

LUZIDALVA BARBOSA DE MEDEIROS

**RESISTÊNCIA PRIMÁRIA DO HIV-1 EM
PACIENTES ATENDIDOS NO SERVIÇO DE
REFERÊNCIA HIV/AIDS DO HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA UFPE**

Recife

2005

LUZIDALVA BARBOSA DE MEDEIROS



**RESISTÊNCIA PRIMÁRIA DO HIV-1 EM PACIENTES
ATENDIDOS NO SERVIÇO DE REFERÊNCIA
HIV/AIDS DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UFPE.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do Título de Doutor.

ORIENTADORA

DRA. HELOISA RAMOS LACERDA DE MELO

PROFESSORA ADJUNTA DO DEPARTAMENTO DE
MEDICINA CLÍNICA DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CO-ORIENTADORA

DRA. MARIA DE FÁTIMA P. MILITÃO DE ALBUQUERQUE

PROFESSORA ADJUNTA DO DEPARTAMENTO DE
MEDICINA CLÍNICA DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

RECIFE

2005

Medeiros,Luzidalva Barbosa de

Resistência primária do HIV-1 em pacientes atendidos no serviço de referência HIV / AIDS do Hospital das Clínicas da UFPE / Luzidalva Barbosa de Medeiros. – Recife: O Autor, 2005.

xi, 74 folhas; il., tab.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Medicina Tropical, 2005.

Inclui bibliografia e anexos.

1. HIV-1 – Resistência primária. 2. AIDS. 3. Genotipagem. I. Título.

616.97
616.979 2

CDU (2.ed.)
CDD (20.ed.)

UFPE
CCS2007-155



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL – MESTRADO E DOUTORADO

RELATÓRIO DA BANCA EXAMINADORA DA TESE DA DOUTORANDA
LUZIDALVA BARBOSA DE MEDEIROS

No dia 29 de junho de 2005, às 14h30, na Sala Murillo La Greca do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco – C.C.S./UFPE, os Professores: Prof. Dr. Ricardo Arraes de Alencar Ximenes (Depto. de Medicina Tropical-UFPE – Membro Interno), Prof^ª. Dr^ª. Vera Magalhães da Silveira (Depto. de Medicina Tropical-UFPE – Membro Interno), Prof^ª Dr^ª Maria Rosângela Cunha Duarte Coelho (Depto. de Fisiologia e Farmacologia-UFPE – Membro Interno), Prof. Dr. Edmundo Pessoa de Almeida Lopes Neto (Depto. de Medicina Clínica-UFPE – Membro Externo) e Prof. Dr. Demócrito de Barros Miranda Filho (Depto. de Clínica Médica-UPE – Membro Externo), componentes da Banca Examinadora, em sessão pública, argüíram a doutoranda **LUZIDALVA BARBOSA DE MEDEIROS** sobre a sua Tese intitulada **"Resistência primária do HIV-1 em pacientes atendidos no Serviço de Referência HIV/AIDS do Hospital das Clínicas da UFPE."** Ao final da arguição de cada membro da Banca Examinadora e resposta da doutoranda, as seguintes menções foram publicamente fornecidas.

Prof. Dr. Ricardo Arraes de Alencar Ximenes

Aprovada

Prof^ª. Dr^ª. Vera Magalhães da Silveira

Aprovada

Prof^ª. Dr^ª. Maria Rosângela Cunha Duarte Coelho

APROVADA

Prof. Dr. Edmundo Pessoa de Almeida Lopes Neto

Aprovada

Prof. Dr. Demócrito de Barros Miranda Filho

Aprovada

Ricardo Arraes de Alencar Ximenes
Prof. Dr. Ricardo Arraes de Alencar Ximenes

Vera Magalhães
Prof^ª. Dr^ª. Vera Magalhães da Silveira

Maria Rosângela Cunha Duarte Coelho
Prof^ª. Dr^ª. Maria Rosângela Cunha Duarte Coelho

Edmundo Lopes
Prof. Dr. Edmundo Pessoa de Almeida Lopes Neto

Demócrito de Barros Miranda Filho
Prof. Dr. Demócrito de Barros Miranda Filho

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

PROF. AMARO HENRIQUE PESSOA LINS

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

PROF. CELSO PINTO DE MELO

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

PROF. JOSÉ TADEU PINHEIRO

DIRETOR SUPERINTENDENTE DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS

PROFA. HELOÍSA MENDONÇA

**COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
EM MEDICINA TROPICAL**

PROF. RICARDO ARRAES DE ALENCAR XIMENES

**VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM MEDICINA TROPICAL**

PROFA. HELOÍSA RAMOS LACERDA DE MELO

CORPO DOCENTE

PROFA. CÉLIA MARIA MACHADO BARBOSA DE CASTRO

PROFA. ELIZABETH MALAGUEÑO DE SANTANA

PROFA. HELOÍSA RAMOS LACERDA DE MELO

PROFA. GERUSA DREYER VIEIRA

PROF. JOAQUIM ALFREDO ALVES NORÕES

PROFA. MARIA AMÉLIA VIEIRA MACIEL

PROFA. MARIA DE FÁTIMA PESSOA MILITÃO DE ALBUQUERQUE

PROFA. MARIA ROSÂNGELA CUNHA DUARTE COELHO

PROF. RICARDO ARRAES DE ALENCAR XIMENES

PROFA. SÍLVIA MARIA DE LEMOS HINRICHSEN

PROFA. VERA MAGALHÃES DA SILVEIRA

Renda-se, como eu me rendi.

Mergulhe no que você não
conhece como eu mergulhei.

Não se preocupe em
entender, viver ultrapassa
qualquer entendimento.

(Clarice Lispector)

DEDICATÓRIA

*À **Lustosa**, pelo seu carinho e
companheirismo .*

À *Lustosa*, pelo seu
carinho e companheirismo.

AGRADECIMENTOS

A **DEUS**, nosso criador.

As **Professoras Heloísa Ramos Lacerda de Melo, e Maria de Fátima Pessoa Militão de Albuquerque**, por serem muito mais que orientadora e co-orientadora, e sim amigas encorajadoras nesta minha jornada.

A **Dra. Ana Salustiano**, Chefe do Serviço de Virologia do LACEN, que além de realizar as genotipagens, sempre me orientou sobre todas as etapas da técnica, com muito carinho.

Aos **pacientes**, sempre amáveis e dispostos a cooperar.

A **todos** os que fazem o Serviço de Referência de HIV/AIDS do Hospital das Clínicas da UFPE, pela disponibilidade em sempre me ajudar.

Aos **funcionários** do Laboratório do Hospital das Clínicas, pela constante boa vontade.

A **Ulisses Montarroyos**, meu muito obrigado pelas análises estatísticas.

A **todos** os que fazem a Disciplina de Iniciação ao Exame Clínico e o Departamento de Medicina Clínica do Centro de Ciências da Saúde da UFPE pelo carinho, respeito e amizade que sempre me prestaram.

Aos secretários do Doutorado de Medicina Tropical, **Walter e Jupira**, pela ajuda em todos os momentos da minha Pós-Graduação.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....

1. APRESENTAÇÃO..... 01

2. ARTIGO I

Resistência primária do HIV-1: Uma atualização da literatura..... 05

Resumo..... 06

Abstract..... 09

Introdução..... 11

Resistência aos Anti-Retrovirais..... 12

Testes de Resistência aos Anti-Retrovirais..... 14

Genotipagem do HIV-1..... 16

Estudos de Resistência Primária do HIV-1..... 17

Estudos de Resistência Primária do HIV-1 no Brasil..... 23

Conclusões..... 24

Referências Bibliográficas..... 26

3. ARTIGO II

Resistência primária do HIV-1 em pacientes cronicamente infectados no Nordeste do Brasil..... 32

Resumo..... 34

Abstract..... 35

Introdução..... 36

Casuística e métodos..... 36

Características dos pacientes..... 37

Análise Genotípica e Mutações Primárias e Secundárias..... 37

Discussão..... 38

Conclusão..... 41

Referências Bibliográficas..... 42

4. ARTIGO III

Subtipos B e F do HIV-1 – Há diferença nas mutações de resistência primária e na resposta ao tratamento anti-retroviral ?..... 50

Resumo.....	52
Abstract.....	53
Introdução.....	54
Casuística e métodos.....	55
Resultados.....	56
Discussão.....	57
Conclusões.....	60
Referências Bibliográficas.....	61
5. CONCLUSÕES.....	68
6. RECOMENDAÇÕES.....	70
7. ANEXOS.....	72

LISTA DE TABELAS

ARTIGO II

Tabela 1	Dados demográficos, imunológicos e virológicos dos 84 pacientes estudados no HC da UFPE, de fevereiro de 2002 a janeiro de 2003.....	46
Tabela 2	Mutações primárias e secundárias segundo os grupos de anti-retrovirais dos 84 pacientes estudados no HC da UFPE, de fevereiro de 2002 a janeiro de 2003.....	47
Tabela 3	Descrição dos 84 pacientes pesquisados segundo a idade, sexo, fator de risco, subtipo e mutações relacionadas aos diferentes grupos de ARV no HC da UFPE, de fevereiro de 2002 a janeiro de 2003.....	48

ARTIGO III

Tabela 1	Padrão sócio-demográfico dos 84 pacientes infectados por diferentes subtipos do HIV-1.....	63
Tabela 2	Mutações principais e secundárias dos 84 pacientes pesquisados segundo os grupos de ARV e subtipos de HIV.....	64
Tabela 3	Características sorológicas e imunológicas dos 62 pacientes de subtipos B e F que completaram o tratamento.....	65
Tabela 4	Desfecho do tratamento dos 62 pacientes de subtipos B e F que completaram tratamento.....	66
Tabela 5	Análise do desfecho e relação com características sociais, biológicas, virológicas, imunobiológicas e do tratamento para a infecção pelo HIV-1.....	67

RESUMO

Estimar a prevalência de resistência primária aos anti-retrovirais em pacientes cronicamente infectados pelo HIV-1, sem uso prévio de anti-retrovirais, em um Centro de Referência para o tratamento do HIV/AIDS do Nordeste do Brasil. Foram colhidas amostras de sangue para extração do RNA viral de pacientes com HIV/AIDS, cronicamente infectados, atendidos no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco, antes do início do tratamento antiviral, no período de fevereiro de 2002 a janeiro de 2003. As regiões da transcriptase reversa (TR) e da protease (PR) foram seqüenciadas para a determinação das mutações relacionadas à resistência aos antivirais. Foram ampliadas e genotipadas um total de 84 amostras. Os pacientes apresentavam CD4 médio de 178,7 células/mm³ e Carga viral média de 269.305 cópias RNA/mL. A genotipagem revelou 2 (2,4%) pacientes com mutação principal relacionada aos ITRN e nenhuma mutação principal aos ITRNN ou IP. Foram encontrados 17 (20,2%) pacientes com mutações secundárias aos ITRN e 67 (79,8%) com mutações secundárias relacionadas aos IP. Mutações acessórias no gene da protease ocorreram nas seguintes posições: L63P [40/84 (47,6%)], M36I [29/84 (34,5%)], V77I [13/84 (15,5%)], L10V [9/84 (10,7%)], K20R [9/84 (10,7%)], A71T [6/84 (7,1%)], L10I [5/84 (6%)], A71V [2/84 (2,4%)] e I54P [1/84 (1,2%)]. As mutações associadas a susceptibilidade reduzida aos ITRN foram: M41L [2/84 (2,4%)], G333E [6/84 (7,1%)], V118I [5/84 (5,9%)], S68G [4/84 (4,8%)], E44D [1/84 (1,2%)] e K219E [1/84 (1,2%)].

Observou-se baixa prevalência de mutações primárias relacionadas à resistência aos ITRN em pacientes cronicamente infectados pelo HIV e ausência de resistência aos ITRNN e IP.

Key Words- HIV-1, resistência primária a drogas, genotipagem, HIV-1.

ABSTRACT

To estimate prevalence rate of primary resistance to antiretroviral agents in patients with chronic infection by HIV-1 without previous administration of antiretroviral therapy in a reference center for HIV-aids treatment in northeast region of Brazil. Blood samples were obtained and viral RNA was extracted from patients with HIV-aids chronic infection who attended to the Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco, before they initiated antiretroviral treatment. The reverse transcriptase (RT) and protease (PR) sites have been scanned to determinate mutations related to resistance to antiviral agents. A total of 84 samples were amplified and genes were sequenced. Patients presented an average CD4 level of 178,7 cells/mm³ and average viral counting of 269,305 RNA copies/ml. Gene sequences found 2 (2.4%) patients with main mutation related to ITRN and none main mutation related to ITRNN nor to IP. 17 (20.2%) patients had secondary mutations related to ITRN and 67 (79.8%) patients had secondary mutations related to IP. Accessory mutations in protease gene occurred in the sites: L63P [40/84 (47.6%)], M36I [29/84 (34.5%)], V77I [13/84 (15.5%)], L10V [9/84 (10.7%)], K20R [9/84 (10.7%)], A71T [6/84 (7.1%)], L10I [5/84 (6%)]A71V [2/84 (2.4%)] e I54P [1/84 (1.2%)]. Mutations related to low susceptibility to ITRN were: M41L [2/84 (2.4%)], G333E [6/84 (7.1%)], V118I [5/84 (5.9%)], S68G [4/84 (4.8%)], E44D [1/84 (1.2%)], and K219 [1/84 (1.2%)]. A low prevalence rate of primary mutations related to resistance to ITRN in patients with chronic infection by HIV and absence of resistance to ITRNN and IP were observed.

Key Words – HIV-1, primary resistance to drugs, gene sequencing.

APRESENTAÇÃO

Este estudo teve início em 2001 quando identificamos ser necessário um maior conhecimento sobre o que poderia possibilitar um maior sucesso na resposta à terapia anti-retroviral. O acompanhamento de doentes com Aids nos possibilitou observar que, embora com vários esquemas anti-retrovirais disponíveis e eficazes, alguns pacientes não respondiam ao tratamento, apresentando resistência a estas drogas. Estava estabelecido na literatura que o uso da terapia anti-retroviral altamente eficaz (HAART) possibilita a redução da replicação viral a níveis inferiores aos limites de detecção pelos testes usuais, promovendo uma redução na progressão da doença e na mortalidade. Entretanto, a falha na supressão completa desta replicação viral ocasiona a seleção de cepas mutantes resistentes ao tratamento.

A frequência de resistência ao vírus da imunodeficiência humana (HIV) entre os doentes atendidos no serviço de referência para AIDS do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC-UFPE) era, até então, desconhecida. Dispostos a elucidar estas questões, iniciamos a revisão da literatura, fomos cada vez mais nos identificando com o tema, e verificamos que este era um assunto ainda pouco estudado, apesar de sua importância. Sabíamos que a resistência ocasionada após a utilização dos anti-retrovirais era definida como resistência secundária, contudo, mais grave era a identificação de pacientes, virgens de tratamento anti-retroviral, que já apresentavam resistência a algum anti-retroviral ou grupo de anti-retroviral. Tornou-se, assim, evidente a necessidade de não apenas verificar a frequência de resistência primária no nosso serviço, mas também de melhor conhecer as características destes casos.

Para estudarmos a resistência aos anti-retrovirais dispúnhamos de dois tipos de testes: testes fenotípicos ou fenotipagem e testes genotípicos ou genotipagem. Pensamos em trabalhar com genotipagem do HIV, porque a fenotipagem além de mais dispendiosa financeiramente era também menos conhecida. Em agosto do mesmo ano, solicitamos financiamento para nosso projeto de pesquisa “Resistência primária do HIV aos anti-

retrovirais” em resposta a um edital do Ministério da Saúde e fomos selecionados (CFA 669/01). Este financiamento nos possibilitou estudar os pacientes com infecção pelo HIV e AIDS atendidos no Serviço Especializado de AIDS do Hospital das Clínicas da UFPE, durante o período de fevereiro de 2002 a janeiro de 2003, realizando 109 genotipagens.

Dentre estes casos estudados não foi possível realizar a amplificação do RNA viral em 25 amostras de sangue.

Nesta época, o Ministério da Saúde (MS) deu início, a um grande projeto de abrangência nacional, intitulado Rede Nacional de Genotipagem (RENAGENO) que teve como objetivo principal, capacitar os técnicos dos Laboratórios de Referência Estaduais para a realização da genotipagem do HIV. O Laboratório Central do Estado de Pernambuco (LACEN) participou, juntamente com outros laboratórios de sete Estados brasileiros, deste treinamento para realização da genotipagem viral, fato que facilitou também o desenvolvimento do nosso projeto.

Em um primeiro artigo, “Resistência primária do HIV-1: uma atualização da literatura” relatamos os resultados da revisão da literatura, compreendendo; conceito de resistência aos anti-retrovirais, tipos de resistência; resistência primária, testes de resistência, genotipagem do HIV e prevalência de resistência primária no mundo e no Brasil. Primeiramente ficou demonstrado que eram poucos os trabalhos sobre o tema, e especialmente no Nordeste do país não encontramos nenhuma publicação, tendo como base de dados o MEDLINE.

Os artigos encontrados na literatura internacional eram vários, e em geral com resultados inconclusivos ou discordantes.

Em um segundo artigo, “Resistência primária do HIV-1 em pacientes cronicamente infectados no Nordeste do Brasil” relatamos a frequência e características da resistência em pacientes sem uso prévio de anti-retrovirais.

O desenvolvimento da pesquisa e a realização dos testes de genotipagem, permitiram detectar os diferentes subtipos de HIV responsáveis pela infecção nos doentes estudados. Desta forma, foi possível analisar as características clínico-epidemiológicas e resposta aos anti-retrovirais em pacientes com infecção pelos subtipos B e F do HIV.

O terceiro, do conjunto de artigos que compõem a tese aqui apresentada, ficou então denominado “Subtipos B e F do HIV-1 no Nordeste – Existem diferenças nas mutações de resistência primária e na resposta ao tratamento anti-retroviral”?

Assim, abordamos o problema da resistência primária do HIV aos anti-retrovirais de forma o mais abrangente possível, nos limites do projeto desenvolvido, visando compor um diagnóstico da situação clínico-epidemiológica entre os doentes com AIDS atendidos no HC/UFPE.

ARTIGO I

RESISTÊNCIA PRIMÁRIA DO HIV-1: UMA ATUALIZAÇÃO DA LITERATURA

Luzidalva Barbosa de Medeiros (1,3)

Heloísa Ramos Lacerda (1,2,3)

Ana Salustiano (4)

Maria de Fátima Pessoa Militão de Albuquerque (1,2,3)

¹Trabalho realizado no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE,

²Pós-Graduação em Medicina Tropical da UFPE ,

³Departamento de Medicina Clínica da UFPE e

⁴Laboratório Central da Secretaria Estadual de Saúde de Pernambuco – LACEN -PE

Trabalho financiado pelo Ministério da Saúde do Brasil

Endereço para correspondência

Heloisa Ramos Lacerda

Rua Professora Anunciada Rocha Melo, 97 ap 501

Madalena – Recife – PE CEP 50710-390

Email – helramos@terra.com.br

Fones - 55 81 34465042 - 55 81 99645517

RESUMO

A introdução da *highly active antiretroviral therapy* (HAART), a partir de 1996, fez com que a mortalidade por aids diminuísse gradativamente, porém, às custas do uso contínuo dos anti-retrovirais. A terapia anti-retroviral (TARV) quando utilizada de forma efetiva é capaz de inibir a replicação viral a valores indetectáveis pelos testes mais sensíveis e com isso ocasionar uma redução na progressão da doença e na mortalidade. No entanto, a falha na supressão completa da replicação viral pode levar a seleção de cepas mutantes resistentes ao tratamento. A coexistência de replicação viral e uso de TARV ocasionam invariavelmente resistência à estas drogas. Esta resistência do HIV ao esquema anti-retroviral, quase sempre leva ao fracasso do tratamento e exige nova abordagem terapêutica. Do ponto de vista da assistência ao paciente, a introdução de novas drogas para o resgate terapêutico, requer o conhecimento dos testes de resistência. Na perspectiva da comunidade, o surgimento da resistência atualmente, em todo mundo, leva à uma preocupação quanto à transmissão de cepas resistentes do HIV e seu possível impacto para a Saúde Pública. A presente revisão da literatura demonstrou que os estudos sobre resistência primária são realizados, em todo mundo, principalmente em pacientes recém infectados, porém, os resultados são preocupantes mesmo em doentes cronicamente infectados. Na América do Norte as prevalências gerais de resistência primária situam-se em níveis maiores que 10%, enquanto que no Canadá as taxas são ainda mais elevadas situando-se em torno de 20%. Na Europa a resistência primária do HIV tem sido alvo de várias pesquisas e a literatura aponta a Espanha e Itália como os países que exibem níveis mais elevados de prevalência. No Brasil, estudo realizado pelo Ministério da Saúde em oito Estados, em doentes cronicamente infectados, revelou prevalência de resistência primária de 2,4% aos ITRN, 2,1% aos ITRNN e 2,2% aos IP, não excedendo 6% no geral. Um estudo realizado na cidade de Santos em doentes recém infectados, revelou

prevalências de 22% aos ITRN, 15% aos ITRNN e 13% aos IP, com um índice de resistência cumulativa de 35%. Pode-se ainda verificar, que a grande maioria dos estudos utiliza a genotipagem como método de detecção da resistência e que a prevalência de resistência primária parece guardar relação com a região pesquisada e suas peculiaridades.

ABSTRACT

Since 1996, with introduction of HAART, mortality by aids has gradually decreased. Patients with aids, however, will need continuous use of antiretroviral agents. Antiretroviral therapy when used in effective ways is able to inhibit viral replication until values which are undetectable by most sensible tests and through this causes a reduction in progression of disease and mortality. However, failure in completely suppressing viral replication may lead to selection of mutant strains resistant to treatment. Co-existence of viral replication and TARV administration invariably causes resistance to these drugs. Such HIV's resistance to antiretroviral therapy almost always leads to treatment failure and demands new therapeutic approach. In view of treating a patient, introduction of different drugs for therapeutic rescue requires assessment of resistance tests. In community perspective, nowadays universal arising of resistance to drugs leads to concern about resistant HIV strains' transmission and its possible impact in Public Health. Studies on primary resistance are performed all over the world, specially in recently infected patients. In EUA, most studies find increases in prevalence of HIV primary resistance. Even when these studies use patients with **chronic** infection, these results are observed. In Canada, rates of primary resistance are even higher, such as about 20%. In Europe, primary resistance has also attracted significant attention, although countries as Spain and Italy exhibit higher rates than the others. In Italy, a study on patients with **chronic** infection observed 7.8% of resistance to ITRN, 4.9% to ITRNN and 1.4% to IP. In Brazil, a study on 535 patients with **chronic** infection, performed by Health Ministry in 8 states, revealed 2.4% of resistance to ITRN, 2.1% to ITRNN and 2.2% to IP, no more than 6% in total. On the other hand, a study in Santos found, in patients with acute infection, prevalence of 22% to ITRN, 15% to ITRNN and 13% to IP, a cumulative resistance rate of 35%. Primary resistance seems to correlate to the studied region and its individual

characteristics. The objective of this study is to make a revision in the literature about this unquestionably relevant issue, which still causes controversy.

INTRODUÇÃO

A terapia anti-retroviral (TARV) com múltiplas drogas modificou o curso da aids e prolongou a vida dos pacientes. Embora nenhuma terapêutica seja curativa, vários estudos comprovam o benefício da terapia anti-retroviral em pacientes com doença clínica avançada (PALELLA, 1998; LITTLE, 1999; BODEN, 1999).

Contudo, casos de insucesso da TARV têm sido relatados podendo decorrer de vários fatores, como: defeito do sistema imune, falta de adesão ao tratamento, interações medicamentosas e resistência às drogas, sendo este último fator o mais importante (RACHID & SCHECHTER, 2001).

O objetivo da terapia anti-retroviral tem se modificado com o decorrer dos anos. De 1984 a 1995, a mono ou dupla terapia permitia manter o paciente vivo, sem recorrências e livre das infecções oportunistas. De 1995 a 1998, a terapia buscou a erradicação do HIV com a introdução da terapêutica anti-retroviral potente e a mais ativa possível, ou seja, a *Highly Active Antiretroviral Therapy* (HAART). No período de 1998 a 2000, com a impossibilidade de erradicar o HIV face ao aparecimento de mutantes resistentes aos inibidores da transcriptase reversa (ITR) e aos inibidores da protease (IP), o objetivo então da TARV passou a ser a supressão máxima da replicação viral para evitar o desenvolvimento da resistência aos anti-retrovirais. De 2000 a 2002, os efeitos adversos provocados pelo uso da HAART, provocou mudanças nos critérios de indicações e seleção dos pacientes que devem iniciar a terapia, devendo ser tratados apenas pacientes com risco aumentado de apresentar doenças oportunistas (BADARÓ, 2004).

Quando utilizada de forma efetiva, a terapia anti-retroviral é capaz de promover a redução da replicação viral a níveis inferiores aos limites de detecção pelos testes

mais sensíveis, com isso reduzindo a progressão da doença e da mortalidade (CARPENTER, 1998; LITTLE, 1999; BODEN, 1999; WEINSTOCK, 2004; HIRA, 2004).

Vários estudos que visam identificar a frequência da resistência aos anti-retrovirais demonstram diferença nos seus resultados (BODEN, 1999; SULLIVAN, 2003).

Considerando a importância deste conhecimento que pode permitir uma melhor abordagem na escolha da conduta terapêutica e, a ausência de pesquisas sobre resistência aos anti-retrovirais em nossa região, o presente trabalho tem como objetivo realizar uma revisão da literatura tendo como base de dados o MEDLINE.

Resistência aos Anti-Retrovirais

Um dos maiores obstáculos da medicina moderna é a resistência dos microorganismos às drogas (KING, 2004). A resistência aos antimicrobianos é um fenômeno microbiológico observado em praticamente todas as áreas médicas onde um microorganismo é exposto à pressão seletiva dos antimicrobianos (NICASTRI, 2003; DIAZ, 2004).

No caso da aids, a presença de mutações com resistência às drogas anti-retrovirais não apenas limita as opções de tratamento, como também pode ocasionar a transmissão de vírus resistentes para outros indivíduos (SANCHEZ, 2004). Daí depreende-se o impacto da questão, tanto para a assistência ao indivíduo doente quanto para a saúde pública.

A resistência desenvolvida pelo HIV às drogas, decorre principalmente de dois fatores: o primeiro é que o HIV é um vírus muito prolífico, ou seja, pacientes que não estão sob tratamento podem produzir até 10 bilhões de *virions* por dia; o segundo é que, ao se replicar, o ácido nucléico converte o RNA em DNA, e neste processo pode ocorrer erros e estes não serem corrigidos. Assim sendo, a intensa replicação do vírus associada ao elevado

índice de erros da transcriptase reversa do HIV-1 promove a emergência de cepas de HIV-1 resistentes aos anti-retrovirais no momento em que o paciente é exposto a pressão seletiva destas drogas (CLARK, 1999).

A resistência aos anti-retrovirais pode ser do tipo celular e do tipo viral. A resistência celular aos anti-retrovirais pode intervir na penetração ou na ativação da droga. A partir de um mecanismo similar ao que condiciona a resistência das células neoplásicas aos quimioterápicos, pode haver alteração na penetração celular dos inibidores da protease (IP), a partir da glicoproteína *p*. A glicoproteína *p* expressa-se na superfície celular e seria responsável pela exteriorização dos inibidores da protease após sua absorção, tanto ao nível linfocitário quanto ao nível do trato gastrointestinal. Teoricamente, existiria uma elevação na expressão da glicoproteína *p* na superfície celular, proporcional à duração do uso do IP, e conseqüentemente queda na concentração intracelular da droga. No que diz respeito aos inibidores da transcriptase reversa nucleosídeos (ITRN), a resistência celular estaria relacionada à ativação da droga, mais especificamente à fosforilação. Todos os ITRN carecem da ativação em sua forma trifosfato, forma que efetivamente inibe a transcriptase reversa (TR). Também existiria uma diminuição progressiva na fosforilação, proporcional ao tempo de uso de um ITRN (KIM, 1998).

Quando há falha terapêutica sem resistência genotípica e com boa aderência ao tratamento, é possível tratar-se de resistência celular.

A resistência viral aos anti-retrovirais se subdivide em primária e secundária. A resistência secundária emerge em conseqüência da pressão de seleção exercida pela medicação anti-retroviral, como acontece pelo uso de qualquer antimicrobiano (DIAZ, 2004). A resistência primária, no entanto, já está presente no indivíduo infectado antes de iniciada a terapia anti-retroviral. Esta resistência primária decorre da transmissão de cepas resistentes ou

da geração de mutantes resistentes no indivíduo infectado decorrente do alto índice replicativo do HIV-1. A primeira alternativa parece ser a mais freqüente (DIAZ, 2004).

Cerca de 10 bilhões de cepas virais são geradas diariamente em uma pessoa infectada que não esteja fazendo uso da TARV, portanto, todas as mutações possíveis são geradas diariamente em um indivíduo infectado, até mesmo as mutações relacionadas à resistência aos anti-retrovirais. A pressão de seleção das drogas anti-retrovirais, ao eliminar as cepas sensíveis, facilita a fixação e expansão das cepas resistentes. Por este motivo, os vírus mutantes resistentes podem surgir mesmo sem ter havido uso anterior de anti-retrovirais, sendo necessário apenas que estes mutantes infectem a próxima célula e se expandam rapidamente, vez que cada célula infectada produz de 5 a 10 mil *virions* (D'AQUILA, 2002; DIAZ, 2004).

As mutações existentes nos genes que codificam a transcriptase reversa e a protease do HIV-1, que conferem resistência aos anti-retrovirais, podem ser definidas como principais ou primárias e acessórias ou secundárias. As mutações principais são às que determinam uma redução da susceptibilidade às drogas exigindo um aumento na quantidade das drogas necessárias para inibir a enzima. As mutações acessórias podem aumentar o nível de resistência por melhorar a adaptabilidade (“fitness”) do vírus que apresenta a mutação principal. Habitualmente, as mutações acessórias têm pouco ou nenhum efeito no nível de resistência, na ausência das mutações principais (D'AQUILA, 2002; DIAZ, 2004).

Testes de Resistência aos Anti-Retrovirais

Para identificar a resistência aos anti-retrovirais no laboratório tem-se os testes para determinação da resistência fenotípica e testes para determinação da resistência genotípica.

Os testes fenotípicos determinam a quantidade de droga necessária para inibir a replicação do HIV-1 “in vitro”. A resistência fenotípica representa o “comportamento” do vírus em meio de cultura na presença dos anti-retrovirais, à semelhança do que ocorre com os testes de determinação de susceptibilidade para outros microorganismos. Normalmente o que é determinado é a concentração de determinada droga capaz de inibir a replicação viral em 50 ou 90%. Há dois testes para medir a resistência fenotípica. Um deles envolve o uso de células mononucleares do sangue periférico e o outro é um teste de recombinação viral. Existem restrições quanto ao uso destes testes pois que, poucos laboratórios têm capacidade de realizá-los e porque o processo é relativamente lento, pois envolve a produção de vírus e a testagem de muitas drogas diferentes. Além de que, os valores de *cut-off* ainda não estão bem estabelecidos (MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL, 2004).

Estes testes fenotípicos apresentam a síntese de todas as mutações genéticas que ocorrem no vírus.

Também é importante salientar que, o que ocorre em um teste *in vitro*, e o comportamento de um vírus em um paciente, não são necessariamente processos idênticos. Existem exemplos de supressão viral mantida em pacientes que apresentam resistência detectável aos medicamentos. Portanto, há outros fatores envolvidos na falha terapêutica (DIAZ, 2004).

Os testes genotípicos determinam a sequência completa do gene da protease e dos códonos 1 a 335 do gene da transcriptase reversa do HIV 1. A resistência genotípica se refere às mutações gênicas do HIV-1 através das quais poderíamos prever as mudanças no “comportamento” do vírus frente aos anti-retrovirais. O genótipo diz respeito à sequência de nucleotídeos, cujas abreviações são: A, C, G e T e que constitui o genoma do vírus.

Os testes genotípicos disponíveis utilizam como método: a Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) seletiva, PCR com hibridização com uso de sondas (LIPA) e o

sequenciamento genômico. Os métodos que empregam o sequenciamento permitem uma avaliação mais ampla e específica. Dentre as metodologias de sequenciamento temos o sequenciamento manual clássico, o sequenciamento automatizado (ABI, Pharmacia e Visible Genetics) e o Affimetrix (sequenciamento em “microchip” por hibridização).

Tanto os testes fenotípicos quanto os testes genotípicos são pouco sensíveis a variantes minoritárias presentes na quasispecie de vírus do paciente (< 20%). Por outro lado, os testes genotípicos em comparação aos testes fenotípicos são mais rápidos, menos trabalhosos, mais baratos, amplamente disponíveis e mais sensíveis.

O teste de genotipagem apresenta limitações. É necessária carga viral igual ou superior a 5000 cópias RNA/mL, do contrário pode não haver partículas virais em quantidade suficiente para amplificação e sequenciamento dos genes do HIV-1. Outro fator limitante do teste é a necessidade da presença de pelo menos 30% do vírus mutante na população total do vírus para permitir sua detecção. Portanto, ausência de mutações não significa necessariamente ausência de resistência, vez que o vírus mutante pode perfazer menos de 30% e não ser detectado, porém, podendo manifestar-se na evolução clínica do paciente.

Genotipagem do HIV-1

Este teste é realizado no sangue e tem como metodologia o sequenciamento completo do gene da protease e o sequenciamento dos códons 1 a 335 do gene da transcriptase reversa do HIV-1. Este sequenciamento é realizado nas duas fitas do DNA gerado por amplificação e com vários seguimentos sobrepostos, o que possibilita grande precisão e reprodutibilidade dos resultados. Em seguida, as seqüências dos genes da protease e transcriptase reversa são comparadas com as descritas para uma seqüência referência do HIV-1 (sem mutações), identificando-se assim as mutações eventualmente presentes. O

aparecimento de determinadas mutações confere resistência a agentes anti-retrovirais específicos. A partir das mutações identificadas, a definição dos medicamentos para os quais há resistência é feita utilizando-se as informações de dados internacionais atualizados com a literatura recente (MORTENSEN, 2002). A lista de mutações conhecidas, como também suas interpretações atualizam-se constantemente. Os relatórios do teste são simultaneamente atualizados com o surgimento de novos conhecimentos e introdução de novas drogas. Não requer preparo do paciente, o prazo para resultado é de 15 dias e faz-se necessário carga viral ≥ 5000 cópias RNA/mL.

Estudos de Resistência Primária do HIV-1

Vários estudos têm mostrado aumento do número de falha terapêutica com HAART em indivíduos infectados pelo HIV-1 (TORRES RIVERA, 2002).

A presença de vírus resistente em pacientes que não fazem uso de anti-retrovirais é uma potente ameaça à eficácia da HAART. Trabalhos conduzidos entre 1996 a 2001, mostram que a prevalência de resistência a drogas entre indivíduos recentemente infectados, subiu de 3% para 20% na América do Norte e de 5% para 15% na Europa. Entretanto, a heterogeneidade da metodologia utilizada e os diferentes desenho de estudos dificultam a comparação entre os resultados e suas conclusões (GIRARDI, 2003).

A maioria das séries de casos realizadas nos EEUU, na segunda metade da década de noventa do século XX, analisando doentes com infecção recente pelo HIV-1 e sem uso prévio de anti- retrovirais, porém com casuísticas de tamanhos diferentes, relata a detecção de resistência primária pelo teste de genotipagem.

Entre doentes provenientes de Nova York e Los Angeles evidenciou-se uma frequência de mutações que conferem resistência primária em cerca de 16,3%, sendo 10 casos

(12,5%) aos ITRN, 6 (7,5%) aos ITRNN e 2 (2,5%) aos IP (BODEN, 1999). Estes dados demonstram resistência aos IP apesar de sua introdução na TARV ser relativamente recente, sugerindo a necessidade de investigações contínuas para identificar aumento na transmissão de vírus resistentes (BODEN, 1999). Entre doentes de Seattle e Los Angeles encontrou-se 4% dos pacientes com mutações que conferem resistência aos ITR, no entanto, nenhum paciente apresentou resistência aos IP (SULLIVAN, 2002). Em St. Louis, Missouri, os autores relatam um aumento da prevalência de resistência primária de 4% no período de 1996 a 1998 para 17% no período de 1999 a 2001, analisando 62 pacientes cronicamente infectados (RISTIG et al., 2002).

Um estudo com maior abrangência nacional foi conduzido pela Universidade da Califórnia, analisando 377 pacientes com infecção recente pelo HIV-1 e sem uso prévio de anti-retrovirais, procedentes de 10 cidades norte americanas. Os resultados demonstraram que a prevalência de resistência primária a uma ou mais drogas elevou-se de 3,4% no período de 1995-1998 para 12,4% no período de 1999-2000, destacando-se que a frequência de resistência multidroga elevou-se de 1,1% para 6,2% considerando-se os mesmos períodos. Após o início do tratamento anti-retroviral, observou-se que o tempo para se alcançar supressão viral foi mais longo e o tempo para apresentar falha virológica foi mais curto neste grupo de pacientes. Os autores demonstram o aumento de vírus resistentes aos anti-retrovirais e sugerem que o uso dos testes de resistência genotípica parecem ser indicados mesmo para pacientes com infecção recente pelo HIV-1, sem tratamento anti-retroviral (LITTLE et al., 2002).

Um outro estudo, envolvendo 1.082 pacientes portadores de infecção aguda pelo HIV-1, livres de tratamento anti-retroviral, atendidos entre 1997 e 2001 em 39 clínicas situadas em 10 cidades norte americanas, detectou uma frequência de 8,3% de mutações que

conferem resistência aos anti-retrovirais, através do teste de genotipagem (WEINSTOCK, 2004).

No Canadá, entre 1997 e 1999 foram realizadas genotipagens de amostras provenientes de 80 pacientes recentemente infectados pelo HIV, sem tratamento anti-retroviral encontrando-se uma frequência de 21% de mutações que conferem resistência aos ITR e 15% aos IP (BRENNER, 2000). Neste mesmo período, 81 pacientes recentemente infectados pelo HIV; 21 através do uso de drogas injetáveis, 56 pelo contacto sexual e 4 com desconhecida forma de transmissão, foram genotipados. A prevalência foi elevada, independente da forma de transmissão. Nos usuários de drogas, observou-se 24% aos ITR e 24% aos IP, nos que adquiriram pelo contacto sexual, 22% aos ITR e 12% aos IP (SALOMON, 2000).

Na Itália, estudos de prevalência de resistência primária através de genotipagem, em portadores de infecção recente, identificaram aumento no percentual de pacientes com mutações associadas a resistência ao AZT, de 8% no período de 1987 a 1994 para 20% e 36% nos anos de 1996 e 1997, respectivamente (TAMBUSSI, 1998). FILIPPINI e cols (2004) ao estudarem a prevalência de resistência primária do HIV antes e após 1997, ano da introdução da HAART, envolvendo 21 pacientes que adquiriram a infecção antes de 1996 e 27 pacientes após 2000, não observaram mutações que conferem resistência primária aos anti-retrovirais nos infectados antes de 1996, entretanto, uma ou mais destas mutações foram observadas em três (11%) dos 27 pacientes que tiveram diagnóstico após 2000. Os autores concluíram que na Itália, a introdução da HAART provocou a circulação de HIV resistente às drogas.

O foco de algumas investigações tem sido a comparação das taxas de prevalência entre doentes com infecção recente e infecção crônica. VIOLIN e colaboradores (2002) procuraram identificar a prevalência de resistência primária em um grupo de

portadores de HIV-1, sem tratamento prévio com anti-retrovirais, sendo 68 com infecção recente e 347 com infecção crônica atendidos no período de 1996 a 1998. Os pacientes com infecção recente apresentaram frequências de 14,7%, 0 e 5,9% de mutações que conferem resistência aos ITRN, ITRNN e IP respectivamente enquanto que os crônicos 7,8%, 4,9% e 1,4%.

A presença de HIV resistente a TARV, circulante, foi também demonstrada em outros países da Europa, como na Espanha (GOMEZ-CANO, 1998). Alguns autores, encontraram prevalências consideravelmente altas, 17% (PUIG, 2000), 26,7%, em doentes recentemente infectados (BRIONES, 2001; GALLEGO et al., 2003) que obteve 13% em 1999 e 15% em 2001. Um estudo publicado recentemente por EIROs e col., em 2004, relatam uma prevalência de 20,3% no período de 1996 a 2003.

Porém, os resultados não são consensuais. Em Madri, De MENDOZA e col., em 2002, relatam que a prevalência de resistência primária caiu de 25,8% nos anos de 1997-1999 para 3,8% em 2000-2001 e os autores sugerem que os resultados apontam para a não realização de testes de resistência antes do início da TARV. De modo semelhante, nas investigações conduzidas por GARCIA-GUERRERO (2002 e 2004) as taxas de prevalência mantêm-se baixas.

Na França, CÉSAIRE e col., (1999) identificaram frequências de mutações que conferem resistência a anti-retrovirais de 7%, todos os casos envolvidos com o uso de AZT. Outro estudo, realizado durante o período de 1995 a 1998, identificou 17% de prevalência de resistência associada aos ITR e 2% aos IP (TAMALET, 2000). DESCHAMPS (2001), no ano de 1998, analisou amostras através do teste de genotipagem, de 404 doentes cronicamente infectados, sem tratamento, atendidos em 23 centros especializados da área metropolitana de Paris, encontrou uma prevalência de mutações primária que conferem resistência ao HIV de 3,7% enquanto que 50,3% dos doentes apresentaram mutações

secundária. Mutações associadas com resistência aos ITR foi de 3,3% e aos IP foi de 0,8%. Os autores não recomendaram o uso da genotipagem em pacientes cronicamente infectados.

Ainda na França, pesquisadores avaliaram 249 doentes com infecção aguda, em 1999 e 2000, evidenciando uma prevalência de 10%, o que demonstra uma estabilidade desses percentuais em um período de dez anos (CHAIX, 2003).

OETTE e col., (2004), na Alemanha, estudaram a prevalência de resistência primária do HIV em 184 pacientes cronicamente infectados entre janeiro de 2001 a agosto de 2002. Mutações que conferem resistência aos anti-retrovirais foram detectadas em 14% dos pacientes. Para os ITRN verificou-se uma frequência de 10,5%, para os ITRNN 2,8% e para os IP 2,1%. Os autores sugeriram a utilização dos testes de resistência genotípica antes do início da TARV.

Em Londres, 37 pacientes soroconvertidos entre janeiro de 1985 a dezembro de 1991 foram submetidos a genotipagem. Apenas 2 (5%) pacientes; um deles que soroconverteu em agosto de 1991 demonstrou alguma evidência de mutação na protease e isto parece estar associado com resistência ao AZT e o outro que soroconverteu em julho de 1991 foi classificado como mutação intermediária ao AZT (EASTERBROOK, 2002).

Ao estudar a resistência primária no período de 1994 a 2000, 69 pacientes recentemente infectados com HIV, demonstraram uma prevalência de 14% de uma ou mais mutações associadas com resistência aos anti-retrovirais.(UK COLLABORATIVE GROUP ON MONITORING THE TRANSMISSION OF HIV DRUG RESISTANCE, 2001).

Na Suíça, observou-se 9% de prevalência de resistência ao AZT, 2,4% aos outros ITR e 4% aos IP (YEALY, 1999). Na Dinamarca, durante o ano de 2000, não houve nenhuma mutação que confere resistência aos IP, em 97 indivíduos recentemente infectados com HIV e apenas 2% dos pacientes apresentaram resistência aos ITRN (JORGENSEN, 2003). Na Grécia, nos anos de 1999 e 2000, 25 pacientes infectados pelo HIV, sem

tratamento, não apresentaram mutações que conferem resistência aos anti-retrovirais (MAGIORKINIS, 2002).

Na Austrália, verificou-se pelo teste de genotipagem, realizado em amostras provenientes de 185 pacientes com infecção aguda pelo HIV, sem tratamento, estudados no período de 1992 a 2001, uma frequência de 18,4% de mutações que conferem resistência aos ITRN e 2,7% aos ITRNN. Os autores afirmam que após 1995, com a introdução dos IP não houve aumento na incidência de resistência aos inibidores da protease e a frequência de mutações associadas com resistência aos ITRN foi significativamente baixa após 1995, ou seja; diminuiu de 29,3% para 9,0% (AMMARANOND, 2003).

Em 128 pacientes provenientes de 6 províncias dos Camarões, infectados com HIV, sem tratamento, não foram encontradas nenhuma mutação primária associada aos IP (KONINGS, 2004). Em 50 pacientes infectados pelo HIV, sem tratamento, na Coreia, a prevalência de mutação associada com resistência para os anti-retrovirais foi de 8,0% (PARK, 2003).

Ao analisarmos os estudos realizados na América Latina, verifica-se que na Venezuela, de 100 pacientes infectados pelo HIV, apenas dois pacientes estavam infectados com HIV que apresentava mutações, um com resistência aos ITR e outro com mutação associada aos IP (DELGADO, 2001). Na Argentina, o estudo de 94 pacientes de Buenos Aires, cronicamente infectados, sem tratamento, também demonstrou uma taxa de prevalência baixa. A presença de mutação primária associada com resistência aos ITR foi de 1,2% e associada aos IP, foi também de 1,2% (KIJAK, 2001).

Estudos de Resistência Primária do HIV-1 no Brasil

No Brasil, as pesquisas sobre prevalência de resistência primária do HIV foram realizadas após introdução da HAART. O 1º estudo foi conduzido por DUMANS (2002) em 49 pacientes adultos, recém infectados, doadores de sangue, durante o ano de 1998, no Rio de Janeiro e não se encontrou nenhuma mutação primária. As mutações secundárias apresentaram freqüência de 85% para os IP e 87% aos ITR. De 2000 a 2002, 56 pacientes HIV positivos, sem uso de ARV, atendidos no Hospital Geral do Exército, no Rio de Janeiro também não demonstraram nenhuma mutação primária associada aos IP, no entanto, frente aos ITRN a prevalência foi de 14% (PIRES, 2004).

Posteriormente, SUCUPIRA (2003) analisando 90 pacientes, 25 com infecção recente e 65 crônicos, todos sem uso de ARV, em Santos, São Paulo, atendidos de 1999 a 2001, encontraram uma taxa elevada de prevalência de resistência, 32% nos pacientes com infecção aguda e 29% nos crônicos. BRINDEIRO (2003), durante o ano de 2001, estudou 535 pacientes cronicamente infectados, assintomáticos, provenientes de 13 Centros de Referência em aids, de várias regiões do país, sem uso de ARV. As prevalências de resistência primária obtidas foram de 2,2% aos IP, 2,4% aos ITRN e 2,1% aos ITRNN, ou seja, bem menor que a taxa obtida por SUCUPIRA (2003).

Embora as taxas de prevalência sejam menores quando se investiga pacientes crônicos, observa-se que, em locais onde a prevalência em pacientes recém infectados é elevada, por exemplo; na cidade de Santos, a prevalência obtida em pacientes cronicamente infectados também está elevada. Esses dados sugerem que o encontro de uma prevalência de resistência primária alta reflete a situação global da resistência do HIV aos anti retrovirais.

CONCLUSÕES

Do que foi exposto, pode-se dizer que em locais onde a prevalência de resistência primária é elevada, como ocorre no Canadá, com prevalência de 21% aos ITRN, a introdução da TARV de forma empírica pode se constituir um risco para a falência do tratamento. Uma outra situação é quando existem indícios de aumento das taxas de prevalência, mesmo que mantidos níveis ainda considerados baixos.

No Brasil, os estudos como um todo apontam para a existência de baixas prevalências de resistência primária, porém em locais, como em Santos, onde a taxa situa-se em torno de 35%, deve ser considerada a realização da genotipagem antes do uso da TARV.

Pode-se dizer que a maioria dos estudos, nacionais e internacionais, sobre resistência primária detecta maiores índices de prevalência frente aos ITRN, independente de tratar-se de genotipagens realizadas em recém infectados ou crônicos, e até mesmo quando se utiliza simultaneamente genotipagem e fenotipagem. No entanto, não existe consenso a este respeito e nos estudos conduzido por KIJAK (2001) na Argentina e DELGADO (2000) na Venezuela, os índices de resistência aos ITR e IP são semelhantes.

Interessante ressaltar que até 2003, a maioria das pesquisas eram realizadas em pacientes recém infectados, pois acreditava-se, hipoteticamente, que o paciente agudo apresentaria vírus com resistência primária, enquanto que no paciente com infecção crônica estes vírus já teriam desaparecido, não mais sendo identificados pelos testes de resistência. Em 2003, três estudos relataram que após um ano de observação, após 3 anos e mesmo após 5 anos, os vírus continuavam resistentes.

Atualmente, a prevalência de resistência primária, em pacientes com infecção recente, está bem estabelecida, no entanto, as peculiaridades que promovem elevação dos seus índices ainda são desconhecidas. Quanto ao teste a ser utilizado, estudos retrospectivos com pacientes

portadores de infecção recente, através de genotipagens e fenotipagens concluíram que a escolha do resgate terapêutico orientado por ambos os métodos é semelhante no que diz respeito a evolução dos pacientes. Nos dias atuais, a concordância dos métodos atinge 85% dos casos analisados. A presente revisão aponta para a necessidade do planejamento de estudos prospectivos acompanhando-se grupos de doentes com resistência primária, cuja terapia foi orientada pela genotipagem, outro por testes fenotípicos e um terceiro grupo de pacientes em que a orientação foi apenas pelo quadro clínico. O objetivo seria comparar as taxas de sucesso do tratamento entre os grupos.

Até o momento e de um modo geral os autores concordam que a indicação de realizar a genotipagem antes da TARV, como política de saúde, deve orientar-se pela prevalência de resistência primária em uma dada região (BODEN, 1999; LITTLE, 1999; YERLY, 1999; PUIG, 2000; BRIONES, 2001; KIJAK, 2001; RISTG, 2002; OETTE, 2004; DIAZ, 2004; WEINSTOCK, 2004).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ammaranond P, Cunningham P, Oelrichs R, Suzuki K, Harris C, Leas L, Grulich A, Cooper DA, Kelleher AD. No increase in protease resistance and a decrease in reverse transcriptase resistance mutations in primary HIV-1 infection: 1992-2001. **AIDS** 2003, v.17,n.2,p.264-7 .
2. Badaró R. Importância da durabilidade na terapia anti-retroviral do HIV. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**. 2004, v. 8.
3. Balotta C, Berlusconi A, Pan A, Violin M, Riva C, Gori A, Corvasce S, Mazzucchelli R, Facchi G, Velleca R, Senese D, Dehó L, Galli M, Rusconi S, Moroni M.. Prevalence of HIV-1 resistant strains in recent seroconverters. **J Biol Regul Homeost Agents**; 2000, 14(1):51-7.
4. Barbour JD, Hecht FM, Wrin T, Liegler TJ, Ramstead CA, Busch MP, Segal MR, Petropoulos CJ, Grant RM.. Persistence of primary drug resistance among recently HIV-1 infected adults. **AIDS**, 2004, v.18, p.1683-9.
5. Boden D, Hurley A, Zhang L, Cao Y, Jones E, Tsay J, Ip J, Farthing C, Limoli K, Parkin N, Markowitz M. HIV-1 Drug Resistance in Newly Infected Individuals. **JAMA** 1999; 282:1135-1141.
6. Brenner B, Wainberg MA, Salomon H, Rouleau D, Dascal A, Spira B, Sekaly RP, Conway B, Routy JP. Resistance to antiretroviral drugs in patients with primary HIV-1 infection. **International Journal of Antimicrobial Agents** 2000, 16 : 429-434.
7. Brenner B, Wainberg MA, Salomon H, Rouleau D, Dascal A, Spira B, Sekaly RP, Conway B, Routy JP. Persistence and fitness of multidrug-resistant human immunodeficiency virus type 1 acquired in primary infection. **J Virol** 2002, 76(4):1753-1761.
8. Brindeiro RM, Diaz, RS, Sabino EC, Morgado MG, Pires IL, Brigido L, Dantas MC, Barreira D, Teixeira PR, Tanuri A. And the Brazilian Network for HIV drug resistance surveillance (HIV-BresNet): a survey of cronically infected individuals. **AIDS** 2003, v.17,p.1-7,2003.
9. BRIONES C et al. Primary genotypic and phenotypic HIV-1 drug resistance in recent seroconverters in Madrid. **J Acquir Immune Defic Syndr**; 2001,26(2):145-50.

10. Carpenter CC, Fischl MA, Hammer SM. Antiretroviral therapy for HIV infection in 1998. **JAMA**. 1998; 280:78-86.
11. Césaire R, dos Santos G, Abel S, et al. Drug resistance mutations among HIV-1 strains from antiretroviral-naïve patients in Martinique, French West Indies. **J Acquir Immune Defic Syndr**. 1999;22(4):401-5.
12. Chaix, ML, Descamps D, Harzic M, Schneider V, Deveau C, Tamalet C, Pellegrin I, Izopet J, Ruffault A, Masquelier B, Meyer L, Rouzioux C, Brun-Vezinet F, Costagliola D. Stable prevalence of genotypic drug resistance mutations but increase in non-B among patients with primary HIV-1 infection in France. **AIDS** 2003, 17:2635-2643.
13. Clark, D. Uso del Laboratorio: Carga viral y Pruebas de Resistencia. **The Johns Hopkins University on behalf of its Division of Infectious Diseases and AIDS Service**. 1999.
14. D'Aquila T, Schapiro JM, Brun-Vezinet F, Clotet B, Conway B, Demeter LM, Grant RM, Johnson VA, Kuritzkes DR, Loveday C, Shafer RW, Reichman DD. Drug Resistance Mutations in HIV-1. **AIDS**, 2002, v.10,n.2,p.11-15.
15. De Mendoza C, Del Romero J, Rodriguez C, Corral A, Soriano V. Decline in the rate of the genotypic resistance to antiretroviral drugs in recent HIV seroconverters in Madrid. **AIDS** 2002, 16(13):1830-2.
16. Delgado E, Léon-Pnte M, Vilahermosa ML, Cuevas MT, Deibis L, Echeverria G, Thomson MM, Pérez-Alvarez L, Osmanov S, Nájera R. Analysis of HIV type 1 protease and reverse transcriptase sequences from Venezuela for drug resistance-associated mutations and subtype classification: a UNAIDS study. **AIDS Res Hum Retroviruses**. 2001, 17(8):753-8.
17. Deschamps D, Calvez V, Isopet J, Buffet-Janvresse C, Schmuck A, Colson P, Ruffault A, Mailard A, Masquèlier B, Cottalorda J, Harzic M, Brun-Vézinet F, Costagliola D. Prevalence of resistance mutation in antiretroviral-naïve chronically HIV-infected patients in 1998: a French nationwide study. **AIDS**. 2001, 15(14):1777-82.
18. Diaz R. Guia para o manuseio de testes de resistência anti-retroviral no paciente infectado pelo HIV-1. 1ª Edição. São Paulo, **Abbott** 2004. 87p.
19. Dumans AT, Soares MA, Pieniazek D, Kalish ML, De Vroey V, Hertogs K, Tanuri A. 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**. 2002, v.46,n.9,p.3075-79.

20. Eiros, JM, Blanco R, Labayru C, Hernaández B, Bou G, Dominguez-Gill M, Ortiz de Lejarazu R. Prevalence of genotypic resistance in untreated HIV-infected patients. **Rev Esp Quimioterap.** 2004, vol.17: 250-256.
21. Filippini P, Ligouri G, Scolastico C, Coppola N, Luciariello A, MarroccoC, Catania MR, Ortega De Luna L, Romano Caratelli C, Marinelli P, Sagnelli E, Rossano F. Prevalence of genotypic resistance to nucleoside analogues and protease inhibitors in antiretroviral-naive HIV patients in Campania, Italy. **J Chemother.** 2004, 16(6):534-9.
22. Gallego O, Corral A, De Mendoza C, Gonzalez-La C, Soriano V. High rate of resistance to antiretroviral drugs among HIV-infected prison inmates. **Med Sci Monit.** 2003, 9(6): CR217-21.
23. Garcia-Guerrero J, Herrero A, Vera E, Almenara JM, Araújo R, Sauri VV, Castellano JC, Fernandez-Clemente L, Bedia M, Lorence MI, González-Morán F. Mutations of resistance of HIV-1 in previously untreated patients at penitentiary centers of the Autonomous Community of Valencia, Spain. **Med Clin (Barc).** 2002, 118(7):247-50.
24. Garcia-Guerrero J, Herrero A, Bedia M, Araújo R, Castellano JC. Primary HIV drug resistance in a prison population. **Enferm Infecc Microbiol Clin,** 2004, 22(1):29-31.
25. Girardi E.. Epidemiological aspects of transmitted HIV drug resistance. **Scand J Infect Dis.** 2003, Suppl; 35 Suppl 106:17-20.
26. Gomez-Cano M, Rubio A, Puig T, Pérez-Olmeda M, Ruiz L, Soriano V, Pineda JA, Xaus N, Clotet B, Leal M. Prevalence of genotypic resistance to nucleoside analogues in antiretroviral-naive and antiretroviral-experienced HIV-infected patients in Spain. **AIDS.**1998, 12(9):1015-20.
27. Hira SK, Panchal K, Parmar PA, Bhatia VP. High resistance to antiretroviral drugs: the Indian experience. **Int J STD AIDS.** 2004, 15(3):173-7.
28. Jorgensen LB, Chistensen MB, Gerstoft J, Mathiesen LR, Obel N, Pedersen C, Nielsen H, Mielsen C. Prevalence of drug resistance mutations and non-B subtypes in newly diagnosed HIV-1 patients in Denmark. **Scand J Infect Dis,** 2003, 35(11-12):800-7.
29. Kijak GH, Pampuro SE, Avila MM, Zala C, Cahn P, Wainberg MA, Salomon H.. Resistance profiles to antiretroviral drugs in HIV-1 drug-naive patients in Argentina. **Antivir Ther;** 2001, 6(1):71-7.

30. Kim BR. The drug transporter P-Glycogen limits oral absorption and entry of HIV-1 protease inhibitors. **J Clin Invest** 1998, 101, 2 jan, 209-294.
31. ing NM, Prabu-Jeyabaiam M, Nalivaika EA, Schiffer CA. Combating Susceptibility to Drug Resistance: Lessons from HIV-1 Protease. **Chemistry & Biology**. 2004, vol 11, 1333-1338, October.
32. Konings FA, Zhong P, Agwara M, Agying L, Achkar JM, Ewane, L, Saa AZE, Kinge T, Nyambi PN. Protease mutations in HIV-1 non-B strains infecting drug-naïve villagers in Camareon. **AIDS Res Hum Retroviruses**. 2004, 20(1):105-9.
33. Little SJ, Holte S, Routy J, Daar ES, Markowitz M, Collier AC, Koup RA, Mellors JW, Connick E, Conway B, Kilby M, Wang L, Whitcomb JM, Hellman NS, Richman DD. Antiretroviral-drug resistance among patients recently infected with HIV. **N England Med**. 2002, 347:385-394.
34. Little SJ, Holte S, Routy J, Daar ES, Markowitz M, Collier AC, Koup RA, Mellors JW, Connick E, Conway B, Kilby M, Wang L, Whitcomb JM, Hellman NS, Richman DD. Reduced Antiretroviral Drug Susceptibility Among Patients With Primary HIV Infection. **JAMA**. 1999, vol. 282, 1142-1149.
35. Margiokins E, Paraskevis D, Magiorkins G, Chrysos S, Chini M, Lazanas M, Paparizos V, Saraglou G, Antoniadou A, Giamarellou E, Karafoulidou A, Hatzakis A. . Mutations associated with genotypic resistance to antiretroviral therapy in treatment naïve HIV-1 infected patients in Greece. **Virus Research** 85 (2002) 109-115.
36. Ministério da Saúde do Brasil, Programa de DST e AIDS. Recomendações para terapia anti-retroviral em adultos e adolescentes infectados pelo HIV. Brasília, 2004, 140p.
37. Mortensen C, Azevedo ML, Munerato P. Manual de genotipagem do HIV. **Applied Biosystems do Brasil**, 2002, São Paulo, p.69.
38. Nicastri E, Ippolito G. Use of genotypic assays for the detection of HIV antiretroviral resistance. **Scand J Infect Dis Suppl**. 2003, 35 Suppl 106:24-8.
39. Oette M, Kaiser R, daumer M, Akbari D, Falkenheuer G, Rockstroh JK, Stechel J, Rieke A, Mauss S, Schmaloer D, Gobels K, Vogt C, Wettstein M, Haussinger D. Primary drug-resistance in HIV-positive patients on initiation of first-line antiretroviral therapy in Germany. **Eur J Med Res**. 2004, 9(5):273-8.

40. Palella FJJr, Delaney KM, Moorman AC. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. **N Engl J Med**.1998, v.338, p. 853-60.
41. Park SW, Kim HB, Choi YJ, Kim NJ, Oh MD, Choe KM. Genotypic resistance of antiretroviral drugs among drug-naïve HIV type 1 patients with the background of long-term access-easy zidovudine therapy. **AIDS Res Hum Retroviruses**. 2003, 19(11):1039-43.
42. Pires IL, Soares MA Speranza FAB, Ishii SK, Vieira MCG, Gouvêa MIFS, Guimarães MAAM, Oliveira FE, Magnanini MMF, Brindeiro RM, Tanuri A. . Prevalence of HIV-1 drug resistance mutations and subtypes in drug-naïve infected individuals in he Army Health Service of Rio de Janeiro, Brazil. **J Clin Microbiol**. 2004, v.42,n.1,p-426-30.
43. Puig T, Pérez-Olmeda M, Rubio A, Ruiz L, Briones C, Franco JM, Gómez-Cano M. Prevalence of genotypic resistance to nucleoside analogues and protease inhibitors in Spain. The ERASE-2 Study Group. **AIDS**. 2000, 14(6):7277-32.
44. Rachid M, Schechter M. Manual de HIV/AIDS. 6. ed. Rio de Janeiro: **Revinter**, 2001. 198p.
45. Ristig MB, Arens MQ, Kennedy M, Powderly W, Tebas P. Increasing prevalence of resistance mutations in antiretroviral-naïve individuals with established HIV-1 infection from 1996-2001 in St. Louis. **HIV Clin Trials**. 2002, 3(2):155-60.
46. Salomon H, Wainberg MA, Brenner B, QuanY, Rouleau D, Coté P, Leblance R, Lefebvre E, Spira B, Tsoukas C, Sekaly RP, Conway B, Mayers D, Routy JP. Prevalence of HIV-1 resistant to antiretroviral drugs in 81 individuals newly infected by sexual contact or injecting drug use. **AIDS**. 2000, 14(2):F17-23.
47. Sanchez MS, Grant RM, Porco TC, Gross KL, Getz WG. A decrease in drug resistance levels of the HIV epidemic can be bad news. **Bulletin of Mathematical Biology. Elsevier ltd**, 2004. 22p.
48. Sullivan PS, Bruskin SE, Tumer JH, Cheingsong R, SaekhouA, Kalish ML, Jones JL, Respress R, Kovacs A, Heneine W. Low prevalence of antiretroviral resistance among persons recently infected with human immunodeficiency virus in two US cities. **It J STD AIDS**. 2002, 13(8):554-8.
49. Tamalet C, Pasquier C, Yahi N, Colson P, Martin LP, Lepeu G. Prevalence of drug resistant mutants and virological response to combination therapy in patients with primary HIV-1 infection. **J Med Virol**. 2000, 61(2):181-6.

50. Tambussi G, Boeri E, Carrera P, Gianotti N, Lazzarin A. Prevalence of mutation associated to resistance with nucleoside analogues in a cohort of naïve HIV-1 positive subjects during the period 1984-1997. **J Biol Regul Homeost Agents**. 1998, 12(1-2 suppl):32-4.
51. Torres Rivera B, Vallés V, Rios OE. Prevalence of primary and secondary resistant mutations to antiretroviral drug in a population of Puerto Rican infected with HIV. **P R Health Sci J**. 21(4):329-336, Dec 2002.
52. UK COLLABORATIVE GROUP ON MONITORING THE TRANSMISSION OF HIV DRUG RESISTANCE. Analysis of prevalence of HIV-1 drug resistance in primary infections in the United Kingdom. Comment In: *BMJ*. 2001 May 5;322(7294): 1074-5.
53. Violim M.. Primary HIV-1 resistance in recently and chronically infected individuals of the Italian Cohort Naïve for Antiretrovirals. *J Regul Homeost Agents*; 16(1):37-3:2002 Jan-Mar.
54. Weinstock, H S,Zaidi I,Heneine W,Bennett D,Garcia-Lerma JG,Douglas JM,Lalota M,Dickinson G, Schwarcz S,Torian L,Wendell D,Paul S,Goza GA,Ruiz J,Boyet B,Kaplan JE. The Epidemiology of Antiretroviral Drug Resistance among Drug-Naïve HIV-1 Infected Persons in 10 US Cities. *JID* 2004;189:2174-80.
55. Yerly S,Kaiser L,Race E,Bru JP,Clavel F,Perrin L. Transmission of antiretroviral-drug-resistant HIV-1 variants. *LANCET*, 354(9180):697-8, 2001.

ARTIGO II

RESISTÊNCIA PRIMÁRIA DO HIV-1 EM PACIENTES CRONICAMENTE INFECTADOS NO NORDESTE DO BRASIL

Luzidalva Barbosa de Medeiros (1,3)

Heloísa Ramos Lacerda (1,2,3)

Ana Salustiano (4)

Maria de Fátima Pessoa Militão de Albuquerque (1,2,3)

¹Trabalho realizado no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE,

²Pós-Graduação em Medicina Tropical da UFPE ,

³Departamento de Medicina Clínica da UFPE e

⁴Laboratório Central da Secretaria Estadual de Saúde de Pernambuco – LACEN - PE

Trabalho financiado pelo Ministério da Saúde do Brasil

Endereço para correspondência

Heloisa Ramos Lacerda

Rua Professora Anunciada Rocha Melo, 97 ap 501

Madalena – Recife – PE CEP 50710-390

Email – helramos@terra.com.br

Fones - 55 81 34465042 - 55 81 99645517

RESUMO

Objetivo – Estimar a prevalência de resistência primária aos anti-retrovirais em pacientes cronicamente infectados pelo HIV-1, sem uso prévio de anti-retrovirais, em um Centro de Referência para o tratamento do HIV/AIDS do Nordeste do Brasil.

Métodos – Foram colhidas amostras de sangue para extração do RNA viral de pacientes com HIV/AIDS, cronicamente infectados, atendidos no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco, antes do início do tratamento antiviral, no período de fevereiro de 2002 a janeiro de 2003. As regiões da transcriptase reversa (TR) e da protease (PR) foram sequenciadas para a determinação das mutações relacionadas à resistência aos antivirais.

Resultados – Foram ampliadas e genotipadas um total de 84 amostras. Os pacientes apresentavam CD4 médio de 178,7 células/mm³ e Carga viral média de 269.305 cópias RNA/mL. A genotipagem revelou 2 (2,4%) pacientes com mutação principal relacionada aos ITRN e nenhuma mutação principal aos ITRNN ou IP. Foram encontrados 17 (20,2%) pacientes com mutações secundárias aos ITRN e 67 (79,8%) com mutações secundárias relacionadas aos IP. Mutações acessórias no gene da protease ocorreram nas seguintes posições: L63P [40/84 (47,6%)], M36I [29/84 (34,5%)], V77I [13/84 (15,5%)], L10V [9/84 (10,7%)], K20R [9/84 (10,7%)], A71T [6/84 (7,1%)], L10I [5/84 (6%)], A71V [2/84 (2,4%)] e I54P [1/84 (1,2%)]. As mutações associadas a susceptibilidade reduzida aos ITRN foram: M41L [2/84 (2,4%)], G333E [6/84 (7,1%)], V118I [5/84 (5,9%)], S68G [4/84 (4,8%)], E44D [1/84 (1,2%)] e K219E [1/84 (1,2%)].

Conclusão – Observou-se baixa prevalência de mutações primárias relacionadas à resistência aos ITRN em pacientes cronicamente infectados pelo HIV e ausência de resistência aos ITRNN e IP.

Key Words- HIV-1, resistência primária a drogas, genotipagem, HIV-1

ABSTRACT

Objective – To estimate prevalence rate of primary resistance to antiretroviral agents in patients with chronic infection by HIV-1 without previous administration of antiretroviral therapy in a reference center for HIV-aids treatment in northeast region of Brazil.

Methods – Blood samples were obtained and viral RNA was extracted from patients with HIV-aids chronic infection who attended to the Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco, before they initiated antiretroviral treatment. The reverse transcriptase (RT) and protease (PR) sites have been scanned to determinate mutations related to resistance to antiviral agents.

Results – A total of 84 samples were amplified and genes were sequenced. Patients presented an average CD4 level of 178,7 cells/mm³ and average viral counting of 269,305 RNA copies/ml. Gene sequences found 2 (2.4%) patients with main mutation related to ITRN and none main mutation related to ITRNN nor to IP. 17 (20.2%) patients had secondary mutations related to ITRN and 67 (79.8%) patients had secondary mutations related to IP. Accessory mutations in protease gene occurred in the sites: L63P [40/84 (47.6%)], M36I [29/84 (34.5%)], V77I [13/84 (15.5%)], L10V [9/84 (10.7%)], K20R [9/84 (10.7%)], A71T [6/84 (7.1%)], L10I [5/84 (6%)]A71V [2/84 (2.4%)] e I54P [1/84 (1.2%)]. Mutations related to low susceptibility to ITRN were: M41L [2/84 (2.4%)], G333E [6/84 (7.1%)], V118I [5/84 (5.9%)], S68G [4/84 (4.8%)], E44D [1/84 (1.2%)], and K219 [1/84 (1.2%)].

Conclusion – A low prevalence rate of primary mutations related to resistance to ITRN in patients with chronic infection by HIV and absence of resistance to ITRNN and IP were observed.

Key Words – HIV-1, primary resistance to drugs, gene sequencing.

INTRODUÇÃO

A utilização de esquemas anti-retrovirais combinados aumentou significativamente a sobrevida dos pacientes com aids (PALELLA, DELANEY & MOORMAN, 1998), entretanto, o aparecimento de mutações no genoma viral que resulta em resistência aos medicamentos e a possibilidade da sua transmissão aos novos infectados tem sido uma grande preocupação. O problema se torna ainda mais grave quando se observa que a resistência cruzada dentro do mesmo grupo de medicamentos é comum, e que a resistência a duas ou mais classes de drogas também pode estar presente e ser transmitida em infecções primárias (DeGRUTTOLA, DIX & D'ÁQUILA, 2000; TAMALET et al., 2000; LITTLE et al., 1999). Todas essas variáveis tornam o controle viral ainda mais difícil e, enfatizam a importância de monitorizar a presença da resistência primária para avaliar o potencial de resposta aos antivirais padronizados para início do tratamento. O presente estudo tem como objetivo estimar a prevalência de resistência primária, em indivíduos cronicamente infectados, atendidos em uma Unidade de Referência para o Tratamento do HIV/AIDS do Hospital das Clínicas da UFPE, sem tratamento prévio, no período de fevereiro de 2002 a janeiro de 2003.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

Um total de 101 indivíduos infectados pelo HIV-1 atendidos no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – Recife, no período de fevereiro de 2002 a janeiro de 2003 foram incluídos no estudo. Nenhum deles havia utilizado anti-retrovirais previamente. Os participantes receberam os esclarecimentos pertinentes e assinaram o termo de consentimento informado. O estudo foi aprovado na Comissão de Ética do

Centro de Ciências da Saúde da UFPE (anexo 2) .Todos responderam ao questionário (nexo 3).

As amostras de sangue foram submetidas ao isolamento do RNA conforme já descrito (STUYVER et al., 1997; TANURI et al., 1999). As regiões da Transcriptase Reversa (TR) e da Protease (PR) foram ampliadas através da PCR. Os fragmentos de PCR foram seqüenciados num seqüenciador automatizado AB3100 (MORTENSEN, AZEVEDO & MUNERATO, 2002).

Características dos pacientes

Foram incluídos 101 pacientes, entretanto 17 (16,8 %) amostras de sangue destes indivíduos não geraram fragmentos na Reação em Cadeia da Polimerase para as regiões genômicas da Transcriptase Reversa ou Protease, sendo excluídos da análise, restando 84 pacientes, cujos dados são descritos neste trabalho.

A maioria deles eram homens jovens, com até oito anos de escolaridade. A forma de transmissão foi principalmente a sexual, sendo a maioria com práticas heterossexuais, seguidos dos homossexuais e em menor freqüência os bissexuais. A transmissão sanguínea por uso de drogas injetáveis ou hemotransusão foi pouco importante. O nível médio de linfócitos CD4 foi de 178,7 células/mm³ e a média de RNA plásmático foi de 269.305 cópias RNA/mL (Tabela 1).

Análise Genotípica e Mutações Primárias e Secundárias

Mutações primárias relacionadas aos ITRN ocorreram em 2 (2,4%) pacientes, e nenhuma mutação primária relacionadas aos ITRNN ou IP foi encontrada. Mutações secundárias relacionadas aos ITRN ocorreram em 17 (20,2%) pacientes e relacionadas aos IP em 67 (78,3%). Não houve mutação secundária relacionada aos ITRNN (Tabela 2).

A mutação primária relacionada aos ITRN nos 2(2,4%) pacientes foi a M41L e as mutações secundárias mais freqüentes relacionadas a este grupo de antivirais foram a G333E que ocorreu em 6/84 (7,1%) pacientes, a V118I em 5/84 (5,9%), a S68G em 4/84 (4,8%) e as mutações E44D e K219E que ocorreram em 1/84 (1,2%) paciente cada (Gráfico 1).

As mutações secundárias relacionadas aos IP mais freqüentes foram a L63P em 40/84 (47,6%) pacientes, a M36I em 29/84 (34,5%), a V77I em 13/84 (15,5%), a L10V e a K20R em 9/84 (10,7%) pacientes cada uma, a A71T em 6/84 (7,1%), a L10I em 5/84 (5,9%), a A71V em 2/84 (2,4%) e a I54P em 1/84 (1,2%) paciente (Gráfico 2) .

DISCUSSÃO

Este estudo revelou uma baixa prevalência de mutações de resistência primária do HIV-1 em indivíduos cronicamente infectados e, sem tratamento prévio, apesar da elevada freqüência de mutações acessórias.

A principal crítica ao estudo é analisar a resistência primária em indivíduos cronicamente infectados e na sua maioria sintomáticos. Acredita-se, de forma intuitiva, que a detecção de resistência primária estaria prejudicada em indivíduos cronicamente infectados na ausência de tratamento (mesmo em indivíduos primariamente infectados por vírus resistentes), por isso o exame teria valor apenas nos pacientes com soroconversão recente. A idéia vigente é que nas fases mais tardias, os vírus selvagens geralmente multissensíveis tenderiam a se multiplicar e a genotipagem não detectaria mais as cepas virais com mutações de resistência latentes por falta de pressão de seleção da droga. Isto é realmente verdade em pacientes com resistência secundária, quando se suspende o tratamento anti-retroviral, entretanto, não se sabe ao certo se isto se aplicaria a pacientes com resistência primária. Nesta situação, ou seja, nas infecções recentes pelo HIV-1, os principais mecanismos de pressão de

seleção são as respostas por anticorpos neutralizantes ou os linfócitos T citotóxicos e, neste caso não haveria conversão rápida a um vírus selvagem sensível a drogas e com elevada capacidade de replicação da polimerase como ocorre naqueles com resistência secundária aos antivirais (BARBOUR et al, 2004). Os estudos que dão base a esta afirmação demonstram persistência de mutações de resistência em indivíduos agudamente infectados com vírus resistentes após 1 ano (BARBOUR et al, 2004), após 3 anos (LITTLE et al., 2004) e após 5 anos (WAINBERG, 2002 *apud* DIAZ, 2004) de observação.

Os dois casos de mutações primárias encontrados no estudo foram relacionados aos ITRN e determinam redução da sensibilidade ao AZT. Os ITRN foram o primeiro grupo de anti-retrovirais introduzidos no uso clínico, podendo-se então inferir que os vírus aqui testados representam os vírus circulantes na época de aquisição da infecção, ou seja, cerca de uma década atrás. Um estudo londrino que avaliou 37 indivíduos com soroconversão entre 1984 e 1991, mostrou que apenas dois deles apresentava mutações significantes e estas também ocorreram na transcriptase reversa, reduzindo a sensibilidade ao AZT (EASTERBROOK et al., 2002). Um estudo grego que avaliou 25 indivíduos cronicamente infectados na Grécia não mostrou mutações de resistência, pois estas devem ser infecções antigas (MARGIORKINIS 2002). Entretanto, na Espanha, as genotipagens de 145 indivíduos cronicamente infectados apresentaram 20,27% de resistência, proporção bastante elevada (EIROS et al, 2004). No Brasil, um estudo realizado em 2001, que avaliou 535 indivíduos cronicamente infectados e assintomáticos, detectou apenas 6,6% indivíduos com mutações de resistência primária, sendo 2,4% aos ITRN, 2,0% aos ITRNN e 2,3% aos IP. Neste grupo de pacientes foram incluídas 42 amostras da região nordeste (dos estados da Bahia e Ceará), dentre estas, apenas duas (4,8%) apresentavam mutações de resistência primária (BRINDEIRO 2003). Um outro estudo, realizado entre 56 soldados cronicamente infectados, a maioria assintomáticos, no estado do Rio de Janeiro, mostrou baixa prevalência de mutações

de resistência primária, além de redução na incidência de mutações acessórias aos IP ao longo dos anos, provavelmente, em decorrência de esquemas mais potentes de IP utilizados mais recentemente (PIRES, 2004). Todos esses dados mostram que o Brasil apresenta níveis de resistência primária abaixo da maioria de outros países, apesar do acesso universal à medicação antiviral desde 1996 (SOARES, 2003) e que na região Nordeste, particularmente em Pernambuco, ela é ainda mais baixa. Pode-se suspeitar, sem entretanto afirmar, que esta menor frequência de resistência primária decorra de um acesso mais tardio aos medicamentos.

No mundo, os estudos apontam a tendência da resistência primária em duas direções. Um importante estudo realizado em 10 centros americanos mostra um aumento de mutações de resistência em infecções primárias agudas. Nas infecções adquiridas entre 1995 e 1998 as taxas eram de 8%, tendo se elevado para 22,7% nas infecções agudas adquiridas entre 1999 e 2000 (LITTLE, 2002). Enquanto isso, no Canadá, na França e na Austrália os estudos mostram estabilização dos níveis de resistência primária nas infecções agudas mais recentes (CHAIX, 2003; BRENNER, 2000; AMMARANOND 2003). Apesar dessa estabilização, a resistência primária é elevada, como no Canadá onde a avaliação de 80 indivíduos com infecção aguda entre 1997 e 1999 mostrou que as mutações de resistência primária aos ITRN e ITRNN somaram 21% e mutações aos IP somaram 15% dos casos (BRENNER, 2000). Na França, 249 indivíduos com infecção primária diagnosticada entre 1999 e 2000 mostraram 10% de indivíduos com mutações de resistência principal a pelo menos um anti-retroviral, sendo 8% aos ITRN, 4% aos ITRNN e 6% ao IP. Doze pacientes apresentavam resistência a dois ou três grupos de antivirais simultaneamente (CHAIX, 2003). Na Austrália o pico de resistência nas infecções primárias ocorreu na década de 90 e agora se encontra num *plateau* de 10-15% nos últimos 3 anos (AMMARANOND, 2003). Apesar dessa tendência à estabilização parecer uma boa notícia, suspeita-se que ela seja a expressão de uma realidade ruim, isto é; a possibilidade do aumento do número de casos da epidemia, reduzindo a

importância relativa das infecções com mutações de resistência, a redução da proporção de indivíduos realmente utilizando o tratamento e as consequências da troca da terapia única ou dupla pelas terapias triplas (SANCHEZ et al., 2004).

Finalmente, observa-se uma elevada frequência de mutações acessórias, principalmente as relacionadas aos IP. Felizmente, no grupo dos IP, as mutações acessórias têm pequeno impacto na diminuição da susceptibilidade ao anti-retroviral, tendo uma função maior na recuperação do *fitness* viral, que fica enormemente comprometido pelas mutações principais. Ao contrário, as mutações acessórias aos ITR são significativas, podendo resultar numa pequena diminuição de susceptibilidade ou seja, uma resistência parcial à droga. E, em algumas situações, a soma de uma mutação acessória a uma principal pode dobrar ou triplicar esta redução da susceptibilidade (DIAZ, 2004).

CONCLUSÃO

Este estudo mostra a baixa prevalência da resistência primária aos anti-retrovirais entre indivíduos cronicamente infectados pelo HIV-1, a grande maioria sintomáticos, em um Serviço de Referência para o tratamento do HIV/AIDS em Pernambuco, resultado semelhante a estudo prévio realizado no Brasil, que incluiu dois estados nordestinos. Entretanto, a oferta universal da medicação pelo Ministério da Saúde a partir de 1996, pode modificar esta realidade, que deve ser monitorada periodicamente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Barbour JD, Hecht FM, Wrin T, Liegler TJ, Ramatead CA, Busch MP, Segal MR, Petropoulos CJ, Grant RM . **AIDS**; 2004, 18:1683-1693.
2. Brenner B, Wainberg MA, Soloman H, Rouleau D, Dascal A, Spira B, Sekaly RP, Conway B,Routy JP. Resistance to antiretroviral drugs in patients with primary HIV-1 infection. **Int J Antimicrob Agents** 2000, 16:429-434.
3. Brindeiro, R..M , Diaz, R.S; Sabino ,E.C.; Morgado,M.G.;Pires,I.L.;Brigido ,L.;Dantas,M.C.; Barreira,D.;Teixeira,P.R;Tanuri, A and the Brazilian Network for Drug Resistance Surveillance. Brazilian network for HIV drug resistance surveillance (HIV-BResNet): a survey of chronically infected individuals. **AIDS** 2003, 17: 1063-1069.
4. Chaix ML,Descampos D, Harzic M, Schneider,V, Deveau C,Tamalet C, Pellegrin,I, Izopet J,Ruffault A ,Masquelier B, Meyer L,Rouzioux C,Brun-Vezinet F, Costagliola D. **AIDS** 2003; 17:2635-2643.
5. Clavel F,Hance AJ. HIV drug resistance. **N Eng J Med** 2004, 350:1023-35.
6. DeGruttolla, V.; Dix, L.; D'Áquila, R. The relation between baseline HIV drug resistance and response to antiretroviral therapy – re-analysis of retrospective and prospective studies using a standardized data analysis plan. **Antivir Ther** 2000, 5:41-8.
7. Diaz, R. Guia para o manuseio de testes de resistência anti-retroviral no paciente infectado pelo HIV-1. 1ª. Ed. São Paulo, 2004.
8. Easterbrook, P.J. Hertoggs K, Waters A, Wills B, Gazzard BG, Larder B. Low Prevalence of antiretroviral drug resistance among HIV-1 seroconverters in London, 1984-1991. **Journal of Infection** 2002 44:88-91.
9. Eiros, J.M.;Blanco, R.; Labayru,C.; Hernández,B.;G.;Dominguez -Gill ,M.; Ortiz de Lejarazu, R. Prevalence of genotypic resistance in untreated HIV-infected patients. **Rev Esp Quimioterap** 2004, 17: 250-256.

10. Little SJ, Holte S, Routy J, Daar ES, Markowitz M, Collier AC, Koup RA, Mellors J, W, Connick E, Conway B, Kilby M, Wang L, Whitcomb JM, Hellman NS, Richman DD. Antiretroviral –drug resistance among patients recently infected with HIV. **N Eng J Med** 2002, 347: 385-394.
11. Little SJ, Holte S, Routy JP, Daar ES, Markowitz M, Collier AC. Antiretroviral drug susceptibility and response to initial therapy among recently HIV-infected subjects in North America. **Antiviral Ther** 2001, 6(suppl 1): 21.
12. Palanee A, Philip C, Oelrichs R, Suzuki K, Harris C, Leas L, Grulich A, Cooper DA, Kelleher AD. No increase protease resistance mutations in primary HIV-1 infection: 1992 – 21. **AIDS** 2003, 17:264-267.
13. Palella FJ Jr, Delany KM, Moorman AC. Declining morbidity and Mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. **N Eng J Med** 1998;338:853 -6.
14. Pires IL, Soares MA, Speranza FAB, Ishii SK, Viera MCG, Gouvêa MIFS, Guimarães MAAM, Oliveira FE, Magnanini MMF, Brindeiro RM, Tanuri A. **J Clin Microbiol** 2004, 42:426 -430.
15. Sánchez MS, Grant RM, Porco TC, Gross KL, Getz WM. A decrease in drug Resistance levels of the HIV epidemic can be bad news. **Bul Mathem Biol** 2005.
16. Soares MA, Brindeiro RM, Tanuri A. Primary HIV-1 drug resistance in Brazil. **AIDS** 2004, 18: (Suppl 3):S9-S13.
17. Stuyver L, Wyseur A, Rombout A, Lowagie J, Scarez T, Verhofstede C. et al Line probe assay for rapid detection of drug selected mutations in the human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase gene. **Antimicrob Agents Chemother** 1997, 41:284 -291.

18. Tamalet C, Pasquier C, Yahi N, Colson P, Martin LP, Lepeu G. Prevalence of drug resistant mutants and virological response to combination therapy in patients with primary HIV-1 infection. **J Med Virol** 2000,61:181-186.
19. Tanuri A, Vicente AC, Otaski K, Ramos CA, Ferreira OC Jr, Schetcher M. Genetic variation and susceptibilities to protease inhibitors among Subtypes B and F isolates in Brazil. *Antimicrob Agentes Chemother* 1999,43:253-258.

Gráfico 1. Mutações primárias e secundárias relacionadas aos ITRN nos 84 pacientes estudados no HC da UFPE, de fevereiro de 2002 a janeiro de 2003.

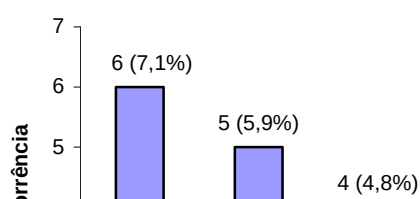


Gráfico 2. Mutações secundárias relacionadas ao grupo dos IP nos 84 pacientes estudados no HC da UFPE, de fevereiro de 2002 a janeiro de 2003.

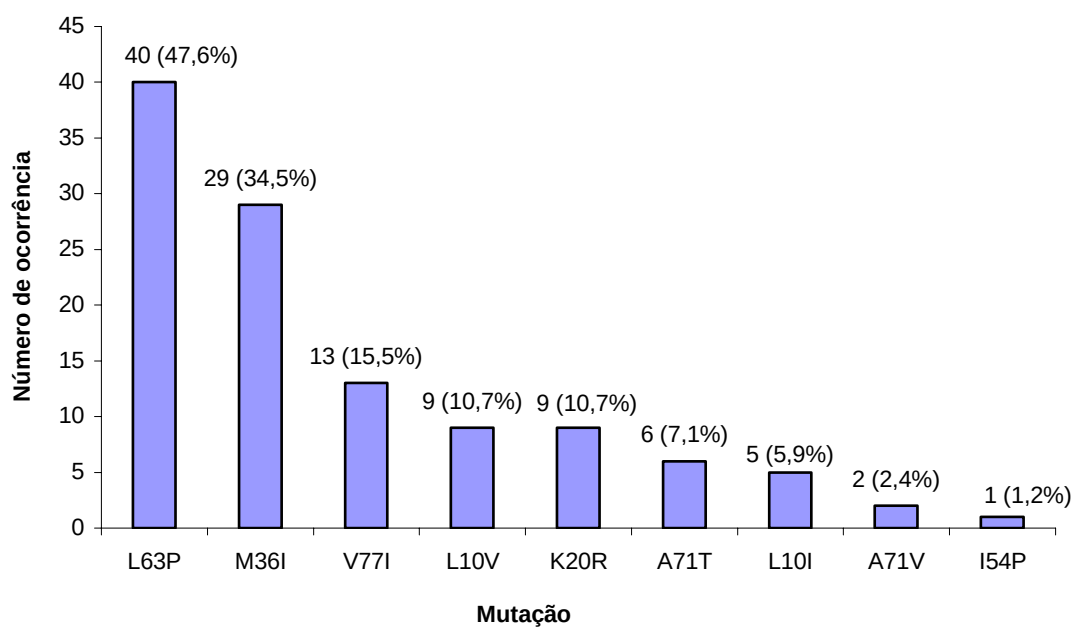


Tabela 1. Dados demográficos, imunológicos e virológicos dos 84 pacientes estudados no HC da UFPE, de fevereiro de 2002 a janeiro de 2003.

Características	n	%
Sexo		
Masculino	54	64,3
Feminino	30	35,9
Faixa etária (em anos)		
De 18 a 30	24	28,6
De 31 a 40	33	39,3
41 e mais	27	32,1
Escolaridade		
Nenhum	10	12,0
1-8	44	52,4
9-12	23	27,4
> 12	07	8,2
Categoria de exposição		
Homossexual	25	29,8
Bissexual	10	12,0
Heterossexual	49	58,3
Usuário de droga injetável	02	2,4
Transusão	00	0,0
Hemofílico	01	1,2
Sintomatologia		
Sim	76	90,5
Não	08	9,5
CD4 (<i>Média</i> = 178,7; <i>DP</i> = 155,7)		
200 células/mm ³ e mais	25	29,8
Menor de 200 células/mm ³	42	50,0
Sem informação	17	20,2
CV (<i>Média</i> = 269.305; <i>DP</i> = 294.207)		
≥ 100.000 cópias RNA/mL	37	44,0
< 100.000 cópias RNA/mL	27	32,1
Sem informação	20	23,9
Categoria de exposição		

Tabela 2. Mutações primárias e secundárias segundo os grupos de anti-retrovirais dos 84 pacientes estudados no HC da UFPE, de fevereiro de 2002 a janeiro de 2003.

Grupos de ARV	Mutação			
	Primária		Secundária	
	n	%	n	%
ITRN	2/84	2,4	17/84	20,2
ITRNN	-/84	-	-	-
IP	-/84	-	67/84	79,8

Tabela 3. Descrição dos 84 pacientes pesquisados segundo a idade, sexo, fator de risco, subtipo e mutações relacionadas aos diferentes grupos de ARV no HC da UFPE, de fevereiro de 2002 a janeiro de 2003.

Nome	Idade	Sexo	Fator de	Subtip	Grupos de ARV
------	-------	------	----------	--------	---------------

			risco	o	ITRN	ITRN N	IP
A.A.B.	25	M	HMS	B			L63P, A71V, V77I
A.A.S.	50	M	HTS	B			M36I
A.L.M.R.	24	M	HTS	B	S68G		
A.L.S.	24	M	HMS	B			V77I
A.M.A..S.	56	F	HTS, HEM	F			
A.M.L.F.	35	F	HTS	F			M36I
A.P.S.	22	F	HTS	B			L10I, L63P
A.R.C.	22	M	HMS	B			V77I
C.B.B.	32	M	HTS	B			L63P
C.B.S.	59	M	HTS	B			L63P, M36I
D.C.B.	80	F	HTS	B			L10I, A71T, L63P, V77I
D.S.B.M.	39	M	HMS	B			L63P
E.A.E.	37	M	HMS	FB			M36I
E.A.M.	45	F	HTS	B			V77I
E.A.S.	31	M	HMS, UDI	B			
E.A.S.	35	M	HMS	F			K20R, M36I
E.C.C.	38	M	HTS	B			L63P
E.C.S.	41	M	HTS	B			L63P
E.F.	49	M	HTS	B			
E.J.O.	29	M	HMS	B			M36I, L63P
E.J.S.	54	F	HTS	B			L63P
E.M.S.	35	M	HMS, UDI	B			M36I, L63P
E.R.O.	20	F	HTS	B			
E.S.A.	35	M	HMS	B	S68G		L63P, A71T
E.S.B.	21	F	HTS	F			K20R, M36I
E.S.C.	31	F	HTS	F			K20R, M36I
F.A.S.	32	M	HTS	F			M36I
F.A.S.	33	M	HTS	F			L10V, M36I
F.F.S.	43	M	HMS	BF			M36I
G.L.	29	M	BSX	B			M36I
H.S.B.	50	M	HTS	B			
I.C.M.S.	33	F	HTS	B			
I.F.G.	36	M	BSX	B			
J.B.S.	43	M	BSX	B			L63P, A71V
J.B.V.	46	F	HTS	B			I54P, L63P
J.C.E.S.	45	M	HMS	B	G333 E G333		
J.C.L.	30	M	BSX	B	E		L63P
J.C.S.	41	F	HTS	B			L63P
J.C.S.N.	19	M	HTS	F			K20R, M36I
J.D.P.	36	M	HMS	F			K20R, M36I
J.D.S.L.	28	F	HTS	F	E44D		M36I
J.F.S.	31	M	HMS	F	V118I		M36I, L10V
J.G.S.	45	M	HMS	B			L63P
J.J.S.	31	M	HTS	B			L63P, A71T
J.L.A.	27	M	HMS	B			V77I, L63P
J.L.N.	41	M	HMS	B			

Nome	Idade	Sexo	Fator de risco	Subtip o	Grupos de ARV
------	-------	------	-------------------	-------------	---------------

					ITRN		IP
					ITRN	N	
J.M..C.	66	M	HTS	B	V118I		
J.R.S.	37	M	HMS	B			L63P
J.S.M.	42	F	HTS	B			M36I, L63P
J.S.P.N.	49	M	HTS	F			M36I, L63P
J.S.S.	39	M	HTS	B			V77I
L.G.S.	33	F	HTS	B	V118I		
L.H.S.P.	29	M	BSX	B			L63P, V77I
L.J.N.M.	27	M	HTS	B			
L.M.M.	43	M	BSX	B			L63P
					G333		
M.C.A.	19	F	HTS	B	E		L63P, V77I
M.C.F.S.	41	F	HTS	C			M36I
M.C.L.	48	M	BSX	B			L63P
M.C.S.	35	F	HTS	B			M36I, V77I
M.G.P.A.	33	F	HTS	B			
M.I.L.	36	M	HTS	B			L10V, V77I
M.J.C.	36	M	HMS	B	V118I		L63P, A71T, V77I
M.J.O.P.	20	M	HMS	B			L63P
M.J.S.	23	F	HTS	B			L63P
M.J.S.F.	42	M	BSX	B			
M.S.G.S.	18	F	HTS	F			K20R, M36I
M.V.G.R.N.	29	F	HTS	B			K20R, L63P, A71T
ME.M.S.	61	F	HTS	F			L10V, K20R, M36I
					G333		
P.B.C.	34	M	BSX	B	E		L63P
					G333		
P.P.S.	29	F	HTS	B	E		L63P
R.A.R.	39	M	HMS	B			L63P
R.F.O.	38	M	HMS	B	S68G		L10V, L63P, A71T
R.O.S.C.	24	F	HTS	F			M36I, L63P
R.S.F.	33	M	HMS	F			M36I
S.A.F.	36	F	HTS	B	M4IL		L10I, L63P
S.C.B.	41	F	HTS	B			
S.G.L.	30	M	HTS	B	S68G		
					G333		
S.M.S.	42	M	HTS	F	E		L10V, M36I, L63P
S.S.I.	34	M	BSX	B			L10V, L63P
S.V.C.S.	35	M	HMS	BF	V118I		L10V, A77I, L63P
S.V.N.C.	39	F	HTS	F			L10I, M36I
V.E.S.A.	27	F	HTS	B	M4IL		L10I
V.J.C.L.	31	M	HMS	B			M36I, L63P
					K219		
V.T.S.	46	F	HTS	F	E		L10V, M36I, K20R

HMS – Homossexual HTS – Heterossexual HEM – Hemofílico

UDI – Usuário de droga injetável BSX -Bissexual

ARTIGO III

**SUBTIPOS B E F DO HIV-1 – HÁ DIFERENÇA NAS
MUTAÇÕES DE RESISTÊNCIA PRIMÁRIA E NA
RESPOSTA AO TRATAMENTO ANTI-RETROVIRAL ?**

Luzidalva Barbosa de Medeiros (1,3)

Heloísa Ramos Lacerda (1,2,3)

Ana Salustiano (4)

Maria de Fátima Pessoa Militão de Albuquerque (1,2,3)

¹Trabalho realizado no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE,

²Pós-Graduação em Medicina Tropical da UFPE ,

³Departamento de Medicina Clínica da UFPE e

⁴Laboratório Central da Secretaria Estadual de Saúde de Pernambuco – LACEN - PE

Trabalho financiado pelo Ministério da Saúde do Brasil

Endereço para correspondência

Heloisa Ramos Lacerda

Rua Professora Anunciada Rocha Melo, 97 ap 501

Madalena – Recife – PE CEP 50710-390

Email – helramos@terra.com.br

Fones - 55 81 34465042 - 55 81 99645517

RESUMO

Cerca de 42 milhões de pessoas estão infectadas pelo HIV-1 no mundo e, 12% delas pelo subtipo B, verificando-se entretanto, que a maior parte dos conhecimentos e dos exames laboratoriais são dirigidos para este subtipo. O conhecimento das características relacionadas aos subtipos não-B são escassos, geralmente inferidos do subtipo B. Esse estudo analisou as características epidemiológicas, mutações virais e subtipos do HIV-1 de 84 pacientes atendidos num Serviço de Referência para o atendimento do HIV/AIDS no Estado de Pernambuco, submetidos à genotipagem. A seguir, foram comparados os desfechos do tratamento anti-retroviral em 62 pacientes portadores dos subtipos B e F que realizaram este tratamento por um período médio de 18 a 22 meses. Os subtipos B e F ocorreram em 72,6% e 22,6% dos pacientes respectivamente. Cerca de 78,9% dos pacientes com o subtipo F e 55,7% dos pacientes do subtipo B eram heterossexuais. As mutações relacionadas aos IP foram mais freqüentes entre os vírus de subtipo F, sem entretanto, alcançar significância estatística. O desfecho favorável do tratamento, isto é, a carga viral indetectável ao fim do período, foi semelhante nos dois grupos, ocorrendo em 63,8% dos pacientes portadores do subtipo B e em 73,3% dos portadores do subtipo F. A contagem de linfócitos CD4, antes e após tratamento, foi semelhante nos dois grupos. Conclui-se que, alguns aspectos parecem diferir entre pacientes infectados pelos dois subtipos predominantes, B e F, como; transmissibilidade maior do subtipo F entre heterossexuais e maior presença de mutações relacionadas aos IP neste subtipo F, entretanto, sem significância estatística. O acompanhamento durante período de 18 a 22 meses não mostrou diferenças na resposta ao tratamento anti-retroviral entre os subtipos B e F.

ABSTRACT

About 42 millions of people are infected by HIV-1 all over the world and 12% of them with subtype B of the virus, although most knowledge and laboratory tests are directed to this subtype. Knowledge about characteristics related to non-B subtypes is rare, usually deduced from the subtype B of the virus. The present study assessed epidemiological aspects, viral mutations and HIV-1 subtypes among 84 patients by gene sequencing attended in a Reference Service for HIV/AIDS treatment in the state of Pernambuco. Thereafter, results of antiretroviral therapy in 62 patients infected by subtypes B and F who received antiretroviral drugs for an average period of 20-22 months were compared. Subtypes B and F were present in 72.6% and 22.6% of the patients. About 78.9% of the patients infected by subtype F were heterosexual against 55.7% of patients infected by subtype B. Mutations related to IP were more frequent among viral subtype F, which did not, however, become statistically significant. Favorable results of treatment, which means undetectable viral replication in end of follow-up period, were similar between both groups, presented by 63.8% of the patients infected by subtype B and by 73.3% of the patients infected by subtype F. CD4 lymphocytes counting before and after treatment was similar in both groups.

INTRODUÇÃO

O HIV-1 é dividido em três grupos, M (main), O (outlier), e N (new). O grupo M é o mais prevalente e é subdividido nos subtipos: A,B,C,D, F1, F2, G,H, J,K e formas recombinantes circulantes (CRF) que são híbridos entre subtipos diferentes. O principal subtipo prevalente na América do Norte e Europa Ocidental é o B, enquanto na Europa Oriental, na Ásia e na África predomina o subtipo C. Neste último continente, berço da epidemia, estão presentes praticamente todos os subtipos virais (APETREI., 2004). No Brasil predomina o subtipo B, mas há um crescente aumento de infecções pelo subtipo C no Sul e Sudeste, enquanto no Nordeste, Norte e Oeste o subtipo F aparece como segundo subtipo mais freqüente (BRINDEIRO., 2003; SOARES., 2003) . Os testes que utilizam análise de ácidos nucléicos, como é o caso da genotipagem, foram desenvolvidos nas regiões em que predomina o subtipo B sendo otimizados para este subtipo. Por esta razão, quando outros subtipos que não o B estão presentes, o desempenho dos testes comerciais pode ficar prejudicado, resultando em falsos negativos, pela ausência de ampliação da PCR (THOMPSON et al., 2002). Além disso, há indícios de que os diferentes subtipos diferem quanto à patogenicidade, propriedades biológicas, transmissibilidade, mutações e resposta terapêutica aos antivirais (THOMPSON et al., 2002; APETREI et al., 2004; PIRES et al., 2004). O subtipo B é o mais estudado, entretanto, apenas 12% dos 42 milhões de indivíduos infectados pelo HIV-1 no mundo são portadores deste subtipo (APETREI et al., 2004). Assim, torna-se relevante conhecer as características dos outros subtipos virais e sua resposta à terapia antiviral.

O presente estudo tem como objetivo conhecer os subtipos do HIV-1 predominantes em indivíduos atendidos em um Serviço de Referência para o tratamento do HIV-AIDS em Pernambuco e avaliar diferenças na epidemiologia, incidência de mutações e resposta clínica aos anti-retrovirais entre os subtipos B e F.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

Um total de 84 indivíduos infectados pelo HIV-1 atendidos no Serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco – Recife, no período de fevereiro de 2002 a janeiro de 2003, foram submetidos a genotipagem conforme técnica descrita a seguir. O início do tratamento foi indicado quando o paciente apresentava contagem de linfócitos CD4+ abaixo de 350 células/mm³, sintomas relacionados à aids ou aparecimento de doenças oportunistas e sempre com uso de esquemas potentes contendo pelo menos três anti-retrovirais. Os pacientes com indicação de tratamento anti-retroviral tiveram seu esquema antiviral escolhido aleatoriamente e baseado em critérios clínicos e laboratoriais; foram utilizados esquemas com 2 inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (ITRN) + 1 inibidor de protease (IP) ou 2 ITRN + 1 inibidor da transcriptase reversa não análogo de nucleosídeo (ITRNN) sugeridos pelo Consenso em Terapia Anti-retroviral para Adultos do Ministério da Saúde de 2004 (MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL, 2004). A análise dos subtipos foi realizada posteriormente ao início da terapêutica. Os pacientes foram acompanhados ambulatorialmente e submetidos a contagem de linfócitos CD4+ (medido através da Citometria de Fluxo) e carga viral (medida através da Teste da Amplificação Baseada em Ácidos Nucléicos – NASBA) a cada 4 a 6 meses. Na análise dos subtipos, padrão sócio-demográfico e suas mutações, foram incluídos todos os pacientes, entretanto, para a análise da resposta terapêutica foram excluídos; os pacientes pertencentes a outros subtipos que não B e F; os que não iniciaram tratamento anti-retroviral os que tiveram acompanhamento por menos de 6 meses após o início da terapia, e os que abandonaram o tratamento, restando então 62 indivíduos. Considerou-se desfecho favorável a manutenção de carga viral indetectável ao final da observação e desfecho desfavorável a carga viral detectável (acima de 400 cópias RNA/mL) ou o óbito.

Para a realização da genotipagem as amostras foram submetidas ao isolamento do RNA. As regiões da Transcriptase Reversa e da Protease foram ampliadas através da PCR e a seguir seqüenciadas num seqüenciador automatizado AB3100 (Applied Biosystems/Abbott) utilizando o Kit ViroSeq HIV-1 v.2.0 da Applied Biosystem/Abbott (MORTENSEN et al., 2002). As seqüências da TR e PR de todas as amostras foram submetidas à determinação do subtipo do HIV-1 através do *software* <http://hivdb.stanford.edu>. Os participantes receberam os esclarecimentos pertinentes e assinaram o termo de consentimento informado (anexo 1). O estudo foi aprovado na Comissão de Ética do Centro de Ciências da Saúde da UFPE (anexo 2).

RESULTADOS

Foram genotipadas 84 amostras, que revelaram predominância dos subtipos B e F ou seja, 61(72.6%) pacientes com subtipo B, 19(22.6%) com subtipo F, 3(3.6%) com subtipos B/F e 1(1.2%) paciente com o subtipo C do HIV-1.

A distribuição dos casos, por características sócio-demográficas, não apresentou diferenças estatisticamente significativas. A categoria de exposição predominante foi a sexual, particularmente a heterossexual. Cerca de 78,9% dos pacientes com o subtipo F eram heterossexuais, contra 55,7% dos pacientes do subtipo B, mas esta diferença não foi significativa ($p=0.122$). O sexo masculino foi predominante entre os subtipos B, F e B/F. O único caso de infecção pelo HIV, subtipo C, ocorreu em uma mulher (Tabela 1).

Detectou-se a presença de mutações relacionadas aos ITRN e aos IP nos subtipos B, F e B/F, com maior freqüência de mutações relacionadas aos IP no subtipo F, embora sem significância estatística ($p=0.754$ e $p=0.059$). O único caso de infecção pelo subtipo C, da casuística, apresentou mutação relacionada aos IP (Tabela 2).

Dos 84 pacientes, 62 foram avaliados quanto à resposta ao tratamento, sendo 47 do subtipo B e 15 do subtipo F. Dos 22 restantes, 14 não tiveram indicação de iniciar terapia antiviral, 4 pertenciam a subtipos que não o B ou o F e 4 abandonaram o tratamento, por isso excluídos da análise do desfecho. A tabela 3 resume as características virológicas e imunológicas iniciais e finais dos pacientes submetidos ao tratamento antiviral. A maioria dos pacientes nos dois grupos apresentava carga viral acima de 100.000 cópias RNA/mL, a média da contagem de linfócitos CD4 foi de 131,5 células/mm³, nos pacientes infectados pelo subtipo B e 164,8 células/mm³ nos infectados pelo subtipo F. Houve elevação semelhante da contagem de CD4 nos dois grupos após o tratamento, bem como na frequência dos que atingiram a carga viral indetectável. O tempo de acompanhamento após o início do tratamento foi de 20,2 meses no subtipo B e 22,8 meses no subtipo F. A proporção de pacientes utilizando esquemas com ITRNN ou com IP foi semelhante nos dois grupos.

O desfecho favorável, ou seja, a carga viral indetectável (< 400 cópias RNA/mL) ocorreu em 30 (63,8%) pacientes com o subtipo B e 11(73.3%) pacientes com o subtipo F do HIV, sem diferença significativa entre os grupos (Tabela 4).

A análise da relação do desfecho com as características biológicas, virológicas (incluindo o subtipo viral B ou F) e do tipo de tratamento utilizado não mostrou diferenças significantes entre aqueles com desfecho favorável e o desfavorável (Tabela 5).

DISCUSSÃO

O presente estudo revelou a predominância do subtipo B do HIV-1 e coexistência dos subtipos F, B/F e um caso importado de subtipo C. Não houve diferença significativa na resposta ao tratamento antiviral nos subtipos B e F.

A distribuição de subtipos no Brasil é complexa e dinâmica. O subtipo B ainda é o mais prevalente, mas outros subtipos como o F, C e D e recombinantes B/F estão presentes (BRINDEIRO et al., 1999; BRINDEIRO et al., 2003). Estudos recentes mostram elevadas proporções do subtipo C na região sul (atingindo 24% no Paraná e 44% no Rio Grande do Sul) e um aumento crescente da frequência daquele subtipo nos estados do Rio de Janeiro e São Paulo (BRINDEIRO et al., 2003; SOARES et al., 2003). Por outro lado, o subtipo F tem maior importância nas regiões do norte, nordeste e centro do país. (BRINDEIRO et al., 2003; SOARES et al., 2003). O presente estudo, realizado em Pernambuco, confirma a importância dos subtipos B e F do HIV-1 no nordeste, com o subtipo F constituindo 22,6% das 84 amostras analisadas. Este dado mostra maior frequência do subtipo F neste Estado quando se compara àquela encontrada em estudo que analisou 30 amostras do Ceará e 12 da Bahia, resultando em 86,4% das amostras com o subtipo B, 4,6% com o subtipo F e 9% de cepas recombinantes (BRINDEIRO et al., 2003). O único paciente com subtipo C do presente estudo era proveniente da região Sul do Brasil, confirmando a inexistência autóctone deste subtipo na Região Nordeste.

Esse estudo sugere que o subtipo F parece ser mais frequente entre os heterossexuais e o subtipo B mais frequente entre os homossexuais e bissexuais, apesar dos testes estatísticos não mostrarem diferença estatisticamente significativa. Este aspecto também foi sugerido por Ávilla et al. (2002), que comparou os subtipos do HIV-1 em 134 homens heterossexuais e suas parceiras com 95 homens que praticam sexo com homens. Concluiu que, na Argentina circulam duas epidemias diferentes. A primeira entre homens heterossexuais e suas parceiras, geralmente pobres, com 77% deles infectados pelo subtipo F e a segunda entre homossexuais, com bom nível sócio-cultural, entre os quais, apenas 10% eram portadores do subtipo F (ÁVILLA et al., 2002). Alguns aspectos recentes da epidemia na Região Nordeste do Brasil, local onde foi realizado este estudo, parecem estar relacionados com a presença do subtipo F.

O primeiro é a predominância da transmissão sexual do HIV-1 que atinge cerca de 95% dos casos, sendo rara a transmissão pelo uso de drogas injetáveis. O segundo aspecto é o crescimento do número de casos de infecção pelo HIV-1 entre os heterossexuais (homens e mulheres), substituindo a predominância entre os homossexuais e bissexuais existente nos primórdios da epidemia. Suspeita-se, que o subtipo F tenha maior facilidade de propagar-se através da transmissão heterossexual. A diferença na transmissibilidade entre os subtipos B e não-B parece estar relacionada ao tropismo do HIV-1 frente às células de Langerhans, principal alvo na transmissão vaginal do HIV-1. Alguns autores sugerem que a susceptibilidade das células de Langerhans à infecção pelo subtipo B está substancialmente reduzida quando comparada com os subtipos C e E, justificando a menor freqüência daquele subtipo nos heterossexuais (SOTO-RAMIREZ et al., 1996; TANURI et al., 1999). Cabe salientar, entretanto, que a distinção no tropismo viral entre os subtipos do HIV-1 ainda é um tema controverso (APETREI et al., 2004).

Numerosos estudos sugerem que as mutações associadas à resistência aos anti-retrovirais são mais freqüentes entre subtipos não-B. As mutações mais citadas estão relacionadas aos ITRN e aos ITRNN (APETREI et al., 2004). Este estudo apontou a maior freqüência de mutações relacionadas aos IP entre os pacientes do subtipo F, apesar de não ter apresentado diferença significativa. É curioso ressaltar que este dado diverge de um estudo brasileiro realizado em 1999 que demonstra baixa freqüência de mutações de resistência aos IP no subtipo F. Possivelmente, a utilização dos IP na comunidade tenha resultado na presença destas mutações, mesmo que o paciente não tenha utilizado ele próprio, a terapia antiviral. A maioria dos subtipos do grupo M são naturalmente sensíveis a todas as drogas contra o HIV-1, e a resposta terapêutica dos pacientes infectados com subtipos não-B parece ser boa (FRATER et al., 2001; FRATER et al., 2002; PILLAY et al., 2002), apesar de poucos estudos sobre o tema. A comparação da resposta terapêutica entre os pacientes dos subtipos B

e F mostrou igualdade de frequência nos desfechos favoráveis, ou seja, em atingir a carga viral indetectável, apesar do número de óbitos ser maior no subtipo B. Do mesmo modo, o subtipo viral B ou F não esteve relacionado ao tipo de desfecho e a média da contagem dos linfócitos CD4+ foi semelhante ao fim do acompanhamento nos subtipos B e F. O tempo de tratamento de 20 a 22 meses foi considerável, permitindo uma avaliação consistente da resposta virológica. Assim, com um número de casos aparentemente pequeno, pode-se concluir que os dois subtipos virais B e F respondem igualmente ao tratamento anti-retroviral, apesar de possível maior número de mutações relacionados aos IP no subtipo F.

CONCLUSÕES

Os subtipos B e F foram os predominantes. Alguns aspectos parecem diferir entre pacientes infectados pelos dois subtipos como transmissibilidade maior do subtipo F entre heterossexuais, a maior presença de mutações relacionadas aos IP neste subtipo F, entretanto sem significância estatística. O acompanhamento durante período de 18 a 22 meses não mostrou diferenças na resposta ao tratamento anti-retroviral entre os subtipos B e F.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Apetrei C, Marx PA, Smith SM. The evolution of HIV and its consequences. *Infect Dis Clin N Am*, 2004, 18:369-394.
2. Avilla MM, Pando MA, Carion G, Salomon H, Carrillo MG, Sanchez J, Maulen S, Hierholzer J, Marinello M, Negrete M, Russel KL, Carr JK. Two HIV-1 epidemics in Argentina : different genetic subtypes associated with different risk groups. **J Acquir Immune Defic Syndr**, 2002, 29: 422-6.
3. Brindeiro R, Diaz RS, Sabino EC, Morgado MG, Pires IL, Brigido L, Dantas MC, Barreira D, Teixeira PR, Tanuri A. A. and the Brazilian Network for Drug Resistance Surveillance. Brazilian Network for HIV Drug Resistance Surveillance (HIV-BResNet): a survey of chronically infected individuals. **AIDS** 2003, 17: 1063-1069.
4. Brindeiro R, Vanderborght B, Caride E, Correa L, Oravec RM, Berro O, Stuyver L, Tanuri A. Sequence diversity of the reverse transcriptase of human immunodeficiency virus type 1 from untreated Brazilian individuals. **Antimicrob Agents Chemother**, 1999, 43: 1674-80.
5. Frater AJ, Beardall A, Ariyoshi K, Churchill D, Galpin S, Clark JR. Impact of baseline polymorphisms in RT and protease on outcome of highly active antiretroviral therapy in HIV-1 infected African patients. **AIDS** 2001, 15: 1493-1502.
6. Frater AJ, Dunn DT, Beardall AJ, Ariyoshi K, Clarke JR, McClure. Comparative response of African HIV-1 infected individuals to highly active antiretroviral therapy. **AIDS** 2002, 16: 1139-46.
7. Ministério da Saúde do Brasil, Programa de DST e AIDS. Recomendações para terapia anti-retroviral em adultos e adolescentes infectados pelo HIV. Brasília, 2004, 140p.

8. Mortensen C,Azevedo ML, Munerato P. Manual de genotipagem do HIV. **Applied Biosystems do Brasil**, 2002, São Paulo.
9. Pillay D,Walker AS, Gibb DM, Rossi A,Kaye S,Ait-Khaled, M. Impact of human immunodeficiency virus type 1 subtypes on virologic response and emergence of drug resistance among children in the Paediatric European Network for Treatment of AIDS (PENTA) 5 trial. **J Infect Dis** 2002, 186: 617-25.
10. Pires IL,Soares MA,Speranza FA,Ishii SK, Vieira MCG,Gouvêa MIFS,Guimarães MAAM,Oliveira FE,Magnanini MMF,Brindeiro RM,Tanuri A. Prevalence of Human Immunodeficiency Virus Drug Resistance Mutations and Subtypes in Drug-Naïve, Infected Individuals in the Army Health Service of Rio de Janeiro, Brazil. **J Clin Microbiol** 2004, 42: 426-430.
11. Soares EAJM, Santos RP,Pellegrini JA,Sprinz E, Tanuri A,Soares M. Epidemiologic and Molecular Characterization of Human Immunodeficiency Virus Type 1 in Southern Brazil. **J Acquir Immune Defic Syndr** 2003, 34: 520-526.
12. Soto-Ramirez LE,Renjifo B,Mclane MF,Marlink R,OHara C,Sutthent R. HIV-1 Langerhans' cell tropism associated with heterosexual transmission of HIV. **Science** 1996, 271: 1291-3.
13. Tanuri A,Vicente AC,Otsuki K,Ferreira OC,Schechter M,Janini LM,Pieniazek D,Rayfield MA. Genetic variation and susceptibilities to protease inhibitors among subtypes B and F isolates in Brazil. **Antimicrob Agents Chemother** 1999, 43: 253-258.
14. Thompson MM,Pérez Álvarez L,Nájera R. Molecular epidemiology of HIV-1 genetic forms and its significance for vaccine development and therapy. **Lancet Infect Dis** 2002, 2: 461-471

Tabela 1. Padrão sócio-demográfico dos 84 pacientes infectados por diferentes subtipos do HIV-1

Variáveis sócio-demográficas	Subtipos								Total	
	B		F		B/F		C			
	n	%	n	%	n	%	n	%		
Sexo									$\chi^2 = 2,04$	$p = 0,153$
Masculino	42	68,3	09	47,4	03	100,0	00	0,0	54	64,3
Feminino	19	31,7	10	52,6	00	0,0	01	100,0	30	35,7
Idade									$t = 0,20$	$p = 0,655$
Média ± DP	36,5 ± 11,2		35,2 ± 11,6		38,3 ± 4,2		41 anos		36,4 ± 10,9	
Escolaridade									$\chi^2 = 5,32$	$p = 0,149$
Analfabeto	08	13,1	02	10,5	00	0,0	00	0,0	10	11,9
1-8 anos de estudo	28	45,9	14	73,7	02	66,7	00	0,0	44	52,4
8-11 anos de estudo	19	31,1	03	15,8	01	33,3	00	0,0	23	27,4
> 11 anos de estudo	06	9,8	00	0,0	00	0,0	01	100,0	07	8,3
Categoria de exposição*									$\chi^2 = 2,38$	$p = 0,122$
Heterossexual	34	55,7	15	78,9	00	0,0	01	100,0	50	59,5
Homossexual/bissexual	27	44,3	04	11,1	03	100,0	00	0,0	34	40,5
Usuário de Droga Injetável									$\chi^2 = 0,001$	$p = 0,996$
Sim	02	3,3	00	0,0	00	0,0	00	0,0	02	2,4
Não	59	96,7	19	100,0	03	100,0	01	100,0	82	97,6

** Os teste t-student e Qui-quadrado utilizados foram calculados comparando os pacientes de subtipo B e F

Tabela 2. Mutações principais e secundárias dos 84 pacientes pesquisados segundo os grupos de ARV e subtipos de HIV

Características sorológicas e imunológicas	Subtipos						χ^2	p-valor
	B		F		Total			
	n	%	n	%	n	%		
Carga viral inicial*								
Menos de 100.000 cópias/ML	11	29	05	45,5	16	22,4	0,44	0,507
Mais de 100.000 cópias/ML	27	71,0	06	54,5	33	77,6		
Total	38	100,0	11	100,0	49	100,0	-	-
Carga viral Final**								
Indetectável	31	73,8	11	73,4	42	73,6	0,09	0,759
Detectável	11	26,2	04	26,6	15	26,4		
Total	42	100,0	15	100,0	57	100,0	-	-
	Média ± DP		Média ± DP		Média ± DP		t-student	p-valor
CD4 inicial	131,5 ± 105,2		164,8 ± 130,9		139,7 ± 111,7		-0,935	0,354
CD4 final	422,9 ± 238,7		464,8 ± 131,6		433,7 ± 215,8		-0,623	0,536
Esquema de tratamento								
Com ITRNN	29	61,7	11	73,3	40	64,5	0,26	0,610
Com IP	18	38,3	4	26,7	22	35,5		
Tempo de acompanhamento	20,2 ± 10,2		22,8 ± 8,4		20,8 ± 9,8		-0,903	0,370

* Subtipo B : 9 pacientes sem informação

* Subtipo F : 4 pacientes sem informação

** Subtipo B : 5 pacientes sem informação

Tabela 3. Características sorológicas e imunológicas dos 62 pacientes de subtipos B e F que completaram o tratamento

Características sorológicas e imunológicas	Subtipos				Total		χ^2	p-valor
	B		F					
	n	%	n	%	n	%		
Carga viral inicial*								
Menos de 100.000 cópias/ML	11	29	05	45,5	16	22,4	0,44	0,507
Mais de 100.000 cópias/mL	27	71,0	06	54,5	33	77,6		
Total	38	100,0	11	100,0	49	100,0	-	-
Carga viral Final**								
Indetectável	31	73,8	11	73,4	42	73,6	0,09	0,759
Detectável	11	26,2	04	26,6	15	26,4		
Total	42	100,0	15	100,0	57	100,0	-	-
	Média ± DP		Média ± DP		Média ± DP		t-student	p-valor
CD4 inicial	131,5 ± 105,2		164,8 ± 130,9		139,7 ± 111,7		-0,935	0,354
CD4 final	422,9 ± 238,7		464,8 ± 131,6		433,7 ± 215,8		-0,623	0,536
Esquema de tratamento								
Com ITRNN	29	61,7	11	73,3	40	64,5	0,26	0,610
Com IP	18	38,3	4	26,7	22	35,5		
Tempo de acompanhamento	20,2 ± 10,2		22,8 ± 8,4		20,8 ± 9,8		-0,903	0,370

* Subtipo B : 9 pacientes sem informação

* Subtipo F : 4 pacientes sem informação

** Subtipo B : 5 pacientes sem informação

Tabela 4 . Desfecho do tratamento dos 62 pacientes de subtipos B e F que completaram tratamento.

Desfechos	Subtipos				Total	χ^2	p-valor	
	B		F					
	n	%	n	%				
Carga Viral > 400 cópias/mL								
(detectável)	12	70,6	04	100,0	16	76,2	0,13	0,715
Óbito	05	29,4	00	0,0	05	23,8		
Desfavorável	17	36,2	04	26,7	21	33,8		
Carga viral < 400 cópias/mL								
(indetectável)								
Favorável	30	63,8	11	73,3	41	66,2		
Total	47	100,0	15	100,0	62	100,0		

Tabela 5. Análise do desfecho e relação com características sociais, biológicas, virológicas, imunobiológicas e do tratamento para a infecção pelo HIV-1

Variáveis sócio- demográficas	Desfecho				χ^2	p-valor
	Favorável		Desfavorável			
	n	%	n	%		
Sexo						
Masculino	26	63,4	16	76,2	0,54	0,464
Feminino	15	36,6	05	23,8		
Escolaridade						
Não alfabetizado	06	14,6	01	4,8	0,55	0,406
Alfabetizado	35	85,4	20	95,2		
Categoria de exposição*					0,03	0,861
Heterossexual	26	63,4	11	52,4		
Homossexual/ Bissexual	15	36,6	10	47,6		
Usuário de Droga Injetável						
Sim	02	4,9	00	0,0	0,07	0,544
Não	39	95,1	21	100,0		
Subtipo					0,07	0,792
B	30	73,2	17	80,9		
F	11	26,8	04	19,1		
Carga viral inicial*					0,22	0,637
Menos de 100.000 cópias/mL	12	36,3	04	25,0		
Mais de 100.000 cópias/mL	21	63,7	12	75,0		
Esquema de tratamento					2,45	0,117
Com ITRNN	31	75,6	11	52,4		
Com IP	10	24,4	10	47,6		
CD4 inicial**					0,08	0,776
Menos de 100 células/mm ³	16	45,7	09	50,0		
Mais de 100 células/mm ³	19	54,3	09	50,0		
Média ± DP	142,1 ± 113,9	-	133,2 ± 109,1	-	0,071	0,790
CD4 final	454,4 ± 256,8	-	377,1 ± 151,7	-	1,100	0,299
Tempo de acompanhamento	22,2 ± 9,4	-	18,1± 10,3	-	2,395	0,126

* 13 indivíduos sem informação de carga viral inicial

** 9 indivíduos sem informação de CD4 inicial

CONCLUSÕES

A revisão da literatura e os achados referentes ao teste de genotipagem com ampliação das regiões RT e PR do HIV-1 de 84 pacientes atendidos no Serviço de Referência para HIV/AIDS do Hospital das Clínicas da UFPE-Recife, permitem inferir que:

- a) A genotipagem para pacientes virgens de tratamento, particularmente nos pacientes com infecção recente, é um teste útil para a vigilância da resistência primária frente aos anti-retrovirais em diferentes comunidades;
- b) A resistência primária do HIV-1 frente aos anti-retrovirais em pacientes cronicamente infectados foi baixa, da ordem de 2,4%, confirmando dados prévios de trabalho que estudou amostras do Brasil como um todo, onde a frequência de resistência foi da ordem de 6,6 %;
- c) Houve predominância dos subtipos B (72,6%) e F (22,6%) do HIV-1 e, embora haja uma tendência à maior frequência de subtipos F entre heterossexuais, além de maior número de mutações relacionadas aos antivirais neste grupo, não houve diferença significativa em relação ao subtipo B. A resposta aos anti-retrovirais após 20-22 meses de tratamento foi semelhante entre os pacientes portadores dos dois subtipos virais.

RECOMENDAÇÕES

A resistência primária aos anti-retrovirais em indivíduos cronicamente infectados num Serviço de Referência HIV/AIDS do Nordeste do Brasil é baixa e, pode estar mascarada pelas cepas selvagens e refletir infecções adquiridas na década passada quando a utilização dos anti-retrovirais era restrita, deste modo, a utilização da genotipagem para pacientes que iniciarão tratamento não está indicada. Entretanto, a genotipagem pode auxiliar na vigilância da resistência viral em indivíduos recentemente infectados pois, estes indivíduos possuem maior risco de adquirir vírus com mutações de resistência devido ao uso em larga escala dos anti-retrovirais. Por outro lado, a diferenciação entre os subtipos B e F não acrescenta informações quanto ao desfecho do tratamento. Maior tamanho de amostra e avaliação de mutações de resistência nos pacientes que apresentam falência ao tratamento poderão mostrar se há ou não diferenças nas mutações de resistência secundária nos dois subtipos virais.

ANEXOS

ANEXO 1

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Nome da pesquisa: Frequência de resistência primária do HIV aos anti-retrovirais no Hospital das Clínicas - UFPE.

Pesquisador responsável: Luzidalva Barbosa de Medeiros CREMEPE :4508

Eu, paciente abaixo assinado, atendido no ambulatório de AIDS do Hospital das Clínicas, concordo em participar voluntariamente desta pesquisa sobre a resistência aos medicamentos para AIDS. Sei que a razão deste estudo é saber qual o percentual de pacientes que vão iniciar o tratamento para AIDS e que já apresentam resistência.

Por vontade própria vou tomar parte deste trabalho.

Admito ter sido esclarecido sobre as perguntas que serão feitas e do procedimento onde será retirado uma amostra de sangue de uma veia para a realização do teste de resistência aos medicamentos para AIDS. Estou ciente de que serão utilizados materiais descartáveis na coleta de sangue, o que diminui os riscos de contaminação.

Fui informado dos benefícios que esta pesquisa poderá trazer. Admito que todas as minhas dúvidas foram esclarecidas pelo médico responsável por esta pesquisa. Fui informado também que, quando da apresentação dos resultados da pesquisa, não serão vinculados dados que possam me identificar como participante da mesma.

Sei que tenho a liberdade de retirar meu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem que isso traga prejuízo para mim.

Visto que nada tenho contra a pesquisa, concordo em assinar o presente termo de consentimento.

Recife, __/_____/____

Assinatura do paciente

Assinatura do responsável pelo paciente quando este for menor de idade

Assinatura do pesquisador

Testemunha 1

Testemunha 2

ANEXO 2



Serviço Público Federal
Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências da Saúde
Comitê de Ética em Pesquisa

Ofício n.º 299/2001 – CEP/CCS

Recife, 07 de novembro de 2001.

Senhora Professora,

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco – CEP/CCS/UFPE analisou o Protocolo de Pesquisa n.º 158/2001-CEP/CCS "*Frequência de resistência primária do HIV aos anti-retrovirais no Hospital das Clínicas da UFPE*", aprovando-o em 05 de outubro de 2001, de acordo com a Resolução n.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. Liberado para início de coleta de dados.

Atenciosamente,


 Prof.ª Vânia Pinheiro Ramos
Vice-coordenadora do Comitê de Ética
em Pesquisa CCS/UFPE

À

Profa. Luzidalva Barbosa de Medeiros
Departamento de Medicina Clínica