com IC95% de 0,93-528,4).

O subtipo F1 ou F, conforme análise da RENAGENO ou da Universidade de Stanford, apresentou, aproximadamente, 43% de resistência primária, com significância estatística, quando comparado aos outros subtipos, como apresentado na Tabela 10.

Tabela 10–Análise entre o subtipo do HIV-1 e resistência (pelos parâmetros da Organização Mundial de Saúde – OMS, por meio do algoritmo da Universidade de Stanford e da Rede Nacional de Genotipagem - RENAGENO, mediante algoritmo próprio), das amostras de pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009.

Subtipos	Resistência OMS				Total		<i>p</i>
	Não resistente		Resistente		N	%	
	N	%	N	%			
Subtipo Stanford							
B	59	88,1	4	57,1	63	85,1	0,062
C	4	6,0	0	0,0	4	5,4	1,000
CRF_28	1	1,5	0	0,0	1	1,4	1,000
F	3	4,5	3	42,9	6	8,1	0,009
							(IC95%=1,5-152,8)
Total	67	100,0	7	100,0	74	100,0	-
Subtipo RENAGENO							
B	59	88,1	4	57,1	63	85,1	0,062
BF1	2	3,0	0	0,0	2	2,7	1,000
C	4	6,0	0	0,0	4	5,4	1,000
F1	2	3,0	3	42,9	5	6,8	0,005
							(IC95%=3,2-34,0)
Total	67	100,0	7	100,0	74	100,0	-
Subtipos	Resistência RENAGENO				Total		<i>p</i>
	Não resistente		Resistente		N	%	
	N	%	N	%			
Subtipo Stanford							
B	43	84,3	20	87,0	63	85,1	1,000
C	4	7,8	0	0,0	4	5,4	0,303
CRF_28	1	2,0	0	0,0	1	1,4	1,000
F	3	5,9	3	13,0	6	8,1	0,367
Total	51	100,0	23	100,0	74	100,0	-
Subtipo RENAGENO							
B	43	84,3	20	87,0	63	85,1	1,000
BF1	2	3,9	0	0,0	2	2,7	1,000
C	4	7,8	0	0,0	4	5,44	0,303
F1	2	3,9	3	13,0	5	6,8	0,170
Total	51	100,0	23	100,0	74	100,0	-

As análises buscando correlação entre resistência primária e diversas variáveis (local de moradia, ter morado em outra cidade, local provável onde ocorreu a infecção, sexo, forma de transmissão, idade, valores de T-CD4+ e carga viral basais, tempo entre o diagnóstico e realização da genotipagem) são apresentadas nas Tabelas 11 a 18. Todos os dados referentes a resistência e subtipo do HIV-1 serão sempre apresentados pelos resultados da OMS/Universidade de Stanford e da RENAGENO.

Tabela 11–Análise entre local de moradia e resistência do HIV-1 (pelos parâmetros da Organização Mundial de Saúde - OMS, por meio do algoritmo da Universidade de Stanford e da Rede Nacional de Genotipagem - RENAGENO, mediante algoritmo próprio), de pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009.

Subtipos	Moradia				Total		<i>p</i>
	Capital		Interior		N	%	
	N	%	N	%			
Total	62	100,0	12	100,0	74	100,0	
Resistência OMS							
Não resistente	55	88,7	12	100,0	67	90,5	0,590
Resistente	7	11,3	0	0,0	7	9,5	
Resistência RENAGENO							
Não resistente	44	71,0	7	58,3	51	68,9	0,498
Resistente	18	29,0	5	41,7	23	31,1	

Tabela 12–Análise entre ter morado em outra cidade e resistência do HIV-1 (pelos parâmetros da Organização Mundial de Saúde - OMS, por meio do algoritmo da Universidade de Stanford e da Rede Nacional de Genotipagem - RENAGENO, mediante algoritmo próprio), de pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009.

Total	Morou em outra cidade				Total		<i>p</i>
	Não		Sim		N	%	
	N	%	N	%			
	59	100,0	15	100,0	74	100,0	
Resistência OMS							
Não resistente	53	89,8	14	93,3	67	90,5	1,000
Resistente	6	10,2	1	6,7	7	9,5	
Resistência RENAGENO							
Não resistente	41	69,5	10	66,7	51	68,9	1,000
Resistente	18	30,5	5	33,3	23	31,1	

Tabela 13–Análise entre o local onde provavelmente ocorreu a transmissão (Fortaleza X Outra cidade/Ignorado) e resistência do HIV-1 (pelos parâmetros da Organização Mundial de Saúde – OMS, por meio do algoritmo da Universidade de Stanford e da Rede Nacional de Genotipagem - RENAGENO, mediante algoritmo próprio), de pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009.

Total	Cidade onde o paciente acha que se infectou				Total		<i>p</i>
	Outra Cidade/Ignorado		Fortaleza		N	%	
	N	%	N	%			
	29	100,0	45	100,0	74	100,0	
Resistência OMS							
Não resistente	28	96,6	39	86,7	67	90,5	0,235
Resistente	1	3,4	6	13,3	7	9,5	
Resistência RENAGENO							
Não resistente	18	62,1	33	73,3	51	68,9	0,318
Resistente	11	37,9	12	26,7	23	31,1	

Tabela 14–Análise entre o sexo e resistência do HIV-1 (pelos parâmetros da Organização Mundial de Saúde – OMS, por meio do algoritmo da Universidade de Stanford e da Rede Nacional de Genotipagem - RENAGENO, mediante algoritmo próprio), de pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009.

Total	Sexo				Total		<i>p</i>
	Masculino		Feminino		N	%	
	N	%	N	%			
	56	100,0	18	100,0	74	100,0	
Resistência OMS							
Não resistente	49	87,5	18	100,0	67	90,5	0,184
Resistente	7	12,5	0	0,0	7	9,5	
Resistência RENAGENO							
Não resistente	36	64,3	15	83,3	51	68,9	0,155
Resistente	20	35,7	3	16,7	23	31,1	

Tabela 15–Análise entre a provável forma de transmissão, pelo comportamento sexual (Heterossexual e Transmissão Vertical X Homem que faz sexo com homem - HSH) e resistência do HIV-1 (pelos parâmetros da Organização Mundial de Saúde – OMS, por meio do algoritmo da Universidade de Stanford e da Rede Nacional de Genotipagem - RENAGENO, mediante algoritmo próprio), de pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009.

Total	Heterossexual e Transmissão Vertical		HSH		Total		P
	N	%	N	%	N	%	
	32	100,0	42	100,0	74	100,0	
Resistência OMS							
Não resistente	30	93,8	37	88,1	67	90,5	0,691
Resistente	2	6,3	5	11,9	7	9,5	
Resistência RENAGENO							
Não resistente	24	75,0	27	64,3	51	68,9	0,448
Resistente	8	25,0	15	35,7	23	31,1	

Tabela 16–Análise entre a idade (anos) e resistência do HIV-1 (pelos parâmetros da Organização Mundial de Saúde – OMS, por meio do algoritmo da Universidade de Stanford e da Rede Nacional de Genotipagem - RENAGENO, mediante algoritmo próprio), de pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009.

	N	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo
Idade (anos) no diagnóstico						
Resistência OMS						
Não resistente	67	0,15	22,35	28,92	39,04	67,59
Resistente	7	18,86	27,33	30,86	40,38	53,12
Resistência RENAGENO						
Não resistente	51	0,15	21,24	29,97	39,33	67,59
Resistente	23	1,96	23,16	28,79	38,74	53,12

Tabela 17–Análise entre os Linfócitos T-CD4+ e cargas virais basais e resistência do HIV-1 (pelos parâmetros da Organização Mundial de Saúde – OMS, por meio do algoritmo da Universidade de Stanford e da Rede Nacional de Genotipagem - RENAGENO, mediante algoritmo próprio), pelo Teste de Mann-Whitney, de pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009.

Resistente para OMS	N	Mínimo	1º quartil	Mediana	3º quartil	Máximo	p
CD4 Basal							
Não resistente	66	12	247	479	678	2.964	0,069
Resistente	7	42	71	212	471	545	
CD4 Basal excluindo idade < 18 anos							
Não resistente	55	15	229	433	631	932	0,088
Resistente	7	42	71	212	471	545	
CV Basal							
Não resistente	67	2,26	3,77	4,43	4,82	5,9	0,75
Resistente	7	3,73	3,93	4,46	5,04	5,07	
CV Basal excluindo idade < 18 anos							
Não resistente	55	2,26	3,77	4,39	4,76	5,07	0,61
Resistente	7	4,12	4,12	5,04	5,07	5,7	
Resistente para RENAGENO	N	Mínimo	1º quartil	Mediana	3º quartil	Máximo	p
CD4 Basal							
Não resistente	50	12	229	480	678	2.964	0,32
Resistente	23	15	212	408	585	960	
CD4 Basal excluindo idade < 18 anos							
Não resistente	41	17	229	433	652	932	0,237
Resistente	21	15	212	406	496	715	
CV Basal							
Não resistente	51	2,26	3,77	4,41	4,91	5,9	0,696
Resistente	23	3,19	3,93	4,46	4,8	5,7	
CV Basal excluindo idade < 18 anos							
Não resistente	42	2,26	3,77	4,29	4,75	5,7	0,615
Resistente	21	3,19	3,93	4,46	4,8	5,7	

*CD4= Linfócitos T-CD4+; #CV= Carga viral

Tabela 18–Análise entre o tempo decorrido (maior ou menor que 12 meses) entre o diagnóstico de HIV e realização de genotipagem e resistência do HIV-1 (pelos parâmetros da Organização Mundial de Saúde – OMS, por meio do algoritmo da Universidade de Stanford e da Rede Nacional de Genotipagem - RENAGENO, mediante algoritmo próprio), de pacientes infectados pelo HIV-1 e sem exposição a antirretrovirais, no Ceará – maio de 2008 a maio de 2009.

Total	Tempo entre diagnóstico de HIV e genotipagem				Total		<i>p</i>
	≤ 12 meses		> 12 meses		N	%	
	N	%	N	%			
	44	100,0	24	100,0	68	100,0	
Resistência OMS							
Não resistente	38	86,4	23	95,8	61	89,7	0,407
Resistente	6	13,6	1	4,2	7	10,3	
Resistência RENAGENO							
Não resistente	28	63,6	18	75,0	46	67,6	0,421
Resistente	16	36,4	6	25,0	22	32,4	

Todos os pacientes que albergavam vírus com resistência primária, pelo critério da OMS, foram recrutados pela Unidade CEMJA ($p=0,01$ – IC95% indefinido). Entre os pacientes com vírus com resistência primária, conforme análise da RENAGENO, oito eram do HSJ e 14 do CEMJA ($p>0,05$).

6 DISCUSSÃO

A maior proporção de pacientes da Capital (83,8%), representada na casuística, reflete a distribuição natural da epidemia no Estado. O Ceará, apesar de ter 94% dos seus municípios com casos notificados, 74,6% de todos os casos ainda são de pacientes residentes em Fortaleza e região metropolitana. A proporção homem/mulher é de 2:1, próxima da encontrada na casuística, que foi de 3:1.

A proporção de indivíduos menores de 18 anos da casuística (14,9%), entretanto, não reflete a realidade da epidemia no Estado, que tem uma proporção de apenas 4,1% dos casos, desde o seu início (CEARÁ, 2009). Essa distorção tem como causa principal o fato de essa faixa etária ser a única com garantia de realização do exame de genotipagem antes da terapia inicial, por meio do Departamento Nacional de DST/Aids e Hepatites Virais, do Ministério da Saúde, que favoreceu o recrutamento nos serviços participantes do estudo, uma vez que havia uma demanda espontânea de solicitações.

A mediana de tempo entre o diagnóstico da infecção pelo HIV e a entrada no estudo, apesar de grande variação (de dez dias a quase 12 anos), foi relativamente curta (quatro meses). Da mesma forma, considerou-se o tempo entre o diagnóstico da infecção e a coleta da genotipagem, que foi de apenas 4,3 meses, mas com variação de seis dias a 11 anos e cinco meses. Algumas crianças colheram o exame de genotipagem antes de serem recrutadas para o estudo, daí por que o tempo mínimo entre o diagnóstico e a coleta da genotipagem foi de seis dias e entre o diagnóstico e a entrada no protocolo foi de dez dias.

A maioria era assintomática e com mediana de T-CD4+ elevada (tanto adultos quanto crianças) ainda que grande variação quanto a este marcador imunológico tenha sido evidenciada. Os maiores valores encontrados na população menor de 18 anos são fisiológicos (SHEARER *et al.*, 2003). Apesar dessas medianas de T-CD4+ elevadas, 35 pacientes (47,3%) necessitavam iniciar terapia, por apresentarem sintomas definidores de aids ou por terem T-CD4+ inferior a 350 cel/mm³; semelhante aos números nacionais, apontando que, até 2006, 41,6% dos pacientes tiveram diagnóstico em fase mais avançada da doença, por apresentarem T-CD4+ abaixo de 200 cel/mm³ ou por terem aids manifesta (BRASIL, 2008c).

Os valores de carga viral também mostraram grande variação, mas com uma mediana moderada, para pacientes não tratados. Os valores maiores nos indivíduos menores de 18 anos, refletem altas cargas virais das crianças, o que é um fenômeno bem conhecido, especialmente em menores de um ano (PALUMBO *et al.*, 1998).

O percentual de 9,5% de resistência primária encontrado é bem superior ao dado de outro estudo nacional, que foi inferior a 5% para a região, mas que utilizou outra metodologia de amostragem (INOCENCIO *et al.*, 2009). Por outro lado, se aproxima de resultado recente, que evidenciou prevalência geral de 12,3%; com 19,1% para o Nordeste, representado com amostras unicamente do Estado da Bahia (DE MORAES SOARES *et al.*, 2011). Conforme outras publicações (HECHT; GRANT, 2005; SAX *et al.*, 2005), esses percentuais pode significar a necessidade de rever as recomendações nacionais, no intuito de preconizar a realização de teste de genotipagem para todo paciente, antes do início da terapia, considerando que seria custo-efetivo. Assim se posicionam os principais guias de tratamento antirretroviral de países e comunidades desenvolvidas (DHHS, 2009; THOMPSON *et al.*, 2010; GAZZARD, 2008; GESIDA, 2009; EACS, 2009). A OMS sugere, para países em desenvolvimento, que organizem uma rede técnica, incluindo laboratórios, que realizem estudos-sentinela, para monitorar a resistência primária do HIV (BENNETT *et al.*, 2008).

Dois pacientes apresentavam vírus com mutações para ITRNN (K101E e K103N), sem outras mutações associadas. A M46I, na protease, esteve presente nos três pacientes com vírus com resistência a IP. Dois deles apresentavam essa mutação isolada. O outro apresentava com outras quatro mutações para IP (V32I, I54V, V82T e L90M) e mais três mutações para ITRN (M41L, D67N e T215D). A T215D é considerada uma mutação “revertente”, como fase intermediária de uma reversão para a forma selvagem (215T). Sua presença indica que o vírus inicialmente apresentava a mutação T215Y ou T215F, que confere resistência ao AZT e que pode reaparecer rapidamente se a droga for prescrita ao paciente (VIOLIN *et al.*, 2004). Outros dois pacientes apresentavam vírus somente com mutações para ITRN. Um exibia a D67N e K219Q e ou outro apenas a M41L. As mutações encontradas na PR e na TR para os ITRN correspondem ao mais recente achado nacional, que encontrou M184V/M e K103N na TR de uma amostra do Nordeste (Salvador-BA) e M41L, T69D, T215E, T215C/S, K219R, K103N e K238T, na TR e M46I, V82A e L90M, na PR, em amostras das outras regiões do País (INOCÊNCIO *et al.*, 2009).

Uma das amostras exprimia resistência a mais de uma classe de antirretrovirais, especificamente aos ITRN e IP. Esse achado não havia ainda sido descrito no Nordeste, mesmo nos estudos que utilizaram parâmetros menos rigorosos para considerar resistência transmitida na Região (BRINDEIRO *et al.*, 2003; MEDEIROS *et al.*, 2006; INOCÊNCIO *et al.*, 2009), exceto num estudo com amostras do Estado da Bahia, realizado antes do estabelecimento, pela OMS, de critérios mais restritos para considerar mutações relacionadas à resistência primária (PEDROSO *et al.*, 2007). Na cidade de São Paulo, foram identificadas três amostras com resistência a duas classes de antirretrovirais, de um total de 123 estudadas, entre o período de 2002 e 2006, com metodologia já alinhada ao padrão restritivo sugerido pela OMS (GONSALEZ *et al.*, 2007).

Considerando esse perfil menos exuberante de resistência, apenas a uma classe de antirretrovirais, encontrado na maioria dos estudos e na maioria da casuística desses ensaios, é importante avaliar que papel essas mutações de resistência primária podem ter em relação ao potencial de fragilizar a atividade antirretroviral de um esquema inicial, que se baseia na associação de três antirretrovirais, de duas classes diferentes. Alguns estudos retrospectivos e prospectivos demonstraram maior risco de falha terapêutica, mesmo em se tratando de um esquema potente, conforme comentado, utilizado nos pacientes que demonstravam vírus com resistência primária (LITTLE *et al.*, 2002; KURITZKES *et al.*, 2008; PEUCHANT *et al.*, 2008; JACKOBSEN *et al.*, 2010). Reforço a essas evidências é dado pelos estudos que analisaram subpopulações virais não detectadas no teste genotípico convencional (JOHNSON *et al.*, 2008; SIMEN *et al.*, 2009). Contrariamente, outros dados publicados negam essas evidências (CASCADE, 2006; BANNISTER *et al.*, 2008). Em um estudo, que não mostrou diferenças entre os resultados da terapia entre os dois grupos de pacientes, a informação da genotipagem foi utilizada para melhor escolher o esquema antirretroviral no grupo de sujeitos que albergavam vírus com resistência, valorizando mais a ferramenta do teste do que contrariando a hipótese do impacto da resistência primária na resposta terapêutica (OETTE *et al.*, 2006). O desenho desse último estudo expõe a barreira que dificultará a realização de novos ensaios testando essa hipótese, que é a dificuldade ética de submeter pacientes a terapia antirretroviral inicial com um esquema que demonstre possibilidade de resistência, ainda que de apenas um medicamento. Além disso, no princípio da utilização de combinação de medicamentos antirretrovirais, no intuito de compor esquemas mais potentes, foi testada a intervenção com dois medicamentos *versus* três fármacos, em pacientes virgens de terapia. Sob esse prisma, vários estudos demonstraram superioridade na capacidade de suprimir a

viremia e de garantir por tempo mais durável esse benefício, além da superioridade na qualidade de vida (CAMERON *et al.*, 1998; MONTANER *et al.*, 1998; REIVICKI *et al.*, 1999). Ou seja, ainda que a resistência primária esteja presente para apenas um medicamento do esquema antirretroviral, há indícios de que isso o fragilize, principalmente se houver resistência plena a um dos elementos, que acabaria por significar um tratamento com apenas dois compostos ativos, já demonstrado como inferior à terapia combinada de três compostos. Nesse contexto, estudo recente analisando dados de uma grande coorte colaborativa europeia (aglomerado de dados de 25 coortes do continente, com amostras colhidas entre 1998 e 2008), demonstrou que, além da prevalência de 9,5% de mutações de resistência primária, 4,8% dos pacientes tinham mutações que caracterizavam resistência a pelo menos um antirretroviral do esquema inicial prescrito. Nesse subgrupo, a chance de falha terapêutica foi de 3,13 (IC 95% de 3,33 a 4,2), em relação ao grupo de pacientes sem mutações de resistência primária ($p < 0,0001$). Além disso, apesar de não ter sido possível perceber significância estatística, os pacientes que albergavam mutações de resistência primária aos ITRNN, ainda que tivessem recebido um esquema antirretroviral plenamente ativo, apresentavam uma chance de falha maior que os pacientes sem mutações de resistência primária (WITTKOP *et al.*, 2011). Esses dados mais recentes, reforçam a relação entre a presença de mutações de resistência primária e a maior chance de falha terapêutica de um esquema inicial e a importância da realização do teste de resistência antes do início da terapia.

A prevalência do subtipo B (85,1%) correspondeu à encontrada em outros dois estudos no Ceará, que foram de 81,2% e 78,8%, respectivamente, e à descrita na região Nordeste (BRINDEIRO *et al.*, 2003; GADELHA *et al.*, 2003; CAVALCANTI *et al.*, 2007).

Nacionalmente, o subtipo B prevalece na ordem de 70 a 84%, a depender da região analisada, exceto no Sul do País, onde pode representar apenas 28%, em Porto Alegre-RS (INOCÊNCIO *et al.*, 2009). Nessa Região, a maior prevalência é do subtipo C (SOARES *et al.*, 2003), que no resto do País é responsável por apenas 1 a 6% da prevalência (BRINDEIRO *et al.*, 2003; INOCÊNCIO *et al.*, 2009). No Nordeste, esse subtipo é minoritário, correspondendo de 1 a 3% (MEDEIROS *et al.*, 2006; CAVALCANTI *et al.*, 2007; PEDROSO *et al.*, 2007; INOCÊNCIO *et al.*, 2009). Os resultados deste ensaio demonstraram 5,4% de amostras do subtipo C, algo maior do que a prevalência da Região, mas no perfil dos números nacionais. No primeiro estudo realizado com amostras do Ceará, colhidas no ano 2000, não foi encontrado subtipo C (GADELHA *et al.*; 2003). Da mesma

maneira, com amostras colhidas no ano de 2001, nenhum subtipo C foi identificado (BRINDEIRO *et al.*, 2003). No estudo de Cavalcanti e colaboradores, apenas 1% das amostras do Nordeste, incluindo do Estado do Ceará, colhidas entre 2002 e 2004, era do subtipo C. Estes números levam a crer que esteja aumentando a circulação desse subtipo, nos últimos anos, no Ceará. O subtipo F, além de ter aumentado para 8% a sua prevalência, em relação aos estudos anteriores, em que foi detectado em apenas 2,7% e 5,9%, respectivamente (GADELHA *et al.*, 2003; CAVALCANTI *et al.*, 2007), foi responsável por três dos sete casos de resistência primária, configurando uma correlação estatisticamente significativa. Essa correlação, não descrita até então no Brasil, foi aventada em uma publicação com casuística do Estado da Bahia, também na região Nordeste, em que os autores comentam uma só amostra do subtipo F, com perfil de resistência primária a ITRN e IP, mas utilizando critérios menos rigorosos para definir essa resistência (PEDROSO *et al.*, 2007). Outro estudo nacional mostrou maior prevalência de resistência primária no subtipo B (SPRINZ *et al.*, 2009), como também visto na Alemanha (BARTMEYER *et al.*, 2010). Na Espanha, os subtipos não-B demonstraram maior propensão a resistência primária para a classe de ITRNN (YEBRA *et al.*, 2010).

A presença de recombinantes (1,4 e 2,7%, conforme análise pelo algoritmo da Universidade de Stanford ou pelo algoritmo da RENAGENO, respectivamente) foi semelhante aos achados dos estudos anteriores, com casuística do Estado do Ceará. Há que se considerar, porém, que a análise do subtipo foi realizada apenas pelo estudo de parte do segmento *pol* do genoma do vírus. Em outras partes do genoma, poderiam existir sequências gênicas compatíveis com outros subtipos, compatíveis com outras recombinações não perceptíveis no segmento analisado. Em Santos, de 65 amostras analisadas, tanto na TR e PR, quanto no envelope (alça V3), três apresentavam o segmento do envelope diferente do que apontavam, em concordância, a TR e a PR, ou seja, 4,6% do total das amostras eram de recombinantes B/F, apesar dos segmentos da TR e PR sugerirem que fossem de B ou F (SUCUPIRA *et al.*, 2007). Da mesma forma, em Curitiba, uma amostra de 37 analisadas mostrava diversidade na identidade do subtipo entre o perfil do *pol* e do *env* (FERREIRA *et al.*, 2008). Em outros estudos nacionais, corresponderam em prevalência de 2 a 22%, a depender da região estudada (BRINDEIRO *et al.*, 2003; INOCÊNCIO *et al.*, 2009).

Não havia dados previamente publicados descrevendo análises, com amostras do Nordeste, comparando infecção recente e tardia. No Brasil, alguns estudos foram realizados,

principalmente na região Sudeste. No Rio de Janeiro, de 20 amostras de pacientes com soroconversão há menos de um ano, apenas uma apresentava mutação de resistência primária (VARELLA *et al.*, 2009).

Os dados aqui apresentados, em que 6,9% das amostras eram de pacientes com infecção recente, pelo resultado do teste BED e após confirmar-se a plausibilidade do resultados, pelos critérios epidemiológicos, excluindo, portanto, falsos positivos, são os primeiros descritos para o Ceará e para o Nordeste. Importante é destacar a significância estatística entre esse perfil e a prevalência de resistência primária. Esse dado é conhecido mundialmente e tratado de forma clara - que a prevalência de resistência primária é maior nos pacientes com infecção recente do que nos com infecção crônica mais tardia (GRANT; ZOLOPA, 2009). Apesar de não se dispor e de não haver indicação do uso de BED-CEIA, para avaliações individuais, o teste foi utilizado neste experimento para tentar identificar os pacientes com infecção recente e comparar a prevalência de resistência primária com os pacientes com infecção crônica. Na prática clínica, em algumas situações, é possível documentar a infecção recente, quando pacientes exibem sintomas de síndrome retroviral aguda e surpreende-se a soroconversão ou quando o paciente, mesmo sem sintomas de infecção aguda, apresenta o primeiro exame positivo entre seis meses e um ano de um exame anterior negativo. Essas situações, com suporte nos resultados dos estudos, devem indicar a realização precoce e anterior ao início do tratamento de teste de genotipagem. O cenário pode tornar a indicação do teste de resistência ainda mais necessária, quando a infecção ocorre pela exposição com um parceiro em terapia antirretroviral com viremia persistente.

Não houve significância estatística, quando se cruzou presença de resistência primária com as variáveis: sexo, forma de transmissão, local de residência, ter morado em outra cidade, cidade provável onde se infectou, tempo de diagnóstico (maior ou menor do que 12 meses), necessitar ou não de tratamento imediato e ter ou não aids já manifesta ($p > 0,05$ para todas esses cruzamentos).

O fato deste estudo não ter sido desenhado num modelo de base populacional, mais adequado para análises de prevalência, é uma de suas limitações. Há, contudo, dificuldade em se obter um conjunto de dados mais precisos sobre o número de novos diagnósticos, uma vez que as notificações se limitam aos casos de aids. Há também dificuldade em se conhecer o percentual de pacientes que não iniciaram terapia desse

universo. Além disso, os estudos de base populacional costumam projetar uma necessidade maior de sujeitos (amostras), que, além de retardar o recrutamento e coleta de material, aumenta o custo do estudo. Tentando superar essas dificuldades, sobretudo nos países com poucos recursos, a OMS propõe uma metodologia de amostras sequenciais (até o número de 50), para estudos transversais sobre a prevalência de resistência primária do HIV (MYATT; BENNETT, 2008). Por outro lado, a média anual de novos tratamentos traduz uma população que efetivamente necessita da instituição da terapia e para a qual a possibilidade de resistência primária assume relevância imediata. É para essa população específica que o médico a iniciar a terapia questiona se há risco de menor efetividade, para as escolhas recomendadas pelos guias de tratamento. Baseado nesse referencial, o número de amostras analisadas representou aproximadamente 10% da média anual de pacientes que necessitam iniciar terapia no Estado do Ceará.

Outro aspecto a destacar é a proporção de crianças na casuística bem superior ao perfil da epidemia no Estado, refletindo um desequilíbrio na amostragem. Acontece que, no decorrer do estudo, o Programa Nacional de DST-Aids do Ministério da Saúde permitiu a realização rotineira de genotipagem para crianças virgens de tratamento. Isso criou uma demanda espontânea para esses exames nos serviços que recrutavam pacientes, facilitando a inclusão de sujeitos dessa faixa etária. Nenhuma amostra de criança, todavia, tinha vírus com mutação de resistência. Usando-se do artifício de suprimí-las da casuística, restando apenas as 63 amostras de sujeitos adultos, que quase alcançariam o número mínimo necessário de 64, ter-se-ia uma prevalência de resistência primária (11,1%) superior aquela efetivamente encontrada (9,5%); ou seja, ainda que o número elevado de crianças afaste a casuística do perfil real da epidemia na população, não houve falseamento, para maior, da prevalência do fenômeno.

Apesar dessas limitações, acredita-se que os dados sejam relevantes e traduzam, muito próximo ao real, a prevalência da resistência primária do HIV-1 na população de pessoas infectadas e em acompanhamento, que podem necessitar de abordagem terapêutica imediata no Estado do Ceará. A prevalência encontrada permite discutir a perspectiva da implementação do teste de genotipagem para pacientes virgens de terapia.

7 CONCLUSÕES

A prevalência de resistência primária no Estado do Ceará foi de 9,5%, alcançando o nível intermediário, pelos critérios da OMS.

Houve aumento da prevalência do subtipo C, nessa amostra de pacientes, não experimentados em terapia antirretroviral, no Estado do Ceará, em relação a estudos anteriores. O subtipo B permaneceu como o mais prevalente. O subtipo F, além de um discreto aumento nas detecções, relacionou-se com maior chance de resistência primária. Esse dado merece atenção, mas precisa ser confirmado em outros experimentos.

Apesar do pequeno número de pacientes com infecção recente na amostra, houve correlação entre resistência primária e essa condição.

8 RECOMENDAÇÕES

O percentual de resistência primária, no Estado do Ceará, é expressivo e exige monitoramento e discussão sobre a perspectiva de ser implementado teste de rotina, antes do início da terapia, para todos os pacientes com diagnóstico de infecção pelo HIV, ou pelo menos para aqueles que tenham confirmação de infecção recente.

REFERÊNCIAS

ALBERT, J. *et al.* Rapid development of isolate-specific neutralizing antibodies after primary HIV-1 infection and consequent emergence of virus variants which resist neutralization by autologous sera. **AIDS**, v. 4, p. 107, 1990.

ALKHATIB, G. *et al.* CC CKR5: a RANTES, MIP-1alpha, MIP-1beta receptor as a fusion cofactor for macrophage-tropic HIV-1. **Science**, v. 272, n. 5270, p. 1955-1958, 1996.

ATTIA, S. *et al.* Sexual transmission of HIV according to viral load and antiretroviral therapy: systematic review and meta-analysis. **AIDS**, v. 23, p. 1397–1404, 2009.

BAETEN, J. M. *et al.* HIV subtype D infection is associated with faster disease progression than subtype A in spite of similar plasma HIV-1 loads. **J. Infect. Dis.**, v.195. p.1177-1180. 2007.

BAGNARELLI, P. *et al.* Molecular profile of human immunodeficiency virus type 1 infection in symptomless patients and in patients with AIDS. **J. Virol.**, v. 66, n. 12, p. 7328-7335, 1992.

BANNISTER, W. P. *et al.* Transmitted Drug Resistant HIV-1 and Association With Virologic and CD4 Cell Count Response to Combination Antiretroviral Therapy in the EuroSIDA Study. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 48, p. 324–333, 2008.

BARBOUR, J. D. *et al.* Persistence of primary drug resistance among recently HIV-1 infected adults. **AIDS**, v. 18. p.1683-1689, 2004.

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

BARTMEYER, B. *et al.* Prevalence of Transmitted Drug Resistance and Impact of Transmitted Resistance on Treatment Success in the German HIV-1 Seroconverter Cohort. **PLoS ONE**, v. 5, n. 10, p.e12718, 2010.

BAXTER, J. D. *et al.* A randomized study of antiretroviral management based on plasma genotypic antiretroviral resistance testing in patients failing therapy. **AIDS**, v. 14, p. F83-F93, 2000.

BENNETT, D. E. *et al.* World Health Organization's global strategy for prevention and assessment of HIV drug resistance. **Antiviral Therapy**, v. 13, Suppl, 2, p. 1-13, 2008.

BENNETT, D. E. *et al.* Recommendations for Surveillance of transmitted HIV drug resistance in countries scaling up antiretroviral treatment. **Antiviral Therapy**, v. 13, Suppl, 2, p. 25-36, 2008b.

BENNETT, D. E. *et al.* Drug Resistance Mutations for Surveillance of Transmitted HIV-1 Drug-Resistance: 2009 Update. **PLoS ONE**, v. 4, n. 3, p. e4724, 2009.

BONGERTZ, V. *et al.* Brazilian Network for the HIV-1 isolation and characterization. HIV-1 diversity in Brazil: genetic, biological and immunological characterization of HIV-1 strains in three potential HIV vaccine evaluation sites. **J. Aids**, v. 23, p. 184-193, 2000.

BOOTH, C. L. *et al.* Prevalence and predictors of drug resistance in newly diagnosed HIV-1 infection. **J. Antimicrob. Chemoter.**, v.59, p.517-524, 2007.

BOUCHARD, M. *et al.* HIV type 1 drug resistance among naive patients from Venezuela. **AIDS Res. Hum. Retroviruses**, v. 23, n. 3, p. 482-485, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 59, de 28 de janeiro de 2003. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 30 jan. 2003.

_____. **Critérios de Definição de Casos de Aids em Adultos e Crianças**. Brasília, 2003b.

_____. Resolução nº347, de 13 de janeiro de 2005. Disponível em: <<http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/2005/Reso347.doc>>. Acesso em: 30 set. 2010.

_____. **Guia de Tratamento Clínico da Infecção pelo HIV**. Brasília, 2007.

_____. **Boletim Epidemiológico AIDS DST**, ano 5, v.1, 2008.

_____. **Recomendações para terapia anti-retroviral em adultos infectados pelo HIV**. Brasília, 2008b.

_____. **UNGASS – Resposta Brasileira 2005-2007: Relatório de Progresso do País.** Brasília, 2008c. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/relatorio_ungass_2008_pt.pdf>. Acesso em: 30 set. 2010.

_____. **Recomendações para terapia antirretroviral em crianças e adolescentes infectados pelo HIV.** Brasília, 2009.

_____. **Algoritmo Brasileiro: Interpretação – Genotipagem do HIV-1. Versão 10 – Out/2009b.** Disponível em: <http://forrest.ime.usp.br:3001/resistencia>.

_____. **Boletim Epidemiológico AIDS DST. Versão Preliminar.** Brasília, 2010. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/sites/default/files/publicacao/2010/boletim2010_preliminar_pdf_34434.pdf>. Acesso em: 15 jan. 2011.

BRIGIDO, L.F. *et al.* HIV-1 subtype C and Cb *Pol* Recombinants prevail at the cities with the highest Aids prevalence rate of Brazil. **AIDS Res. Hum. Retroviruses**, v.23, p.1579-1585, 2007.

BRINDEIRO, R. M. *et al.* Brazilian Network for HIV Drug Resistance, Surveillance (HIV-BResNet): a survey of chronically infected individuals. **AIDS**, v.17, p.1063-1069, 2003

BRITO, A. *et al.* Women Infected with HIV Type 1 Brazilian Variant, Subtype B (B'-GWGR Motif) Have Slower Progression to AIDS, Compared with Patients Infected with Subtype B (B-GPGR Motif). **CID**, v. 43, p. 1476-1481, 2006.

BRITO, A. M. *et al.* Fatores associados à interrupção de tratamento anti-retroviral em adultos com aids. Rio Grande do Norte, 1999-2002. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v. 52, p.86-92, 2006.

BRODER, C. C.; BERGER, E. A. Fusogenic selectivity of the envelope glycoprotein is a major determinant of human immunodeficiency virus type 1 tropism for CD4+ T-cell lines vs. primary macrophages. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A**, v. 92, n. 19, p. 9004-9008, 1995.

CABRAL, V. P. *et al.* Human immunodeficiency virus type-1 subtypes of infected patients in Espírito Santo, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 101(8):881-5, 2006.

CAI, F. *et al.* Detection of minor drug-resistant populations by parallel allele-specific sequencing. **Nat. Methods**, v.4, p. 123-125, 2007.

CALL, S. A. *et al.* Phenotypic drug susceptibility testing predicts long-term virologic suppression better than treatment history in patients with human immunodeficiency virus infection. **J. Infect. Dis.**, v. 183, n. 3, p. 401-408, 2001.

CALYPTE® BIOMEDICAL CORPORATION. Package Insert: Calypte® HIV-1 BED Incidence EIA (IgG-Capture HIV-EIA), 2005.

CAMERON, D. W. *et al.* Randomized placebo-controlled trial of ritonavir in advanced HIV-1 disease. **Lancet**, v. 351, p. 543-549, 1998.

CAO, Y. *et al.* Virologic and immunologic characterization of long-term survivors of human immunodeficiency virus type 1 infection. **N. Engl. J. Med.**, v. 332, n. 4, p. 201-208, 1995.

CARDOSO, L. P. *et al.* HIV-1 pol phylogenetic diversity and antiretroviral resistance mutations in treatment naïve patients from Central West Brazil. **J. Clin. Virol.**, v. 46, n. 2, p.134-139, 2009.

CARIDE, E. *et al.* Drug-resistant reverse transcriptase genotyping and phenotyping B and non-B subtypes (F and A) of human immunodeficiency virus type 1 found in Brazilian patients falling HAART. **Virology**, v. 275, p. 107-115, 2001.

CASCADE Virology Collaboration. The impact of transmitted drug resistance on the natural history of HIV infection and response to first-line therapy. **AIDS**, v. 20, p. 21–28, 2006.

CASSANI, F. *et al.* Serum non-organ specific autoantibodies in human immunodeficiency virus 1 infection. **J. Clin. Pathol.**, v. 44, n. 1, p. 64-68, 1991.

CASSEB, J. *et al.* Two variants of HIV-1 B serotype are transmitted heterosexually in São Paulo, Brazil. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 31, p. 1243-1246, 1998.

CASSEB, J. *et al.* HIV disease progression: Is the Brazilian variant subtype B'(GWGR motif) less pathogenic than US/European subtype B(GPGR)? **Int. J. Infect. Dis.**, v. 6, p. 64-69, 2002.

CASSEB, J. *et al.* Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) Brazilian subtype B variant (B'-GWGR Motif) showed an increasing avidity of the anti-V3 anti-bodies over time compared to the subtype B US/European strain in São Paulo, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 99, p. 69-71, 2004.

CASTILO, J. *et al.* Surveillance of HIV Type 1 Drug Resistance among Naive Patients from Venezuela. **Aids Research. Hum. Retroviruses**, v. 25, n. 12, p.1329-1333, 2009.

CAVALCANTI, A. M. S. *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 do Estado. **Informe Epidemiológico AIDS**, jun. 2009. Disponível em:

<http://www.saude.ce.gov.br/site/index.php?option=com_phocadownload&view=category&id=9:boletins&Itemid=247>. Acesso em: 22 jan. 2010.

CEARÁ. Secretaria da Saúde do Estado. **Informe Epidemiológico AIDS**, maio 2010. Disponível em:

<http://www.saude.ce.gov.br/site/index.php?option=com_phocadownload&view=category&id=9:boletins&Itemid=247>. Acesso em: 24 ago. 2010.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. 1992. 1993 Revised Classification System for HIV Infection and Expanded Surveillance Case Definition for AIDS Among Adolescents and Adults. **MMWR**, v. 41, RR-17, Dec. 1992.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **CDC HIV/AIDS Science Facts**: Using the BED HIV-1 Capture EIA Assay to Estimate Incidence Using STARHS in the Context of Surveillance in the United States. Updated October, 2007. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/hiv/topics/surveillance/resources/factsheets/BED.htm>>. Acesso em: 18 June 2010.

CHAIX, M. L. *et al.* Stable frequency of HIV-1 transmitted drug resistance in patients at the time of primary infection over 1996-2006 in France. **Aids**, v. 23, n. 6, p. 717-724, 2009.

CHARPENTIER, C. *et al.* Role of minority populations of HIV type 1 in the evolution of viral resistance to protease inhibitors. **J. Virol.**, v. 78, p. 4234-4247, 2004.

CHAWLA, A. *et al.* Human immunodeficiency virus (HIV) antibody avidity testing to identify recent infection in newly diagnosed HIV type 1 (HIV-1)-seropositive persons infected with diverse HIV-1 subtypes. **J. Clin. Microbiol.**, v. 45, p. 415-420, 2007.

CHOI, J. Y. *et al.* National survey for drug-resistant variants in newly diagnosed antiretroviral drug-naive patients with HIV/AIDS in South Korea: 1999-2005. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 49, n. 3, p. 237-242, 2008.

CHOREMI-PAPADOPOULOU, H. *et al.* Downregulation of CD28 surface antigen on CD4+ and CD8+ T lymphocytes during HIV-1 infection. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 7, n. 3, p. 245-253, 1994.

CINGOLANI, A. *et al.* Usefulness of monitoring HIV drug resistance and adherence in individuals failing highly active antiretroviral therapy: a randomized study (ARGENTA). **AIDS**, v. 16, p. 369–379, 2002.

CLAVEL, F.; HANCE, A. J. HIV drug resistance. **N. Engl. J. Med.**, v. 350, n. 10, p. 1023-1035, 2004.

COCCHI, F. *et al.* Identification of RANTES, MIP-1 alpha, and MIP-1 beta as the major HIV-suppressive factors produced by CD8+ T cells. **Science**, v. 270, n. 5243, p. 1811-1815, 1995.

COHEN, C. *et al.* A randomized trial assessing the impact of phenotypic resistance testing on antiretroviral therapy. **AIDS**, v. 16, p. 579–588, 2002.

CONLON, C.P. *et al.* Heterosexual transmission immunodeficiency virus type 1 variants associated with zidovudine resistance. **J. Infect. Dis.**, v. 169, p. 411-415, 1994.

CONNOR, R. I. *et al.* Increased viral burden and cytopathicity correlate temporally with CD4+ T-lymphocyte decline and clinical progression in human immunodeficiency virus type 1-infected individuals. **J. Virol.**, v. 67, n. 4, p. 1772-1777, 1993.

COOPER, C. L. *et al.* A review of low-dose ritonavir in protease inhibitor combination therapy. **Clin. Infect. Dis.**, v. 36, n. 12, p. 1585-1592, 2003.

CORNELISSEN, M. *et al.* Gene diversity of five human immunodeficiency virus type 1 subtypes: Evidence for naturally occurring mutations that contribute to drug resistance, limited recombination patterns and common ancestry for subtypes B and D. **J. Virol.**, v. 71, n. 9, p. 6348-6358, 1997.

COVAS, D. T. *et al.* High frequency of GWG (Pro Trp) envelope variant of HIV-1 in Southeast Brazil. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirology**, v.19, p.74-79, 1998.

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

COUTURIER, E. *et al.* HIV-1 diversity in France, 1996 – 1998. **AIDS**, v. 14, p. 289-296, 2000.

DALGLEISH, A. G. *et al.* CD4 (T4) antigen is an essential component of the receptor for the AIDS retrovirus. **Nature**, v. 312, n. 5996, p. 763-767, 1984.

DE CLERQ, E. Molecular targets for antiviral agents. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 297, p. 1-10, 2001.

DeGRUTTOLLA, V. *et al.* The relation between baseline HIV drug resistance and response to antiretroviral therapy: re-analysis of retrospective and prospective studies using standardized data analysis plan. **Antiviral Therapy**, v. 5, n.1. p. 41-48, 2000.

DEICHMANN, M.; KRONENWETT, R.; HAAS, R. Expression of the human immunodeficiency virus type-1 coreceptors CXCR-4 (fusin, LESTR) and CKR-5 in CD34+ hematopoietic progenitor cells. **Blood**, v. 89, n. 10, p. 3522-3528, 1997.

DELAUGERRE, C. *et al.* Perinatal acquisition of drug-resistant HIV-1 Infection: mechanisms and long-term outcome. **Retrovirology**, v. 6, p. 85, 2009.

DELTA COORDINATING COMMITTEE. Delta: a randomized double-blind controlled trial comparing combinations of zidovudine plus didanosine or zalcitabine with zidovudine alone in HIV-infected individuals. **Lancet**, v. 348, p. 283-291, 1996.

DE MENDOZA, C. *et al.* Prevalence of X4 tropic viruses in patients recently infected with HIV-1 and lack of association with transmission of drug resistance. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 59, p. 698-704, 2007.

DE MORAES SOARES, C. M. P. *et al.* Prevalence of Transmitted HIV-1 Antiretroviral Resistance among Patients Initiating Antiretroviral Therapy in Brazil: a surveillance using Dried Blood Spots (DBS) [poster 624]. In Posters of 11th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Boston, Massachusetts, EUA, 2011.

DENG, H. *et al.* Identification of a major co-receptor for primary isolates of HIV-1. **Nature**, v. 381, n. 6584, p. 661-666, 1996.

DESCAMPS, D. *et al.* French national survey of antiretroviral drug resistance in patients with HIV-1 primary infection and in antiretroviral-naïve chronically infected patients in 2001-2002. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 38, p.545-552, 2005.

DEWAR, R.; GOLDSTEIN, D.; MALDARELLI, F. Diagnosis of Human Immunodeficiency Virus Infection. In: MANDELL, G. L.; BENNETT, J. E.; DOLIN, R. **Principles and Practice of Infectious Diseases**. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2010. cap. 119, p. 1663-1686.

DHHS Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. **Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents**. [S.l.]: Department of Health and Human Services, 2009. Disponível em: <http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>. Acesso em: 2 Dec. 2009.

DIAZ, R.S. *et al.* Divergence of HIV-1 quasispecies in an epidemiologic cluster. **AIDS**, v. 11, p. 415-422, 1997.

DIAZ, R.S. **Orientações para o Manuseio de Testes de Resistência anti-retroviral no paciente infectado pelo HIV-1**. São Paulo: Europa Press, 2006.

DOBBS, T. *et al.* Performance Characteristics of the Immunoglobulin G-Capture BED-Enzyme Immunoassay, An Assay to Detect Recent Human Immunodeficiency Virus Type 1 Seroconversion. **J. Clin. Microbiol.**, v. 42, n. 6, p. 2623-2628, 2004.

DORR, P. *et al.* Maraviroc (UK-427,857), a potent, orally bioavailable, and selective small-molecule inhibitor of chemokine receptor CCR5 with broad-spectrum anti-human immunodeficiency virus type 1 activity. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 49, p. 4721, 2005.

DRAGIC, T. *et al.* HIV-1 entry into CD4+ cells is mediated by the chemokine receptor CC-CCR-5. **Nature**, v. 381, n. 6584, p. 667-673, 1996.

DUMANS, A. T. *et al.* Prevalence of Protease and Reverse Transcriptase Drug Resistance Mutations over Time in Drug-Naïve Human Immunodeficiency Virus Type 1-Positive Individuals in Rio de Janeiro, Brazil. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 46, n. 9, p. 3075-3079, 2002.

DUNN, D.T. *et al.* A randomized controlled trial of the value of phenotypic testing in addition to genotypic testing for HIV drug resistance: evaluation of resistance assays (ERA) trial investigators. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 38, n. 5, p. 553-559, 2005.

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

ERICE, A. *et al.* Brief report: primary infection with zidovudine-resistant human immunodeficiency virus type 1. **N. Engl. J. Med.**, v. 328, n. 16, p. 1163-1165, 1993.

ESHLEMAN, S. H. *et al.* Antiretroviral drug resistance, HIV-1 tropism, and HIV-1 subtype among men who have sex with men with recent HIV-1 infection. **AIDS**, v. 21, p. 1165-1174, 2007.

EUROPEAN AIDS CLINICAL SOCIETY. **Guidelines for the Clinical Management and Treatment of HIV Infected Adults in Europe**. 2009. Disponível em: <http://www.europeanaidsclinicalociety.org/guidelinespdf/1_Treatment_of_HIV_Infected_Adults.pdf>. Acesso em: 29 Mar. 2010.

EUROPEAN COLLABORATIVE STUDY. Mother-to-child transmission of HIV infection in the era of highly active antiretroviral therapy. **Clin. Infect. Dis.**, v. 40, p. 458-465, 2005.

FARNET, C. M.; HASELTINE, W. A. Determination of viral proteins present in the human immunodeficiency virus type 1 preintegration complex. **J. Virol.**, v.65, n. 4, p. 1910-1915, 1991.

FAUCI, A. S. *et al.* Immunopathogenic mechanisms of HIV infection. **Ann. Intern. Med.**, v. 124, p. 654-653, 1996.

FAUCI, A. S. HIV and AIDS: 20 years of science. **Nat. Med.**, v. 9, n. 7, p. 839-833, 2003.

FENG, Y. *et al.* HIV-1 entry cofactor: functional cDNA cloning of a seven-transmembrane, G protein-coupled receptor. **Science**, v. 272, n. 5263, p. 872-877, 1996.

FERREIRA, F. G. *et al.* Prevalence of primary drug resistance-associated mutations among HIV type 1 vertically Infected children in Belo Horizonte, Brazil. **AIDS Res. Hum. Retroviruses**, v. 26, n. 2, p. 229-232, 2010.

FERREIRA, J. L. P. *et al.* Molecular characterisation of newly identified HIV-1 infections in Curitiba, Brazil: preponderance of clade C among males with recent infections. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.103, n. 8, p. 800-808, 2008.

FESSEL, J. *et al.* Low risk of initial ART failure in patients with wild type HIV-1 by standard genotypic resistance testing. In: CONFERENCE ON RETROVIRUSES AND OPPORTUNISTIC INFECTIONS, 15th, 2008, Boston. **Abstract...** Boston, Massachusetts, USA, 2008. n. 892.

FLORES, I. *et al.* HIV-1 subtype F and dual infections in Puerto Rico: a potential sentinel site for monitoring novel genetic HIV variants in North America. **Emerg. Infect. Dis.**, v.5, p. 481-483, 1999.

FOLKS, T. M. *et al.* Infection and replication of HIV-1 in purified progenitor cells of normal human bone marrow. **Science**, v. 242, n. 4880, p. 919-922, 1988.

FRANÇA, R. F. *et al.* Genotypic characteristics of HIV-1 based on gp120 hypervariable region 3 of isolates from southern Brazil. **AIDS Res. Hum. Retroviruses**, Jan. 2011.

FULLER, G. N.; JACOBS, J. M.; GUILOFF, R. J. Nature and incidence of peripheral nerve syndromes in HIV infection. **J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry**, v. 56, n. 4, p. 372-381, 1993.

GADELHA, S. R. *et al.* Molecular Epidemiology of Human Immunodeficiency Vírus-1 in the State of Ceará, Northeast, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 4, p. 461-464, 2003.

GAINES, H. *et al.* Immunological changes in primary HIV-1 infection. **AIDS**, v. 4, p. 995, 1990.

GALVÃO-CASTRO, B. *et al.* A nationwide effort to sistematically monitor HIV-1 diversity in Brazil: preliminary results. Brazilian Network for the HIV-1 Isolation and Characterization. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 91, p. 335-338, 1996.

GAO, F. *et al.* The heterosexual human immunodeficiency virus type 1 epidemic in Thailand is caused by an intersubtype (A/E) recombinant of African origin. **J. Virol.**, v. 70, p. 7013-7029, 1996.

GAO, F. *et al.* Origin of HIV-1 in the chimpanzee *Pan troglodytes troglodytes*. **Nature**, v. 397, n. 6718, p. 385-386, 1999.

GAZZARD, B. G. on behalf of the BHIVA Treatment Guidelines Writing Group. British HIV Association guidelines for the treatment of HIV-1-infected adults with antiretroviral therapy 2008. **HIV Medicine**, v. 9, p. 563-608, 2008.

GESIDA. **Recomendaciones de GESIDA y PNS sobre el tratamiento antirretroviral del adulto**. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo de España, 2009.

GILBERT, M. T. *et al.* The emergente of HIV/Aids in the Ameritas and beyond. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 104, p. 18566-18570, 2007.

GOLDING, H. *et al.* Common epitope in human immunodeficiency virus (HIV) I-GP41 and HLA class II elicits immunosuppressive autoantibodies capable of contributing to immune dysfunction in HIV I-infected individuals. **J. Clin. Invest.**, v. 83, n. 4, p. 1430-1435, 1989.

GONSALEZ, C.R. *et al.* Drug resistance among chronic HIV-1-infected patients naïve for use of anti-retroviral therapy in Sao Paulo city. **Virus Res.**, v. 129, p. 87–90, 2007.

GOODMAN, D. D. *et al.* Preexisting low-levels of the K103N HIV-1 RT mutation above a threshold is associated with virologic failure in treatment-naïve patients undergoing EFV-containing antiretroviral treatment. **AIDS**, Dec. 2010.

GRANICH, R. M. *et al.* Universal voluntary HIV testing with immediate antiretroviral therapy as a strategy for elimination of HIV transmission: a mathematical model. **Lancet**, v. 373, p. 48–57, 2009.

GRANT, M. D. *et al.* Distribution of antibodies against denatured collagen in AIDS risk groups and homosexual AIDS patients suggests a link between autoimmunity and the immunopathogenesis of AIDS. **J. Immunol.**, v. 144, n. 4, p. 1241-1250, 1990.

GRANT, R. M. *et al.* Time Trends in Primary HIV-1 Drug Resistance Among Recently Infected Persons. **JAMA**, v. 288, p.181-188, 2002.

GRANT, P. M.; ZOLOPA, A. R. The use of resistance testing in the management of HIV-1-infected patients. **Curr. Opin. HIV AIDS**, v. 4, p. 474–480, 2009.

GRASSI, F. *et al.* Human immunodeficiency virus type 1 gp120 mimics a hidden monomorphic epitope borne by class I major histocompatibility complex heavy chains. **J. Exp. Med.**, v.174, n.1, p.53-62, 1991.

GREENE, W.C. The molecular biology of human immunodeficiency virus type 1 infection. **N. Engl. J. Med.**, v. 324, n. 5, p. 308-317, 1991.

GUIMARÃES, M.; MOREIRA, A.; MORGADO, M. Molecular characterization of CTL epitopes among prevalent Brazilian HIV-1 subtypes. In: AIDS VACCINE, 2001, Philadelphia. **Abstract...** Philadelphia, PA, USA, 2001.

HALES, G. *et al.* A Randomised Trial Comparing Genotypic and Virtual Phenotypic Interpretation of HIV Drug Resistance: The CREST Study. **PLoS Clinical Trials**, 2006. Disponível em: <<http://www.plosclinicaltrials.org>>. Acesso em: 10 Mar. 2010.

HAMMER, S. *et al.* Relationship of phenotypic and genotypic resistance profiles to virological outcome in a trial of abacavir, nelfinavir, efavirenz and adefovir dipivoxil in patients with virological failure receiving indinavir (ACTG 372) (abstract 64). **Antiviral Therapy**, v. 4, Suppl. 45, 1999.

HANNA G. J.; D'AQUILA R. T. Clinical use of genotypic and phenotypic drug resistance testing to monitor antiretroviral chemotherapy. **Clin. Infect. Dis.** v. 32, p. 774-782, 2001.

HARGROVE, J. W. BED estimates of HIV incidence must be adjusted. **AIDS**, v. 23, p. 2061–2068, 2009.

HARRIGAN, P. R. *et al.* Baseline HIV drug resistance profiles predicts responses to ritonavir-saquinavir protease inhibitor therapy in a community setting. **AIDS**, v. 13, p. 1863-1871, 1999.

HAUBRICH, R.; DEMETER, L. Clinical utility of resistance testing: retrospective and prospective data supporting use and current recommendations. **J. Acquir. Immune Defic. Syndrome**, v. 26, p. S51-S59, 2001.

HAZUDA, D. J. *et al.* Integrase inhibitors and cellular immunity suppress retroviral replication in rhesus macaques. **Science**, v. 305, p. 528-532, 2004.

HECHT, F. M.; GRANT, R. M. Resistance testing in drug-naïve HIV-infected patients: is it time? **Clin. Infect. Dis.**, v.41. p.1324-1325, 2005.

HEILEK-SNYDER, G.; BEAN, P. Role of HIV phenotypic assays in the management of HIV infection. **Am. Clin. Lab.**, v. 21, p. 40-43, 2002.

HENDRY, R. M. *et al.* Immunoreactivity of Brazilian HIV isolates with different V3 motifs. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 91, p. 347-348, 1996.

HIRSCH, M. S. *et al.* Antiretroviral drug resistance testing in adults HIV-1 infection: 2008 Recommendations of an International AIDS Society–USA panel. **Clin. Infect. Dis.**, v. 47, p. 266-285, 2008.

HO, D. D. *et al.* Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. **Nature**, v. 373, p.123-126, 1995.

HOFFMANN, C.; ROCKSTROH, J. K.; KAMPS, B. S. **HIV Mediciene 2005**. Paris: Flying Publisher, 2005. cap. 4, p. 61-62.

HONDA, Y. *et al.* Type I interferon induces inhibitory 16-kD CCAAT/ enhancer binding protein (C/EBP)beta, repressing the HIV-1 long terminal repeat in macrophages: pulmonary tuberculosis alters C/EBP expression, enhancing HIV-1 replication. **J. Exp. Med.**, v.188, n.7, p.1255-1265, 1998.

INOCENCIO, L. A. *et al.* Brazilian Network for HIV Drug Resistance Surveillance: a survey of individuals recently diagnosed with HIV. **J. Int. AIDS Soc.**, v. 12, p. 20, 2009.

JAKOBSEN, M. R. *et al.* Transmission of HIV-1 drug-resistant variants: prevalence and effect on treatment outcome. **Clin. Infect. Dis.**, v. 50, n. 4, p. 566-573, 2010.

JANINI, L. M. *et al.* Identification of single and dual infections with distinct subtypes of human immunodeficiency virus type 1 by using restriction fragment length polymorphism analysis. **Virus Genes**, v. 13, p. 69-81, 1996.

JOHN-STEWART, G. C. *et al.* Subtype C is associated with increased vaginal shedding of HIV-1. **AIDS**, v.192, p.492-496, 2005.

JOHNSON, J. A. *et al.* Minority HIV-1 drug resistance mutations are present in antiretroviral treatment-naïve populations and associate with reduced treatment efficacy. **PLoS Med.**, v. 5, p. e158, 2008.

JOURDAIN, G. *et al.* Intrapartum exposure to nevirapine and subsequent maternal responses to nevirapine-based antiretroviral therapy. **N. Engl. J. Med.**, v. 351, p. 229–240, 2004.

KALEEBU, P. *et al.* Relation between chemokine receptor use, disease stage and HIV-1 subtypes A and D: results from a rural Ugandan cohort. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v.1, p.28-33, 2007.

KARCHAVA, M. *et al.* Prevalence of drug-resistance mutations and non-subtype B strains among HIV-infected infants from New York State. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 42, p. 614-619, 2006.

KATLAMA, C. *et al.* Safety and efficacy of lamivudine-zidovudine combination therapy in antiretroviral-naïve patients: a randomized controlled comparison with zidovudine. **JAMA**, v. 276, p. 118-125, 1996.

KATZENSTEIN, T. L. *et al.* Quantification of HIV-1 RNA during antiretroviral therapy: association with viral phenotype and development of resistance. **Antiviral Therapy**, v. 1, p. 246–254, 1996.

KEMPF, D. J. *et al.* Pharmacokinetic enhancement of inhibitors of the human immunodeficiency virus protease by coadministration with ritonavir. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 41, n. 3, p. 654-660, 1997.

KILBY, J. M. *et al.* Potent suppression of HIV-1 replication in humans by T-20, a peptide inhibitor of gp41-mediated virus entry. **Nat. Med.**, v. 4, p. 1302-1307, 1998.

KILSZTAJN, S. *et al.* Improvement in survival among symptomatic AIDS patients by exposure category in Sao Paulo. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 45, n.3, p. 342–347, 2007.

KIM, A. A. *et al.* Evaluating the BED Capture Enzyme Immunoassay to Estimate HIV Incidence Among Adults in Three Countries in Sub-Saharan Africa. **Aids Res. Hum. Retroviruses**, v. 26, n. 10, p. 1051-1061, 2010.

KLATZMANN, D. *et al.* T-lymphocyte T4 molecule behaves as the receptor for human retrovirus LAV. **Nature**, v. 312, n.5996, p.767-768, 1984.

KORBER, B. *et al.* Timing the ancestor of the HIV-1 pandemic strains. **Science**, v. 288, n. 5472, p. 1789-1796, 2000.

KURITZKES, D. R. *et al.* Preexisting resistance to nonnucleoside reverse-transcriptase inhibitors predicts virologic failure of efavirenz-based regimen in treatment-naïve HIV-1-infected subjects. **J. Infect. Dis.**, v.197, p.867-870, 2008.

KURTZBERG, J. *et al.* Management of human immunodeficiency virus-associated thrombocytopenia with intravenous gamma globulin. **Am. J. Pediatr. Hematol. Oncol.**, v. 9, n.4, p.299-301, 1987.

LAMA, J. R. *et al.* Linking HIV and antiretroviral drug resistance surveillance in Peru: a model for a third generation sentinel surveillance. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 42, p. 501-505, 2006.

LANE, H. C.; FAUCI, A. S. Immunologic abnormalities in the acquired immunodeficiency syndrome. **Ann. Rev. Immunol.**, v. 3, p. 477, 1985.

LANIER, E. R. *et al.* Multivariate analysis of predictors of response to abacavir: comparison of prior antiretroviral therapy, baseline HIV RNA, CD4 count and viral resistance (abstract) 82. **Antiviral Therapy**, v. 4, Suppl. 56, 1999.

LAURENT-CRAWFORD, A. G. *et al.* The cytopathic effect of HIV is associated with apoptosis. **Virology**, v.185, n.2, p.829-839, 1991.

LAURIAN, Y. *et al.* Immune thrombocytopenia gammaglobulin, and positivity to the human T-lymphotropic virus type III. **Ann. Intern. Med.**, v.105, n.1, p.145-146, 1986.

LEMP, G. F. *et al.* Survival trends for patients with acquired immunodeficiency syndrome. **JAMA**, v. 236, p. 402, 1990.

LEVY, J. A. *et al.* Isolation of lymphocytopathic retroviruses from San Francisco patients with AIDS. **Science**, v.225, n.4664, p.840-842, 1984.

LIAO, L. *et al.* The prevalence of transmitted antiretroviral drug resistance in treatment-naïve HIV-infected individuals in China. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 53, Suppl. 1, p.S10-14, 2010.

LIMA, V. D. *et al.* Expanded access to highly active antiretroviral therapy: a potentially powerful strategy to curb the growth of the HIV epidemic. **J. Infect. Dis.**, v. 198, p. 59–67, 2008.

LITTLE, S. J. *et al.* Antiretroviral-drug resistance among patients recently infected with HIV. **N. Engl. J. Med.**, v.347, p.347-385, 2002.

LITTLE, S. J. *et al.* Persistence of transmitted drug resistance among subjects with primary human immunodeficiency virus infection. **J. Virol.**, v. 82, p. 5510-5518, 2008.

LORENZI, P. *et al.* Impact of drug resistance mutations on virologic response to salvage therapy. Swiss HIV Cohort Study. **AIDS**, v. 13, p. F17–21, 1999.

LOUWAGIE, J. *et al.* Phylogenetic analysis of gag genes from 70 international HIV-1 isolates provides evidence for multiple genotypes. **AIDS**, v. 7, p. 769-780, 1993.

LIU, R. *et al.* Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV-1 infection. **Cell**, v. 86, n.3, p.367-377, 1996.

MACARTHUR, R. D. An updated; user-friendly guide to genotype interpretation. **AIDS**; v.10, n. 11, p. 652-657, 2000.

MADDON, P. J. *et al.* HIV infection does not require endocytosis of its receptor, CD4. **Cell**, v.54, n.6, p.865-874, 1988.

MARKOWITZ, M. *et al.* Infection with multidrug resistant, dual-tropic HIV-1 and rapid progression to Aids: a case. **Lancet**, v. 365, n. 9464, p. 1031-1038, 2005.

MARKOWITZ, M. *et al.* Antiretroviral activity, pharmacokinetics, and tolerability of MK-0518, a novel inhibitor of HIV-1 integrase, dosed a monotherapy for 10 days in treatment-naïve HIV-1-infected individuals. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 43, p. 509-515, 2006.

MAZZOTTA, F. *et al.* Real Versus Virtual Phenotype to Guide Treatment in Heavily Pretreated Patients: 48-Week Follow-Up of the *Genotipo-Fenotipo di Resistenza* (GenPheRex) Trial. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 32, p. 268–280, 2003.

McCUNE, J. M. The dynamics of CD4+ T-cell depletion in HIV disease. **Nature**, v. 410, p. 974-979, 2001.

McCUTCHAN, F. E. Understanding the genetic diversity of HIV-1. **AIDS**, v. 14, Suppl. 3, p. S31-S44, 2000.

MCDUGAL, J. S. *et al.* Comparison of HIV Type 1 Incidence Observed during Longitudinal Follow-Up with Incidence Estimated by Cross-Sectional Analysis Using the BED Capture Enzyme Immunoassay. **AIDS Res. Hum. Retroviruses**, v. 22, n. 10, p. 945-952, 2006.

MEDEIROS, L.B. *et al.* Primary resistance of human immunodeficiency virus type 1 in a reference center in Recife, Pernambuco, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 8, p. 845-849, 2006.

METROKA, C. E. *et al.* Generalized lymphadenopathy in homosexual men. **Ann. Intern. Med.**, v. 99, n.5, p. 585-591, 1983.

METZNER, K. J. *et al.* Minority quasispecies of drugresistant HIV-1 that lead to early therapy failure in treatment-naive and -adherent patients. **Clin. Infect. Dis.**, v. 48, p. 239–247, 2009.

MEYAARD, L. *et al.* Programmed death of T cells in HIV-1 infection. **Science**, v.257, n.5067, p.217-219, 1992.

MEYNARD, J. L. *et al.* Impact of treatment guided by phenotypic or genotypic resistance test on the response to antiretroviral therapy: a randomized trial (NARVAL, ANRS 088). **Antiviral Therapy**, v. 5, Suppl. 67, 2000.

MOIR, S.; CONNORS, M.; FAUCI, A. S. The Immunology of Human Immunodeficiency Virus Infection. In: MANDELL, G. L.; BENNETT, J. E.; DOLIN, R. **Principles and Practice of Infectious Diseases**. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2010. cap. 120, p.1687-1701.

MONTANER, J. S. *et al.* A randomized, double-blind trial comparing combinations of nevirapine, didanosine and zidovudine for HIV-infected patients. **JAMA**, v. 279, p. 930-937, 1998.

MORGADO, M. G. *et al.* V3 region polymorphism in HIV-1 from Brazil: Prevalence of subtype B strains divergent from the North American/European prototype and detection of subtype F. **AIDS Res. Hum. Retroviruses**, v. 10, p. 569-575, 1994.

MORGADO, M. G. *et al.* Polymorphism of the predictive antigenic sites on the V3 loop of Brazilian HIV-1 subtype strains. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 91, p. 339-342, 1996.

MORGADO, M. G. *et al.* The Hospital Evandro Chagas AIDS Clinical Research Group. High prevalence of HIV-1 subtype B and identification of an HIV-1 subtype D infection in the City of Rio de Janeiro, Brazil. **J. AIDS Hum. Retroviruses**, v. 18, p. 488-494, 1998.

MORGADO, M. G. *et al.* The Hospital Evandro Chagas AIDS Clinical Research Group. Polymorphism of the antigenically distinct HIV-1 B subtype strains. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 93, p. 383-386, 1998a.

MOYLE, G. The role of combinations of HIV protease inhibitors in the management of persons with HIV infection. **Expert. Opin. Investig. Drugs**, v.7, n.3, p.413-426, 1998.

MULLER, S. *et al.* Autoantibodies typical of non-organ-specific autoimmune diseases in HIVseropositive patients. **AIDS**, v.6, n.9, p.933-942, 1992.

MYATT, M.; BENNETT, D. E. A novel sequential sampling technique for the surveillance of transmitted HIV drug resistance by cross-sectional survey for use in low resource settings. **Antiviral Therapy**, v. 13, Suppl. 2, p. 37-48, 2008.

NEMES, M. I. B. *et al.* Adesão ao tratamento, acesso e qualidade da assistência em AIDS no Brasil. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v.55, n.2, p.207-212, 2009.

NOVAK, R. M. *et al.* Prevalence of antiretroviral drug resistance mutations in chronically HIV-infected, treatment-naive patients: implications for routine resistance screening before initiation of antiretroviral therapy. **Clin. Infect. Dis.**, v. 40, n. 3, p. 468-474, 2005.

OETTE, M.; *et al.* Primary HIV Drug Resistance and Efficacy of First-Line Antiretroviral Therapy Guided by Resistance Testing. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 41, p. 573-581, 2006.

OLIVEIRA, C. M. *et al.* High frequency of BF mosaic genomes among HIV-1-infected children from Sao Paulo, Brazil. **Arch. Virol.**, v.153, p.1799-1806, 2008.

PALELLA, F. J. *et al.* Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. **N. Engl. J. Med.**, v.338. p.853-860, 1998.

PALMER, S. *et al.* Multiple, linked human immunodeficiency virus type 1 drug resistance mutations in treatment-experienced patients are missed by standard genotype analysis. **J. Clin. Microbiol.**, v. 43, p. 406-413, 2005

PALUMBO, P. E. *et al.* Predictive value of quantitative plasma HIV RNA and CD4+ lymphocyte count in HIV-infected infants and children. **JAMA**, v. 279, p. 756-761, 1998.

PALUMBO, P. *et al.* Antiretroviral resistance mutations among pregnant human immunodeficiency virus type 1-infected women and their newborns in the United States: vertical transmission and clades. **J. Infect. Dis.**, v. 184, p.1120-1126, 2001.

PANDO, M. A. *et al.* Incidence of HIV Type 1 Infection, Antiretroviral Drug Resistance, and Molecular Characterization in Newly Diagnosed Individuals in Argentina: A Global Fund Project. **Aids Res. Hum. Retroviruses**, v. 27, n. 1, p. 17-23, 2011.

PANIDOU, E. T.; TRIKALINOS, T. A.; IOANNIDIS, J. P. A. Limited benefit of antiretroviral resistance testing in treatment-experienced patients: a meta-analysis. **AIDS**, v. 18, p. 2153–2161, 2004.

PANTALEO, G. *et al.* Lymphoid organs function as major reservoirs for human immunodeficiency virus. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v.88, n.21, p.9838-9842, 1991.

PANTALEO, G. *et al.* Studies in subjects with long-term nonprogressive human immunodeficiency virus infection. **N. Engl. J. Med.**, v.332, n.4, p.209-216, 1995.

PANTALEO, G.; FAUCI, A. S. Immunopathogenesis of HIV infection. **Annu. Rev. Microbiol.**, v.50, p.825-854, 1996.

PAREKH, B. S. *et al.* Determination of Mean Recency Period for Estimation of HIV Type 1 Incidence with the BED-Capture EIA in Persons Infected with Diverse Subtypes. **Aids Res. Hum. Retroviruses**, v. 27, n. 3, p. 265-273, 2011.

PARKER, M. M. *et al.* Prevalence of genotypic drug resistance among cohort of HIV-infected newborns. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 32, p. 292-297, 2003.

PAXTON, W. A. *et al.* Relative resistance to HIV-1 infection of CD4 lymphocytes from persons who remain uninfected despite multiple high-risk sexual exposure. **Nat. Med.**, v.2, n.4, p.412-417, 1996.

PEDROSO, 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, n. 2, p. 251-252, 2007.

PELISKA, J. A.; BENKOVIC, S. J. Mechanism of DNA strand transfer reactions catalyzed by HIV-1 reverse transcriptase. **Science**, v.258, n.5085, p.1112-1118, 1992.

PERELSON, A. S. *et al.* HIV-1 dynamics in vivo: virion clearance rate, infected cell life-span, and viral generation time. **Science**, v.271, n.5255, p.1582-1586, 1996.

PEREZ-ELIAS, M. J. *et al.* Phenotype or virtual phenotype for choosing antiretroviral therapy after failure: a prospective, randomized study. **Antiviral Therapy**, v. 8, p. 577-584, 2003.

PÉREZ, L. *et al.* R. Genotypic Resistance to Antiretroviral Drugs in Patients Infected with Several HIV Type 1 Genetic Forms in Cuba. **Aids Res. Hum. Retroviruses**, v. 23, n. 3, p. 407-414, 2007.

PETRONI, A. *et al.* Update on primary HIV-1 resistance in Argentina: emergence of mutations conferring high-level resistance to nucleoside reverse transcriptase inhibitors in drug-naïve patients. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 42, p. 506-510, 2006.

PEUCHANT, O. *et al.* Transmission of HIV-1 minority-resistant variants and response to first-line antiretroviral therapy. **AIDS**, v. 22, n. 12, p. 1417-1423, 2008

PHAIR, J. *et al.* Acquired immune deficiency syndrome occurring within 5 years of infection with human immunodeficiency virus type-1: the Multicenter AIDS Cohort Study. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v.5, n.5, p.490-496, 1992.

PIRES NETO, R. J.; COLARES, J. K. B; FONSECA, B. A. L. Evaluation of genotype resistance testing for salvage antiretroviral therapy at AIDS care centers from Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 41, n. 6, p.536-538, 2008.

POPOVIC, M. *et al.* Detection, isolation, and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and pre-AIDS. **Science**, v.224, n.4648, p.497-500, 1984.

POTTS, K. E. *et al.* The Brazilian Collaborative AIDS Research Group. Genetic heterogeneity of the V3 region of the HIV-1 envelope glycoprotein in Brazil. **AIDS**, v. 7, p.1191-1197, 1993.

PRESTON, B. D. Reverse transcriptase fidelity and HIV-1 variation. **Science**, v. 275, p. 228, 1997.

PRESTON, B. D.; POIESZ, B. J.; LOEB, L. A. Fidelity of HIV-1 reverse transcriptase. **Science**, v.242, n.4882, p.1168-1171, 1988.

PRICE, M. A. *et al.* Transmitted HIV Type 1 Drug Resistance Among Individuals with Recent HIV Infection in East and Southern Africa. **Aids Res. Hum. Retroviruses**, v. 27, n. 1, p. 5-12, 2011.

RAMOS, A. *et al.* Dual and recombinant infections: an integral part of the HIV-1 epidemic in Brazil. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 5, p. 65-74, 1999.

RAWAL, B. D. *et al.* Development of new less-sensitive enzyme immunoassay for detection of early HIV-1 infection. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v.192, p.958-966, 2003.

REIVICKI, D. A., *et al.* Quality of life outcomes of combination zalcitabine-zidovudine, saquin avir-zidovudine and saquinavir-zalcitabine-zidovudine therapy for HIV-infected adults with CD4 cell counts between 50 and 350 per cubic milliliter. **AIDS**, v. 13, p. 851-858, 1999.

RE, M. C. *et al.* Uninfected haematopoietic progenitor (CD34+) cells purified from the bone marrow of AIDS patients are committed to apoptotic cell death in culture. **AIDS**, v.7, n.8, p.1049-1055, 1993.

REITZ, J. R. M. S.; GALLO, R. C. Human Immunodeficiency Viruses. In: MANDELL, G. L.; BENNETT, J. E.; DOLIN, R. **Principles and Practice of Infectious Diseases**. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2010. cap.169, p.2323-35.

RICHMAN, D. D. Principles of HIV resistance testing and overview of assay performance characteristics. **Antiviral Therapy**, v. 5, p. 27-31, 2000.

ROBERTS, J. D.; BEBENEK, K; KUNKEL, T. A. The accuracy of reverse transcriptase from HIV-1. **Science**, v. 242, p. 1171-1173, 1988.

ROCHA, G. M. *et al.* Adesão ao tratamento antirretroviral : uma revisão sistemática, 2004-2009. In: **Adesão ao Tratamento Antirretroviral no Brasil: Coletânea de estudos do Projeto ATAR**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2010. cap. 2, p.17-32.

RODRIGUES, R. *et al.* Low prevalence of primary antiretroviral resistance mutations and predominance of HIV-1 clade C at polymerase gene in newly diagnosed individuals from south Brazil. **Virus Res.**, v. 116, p. 201-207, 2005.

RUSTIN, M. H. *et al.* The acute exanthema associated with seroconversion to human T-cell lymphotropic virus III in a homosexual man. **J. Infect.**, v.12, n.2, p.161-163, 1986.

SABINO, E. *et al.* Identification of an HIV-1 proviral genome recombinant between subtype B and F in PBMCs obtained from an individual in Brazil. **J. Virol.**, v. 68, p. 6340-6346, 1994.

SA-FILHO, D. J. *et al.* HIV Type 1 pol gene diversity and antiretroviral drug resistance mutations in Santos, Brazil. **Aids Research and Human Retroviruses**, v.24, n.3, p.347-353, 2008.

SAMSON, M. *et al.* Molecular cloning and functional expression of a new human CC-chemokine receptor gene. **Biochemistry**, v.35, n.11, p.3362-3367, 1996.

SANTORO-LOPES, G. *et al.* HIV disease progression and V3 serotypes in Brazil: is B different from B'. **AIDS Res. Hum. Retroviruses**, v. 16, p. 953-958, 2000.

SANTIAGO, M. L. *et al.* Foci of endemic simian immunodeficiency virus infection in wild-living eastern chimpanzees (*Pan troglodytes schweinfurthii*). **J. Virol.**, v.77, n.13, p.7545-7562, 2003.

SANTOS, A. F. *et al.* Epidemiologic and Evolutionary Trends of HIV-1 CRF31_BC-Related Strains in Southern Brazil. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 45, n. 3, p. 328-332, 2007.

SARACINO, A. *et al.* Selection of antiretroviral therapy guided by genotypic or phenotypic resistance testing: an open-label, randomized, multicenter study (PhenGen). **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 37, n. 5, p. 1587-1598, 2004.

SAX, P. E. *et al.* Should resistance testing be performed for treatment-naive HIV-infected patients? A cost-effectiveness analysis. **Clin. Infect. Dis.**, v.41, p.1316-1323, 2005.

SCHNITTMAN, S. M. *et al.* Increasing viral burden in CD4+ T cells from patients with human immunodeficiency virus (HIV) infection reflects rapidly progressive immunosuppression and clinical disease. **Ann. Intern. Med.**, v.113, n.6, p.438-443, 1990.

SCHWARTZ, S. A.; NAIR, M. P. N. Current concepts in human immunodeficiency virus infection and AIDS. **Clin. Diag. Lab. Immunol.**, v. 6, p. 295-305, 1999.

SHAFER, R. Genotypic testing for HIV-1 drug resistance. **Clin. Microbiol. Rev.**, v.15, p. 247-277, 2002.

SHAFER, R. W. *et al.* HIV-1 protease and reverse transcriptase mutations for drug resistance surveillance. **AIDS**, v.21, n.2, p.215-223, 2007.

SHEPPARD, H. W. *et al.* The characterization of non-progressors: long-term HIV-1 infection with stable CD4+ T-cell levels. **AIDS**, v.7, n.9, p.1159-1166, 1993.

SHEARER, W. T. *et al.* Lymphocyte subsets in healthy children from birth through 18 years of age: The Pediatric AIDS Clinical Trials Group P1009 study. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 112, p. 973-980, 2003.

SIEGRIST, C. A. *et al.* Mother to child transmission of zidovudine-resistant HIV-1. **Lancet**, v. 344, p. 1771-1772, 1994.

SIMEN, B. B. *et al.* Low-Abundance Drug-Resistant Viral Variants in Chronically HIV-Infected, Antiretroviral Treatment–Naive Patients Significantly Impact Treatment Outcomes. **J. Infect. Dis.**, v. 199, p. 693-701, 2009.

SIMON, F. *et al.* Identification of a new human immunodeficiency virus type 1 distinct from group M and group O. **Nat. Med.**, v. 4, p.1032-1037, 1998.

SOARES, E. A. J. M. *et al.* HIV-1 subtype C dissemination in southern Brazil. **AIDS**, v. 19, suppl. 4, p. S81-S86, 2005.

STANLEY, S. K. *et al.* Human immunodeficiency virus infection of the human thymus and disruption of the thymic microenvironment in the SCID-hu mouse. **J. Exp. Med.**, v.178, n.4, p.1151-1163, 1993.

SPRINZ, E. *et al.* Primary antiretroviral drug resistance among HIV type 1-infected individuals in Brazil. **AIDS Res. Hum. Retroviruses**, v. 25, n. 9, p. 861-867, 2009.

STANLEY, S. K. *et al.* CD34+ bone marrow cells are infected with HIV in a subset of seropositive individuals. **J. Immunol.**, v.149, n.2, p.689-697, 1992.

STEFANI, M. M. *et al.* Evidence of HIV-1 genetic diversity among pregnant women with AIDS or infected with HIV-1 in Central Brazil. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 23, p. 205-207, 2000.

STERLING, T. R.; CHAISSON, R. E. General Clinical Manifestations of Human Immunodeficiency Virus Infection (Including the Acute Retroviral Syndrome and Oral, Cutaneous, Renal, Ocular, and Cardiac Diseases). In: MANDELL, G. L.; BENNETT, J. E.; DOLIN, R. **Principles and Practice of Infectious Diseases**, Philadelphia: Churchill Livingstone, 2010. cap. 121, p. 1705-1725.

STEVENS, S. W.; GRIFFITH, J. D. Human immunodeficiency virus type 1 may preferentially integrate into chromatin occupied by L1Hs repetitive elements. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v.91, n.12, p.5557-5561, 1994.

SUCUPIRA, M. C. A. *et al.* High levels of primary antiretroviral resistance genotypic mutations and B/F recombinants in Santos, Brazil. **Aids Patient Care and STDs**, v.21, n.2, p.116-128, 2007.

TAKEUCHI, Y.; NAGUMO, T.; HOSHINO, H. Low fidelity of cell-free DNA synthesis by reverse transcriptase of human immunodeficiency virus. **J. Virol.**, v. 65, p. 1710, 1991.

TANURI, A. *et al.* HIV-1 subtypes among blood donors from Rio de Janeiro, Brazil. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.**, v. 20, n. 1, p. 60-66, 1999.

TEIXEIRA, P. R.; VITÓRIA, M. A.; BARCAROLO, J. Antiretroviral treatment in resource-poor settings: the Brazilian experience. **AIDS**, v. 18, p. S5-S7, 2004.

THOMPSON, M. A. *et al.* Antiretroviral Treatment of Adult HIV Infection: 2010 Recommendations of the International AIDS Society-USA Panel. **JAMA**, v. 304, n. 3, p. 321-33, 2010.

TINDALL, B; COOPER, D. A. Primary HIV infection: host responses and intervention strategies. **AIDS**, v. 5, p. 1, 1991.

TOMASSELLI, A. G. & HEINRIKSON, R. L. Targeting the HIV–protease in AIDS therapy: a current clinical perspective. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 1477, p. 189-214, 2000.

TORRE, D.; TAMBINI, R. Antiretroviral drug resistance testing in patients with HIV-1 infection: a meta-analysis study. **HIV Clin. Trials**, v. 3, n. 1, p. 1-8, 2002.

TRKOLA, A. *et al.* CD4-dependent, antibody-sensitive interactions between HIV-1 and its coreceptor CCR-5. **Nature**, v.384, n.6605, p.184-187, 1996.

TUPINAMBÁS, U. *et al.* Treatment Switch Guided by HIV-1 Genotyping in Brazil. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 10, n. 2, p. 82-88, 2006.

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

UNAIDS. **Report on the global AIDS epidemic.** Geneva, 2008.

UNAIDS. **Aids epidemic update.** Geneva, 2009. Disponível em:
< <http://www.who.int/hiv/pub/epidemiology/epidemic/en/index.html>>. Acesso em: 21 Jan. 2010.

UNAIDS. Global Report. **Unaid Report on the Global AIDS Epidemic 2010**. Geneva, 2010. Disponível em: <http://www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/unaidspublication/2010/20101123_globalreport_en.pdf>. Acesso em: 16 de fevereiro de 2011.

VALENTIN, H. *et al.* Two subpopulations of human triple-negative thymic cells are susceptible to infection by human immunodeficiency virus type 1 in vitro. **J. Virol.**, v.68, n.5, p.3041-3050, 1994.

VARELLA, R. B. *et al.* Human Immunodeficiency Virus Type 1 Protease and Reverse Transcriptase Mutation Patterns Among Treatment-Naive Patients in Different Stages of Infection in Rio de Janeiro, Brazil. **J. Med. Virol.**, v. 79, p. 1033–1039, 2007.

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

VERCAUTEREN, J. *et al.* Transmission of drug-resistant HIV-1 is stabilizing in Europe. **J. Infect. Dis.**, v. 200, n. 10, p. 1503-1508, 2009.

VIANI, R. M. *et al.* Prevalence of Primary HIV-1 Drug Resistance among Recently Infected Adolescents: A Multicenter Adolescent Medicine Trials Network for HIV/Aids Interventions Study. **J. Infect. Dis.**, v.194, p.1505-1509, 2006.

VICENTE, A. C. P. *et al.* The HIV epidemic in the Amazon basin is driven by prototypic and recombinant HIV-1 subtypes B and F. **J. AIDS**, v. 23, p. 327-331, 2000.

VIOLIN, M. *et al.* Risk of failure in patients with 215 HIV-1 revertants starting their first thymidine analog-containing highly active antiretroviral therapy. **AIDS**, v.18, p.227-235, 2004.

WANG, C. *et al.* Characterization of mutation spectra with ultra-deep pyrosequencing: application to HIV-1 drug resistance. **Genome Res.**, v. 17, p. 1195–1201, 2007.

WEI, X. *et al.* Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. **Nature**, v.373, p.117-122, 1995.

WENSING, A. M. *et al.* Prevalence of drug-resistant HIV-1 variants in untreated individuals in Europe: implications for clinical management. **J. Infect. Dis.**, v.192, p.958-966, 2005.

WESTENDORP, M. O. *et al.* Sensitization of T cells to CD95-mediated apoptosis by HIV-1 Tat and gp120. **Nature**, v.375, n.6531, p.497-500, 1995.

WHO Network for HIV isolation and characterization: HIV type 1 variation in World Health Organization-sponsored vaccine evaluation sites: Genetic screening, sequence analysis and preliminary biological characterization of selected viral strains. **AIDS Res. Hum. Retroviruses**, v. 10, p. 1327-1343, 1994.

WIGG, M. D. Vírus da Imunodeficiência Humana. In: SANTOS, N. S. O.; ROMANOS, M. T. V.; WIGG, M. D. **Introdução à Virologia Humana**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. cap. 14, p. 410-47.

WILD, C.; GREENWELL, T.; MATTHEWS, T. A synthetic peptide from HIV-1 gp41 is a potente inhibitor of virus-mediated cell-cell fusion. **AIDS Res. Hum. Retroviruses**, v. 9, p. 1051-1053, 1993.

WILSON, J. W.; BEAN, P. A physician's primer to antiretroviral drug resistance testing. **AIDS Reader**, v.10, p.469-478, 2000.

WITTKOP, L. *et al.* Effect of transmitted drug resistance on virological and immunological response to initial combination antiretroviral therapy for HIV (EuroCoord-CHAIN joint project): a European multicohort study. *Lancet Infect Dis*. Published online Feb 28, 2011. DOI:10.1016/S1473-3099(11)70032-9.

YANG, C. *et al.* Genetic diversity of HIV-1 in Western Kenya: subtype-specific differences in mother-to-child transmission. **AIDS**, v.17. p.1667-1674, 2003.

YEBRA, G. *et al.* HIV-1 non-B subtypes: High transmitted NNRTI-resistance in Spain and impaired genotypic resistance interpretation due to variability. **Antiviral Res.**, v. 85, n. 2, p. 409-417, 2010.

ZHANG, J. *et al.* Comparison of the precision and sensitivity of the Antivirogram and PhenoSense HIV drug susceptibility assays. **J. Acquir. Immune Defic. Syndrome**, v. 38, p. 439-444, 2005.

ZOLOPA, A. *et al.* HIV-1 genotypic resistance patterns predict response to saquinavir-ritonavir therapy in patients in whom previous protease inhibitor therapy had failed. **Ann. Intern. Méd.**, v. 131, p. 813-821, 1999.

APÊNDICES

APÊNDICE A

RELATÓRIO DA ANÁLISE DAS SEQUÊNCIAS GENOTÍPICAS, POR MEIO DO SOFTWARE [Calibrated Population Resistance (*CPR*) Tool – versão 4.3 beta] DA UNIVERSIDADE DE STANFORD

HIV Drug Resistance Database

Página 1 de 13

STANFORD UNIVERSITY
HIV DRUG RESISTANCE DATABASE
A curated public database designed to represent, store, and analyze the divergent forms of data underlying HIV drug resistance.

[HOME](#) [GENOTYPE-RX](#) [GENOTYPE-PHENO](#) [GENOTYPE-CLINICAL](#) [HIVdb PROGRAM](#)

Section 1: CPR REPORT 17999_1247829511 ([click here for info about this section.](#))

Component	Type	Version
Drug resistance summary list	SDRM	2009
Reference sequence for alignment/mutations	HIVdb subtype B consensus sequence	1.0
Reference sequence set	STAR P58M reference sequences	1.1
Genotyping algorithm	STAR	1.1

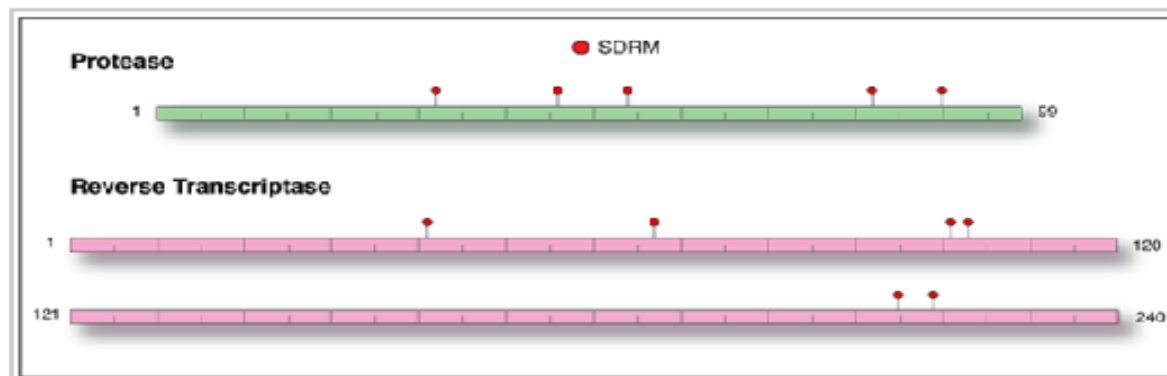
Section 2: SUMMARY OF INPUT SEQUENCE SET

Sequence Group	Number	Percent
Input Sequences	74	N/A
RT sequences	74	100.0
PR sequences	74	100.0
PRRT sequences	74	100.0
Hypermutated sequences	0	0.0

Section 3: SUMMARY OF RESISTANCE USING SDRM(2009) LIST ([click here for info.](#))

Resistance Category	Number	Percent
Sequences with any mutation	7	9.5
PR sequences with any PI mutation	3	4.1
RT sequences with any NRTI mutation	3	4.1
RT sequences with any NNRTI mutation	2	2.7
RT sequences with any NRTI and any NNRTI mutation	0	0.0
PRRT sequences with any NRTI mutation, any NNRTI mutation and any PI mutation (3-class resistance)	0	0.0

Section 4: GRAPHICAL OVERVIEW ([click here for info.](#))



Section 5: DRUG RESISTANCE MUTATION PREVALENCE BY LIST ([click here for info.](#))

SDRM(2009) mutation prevalences

Gene	Mutation	Class	Input dataset	Subtype A untreated (HIVdb)	Subtype B untreated (HIVdb)	Subtype C untreated (HIVdb)
RT	M41L	NRTI	2.70	0	0.3	0

RT	D67N	NRTI	2.70	0	0	0
RT	T215D	NRTI	1.35	0	0.4	0
RT	K219Q	NRTI	1.35	0.2	0	0
RT	K101E	NNRTI	1.35	0	0.2	0
RT	K103N	NNRTI	1.35	0.1	0.3	0.3
PR	∕82I	PI	1.35	0	0	0
PR	M46I	PI	4.05	0.4	0.4	0.2
PR	I54V	PI	1.35	0	0	0
PR	∕82T	PI	1.35	0	0	0
PR	L90M	PI	1.35	0.2	0.2	0.1

Section 6: DRUG RESISTANCE MUTATIONS BY LIST, SEQUENCE AND DRUG CLASS (click here for info.)
sequences with SDRM(2009) mutations

Sequence ID	PI Mutations	NRTI Mutations	NNRTI Mutations
16CED81007_16CED81007_16CED810	∕32I, M46I, I54V, ∕82T, L90M	M41L, D67N, T215D	
16CED81022R_16CED81022R_16CED8			K101E
16CED81050_16CED81050_16CED810	M46I		
16CED81058_16CED81058_16CED810			K103N
16CED91075R_16CED91075R_16CED9		D67N, K219Q	
16CED91083_16CED91083_16CED910		M41L	
16CED91070R_16CED91070R_16CED9	M46I		

Section 7: GENETIC DIVERSITY BY SEQUENCE

Sequence ID	Subtype	Z-score	PR mutations	RT mutations
16CED81006R_16CED81006R_16CED8	B	4.4	T12P, K14R, G16E, I72T	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V6X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V35X, E36X, I37X, A98S, K122E, D123N, I135T, G196E
16CED81007_16CED81007_16CED810	B	3.8	L10V, I13V, L19I, K20R, ∕82I, E35D, M36I, M46I, I54V, K55H, L63P, A71I, ∕82T, L90M	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V6X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V35X, E36X, I37X, M41L, V60I, D67N, K101Q, I135R, T139I, T200A, I202V, T215D, V245M
16CED81008_16CED81008_16CED810	B	3.5	I13V, P39S, R41K, L63P, A71V, I72T, V77I, R93L	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V6X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V35X, E36X, I37X, S48T, K122E, I135T, E169D, G196E, T200S, Q207D, R211K, V245A
16CED81009_16CED81009_16CED810	F	3.6	I15V, E35D, M36I, P39A, R41K, R57K, D60E, Q61D, L63P, I72V	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V6X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V35X, E36X, I37X, T39M, D123E, Q174R, I178V, G196E, T200A, Q207E, R211K, F214L, V245L
16CED81010_16CED81010_16CED810	B	4.9	I13V, N37S, L63P, V77I	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V6X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V35X, E36X, I37X, K101R, D123E, I135T, D177E, T200E, R211K
16CED81011_16CED81011_16CED810	B	4.5	E35D, M36I, R41K, R57K, L63P, I72V, R93L	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V6X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V35X, E36X, I37X, D123E, K166R, D177E, R211K

16CED81012R_16CED81012R_16CED8	B	4.2	I13V, M36I, R57K, I62V, L63P	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, I37X, E44D, V60I, A98S, D121Y, K122E, I135R, S162C, Q174K, D177E, V189I, T200A, Q207E
16CED81013_16CED81013_16CED810	C	5.2	T12S, I15V, M36I, N37K, R41N, H69K, L89M, I93L	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, I37X, T39D, S48T, V60I, K122E, D123S, D177E, I178L, T200A, I202V, Q207A, V245Q
16CED81014_16CED81014_16CED810	B	3.6	E35D, M36I, R57K, L63A, I72V	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, I37X, V60I, A98S, D121Y, K122E, D177E, D177G, T200A, Q207E, R211K, V245L
16CED81015_16CED81015_16CED810	C	4.9	K14R, I15V, G16A, M36I, N37K, R41N, H69K, I93L	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, I37X, T39E, K122E, I135V, T139I, A158S, K173A, D177E, T200A, I202V, E204K, R211K, F214L, L228H, V245Q
16CED81017_16CED81017_16CED810	B	4.2	I13V, K20R, L33V, M36I, P39T, R41K, R57K, I62V, L63P, I64V, E65D	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, I37X, S162C, V245M
16CED81020_16CED81020_16CED810	B	3.9	T12N, L19V, R41K, L63P, H69R, K70R, I72V, V77I, Q92H	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, I37X, V106I, T200A, R211K, F214L
16CED81021_16CED81021_16CED810	B	4.3	I13V, K14R, M36I, K43R, R57K, I62V, L63P	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, I37X, V60I, A98S, K104R, D121Y, K122E, I135T, Q174L, T200A, Q207E
16CED81022R_16CED81022R_16CED8	B	4.2	L10I, G16E, M36I, R57K, I62V, L63H, I93L	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, I37X, V60I, A98S, K101E, D121Y, K122E, I135R, T166I, D177E, I178L, V179I, T200A, Q207E
16CED81023_16CED81023_16CED810	B	4.0	I15V, L19T, M36I, K43R, I62V, L63H, H69Q, I72V	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, I37X, A158S, I178M, G196E, V245I
16CED81024R_16CED81024R_16CED8	B	4.6	L10V, T12P, L19I, L33I, L63P, I72T	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, I37X, T69S, A98S, I135T, R211K, V245E
16CED81025_16CED81025_16CED810	F	4.8	K14N, M36I, R41K, K55R, R57K, Q61N	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, I37X, T39S, K43R, K49R, I135V, S162C, E169D, K173A, Q174K, D177E, T200A, Q207D, R211K, V245Q
16CED81026_16CED81026_16CED810	B	4.8	T12S, L63P	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X,

				V024X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V05X, E36X, B7X, S08G, I135T, D177E, T200I, R211K
16CED81027_16CED81027_16CED810	B	4.2	E35D, K43T, R57K, L63A, A71T, V77I, V02I	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W024X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V05X, E36X, B7X, V60I, A08S, D121H, K122E, I135R, D177E, Q197R, T200A, Q207A, R211K, V245E
16CED81028_16CED81028_16CED810	B	4.1	E35D, L63P, H69Q, I72V	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W024X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V05X, E36X, B7X, V106I, K122E, I135T, V179D, I202V, R211K, F214L, V245I
16CED81029_16CED81029_16CED810	B	4.5	I13V, K14R, I15V, N37D, L63P, I72M	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W024X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V05X, E36X, B7X, K49R, E53D, I135T, D177E, I178M, T200A, Q207E
16CED81030_16CED81030_16CED810	B	4.2	G16E, L63C, I72V, V77I	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W024X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V05X, E36X, B7X, K43D, K49R, K103R, I135T, R211K, F214L, V245E
16CED81032_16CED81032_16CED810	B	4.4	T12P, I15V, L19I, E35D, M36I, L63P, I72E, I93L	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W024X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V05X, E36X, B7X, T39A, D123E, I135T, K173N, Q174K, T200A, R211A, F214L, V245E
16CED81033_16CED81033_16CED810	B	4.0	T12S, K14R, I15V, L19T, N37C, R41K, L63P, H69Q	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W024X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V05X, E36X, B7X, I135T, I195K, G196E, Q197E, T200I, F214L
16CED81037_16CED81037_16CED810	B	4.5	N37S, L63P, H69Q, V77I	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W024X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V05X, E36X, B7X, K122E, D123S, I135T, S162C, T200A, E203D, R211K
16CED81038_16CED81038_16CED810	B	3.9	I13V, L63H, I72V, V77I	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W024X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V05X, E36X, B7X, D113N, K122E, D123S, I135V, D177E, I178V, E204K, V245M
16CED81042_16CED81042_16CED810	B	4.2	L19Q, N37S, L63P	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W024X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V05X, E36X, B7X, T39K, V60I, K104N, K122P, I135V, I142V, D177E, T200I, F214L, V245M
16CED81043_16CED81043_16CED810	B	4.4	L19I, L63P, H69Q, V77I	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W024X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V05X, E36X, B7X, V60I, V106I, D123E, I135T, T139A, K166R, P176S, I202V, Q207E, R211K, F214L
16CED81044_16CED81044_16CED810	B	4.3	I13V, M36I, R57K, I62V, L63P, H69Y	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W024X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V05X, E36X, B7X, V60I,

				A98S, D121Y, K122E, D177E, I178M, T200A, Q207E
16CED81045_16CED81045_16CED810	B	4.1	T12I, K14R, R41K, D60E, I62V, L63P, H69Q, V77I	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V35X, E36X, I37X, T39S, S68G, K102Q, D121H, K122E, I135T, S162C, D177E, I178L, V179I, T200A, K201R, I202V, R211K, V246M
16CED81046_16CED81046_16CED810	B	4.1	K14R, G17E, L63C, L89F, I93L	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V35X, E36X, I37X, K122E, D123N, I135T, D177E, I202V, F214L
16CED81047_16CED81047_16CED810	B	4.2	L10I, P39A, D60E, Q61G, L63T, I72T, V77I, I93L	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V35X, E36X, I37X, R83K, K104R, D123E, I135T, D177E
16CED81049_16CED81049_16CED810	B	4.6	K14R, L19I, N37S, L63C	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V35X, E36X, I37X, K64R, K122E, I135T, S162C, I178L, V179I, Q197L
16CED81050_16CED81050_16CED810	B	4.2	L10V, I13V, K20L, E35D, M36I, M46I, R57K, Q58E, I62V, L63P, I64V, E65D, T74K, V77I, I93L	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V35X, E36X, I37X, S68N, K102Q, I135V, S162C, T200I, R211K, T215L, V246Q
16CED81053_16CED81053_16CED810	B	4.6	I15V, N37A, L63C, V77I	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V35X, E36X, I37X, K64R, S162C, I178L, Q197L, E204D, R211K, V246M
16CED81054_16CED81054_16CED810	B	4.2	T12V, I13V, I15V, R41K, L63S, I64V	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V35X, E36X, I37X, S68G, K122E, I135T, S162C, T200A, V246M
16CED81055_16CED81055_16CED810	B	4.0	L10I, I13V, K20M, M36I, K55R, R57K, L63A, Q67D, I72V	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V35X, E36X, I37X, V60I, A98S, D121Y, K122E, D177E, T200A, E204K, Q207E, P243S, V246E
16CED81057_16CED81057_16CED810	B	4.7	L19I, N37D, I62V, L63A	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V35X, E36X, I37X, T165I, D177E, I178L, T200I, R211K, V246K
16CED81058_16CED81058_16CED810	F	5.0	T12N, E35D, M36I, R41K, R57K, D60E, Q61N, V77I, L89M, I93L	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V35X, E36X, I37X, T39R, V60I, K103N, K122E, I135T, I142T, S162C, E169D, K173A, Q174K, I178L, Q207D, R211K, V246Q
16CED81061_16CED81061_16CED810	B	4.6	N37T, N37S, P39S, L63P, V77I	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V35X, E36X, I37X, K64R, A98S, I142L, T165I, K166R, D177G, Q197P, Q207K, R211Q
16CED90089_16CED90089_16CED900	B	4.6	L19I, E35D, N37S,	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X,

			L63P, V77I	V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V35X, E36X, B7X, V90I, K103T, K122E, I135M, E138A, I142V, S162A, D177E, R211K, V245E
16CED91062R_16CED91062R_16CED9	B	4.4	N37T, I62V, L63P, H69K	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V35X, E36X, B7X, D123E, I142V, D177E, P243S, V245T
16CED91063_16CED91063_16CED910	B	3.6	I15V, M36I, N37D, R57K, L63P, I93L	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V35X, E36X, B7X, V60I, K64R, A98S, D121Y, K122E, I135R, K166R, D177E, G196E, T200A, Q207E
16CED91064_16CED91064_16CED910	B	3.6	L19I, E35D, M36I, R57K, L63P, I64L, I93L	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V35X, E36X, B7X, I135T, I202V, R211K, V245T
16CED91065_16CED91065_16CED910	B	4.2	E35D, M36I, N37S, I62V, L63P, I64L	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V35X, E36X, B7X, A62V, E138A, K166R, G196R, T200A, I202V, R211K, V245T
16CED91067_16CED91067_16CED910	B	4.0	L19V, M36L, N37S, K43R, R57K, I62V, L63P, I72L	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V35X, E36X, B7X, V60I, K64R, A98S, K104R, D121Y, K122E, D123G, Q174L, D177E, T200A, Q207E
16CED91069_16CED91069_16CED910	B	4.6	N37S, I64V, I72L, V77I	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V35X, E36X, B7X, D121Y, K122E, V179I, T200I
16CED91073_16CED91073_16CED910	B	3.8	L10I, N37Q, R57K, L63P, C67D, H69C, V77I	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V35X, E36X, B7X, K64R, K122E, D123A, K173R, I178M, V189I, Q197R, T200A, V245L
16CED91075R_16CED91075R_16CED9	B	4.4	I15V, N37D, R41K, R57K, C67S, I72V, V77I	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V35X, E36X, B7X, D67N, W68F, K102E, V118I, K122E, I135T, N175Y, V189I, T200A, I202V, F214L, T215L, K219Q
16CED91077_16CED91077_16CED910	B	4.2	I13V, M36I, N37D, R57K, V59F, D60E, I62V, L63P, C67S	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V35X, E36X, B7X, V60I, A98S, D177E, T200A, K201E, E204K, Q207E
16CED91079_16CED91079_16CED910	C	5.2	I15V, N37K, R41N, H69K, V77I, L89M, I93L	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V35X, E36X, B7X, S48T, K122E, D123N, I142T, A158S, K166R, K173T, D177E, T200A, Q207K, Q207E, R211K, V245Q
16CED91081_16CED91081_16CED910	B	4.1	M36I, R57K, I62V, L63P, C67D	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X,

					W04X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, B7X, K49R, V60I, A98S, D121Y, K122E, Q174E, T200A, V246K
16CED91083_16CED91083_16CED910	F	4.3	T12A, K20R, E35D, M36I, R41K, R57K, Q61N, L63P, I64L		P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W04X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, B7X, M41L, D123E, E169D, K173A, Q174K, G196E, T200I, Q207D, R211K, F214L, V246Q
16CED91085_16CED91085_16CED910	B	4.5	T12S, L19V, N37S, R41K, V59F, L63P, V77L, Q92E		P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W04X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, B7X, D121Y, K122E, I135T, T200E, F214L, V246E
16CED91090_16CED91090_16CED910	B	4.5	T12S, K14R, L19Q, L63P, V77I, P79D		P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W04X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, B7X, V60I, K104N, D123E, I135L, T139A, D177E, T200A
16CED91101_16CED91101_16CED911	B	4.8	N37D, R41K, L63P, I93L		P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W04X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, B7X, V60I, D123E, E169D, F171Y, G196E, T200A, Q207E, F214L
16CED91103_16CED91103_16CED911	B	3.8	M36I, N37S, R41K, I62V, L63P, I72M		P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W04X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, B7X, E169D, D177E, T200E, I202V, E204D, F214L
16CED91104R_16CED91104R_16CED9	CRF_28	3.1	T12I, I15V, G16E, E35D, M36I, R41K, R57K, D60E, Q61N, I62V, I72T		P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W04X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, B7X, V60I, K122E, I135R, K173E, V179I, I202V, Q207E, V246A
16CED91108R_16CED91108R_16CED9	B	3.9	L19V, M36L, N37S, K43R, R57K, I62V, L63P, I72L		P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W04X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, B7X, V60I, K64R, A98S, K104R, D121Y, K122E, D123G, Q174L, D177E, T200A, Q207E
16CED91111_16CED91111_16CED911	B	4.1	T12A, I13V, I15V, E35D, L63T, I72V		P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W04X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, B7X, S68G, K122R, I135T, T200A, Q207R, V246K
16CED91113_16CED91113_16CED911	B	4.3	R41K, I62V, L63P, K70Q, I72L, I93L		P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W04X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, B7X, T84A, I135T, I178M, Q207E, R211K
16CED80265R_16CED80265R_16CED8	F	5.0	I15V, L19V, E35D, M36I, R41K, R57K, Q61D		P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W04X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, B7X, T39K, I142T, S162C, K173I, Q174K, Q207A, R211K, V246Q
16CED80279R_16CED80279R_16CED8	B	4.8	G17D, K20R, D60E, L63P, I64V		P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W04X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, B7X, K122E, D123N, D123S, D177E, T200A, R211K, V246M
16CED80302_16CED80302_16CED803	B	4.7	E35D, M36I, I62V,		P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X,

			L63P, H69Q	V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, B7X, K102Q, I135T, S162C, D177E, R211K
16CED90035_16CED90035_16CED900	B	3.8	L10V, T12A, I13V, K14R, M36I, R41K, I64V	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, B7X, D121H, K122E, D123E, I135T, D177E, G196K, T200I, R211K, V245K
16CED90060_16CED90060_16CED900	B	3.5	M36I, R57K, L63P, I64V, K70R	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, B7X, V60I, D86E, A98S, D121Y, K122E, D123N, I135R, S163T, D177E, V179I, T200A, T200V, Q207K, V245L
16CED90072_16CED90072_16CED900	B	4.2	L10I, G16E, E35D, I62V, I72T, I93L	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, B7X, K122E, D123E, I135T, I142V, D177E, G196E, T200A, Q207K, R211M, R211V, V245I
16_16_16__SiemensDiagnosticsnu	B	4.2	I13V, M36I, N37D, R57K, Y59F, D60E, I62V, L63P, C67S, H69Y, I72V	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, B7X, V60I, A98S, D121Y, K122E, I159V, D177E, T200A, Q207E, R211K, V245E
39_39_39__SiemensDiagnosticsnu	C	5.1	K14R, I15V, G16E, N37K, R41N, H69K, I93L	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, B7X, T39D, S48T, K122E, D123N, K173A, D177E, D177G, T200E, R211K, V245Q
112_112_112__SiemensDiagnostic	B	4.2	K20R, E35D, M36I, R41K, L63P, H69K, A71T, I93L	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, B7X, I135T, Q174H, R211K, V246M
16CED80230_16CED80230_16CED802	B	4.1	L10V, L19I, R41K, L63P, H69Q, V77I	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, B7X, V60I, K122E, I135T, D177E, I178V, T200A, I202V, Q207G, R211K, F214L
16CED80244_16CED80244_16CED802	B	3.5	M36I, N37D, R57K, L63P, I64L	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, B7X, V60I, A98S, D121Y, K122E, D123E, I135R, G196E, T200A, Q207E
16CED91070R_16CED91070R_16CED9	F	5.0	K14R, M36I, R41K, M46I, R57K, Q61N, I72T, V82I, L89M, I93L	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, B7X, I135L, S162H, E169D, K173A, Q174K, T200A, Q207K, R211A, V245Q
16CED90121_16CED90121_16CED901	B	3.7	T12A, I15V, L19Q, M36I, N37D, R57K, L63P, K70R, V82I	P1X, I2X, S3X, P4X, I5X, E6X, T7X, V8X, P9X, V10X, K11X, L12X, K13X, P14X, G15X, M16X, D17X, G18X, P19X, K20X, V21X, K22X, Q23X, W24X, P25X, L26X, T27X, E28X, E29X, K30X, I31X, K32X, A33X, L34X, V65X, E36X, B7X, K122E, D123S, I135T, S162C, D177E, I178M, T200A, E204K, I210F, R211S, V245E

Section 8: Resistance algorithm

PR drug resistance algorithm results

Sequence ID	ATV#	DRV#	FPV#	IDV#	LPV#	NFV	SQV#	TPV#
16CED81006R_16CED81006R_16CED8	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81007_16CED81007_16CED810	5	4	5	5	5	5	5	5
16CED81008_16CED81008_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81009_16CED81009_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81010_16CED81010_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81011_16CED81011_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81012R_16CED81012R_16CED8	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81013_16CED81013_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81014_16CED81014_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81015_16CED81015_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81017_16CED81017_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81020_16CED81020_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81021_16CED81021_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81022R_16CED81022R_16CED8	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81023_16CED81023_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81024R_16CED81024R_16CED8	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81025_16CED81025_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81026_16CED81026_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81027_16CED81027_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81028_16CED81028_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81029_16CED81029_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81030_16CED81030_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81032_16CED81032_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81033_16CED81033_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81037_16CED81037_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81038_16CED81038_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81042_16CED81042_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81043_16CED81043_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81044_16CED81044_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81045_16CED81045_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81046_16CED81046_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81047_16CED81047_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81049_16CED81049_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81050_16CED81050_16CED810	3	1	2	2	2	4	1	3
16CED81053_16CED81053_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81054_16CED81054_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81055_16CED81055_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81057_16CED81057_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81058_16CED81058_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81061_16CED81061_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED90089_16CED90089_16CED900	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91062R_16CED91062R_16CED9	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91063_16CED91063_16CED910	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91064_16CED91064_16CED910	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91065_16CED91065_16CED910	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91067_16CED91067_16CED910	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91069_16CED91069_16CED910	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91073_16CED91073_16CED910	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91075R_16CED91075R_16CED9	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91077_16CED91077_16CED910	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91079_16CED91079_16CED910	1	1	1	1	1	1	1	1

16CED91081_16CED91081_16CED910	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91083_16CED91083_16CED910	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91085_16CED91085_16CED910	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91090_16CED91090_16CED910	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91101_16CED91101_16CED911	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91103_16CED91103_16CED911	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91104R_16CED91104R_16CED9	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91108R_16CED91108R_16CED9	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91111_16CED91111_16CED911	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91113_16CED91113_16CED911	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED80265R_16CED80265R_16CED8	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED80279R_16CED80279R_16CED8	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED80302_16CED80302_16CED803	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED90035_16CED90035_16CED900	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED90060_16CED90060_16CED900	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED90072_16CED90072_16CED900	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16_16_16_SiemensDiagnosticsnu	1	1	1	1	1	1	1	1	1
39_39_39_SiemensDiagnosticsnu	1	1	1	1	1	1	1	1	1
112_112_112_SiemensDiagnostic	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED80230_16CED80230_16CED802	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED80244_16CED80244_16CED802	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91070R_16CED91070R_16CED9	2	1	2	2	2	4	1	1	1
16CED90121_16CED90121_16CED901	1	1	1	1	1	1	1	1	1

RT drug resistance algorithm results

Sequence ID	3TC	ABC	AZT	D4T	DDI	FTC	TDF	DLV	EFV	ETR	NVP
16CED81006R_16CED81006R_16CED8	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81007_16CED81007_16CED810	1	4	4	4	4	1	3	1	1	1	1
16CED81008_16CED81008_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81009_16CED81009_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81010_16CED81010_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81011_16CED81011_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81012R_16CED81012R_16CED8	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81013_16CED81013_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81014_16CED81014_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81015_16CED81015_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81017_16CED81017_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81020_16CED81020_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81021_16CED81021_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81022R_16CED81022R_16CED8	1	1	1	1	1	1	1	4	3	3	4
16CED81023_16CED81023_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81024R_16CED81024R_16CED8	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81025_16CED81025_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81026_16CED81026_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81027_16CED81027_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81028_16CED81028_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2
16CED81029_16CED81029_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81030_16CED81030_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81032_16CED81032_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81033_16CED81033_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81037_16CED81037_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81038_16CED81038_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81042_16CED81042_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

16CED81043_16CED81043_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81044_16CED81044_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81045_16CED81045_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81046_16CED81046_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81047_16CED81047_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81049_16CED81049_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81050_16CED81050_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81053_16CED81053_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81054_16CED81054_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81055_16CED81055_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81057_16CED81057_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED81058_16CED81058_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	5	5	2	5	
16CED81061_16CED81061_16CED810	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED90089_16CED90089_16CED900	1	1	1	1	1	1	1	5	5	3	5	
16CED91062R_16CED91062R_16CED9	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91063_16CED91063_16CED910	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91064_16CED91064_16CED910	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91065_16CED91065_16CED910	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91067_16CED91067_16CED910	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91069_16CED91069_16CED910	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91073_16CED91073_16CED910	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91075R_16CED91075R_16CED9	1	2	4	3	2	1	1	1	1	1	1	1
16CED91077_16CED91077_16CED910	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91079_16CED91079_16CED910	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91081_16CED91081_16CED910	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91083_16CED91083_16CED910	1	2	3	3	2	1	2	1	1	1	1	1
16CED91085_16CED91085_16CED910	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91090_16CED91090_16CED910	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91101_16CED91101_16CED911	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91103_16CED91103_16CED911	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91104R_16CED91104R_16CED9	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91108R_16CED91108R_16CED9	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91111_16CED91111_16CED911	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91113_16CED91113_16CED911	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED80265R_16CED80265R_16CED8	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED80279R_16CED80279R_16CED8	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED80302_16CED80302_16CED803	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED90035_16CED90035_16CED900	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED90060_16CED90060_16CED900	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED90072_16CED90072_16CED900	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16_16_16__SiemensDiagnosticnu	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
39_39_39__SiemensDiagnosticnu	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
112_112_112__SiemensDiagnostic	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED80230_16CED80230_16CED802	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED80244_16CED80244_16CED802	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED91070R_16CED91070R_16CED9	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16CED90121_16CED90121_16CED901	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Section 9: SEQUENCE SET QUALITY ASSESSMENT[\(click here for info.\)](#)

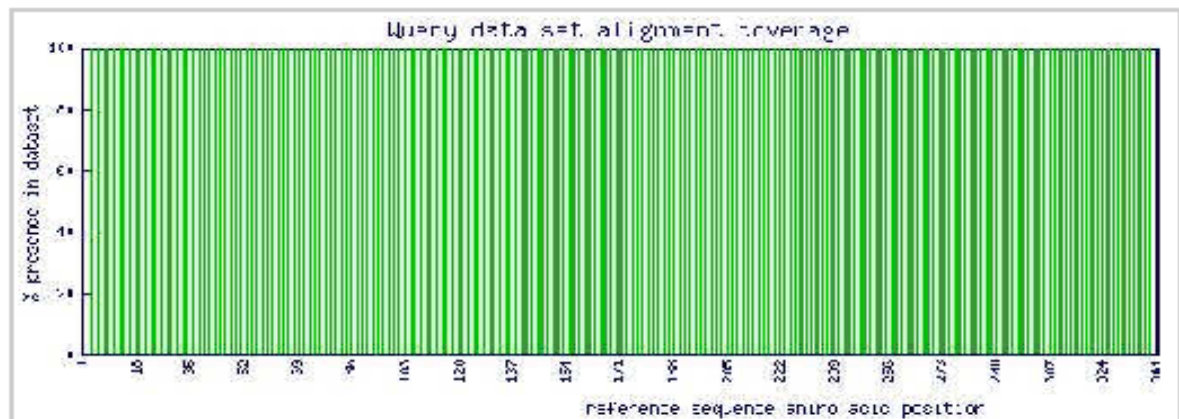
Sequence QA statistics

sequence ID	% identity	# stops	# frameshifts	atypical mutations	A3GD mutations	PR start	PR end	RT start	RT end
16CED81006R_16CED81006R_16CED8	86%	0	0	37	0	4	99	38	247

16CED81007_16CED81007_16CED810	81%	0	0	40	0	4	99	38	247
16CED81008_16CED81008_16CED810	82%	0	0	39	0	4	99	38	247
16CED81009_16CED81009_16CED810	83%	0	0	38	0	4	99	38	247
16CED81010_16CED81010_16CED810	84%	0	0	37	0	4	99	38	247
16CED81011_16CED81011_16CED810	82%	0	0	37	0	4	99	38	247
16CED81012R_16CED81012R_16CED8	83%	0	0	37	0	4	99	38	247
16CED81013_16CED81013_16CED810	83%	0	0	37	0	4	99	38	247
16CED81014_16CED81014_16CED810	83%	0	0	37	0	4	99	38	247
16CED81015_16CED81015_16CED810	79%	0	0	38	0	4	99	38	247
16CED81017_16CED81017_16CED810	85%	0	0	38	0	4	99	38	247
16CED81020_16CED81020_16CED810	84%	0	0	39	0	4	99	38	247
16CED81021_16CED81021_16CED810	83%	0	0	38	0	4	99	38	247
16CED81022R_16CED81022R_16CED8	83%	0	0	37	0	4	99	38	247
16CED81023_16CED81023_16CED810	85%	0	0	37	0	4	99	38	247
16CED81024R_16CED81024R_16CED8	85%	0	0	37	0	4	99	38	247
16CED81025_16CED81025_16CED810	82%	0	0	38	0	4	99	38	247
16CED81026_16CED81026_16CED810	86%	0	0	37	0	4	99	38	247
16CED81027_16CED81027_16CED810	83%	0	0	38	0	4	99	38	247
16CED81028_16CED81028_16CED810	79%	0	0	37	0	4	99	38	247
16CED81029_16CED81029_16CED810	83%	0	0	37	0	4	99	38	247
16CED81030_16CED81030_16CED810	85%	0	0	37	0	4	99	38	247
16CED81032_16CED81032_16CED810	83%	0	0	39	0	4	99	38	247
16CED81033_16CED81033_16CED810	84%	0	0	38	0	4	99	38	247
16CED81037_16CED81037_16CED810	85%	0	0	37	0	4	99	38	247
16CED81038_16CED81038_16CED810	82%	0	0	38	0	4	99	38	247
16CED81042_16CED81042_16CED810	85%	0	0	38	0	4	99	38	247
16CED81043_16CED81043_16CED810	82%	0	0	38	0	4	99	38	247
16CED81044_16CED81044_16CED810	83%	0	0	37	0	4	99	38	247
16CED81045_16CED81045_16CED810	82%	0	0	38	0	4	99	38	247
16CED81046_16CED81046_16CED810	85%	0	0	38	0	4	99	38	247
16CED81047_16CED81047_16CED810	85%	0	0	39	0	4	99	38	247
16CED81049_16CED81049_16CED810	86%	0	0	38	0	4	99	38	247
16CED81050_16CED81050_16CED810	81%	0	0	41	0	4	99	38	247
16CED81053_16CED81053_16CED810	83%	0	0	38	0	4	99	38	247
16CED81054_16CED81054_16CED810	82%	0	0	38	0	4	99	38	247
16CED81055_16CED81055_16CED810	83%	0	0	38	0	4	99	38	247
16CED81057_16CED81057_16CED810	86%	0	0	37	0	4	99	38	247
16CED81058_16CED81058_16CED810	81%	0	0	37	0	4	99	38	247
16CED81061_16CED81061_16CED810	84%	0	0	39	0	4	99	38	247
16CED90089_16CED90089_16CED900	83%	0	0	37	0	4	99	38	247
16CED91062R_16CED91062R_16CED9	85%	0	0	37	0	4	99	38	247
16CED91063_16CED91063_16CED910	82%	0	0	37	0	4	99	38	247
16CED91064_16CED91064_16CED910	85%	0	0	37	0	4	99	38	247
16CED91065_16CED91065_16CED910	84%	0	0	38	0	4	99	38	247
16CED91067_16CED91067_16CED910	83%	0	0	39	0	4	99	38	247
16CED91069_16CED91069_16CED910	86%	0	0	38	0	4	99	38	247
16CED91073_16CED91073_16CED910	83%	0	0	42	0	4	99	38	247
16CED91075R_16CED91075R_16CED9	81%	0	0	41	0	4	99	38	247
16CED91077_16CED91077_16CED910	83%	0	0	39	0	4	99	38	247
16CED91079_16CED91079_16CED910	82%	0	0	37	0	4	99	38	247
16CED91081_16CED91081_16CED910	83%	0	0	38	0	4	99	38	247
16CED91083_16CED91083_16CED910	82%	0	0	37	0	4	99	38	247
16CED91085_16CED91085_16CED910	84%	0	0	40	0	4	99	38	247
16CED91090_16CED91090_16CED910									

	83%	0	0	39	0	4	99	38	247
16CED91101_16CED91101_16CED911	85%	0	0	37	0	4	99	38	247
16CED91103_16CED91103_16CED911	85%	0	0	37	0	4	99	38	247
16CED91104R_16CED91104R_16CED9	82%	0	0	38	0	4	99	38	247
16CED91108R_16CED91108R_16CED9	83%	0	0	39	0	4	99	38	247
16CED91111_16CED91111_16CED911	85%	0	0	38	0	4	99	38	247
16CED91113_16CED91113_16CED911	85%	0	0	40	0	4	99	38	247
16CED80265R_16CED80265R_16CED8	83%	0	0	37	0	4	99	38	247
16CED80279R_16CED80279R_16CED8	82%	0	0	38	0	4	99	38	247
16CED80302_16CED80302_16CED803	84%	0	0	37	0	4	99	38	247
16CED90035_16CED90035_16CED900	84%	0	0	37	0	4	99	38	247
16CED90060_16CED90060_16CED900	82%	0	0	38	0	4	99	38	247
16CED90072_16CED90072_16CED900	84%	0	0	39	0	4	99	38	247
16_16_16__SiemensDiagnosticsnu	83%	0	0	39	0	4	99	38	247
39_39_39__SiemensDiagnosticsnu	84%	0	0	37	0	4	99	38	247
112_112_112__SiemensDiagnostic	84%	0	0	37	0	4	99	38	247
16CED80230_16CED80230_16CED802	80%	0	0	37	0	4	99	38	247
16CED80244_16CED80244_16CED802	84%	0	0	37	0	4	99	38	247
16CED91070R_16CED91070R_16CED9	82%	0	0	38	0	4	99	38	247
16CED90121_16CED90121_16CED901	82%	0	0	38	0	4	99	38	247

Coverage overview



[click here to retrieve the alignment \(FASTA format\)](#)

The Team

- [Who We Are & How to Contact Us](#)
- [Publications](#)
- [Acknowledgements](#)

The Data

- [User Guide & Database Documents](#)
- [Database Statistics](#)
- [HIV Treatment Web sites](#)
- [Additional Resources](#)

© 1998-2005. All Rights Reserved. Questions? Contact [HIVDB](#)

APÊNDICE B

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO “CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DO HIV-1 NO ESTADO DO CEARÁ: PERFIL DE RESISTÊNCIA PRIMÁRIA E SUBTIPO”

INTRODUÇÃO: Você está sendo convidado para participar deste estudo de pesquisa que será conduzido em Fortaleza-CE, Brasil. Este é um estudo destinado a pessoas infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), que ainda não começaram tratamento contra o vírus (anti-retrovirais) e está sendo conduzido pelo médico abaixo mencionado.

Nome do Investigador: ÉRICO ANTONIO GOMES DE ARRUDA

Endereço do Investigador: Rua Nestor Barbosa, 315. Parquelândia. Fortaleza-Ce.
CEP: 60.455-610.

Telefone do Investigador: (85) 3101-2339 e 8858-3766.

Fax do Investigador: (85) 3101-2352.

A pesquisa foi avaliada e autorizada pelo Comitê de Ética em Pesquisa (grupo de profissionais que analisam e emitem parecer sob projetos de pesquisa, com intuito de proteger as pessoas que participam dos experimentos – pacientes ou sujeitos) do Hospital São José de Doenças Infecciosas.

FINALIDADE DO ESTUDO: O estudo pretende conhecer a resistência do HIV aos medicamentos anti-retrovirais, mesmo antes dos pacientes fazerem uso deles (resistência primária) e conhecer os subtipos (formas) do vírus que estão infectando as pessoas ainda não tratadas. Aproximadamente 100 (cem) pacientes adultos, dos dois sexos, participarão deste estudo.

PROCEDIMENTOS DO ESTUDO: Se concordar em participar e assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, após ter sido totalmente informado de como será realizado o estudo:

1) Serão verificados dados do seu prontuário médico e anotados em uma ficha do estudo;

2) Será colhida uma pequena quantidade de sangue de sua veia (aproximadamente 10ml – ou o conteúdo de uma seringa cheia), na mesma picada que já será utilizada para coleta de outros exames necessários para o seu acompanhamento médico. Esse sangue será utilizado para fazer os exames que identificam se o vírus já apresenta resistência aos remédios que o combatem (Genotipagem) e para conhecer o subtipo (forma) do vírus que lhe infecta. Esses exames serão realizados nos Laboratórios das Instituições envolvidas do Ceará

(Laboratório da Unidade de Pesquisas Clínicas do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará e Laboratório Central da Secretaria da Saúde do Estado do Ceará) e em São Paulo (Laboratório de Retrovirologia da Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina). Parte desse sangue será guardada no Laboratório da Unidade de Pesquisas Clínicas do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, para analisar a resistência do vírus a novos medicamentos que estarão disponíveis no futuro. Uma cópia do resultado desses exames será colocada no seu prontuário médico e poderá ser analisada pelo médico que lhe acompanha, mas não podemos dizer ao certo em quanto tempo esses resultados estarão disponíveis, por tratar-se de uma pesquisa.

RISCOS E DESCONFORTO: A coleta de exames de sangue está relacionada a desconforto pela dor ocasionada pela picada da agulha. É possível que possa ocorrer no local da picada, formação de hematomas ou equimoses (extravasamento de sangue para a pele e tecidos mais profundos) e, mais raramente, infecções das veias (flebitis supurativas) ou da pele e tecidos mais profundos (celulite). Lembramos que as pessoas que fazem acompanhamento médico por estarem infectadas pelo HIV, normalmente precisam colher sangue para exames de rotina e a coleta do material do estudo será realizada no mesmo momento da picada para coleta de sangue para aqueles exames.

BENEFÍCIOS: Você pode não ser beneficiado pela participação neste estudo, mas o conhecimento adquirido pode beneficiar outros portadores de infecção pelo HIV. Mas, se for detectada resistência do vírus que lhe adoece, é possível tratá-lo com medicamentos mais adequados. Você não terá nenhum custo por honorários profissionais e pelos exames laboratoriais.

SIGILO: Você tem direito à privacidade. Todas as informações obtidas neste estudo que possam ser identificadas com seu nome permanecerão confidenciais. Seu nome não será revelado em qualquer relatório ou publicação resultantes deste estudo.

PARTICIPACÃO VOLUNTÁRIA: Sua decisão em participar deste estudo é voluntária. Caso você decida não participar, nenhuma restrição ao seu acompanhamento será feita. Caso decida participar e depois queira desistir, também não lhe será imposta qualquer punição ou restrição. Sua retirada do estudo não afetará seus cuidados médicos futuros.

COMPENSAÇÃO: Não haverá nenhum tipo de compensação, financeira ou de outra ordem, para sua participação neste estudo.

ARMAZENAMENTO DE SANGUE: Por tratar-se de um estudo que analisa uma situação nova (possibilidade de resistência primária do HIV) e pela perspectiva de novos medicamentos anti-retrovirais serem lançados no futuro, uma pequena quantidade de seu sangue será guardada, congelada, para possíveis exames que possam ser necessários numa análise adicional, no laboratório do Instituto de Biomedicina e Unidade de Pesquisas Clínicas (IBIMED-UPC) do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará. Caso haja necessidade de analisar algum outro aspecto do vírus do seu sangue, além da resistência aos medicamentos anti-retrovirais e do subtipo (forma) do vírus, já comentados, isso não será realizado sem seu prévio conhecimento e autorização. Caso isso seja necessário, você será novamente contactado, para analisar seu interesse em consentir que seu sangue seja utilizado e, para isso, será lhe apresentado um novo documento (novo Termo de Consentimento) explicando que tipo de exame será realizado, para que você possa autorizar, assinando o mesmo. E isso só será feito se o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital São José de Doenças Infecciosas autorizar.

DIREITOS DO PACIENTE DA PESQUISA: Se você tem qualquer dúvida sobre os procedimentos deste estudo, você pode entrar em contato com o Dr. Érico Arruda, pelos telefones apresentados no início deste documento, ou também contatar o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital São José, pelo telefone 3472-5881.

DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO: Eu li este formulário de consentimento. Tive a oportunidade de perguntar todas as dúvidas relativas ao estudo. As questões foram respondidas em linguagem de fácil compreensão. Foram explicados os riscos e benefícios do estudo. **Estou ciente que receberei uma cópia do formulário de consentimento livre e esclarecido, após assiná-lo.** Concordo voluntariamente em participar deste estudo.

NOME DO PACIENTE

RG (CARTEIRA DE IDENTIDADE) DO PACIENTE

ASSINATURA DO PACIENTE

DATA DA ASSINATURA DESTE DOCUMENTO ____/____/____

NOME DO INVESTIGADOR

ASSINATURA DO INVESTIGADOR

DATA DA ASSINATURA DESTE DOCUMENTO ____/____/____

APÊNDICE C

FICHA PROTOCOLAR

“CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DO HIV-1 NO ESTADO DO CEARÁ: PERFIL DE RESISTÊNCIA PRIMÁRIA E SUBTIPO.”

FICHA PROTOCOLAR-DADOS INICIAIS

Data da Primeira Consulta no Protocolo: ____/____/____

Número Protocolo: (colar etiqueta)

Iniciais: ___!___!___ **Prontuário:** _____ **DN:** ____/____/____ **Idade:** _____

Telefones de contato: (____) _____ e (____) _____

Sexo () M () F **Gestante:** () Sim () Não

Residência: () Interior () Capital

Nos Últimos 5 anos morou em outra cidade: () Sim Qual _____ () Não

Onde você acha que se infectou? _____

Diagnóstico HIV (mês/ano): ____/____ () IGN

Forma de transmissão mais provável: () Homossexual () Heterossexual () Drogas EV
() Transfusão () Outras: _____

Estado Clínico atual: () Assintomático () Sintomático:

() Perda de peso (>10%PH) () Candidíase oral () Candidíase Esofágica
() Dermatite seborréica () Dermatite eosinofílica () Herpes Zoster () Sd. Diarréica
() Pneumocistose () SK () Neurotoxoplasmose () CMV () TB () Histoplasmosse
() Outros _____ **DST:** () Não () Sim: _____

Diagnóstico AIDS: () Sim (mês/ano) ____/____ Não ()

CD4 Basal: ____ cel/mm³ (____%) **Data:** ____/____/____

CV Basal: _____ cópias/ml (Log=____). **Data:** ____/____/____

Dados de Genotipagem: **Data:** ____/____/____ **Subtipo do HIV:** _____

Perfil de Resistência Primária:

ITRN: () Sim () Não **ITRNN:** () Sim () Não **IP:** () Sim () Não

Lista de Mutações na TR: _____

Lista de Mutações na Pr: _____

Resultado do “Detuned”: _____ **Data:** ____/____/____

Uso de Anti-Retrovirais: () Não () Sim ----- **Esquema:** _____

Data: ____/____/____ Nome do Investigador: _____

Assinatura do Investigador: _____

**“CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DO HIV NO ESTADO DO CEARÁ:
PERFIL DE RESISTÊNCIA PRIMÁRIA E SUBTIPO.”**

QUESTIONÁRIO-DADOS DE SEGUIMENTO

Data ____/____/____

Número Protocolo (colar etiqueta):

Iniciais: _____ **Prontuário:** _____ **DN:** ____/____/____ **Idade:** _____

Gestante: () Sim () Não

Estado Clínico atual: () Assintomático () Sintomático:

- () Perda de peso (>10%PH) () Candidíase oral () Candidíase Esofágica () Dermatite seborréica
 () Dermatite eosinofílica () Herpes Zoster () Sd. Diarréica
 () Pneumocistose () SK () Neurotoxoplasmose () CMV_____ () TB_____

() Histoplasmose () Outros _____ DST: () Não () Sim: _____

Diagnóstico AIDS: () Sim (mês/ano) ____/____ Não ()

Uso de Anti-Retrovirais: () Não () Sim ----- Esquema: _____

Dados de CD4 e CV:

Data									
CD4									
CD8									
C Viral									
Log									

Dados da Genotipagem:

Mutações para ITRN: _____

Mutações para ITRNN: _____

Mutações para IP: _____

Subtipo: _____

ANEXOS

ANEXO A

APROVAÇÃO INICIAL DO COMITÊ DE ÉTICA DO HOSPITAL

SÃO JOSÉ DE DOENÇAS INFECCIOSAS



ESTADO DO CEARÁ
SECRETARIA DA SAÚDE



HOSPITAL SÃO JOSÉ DE
DOENÇAS INFECCIOSAS

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA (CEP-HSJ)

Referente ao Protocolo nº. 042/2007

Folha de Rosto: 170044

Título do Projeto: "Caracterização molecular do HIV no estado do Ceará: perfil de resistência primária, subtipo e correlação com distúrbios neurológicos".

Instituições envolvidas: Hospital São José de Doenças Infecciosas (HSJ)

Universidade Federal do Ceará - UFC

Pesquisadora responsável: Dr. Erico Antônio Gomes de Arruda

PARECER CONSUBSTANCIADO

Analisamos o projeto em questão, na reunião ordinária de 17 de dezembro de 2007. Trata-se de pesquisa cujos objetivos são: analisar o perfil de subtipos do HIV-1 e sua resistência primária aos anti-retrovirais, no estado do Ceará, durante o ano de 2008, de amostra de pacientes virgens de tratamento; comparar os perfis de variabilidade genética e resistência primária entre subgrupos de pacientes com infecção recente e infecção mais antiga, virgens de tratamento; determinar a prevalência de manifestações neurológicas, no período de um ano de acompanhamento, e correlacioná-las com a diversidade genética do vírus; armazenar material para futuras análises de resistência primária do vírus HIV-1, de pacientes virgens de terapia, frente a novos e futuros anti-retrovirais.

Trata-se de pesquisa de relevância, não apresentando riscos ao sujeito do estudo e podendo inclusive trazer importantes benefícios por ocasião do início da terapia anti-retroviral destes. O pesquisador assegurou a confidencialidade das informações colhidas e deixa claro que os resultados da pesquisa somente serão utilizados para publicação em revistas médicas científicas. Por tratar-se de pesquisa envolvendo armazenamento de material biológico, é importante ressaltar a necessidade de submissão e aprovação ao CEP da instituição de qualquer outro protocolo de pesquisa que venha a ser desenvolvido com esse material, havendo inclusive a obrigatoriedade de assinatura do novo TCLEs pelos sujeitos do estudo.

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) apresenta-se em linguagem acessível à compreensão dos sujeitos da pesquisa. Entretanto, na página 2, no tópico "metátese do estudo", informa que por ocasião da saída do sujeito do estudo nova coleta de sangue será realizada, embora ainda que os medicamentos em uso pelo paciente sejam levados ao ambulatório. No protocolo, no tópico material e métodos, só há a descrição de uma única coleta de sangue, a qual será realizada por ocasião da inclusão dos sujeitos no estudo. Não há também qualquer relato de uso de fornecimento de medicamentos aos sujeitos da pesquisa, sendo inclusive, um dos critérios de inclusão, que os mesmos sejam virgens de tratamento anti-retroviral.

Diante do exposto, o projeto foi considerado aprovado com sugestão de que seja decorrido na metodologia os critérios reais de retirada do estudo.

Lembramos a necessidade de envio de relatório do andamento do projeto (primeiro) para 17 de dezembro de 2008) e de relatório final quando de sua conclusão, além de que qualquer mudança na proposta do estudo, deverá passar por uma prévia avaliação deste comitê. Outrossim, comunicamos que mensalmente o CEP-HSJ está monitorando pesquisas em execução no Hospital São José escolhidas aleatoriamente.

Fortaleza, 17 de dezembro de 2007


Dra. Maria Lúcia Duarte Pereira
Coordenadora do CEP-HSJ

Rua Sargento Rodolfo, 315 - Fortaleza/CE
CEP 60.402-918 Fone: (85) 3101-1300 FAX: (85) 3101-1318
e-mail: hsj@hsj.ce.gov.br

ANEXO B

APROVAÇÃO PARA USO DE TESTE DE GENOTIPAGEM PELO PROGRAMA NACIONAL DE DST-AIDS



DST-AIDS
 MINISTÉRIO DA SAÚDE
 SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
 PROGRAMA NACIONAL DE DST/AIDS
 Ministério da Saúde – Unidade III
 SEPN Quadra: 511 Bloco: “C”
 70750-543-Brasília/DF
 Tel. (61) 3448-8007

Ofício n.º 1.904/08 ULAB PN DST-AIDS/SVS/MS

Brasília, 06 de maio de 2008.

Ao Senhor,
 Érico Antônio Gomes de Arruda
 Médico Infectologista do Hospital São José
 Rua Nestor Barbosa, 315 – Parquelândia
 60455-610 Fortaleza – CE
 Fax: (85) 3261-8951

Assunto: Projeto de Pesquisa “Caracterização Molecular do HIV no Estado do Ceará: perfil de resistência primária, subtipo e correlação com distúrbios neurológicos”

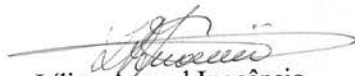
Prezado Senhor,

1. Em análise ao Projeto de Pesquisa “Caracterização Molecular do HIV no Estado do Ceará: perfil de resistência primária, subtipo e correlação com distúrbios neurológicos”, temos as seguintes considerações:

- Os critérios de inclusão do projeto estão bem definidos e de acordo com as diretrizes de tratamento do Programa Nacional de DST e Aids;
- Aspectos éticos estão dentro das Normas de Regulamentação e Pesquisa em Seres Humanos estabelecidos em Resolução pela CONEP;
- As parcerias estabelecidas entre o Laboratório Central da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará, Universidade Federal do Ceará e Universidade Federal de São Paulo estão em concordância;
- O PN-DST/AIDS tem interesse em conhecer o perfil de resistência primária e subtipos circulantes no Estado do Ceará.

2. Assim sendo, esta Unidade Técnica libera 150 testes mais os insumos de genotipagem para a realização dos exames no LACEN CE para o cumprimento do projeto.
3. Finalizando, apresentamos votos de estima e apreço e colocamo-nos à disposição para prestar quaisquer esclarecimentos que se façam necessários.

Atenciosamente,


Lílian Amaral Inocêncio
Unidade de Laboratório

ANEXO C

**APROVAÇÃO DE MUDANÇA NO PROTOCOLO, PELO COMITÊ DE ÉTICA
DO HOSPITAL SÃO JOSÉ DE DOENÇAS INFECCIOSAS**



GOVERNO DO ESTADO DO CEARÁ
SECRETARIA DA SAÚDE

HOSPITAL SÃO JOSÉ DE DOENÇAS INFECCIOSAS

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA (CEP-HSJ)

Protocolo nº 042/ 2007

Folha de Rosto: 170044

Título do Projeto: " Caracterização Molecular do HIV no Estado do Ceará: perfil de Resistência Primária, Subtipos e Correlação com Distúrbios Neurológicos."

Instituições envolvidas: Hospital São José de Doenças Infecciosas
Universidade Federal do Ceará-UFC

Pesquisador Principal: Dr. Érico Antônio Gomes de Arruda

PARECER CONSUBSTANCIADO

Analisamos e aprovamos a o Adendo da pesquisa acima referida na reunião ordinária no dia 27 de julho de 2009. O pesquisador solicita a inclusão, na casuística do protocolo em questão, de crianças menores de 13 anos, que tiveram realizado Genotipagem no período de maio de 2008 a maio de 2009 (época do recrutamento da casuística de adultos), pelos trâmites normais da RENAGENO-PN-DST/Aids.

Os autores comprometem-se a tentar alcançar todos os responsáveis (pais ou cuidadores), para obterem o TCLE e de cumprirem com todos os outros compromissos éticos, inclusive de sigilo, conforme os documentos já apresentados no projeto e seus adendos.

Dr. Robério Dias Leite
Coordenador do CEP-HSJ