

MATEUS RODRIGUES WESTIN

**Análise do perfil de mutações, subtipos e vias mutacionais do
HIV-1 associados à resistência aos anti-retrovirais, em Minas
Gerais no período de 2002 a 2006**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
BELO HORIZONTE**

2009

MATEUS RODRIGUES WESTIN

Análise do perfil de mutações, subtipos e vias mutacionais do HIV-1 associados à resistência aos anti-retrovirais, em Minas Gerais no período de 2002 a 2006

Dissertação apresentada no curso de pós-graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dirceu B. Greco

Co-orientador: Prof. Unai Tupinambás

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

BELO HORIZONTE

2009

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Reitor: Ronaldo Tadêu Pena

Vice-reitora: Heloisa Maria Murgel Starling

Pró-Reitor de Pós-graduação: Jaime Arturo Ramirez

Pró-reitor de pesquisa: Carlos Alberto Pereira Tavares

FACULDADE DE MEDICINA

Diretor: Francisco José Penna

**PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE: INFECTOLOGIA E MEDICINA
TROPICAL**

Coordenador: Prof. Manoel Otávio da Costa Rocha

Subcordenador: Prof. Antônio Lúcio Teixeira Júnior

Colegiado: Prof. Antônio Luiz Pinto Ribeiro

Prof. Carlos Maurício Figueiredo Antunes

Prof. José Roberto Lambertucci

Fátima Lúcia Guedes Silva (representante Discente)

Folha de Aprovação

A comissão Examinadora, abaixo assinada, _____ a dissertação intitulada: “Análise do perfil de mutações, subtipos e vias mutacionais do HIV-1 associadas à resistência aos anti-retrovirais, através de genotipagem, no período de 2002 a 2006, em pacientes com falha terapêutica do CTR-DIP Orestes Diniz - implicações imunoviológicas” apresentada em sessão pública por Mateus Rodrigues Westin, aluno do Programa de pós-graduação em Ciências da saúde: Infectologia e Medicina Tropical do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, realizada em 17 de fevereiro de 2009.

Prof. Dr. Dirceu B. Greco
Orientador Faculdade de Medicina – UFMG

Prof. Dr. Unaí Tupinambás
Co-orientador Faculdade de Medicina – UFMG

Prof. Dr. José Carlos Couto-Fernandez
Fundação Instituto Oswaldo Cruz – FIOCRUZ

Prof. Dr. José Carlos Serufo
Faculdade de Medicina – UFMG

Para meu avô Cid Westin (*in memoriam*)

Grande amigo, exemplo de resignação, ensinou-me, entre tantas coisas, amar a medicina.

Este trabalho é dedicado a todas as pessoas que convivem com a infecção pelo HIV e ainda encontram no preconceito um desafio maior que a resistência aos anti-retrovirais.

*Se cada dia cai, dentro de cada noite,
há um poço
onde a claridade está presa.*

*Há que sentar-se na beira
do poço da sombra
e pescar luz caída
com paciência.*

Pablo Neruda

Agradecimentos

Ao professor Dirceu Greco, por me abrir as portas da pós-graduação, pelo incentivo constante e por me confiar outras tantas oportunidades.

Ao Professor Unaí Tupinambás por acreditar em meu potencial, orientar-me com extrema disponibilidade, dedicação e boa vontade.

Ao Fernando Biscione, pelo inestimável auxílio com o delineamento do estudo, análise estatística e por me inculcar o necessário rigor e seriedade no trato com os dados científicos.

À Professora Marise Fonseca, pela convivência sempre enriquecedora e divertida.

À Dra. Agdemir Aleixo, por suas orientações e sua dedicação ao Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular do Serviço DIP.

À Flávia Ribeiro, sempre prestativa em me mostrar os caminhos.

Ao Professor Jorge Pinto e toda sua equipe pela convivência amigável e sempre cooperativa. Em especial à Marcelle pelas “dicas” com o banco de dados.

À Professora Silvana Eloy pelo acesso aos dados laboratoriais.

À Mirian e Monique pela dedicação e profissionalismo na coleta dos dados.

Ao Jeferson e Jerry, extensivo a toda equipe do Serviço DIP, pelo apoio logístico imprescindível.

Aos meus avós Luiz e Wilma, minha irmã Ana e Tia Zezé pelo carinho e compreensão com minha inevitável ausência.

Ao Osmero, fundamental na minha formação integral.

À minha querida mãe, por manter meus olhos no alvo.

À Clara, por me ensinar a ver o sublime no trivial.

Resumo

A Organização Mundial de Saúde (OMS), em dezembro de 2007, estimava em 32 milhões o número de pessoas vivendo com HIV-AIDS no mundo. O Brasil destaca-se no cenário mundial pela qualidade da política do Ministério da Saúde para assistência aos indivíduos infectados pelo HIV. Atualmente a AIDS pode ser abordada como doença crônica, passível de controle, mas a emergência de mutações de resistência aos anti-retrovirais apresenta-se como séria ameaça ao sucesso terapêutico. Este estudo tem como objetivos centrais avaliar a prevalência das mutações de resistência do HIV-1 de acordo com subtipo viral em pacientes com falha terapêutica do Serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias, CTR-DIP Orestes Diniz HC-UFMG, entre 2002 e 2006, além de dimensionar o perfil de resistência aos anti-retrovirais e suas classes.

Foram avaliados dados gerais, imunoviológicos, histórico de uso dos ARV e as mutações de resistência nas sequências do gene *pol* do HIV-1 de 243 pacientes submetidos ao primeiro exame de genotipagem do HIV-1, entre janeiro de 2002 a dezembro de 2006. A relação entre homens e mulheres foi de 2,2 : 1, com idade média de 39,9 anos (dp \pm 10,4). A mediana do número de anti-retrovirais utilizados até a realização da genotipagem foi de 5 (P25 = 3, P75 = 7) e 40,3% dos pacientes receberam monoterapia ou terapia dupla em alguma fase do tratamento; 72,4% fizeram uso de algum IP sem reforço de ritonavir e 61,7% eram experimentados a algum ITRNN. O percentual de pacientes que atingiram CV < 400 cópias/mL foi maior no 12^o mês seguinte à genotipagem comparado ao menor valor obtido durante o esquema ARV prévio (38,2% *versus* 24,8% p = 0,003). O subtipo B do HIV-1 foi o mais prevalente na população estudada (76,7%), mas houve progressivo aumento da prevalência dos subtipos F1 e do recombinante BF, com teste de tendência linear significativo (p = 0,004). Entre as mutações de maior impacto na resistência aos ARV as mais prevalentes na TR foram a 184VI, as TAM (especialmente a 215FY, 41L, 67N e 70R) e a 103N; já na protease a 90M, 54VALMT e 82AFST. As diferenças de prevalência das mutações entre os subtipos B e “não-B” concentraram-se na protease viral. As mutações 20MRI, 36I, 89IMT foram mais prevalentes entre os subtipos não-B, enquanto a 63P, 71LTV, 77I se mostraram mais comuns no subtipo B (p \leq 0,007). De forma correspondente, o perfil de

resistência diferiu entre os subtipos B e não-B apenas para alguns IP (FPV, IDV-r, SQV, SQV-r e RTV dose terapêutica) com $p \leq 0,05$. O uso de esquema anti-retroviral com menos de 3 ARV em algum momento da vida foi significativamente associado a um pior perfil de resistência aos ITRN, especificamente à maior prevalência das TAM. As mutações da via TAM 1 tiveram maior impacto na resistência aos ITRN, quando comparadas àsquelas da TAM 2. A frequência de resistência a toda classe de ARV foi maior para ITRN (40,3%) e ITRNN (46,5%) quando comparada aos IP reforçados pelo ritonavir (18,9%). A ocorrência de multirresistência (às 3 classes de ARV) foi relativamente pequena (6,2%), mas resistência a pelo menos 2 classes foi de 25,1%. O TDF foi o que apresentou melhor perfil genotípico de atividade antiviral entre os ITRN e a ETR mostrou-se superior aos outros ITRNN. Não houve maior prevalência de mutações para ETR ou pior perfil de resistência para esta droga, de acordo com uso prévio de EFZ ou NVP. Entre os IP, os mais novos e com maior barreira genética (DRV, FPV, LPV e TPV), apresentaram menor resistência genotípica. O DRV apresentou o maior percentual de sensibilidade total no laudo de resistência, entre todos os ARV analisados e foi superior a qualquer IP na comparação direta de drogas pelo teste de simetria. Este mesmo teste apresentou superioridade do TPV em relação ao LPV e deste em relação ao FPV.

Em conclusão, o perfil de mutações de resistência nesta população foi condizente com o histórico do amplo uso de ARV aliado a algumas terapias sub-ótimas da época e o padrão observado das mutações entre os subtipos virais do HIV-1 encontra consonância com dados da literatura mundial. A vigilância da prevalência das mutações de resistência do HIV-1 é fundamental no contexto de saúde pública pela perspectiva da transmissão de cepas resistentes e para se avaliar a proporção de pacientes que necessitam de novas drogas. O estudo e monitorização da variabilidade genética do HIV-1 são de suma importância, pois ainda não há está claro o impacto dos diferentes subtipos virais em relação ao diagnóstico, resposta terapêutica, emergência de mutações de resistência, prognóstico e desenvolvimento de vacinas.

Lista de Abreviaturas

- 3TC- lamivudina
- ABC - abacavir
- AIDS- Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
- ARV- anti-retrovirais
- ATV- atazanavir
- AZT – zidovudina
- CRF- forma recombinante circulante
- CTR/DIP- Centro de Treinamento e Referência em Doenças Infecciosas e Parasitárias de Belo Horizonte – MG (PBH-UFMG)
- CV- carga viral do HIV
- D4T- estavudina
- DDI- didanosina
- DLV- delavirdina
- DNA- ácido desoxiribonucléico
- DRV- darunavir
- EBO- esquema anti-retroviral de base otimizado
- EFV- efavirenz
- ETR- etravirina
- FPV- fos-amprenavir
- FTC- entrecitabina
- gp120- glicoproteína 120, do envelope do vírus HIV
- gp160- glicoproteína precursora que origina as gp120 e 41 do envelope viral
- gp41- glicoproteína 41, do envelope do vírus HIV
- HIV-1 – vírus da Imunodeficiência Humana
- HTLV- vírus linfocitotrópico humano
- I- resistência intermediária a determinada droga (laudo do perfil de resistência para os ARV)
- INSTI – inibidores da integrase viral
- IP- inibidores da protease viral
- ITRN - inibidor da transcriptase reversa análogo de nucleosídeo
- ITRNN - inibidor da transcriptase reversa não análogo de nucleosídeos

- Kb- kilo bases
- Log₁₀ - logarítimo na base dez
- LPV- lopinavir
- LTCD4- contagem dos linfócitos T CD4+, em células/mm³
- mL- mililitro
- mm³- milímetro cúbico
- NAM- mutações aos análogos de nucleosídeos/nucleotídeos
- NFV- nelfinavir
- NVP- nevirapina
- PBH- Prefeitura Municipal de Belo Horizonte
- PBMC- células mononucleadas do sangue periférico
- P-gp – glicoproteína P
- PR- protease
- R- resistência total a determinada droga (laudo do perfil de resistência para os ARV)
- r- ritonavir em dose de reforço aos IP
- RENAGENO- rede nacional de genotipagem
- RNA- ácido ribonucléico
- RT-PCR- reação em cadeia da polimerase através de transcrição reversa
- RTV- ritonavir em dose terapêutica;
- S- sensibilidade total a determinada droga (laudo do perfil de resistência para os ARV)
- SQV- saquinavir
- SUS- Sistema Único de Saúde
- TAM 1 - via mutacional 1 dos análogos a Timidínicos: 41L, 210W e 215Y
- TAM 2 - via mutacional 2 dos análogos a Timidínicos: 67N, 70R, 215F, 219QE
- TAM 1+2 - qualquer combinação de mutações das duas vias TAM 1 e 2 aos análogos a Timidínicos: 41L, 215Y, 210W e 67N, 70R, 215F, 219QE
- TARV- terapia anti-retroviral
- TDF- tenofovir
- TPV- tipranavir
- TR- transcriptase reversa
- vpR- proteína viral R

Lista de Figuras

<i>Figura 1. Estrutura do HIV-1 maduro, infectante (vírion). Extraído de Mandell, Douglas and Benett's: Principles and Pratices of Infectious Diseases 6th edition.</i>	23
<i>Figura 2. Estrutura genética do HIV-1. Extraído de Mandell, Douglas and Benett's: Principles and Pratices of Infectious Diseases 6th edition.</i>	24
<i>Figura 3. Ciclo de vida do HIV-1. Extraído de Mandell, Douglas and Benett's: Principles and Pratices of Infectious Diseases 6th edition.</i>	24
<i>Figura 4. Mecanismo de entrada do HIV-1. Extraído de ESTE JA, 2007.</i>	25
<i>Figura 5. Distribuição mundial dos subtipos do HIV-1; (OSMANOV e HEMELAAR, 2006).</i>	26
<i>Figura 6. Prevalência mundial do HIV-1 de acordo com subtipo viral (OSMANOV e HEMELAAR, 2006).</i>	27
<i>Figura 7. Distribuição geográfica dos subtipos do HIV-1 no Brasil (BRINDEIRO, 2003).</i>	27
<i>Figura 8. Integração do provirus ao genoma da célula hospedeira. Extraído de Mandell, Douglas and Benett's: Principles and Pratices of Infectious Diseases 6th edition.</i>	46
<i>Figura 9. Fluxograma de seleção dos exames de genotipagens, em maiores de 18 anos, para análise entre janeiro de 2002 e dezembro de 2006.</i>	67
<i>Figura 10. Distribuição dos subtipos do HIV-1 em números absolutos, em 243 sequências analisadas.</i>	80

Lista de Gráficos

Gráfico 1. Percentual de pacientes com CV < 400 e CV < 50 cópias/mL na semana 48 no estudo KLEAN (ERON J, 2006).	34
Gráfico 2. Percentual de pacientes com CV < 50 na 48ª semana no estudo CASTLE (MOLINA JM, 2008).	34
Gráfico 3. Percentual de pacientes com CV < 50 na 48ª estratificando-se pelo nível de LTCD4+ na entrada do estudo CASTLE (MOLINA JM, 2008).	35
Gráfico 4. Proporção de pacientes com CV < 400 cópias/mL de acordo com uso ou não de ENF no EBO nos grupos placebo e com raltegravir, em pacientes não experimentados a ENF (GRINSZTEJN B, 2007).	60
Gráfico 5. Frequência e mediana de uso em meses dos anti-retrovirais antes da genotipagem, entre 2002 a 2006.	77
Gráfico 6. Evolução temporal da prevalência dos subtipos b e não-B do HIV-1 entre 2002 e 2006	81
Gráfico 7. Prevalência das mutações para ITRN entre as 243 sequências do gene pol	82
Gráfico 8. Comparação das prevalências das mutações para ITRN de acordo com subtipos B e não-B do HIV-1	84
Gráfico 9. Prevalência de grupos ou vias mutacionais para ITRN de acordo com subtipos B e não-B do HIV-1.	85
Gráfico 10. Prevalência das TAM, suas vias mutacionais e do complexo 151M de acordo com exposição prévia à TARV com < 3 ARV.	87
Gráfico 11. Prevalência das mutações maiores e menores para ITRNN em 243 sequências do gene pol.	88
Gráfico 12. Comparação das prevalências das mutações para ITRNN entre os subtipos B e não-B do HIV-1.	90
Gráfico 13. Prevalência das mutações principais e secundárias na protease em 243 sequências do gen pol.	91
Gráfico 14. Comparação das prevalências de mutações principais na protease viral entre os subtipos B e não-B do HIV-1.	94
Gráfico 15. Comparação das prevalências de mutações secundárias na protease viral entre os subtipos B e não-B do HIV-1.	95
Gráfico 16. Comparação do perfil de resistência dos ARV agrupados por classe farmacológica em relação às 243 sequências avaliadas.	99

Lista de Tabelas

<i>Tabela 1. Anti-retrovirais disponibilizados pelo MS-Brasil, 2008</i>	30
<i>Tabela 2. Recomendações para início de Terapia Anti-retroviral em adultos e Adolescentes Infectados pelo HIV-1 - MS - Brasil, 2008</i>	31
<i>Tabela 3. Vantagens e desvantagens entre os testes de resistência viral: Genotipagem e Fenotipagem</i>	50
<i>Tabela 4. Frequência e mediana de uso em meses dos anti-retrovirais antes da Genotipagem, entre 2002 a 2006.</i>	76
<i>Tabela 5. Evolução temporal dos exames de CV e LTCD4 antes e após a genotipagem e comparação das medianas, no período de 2002-2006.</i>	79
<i>Tabela 6. Distribuição Temporal dos Subtipos do HIV-1, entre 2005 - 2006 no CTR-DIP Orestes Diniz</i>	80
<i>Tabela 7. Prevalência das mutações para ITRN entre os Subtipos B e não B do HIV-1, no período de 2002-2006.</i>	83
<i>Tabela 8. Prevalência das TAM, suas vias mutacionais e do complexo 151M de acordo com exposição prévia à TARV com < 3 ARV.</i>	86
<i>Tabela 9. Prevalência das mutações para ITRNN de acordo com subtipos B e não-B do HIV-1.</i>	89
<i>Tabela 10. Prevalência das mutações principais da protease entre os subtipos B e não-B do HIV-1.</i>	92
<i>Tabela 11. Prevalência das mutações secundárias da protease entre os subtipos B e não-B do HIV-1.</i>	93
<i>Tabela 12. Perfil de resistência aos ARV por classe de drogas.</i>	96
<i>Tabela 13. Perfil de resistência aos ITRN</i>	96
<i>Tabela 14. Perfil de resistência aos ITRNN</i>	97
<i>Tabela 15. Perfil de resistência aos IP.</i>	98
<i>Tabela 16. Perfil de resistência aos ITRN de acordo com subtipo viral do HIV-1.</i>	100
<i>Tabela 17. Perfil de resistência aos ITRNN de acordo com subtipo do HIV-1</i>	100
<i>Tabela 18. Perfil de resistência aos IP de acordo com subtipo do HIV-1.</i>	101
<i>Tabela 19. Comparação do perfil de resistência aos ITRN e acordo com as vias mutacionais - TAM.</i>	103
<i>Tabela 20. Número de mutações específicas para ETR de acordo com uso prévio dos ITRNN</i>	105
<i>Tabela 21. Perfil de resistência da ETR de acordo com uso prévio dos ITRNN</i>	105
<i>Tabela 22. Número de mutações específicas para ETR de acordo com uso de ITRNN no último esquema ARV.</i>	106
<i>Tabela 23. Perfil de resistência da ETR de acordo com uso de ITRNN no último esquema ARV.</i>	106
<i>Tabela 24. Comparação do perfil de resistência genotípica entre lopinavir e fos-amprenavir, com reforço de ritonavir</i>	108

<i>Tabela 25. Comparação do perfil de resistência genotípica entre tipranavir e fos-amprenavir, com reforço de ritonavir</i>	<u>108</u>
<i>Tabela 26. Comparação do perfil de resistência genotípica entre darunavir e fos-amprenavir, com reforço de ritonavir</i>	<u>109</u>
<i>Tabela 27. Comparação do perfil de resistência genotípica entre tipranavir e lopinavir, com reforço de ritonavir</i>	<u>110</u>
<i>Tabela 28. Comparação do perfil de resistência genotípica entre darunavir e lopinavir, com reforço de ritonavir</i>	<u>110</u>
<i>Tabela 29. Comparação do perfil de resistência genotípica entre darunavir e tipranavir, com reforço de ritonavir</i>	<u>112</u>

Lista de anexos

<i>Anexo 1. Lista dos Aminoácidos e suas abreviaturas de uma e três letras</i>	142
<i>Anexo 2. Questionário / instrumento de coleta para dados das genotipagens</i>	143
<i>Anexo 3. Formulário A para solicitação do exame de genotipagem do HIV-1</i>	153
<i>Anexo 4. Prevalência das mutações para ITRN entre os subtipos do HIV-1</i>	154
<i>Anexo 5. Prevalência de TAM e 151M de acordo com tipos de TARV</i>	155
<i>Anexo 6. Prevalência das mutações para ITRNN de acordo com subtipo do HIV-1</i>	156
<i>Anexo 7. Prevalência das mutações principais para IP de acordo com subtipo do HIV-1</i>	157
<i>Anexo 8. Prevalência das mutações secundárias para IP de acordo com subtipo do HIV-1</i>	158
<i>Anexo 9. Resíduos ajustados da análise de comparação entre perfil de resistência aos ITRN e vias mutacionais</i>	160

SUMÁRIO

Resumo	<i>viii</i>
<i>Lista de abreviaturas</i>	<i>xi</i>
<i>Lista de Figuras</i>	<i>xiv</i>
<i>Lista de Gráficos</i>	<i>xv</i>
<i>Lista de Tabelas</i>	<i>xvi</i>
<i>Lista de Anexos</i>	<i>xviii</i>
1 Introdução	20
2 Revisão da Literatura	22
2.1 <i>Classificação, estrutura, organização genômica e replicação do HIV-1</i>	<i>22</i>
2.2 <i>Diversidade Genética do HIV</i>	<i>25</i>
2.3 <i>Terapia Anti-retroviral</i>	<i>28</i>
2.3.1 <i>Ensaio clínico de esquemas anti-retrovirais</i>	<i>32</i>
2.4 <i>Falha Terapêutica</i>	<i>35</i>
2.5 <i>Resistência aos Anti-retrovirais</i>	<i>37</i>
2.5.1 <i>Resistência Celular</i>	<i>38</i>
2.5.2 <i>Resistência viral primária ou transmitida</i>	<i>39</i>
2.5.3 <i>Resistência viral secundária ou adquirida</i>	<i>40</i>
2.5.3.1 <i>Resistência aos IP</i>	<i>40</i>
2.5.3.2 <i>Resistência aos ITRN</i>	<i>42</i>
2.5.3.3 <i>Resistência aos ITRNN</i>	<i>43</i>
2.5.3.4 <i>Resistência aos Inibidores de Entrada</i>	<i>44</i>
2.5.3.5 <i>Resistência aos Inibidores de Integrase</i>	<i>45</i>
2.6 <i>Testes de resistência viral</i>	<i>46</i>
2.6.1 <i>Testes de Fenotipagem para o HIV-1</i>	<i>47</i>
2.6.2 <i>Testes de Genotipagem para o HIV-1</i>	<i>48</i>
2.6.3 <i>Limitações dos testes de resistência viral</i>	<i>49</i>
2.6.4 <i>Estudos Clínicos para avaliar a eficácia dos testes de resistência viral</i>	<i>50</i>
2.6.4.1 <i>VIRADAPT</i>	<i>51</i>
2.6.4.2 <i>GART</i>	<i>51</i>
2.6.4.3 <i>HAVANA</i>	<i>52</i>
2.6.4.4 <i>NARVAL</i>	<i>52</i>
2.6.4.5 <i>ARGENTA</i>	<i>53</i>
2.6.4.6 <i>Outros Estudos</i>	<i>54</i>
2.6.5 <i>Papel dos testes de resistência viral nos ensaios clínicos de novos ARV</i>	<i>55</i>
2.6.5.1 <i>TORO</i>	<i>55</i>
2.6.5.2 <i>RESIST</i>	<i>56</i>
2.6.5.3 <i>POWER</i>	<i>57</i>
2.6.5.4 <i>DUET</i>	<i>58</i>
2.6.5.5 <i>BENCHMRK</i>	<i>59</i>

2.6.5.6 MOTIVATE	60
3 Objetivos	63
Objetivos principais	63
Objetivos secundários	63
4 Metodologia	64
4.1 Revisão bibliográfica	64
4.2 Delineamento da pesquisa	64
4.3 Pacientes / Exames	64
4.3.1 Critérios de Inclusão	65
4.3.2 Critérios de exclusão	65
4.3.3 Fluxograma de seleção dos exames de genotipagem	66
4.4 Considerações éticas	67
4.5 Exame de genotipagem do HIV-1 e determinação do subtipo	67
4.6 Coleta e formação do banco de dados	69
4.7 Definições de variáveis para análise	69
4.8 Análise estatística	71
5 Resultados	75
5.1 Dados gerais	75
5.2 Perfil de uso dos Anti-retrovirais	75
5.3 Evolução imunoviológica	77
5.4 Prevalência de mutações de resistência e subtipos do HIV-1	79
5.4.1 Mutações de resistência aos ITRN	81
5.4.2 Mutações de resistência aos ITRNN	87
5.4.3 Mutações de resistência aos IP	90
5.5 Perfil de resistência aos ARV	95
5.5.1 Perfil de resistência por classe de ARV	96
5.5.2 Perfil de resistência por subtipo viral	99
5.5.3 Perfil de resistência aos ITRN e vias mutacionais-TAM	102
5.5.4 Perfil de resistência à ETR e uso de EFZ e NVP	104
5.5.5 Comparação do perfil de resistência entre IP com alta barreira genética	107
6 Discussão	113
6.1 Seleção dos casos e coleta dos dados	113
6.2 Características gerais e uso dos ARV	113
6.3 Evolução Imunoviológica	114
6.4 Prevalência de mutações aos ARV	115
6.4.1 Prevalência de mutações na TR	115
6.4.2 Prevalência de mutações na PR	117
6.5 Mutações de resistência e prognóstico	117
6.6 Subtipos do HIV-1 e mutações de resistência	118

6.7 Perfil de resistência aos ARV	121
7 Síntese dos resultados e conclusões	124
8 Perspectivas	126
9 Referências Bibliográficas	127
10 Anexos	141

1 Introdução

Duas décadas e meia após a identificação do HIV-AIDS, a pandemia se mantém como um dos maiores problemas de saúde pública globais com aproximadamente 32 milhões de pessoas infectadas.

O tratamento anti-retroviral permitiu contudo, que a infecção pelo HIV se transformasse em doença crônica, controlável através do uso de medicamentos. O Brasil destaca-se no cenário mundial pela assistência universal aos indivíduos infectados pelo HIV. Atualmente, cerca de 200.000 pacientes fazem uso de terapia anti-retroviral (TARV) e isto tem gerado grande impacto na epidemia do HIV-AIDS, reduzindo sua morbidade e mortalidade (MARINS, 2003). Entretanto, em razão dos inúmeros efeitos colaterais, estigma da doença e uso diário e indefinido da medicação, torna-se um constante desafio proporcionar a adesão plena, necessária ao sucesso terapêutico. A baixa potência de TARV antigas, variações na absorção dos anti-retrovirais (ARV), interações medicamentosas e penetração errática em alguns reservatórios virais, se somam à adesão insuficiente para resultar em multiplicação viral ativa na vigência de TARV (DRESSER, 2000) (SCHAPIRO, 1996; LORENZI, 1997; HOETELMANS, 1998; DURANT, 2000; HUISMAN, 2000; LAFEUILLADE, 2002). A eficácia do tratamento portanto, confronta-se com uma complexa conjuntura centrada na adesão insuficiente, que culmina com o surgimento de cepas virais resistentes e falha terapêutica. Deve-se entender que o aparecimento de mutações de resistência aos anti-retrovirais é simultaneamente causa e efeito da supressão viral incompleta (SHAFER, 2002). Essas cepas virais resistentes, além de não responderem adequadamente à TARV, podem ser transmitidas, representando um potencial problema de saúde pública.

Também desafiante é o fenômeno da variabilidade genética do HIV. São conhecidos dois tipos de HIV, denominados HIV-1 e HIV-2. O primeiro, responsável pela pandemia, apresenta 9 subtipos (A - D, F - H, J e K) e progressivamente foram descritas 43 formas circulantes recombinantes (OSMANOV e HEMELAAR, 2006; RUCHANSKY, 2009). Os mecanismos que contribuem para a diversidade genética do HIV-1 são a recombinação em pessoas co-infectadas / super-infectadas e o alto índice replicativo do HIV, somado aos erros inatos da transcriptase reversa. Diversos estudos pretendem avaliar em que grau a diversidade genética do HIV-1

apresenta implicações na patogênese, diagnóstico laboratorial, desenvolvimento de vacinas, emergência de mutações de resistência e conseqüentemente, na suscetibilidade aos anti-retrovirais disponíveis.

Neste contexto, os exames de genotipagem e fenotipagem assumem papel de destaque na assistência e pesquisa da infecção pelo HIV-AIDS. Em 2002 o governo brasileiro estruturou a RENAGENO (Rede Nacional de Genotipagem) para avaliar o perfil de resistência do HIV aos anti-retrovirais, melhor direcionar as estratégias terapêuticas de resgate e possibilitar a monitorização da variabilidade genética do HIV-1 no país. A UFMG é um dos centros colaboradores nacionais da referida entidade, através do laboratório do serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias da Faculdade de Medicina da UFMG. Diante disso, o presente estudo tem como objetivo central avaliar a prevalência das mutações de resistência aos anti-retrovirais de acordo com o subtipo viral do HIV-1, nos pacientes acompanhados no Centro de Referência e Treinamento em Doenças Infecciosas e Parasitárias Orestes Diniz (CTR/DIP - UFMG/PBH) entre janeiro de 2002 a dezembro de 2006. Trata-se da continuidade do projeto GERAIS – **G**rupos de **E**studos em **R**esistência aos **A**nti-retrovirais, idealizado em 2002 pelos Professores Unaí Tupinambás e Dirceu Greco.

A relevância do presente trabalho justifica-se por referenciar, cientificamente, os dados de resistência e diversidade genética do HIV-1 no CTR-DIP Orestes Diniz, e por promover discussão continuada do impacto e função que os exames de genotipagem têm no seguimento dos pacientes infectados pelo HIV em falha terapêutica.

2 Revisão da Literatura

2.1 Classificação, estrutura, organização genômica e replicação do HIV-1

O Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) é um RNA-vírus envelopado (revestido por envelope lipídico da célula hospedeira) da família *Retroviridae* e gênero *Lentivirus*. Os retrovírus patogênicos humanos são compostos pelos oncovirus HTLV (Vírus Linfocitotrópico Humano) I e II, e os lentivirus (HIV 1 e 2), descobertos entre 1978 e 1984.

A partícula viral madura infectante do HIV, vírion (figura 1), é composta por uma membrana glicolipoprotéica externa rica em colesterol (envelope viral), onde se encontram as proteínas gp120 e sua porção complementar transmembrana gp41, responsáveis pela fusão e penetração na célula hospedeira. A ligação inicial se dá através da molécula de CD4 do hospedeiro com a gp120 viral que sofre mudanças em sua conformação e se liga a um dos coreceptores (CCR5 ou CXCR4). Isso permite que ocorram mudanças estruturais na gp41, promovendo a aproximação do vírus à célula do hospedeiro e à fusão do envelope viral com a membrana celular (figura 4); (ESTE, 2007).

Cada vírion possui duas fitas simples de RNA no qual se integram as nucleoproteínas p7, formando em conjunto o nucleocapsídeo helicoidal que mantém importantes relações com a proteína viral R (vpR). O capsídeo viral (core), com formato icosaédrico, é constituído pelas proteínas estruturais p24 e p6 e comporta o referido nucleocapsídeo, além das enzimas virais transcriptase reversa (TR), integrase e protease (PR). Estas desempenham as etapas fundamentais à replicação viral: transcrição reversa originando o pró-vírus, integração deste ao genoma celular e clivagem das proteínas virais traduzidas, tornando-as maduras e funcionais. A matriz, fundamental à formação do vírus, é constituída pela proteína p17 e estabelece a conexão entre core e envelope viral. (SCHOUB, 1994).

A estrutura genética do HIV-1 é complexa e está representada na figura 2. Seu genoma possui 9,7 Kb com a estrutura comum aos retrovírus: três genes estruturais, *gag* (*group antigen*), *pol* (*polymerase*), *env* (*envelop*), e mais seis genes assim discriminados: *tat*, *rev* (regulatórios), e os acessórios: *vif*, *vpu*, *vpr* e *nef* que têm suas seqüências intercaladas aos genes principais do HIV. As LTR (do inglês:

terminações repetitivas longas) encontram-se em ambas as extremidades do genoma viral com a função de auxiliar sua integração ao DNA celular, (SCHOUB, 1994).

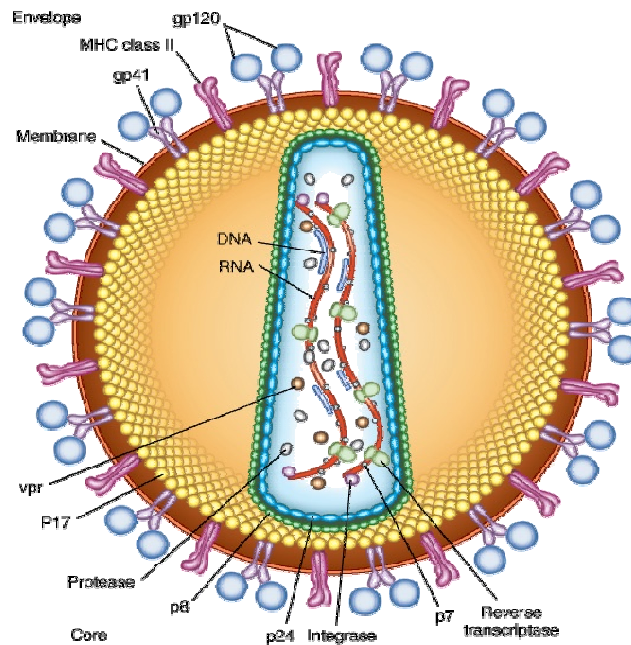


Figura 1. Estrutura do HIV-1 maduro, infectante (vírion). Extraído de Mandell, Douglas and Benett's: Principles and Practices of Infectious Diseases 6th edition.

O gene *gag* codifica as proteínas da matriz e do capsídeo viral, o *env* codifica as do envelope e o *pol* as enzimas responsáveis pela replicação viral (SCHOUB, 1994). Assim, o gene *env* codifica a gp160 (glicoproteína precursora) que dará origem, após sua clivagem, à gp120 e gp41. O gene *gag* produz a p55 que, ao ser clivada, origina outras quatro proteínas que compõem o cerne viral: a proteína da matriz (p17), a proteína principal do capsídeo (p24), a proteína de ligação com o ácido nucléico (p9) e a proteína rica em prolina (P6) (GREENE, 1991). O gene *pol* codifica as três enzimas funcionais necessárias para a replicação do HIV: protease (p10), transcriptase reversa (p66/p51) e a integrase (p31).

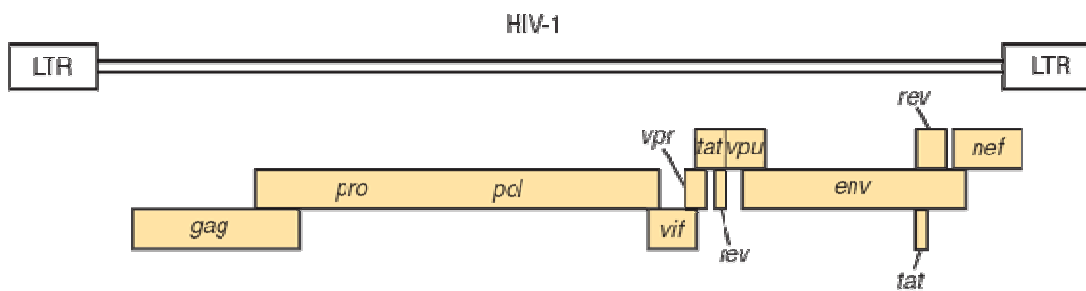


Figura 2. Estrutura genética do HIV-1. Extraído de Mandell, Douglas and Benett's: Principles and Practices of Infectious Diseases 6th edition.

A transcriptase reversa (TR) é um heterodímero composto por duas subunidades protéicas e possui propriedades catalíticas que incluem: atividade de DNA polimerase que realiza cópias de DNA usando molde de RNA, e atividade de ribonuclease H (RNase H) que degrada o componente RNA das moléculas híbridas de RNA-DNA. Esta região do genoma viral, uma vez amplificada, poderá mostrar as possíveis mutações associadas à redução da suscetibilidade aos anti-retrovirais (ARV). A integrase é essencial para integração do genoma viral ao DNA do hospedeiro (GOOF, 1990). A protease realiza a clivagem das proteínas precursoras dos genes *gag* e *env*, tornando-as funcionais. Através da figura 3 pode-se compreender melhor o ciclo de replicação do HIV.

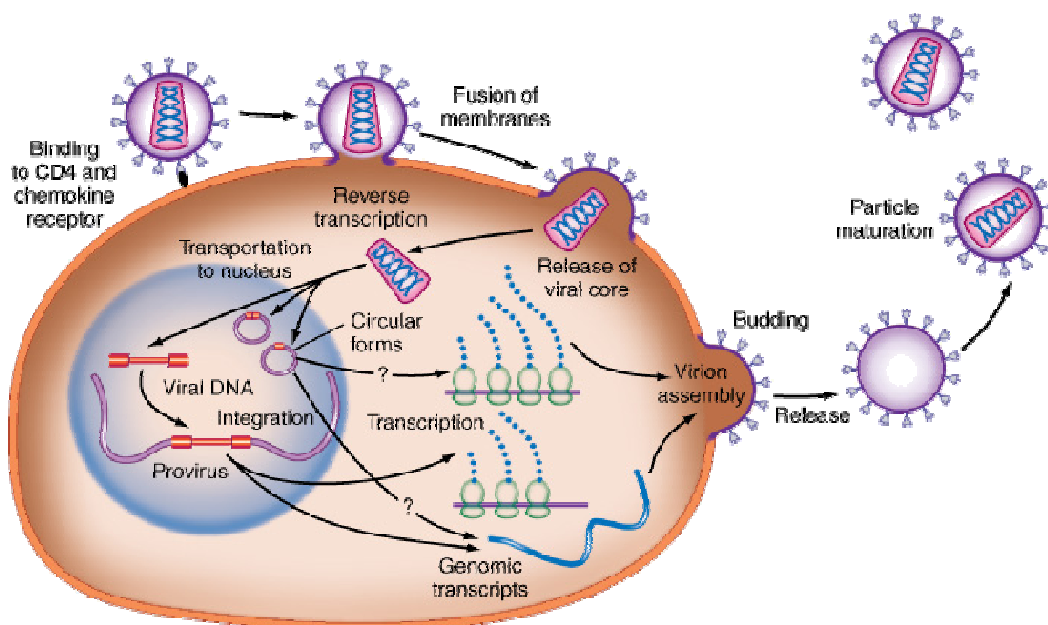


Figura 3. Ciclo de vida do HIV-1. Extraído de Mandell, Douglas and Benett's: Principles and Practices of Infectious Diseases 6th edition.

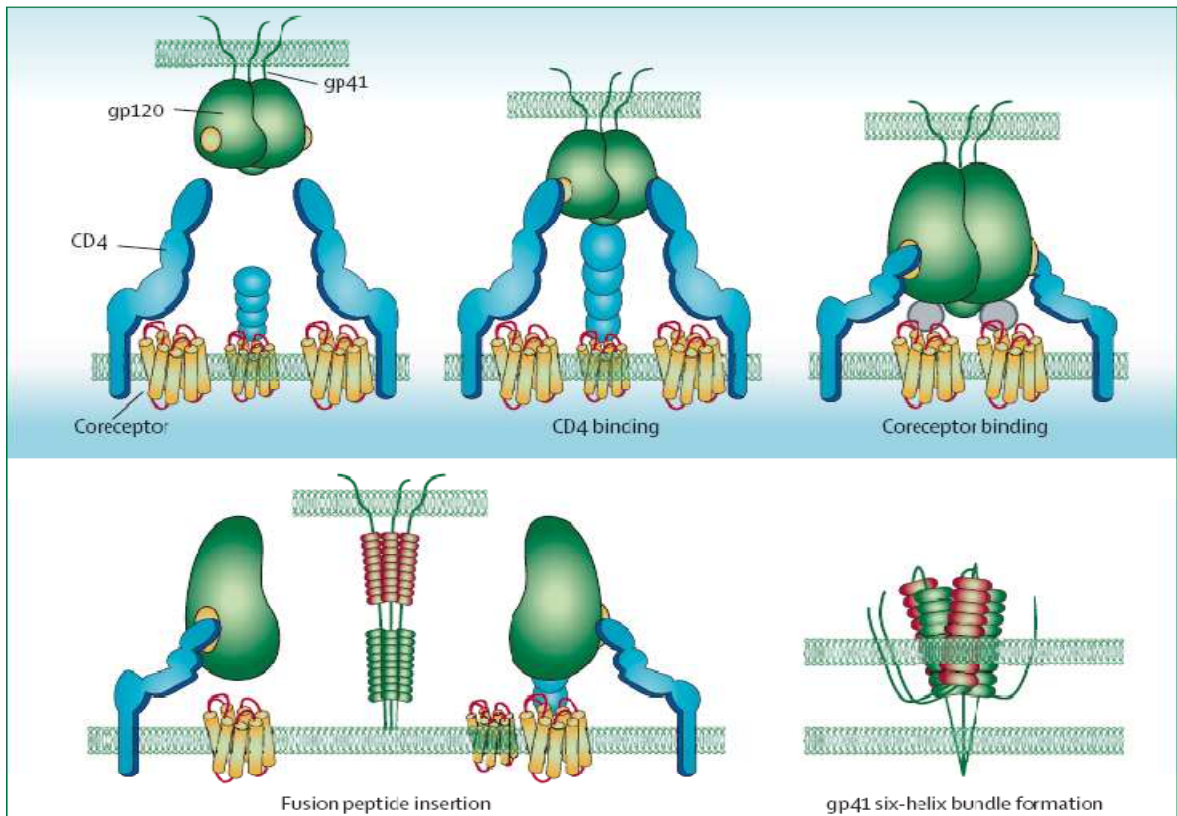


Figura 4. Mecanismo de entrada do HIV-1. Extraído de ESTE JA, 2007.

2.2 Diversidade genética do HIV-1

São conhecidos dois tipos de HIV, denominados HIV-1 e HIV-2. O HIV-2, encontrado principalmente no oeste africano, possui 60% de homologia genética com o HIV-1. Este é o responsável pela pandemia e apresenta grande diversidade genética, apresentando vários subtipos. Um importante mecanismo que contribui para a variabilidade genética do HIV-1 é a recombinação. Normalmente as duas fitas de RNA derivam de um mesmo vírus, porém, se uma célula estiver infectada por amostras virais diferentes, um RNA transcrito de cada provírus poderá ser encapsulado em um novo vírion. Eventualmente, tal recombinação genética pode originar uma cepa viral com maior poder de adaptação (BURKE, 1997). Outro ponto a ser considerado, descrito em detalhes na seção de falha terapêutica, é o alto índice replicativo do HIV que, somado aos erros inatos da TR, também contribui para

alterações no RNA viral. Assim, em um mesmo indivíduo, habitam inúmeros HIV-1 distintos em até 10% de seu material genético, designados por *quasiespécies*.

A classificação do HIV-1 foi baseada nas relações filogenéticas entre os vírus em 3 grupos distintos (ROBERTSON, 2000). O grupo **M** (*major* ou principal) é o responsável pela pandemia do HIV-1 e apresenta 9 subtipos (A - D, F - H, J e K) além de diversas formas recombinantes circulantes (CRF01 a CRF43), (HEMELAAR, 2006; RUCHANSKY, 2009). Uma CRF é estabelecida quando um vírus recombinante é identificado em pelo menos 3 indivíduos epidemiologicamente não relacionados (ROBERTSON, 2000). A variação genética intra-subtipos pode chegar a 20% e, entre subtipos diferentes, 25 a 35% (KORBER, 2001). A figura 5 apresenta o panorama global da distribuição dos subtipos do HIV-1 pelo mundo (HEMELAAR, 2006). O grupo **O** (*outlier*) foi descrito em amostras altamente variáveis na África (PEETERS, 1997) e o grupo **N** (não M e não O) foi identificado em pacientes da República dos Camarões (SIMON, 1998).

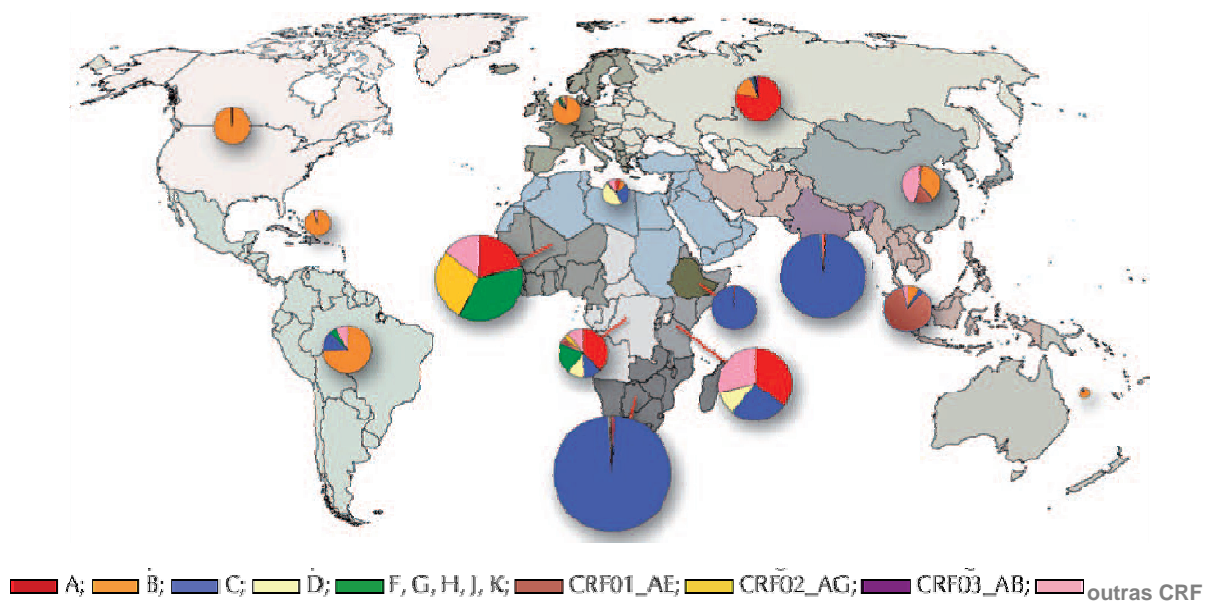


Figura 5. Distribuição mundial dos subtipos do HIV-1; (HEMELAAR, 2006).

A figura 6 evidencia a predominância do subtipo C na pandemia, uma vez que este é o mais prevalente na África subsaariana e no sudeste asiático, locais onde se concentram cerca de 82% dos casos de HIV entre adultos e crianças (UNAIDS, 2007).

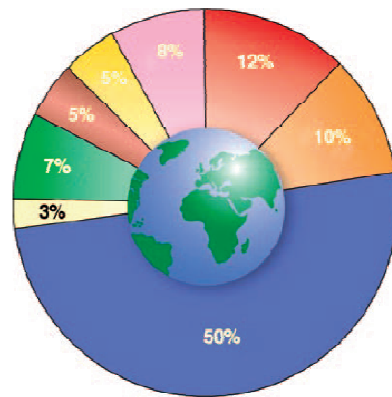


Figura 6. Prevalência mundial do HIV-1 de acordo com subtipo viral (HEMELAAR, 2006).

No Brasil, já foram identificados pelo menos cinco subtipos diferentes (B, F, C, D e A). Nas regiões Sudeste, Centro-oeste e Nordeste predomina o subtipo B, seguido pelo subtipo F (MORGADO, 1994; SABINO, 1996; BRINDEIRO, 2003; CERQUEIRA, 2004; COUTO-FERNANDEZ, 2005; ALEIXO, 2006; CAVALCANTI, 2007; CASEIRO, 2008), enquanto que, na região Sul, a prevalência do subtipo C é maior do que no resto do Brasil, podendo ultrapassar 50% dos casos (MORGADO, 2002; BRINDEIRO, 2003; SOARES, 2005). A figura 7 apresenta a distribuição dos subtipos do HIV-1 no Brasil (BRINDEIRO, 2003).

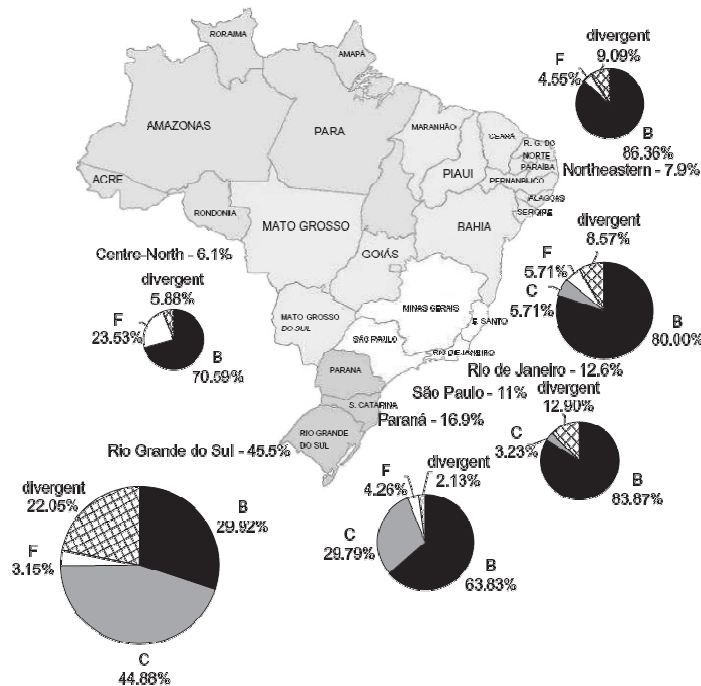


Figura 7. Distribuição geográfica dos subtipos do HIV-1 no Brasil (BRINDEIRO, 2003).

A alta variabilidade genética do HIV-1 pode ter implicações na patogênese, transmissão, diagnóstico, tratamento e desenvolvimento de vacinas (HEMELAAR, 2006). Alguns estudos apontam para diferenças na prevalência de algumas mutações de resistência entre os subtipos B e “não-B”, especialmente aquelas relacionadas à protease (PIENIAZEK, 2000; COUTO-FERNANDEZ, 2005; CAVALCANTI, 2007; SOARES, 2007). Entretanto, o impacto destas diferenças na eficácia da TARV ainda não é muito evidente (FRATER, 2002; LACERDA, 2007; MARTÍNEZ-CAJAS, 2008).

2.3. Terapia Anti-retroviral

A terapia anti-retroviral (TARV) permitiu que a infecção pelo HIV-AIDS se transformasse em doença de caráter crônico. Todavia, ainda é grande o seu impacto social e individual, especialmente nas populações economicamente ativas. O Brasil destaca-se no cenário mundial pela política do Ministério da Saúde para assistência aos indivíduos infectados pelo HIV. Em 1988, o Sistema Único de Saúde (SUS) iniciou a distribuição das drogas para o tratamento das infecções oportunistas. A partir de 1991, inicialmente com a distribuição de zidovudina (AZT), passou a disponibilizar gratuitamente os anti-retrovirais (ARV) aos indivíduos com indicação de tratamento. Atualmente, cerca de 200.000 pacientes estão em tratamento com TARV combinada no Brasil. Esta política tem causado considerável impacto na epidemia de HIV-AIDS, reduzindo sua morbidade e mortalidade no Brasil e no mundo (PALELLA, 1996; O'BRIEN, 1996; WILLIAMS, 1999; MARINS, 2003).

Mesmo com os grandes avanços na TARV nos últimos 20 anos, algumas questões fundamentais ainda não estão totalmente esclarecidas. Dentre as principais, destacam-se o questionamento do melhor momento para se iniciar o tratamento (WILKIN, 2008) e qual a melhor combinação de medicamentos (GULICK, 2007; RIDDLER, 2008). Ao longo dos últimos anos, várias diretrizes de diversos países e instituições foram publicadas em relação ao tratamento anti-retroviral e, ainda hoje, apesar de vários pontos em comum, algumas diferenças persistem entre esses guias terapêuticos (WILKIN, 2008).

Existem quatro grupos principais de medicamentos disponíveis para o tratamento de pacientes infectados pelo HIV, atuando em fases diferentes da replicação viral. O grupo dos Inibidores da Transcriptase Reversa se subdivide em: análogos de nucleosídeos / nucleotídeos (ITRN) que mimetizam esses precursores do material genético celular formando sequências de DNA disfuncionais; não análogos de nucleosídeos (ITRNN) que se ligam à TR, interrompendo sua ação. Os Inibidores da Protease (IP) bloqueiam seletivamente a ação dessa enzima, impedindo a maturação das poliproteínas viras. Os Inibidores de Entrada, por sua vez, dificultam a ligação do HIV com a membrana do LTCD4, impedindo sua penetração celular. Uma nova classe de drogas, já disponível para uso clínico, é constituída pelos Inibidores de Integrase (INSTI) que bloqueiam a ação da referida enzima, impedindo a fusão do provírus ao DNA celular.

A tabela 1 evidencia os ARV que o Ministério da Saúde disponibiliza para os pacientes que preenchem os critérios de início do tratamento (Ministério da Saúde - Brasil, 2008) expostos na tabela 2.

Os pacientes sintomáticos são aqueles que apresentam condições definidoras de AIDS especificadas nas “Recomendações para TARV em Adultos e Adolescentes Infectados pelo HIV” (Ministério da Saúde - Brasil, 2008). As orientações atuais recomendam o início de TARV para os pacientes assintomáticos com contagem de LTCD4 entre 200 e 350 células/mm³. Nesta faixa imunológica, o tratamento deve ser indicado especialmente para os pacientes que apresentem queda progressiva do LTCD4 ou carga viral elevada (>100.000 cópias/mL). Se, por motivos diversos, como presença de uma potencial dificuldade de adesão do paciente ao tratamento, optar-se por não iniciar TARV nessas circunstâncias, os parâmetros laboratoriais devem ser monitorizados em intervalos mais curtos, para que o tratamento seja instituído sem que ocorra piora clínica.

Tabela 1. Anti-retrovirais disponibilizados pelo MS-Brasil, 2008

Medicamentos	Sigla	Apresentação^a
ITRN		
Abacavir	ABC	comprimido de 300mg
Didanosina	DDI	cápsulas entéricas de 250 e 400mg
Estavudina	D4T	comprimidos de 30 e 40mg
Lamivudina	3TC	comprimidos de 150 mg
Tenofovir	TDF	comprimidos de 300mg
Zidovudina	AZT / ZDV	comprimidos de 100mg
Zidovudina+Lamivudina	AZT+3TC	comprimidos de 300+150mg
ITRNN		
Efavirenz	EFZ	comprimidos de 600mg
Nevirapina	NVP	comprimidos de 200mg
IP		
Atazanavir	ATV	cápsulas de 150 e 200mg
Darunavir	DRV	comprimidos de 300mg
Fos-Amprenavir	FPV	cápsulas de 700mg
Indinavir	IDV	cápsulas 400mg
Lopinavir/ritonavir	LPV	comprimidos de 200/50mg
Ritonavir	RTV	cápsulas de 100mg
Saquinavir	SQV	cápsulas de 200mg
Inibidores de Entrada		
Enfuvirtida	T20 / ENF	Frascos de 108mg/1,1mL
Maraviroc ^b		
Inibidor da Integrase		
Raltegravir ^b		

a- não estão apresentadas as formulações em xarope de algumas drogas; b- drogas em processo de liberação pelo MS-Brasil na ocasião desta revisão da literatura.

Tabela 2. Recomendações para início de Terapia Anti-retroviral em adultos e Adolescentes Infectados pelo HIV-1 - MS - Brasil, 2008

Condição clínica e imunológica	TARV
Assintomático sem contagem de LTCD4+	Não Tratar
Assintomático com LTCD4+ > 350 células/mm ³	Não Tratar
Assintomático com LTCD4+ entre 200 e 350 células/mm ³	Recomendar Tratamento ^a
Assintomático com LTCD4+ < 200 células/mm ³	Tratar + QP ^b
Sintomáticos / condições definidoras de AIDS ^c	Tratar + QP ^b

TARV- terapia antiretroviral; LTCD4+ - Contagem, em número absoluto, de linfócitos TCD4+; a- Ver considerações do texto; b- Quimioprofilaxia para Infecções oportunistas: *P. jirovecii* com LTCD4+<200, *Toxoplasmosse* com LTCD4+<100 e *Complexo Mycobacterium avium* se LTCD4+<50; c- considerar condições não definidoras em alguns casos.

O alvo principal da infecção pelo HIV é o LTCD4 e a contagem deste no sangue periférico tem estreita relação com a condição clínica do paciente, funcionando como marcador prognóstico (MELLORS, 1997). Uma vez que a evolução natural da infecção pelo HIV caracteriza-se por contínua replicação viral, com conseqüente destruição ou disfunção dos LTCD4, a dinâmica da replicação viral em cada indivíduo constitui fator prognóstico importante em relação à velocidade da evolução para o quadro clínico de AIDS (LEVY, 1996). Assim, classicamente a quantificação das partículas virais circulantes (carga viral), por meio da medição dos níveis de RNA do HIV-1 no plasma, passou a ter papel central no seguimento clínico de pacientes infectados pelo HIV (MELLORS, 1996).

O principal objetivo da TARV é, através da inibição da replicação viral, retardar a progressão da imunodeficiência e restaurar, tanto quanto possível, a imunidade, aumentando o tempo e a qualidade de vida das pessoas que vivem com HIV-AIDS. Assim, a supressão máxima e contínua da replicação viral é imprescindível para reduzir ou reverter o dano imunológico (Ministério da Saúde - Brasil, 2008). No seguimento periódico dos pacientes em TARV, a carga viral indetectável (<50 cópias/mL) após 24 semanas de terapia tornou-se o parâmetro de avaliação a ser atingido. No passado, o RNA viral plasmático era definido como indetectável se presente em níveis menores que 400 cópias/mL. Atualmente, exames mais sensíveis podem mensurar a carga viral em níveis próximos a 20 cópias/mL. Evidências acumuladas sugerem que tratamentos capazes de reduzir a

carga viral para níveis inferiores a 50 cópias/mL estão associados com supressão viral mais sustentada se comparado a tratamentos que mantêm carga viral entre 50 e 500 cópias/mL. Ressalta-se que a redução do RNA viral plasmático para níveis indetectáveis limita a seleção de vírus resistentes às medicações.

2.3.1 Ensaios clínicos de esquemas anti-retrovirais

O uso de esquema anti-retroviral altamente potente é mandatório para todos os pacientes desde o início do tratamento. A associação mais comum inclui dois ITRN e um terceiro fármaco que pode ser um IP, preferencialmente potencializado pelo ritonavir em baixas doses (que também é um IP, com função de manter elevados os níveis séricos da droga em questão) ou um ITRNN. Também têm sido avaliadas a eficácia e segurança de esquemas alternativos com 4 ITRN, uso de 3 classes conjuntamente (ITRN + ITRNN + IP), ou mesmo esquemas poupadores de ITRN, utilizando a associação de um IP a um ITRNN.

A definição da melhor escolha entre essas opções tem sido motivo de diversos ensaios clínicos importantes. O estudo FIRST (MACARTHUR, 2006) comparou o uso de IP *versus* ITRNN combinados a 2 ITRN *versus* a associação das 3 classes de ARV. O aspecto mais interessante deste estudo foi a flexibilidade, por permitir a escolha das drogas que entrariam em cada tipo de esquema pelo médico assistente, simulando a vida real. Resumidamente, concluiu-se que os esquemas eram igualmente eficazes no controle imunoviológico, mas houve maior percentual de abandono atribuído a toxicidade no grupo com 3 classes de ARV. O estudo ACTG 5095 avaliou pacientes que iniciaram TARV com esquema de 3 ITRN (ABC+AZT+3TC). Após evidências de inferioridade no controle imunoviológico desta estratégia, aqueles com CV < 200 cópias/mL foram randomizados para receber o reforço com EFZ ou TDF. Não houve diferenças entre os grupos (ITRN+EFZ ou 4 ITRN) em relação ao percentual de pacientes que apresentavam CV < 50 cópias/mL (mais de 78% no geral), nem em relação ao ganho de LTCD4 ou incidência de efeitos adversos que impedissem a adesão. Interessante mencionar que, na análise multivariada, foi observada a associação de falha virológica com o sexo feminino (GULICK, 2007). Recentemente, foi publicado o estudo ACTG 5142 (RIDDLER, 2008) que comparou, entre 757 pacientes, a eficácia e a segurança de 3

estratégias iniciais de TARV: 2 ITRN + LPV-r, 2 ITRN + EFZ ou um esquema poupador de ITRN (LPV-r + EFZ). Após o seguimento de 112 semanas, o tempo até a falha virológica foi significativamente maior no grupo 2 ITRN+EFZ quando comparado ao grupo 2 ITRN+LPV-r ($p=0,005$). Não houve diferença do grupo poupador de ITRN quando comparado aos outros dois. O percentual de pacientes com CV < 50 cópias/mL foi de 89% no grupo com 2 TRN+EFZ, comparado a 77% no grupo que usou 2 ITRN+LPV-r ($p=0,003$). Não houve diferença entre os 3 grupos na comparação de descontinuidade do tratamento por efeitos adversos. Entre os pacientes que apresentaram falha virológica, houve maior frequência de mutações de resistência no grupo poupador de ITRN (EFZ+LPV-r).

A maioria dos consensos de TARV em diversos países recomenda terapia inicial com 2 ITRN + IP-r ou ITRNN. Alguns estudos tentam definir qual seria o IP preferencial bem como a melhor opção entre EFZ ou NVP. Uma subanálise do estudo FIRST, no braço que usou 2 ITRN + ITRNN (228 pacientes), comparou os desfechos clínicos, imunoviológicos e risco de mutações de resistência na falha terapêutica, após tempo médio de seguimento de 5 anos, entre os paciente randomizados para o uso de EFZ ou NVP. Não houve diferenças no percentual de óbito ou falha virológica entre os grupos e a proporção de pacientes com CV < 50, assim como o ganho médio de LTCD4, também foi semelhante. Entretanto, na coorte combinada que incluiu os pacientes randomizados e selecionados para receber EFZ ou NVP, houve maior frequência de falha virológica e mutações de resistência na TR no grupo que usou NVP (VAN DEN BERG-WOLF, 2008). Entre os IP, a escolha inicial se dá entre ATV, FPV (acrescidos de Ritonavir) ou LPV-r. O estudo KLEAN (ERON J, 2006) comparou a eficácia e a segurança entre LPV-r ou FPV+r associados ao esquema de base com ABC + 3TC. Houve equivalência nos desfechos virológicos (gráfico 1), no ganho de LTCD4 e na incidência de efeitos colaterais. A ocorrência de mutações de resistência foi mínima nos dois grupos.

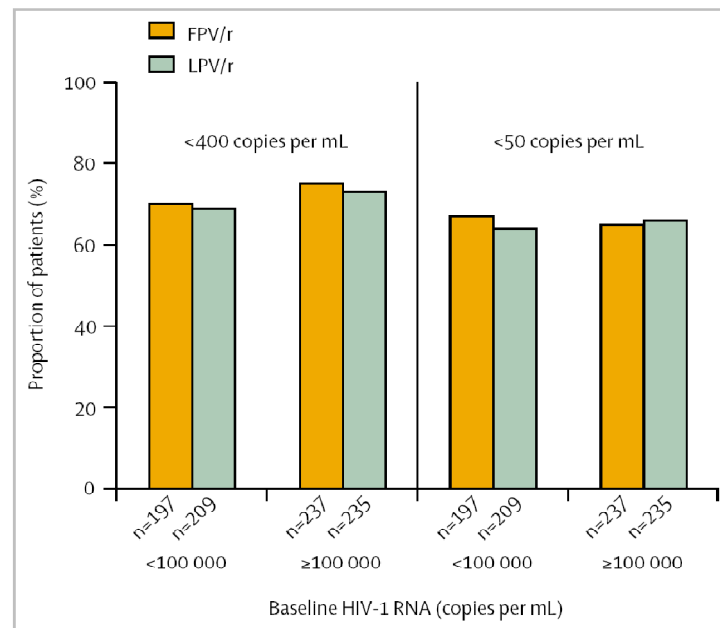


Gráfico 1. Percentual de pacientes com CV < 400 e CV < 50 cópias/mL na semana 48 no estudo KLEAN (ERON J, 2006).

Mais recentemente, o estudo CASTLE (MOLINA, 2008) mostrou a não inferioridade imunoviológica do ATV+r para pacientes em início de TARV, quando comparado ao LPV-r (gráficos 2 e 3).

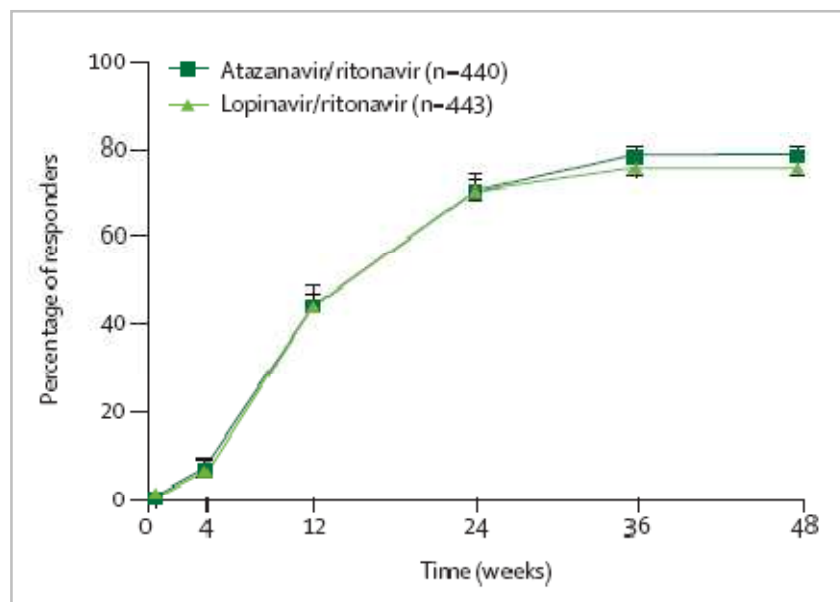


Gráfico 2. Percentual de pacientes com CV < 50 na 48ª semana no estudo CASTLE (MOLINA JM, 2008).

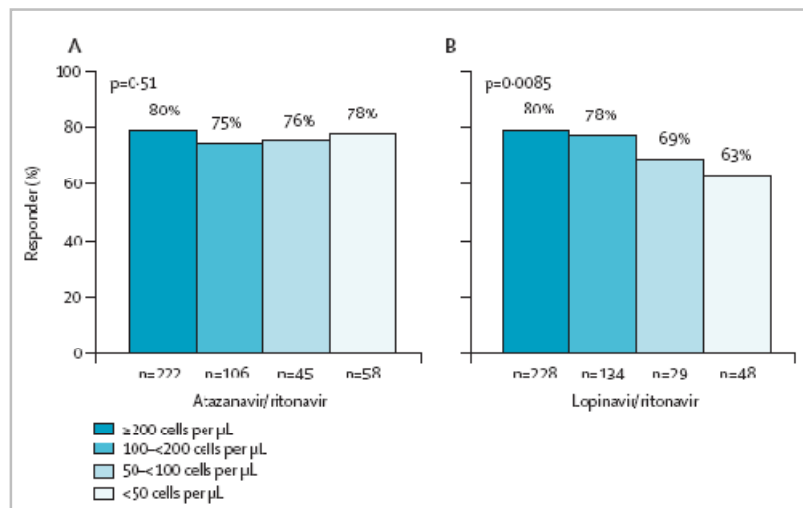


Gráfico 3. Percentual de pacientes com CV < 50 na 48ª estratificando-se pelo nível de LTCD4 na entrada do estudo CASTLE (MOLINA JM, 2008).

Independentemente da escolha inicial que deve ser individualizada pelas características de cada paciente, a TARV pode ser postergada até que os objetivos e a necessidade de adesão ao tratamento sejam entendidos e aceitos pelo paciente. (Ministério da Saúde - Brasil, 2008).

2.4 Falha Terapêutica

A avaliação de resposta à TARV baseia-se principalmente em parâmetros laboratoriais. O objetivo é que a carga viral seja indetectável ao final de 6 meses de tratamento. Entretanto, deve-se considerar como resultado positivo uma grande redução nos seus valores, o que é evidenciado por uma queda maior que 1 log, ou 90%, nas primeiras 4 - 8 semanas e maior que 2 log, ou 99%, nas 12 - 16 semanas iniciais de tratamento (Ministério da Saúde - Brasil, 2008).

A falha a um esquema anti-retroviral é definida, de modo geral, como a ocorrência de deterioração clínica ou, mais precocemente, por piora dos parâmetros imunológicos e virológicos. Em geral, a falha virológica ocorre mais precocemente, seguida da falha imunológica e, finalmente, da piora clínica. A diferença no tempo de surgimento entre elas pode ser de meses ou anos. Laboratorialmente, o principal parâmetro de falha é a ocorrência de carga viral ainda detectável após 48 semanas de tratamento em pacientes em TARV inicial. Para aqueles que atingiram a supressão viral completa, o retorno da detecção de RNA viral em exames repetidos

é considerado como falha. Redução significativa da contagem de LTCD4 (maior que 25%) é outro parâmetro que indica falha terapêutica. Devem ser considerados pelo menos dois exames consecutivos (de carga viral e/ou contagem de LTCD4) para se confirmar a tendência dos resultados obtidos e minimizar o efeito da variabilidade intertestes (Ministério da Saúde - Brasil, 2008).

A duração eficaz da TARV relaciona-se a diversos fatores quais sejam: potência do esquema anti-retroviral, comodidade posológica, efeitos colaterais, adesão do paciente (RABOUD, 2002), alterações na biodisponibilidade e metabolismo dos medicamentos, com destaque para variações na absorção e interações medicamentosas (DRESSER, 2000) e pela penetração errática de alguns medicamentos nos reservatórios virais fora do sangue e em células mononucleares do sangue periférico (LORENZI, 1997; HOETELMANS, 1998; DURANT, 2000; HUISMAN, 2000; LAFEUILLADE, 2002). Fatores virais, em especial o subtipo do HIV-1, podem trazer impactos à TARV, mas os dados ainda são conflitantes (HIRSCH, 2008; MARTÍNEZ-CAJAS, 2008). Em relação ao sistema imune do hospedeiro sabe-se que indivíduos com mutação em heterozigose para o gene $\Delta 32$ que codifica o co-receptor celular para o HIV CCR5 (presente nas células LTCD4) apresentam maior incremento de LTCD4 em resposta à TARV (ACCETURI, 2000) e mesmo progressão mais lenta da imunodeficiência.

Como denominador final deste processo multifatorial, a emergência de resistência aos ARV é fundamental para se entender a falha terapêutica. O aparecimento de cepas resistentes aos anti-retrovirais é simultaneamente causa e efeito da supressão viral incompleta (SHAFER, 2002). A emergência de cepas virais resistentes está diretamente relacionada às altas taxas de replicação viral. Com aproximadamente 10 bilhões de partículas virais produzidas diariamente (PERELSON, 1996), aliado à ausência de mecanismos de auto-correção da TR viral, possibilita-se a ocorrência, em média, de uma troca de nucleotídeo por ciclo de replicação viral, gerando milhares de mutações virais a cada dia. A pressão seletiva criada pela TARV seleciona cepas variantes que, por acúmulo de mutações, apresentam melhor *fitness* (maior capacidade replicativa em um dado meio) e passam a predominar, determinando a falha terapêutica.

Aproximadamente 50% dos pacientes que iniciaram TARV no final da década de 90 apresentaram falha terapêutica após seis meses do início do tratamento. Em

geral, a falha ocorria por adesão insuficiente, principal fator determinante do surgimento de vírus mutantes resistentes aos anti-retrovirais (HOETELMANS, 2001). Atualmente, a supressão virológica é mantida em torno de 70 a 90% entre os primeiro e segundo anos de TARV, de acordo com os estudos ACTG 5142, FIRST, KLEAN e CASTLE apresentados anteriormente. É importante lembrar que, no contexto de TARV potentes e duráveis o sucesso terapêutico está intimamente relacionado à adesão ao tratamento (PATERSON, 2000). O estudo de Paterson sugeriu que seria necessária uma aderência maior que 95% para se obter uma carga viral indetectável. Em trabalho publicado em 2000, Gifford e colaboradores encontraram adesão de 100% em apenas 50% dos entrevistados (GIFFORD, 2000). Em 2001, Bartlett mostrou correlação direta e significativa entre a porcentagem de pacientes com carga viral do HIV menor que 50 cópias/mL na semana 48 e o número de comprimidos ingeridos (BARTLETT, 2001). Algumas avaliações apontam que, fora dos estudos clínicos controlados, os índices de falha terapêutica são bem maiores (RIBEIRO, 2007). A eficácia do tratamento portanto, vem sendo ameaçada por uma complexa conjuntura centrada na adesão insuficiente e errática que culmina com o surgimento de cepas virais resistentes e falha terapêutica.

2.5 Resistência aos anti-retrovirais

A resistência aos ARV pode ser de origem viral ou celular. A resistência viral aos ARV, que pode ser avaliada através da genotipagem e fenotipagem, subdivide-se em primária ou secundária. Esta última decorre da pressão seletiva exercida pela medicação anti-retroviral, sendo o principal alvo dos testes de resistência viral nas avaliações de troca dos esquemas terapêuticos. Já a resistência primária aos ARV, ou resistência transmitida, apresenta-se em pacientes virgens de tratamento e sua prevalência crescente, com possível impacto na resposta ao primeiro esquema anti-retroviral, é objeto de estudo em vários países (DEEKS, 2008). A resistência viral é determinada por mutações na sequência de nucleotídeos que formam o material genético. As mutações são designadas usando o formato letra-número-letra, sendo que as letras representam o aminoácido (AA) codificado por uma trinca de nucleotídeos, a primeira o AA selvagem e a segunda o AA mutante, enquanto o número indica a posição ocupada pelo AA na proteína em questão. Por exemplo, a

designação M184V, quer dizer que a metionina da posição 184 da TR foi substituída pela valina. Devido à redundância do código genético, diferentes trincas de nucleotídeos podem codificar um mesmo aminoácido, configurando as mutações silenciosas. A tabela completa da nomenclatura dos aminoácidos e suas abreviações encontra-se no anexo 1.

A resistência celular está vinculada às características das células infectadas do hospedeiro por interferir na penetração e ativação dos anti-retrovirais.

2.5.1 Resistência Celular

A redução da concentração intracelular e da meia-vida da droga são outras razões para falha virológica. A concentração intracelular dos IP varia de acordo com os diversos tipos de células. A glicoproteína-P (P-gp) localizada na membrana plasmática de várias células e, originalmente associada com resistência aos quimioterápicos em células tumorais, pode bombear os IP para o meio extracelular (HUISMAN, 2000).

Todos os IP de uso clínico têm demonstrado ser um substrato para a P-gp e a sua presença nas células do testículo e da barreira hemato-encefálica pode, em parte, explicar a baixa concentração dos IP nestes tecidos. A sua presença nas células epiteliais do intestino também pode reduzir a biodisponibilidade e ou aumentar a excreção dos IP, diminuindo sua eficácia terapêutica (THIEBAUT, 1987). Pacientes que expressam os genes das proteínas de transporte de drogas (MDR – multi-drug resistance proteins) apresentam menores valores da contagem de LTCD4 (FELLAY, 2002). Embora a atividade direta da P-gp na regulação da biodisponibilidade, distribuição tissular e concentração intracelular dos IP ainda não tenha sido demonstrada em ensaios clínicos, os dados já publicados indicam que este mecanismo pode ter impacto na falha terapêutica (LEE, 1998).

2.5.2 Resistência Viral Primária ou transmitida

Entende-se como resistência primária a presença de mutações que confirmam resistência aos anti-retrovirais presentes no genoma viral em pacientes virgens de TARV. Pode ocorrer por dois mecanismos distintos: o primeiro nos indivíduos

cronicamente infectados em decorrência da geração “espontânea” e fixação de vírus mutantes resistentes, secundária ao alto índice replicativo do HIV-1 aliado à ausência de mecanismos de correção da TR; o segundo mecanismo, mais relevante, ocorre por transmissão de cepas resistentes, provenientes de um indivíduo já exposto aos anti-retrovirais (resistência transmitida). Um estudo realizado entre 2000 e 2002 com cerca de 400 pacientes portadores de vírus resistentes evidenciou que 23% deles relataram sexo desprotegido nos últimos três meses, significando um número de 1126 relações sexuais desprotegidas (Kozal, 2004). Dados como esse explicam a crescente prevalência da resistência transmitida em diversos países. Alguns estudos apontam, entretanto, para a estabilização e, até mesmo, redução de sua prevalência em alguns países (YERLY, 2001). Ao que parece, a prevalência é maior entre usuários de drogas injetáveis, seguidos por homossexuais masculinos e heterossexuais.

Estudos recentes indicam que a resistência primária / transmitida apresente entrave à estratégia anti-retroviral inicial, especialmente em países desenvolvidos (BORROTO-ESODA, 2004; FOX, 2006; TURNER, 2006; JOHNSON, 2008). Dessa forma, a maioria das diretrizes para tratamento anti-retroviral destas localidades preconiza o uso de genotipagem antes mesmo do primeiro esquema terapêutico. O custo-efetividade de tal conduta ainda baseia-se em opinião de especialistas. No estudo EuroSIDA contudo, não houve impacto imunoviológico na TARV inicial pela presença de resistência primária (BANNISTER, 2008).

Os países em desenvolvimento, por sua vez, não estão imunes ao problema. Análise recente realizada com 47 indivíduos cronicamente infectados em Camarões demonstrou cerca de 7% de resistência primária aos IP e até 10% aos ITR (KOIZUMI-ICHIMURA, 2006). No Brasil, os índices de resistência primária, apesar de crescentes (BRINDEIRO, 2003) são aparentemente menores (em torno de 2 a 3%), reservando-se o exame de genotipagem para avaliação de terapias de resgate (SOARES, 2003). Todavia, um estudo conduzido pelo Ministério da Saúde do Brasil em centros de testagem por todo o país demonstrou a prevalência de resistência primária em 7% dos indivíduos cronicamente infectados, com 2,2% de resistência para os IP, 2,4% para os ITRN e 2,1% para os ITRNN (BRINDEIRO, 2003). Em algumas localidades a prevalência de resistência primária pode ser diferente da média nacional, por particularidades locais da epidemia. Em Santos-SP foi

observado uma prevalência de resistência primária de 22% para os ITRN, 15% para os ITRNN e 13% para os IP, determinando uma resistência cumulativa de 36% (SUCUPIRA, 2004).

Ao contrário do que se pensava, as mutações de resistência primária podem persistir por vários anos, independentemente da pressão seletiva do tratamento anti-retroviral (BARBOUR, 2004; LITTLE, 2004; DELAUGERRE, 2005). Assim, enquanto se observa uma relativa tendência à redução do surgimento de resistência adquirida com o uso da terapia tripla (incluindo o maior uso de IP com ritonavir), cresce a vigilância internacional de resistência primária (DEEKS, 2008). Programas para monitorar a prevalência de resistência primária (transmitted HIV-1 drug resistance - TDR) em diferentes regiões é extremamente importante para melhor fundamentar os manuais de tratamento ARV, promover o *feedback* de sua eficiência e orientar os programas de prevenção do HIV-1 (SHAFER, 2008). Há cerca de 2 anos, a Organização Mundial de Saúde (OMS) estabeleceu um programa global de vigilância genotípica da resistência do HIV-1 aos ARV (BENNETT, 2008). Recomendou a adoção de um consenso na definição das mutações com impacto de resistência, para adequadamente se comparar as taxas de resistência primária (transmitida) em períodos distintos, nas diversas regiões. Para tanto adotou uma lista de mutações proposta especificamente para resistência transmitida (SHAFER, 2007; SHAFER, 2008).

2.5.3 Resistência Viral Secundária ou Adquirida

Define-se resistência viral secundária como a emergência de mutações de resistência aos anti-retrovirais em decorrência da pressão seletiva exercida por essa medicação. É, portanto, um mecanismo de seleção natural. Cada classe de medicamento anti-retroviral possui um mecanismo de ação particular e, de forma lógica, os mecanismos de resistência viral e, outras especificidades das classes, devem ser entendidos para cada uma delas. Uma revisão destes mecanismos foi apresentada recentemente (HIRSCH, 2008).

2.5.3.1 Resistência aos IP

Os IP são fármacos projetados em laboratório a partir do conhecimento da conformação tridimensional da molécula protease. Seu mecanismo de ação envolve a inibição seletiva e por competição do sítio ativo da protease. Mutações no gene da protease alteram a conformação espacial da enzima e inibem a ação dos IP por dificultar e diminuir o tempo de sua ligação no seu sítio ativo. Em contrapartida, os substratos naturais da protease (poliproteínas virais) também serão clivados com menor eficiência, levando à redução do *fitness viral*. Tais alterações são detectadas por meio do sequenciamento do gene (genotipagem) da protease em comparação com o observado no vírus selvagem.

As mutações selecionadas pelos IP podem ser definidas como principais (ou primárias) e acessórias (ou secundárias). Geralmente, as mutações principais são selecionadas mais precocemente, se localizam próximo ao sítio ativo da enzima e reduzem sobremaneira a capacidade replicativa viral (*fitness viral*). Com o tempo surgem as mutações acessórias (mutações secundárias) para que seja restaurada a capacidade replicativa viral (CHEN, 1995; NIJHUIS, 1998).

Um terceiro mecanismo de resistência envolve a mutação no local de clivagem da protease, região codificada fora do gene da protease (no gene *gag*). As mutações no gene da protease dificultam a eficácia da clivagem das poliproteínas, enquanto as mutações no sítio de clivagem atenuam esta restrição e facilitam a ligação dos substratos com a protease (ZHANG, 1997). Os testes de genotipagem em uso não examinam a região do gene *gag* e futuras pesquisas serão necessárias para definir a relação das mutações no gene *gag* e da protease, além de seus efeitos na terapia anti-retroviral (HIRSCH, 2008).

Apesar da probabilidade de ocorrência de resistência cruzada entre os diversos IP, o tratamento seqüencial pode ser possível em determinadas situações. Certas drogas possuem mecanismo de mutação distinto das demais, particularmente o nelfinavir e possivelmente o atazanavir (KEMPER, 2001; CLOTET, 2002; TUPINAMBÁS, 2003). Além disso é possível aumentar a barreira genética dos IP ao se elevar de forma sustentada os níveis séricos da droga pela combinação com outro membro da classe: o ritonavir em baixas doses (100 – 200mg ao dia). O resultado são concentrações do medicamento altas o suficiente para suprimir cepas que contêm número limitado de mutações.

O fenômeno de hipersuscetibilidade aos IP também pode ajudar no resgate terapêutico. Pacientes que apresentem as mutações D30N e ou N88S podem se beneficiar de maior suscetibilidade a outros IP (ZACHARY, 2001; SHAFER, 2008). Cepas virais que apresentem a mutação V82T, relacionada ao uso de indinavir, têm seu *fitness* reduzido e apresentam hipersuscetibilidade ao saquinavir (MARTINES-PICADO, 2000). A mutação I50L determina maior suscetibilidade a todos os IP, com exceção ao ATV. Já as mutações I50V e I54L aumentam a susceptibilidade ao TPV e a L76V aos ATV, SQV, TPV (SHAFER, 2008).

2.5.3.2 Resistência aos ITRN

Os ITRN são fármacos estruturalmente semelhantes aos nucleosídeos verdadeiros (A-adenosina, C-citosina, G-guanosina e T-timidina). AZT e D4T são análogos timidínicos; 3TC, FTC e DDC são análogos citosínicos; TDF e DDI são análogos adenosínicos e o ABC é um análogo guanosínico. Assim, durante a ação da TR, esses “pseudonucleosídeos” serão incorporados à cadeia de DNA em polimerização, impedindo que o processo se conclua.

Para essa classe de ARV existem dois mecanismos de resistência. O primeiro determina a diminuição da afinidade da enzima pelos análogos nucleotídeos / nucleosídeos. Como exemplo, durante a ação da TR mutante, haveria maior incorporação da citosina (nucleosídeo natural) em detrimento do 3TC (análogo citosínico). Um segundo e surpreendente mecanismo se processa pela habilidade da TR, conferida por mutações específicas, em remover o análogo nucleosídico / nucleotídico já incorporado à cadeia de DNA em polimerização (ARION, 1998, ARION, 2000). Isto ocorre por maior afinidade das pirofosfatases celulares em relação à TR com mutações, levando à maior pirofosforólise dos análogos nucleosídeos e seu consequente desprendimento da cadeia de DNA em retrotranscrição (LENNERSTRAND, 2001). As mutações geradas por este mecanismo são denominadas TAM (mutações associadas aos timidínicos) que são divididas em duas vias mutacionais: TAM1 com as mutações M41L, L210W e T215Y e TAM2 com as mutações D67N, K70R, T215F e K219QE, reconhecidas inicialmente após falha com zidovudina (AZT) (KELLAM, 1992; BOUCHERI, 1992). Embora as TAM apareçam após uso dos ITRN análogos da timidina, quando

presentes em grande número, reduzem a suscetibilidade a todas as drogas desta classe (SHAFER, 2008).

Alguns mecanismos de multirresistência aos ITRN foram identificados. Um deles é a presença do chamado complexo Q151M, pela presença desta mutação principal e um grupo de mutações acessórias (SHIRASAKA, 1995; IVERSEN, 1996; KAVLICK, 1998). Outros dois referem-se a alterações no códon 69, pela inserção de dois ou mais aminoácidos (LARDER, 1999) ou pela deleção no códon 67 (IMAMICHI, 2000). Por fim, a mutação K65R, selecionada pelo DDI, ABC e TDF, pode conferir resistência de 2,5 a 10 vezes a todos os ITRN poupando, todavia, os timidínicos (PARIKH, 2004).

Em pacientes com várias falhas terapêuticas, a interpretação das mutações encontradas pode ser tarefa complexa (HIRSCH, 2008). Certas mutações podem conferir resistência a uma droga e aumento da suscetibilidade fenotípica a outras (fenômeno da hipersuscetibilidade). Por exemplo, as mutações M184VI e L74V que estão associadas com resistência a lamivudina e didanosina, respectivamente, aumentam a suscetibilidade ao AZT. A mutação M184V causa diminuição da pirofosforólise induzida pelas TAM (GOTTE, 2000) e, embora haja reversão parcial da resistência fenotípica ao AZT relacionada às TAM, este efeito é limitado pelo surgimento de outras mutações (KURITZKES, 2000). Se a presença da mutação M184VI na presença das TAM melhora o perfil de sensibilidade *in vitro* ao AZT, D4T e TDF ela aumenta a resistência ao 3TC, ABC e DDI (NAEGER, 2001).

2.5.3.3 Resistência aos ITRNN

Em tratamentos que contêm os ITRNN (EFZ, NVP), a resistência viral emerge rapidamente se a replicação viral não for completamente suprimida. Apenas uma mutação é capaz de induzir alto grau de resistência a todas as drogas desta classe, caracterizando sua baixa barreira genética (HIRSCH, 2008, SHEFER, 2008).

Dois padrões de multirresistência são descritos: o primeiro ocorre pela presença da mutação K103N na transcriptase reversa, a qual estabiliza o local de ação das drogas desta classe (cavidade hidrofóbica próximo ao sítio de ação da enzima TR) (HSIOU, 2001), impedindo seu acoplamento e inibição da enzima; o segundo ocorre pelo acúmulo de múltiplas mutações (L100I, V106A, Y181C,

G190S/A e M230L). Outra mutação relacionada à multirresistência aos ITRNN é a V106M que se relaciona mais à infecção pelo vírus subtipo C e ao uso do efavirenz (BRENNER, 2003).

Um fenômeno de hipersuscetibilidade cruzada, entre classes distintas de ARV, pode acontecer geralmente em pacientes sem experiência prévia com drogas desta classe, quando ocorrem múltiplas mutações relacionadas aos ITRN na ausência de mutações específicas para os ITRNN (WHITCOMB, 2002). Estão relacionados à presença de hipersuscetibilidade o uso prolongado de ITRN e a ocorrência de mutações associadas ao AZT e ao abacavir que são: M184V, M41L, L210W e 215Y (SHULMAN, 2001). Este fenômeno parece ter significado biológico e sua presença aumenta a probabilidade de boa resposta virológica em regimes de resgate contendo efavirenz (HAUBRICH, 2002).

2.5.3.4 Resistência aos Inibidores de Fusão / Entrada

Os inibidores de entrada são moléculas que se ligam na superfície celular do LTCD4 ou na superfície viral, impedindo o acoplamento e penetração do HIV à célula hospedeira (ver seção 2.1). A região conservada 4 da *gp120* viral (C4) liga-se à molécula de CD4 celular; a região hipervariável 3 da *gp120* (V3) liga-se aos co-receptores do LTCD4, CCR5 ou CXCR4, que, uma vez ativados, modificam a região HR-1 e HR-2 da *gp41* que se liga ao receptor denominado glicosaminoglicano celular, conhecido como domínio de fusão (HIRSCH, 2008). A princípio, não haverá resistência cruzada com as outras classes de ARV, posto que as mutações referentes a essas drogas são encontradas no gene *env* que codifica o envelope viral.

A enfuvirtida (ENF ou T20), que se liga ao complexo HR-1 da *gp41*, teve sua aplicabilidade clínica avaliada nos estudos TORO 1 e TORO 2. Observou-se baixa barreira genética quando a enfuvirtida foi utilizada em esquemas de resgate que não continham outras drogas ativas (LALEZARI, 2003; LAZZARIN, 2003). Mutações na região HR-1 (entre os códons 36 e 45 do gen *env*), impedem a ligação da ENF em seu sítio de ação, tornando o vírus resistente. As mutações relacionadas à resistência à ENF são: G36DSVE, 37V, V38AEM, Q40H, N42T E N43D, 44M, 45M (HIRSCH, 2008; SHAFER, 2008).

Uma nova classe de inibidores de entrada atua ao se ligar no co-receptor celular CCR5, impedindo sua ligação na *gp120* viral, mas apenas nos HIV que tem tropismo por esse coreceptor, denominados vírus R5. Várias substituições na região do gen *env* que codifica a porção V3 da *gp120* (local específico de ligação ao CCR5) foram descritas e, possivelmente, associadas com resistência aos fármacos desta classe, maraviroc e vicriviroc. Todavia, as mutações observadas variaram entre os diferentes isolados virais e, assim, ainda não é possível identificar resistência para os antagonistas de CCR5 com base em mutações específicas no gene *env*. Ao que parece, alterações nas posições 11,13, 25 e 26 são as mais significativas para indução de resistência. Nos ensaios clínicos, a falha virológica tem sido frequentemente atribuída à emergência de vírus que se utilizam do coreceptor CXCR4 (vírus X4) e que seriam populações minoritárias quando iniciado o uso do inibidor de CCR5 (HIRSCH, 2008). É importante ressaltar que os testes de tropismo disponíveis não são capazes de diferenciar os casos em que um mesmo vírus apresenta tropismo duplo, para CCR5 e CXCR4, daqueles em que há uma mistura de diferentes populações de vírus com tropismo R5 e outros X4. Neste último caso, os testes de tropismo não identificam populações minoritárias de vírus X4 quando correspondem a menos de 5 - 10% do total (WHITCOMB, 2007). Novos testes com melhor sensibilidade, capazes de detectar até 0,3% de vírus X4, já estão em avaliação (REEVES, 2008).

2.5.3.5 Resistência aos Inibidores de Integrase

Os inibidores de integrase constituem uma nova classe de ARV que atuam impedindo a ação desta enzima cuja função é o transporte do provírus do citoplasma ao núcleo e sua posterior integração ao genoma da célula hospedeira. Após a transcrição reversa, ocorre a formação do complexo de pré-integração que envolve várias proteínas virais: a integrase, a proteína da matriz (p17), a TR e a proteína viral R (vpr). A figura 8 detalha a ação da integrase na célula hospedeira.

As mutações desta classe, assim como para os IP, são designadas de principais ou secundárias (HIRSCH, 2008). As principais, que em geral surgem mais precocemente durante a falha terapêutica, alteram os resíduos da integrase onde, primariamente, ocorreria a ligação da droga. As secundárias, na presença de

mutações principais, restabelecem parte da capacidade replicativa viral perdida e podem aumentar ainda mais a resistência (JOHNSON, 2007).

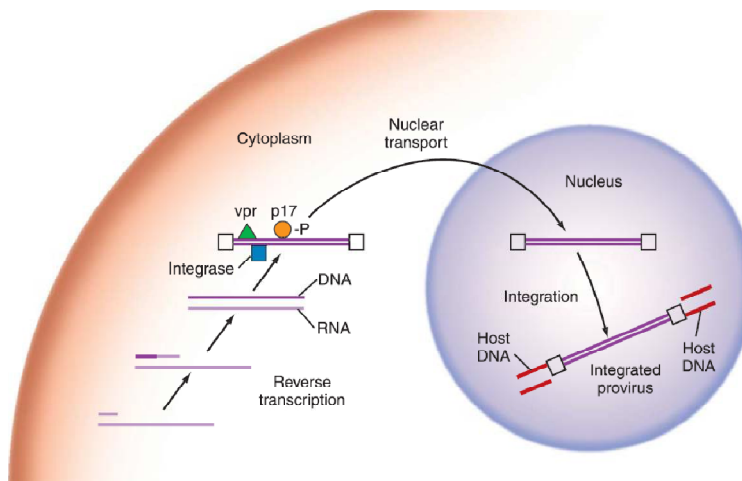


Figura 8. Integração do provírus ao genoma da célula hospedeira. Extraído de Mandell, Douglas and Benett's: Principles and Practices of Infectious Diseases 6th edition.

O representante da classe disponível para uso clínico é o raltegravir e originalmente a falha terapêutica foi descrita a partir de duas vias mutacionais de acordo com a seleção das mutações principais Q148HKR ou N155H (JOHNSON, 2007; HAZUDA, 2007). Atualmente são as seguintes mutações relacionadas a resistência ao raltegravir: 92Q, 121Y, 138AK, 140AS, 147G, 148HRK, 155HS, 157Q. Outras com menor impacto são: 183P, 226FH, 230R, 232N, (não-polimórficas) e 74M, 97A, 151I, 163R, 203M, 230N (polimórficas) (acessado em <http://hivdb.stanford.edu>, 01/2009).

2.6 Testes de Resistência Viral

Nos últimos anos os testes para avaliar a resistência do HIV-1 têm se popularizado na prática clínica. O histórico dos ARV utilizados e os padrões de resistência cruzada podem fundamentar uma decisão racional ao se prescrever um novo esquema terapêutico, mas não são suficientes para otimizar essa conduta.

Existem duas formas de se testar a resistência viral: genotipagem e fenotipagem. A resistência fenotípica se refere à capacidade replicativa do vírus em um meio de cultura na presença de anti-retrovirais em diferentes concentrações,

analogamente aos antibiogramas convencionais. A resistência genotípica determina as mutações presentes nos genes do HIV-1, pertinentes aos alvos de ação das diversas classes de ARV. Indiretamente, pode-se prever o comportamento do vírus na presença dos ARV implicados.

Mais recentemente, foi disponibilizado o teste de “Fenotipagem virtual” (Tibotec-Virco, Mechelen-Bélgica), sistema que prediz a resistência fenotípica através de um teste de genotipagem. Este método utiliza-se de um banco de dados (com mais de 100 mil testes de genotipagem e fenotipagem pareados) que compara as genotipagem e fenotipagem de amostras virais. As mutações genotípicas em análise são comparadas com o banco de dados de amostras onde ambos os testes foram realizados pressupondo qual seria o comportamento fenotípico da amostra em análise (ALCORN, 2000). Diferentemente de outros algoritmos, este não é de domínio público, o que restringe seu uso em larga escala

2.6.1 Testes de fenotipagem para o HIV-1

Os estudos fenotípicos do HIV *in vitro* podem estabelecer a sensibilidade do vírus aos vários medicamentos. O teste correlaciona a concentração da droga capaz de reduzir pelo menos 50% ou 90% a replicação viral (IC_{50} e IC_{90}). Desta forma estima-se a diminuição da sensibilidade em relação ao vírus selvagem. Tradicionalmente, o teste de fenotipagem era realizado utilizando-se cultura de vírus do paciente em células mononucleadas do sangue periférico (PBMC), avaliando sua capacidade de crescimento em diferentes concentrações de drogas (JAPOUR, 1993). É um processo não automatizado, demorado e com alto custo para sua realização.

A possibilidade de medir a resistência fenotípica em larga escala foi possível utilizando-se vírus recombinantes (HERTOGS, 1998). Neste método, o vírus do paciente é isolado e as regiões da TR e PR no gene *pol*, que contém os determinantes da resistência viral, são amplificadas através da reação em cadeia de polimerase (RT-PCR). Após esta etapa, a seqüência amplificada é inserida em um vetor HIV com deleção da PR e da TR. Com isto, elimina-se a etapa inicial de cultura do HIV em PBMC. O vetor utiliza o coreceptor CXCR4 presente nas células T, melhorando a reprodutibilidade e a rapidez do teste. Os testes de fenotipagem

diferem quanto as suas metodologias, em especial na extensão do segmento amplificado do vírus em análise, dificultando a comparação entre eles.

Existem evidências que resistência clínica significativa ocorre em diferentes níveis de concentração inibitória para as diferentes drogas (DEMETER, 2001). Uma limitação prática do teste é não ser possível extrapolar seu resultado, que se aplica a cada droga isoladamente, para um esquema de terapia combinada.

Apesar de todas as dificuldades na padronização dos dados da fenotipagem, alguns estudos mostraram seu benefício, ainda que em curto prazo, na prática clínica. (DeGRUTTOLA, 2000). O primeiro trabalho prospectivo, VIRA3001 (COHEN, 2002) mostrou maior queda da carga viral quando a troca da TARV foi guiada por teste de resistência, em comparação com o cuidado padrão (uso de manuais e históricos terapêuticos dos pacientes). Um das limitações do estudo foi o seu tempo de seguimento de 16 semanas, não avaliando se os benefícios permaneceram por mais tempo. Entretanto estudo que comparou o exame de fenotipagem, genotipagem e cuidado padrão não mostrou benefícios da fenotipagem quando comparado ao cuidado padrão (MEYNARD, 2002).

2.6.2 Testes de genotipagem para o HIV-1

A genotipagem determina a seqüência de nucleotídeos do gene da protease e da transcriptase reversa. Enquanto o teste de fenotipagem mede a suscetibilidade do vírus às drogas, o teste de genotipagem detecta as mutações que conferem resistência fenotípica. Inicialmente procede-se a amplificação do material genético através da transcrição reversa pela técnica de reação de cadeia da polimerase (RT-PCR) ou amplifica-se o DNA proviral. Em geral é necessária carga viral acima de 500 cópias/mL para realização do exame (HIRSCH, 2008).

As mutações são geralmente pontuais e modificam a estrutura de suas proteínas (TR e PR), diminuindo a eficácia dos anti-retrovirais. Embora ocorram numa frequência menor, as deleções, inserções e recombinações trazem grande impacto mutacional.

Como já exposto, as drogas utilizadas atualmente na TARV atuam inibindo a transcriptase reversa, a protease, a integrase ou inibindo a ligação viral à célula do hospedeiro. Apenas duas regiões do gene *pol*, TR e PR são analisadas no teste de

genotipagem de uso comercial. Ainda não está disponível na prática clínica, teste de genotipagem para detectar resistência aos inibidores de fusão (gen *env*), bem como aos inibidores de integrase (segmento p31 do gen *PoI*).

2.6.3 Limitações dos Testes de Resistência Viral

Genotipagem e fenotipagem são exames que se complementam. Ambos têm vantagens e desvantagens e compartilham certas limitações como mostra a tabela 3. Os testes atuais são pouco sensíveis à presença de espécies minoritárias. Variantes resistentes não são detectadas até constituírem 20% da população de *quasispécies*. A genotipagem tem a vantagem de ser mais rápida, fácil e mais econômica em relação à fenotipagem.

Dificuldades na interpretação do teste de resistência é o grande desafio. Resultados dos testes de genotipagem são interpretados através de julgamentos individuais, consultando listas de mutações (HIRSCH, 2008; SHAFER, 2008) ou banco de dados computadorizados através de regras que classificam o vírus como “susceptível”, “baixo grau de resistência”, “resistência intermediária” e “alto grau de resistência”. A construção de algoritmos para a interpretação é processo lento e difícil que requer atualização freqüente. Grandes variações existem entre os diferentes algoritmos (WENSIIG, 2001; SHAFER, 2001; KIJAK, 2003; COSTAGLIOLA, 2007). Diferenças nos critérios de resistência dificultam a comparação entre os algoritmos. A interpretação de resistência através de algoritmos deve ser baseada em estudos que correlacionam a genotipagem basal à queda da carga viral.

O teste de genotipagem revela as mutações que conferem resistência aos ARV. Entretanto, mutações não encontradas não significam que determinados medicamentos funcionarão, ou seja, o valor preditivo negativo do teste é baixo. Isso ocorre porque, na ausência de pressão seletiva de drogas que o paciente utilizou no passado, algumas mutações ficam arquivadas em populações virais minoritárias que não são detectadas na genotipagem

Tabela 3. Vantagens e desvantagens entre os testes de resistência viral: Genotipagem e Fenotipagem

Vantagens	Desvantagens
Genotipagem	
Mais baratos que o teste de fenotipagem	Detectam resistência apenas nas <i>quasiespécies</i> dominantes (>20% da população viral)
Resultados disponíveis em menor tempo	A experiência do técnico influencia o resultado
Bem padronizados com boa reprodutibilidade	Nem todas as mutações de resistência são conhecidas
Possibilidade de realizar fenotipagem virtual	Podem ser discordantes dos testes fenotípicos.
Mais sensíveis para mutações emergentes (misturas)	Exige interpretação de um especialista
Preferidos em estudos comparativos para 1ª e 2ª falhas	Requer carga viral > 500 cópias/mL
Fenotipagem	
A interpretação é mais direta e familiar (como anti-biograma convencional)	Mais caros que Genotipagem
Avaliam o efeito total, inclusive as interações entre as mutações	Resultados demorados
Não exigem dados sobre correlatos genotípicos de resistência (bom para novos fármacos)	Os limiares (cut off's) não estão disponíveis para todos os medicamentos e não se leva sempre em conta o reforço com ritonavir
Boa reprodutibilidade	Detectam resistência a um único fármaco, não a associações
Melhores que genotipagem quando há muitas mutações	Detectam resistência apenas nas espécies dominantes (>20%)
Fornecem os níveis de fármacos necessários para tratar o vírus resistente	Exigem carga viral > 500-1000 cópias/mL

Extraído de Bartlett e Gallant, Tratamento Clínico da Infecção pelo HIV, 2005-2006; p29.

2.6.4 Estudos Clínicos para avaliar a eficácia dos testes de resistência viral

Diversos estudos retrospectivos, para avaliar a eficácia do uso de genotipagem, mostraram que a presença de mutações virais é um dos fatores determinantes dos desfechos clínicos, juntamente com a história terapêutica, o grau de imunodeficiência e a carga viral na época da troca do esquema. O número de mutações encontradas na genotipagem é inversamente relacionado à queda da carga viral no regime terapêutico de resgate (LORENZI, 1999). Em estudos retrospectivos que avaliaram o teste de resistência fenotípica, os resultados também foram favoráveis ao seu uso. A presença de sensibilidade fenotípica a duas ou mais drogas está relacionada a uma maior queda da carga viral (DEEKS, 1999).

A seguir serão apresentados estudos prospectivos que avaliaram a eficácia do uso dos testes de resistência por desfechos imunoviológicos. Como eles diferem

em alguns pontos, como número de falhas terapêuticas, experiência com NNTR, questionários de adesão, orientação de especialistas na interpretação do teste e tempo de duração dos estudos, torna-se difícil a realização de uma metanálise dos mesmos.

2.6.4.1 VIRADAPT (DURANT , 1999)

Foi o primeiro estudo clínico prospectivo a mostrar benefícios do teste de genotipagem do HIV-1. Os 108 pacientes em falha terapêutica foram randomizados e 65 deles tiveram seu tratamento guiado pelo teste de genotipagem. Para os demais, o resultado do teste não foi oferecido no momento da troca. Os grupos eram semelhantes em relação aos principais parâmetros preditivos de resposta terapêutica (contagem de LTCD4, carga viral, número de mutações). O estudo, originalmente planejado para 12 meses, foi interrompido nos primeiros seis meses () porque análises intermediárias mostraram maior benefício no grupo que utilizou o teste genotipagem. Este estudo também demonstrou bom custo-efetividade da genotipagem, fato reforçado por outros autores (CHAIX, 2000).

Em alguns pacientes, a resistência viral não foi suficiente para explicar o motivo da falha terapêutica. Cerca de 11% dos pacientes que falharam com ITRN não apresentavam qualquer mutação que conferisse resistência a essa classe de drogas, enquanto que, para os IP, 53% dos pacientes também não apresentavam mutações. Adesão insuficiente, resistência celular, baixa absorção ou falha em detectar espécies minoritárias resistentes poderiam explicar o motivo da falha virológica. A partir destes dados, publicação subsequente (DURANT, 2000) analisou a concentração plasmática dos diversos inibidores de protease e a resposta virológica. Na análise de subgrupo, apenas entre os pacientes que apresentavam concentrações séricas adequadas do IP em uso, observou-se maior queda da carga viral quando a troca foi guiada pela genotipagem comparado ao grupo sem orientação do teste de resistência.

2.6.4.2 GART (BAXTER , 2000)

Realizado em 14 centros, com tempo de acompanhamento de apenas 8 semanas, o tratamento em ambos os grupos, com e sem o uso da genotipagem, foi orientado por três especialistas. Dos 153 pacientes, 78 foram incluídos no grupo de genotipagem. Observou-se que os pacientes do grupo orientado por genotipagem receberam mais drogas ativas quando comparados ao grupo controle. À medida que aumentava a adequação do esquema às orientações dos especialistas, aumentavam as chances da carga viral tornar-se indetectável. No subgrupo com pacientes virgens de ITRNN, a queda da carga viral foi maior no grupo orientado por genotipagem (-1,38 log *versus* -0,63 log), refletindo melhor opção de drogas que foram usadas para compor o esquema com ITRNN. Em ambos os grupos houve aumento discreto da contagem de LTCD4, possivelmente relacionado ao curto tempo de seguimento.

2.6.4.3 HAVANA (TURAL, 2002)

Estudo espanhol que incluiu a análise do impacto da orientação de especialistas na interpretação dos testes de genotipagem. Foram avaliados 326 pacientes por seis meses, agrupados de acordo com o número de falhas terapêuticas (1^a, 2^a e \geq 3^a falha) e randomizados para receber ou não o teste de genotipagem, bem como orientações por um grupo de especialistas (quatro clínicos e dois virologistas, todos com mais de dez anos de experiência). O percentual de pacientes com carga viral indetectável (< 400 cópias/mL) foi significativamente superior no grupo que recebeu genotipagem (48,5% *versus* 36,2%, $p < 0,05$). Na análise de subgrupos observou-se que pacientes em 2^a falha terapêutica, que receberam orientação por especialistas, foram os mais beneficiados. Este foi o primeiro estudo clínico a mostrar benefícios virológicos quando são acrescentadas orientações de especialistas aos exames de genotipagens para adequar a TARV de resgate.

2.6.4.4 NARVAL (MEYNARD, 2002)

Primeiro estudo clínico a comparar os testes de genotipagem, fenotipagem e cuidado padrão. Na avaliação global, não houve superioridade de nenhum dos três

grupos. Em análise secundária, todavia, o teste de genotipagem mostrou-se mais eficaz nos pacientes com poucas falhas terapêuticas. Interpretou-se a ausência de benefícios dos exames de resistência na avaliação global por se tratar de um grupo de pacientes muito experimentados (média de 56 meses de uso de TARV). Por outro lado, quando foi analisado o subgrupo com histórico de uso de apenas um IP, a resposta virológica no grupo orientado por genotipagem foi significativamente melhor. Outro ponto a ser considerado foi a incorporação de novas drogas (ITRNN) durante o estudo, o que aparentemente melhorou e nivelou o desempenho da terapia de resgate nos três braços. Uma das conclusões foi a custo-efetividade do teste de genotipagem por indicar as drogas inativas que deveriam ser evitadas. Assim, o seu uso poderia economizar nos gastos com anti-retrovirais e poupar o paciente de toxicidades desnecessárias. Ressalta-se que o estudo mostrou ausência de benefício do teste de fenotipagem em comparação ao de genotipagem. Houve discrepância na interpretação de resistência entre fenotipagem e genotipagem, com resistência sugerida mais freqüentemente pela genotipagem para algumas drogas.

2.6.4.5 ARGENTA (CINGOLANI, 2002)

Avaliou o uso do teste de genotipagem no resgate terapêutico somado ao impacto de adesão ao tratamento, medida por questionário auto-aplicável. Após seis meses não houve diferença em relação à proporção de pacientes com carga viral indetectável, embora esta tenha sido estatisticamente significativa nos primeiros três meses ($p = 0,01$), favorável ao uso de genotipagem. Ponderou-se que, apesar da randomização, houve maior prevalência da mutação T215Y na TR e das mutações V82A e L90M na PR, no grupo orientado por genotipagem. Além disso, o tratamento nos dois grupos foi orientado pela mesma equipe de especialistas, e os pacientes eram provenientes de um único centro.

Neste trabalho carga viral menor que o limite de detecção na 1ª avaliação se associou a: paciente ter realizado genotipagem, ter tido carga viral indetectável em qualquer época e estar em 1ª ou 2ª falhas terapêuticas. Não houve diferença entre os dois grupos para ganho médio de LTCD4 mas ao se estratificar a análise por adesão ao tratamento houve maior ganho entre os mais aderentes, com diferença significativa estatisticamente.

2.6.4.6 Outros estudos

Alguns estudos prospectivos avaliaram o impacto do teste de resistência fenotípica. O denominado VIRA3001 (COHEN, 2002) avaliou o desempenho do teste de fenotipagem em relação ao cuidado padrão. A queda da carga viral foi significativamente maior no grupo de pacientes com tratamento orientado por fenotipagem, embora o percentual de pacientes com carga viral indetectável tenha sido semelhante. Diferentemente dos outros estudos clínicos, os pacientes deste eram pouco experimentados, com apenas uma falha com IP, tornando o regime terapêutico de resgate mais factível.

O estudo CCTG 575 (HAUBRICH, 2001) não mostrou diferença no controle virológico, com ou sem o uso de fenotipagem. Houve entretanto diminuição da carga viral quando analisado o subgrupo de pacientes com várias falhas terapêuticas.

O estudo CERT (WEGNER, 2002) comparou a genotipagem, fenotipagem e a troca sem utilização destes exames. Como no NARVAL não houve diferença no controle virológico entre os grupos. No estudo VIHRES (BLANCO, 2002) foram selecionados pacientes experimentados a vários tratamentos anteriores e não houve diferença na variação da carga viral entre os pacientes que tiveram ou não a troca de TARV guiada pelo teste de genotipagem.

No Brasil, o projeto GERAIS (TUPINAMBÁS, 2006) foi o primeiro estudo que avaliou o impacto de se orientar a terapia de resgate com o auxílio do exame de genotipagem. Foram incluídos 74 pacientes em falha terapêutica divididos para realizar ou não o teste de genotipagem na relação 1:2. Aos 6 meses de seguimento, o grupo que teve a TARV de resgate orientada por genotipagem apresentou queda na CV significativamente maior (-2,8 *versus* -1,5 log₁₀ cópias/mL, p = 0,004), mas a diferença diminuiu no 12º mês de avaliação (-2,4 *versus* -1,8 log₁₀ cópias/mL, p = 0,24). Na análise multivariada, adesão ao tratamento e ter realizado exame de genotipagem foram preditores independentes de controle virológico.

Por fim é importante lembrar que, resposta terapêutica favorável não é uma constante na presença de cepas virais sem mutações que conferem resistência fenotípica. Populações virais minoritárias resistentes, concentrações séricas inadequadas dos ARV, por interações medicamentosas ou absorção comprometida,

e baixa adesão ao tratamento são fatores que podem diretamente levar a falha terapêutica e ao mesmo tempo contribuir para indução de novas mutações de resistência.

2.6.5 Papel dos testes de resistência viral em Ensaios clínicos de novos ARV

Historicamente é possível se identificar duas fases em relação ao uso dos testes de resistência nos ensaios clínicos. A primeira, descrita na seção 2.6.4, visava validar os testes de resistência na prática clínica com estudos desenhados para medir a eficácia do uso da genotipagem e fenotipagem no controle imunoviológico. A partir de 2002-2003, com a publicação dos estudos TORO 1 e 2, os testes de resistência tornaram-se ferramenta indispensável para os ensaios clínicos dos novos ARV. Ao se testar uma nova droga em fase IIb ou III, em geral para pacientes experimentados em TARV, faz-se necessário definir através dos exames de resistência o melhor esquema anti-retroviral de base a ser oferecido a cada um dos pacientes no estudo.

A seguir serão apresentados resumidamente os principais estudos dos novos anti-retrovirais que, sem exceção, utilizaram-se dos testes de resistência na confecção do esquema ARV de base otimizado (EBO). Por questões de objetividade e adequação ao tema desta dissertação não serão comentados aspectos relacionados à segurança e efeitos colaterais das drogas.

2.6.5.1 TORO

O estudos multicêntricos em fase 3 TORO 1, realizado na América do Norte e Brasil (LALEZARI, 2003), e TORO 2, na Europa e Austrália (LAZZARIN, 2003), foram conduzidos para avaliar a eficácia e segurança do inibidor de fusão Enfuvirtida (ENF). Foram comparados 2 grupos, com proporção 2: 1, que receberam ENF ou placebo em um esquema de base otimizado, entre 3 a 5 ARV, definido através de um "score" de fenotipagem e genotipagem. Todos os pacientes tinham experiência com as 3 classes de ARV. A randomização foi estratificada de acordo com a carga viral de entrada ($>$ ou $<$ que 40.000 cópias/mL) e pelo uso de novos ARV à época (TDF e LPV-r). A análise de 24 semanas mostrou, em ambos os estudos, que o

desfecho primário, queda da carga viral, foi significativamente maior no grupo que recebeu ENF (redução de 1,7log *versus* 0,7log, $p < 0,001$). Outros parâmetros como ganho mediano de LTCD4, percentual de pacientes com $CV < 400$ cópias/mL e $CV < 50$ cópias/mL, também foram melhores no grupo que utilizou ENF.

Os benefícios foram mantidos na análise de durabilidade da eficácia e segurança em 48 semanas. (MARK NELSON, 2005). Este estudo realizou o análise de subgrupos e indicou melhores respostas virológicas entre os pacientes, com $CV < 5 \log_{10}$ cópias/mL, $LTCD4 > 100$ células/mm³ na entrada e principalmente entre os não experimentados ao lopinavir-ritonavir e que possuísem pelo menos 2 ARV sensíveis para compor o EBO. Ressalta-se que na pontuação genotípica os grupos foram semelhantes à entrada; os pacientes apresentavam em média 1,9 ARV sensíveis na composição do EBO e aqueles com nenhum ARV sensível no EBO não tiveram benefício no uso da ENF. Neste contexto ocorreu rápida resistência viral à ENF, dada sua baixa barreira genética. Os estudos TORO definiram como critérios de falha virológica queda da CV inferior a 0,5 log na 8ª semana, 1log na 16ª semana, aumento maior que 2log em qualquer momento e aumento maior que 1log entre aqueles que tiveram resposta inicial; No Brasil o Ministério da Saúde utiliza os mesmos critérios para recomendar a suspensão do uso da ENF, reservada a esquemas de resgate com orientação de genotipagem recente (MS-Brasil, 2008).

2.6.5.2 RESIST

Os estudos RESIST 1, realizados em centros da América do Norte e Austrália (GATHE, 2006) e RESIST 2, na Europa e América Latina (CAHN, 2006), tiveram como objetivo avaliar a eficácia e segurança do tipranavir (TPV) associado ao ritonavir para pacientes em falha terapêutica, quando comparado a um outro IP. Todos os pacientes tiveram seu EBO e o IP comparador (LPV-r, SQV+r, FPV+r ou IDV+r) definido pelo teste de genotipagem. No grupo controle, o IP comparador mais usado no RESIT 1 foi o LPV-r (61%) enquanto no RESIST 2 houve equilíbrio entre o FPV+r (40%) e LPV-r (38%). Os pacientes elegíveis tinham experiência com as três classes de ARV, incluindo pelo menos dois IP, e no mínimo uma mutação principal para esta classe. Entretanto, foram excluídos do estudo aqueles que apresentassem duas ou mais mutações nos códons 33, 82, 84 e 90, fortemente

relacionadas ao TPV. Antes da randomização os pacientes foram estratificados pelo IP comparador pré-selecionado e pelo uso de ENF. Os desfechos virológicos foram os mesmos apresentados nos estudos TORO. Para todos eles a resposta virológica foi superior no braço do TPV+r com $p < 0,001$ em ambos os estudos RESIST.

Na análise de subgrupos dois pontos chamaram atenção. Percebeu-se um efeito benéfico adicional nos pacientes que utilizaram ENF com TPV; na comparação direta de TPV+r com LPV-r os benefícios eram mínimos, e não significativos estatisticamente, quando os pacientes eram não experimentados ao LPV-r ou sensíveis a essa droga na genotipagem. Como esperado a magnitude da resposta virológica ao TPV foi inversamente proporcional ao número de mutações na PR relacionadas ao TPV.

2.6.5.3 POWER

Outro novo IP, o darunavir (DRV), foi recentemente liberado para uso clínico após os estudos POWER 1, 2 e 3. Os pacientes recrutados tinham experiência com as três classes de ARV, com média de uso de 11 ARV diferentes e pelo menos uma mutação principal para IP. Ao contrário do estudo RESIST, foram incluídos pacientes com uso prévio de ENF e não houve limitação de acordo com o número de mutações em códons específicos da protease. Os dois primeiros estudos de fase IIb, POWER 1 e 2 (KATLAMA, 2007; HAUBRICH, 2007) além de avaliar a eficácia e segurança do DRV de forma comparativa a outros IP, definiram a dose de 600mg, com 100mg de ritonavir, duas vezes ao dia, como a ideal. Todos os pacientes tiveram seu EBO definido a partir de testes de resistência viral e, previamente à randomização, os pacientes foram estratificados de acordo com o número de mutações principais para IP (1, 2, ou ≥ 3), uso ou não de ENF no EBO e pela carga viral ($>$ ou $<$ que 20.000 cópias/mL). Todas as doses de DRV mostraram-se superiores ao IP comparador para os desfechos virológicos de redução de carga viral ≥ 1 log na 24ª semana e percentual de pacientes com CV < 400 e < 50 cópias/mL (todos com $p < 0,001$). Houve nítida superioridade da dose de 600mg de DRV em relação às demais. As reduções médias de CV em \log_{10} cópias/mL foram de 2,03 / 1,69 / 1,83 / 1,78 para os grupos com DRV nas doses 600/100mg b.i.d.,

400/100mg b.i.d., 800/100mg m.i.d. e 400/100mg m.i.d., enquanto para o grupo controle, com IP comparadores, foi de apenas 0,63 log₁₀ cópias/mL ($p < 0,001$).

Ressalta-se que em um modelo com múltiplas variáveis, considerando-se o uso de ENF, carga viral ($>$ ou $<$ 20.000 cópias/mL), número de mutações principais para IP e “fold change” para DRV (<4 , 4-40, >40), este último foi o fator preditor mais forte para redução de carga viral na análise de covariância. Posteriormente, o estudo de fase III, de aprovação regulatória, POWER 3 reavaliou a segurança e eficácia virológica do darunavir como IP de resgate em pacientes com ampla experiência em TARV com ótimos resultados (MOLINA, 2007).

2.6.5.4 DUET

Os estudos multicêntricos DUET 1 e 2 (MADRUGA, 2007; LAZZARIN, 2007), o primeiro incluindo centros no Brasil, avaliaram a eficácia e segurança da etravirina (ETR), um novo ITRNN, para pacientes com resistência documentada a esta classe e pelo menos 3 mutações principais aos IP no rastreamento inicial. Todos os pacientes receberam darunavir 600mg com ritonavir 100mg duas vezes ao dia e tiveram seu EBO definido através de genotipagem analisada por especialistas. Previamente à randomização os pacientes foram estratificados de acordo com incorporação ou não de ENF no EBO, uso prévio de DRV+r e pela carga viral ($<$ ou $>$ que 30.000 cópias/mL). Mais de 90% dos pacientes tinham ≥ 4 mutações para ITRN e cerca de 60% ≥ 4 mutações principais aos IP, igualmente distribuídas nos grupos. Na análise por intenção de tratamento da 24ª semana a obtenção do desfecho primário pré-definido, CV $<$ 50 cópias/mL, foi significativamente maior no grupo que utilizou ETR (56% *versus* 39%, $p = 0,005$). Outros desfechos como queda média de CV e ganho médio de LTCD4 também foram significativamente melhores no grupo da ETR. Na análise de subgrupos, os benefícios, apesar de mantidos de acordo com os diferentes números de drogas ativas no EBO, tenderam a se igualar quando havia 3 drogas sensíveis para compor o EBO.

Recentemente, duas novas classes de ARV tiveram seus representantes liberados para uso clínico: inibidores da integrase, através do raltegravir, e os inibidores do coreceptor CCR5, com o maraviroc.

2.6.5.5 BENCHMRK

Em 2007 foram apresentados os estudos clínicos com raltegravir avaliado inicialmente nos pacientes com ampla experiência à TARV em falha terapêutica (GRINSZTEJN, 2007) e em pacientes sem TARV prévia de forma comparativa ao EFZ (MARKOWITZ, 2007).

Em estudo de fase II, raltegravir foi comparado, em 3 diferentes doses (200mg, 400mg ou 600mg todas duas vezes ao dia) com placebo, em pacientes com ampla experiência à TARV, com resistência determinada por genotipagem e fenotipagem a pelo menos uma droga em cada classe de ARV (ITRN, ITRNN, IP). Os referidos exames de resistência também foram utilizados para determinar o EBO individualmente. Os pacientes tinham em média 10 anos de uso de ARV e foram randomizados após estratificação, segundo incorporação ou não de ENF no EBO e número de IP sem nenhuma atividade nos exames de resistência basais. Excluindo-se a ENF, em 72% dos pacientes não havia nenhum ARV com atividade plena, indicando se tratar de uma população com perfil de resistência muito desfavorável. Por dados farmacocinéticos prévios, indicando que a associação de raltegravir com ATV poderia aumentar os níveis séricos do raltegravir, foram criados dois subestudos após a randomização de acordo com uso ou não de ATV no EBO. Na 24^a semana os pacientes foram analisados por intenção de tratamento e houve melhores desfechos imunoviológicos nos grupos que utilizaram raltegravir em qualquer dose, comparativamente ao controle. As diferenças de queda da CV foram semelhantes nos 2 subestudos, com ou sem ATV no EBO. Avaliando-se os subestudos combinados, houve redução da CV em \log_{10} cópias/mL na 24^a semana de 1,80 / 1,87 / 1,84 nos grupos com raltegravir comparados a queda de apenas 0,35 \log_{10} cópias/mL no grupo controle ($p < 0,001$). A proporção de pacientes que atingiu CV < 400 e < 50 cópias/mL também foi significativamente maior nos grupos do raltegravir. Importante mencionar o benefício adicional no controle virológico entre os pacientes que utilizaram ENF, tanto no grupo controle, mas principalmente associada ao raltegravir, conforme indica o gráfico 4.

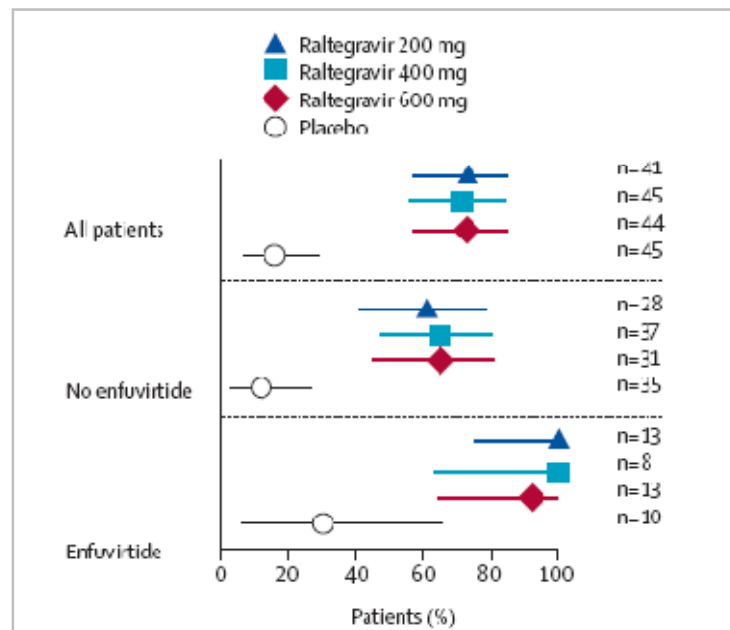


Gráfico 4. Proporção de pacientes com CV < 400 cópias/mL de acordo com uso ou não de ENF no EBO nos grupos placebo e com raltegravir, em pacientes não experimentados a ENF (GRINSZTEJN, 2007).

No estudo para pacientes sem uso de TARV, 198 voluntários foram randomizados para receber raltegravir (nas doses de 100, 200, 400 e 600mg duas vezes ao dia) ou EFZ, associados ao TDF e 3TC em todos os grupos. Os desfechos imunoviológicos foram semelhantes entre todos os grupos na 24^a semana e mantidos na 48^a, mas observou-se maior proporção de pacientes com CV < 50 cópias/mL nas semanas 2, 4, e 8 entre os pacientes do grupo do raltegravir ($p < 0,05$ em análise de tempo até o desfecho – log-rank). Na 48^a semana o percentual de pacientes com CV < 50 cópias/mL nos 4 grupos que receberam raltegravir variou entre 85 a 98% e no grupo que utilizou EFZ foi de 87%. Falha virológica foi observada em apenas 3% dos pacientes entre os que usaram raltegravir (5) ou EFZ(1). Entre os 5 que falharam com raltegravir 4 deles tinham mutações relevantes para ITRN: K65R em um deles e M184VI em todos; em 2 destes foi observada a mutação N155H no segmento da integrase do gen *pol*.

2.6.5.6 MOTIVATE

Finalmente, os estudos de fase III MOTIVATE 1 e 2 (GULICK, 2008), envolveram 1049 pacientes na Europa, Austrália, Canadá e Estados Unidos da

América, para avaliar a eficácia e segurança do maraviroc em pacientes com resistência às 3 classes de ARV e que tivessem o teste de tropismo indicando a presença de vírus R5, ou seja, com tropismo para o coreceptor CCR5. Os pacientes foram randomizados em 3 grupos para receber placebo, maraviroc uma ou duas vezes ao dia. Novamente, todos tiveram o EBO mais adequado definido por especialistas com auxílio de exames de resistência viral, incluindo o seqüenciamento do gen *env*. Em caso de falha virológica os pacientes seriam submetidos a novo teste de tropismo viral e novos exames de resistência. Foram incluídos pacientes com experiência a pelo menos 3 entre as 4 classes de ARV (ITRN, ITRNN, IP e Inibidor de entrada), uso ≥ 2 IP, e resistência genotípica ou fenotípica à drogas de pelo menos 3 destas classes. Os desfechos imunoviológicos foram avaliados na 48ª semana e se mostraram melhores nos 2 grupos que utilizaram maraviroc associado ao EBO, com superioridade do grupo que usou o inibidor de CCR5 duas vezes ao dia. Neste grupo, que utilizou maraviroc duas vezes ao dia, houve redução média da CV de 1,82 e 1,87 \log_{10} cópias/mL ao passo que no grupo controle a diminuição foi de 0,8 e 0,76 \log_{10} cópias/mL nos estudos MOTIVATE 1 e 2 respectivamente. Os desfechos secundários de proporção de pacientes com CV < 50 cópias/mL, CV < 400 cópias/mL, e ganho médio de LTCD4 também foram significativamente superiores entre os pacientes que utilizaram o maraviroc.

Na análise de subgrupos realizada posteriormente (FATKENHEUER, 2008), os pacientes que utilizaram maraviroc mantiveram melhores desfechos imunoviológicos que o grupo controle. Os subgrupos analisados foram sexo, raça, diferentes genótipos da região delta-32 (que codifica a expressão do co-receptor CCR5), valores de CV e LTCD4 basais, uso ou não de ENF e número de drogas ativas no EBO. Todavia percebeu-se neste estudo que entre os pacientes que apresentaram falha terapêutica, os que estavam em uso de maraviroc mostravam maior percentual de vírus com tropismo para o co-receptor CXCR4, levantando ao questionamento de uma possível pressão seletiva para mudança de tropismo viral a partir do uso do maraviroc. A preocupação neste contexto é por se saber que vírus X4 são mais agressivos ao hospedeiro, por sua atividade citopática, indutora de sincício.

Percebe-se que em todos os ensaios clínicos de novos ARV, os testes de resistência se revestem de dupla importância: avaliam o melhor esquema de base a

ser utilizado e determinam as possíveis mutações associadas à falha terapêutica durante os estudos. Isso corrobora a indicação, já bem fundamentada, do uso da genotipagem para orientar os esquemas ARV de resgate na prática clínica.

3 Objetivos

3.1 Objetivos principais

- a- Avaliar a prevalência das mutações de resistência do HIV-1 aos anti-retrovirais, através da primeira genotipagem realizada nos pacientes em falha terapêutica, acompanhados no Centro de Referência e Treinamento em Doenças Infecciosas e Parasitárias Orestes Diniz (CTR/DIP- UFMG/PBH) entre janeiro de 2002 a dezembro de 2006
- b- Determinar a evolução temporal da prevalência dos subtipos do HIV-1 nesta população
- c- Avaliar a prevalência das mutações de resistência de acordo com o subtipo do HIV-1

3.2 Objetivos secundários

- a- Descrever as características gerais dos pacientes submetidos à genotipagem bem como o perfil de uso dos anti-retrovirais até a realização da mesma
- b- Comparar os dados imunoviroológicos antes e após a realização do exame de genotipagem
- c- Avaliar o perfil geral de resistência aos anti-retrovirais
- d- Avaliar o perfil de resistência aos anti-retrovirais de acordo com os subtipos do HIV-1
- e- Avaliar o perfil de resistência aos ITRN de acordo com a presença das diferentes vias mutacionais, TAM 1, TAM 2 e mutações de ambas as vias
- f- Determinar o impacto do uso prévio de TARV com menos de 3 ARV na prevalência das mutações de resistência aos ITRN
- g- Comparar a prevalência de mutações para etravirina e seu perfil de resistência, de acordo com uso prévio de efavirenz ou nevirapina
- h- Comparar individualmente o perfil de resistência dos inibidores da protease com maiores barreiras genéticas através do teste de simetria

4. Metodologia

4.1 Revisão bibliográfica

A revisão bibliográfica foi realizada através do *Medline* e do *Google acadêmico* entre os anos de 1985 a 2008. A pesquisa foi limitada à literatura de línguas portuguesa, inglesa e espanhola. As seguintes palavras chaves foram utilizadas: HIV, teste de resistência, genotipagem, resistência primária, resistência transmitida, mutações de resistência e subtipos do HIV. Os artigos selecionados foram obtidos através do portal de Periódicos da CAPES. Foram acrescentados também trabalhos científicos referenciados por estes artigos. Por se tratar de temática extremamente dinâmica, o levantamento bibliográfico foi atualizado freqüentemente. Artigos publicados em periódicos da área, trabalhos apresentados em congressos e outras referências indicadas pelos orientadores e colegas da Rede Nacional de Genotipagem foram acrescentados ao levantamento.

4.2 Delineamento da pesquisa

O presente estudo pode ser entendido como um corte transversal, ao avaliar a prevalência das mutações e subtipos virais do HIV-1 em um período definido. Na avaliação do impacto do uso prévio de determinadas terapias anti-retrovirais na prevalência das mutações e a evolução imunoviológica antes e após a genotipagem, pode ser entendido como uma coorte histórica.

O estudo foi realizado através dos exames de genotipagens solicitados entre janeiro de 2002 à Dezembro de 2006. Para preservar a independência das observações, a unidade de análise escolhida para este estudo foi a primeira genotipagem realizada dos pacientes acompanhados no CTR/DIP- Orestes Diniz UFMG/PBH. Todas as seqüências do genoma viral (segmentos da TR e PR do gene *PoI*) foram reanalisados nos sites da RENAGENO (MS-Brasil) e Stanford, para avaliar a presença de mutações de resistência do HIV através de banco de dados atualizado.

4.3 Pacientes / Exames

Os exames de genotipagem em análise foram todos de pacientes acompanhados no Centro de Referência e Treinamento em Doenças Infecciosas e Parasitárias Orestes Diniz (CTR/DIP- UFMG/PBH), sendo apenas incluído o primeiro exame de cada paciente, como já mencionado.

Em agosto de 1985 foi estabelecido o Setor de Imunodeficiência do serviço DIP, onde são atualmente atendidos cerca de cinco mil pacientes infectados pelo HIV. O ambulatório está localizado no complexo hospitalar do Hospital das Clínicas da UFMG, próximo ao Laboratório de Doenças Infecciosas e Parasitárias (Lab. DIP) onde são realizados os exames de carga viral, contagem de linfócitos TCD4 e genotipagem do HIV-1. Neste mesmo setor estão arquivados os formulários de solicitação das genotipagens e as seqüências genômicas em arquivo eletrônico com extensões *.fasta* e *.gt*, utilizados para coleta de dados. Alguns dados imunoviológicos foram coletados através do SISCEL, com a prévia autorização da coordenação do Lab. DIP e cadastro de senha própria para acesso, junto à central do sistema em Brasília - Distrito Federal.

4.3.1 Critérios de inclusão

- a) Presença de infecção pelo HIV-1 confirmada pela existência de 2 testes de triagem reagentes e 1 confirmatório para detecção de anticorpos anti-HIV, de acordo com as normas do Ministério da Saúde – Brasil;
- b) Ocorrência de falha terapêutica, determinada pelo médico assistente e caracterizada por critérios do Grupo de Consenso de Tratamento Anti-retroviral do Programa Nacional de DST/AIDS do Ministério da Saúde (PN-DST/AIDS) na ocasião da realização do exame de genotipagem;
- c) Primeiro exame de genotipagem do HIV-1 de cada paciente, realizado no período de janeiro de 2002 a dezembro de 2006 pelo Lab. DIP da UFMG.

4.3.2 Critérios de exclusão

- a) Segundo ou subseqüentes exames de genotipagem do HIV-1 de um mesmo paciente;

- b) Exames de genotipagem tecnicamente inapropriados para análise por seqüenciamento inadequado dos segmentos de interesse do gen *pol*, sem os esperados 1302K pares de base;
- c) Dados insuficientes ou de difícil identificação (ilegíveis) nos formulários (formulário A) de solicitação das genotipagens.

4.3.3 Fluxograma de seleção dos exames de genotipagem

No setor de arquivo de exames de genotipagem do HIV-1, do Laboratório de Doenças Infecciosas e Parasitárias da UFMG, foram selecionados aqueles pertencentes aos pacientes do (CTR/DIP- Orestes Diniz - UFMG/PBH) realizados no período de janeiro de 2002 a dezembro de 2006. Do total de 1280 exames de genotipagens realizados para todo o estado de Minas Gerais neste período, 388 foram em pacientes do CTR-DIP Orestes Diniz. Destes foram excluídos 73 exames por problemas na reanálise com as sequências em arquivo *.fasta* e *.gt*, outros 64 casos que não apresentavam preenchimento adequado do formulário A para coleta dos dados e 8 exames “duplicados”, ou seja, que eram o segundo exame de genotipagem de um mesmo paciente, totalizando 243 casos para análise dos dados (figura 9). Um “formulário A” (anexo 3) foi definido como inadequado quando não possuía informações completas dos esquemas de ARV utilizados ou quando não possuía número de registro do paciente. Os exames pediátricos (em menores de 18 anos) realizados no período não foram incluídos na seleção inicial.

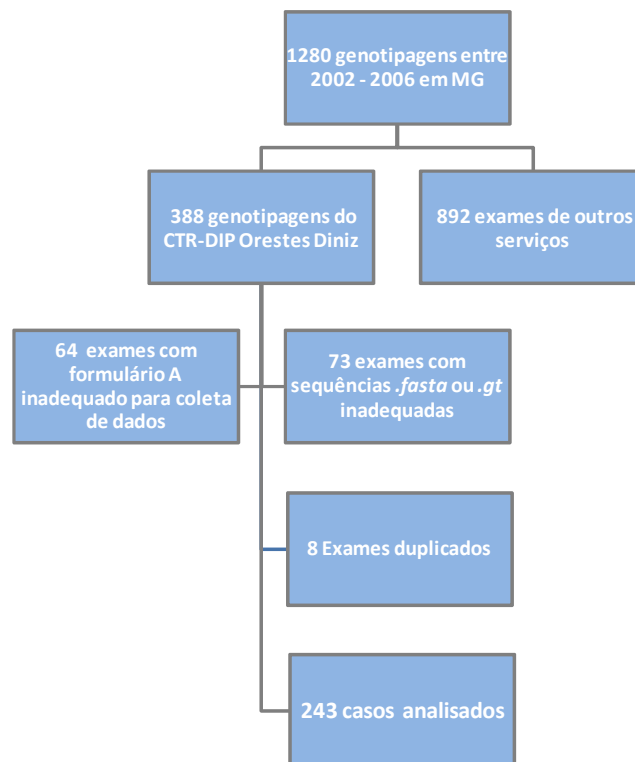


Figura 9. Fluxograma de seleção dos exames de genotipagens, em maiores de 18 anos, para análise entre janeiro de 2002 e dezembro de 2006.

4.4 Considerações éticas

Os dados dos pacientes foram obtidos através de exames de genotipagem arquivados no Lab. DIP da instituição. A população foi analisada como um grupo, e não houve identificação individual, o que garantiu o sigilo e a confidencialidade de todas as informações. Ressalta-se que muitos dos pacientes, que realizaram o exame de genotipagem, já faleceram e outros tantos não residem em Belo Horizonte. As informações obtidas através do exame de genotipagem têm aplicação por período limitado de tempo e nenhuma conduta diferente daquela já instituída pelo médico assistente à época, poderia ser tomada hoje, a partir da revisão dos exames. Assim sendo foi solicitada e consentida pelo COEP-UFMG, a autorização para não utilização do termo de consentimento livre esclarecido (TCLE). Este Projeto de Pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (COEP/UFMG) - N° 328/08.

4.5 Exame de genotipagem do HIV-1 e determinação do subtipo

Para o exame de genotipagem do HIV-1, foi utilizado o sistema ViroSeq™ Genotyping System versão 2.0 (Applied Biosystems) que inclui os módulos de extração de RNA viral plasmático, reação de transcrição reversa, amplificação por PCR do gen *pol* (protease e transcriptase reversa) e reação de seqüenciamento automático do produto amplificado. Todas as etapas foram realizadas conforme protocolo específico do fabricante. O módulo de seqüenciamento utiliza Dye Terminator chemistry, ou seja, marcação fluorescente da extremidade 3' do nucleotídeo de terminação com fluorocromos específicos para cada base. O analisador genético ABI PRISM® 3100, faz a resolução eletroforética das amostras e gera um cromatograma para cada seqüência.

O programa de computador gera não somente a montagem, mas também analisa os polimorfismos genéticos encontrados, baseado na comparação com a seqüência prototípica de um isolado de HIV-1 do tipo B, sabidamente sensível aos anti-retrovirais (isolado HXB2).

As seqüências dos genes da TR e PR são traduzidas, alinhadas com a cepa MN e as mutações relacionadas à resistência aos ITRN, ITRNN e IP são identificadas a partir da reanálise de seus arquivos em extensões do tipo *.fasta* e *.gt* no site da RENAGENO (<http://algoritmo.aids.gov.br/resistencia.html>), o que também permite a identificação do subtipo viral do HIV-1. A determinação do subtipo viral por esse método dá-se através da similaridade, ou seja, a seqüência submetida à análise é comparada com seqüências de referência de subtipos do grupo principal do HIV-1 (grupo-M). Entre as seqüências de referência, a que mais se aproximar da seqüência viral em análise determinará o subtipo do HIV-1 em questão.

Posteriormente (sem utilizar as seqüências genéticas, apenas as mutações já identificadas) utilizou-se o algoritmo da Stanford (<http://hivdb.stanford.edu>) para avaliar o perfil de resistência ao Tipranavir, Etravirina e Entrecitabina, não incorporados ao algoritmo da RENAGENO. O algoritmo da Stanford University utiliza cinco níveis de resistência/sensibilidade para avaliar o impacto das mutações sobre cada ARV: sensível, potencial baixo grau de resistência, baixo grau de resistência, resistência intermediária e alto grau de resistência. Para fins de comparação ao sistema utilizado pela RENAGENO foi realizada uma adequação do perfil de resistência apresentado por este algoritmo, agrupando-se as duas primeiras

categorias em “sensível” a terceira e a quarta ao perfil de “resistência intermediária” e a última ao perfil “resistente”, conforme já utilizado por outros autores, como no estudo de prevalência de resistência ao HIV-1 na França (COSTAGLIOLA, 2007).

4.6 Coleta e formação do banco de dados

Foi desenvolvido um questionário para coleta dos dados com 374 itens (Anexo 2) abordando aspectos gerais (procedência, naturalidade e data de nascimento), dados imunoviológicos (exames de contagem de LTCD4 e Carga viral, antes e após a realização da genotipagem), esquemas de ARV utilizados e tempo total de uso de cada droga individualmente, presença ou não das mutações de resistência ao HIV (por classe de ARV e quando pertinente separando-se aminoácidos mutantes distintos de um mesmo códon), subtipo viral do HIV-1 e o perfil de resistência a cada ARV. Foi dispensado muito cuidado na confecção do instrumento de coleta, sendo realizado pré-testes para avaliar sua adequação à proposta do estudo.

Os dados gerais dos pacientes, histórico do uso dos ARV, motivos da troca de esquema de tratamento bem como os dados imunoviológicos prévios à genotipagem foram coletados a partir do “formulário A” de solicitação de genotipagem (Anexo 3). Os dados de carga viral e contagem de LTCD4 de 6 e 12 meses após a realização exame de genotipagem foram obtidos no SISCEL através do número de prontuário dos pacientes na unidade de origem.

A avaliação das mutações de resistência presentes em cada seqüência, bem como o perfil de resistência dos ARV e os subtipos do HIV foram obtidos a partir da reanálise dos segmentos genéticos da TR e PR do HIV-1 como mencionado no item 4.5.

Este questionário foi montado e alimentado na versão 3 do programa EpiData (LAURITSEN, 2004) e posteriormente exportado para os aplicativos estatísticos (SPSS e Stata).

4.7 Definições de variáveis para análise

Com o objetivo de realizar algumas análises específicas fez-se necessário a criação de novas variáveis a partir do banco de dados original, assim como a definição de alguns conceitos que serão expostos nesta seção.

As mutações de resistência consideradas para análise, bem como sua classificação em maiores ou menores para os ITRNN e principais ou secundárias para os IP, foram baseadas no painel recomendado pela International AIDS Society (IAS) em 2008 para mutações adquiridas com uso de TARV (HIRSCH, 2008) e publicações adicionais relevantes (SHAFER, 2008).

A fim de se obter o número total de ARV utilizado pelos pacientes individualmente, cada ARV foi considerado uma única vez, ou seja, mesmo que tenha sido observado seu uso em vários esquemas, ele foi contabilizado como 1 ARV apenas. Os IP que foram utilizados com e sem ritonavir (em dose potencializadora) em esquemas diferentes (SQV, IDV, ATV, APV, FPV) também foram considerados como uma droga apenas para a soma final.

Na análise do perfil de resistência anti-retroviral a toda uma classe de drogas foi definida pela ausência de sensibilidade total a pelo menos uma droga na classe, (baseado no algoritmo da RENAGENO); a multirresistência aos ARV foi definida pela ausência de sensibilidade às 3 classes de ARV concomitantemente. Tais definições basearam-se em conceitos já utilizados por outros autores (COSTAGLIOLA, 2007).

Para comparação das mutações de acordo com o subtipo viral do HIV-1 procedeu-se a divisão em dois grupos: o primeiro denominado “subtipo B”, correspondeu a 75,7% da amostra (184 casos); o segundo denominado por “subtipo não-B” correspondeu a 23% da amostra (56 casos) e incluiu os subtipos F1, BF e A1; em 3 casos (1,2%) não foi possível determinar o subtipo viral por problemas com a extensão *.fasta* do seqüenciamento.

Foram feitas análises univariadas e de prevalência com algumas vias mutacionais, definidas a partir de dados revistos na literatura (SHAFER, 2008), apresentadas a seguir:

TAM 1 (Via 1 das mutações aos análogos de timidínicos): a seqüência viral deveria apresentar uma ou mais das seguintes mutações: 41L, 210W e 215Y e não poderia ter nenhuma das seguintes: 67N, 70R, 215F ou 219QE pertencentes à via TAM 2.

TAM 2 (Via 2 das mutações aos análogos de timidínicos): a seqüência viral deveria apresentar uma ou mais das seguintes mutações: 67N, 70R, 215F e 219QE, e não poderia ter nenhuma das seguintes: 41L, 210W e 215Y pertencentes à via TAM 1.

TAM 1+2: a seqüência viral deveria apresentar mutações das duas vias, TAM 1 e TAM 2, na mesma seqüência da TR, ou seja, o vírus deveria conter TAM sem preencher os critérios para vias exclusivas TAM 1 ou TAM 2, ou ainda, “caminhar” pelas duas vias mutacionais.

NAM: (Mutações associadas aos análogos de Nucleosídeos/ Nucleotídeos): seqüências analisadas da TR que apresentavam mutações de resistência aos ITRN, sem todavia apresentarem TAM de qualquer uma das vias. Ressalta-se que, muitos pacientes que apresentavam as TAM já definidas, também continham NAM e não foram contabilizados neste grupo.

Nas análises de relação entre uso de NVP ou EFZ com o perfil de resistência para Etravirina foram criadas variáveis para contabilizar o número de vírus que apresentassem 0, 1, 2, ou 3 (este o maior número observado) de mutações para ETR. As mutações consideradas foram: 90I, 98G, 100I, 101EP, 106I, 179DEF, 181CIV, 188LHC, 190ASE, 227C, 230L, considerando-se os dados dos estudos DUET 1 e 2 (MADRUGA, 2007 e LAZZARIN, 2007) e publicações posteriores (SHAFER, 2008). Duas categorias foram definidas quanto ao uso de ITRNN. Uma delas subdividia os pacientes que usaram EFZ ou NVP em qualquer esquema de tratamento prévio à genotipagem; a segunda considerava apenas o uso de um dos ITRNN no último esquema TARV, dada a possibilidade das mutações aos ITRNN não serem detectadas na ausência de pressão seletiva da medicação.

4.8 Análise estatística

Variáveis categóricas foram descritas quanto à frequência absoluta e relativa. Variáveis contínuas foram descritas através de medidas de tendência central e de dispersão mais apropriadas para a distribuição dos dados: a mediana e o intervalo interquartilico foram usados para variáveis de distribuição não normal, enquanto que a média e o desvio padrão foram usados para variáveis de distribuição normal. Para testar a normalidade da distribuição dos dados numéricos, foram usados os testes

de Shapiro-Wilk e Kolmogorov-Smirnov, bem como a inspeção visual de histogramas de distribuição.

A associação univariada entre variáveis categóricas de grupos independentes foi avaliada usando-se análise de tabelas de contingência. Quando apropriado, foi calculada a razão de chances como medida da magnitude do efeito univariado. Para testar a significância estatística global da associação das variáveis, foram utilizados os testes qui-quadrado (χ^2) de Pearson ou exato de Fisher. Utilizou-se o teste exato de Fisher quando 20% ou mais das caselas da tabela de contingência apresentavam frequência esperada menor ou igual a cinco.

A associação entre as vias mutacionais para ITRN e o perfil de sensibilidade a estas drogas foi avaliada em tabelas de contingência $r \times c$ ($r = 3$, $c = 3$), sendo r as categorias da variável de exposição (i.e., as vias mutacionais) e c as categorias da variável desfecho (i.e., o perfil de resistência). A identificação do(s) grupo(s) e/ou casela(s) responsável(eis) pela significância estatística global foi realizada em dois passos. Em primeiro lugar, foi feita ao nível da categoria de r , através da comparação de cada categoria r_i ($i = 1, 2, 3$) da variável de exposição com as r_i categorias restantes da variável, usando os mesmos testes de significância global delineados previamente. Como esta estratégia utilizou múltiplas comparações para chegar a uma conclusão final, foi usada a correção de Bonferroni para comparações múltiplas, que consiste no ajuste do nível de significância dos testes em função do número de comparações realizado simultaneamente no conjunto de dados. O nível de significância ajustado de cada teste é calculado dividindo-se o erro tipo I global escolhido (i.e., α) pelo número de testes a ser realizado. Numa segunda etapa, identificaram-se as caselas responsáveis pela significância global através da análise de resíduos ajustados (d_{ij}). Os resíduos ajustados podem ser entendidos como a distância que separa cada valor observado do correspondente valor esperado, sob a hipótese nula (H_0) de inexistência de associação entre as variáveis. Em tabelas de contingência, os resíduos ajustados de cada casela são calculados pela função:

$$d_{ij} = (O_{ij} - E_{ij}) / \sqrt{[E_{ij} (1 - n_i / N) (1 - n_j / N)]},$$

onde

O_{ij} é o valor observado da casela, E_{ij} é o valor esperado (sendo H_0 verdadeira), n_i e n_j são os totais marginais, e N é o número total de observações.

Sob H_0 , a distribuição de d_{ij} é aproximada por uma distribuição $N(0, 1)$. Portanto, valores maiores que +1,96 ou menores que -1,96 indicam que, ao nível de significância $\alpha = 0,05$, existe evidência para concluir que o valor observado é significativamente maior ou menor, respectivamente, que o valor esperado, se de fato não existisse associação entre as variáveis estudadas.

A associação entre o subtipo viral e o perfil de resistência aos anti-retrovirais foi avaliada em tabelas de contingência $r \times c$ ($r = 2$, $c = 3$), sendo r as categorias da variável de exposição (i.e., o subtipo viral) e c as categorias da variável desfecho (i.e., o perfil de sensibilidade). Neste caso, a identificação da(s) casela(s) responsável(is) pela significância estatística global também foi feita pela análise de resíduos ajustados.

A análise comparativa do perfil de sensibilidade conjunta dos vírus ao DRV+r, FPV+r, LPV-r e TPV+r foi realizada através do teste de simetria de McNemar-Bowker. O teste de McNemar-Bowker é uma extensão do teste de McNemar para tabelas de contingência de dimensão $k \times k$ ($k > 2$), sendo apropriado para comparação de proporções em amostras relacionadas (ou dependentes). O teste de McNemar-Bowker testa a simetria na distribuição das observações em torno da diagonal principal em uma tabela de contingência de desenho pareado, no caso específico, a proporção de sensibilidade plena, resistência intermediária ou resistência total do vírus a cada IP, em relação a um outro IP estudado. Como esta análise envolveu múltiplas comparações (seis), o nível de significância de cada comparação foi ajustado usando-se a correção de Bonferroni (ver antes nesta seção). O teste de McNemar-Bowker testa $H_0: p_{ij} = p_{ji}$ para todos os pares (i, j) fora da diagonal principal *versus* a hipótese alternativa (H_1): $p_{ij} \neq p_{ji}$ em pelo menos um par (i, j) , onde p_{ij} denota a probabilidade populacional (desconhecida) da casela na linha i e coluna j . É, portanto, um teste de significância global. Sob H_0 , o valor p associado ao teste de McNemar-Bowker pode ser aproximado por uma distribuição χ^2 ; entretanto, desde que o comportamento desta aproximação pode não ser satisfatório na presença de dados esparsos, também foram fornecidos valores p exatos. A identificação do(s) par(es) (i, j) responsável(is) pela significância do teste de McNemar-Bowker foi feita pela contribuição (ou partição) de cada par para a estatística χ^2 global.

Dados contínuos foram comparados através dos testes U de Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis no caso de amostras independentes, ou pelos testes de Wilcoxon e Friedman no caso de amostras relacionadas. Quando apropriado, os níveis de significância foram ajustados para comparações múltiplas pelo método de Bonferroni.

Para todos os testes globais, o nível de significância estatística foi estabelecido em 0,05 bilateral. Para a análise estatística, foram usados os aplicativos SPSS (versão 15.0, SPSS Inc., Chicago, IL) e Stata (versão 9, StataCorp LP, College Station, TX) para Windows.

5. RESULTADOS

5.1 Dados Gerais

Analisou-se o primeiro exame de genotipagem de 243 pacientes que preencheram os critérios previamente expostos. A maioria dos pacientes, 140 (57,6%), nasceu no interior de Minas Gerais, invertendo-se a relação quanto à procedência, ou residência atual, com predomínio de Belo Horizonte, com 146 (60,1%) casos, sobre o interior do estado. A média de idade, na ocasião da realização do exame de genotipagem, foi de 39,9 anos (desvio-padrão de $\pm 10,4$), coincidente com a mediana de 39 anos (P25=34, P75=46). Houve predomínio do sexo masculino na amostra, com 168 (69,5%) dos casos analisados levando a relação de 2,2 : 1 entre homens e mulheres.

5.2 Perfil de uso dos anti-retrovirais

Entre os 243 pacientes analisados, a mediana do número de ARV utilizados entre todas as classes, antes da realização da genotipagem, foi de 5 (P25 = 3, P75 = 7), próximo da média de 5,29 (dp $\pm 1,88$). Considerando-se o uso de ARV de acordo com as 3 classes disponíveis na época, observou-se para os ITRN, mediana de 3 (P25 = 2, P75 = 4), com média de 3,17 (dp $\pm 0,98$); para os ITRNN mediana de 1 (P25 = 0, P75 = 1) e média de 0,65 (dp $\pm 0,61$); e finalmente para os IP mediana de 1 (P25 = 1, P75 = 2) com média de 1,47 (dp $\pm 1,09$).

A tabela 4 expressa o perfil de uso dos antiretrovirovirais até a realização da primeira genotipagem, através do número absoluto e percentual de pacientes que utilizaram cada ARV, bem como a mediana de uso em meses para cada droga, entre os 243 pacientes. São ainda apresentadas as freqüências de uso de algumas modalidades de TARV que possivelmente podem exercer maior pressão seletiva para emergência de mutações. O gráfico 5 apresenta os dados da tabela 4.

Apenas 16 (6,6%) deles foram submetidos à monoterapia, em geral com AZT. Já para terapia dupla, foi observado maior freqüência de uso, 95 (39,1%), sempre com dois ITRN, em geral AZT e DDI.

Tabela 4. Frequência e mediana de uso em meses dos anti-retrovirais antes da Genotipagem, entre 2002 a 2006.

Classe de ARV	ARV	N	%	Mediana de Uso em meses	P25	P75
	Monoterapia	16	6,6	18	9,25	24,75
	Terapia dupla	95	39,1	19	9	31
	ITRNN	150	61,7	28	13	47
	IP sem RTV	176	72,4	34	20,25	55,5
ITRN						
	AZT	235	96,7	46	24	69
	3TC	227	93,4	46	26	63
	DDI	148	60,9	25	12	41,75
	D4T	134	55,1	34	15,75	51,25
	DDC	28	11,5	21	8,25	43,75
	TDF	9	3,7	11	10	16,5
	ABC	1	0,4	8	8	8
	FTC	0	0	0	0	0
ITRNN						
	EFZ	118	48,6	24	12	43,5
	NVP	52	21,4	22	12,25	39,75
	DLV	0	0	0	0	0
IP						
	NFV	110	45,3	28	15	49,25
	IDV	77	31,7	25	13,5	40,5
	SQV-r	56	23	20	6,5	34,5
	RTV	49	20,2	20	6	31,5
	IDV-r	43	17,7	24	15	33
	LPV-r	38	15,6	16,5	9,5	29,5
	SQV	11	4,5	11	7	13
	ATV	4	1,6	9,5	5	16,25
	ATV-r	3	1,2	14	11	25
	FPV-r	3	1,2	27	6	74
	FPV	0	0	0	0	0

ARV- antiretrovirais; **N / %**- número absoluto e percentual de pacientes que usaram o ARV em algum esquema entre os 243 da amostra; **mediana**- expressa em meses (utilizada como medida de tendência central pois não houve distribuição normal para as variáveis apresentadas); **P25-P75** - percentis 25 e 75; **ITRN**- inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos; **ITRNN**- inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeo; **IP**- inibidores da protease, discriminados de acordo com reforço ou não de ritonavir.

Digno de nota que 176 pacientes (72,4%) utilizaram algum inibidor da protease sem a associação com ritonavir (em dose baixa para potencializar a ação dos IP), com mediana de uso de 39 meses. Para os IP mais recentes, SQV, LPV-r, ATV e FPV a frequência da combinação com ritonavir foi maior que o uso do mesmo IP sem reforço. Mais da metade dos pacientes utilizaram pelo menos um ITRNN em

algum momento da TARV, com mediana de uso de 28 meses. Para as drogas individualmente, destacam-se o uso do AZT e 3TC, entre os ITRN, por 96,7% e 93,4% dos pacientes, com a maior mediana de uso entre todos os ARV: 46 meses para ambos. Nota-se que alguns ARV, apesar do uso pouco freqüente na amostra, como ATV, FPV e TDF, tiveram considerável tempo de uso.

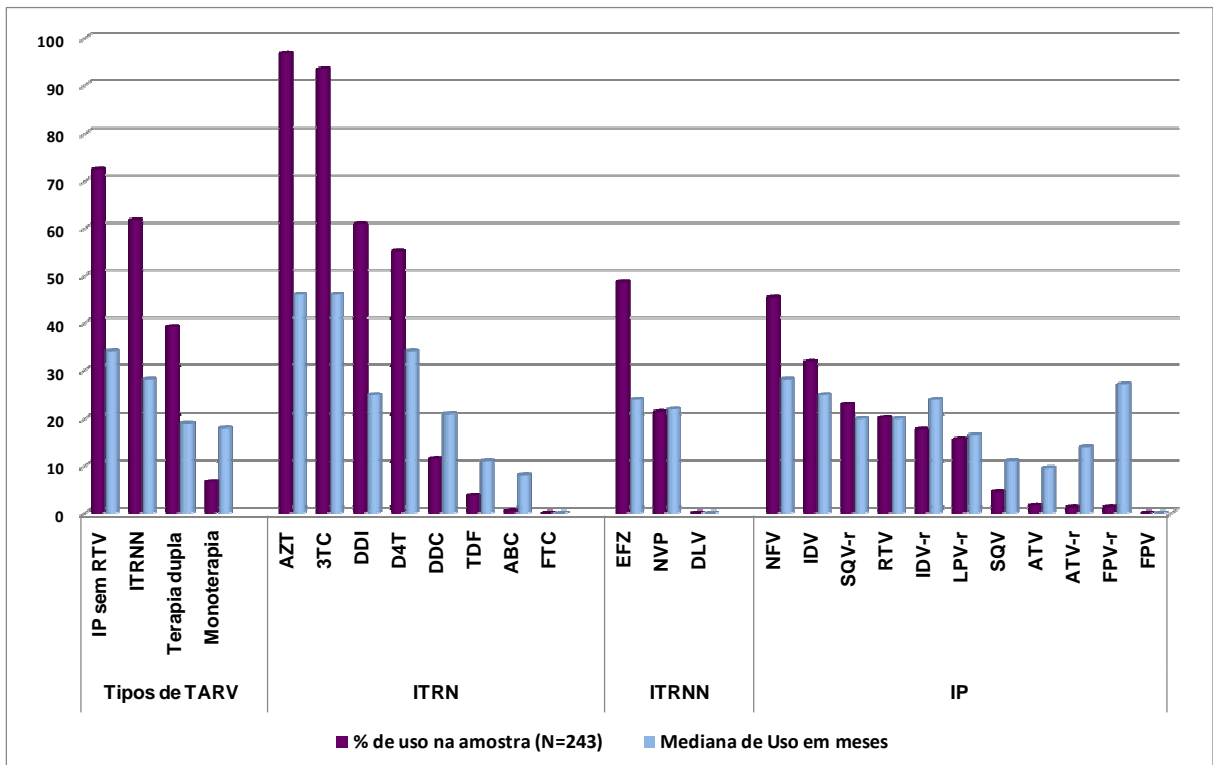


Gráfico 5. Frequência e mediana de uso em meses dos anti-retrovirais antes da genotipagem, entre 2002 a 2006.

5.3 Evolução Imunoviológica

A tabela 5 apresenta as comparações entre as medianas de LTCD4 e CV em momentos temporais distintos através do teste de Wilcoxon, além de apresentar os percentuais de pacientes com LTCD4 > 200 células/mm³ e CV < 400 cópias/mL em diversos momentos comparados pelo teste de Mcnemar. A mediana do nadir de LTCD4 (dado laboratorial considerado antes da primeira TARV) foi 97 células/mm³. Durante as TARV iniciais houve significativo ganho de LTCD4 com elevação da mediana de 97 para 326 células/mm³ (p<0,001). A mediana de LTCD4 caiu ao longo da TARV em falha, que motivou o exame de genotipagem, de 326 para 226

células/mm³. Na comparação entre o último exame de LTCD4 antes e aos 6 (± 3) e 12 (± 3) meses após o exame de genotipagem, observou-se ganho progressivo de LTCD4, quando os pacientes já utilizavam a terapia de resgate, sendo estatisticamente significativo na comparação com o 12º mês ($p < 0,001$). Todavia, em nenhum desses dois momentos analisados, houve recuperação dos níveis imunológicos medianos mais altos (326 células/mm³) atingidos em algum momento da TARV prévia à genotipagem ($p < 0,001$).

Na avaliação das CV, apenas 24,8% dos pacientes atingiram níveis menores que 400 cópias/mL em algum momento da TARV antes da genotipagem. Chama a atenção que cerca de 12 meses após o exame genotípico, 38,2% dos pacientes atingiram a meta de carga viral indetectável (< 400 cópias/mL) contra os mencionados 24,8% dos pacientes por ocasião do tratamento prévio à genotipagem ($p = 0,034$). Na comparação de medianas de CV observou-se que aos 6 e 12 meses após o exame genotípico, houve ganho significativo no controle da multiplicação viral quando comparado à última CV antes da genotipagem ($p < 0,001$). Já entre as medianas de CV mais baixa antes da genotipagem e CV aos 6 e 12 meses após genotipagem, não houve superioridade para o esquema de resgate; ao contrário, houve significância estatística para melhor controle virológico no esquema prévio à genotipagem em relação ao 6º mês após o resgate ($p < 0,001$), mas não houve diferença na comparação com o 12º mês ($p = 0,841$).

Tabela 5. Evolução temporal dos exames de CV e LTCD4 antes e após a genotipagem e comparação das medianas, no período de 2002-2006.

Categoria do exame		Mediana (P25 - P75)	p ^a	p global ^b	% CD4 > 200	% CV < 400
LTCD4+						
(células / mm ³)	Nadir	97 (47 - 194)	< 0,001	<0,001	22,9	
	Mais alto em tarv	326 (220 - 443)			77,2	
	Mais alto em tarv	326 (220 - 443)	< 0,001		77,2	
	6m tarv-pg	233 (128 - 330)			61,1	
	Mais alto em tarv	326 (220 - 443)	< 0,001		77,2	
	12m tarv-pg	259 (118 - 412)			59,1	
	Último em tarv	226 (128 - 334)	0,152		56,8	
	6m tarv-pg	233 (128 - 330)			61,1	
Último em tarv	226 (128 - 334)	0,001	56,8			
12m tarv-pg	259 (118 - 412)		59,1			
Carga Viral						
(Log ₁₀ cópias/mL)	Mais baixa em tarv	3,58 (2,59 - 4,2)	< 0,001	<0,001		24,8
	6m tarv-pg	4,13 (2,88 - 4,76)			22,9	
	Mais baixa em tarv	3,58 (2,59 - 4,2)	0,841			24,8
	12m tarv-pg	3,75 (1,69 - 4,41)			38,2	
	Última em tarv	4,38 (4 - 4,77)	< 0,001			-
	6m tarv-pg	4,13 (2,88 - 4,76)			22,9	
	Última em tarv	4,38 (4 - 4,77)	< 0,001			-
	12m tarv-pg	3,75 (1,69 - 4,41)			38,2	

LTCD4 - contagem de Linfócitos-TCD4+ em valores absolutos (células/mm³) ; **CV** - Carga Viral do HIV-1 em log₁₀ cópias/mL; **Nadir** - valor informado de LTCD4 mais baixo pré-tratamento; **tarv**- terapia antiretroviral pré-genotipagem; **tarv-pg** - terapia antiretroviral aos 6 e 12 meses após realizada genotipagem; **% CD4 > 200** - percentual de pacientes que apresentavam, em cada ocasião, valor de LTCD4 maior que 200 células/mm³ ; **% CV < 400** - percentual de pacientes com carga viral menor que 400 cópias/mL ou 2,6 log₁₀ cópias/mL ; **a**- teste de Wilcoxon referente à comparação das medianas individualmente; **b**- teste de Friedman referente à comparação global das medianas; A correção do nível de significância pelo método de **Bonferroni** para as comparações múltiplas foi: p = 0,05/4=0,012.

5.4 Prevalência de mutações de resistência e subtipos do HIV-1

As mutações de resistência aos ARV serão apresentadas de acordo com a classe de medicamentos a qual promovem impacto. Em cada uma delas foi feita a comparação das prevalências das mutações entre os o subtipos do HIV-1 (B e não-B). O subtipo B foi identificado em 184 (75,7%) dos casos e o “subtipo não-B” em 56 (23%); em 3 casos (1,3%) não foi possível determinar-se o subtipo viral através da arquivo em extensão *.fasta* do seqüenciamento genético, no algoritmo da RENAGENO. No grupo do “subtipo não-B” foram observados 35 casos (14,4%) do subtipo F1, 20 (8,2%) do recombinante BF1 e 1 caso (0,4%) do subtipo A1, como ilustra a figura 10.

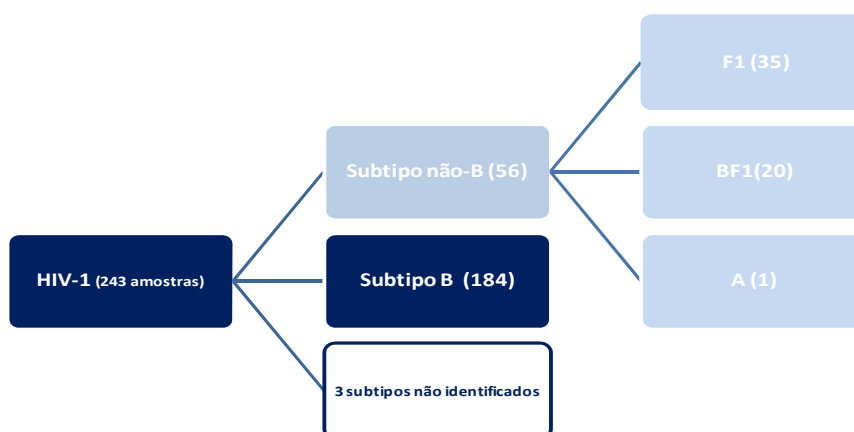


Figura 10. Distribuição dos subtipos do HIV-1 em números absolutos, em 243 sequências analisadas.

A distribuição temporal dos subtipos está expressa na tabela 6. Houve, ao longo dos anos, aumento do subtipo F1, bem como do recombinante BF1, mas a diferenças entre os subtipos, sem agrupá-los na categoria não-B, ao longo dos anos não foi estatisticamente significativa. Não foi observado nenhum caso do subtipo C neste estudo.

Tabela 6. Distribuição Temporal dos Subtipos do HIV-1, entre 2005 - 2006 no CTR-DIP Orestes Diniz

Subtipos HIV-1	Anos					Total ^g	p
	2002	2003	2004	2005	2006		
	N (%) ^a						
	(%) ^b						
B	20 (10,9) (90,9)	31 (16,8) (88,6)	50 (27,2) (76,9)	49 (26,6) (73,1)	34 (18,5) (66,7)	184 (100) (76,7)	0,072 ^d
não-B ^c	2 (3,6) (9,1)	4 (7,1) (11,4)	15 (26,8) (23,1)	18 (32,1) (26,9)	17 (30,4) (33,3)	56 (100) (23,3)	
F1	0	4 (11,4) (11,4)	9 (25,7) (13,8)	11 (31,4) (16,4)	11(31,4) (21,6)	35 (100) (14,6)	0,135 ^e
BF	2 (10) (9,1)	0	5 (25) (7,7)	7 (35) (10,4)	6 (30) (11,8)	20 (100) (8,3)	
A	0	0	1 (100) (1,5)	0	0	1 (100) (0,4)	
Total^f	22 (9,2)	35 (14,6)	67 (27,1)	65 (27,9)	51 (21,3)	240 (100) (100)	

N- número absoluto de casos para um dado subtipo em cada ano; a- % da linha, referente a cada subtipo em relação a sua soma em todos os anos; b- % da coluna, referente ao total de genotipagens para cada ano; c- subtipo "não-B" representa a soma dos subtipos A+BF+F expressos separadamente nas linhas inferiores; d- qui-quadrado de Pearson; e- teste exato de Fisher; f- este total refere-se a soma entre os subtipos analisados separadamente ou somando-se subtipo B com a categoria "não-B"; g- este total refere-se a soma de cada subtipo nos anos 2002-2006.

O gráfico 6 mostra a evolução temporal da prevalência dos subtipos B e não-B entre janeiro de 2002 e dezembro de 2006. Foi realizado o teste qui-quadrado de tendência linear com extensão de Mantel, que se mostrou estatisticamente

significativo ($p = 0,004$). Isto mostra que a tendência da crescente proporção dos subtipos não-B é um fenômeno consistente ao longo dos anos.

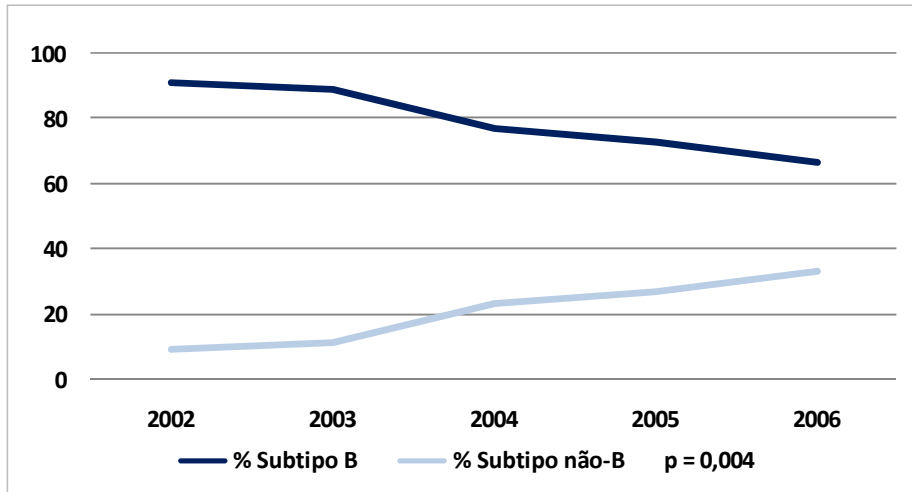


Gráfico 6. Evolução temporal da prevalência dos subtipos b e não-B do HIV-1 entre 2002 e 2006

5.4.1 Mutações de resistência aos ITRN

Entre as mutações aos ITRN a mutação do códon 184 foi a mais prevalente, não só da classe como entre todas as analisadas, seguida pelas importantes TAM 215FY, 41L, 67N e 210W. A prevalência da mutação do complexo 151M, relacionado à multirresistência na classe, foi de: 3,3% e ocorreu exclusivamente no subtipo B, e em apenas um único caso (0,4%) detectou-se a inserção no códon 69 (69ins). A presença da NAM 118I em 28,8% dos casos também foi significativa; apesar de não figurar mais entre as mutações principais.

O gráfico 7 apresenta a prevalência das mutações para ITRN em relação ao total das 243 seqüências analisadas. Conforme apresentação habitual dos painéis de resistência viral, as mutações foram agrupadas em TAM, algumas relacionadas à multirresistência e as NAM com outras menos importantes e destaque para a 184VI por ser a mais prevalente.

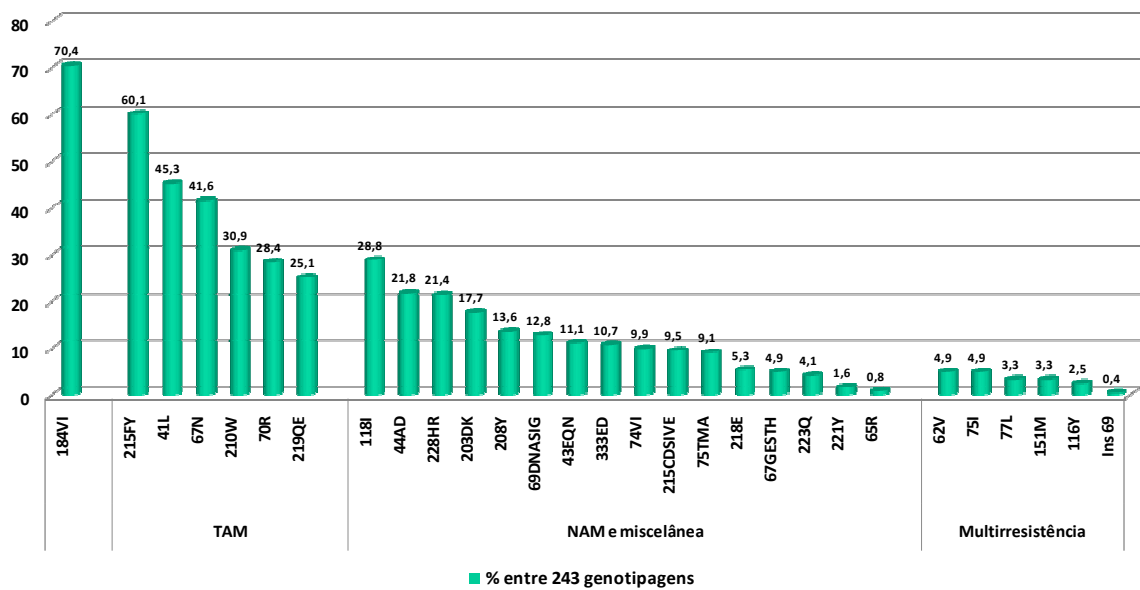


Gráfico 7. Prevalência das mutações para ITRN entre as 243 seqüências do gene *pol*

A tabela 7 apresenta a prevalência das mutações para ITRN de acordo com os subtipos B e não-B do HIV-1. Para os casos em que houve diferença significativa da prevalência foi calculado a razão das chances (Odds Ratio - OR), considerando-se o subtipo B como fator de “exposição” e a presença de cada mutação como o evento, para um intervalo de confiança de 95% (IC95%). O valor da OR reflete a magnitude da associação, positiva ou negativa, da presença da mutação com o subtipo B a partir de uma análise univariada. Nos casos de $OR < 1$, associação negativa, subentende-se que haja associação positiva da presença da mutação com o “subtipo não-B”. A tabela completa, com os valores absolutos e percentuais (das linhas e colunas das tabelas de contingência) da presença e ausência de cada mutação entre os subtipos encontra-se no anexo 4.

Tabela 7. Prevalência das mutações para ITRN entre os Subtipos B e não B do HIV-1, no período de 2002-2006.

Mutação	N	Subtipo Não-B (56)		Subtipo B (184)		p	OR	IC 95%
		n	%	n	%			
184VI	168	39	69,6	129	70,1	0,947 ^a		
215FY	140	34	60,7	106	57,6	0,758 ^a		
41L	108	23	41,1	85	46,2	0,5 ^a		
67N	98	20	35,7	78	42,4	0,373 ^a		
210W	74	13	23,2	61	33,2	0,159 ^a		
118I	69	10	17,9	59	32,1	0,04 ^a	2,17	1,03 - 4,60
70R	66	14	25,0	52	28,3	0,632 ^a		
219QE	58	15	26,8	43	23,4	0,601 ^a		
44AD	53	7	12,5	46	25,0	0,048 ^a	2,33	0,99 - 5,51
228HR	49	16	28,6	33	17,9	0,084 ^a	0,55	0,27 - 1,09
203DK	43	16	28,6	27	14,7	0,018 ^a	0,43	0,21 - 0,87
208Y	33	7	12,5	26	14,1	0,756 ^a		
69DNASIG	29	5	8,9	24	13,0	0,408 ^a		
43EQN	27	2	3,6	25	13,6	0,038 ^a	4,25	1,00 - 38,01*
215CDSIVE	23	4	7,1	19	10,3	0,479 ^b		
75TMALS	21	1	1,8	20	10,9	0,033 ^b	6,71	1,02 - 282,9*
74VI	22	6	10,7	16	8,7	0,647 ^b		
218E	12	2	3,6	10	5,4	0,737 ^b		
62V	12	1	1,8	11	6,0	0,304 ^b		
67GESTH	12	2	3,6	10	5,4	0,737 ^b		
75I	12	1	1,8	11	6,0	0,304 ^b		
223Q	10	3	5,4	7	3,8	0,702 ^b		
77L	8	0	0,0	8	4,3	0,204 ^b		
151M	8	0	0,0	8	4,3	0,204 ^b		
116Y	6	0	0,0	6	3,3	0,341 ^b		
221Y	4	3	5,4	1	0,5	0,041 ^b	0,1	0,01 - 1,24*
65R	2	0	0,0	2	1,1	1 ^b		
Ins69	1	0	0,0	1	0,5	1 ^b		

N- número total de casos com a mutação; n- número absoluto da mutação de acordo com subtipo; %- prevalência da mutação no total de cada subtipo; **subtipo não-B** - subtipos do HIV-1 diferentes do B incluindo A1/F1/BF. **ITRN** - inibidor da transcriptase reversa análogo de nucleosídeos; **a**- teste qui-quadrado; **b**- teste exato de Fisher; **OR** - razão das chances a partir do subtipo B ("exposição"), **IC95%** - intervalo de confiança (assintótico ou exato*).

Observa-se que nos casos em que houve diferença estatisticamente significativa entre os subtipos, ser do subtipo B mostrou associação negativa em alguns casos (203DK e 221Y) e associação positiva em outros (118I, 44AD, 43EQN e 75TMA) para presença da mutação, apesar de alguns dos intervalos de confiança terem passado pela unidade. O gráfico 8 apresenta a prevalência de cada mutação

dentro das categorias dos subtipos, B e não-B, permitindo melhor visualização da presença ou não das diferenças avaliadas estatisticamente na tabela 7.

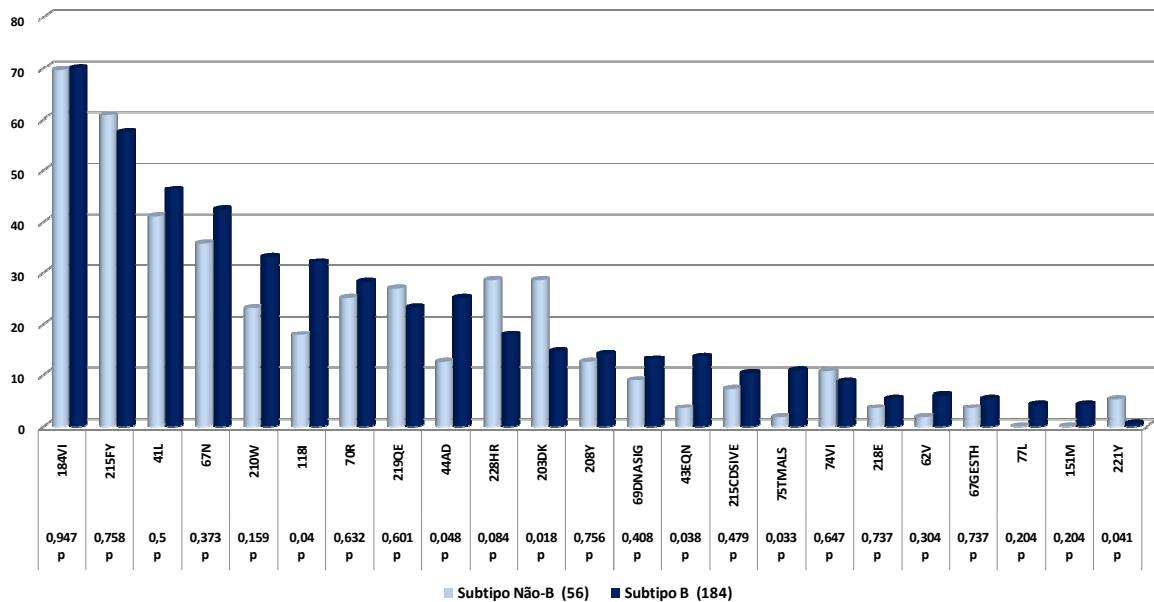


Gráfico 8. Comparação das prevalências das mutações para ITRN de acordo com subtipos B e não-B do HIV-1

Já o gráfico 9 expressa, de acordo com os subtipos do HIV-1, a prevalência de alguns grupos de mutações: NAM exclusivamente, vias mutacionais TAM 1 e TAM 2, bem como os casos em que houve presença de mutações das duas vias TAM na mesma sequência viral (TAM 1+2) e aqueles em que a via TAM1 foi acompanhada pela 67N exclusivamente, entre as mutações da via TAM2. Em nenhuma das comparações houve diferença estatisticamente significativa. Os dados completos dessa análise a partir das tabelas de contingências originais se encontram no anexo 5.

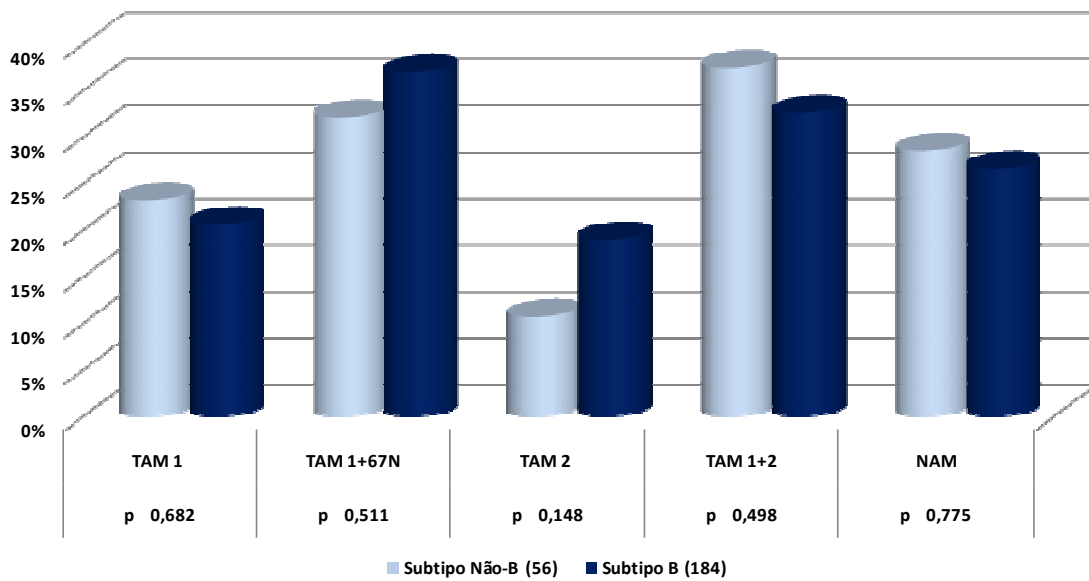


Gráfico 9. Prevalência de grupos ou vias mutacionais para ITRN de acordo com subtipos B e não-B do HIV-1.

Entre os 243 pacientes que tiveram sua primeira genotipagem analisada, 98 deles receberam monoterapia ou terapia dupla em algum momento do histórico de TARV. Na maioria destes casos foram utilizados AZT e DDI e como já exposto na tabela 4, a mediana de uso foi de aproximadamente 20 meses para estas duas categorias de TARV. A seguir, a tabela 8 e o gráfico 10 apresentam uma análise da prevalência das TAM, suas vias mutacionais e do complexo 151M de acordo com o uso de monoterapia e/ou terapia dupla em algum momento, em comparação a pacientes que sempre utilizaram esquemas com 3 ou mais ARV. Com exceção da mutação 70R e da via TAM 2, em todos os casos houve maior frequência das mutações ou vias mutacionais analisadas quando o paciente foi exposto a tratamento com menos de 3 ARV. Em várias das comparações houve diferença estatisticamente significativa e nestas, a razão das chances mostrou sempre uma associação positiva entre exposição à monoterapia/terapia dupla e presença das mutações, com intervalo de confiança de 95%, que não passou pela unidade. Os dados completos das tabelas de contingência originais desta análise estão no anexo 4.

Tabela 8. Prevalência das TAM, suas vias mutacionais e do complexo 151M de acordo com exposição prévia à TARV com < 3 ARV.

Presença de TAM, suas vias mutacionais e complexo 151M de acordo com uso prévio de monoterapia/terapia dupla							
Mutações	Total	Monoterapia ou Terapia dupla ^c		p	Odds Ratio	IC-95%	
		não (145) n (%)	sim (98) n (%)				
41L	não	133	95 (65,5)	38(38,8)	< 0,001 ^a	3	1,71 - 5,29
	sim	110	50(34,5)	60(61,2)			
67N	não	142	90 (62,1)	52 (53,1)	0,162 ^a		
	sim	101	55 (37,9)	46 (46,9)			
70R	não	174	101 (69,7)	73 (74,5)	0,412 ^a		
	sim	69	44 (30,3)	25 (25,5)			
210W	não	168	109 (75,2)	59 (60,2)	0,013 ^a	2	1,11 - 3,61
	sim	75	36 (24,8)	39 (39,8)			
215F	não	206	126 (86,9)	80 (81,6)	0,263 ^a		
	sim	37	19 (13,1)	18 (18,4)			
215Y	não	134	93 (64,1)	41 (41,8)	0,001 ^a	2,49	1,42 - 4,36
	sim	109	52 (35,9)	57 (58,2)			
215FY	não	100	75 (51,7)	25 (25,5)	<0,001 ^a	3,13	1,73 - 5,69
	sim	143	70 (48,3)	73 (74,5)			
219QE	não	182	112 (77,2)	70 (71,4)	0,305 ^a		
	sim	61	33 (22,8)	28 (28,6)			
TAM	não	67	53 (36,6)	14 (14,3)	<0,001 ^a	3,46	1,71 - 7,06
	sim	176	92 (63,4)	84 (85,7)			
TAM1	não	192	120 (82,8)	72 (73,5)	0,081 ^a	1,73	0,89 - 3,38
	sim	51	25 (17,2)	26 (27,5)			
TAM2	não	201	117 (80,7)	84 (85,7)	0,31 ^a		
	sim	42	28 (19,3)	14 (14,3)			
TAM1+2	não	160	106 (73,1)	54 (55,1)	0,004 ^a	2,21	1,24 - 3,95
	sim	83	39 (26,9)	44 (44,9)			
151M	não	235	141 (97,2)	94 (95,9)	0,718 ^b		
	sim	8	4 (2,8)	4 (4,1)			

n (%)- número e prevalência das mutações em cada grupo: uso e não uso da mono/terapia dupla; **TAM**- presença de qualquer uma das mutações aos análogos timidínicos; **TAM 1**- via mutacional 1 das TAM (41L, 210W, 215Y); **TAM 2**- via mutacional 2 das TAM (67N, 70R, 215F, 219QE); **TAM1+2**- presença de mutações das vias 1 e 2 em uma mesma sequência viral; **a**- teste qui-quadrado; **b**- teste exato de Fisher; **c**- geralmente a terapia continha AZT e DDI; **Odds ratio** - razão das chances; **IC95%** - intervalo de confiança.

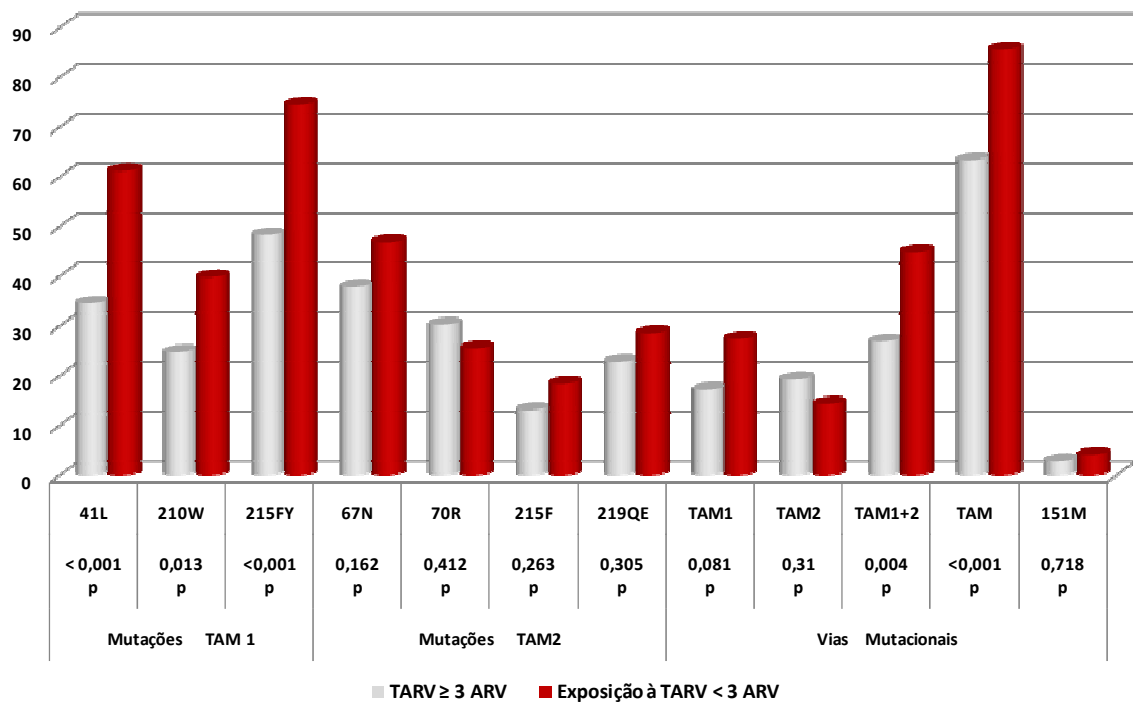


Gráfico 10. Prevalência das TAM, suas vias mutacionais e do complexo 151M de acordo com exposição prévia à TARV com < 3 ARV.

5.4.2 Mutações de resistência aos ITRNN

A prevalência de todas as mutações aos ITRNN em relação às 243 sequências analisadas está expressa no gráfico 11. Para facilitar a localização, as mutações com maior e menor impacto, designadas por maiores e menores (HIRSCH, 2008 e SHAFER, 2008) são apresentadas separadamente nesse gráfico. A mutação K103NS foi destacadamente a mais prevalente entre as maiores. A tabela 9 compara a prevalência das mutações maiores e menores para os ITRNN de acordo com os subtipos B e não-B do HIV-1. Observou-se que a diferença significativa das prevalências entre os subtipos ficou restrita às mutações menores 90I e 135TM. A primeira, com razão das chances de 0,12 (IC95% 0,04 - 0,38), apresentou uma associação negativa com o subtipo B em relação aos não-B, situação que se inverte para a 135TM, que mostra uma associação positiva com o subtipo B do HIV-1 com razão das chances de 5,95 (IC95% 2,76 – 12,85). Os dados completos desta tabela se encontram no anexo 6.

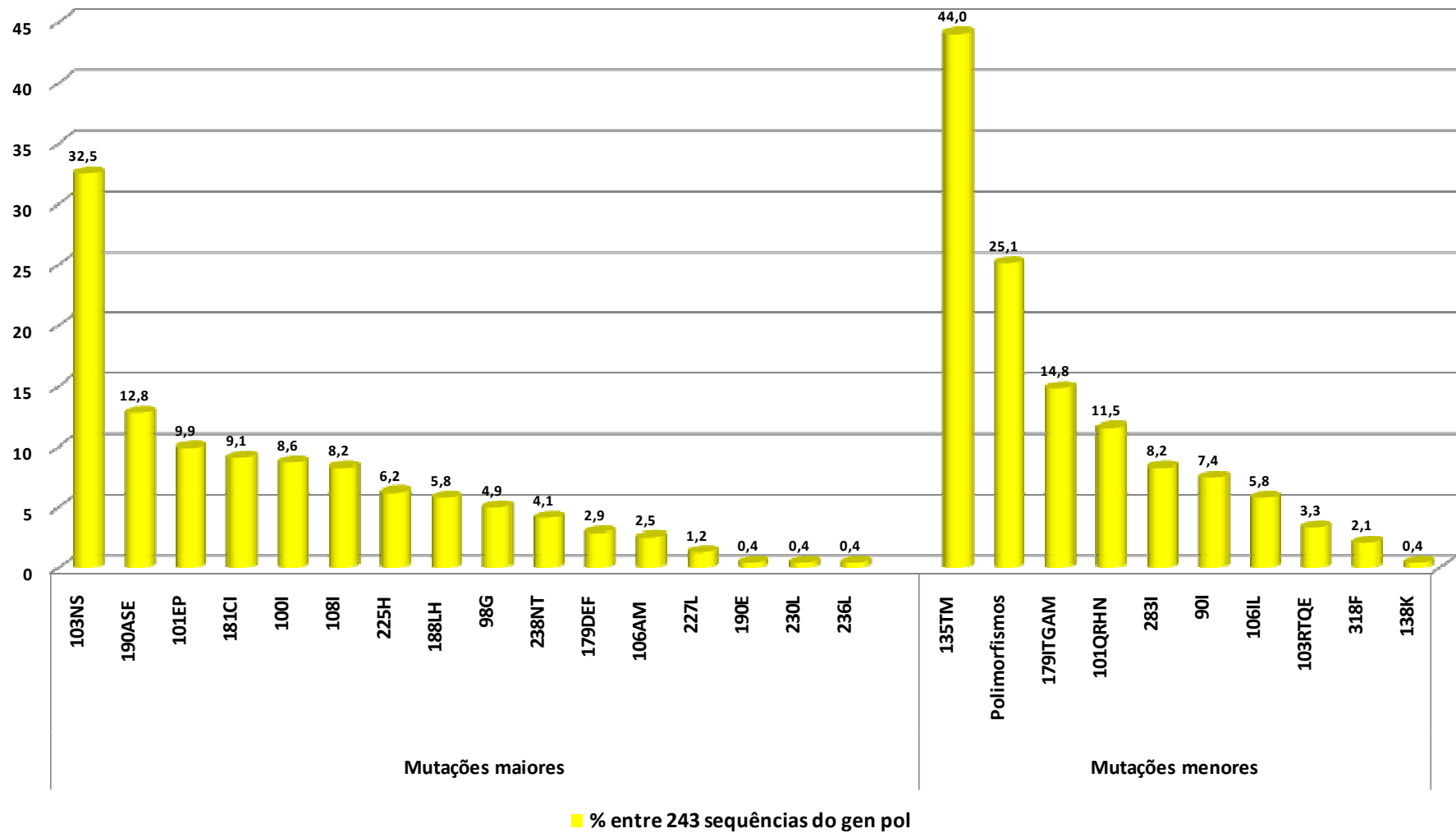


Gráfico 11. Prevalência das mutações maiores e menores para ITRNN em 243 sequências do gene *pol*.

Tabela 9. Prevalência das mutações para ITRNN de acordo com subtipos B e não-B do HIV-1.

Mutação	N	Subtipo Não-B (56)		Subtipo B (184)		p	OR	IC 95%
		n	%	n	%			
Maiores								
103NS	79	19	33,9	60	32,6	0,854 ^a		
190ASE	31	4	7,1	27	14,7	0,141 ^a		
101EP	24	5	8,9	19	10,3	0,76 ^a		
190E	1	0	0,0	1	0,5	1 ^b		
181CI	22	6	10,7	16	8,7	0,647 ^a		
179DEF	7	0	0,0	7	3,8	0,205 ^a		
100I	21	4	7,1	17	9,2	0,79 ^b		
108I	20	7	12,5	13	7,1	0,266 ^b		
225H	15	4	7,1	11	6,0	0,755 ^b		
188LH	14	3	5,4	11	6,0	1 ^b		
98G	12	4	7,1	8	4,3	0,482 ^b		
238NT	10	2	3,6	8	4,3	1 ^b		
106AM	6	1	1,8	5	2,7	1 ^b		
227L	3	1	1,8	2	1,1	0,551 ^b		
230L	1	1	1,8	0	0,0	0,233 ^b		
236L	1	0	0,0	1	0,5	1 ^b		
Menores								
135TM	107	9	16,1	98	53,3	<0,001 ^a	5,95	2,76 - 12,85
179ITGAM	36	6	10,7	30	16,3	0,305 ^a		
101QRHN	28	7	12,5	21	11,4	0,824 ^a		
90I	18	12	21,4	6	3,3	<0,001 ^b	0,12	0,04-0,38*
283I	20	5	8,9	15	8,2	0,788 ^b		
106IL	14	4	7,1	10	5,4	0,744 ^b		
103RTQE	8	0	0,0	8	4,3	0,204 ^b		
318F	5	2	3,6	3	1,6	0,332 ^b		
138K	1	0	0,0	1	0,5	1 ^b		
Polimorfismos	61	12	21,4	49	26,6	0,434 ^b		

N - número absoluto total de casos com a mutação; n- número absoluto de casos com a mutação por subtipo; %- n/ total do subtipo (56 ou 184) ou prevalência das mutações em cada subtipo; **subtipo não-B** - subtipos do HIV-1 diferentes do B incluindo A1/F1/BF. **ITRNN** - inibidor da transcriptase reversa não análogo de nucleosídeos; **a**- teste qui-quadrado; **b**- teste exato de Fisher; **OR** - razão das chances a partir do subtipo B ("exposição"), **IC95%** - intervalo de confiança (assintótico ou exato*).

O gráfico 12 mostra a prevalência das mutações de acordo com o subtipo viral, facilitando a visualização da comparação estatística (valor p). As mutações que

apresentaram prevalência menor que 2% em algum dos subtipos, B ou não-B, foram excluídas da apresentação gráfica.

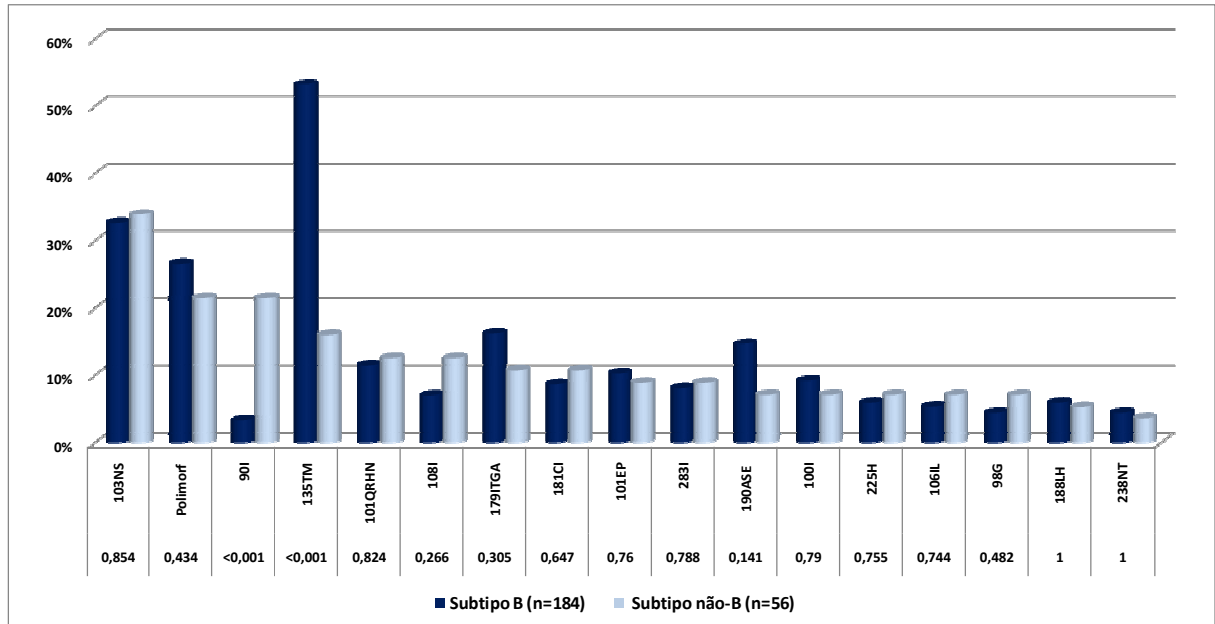


Gráfico 12. Comparação das prevalências das mutações para ITRNN entre os subtipos B e não-B do HIV-1.

5.4.3 Mutações de resistência aos IP

O gráfico 13 apresenta a prevalência de todas as mutações, principais e secundárias, observadas para IP. A mutação 90M foi a mais freqüente dentre as principais da protease viral e também houve considerável prevalência de outras mutações relacionadas ao uso de NFV como 46IL, 30N e 88DS. A mutação do códon 54, capaz de alterar a sensibilidade a todos os inibidores da protease, foi a segunda mais freqüentemente observada entre as mutações principais. Já a mutação do códon 50, típica de IP mais novos, como ATV (50L), DRV, LPV-r e FPV (50V) foi a menos freqüente dentre as mutações principais da protease.

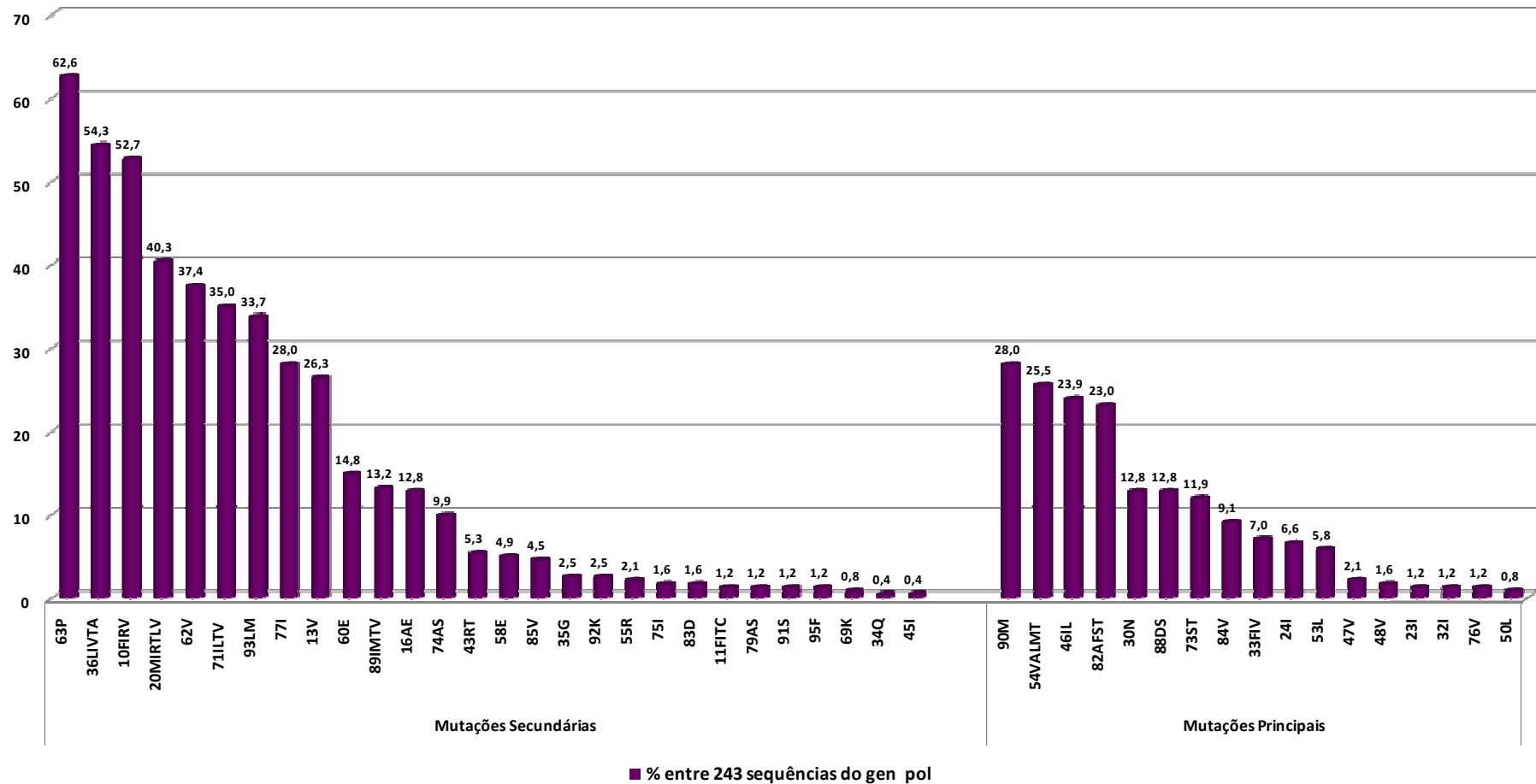


Gráfico 13. Prevalência das mutações principais e secundárias na protease em 243 seqüências do gen *pol*.

As tabelas 10 e 11 apresentam respectivamente a prevalência das mutações principais e secundárias da protease entre os subtipos B e não-B. Para os casos em que houve diferença significativa das prevalências da mutação entre os subtipos, foi calculado a razão das chances (odds ratio), considerando-se o subtipo B como “exposição”, para avaliar associação positiva ou negativa da mutação com os subtipos virais do HIV-1.

Tabela 10. Prevalência das mutações principais da protease entre os subtipos B e não-B do HIV-1.

Mutação	N	Subtipo Não-B (56)		Subtipo B (184)		p	OR	IC 95%
		n	%	n	%			
90M	67	12	21,4	55	29,9	0,216 ^a		
46IL	57	11	19,6	46	25,0	0,409 ^a		
54VTLM	60	15	26,8	45	24,5	0,724 ^a		
82AFST	54	12	21,4	42	22,8	0,826 ^a		
30N	31	8	14,3	23	12,5	0,727 ^a		
73ACTS	29	3	5,4	26	14,1	0,078 ^a	2,91	0,84 - 15,5*
88DS	31	7	12,5	24	13,0	0,915 ^a		
84V	22	1	1,8	21	11,4	0,029 ^a	7,09	1,08 - 298,2*
24I	15	3	5,4	12	6,5	1 ^b		
53L	14	5	8,9	9	4,9	0,326 ^b		
33FI	11	2	3,6	9	4,9	1 ^b		
85V	11	1	1,8	10	5,4	0,465 ^b		
47V	5	0	0,0	5	2,7	0,593 ^b		
55R	5	2	3,6	3	1,6	0,332 ^b		
48V	3	1	1,8	2	1,1	0,551 ^b		
23I	3	0	0,0	3	1,6	1 ^b		
32I	3	0	0,0	3	1,6	1 ^b		
76V	3	1	1,8	2	1,1	0,551 ^b		
50L	2	0	0,0	2	1,1	1 ^b		

N - número absoluto total de casos com a mutação; n- número absoluto de casos com a mutação por subtipo viral; %- n/total do subtipo (56 ou 184) ou prevalência das mutações em cada subtipo; **subtipo não-B** - subtipos do HIV-1 diferentes do B incluindo A1/F1/BF. **IP** - inibidor da protease; **a**- teste qui-quadrado; **b**- teste exato de Fisher; **OR** - razão das chances a partir do subtipo B ("exposição"), **IC95%** - intervalo de confiança (assintótico ou exato*).

Como observado na tabela 10, entre as mutações principais da protease viral, apenas a do códon 84 apresentou diferença significativa estatisticamente entre os subtipos; a razão das chances (OR) foi maior que 1, indicando associação positiva

entre esta mutação e o subtipo B. Entre os demais o códon 73 foi o que mais se aproximou da significância estatística.

Tabela 11. Prevalência das mutações secundárias da protease entre os subtipos B e não-B do HIV-1.

Mutação	N	Subtipo Não-B (56)		Subtipo B (184)		p	OR	IC 95%
		n	%	n	%			
63P	149	14	25,0	135	73,4	<0,001 ^a	8,27	4,16 - 16,4
36ILVTA	131	55	98,2	76	41,3	<0,001 ^a	0,01	0 - 0,08*
10FRVI	126	32	57,1	94	51,1	0,427 ^a		
10FR	15	0	0,0	15	8,2	0,025 ^b	indefinido [†]	?
20MIRTLV	97	38	67,9	59	32,1	<0,001 ^a	0,22	0,12-0,42
62V	91	20	35,7	71	38,6	0,766 ^a		
71ILTV	84	11	19,6	73	39,7	0,007 ^a	2,69	1,31 - 5,54
93LM	81	15	26,8	66	35,9	0,208 ^a		
77I	68	4	7,1	64	34,8	<0,001 ^a	6,93	2,38 - 27,4*
13V	63	14	25,0	49	26,6	0,808 ^a		
60E	36	10	17,9	26	14,1	0,494 ^a		
16AE	31	8	14,3	23	12,5	0,727 ^a		
89IMT	28	18	32,1	10	5,4	<0,001 ^a	0,12	0,05 - 0,28
74AS	24	7	12,5	17	9,2	0,476 ^a		
43RT	13	4	7,1	9	4,9	0,508 ^b		
58E	12	1	1,8	11	6,0	0,304 ^b		
85V	11	1	1,8	10	5,4	0,465 ^b		
35G	6	1	1,8	5	2,7	1 ^b		
92K	6	2	3,6	4	2,2	0,626 ^b		
55R	5	2	3,6	3	1,6	0,332 ^b		
75I	4	0	0,0	4	2,2	0,576 ^b		
83D	4	1	1,8	3	1,6	1 ^b		
89V	4	1	1,8	3	1,6	1 ^b		
11FITC	3	0	0,0	3	1,6	1 ^b		
79AS	3	0	0,0	3	1,6	1 ^b		
91S	3	1	1,8	2	1,1	0,551 ^b		
95F	2	0	0,0	2	1,1	1 ^b		
69K	2	1	1,8	1	0,5	0,413 ^b		
34Q	1	0	0,0	1	0,5	1 ^b		
45I	1	0	0,0	1	0,5	1 ^b		
Polimorfismo	208	55	98,2	153	83,2	0,004^a	0,09	0 - 0,57*

N - número absoluto total de casos com a mutação; n- número absoluto de casos com a mutação por subtipo; %- n/ total do subtipo (56 ou 184) ou prevalência das mutações em cada subtipo; **subtipo não-B** - subtipos do HIV-1 diferentes do B incluindo A1/F1/BF. **IP** - inibidor da protease; **a**- teste qui-quadrado; **b**- teste exato de Fisher; **OR** - razão das chances a partir do subtipo B ("exposição"), **IC95%** - intervalo de confiança (assintótico ou exato*); **†Indefinido**- não foi possível calcular o OR por haver uma das caselas igual a zero.

A tabela 11 mostra que em relação às mutações secundárias da protease houve prevalência de mutações significativamente diferentes entre os subtipos em sete códons: 20MRI, 36I, 89IMT, mais prevalentes entre os subtipos não-B, e 10FR, 63P, 71LTV, 77I, mais comuns no subtipo B. Observou-se elevada prevalência de polimorfismos na protease, sendo 98,2% nos “subtipos não-B” estatisticamente diferente do subtipo B com 83,2% ($p = 0,004$), valor também muito elevado. Os dados completos com todas as caselas das tabelas de contingência originais, se encontram nos anexos 7 e 8.

Os gráficos 14 e 15 apresentam as comparações das prevalências de mutações de acordo com o subtipo viral. As mutações que tiveram prevalência em um dos subtipos (B ou não-B) menor que 2% foram excluídas dos gráficos.

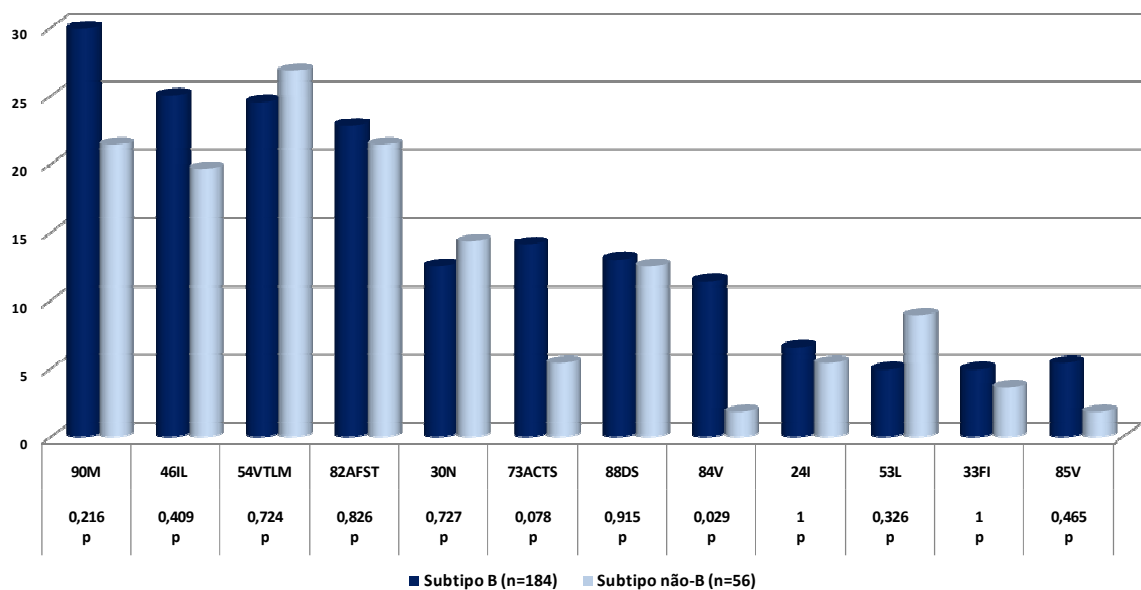


Gráfico 14. Comparação das prevalências de mutações principais na protease viral entre os subtipos B e não-B do HIV-1.

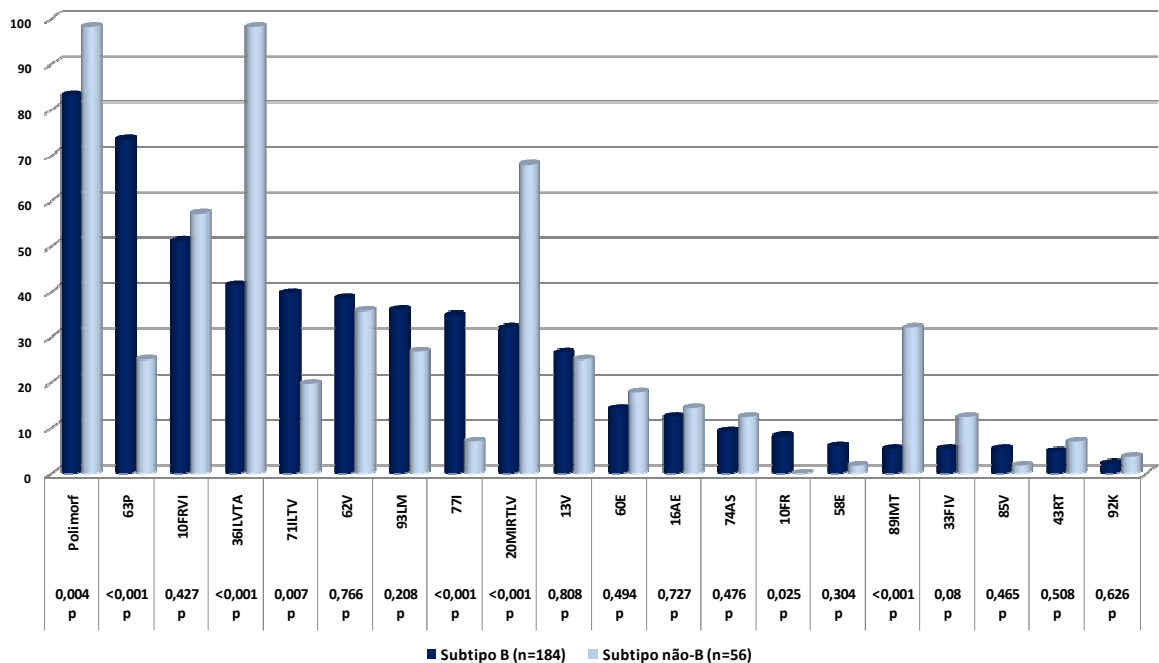


Gráfico 15. Comparação das prevalências de mutações secundárias na protease viral entre os subtipos B e não-B do HIV-1.

5.5 Perfil de resistência aos ARV

Para fins de padronização, na análise de classe, os IP foram considerados quanto ao perfil de resistência já potencializados pelo ritonavir. Como explicitado na seção de definições da metodologia a resistência viral a toda uma classe de drogas foi definida pela ausência de atividade anti-retroviral plena (perfil “S”) de pelo menos uma droga na classe, e multirresistência pela ausência de sensibilidade nas 3 classes de ARV. Esta foi observada em 15 (6,2%) dos casos, enquanto resistência a apenas uma das classes de ARV foi de 37% e a resistência para duas classes quaisquer foi de 25,1%. A presença de resistência a pelo menos duas classes foi de 76 (31,3%) casos, enquanto para pelo menos uma classe foi vista em 166 (68,3%) das genotipagens. Digno de nota que a mediana do número de drogas sem nenhuma atividade anti-retroviral (perfil “R”) foi elevada, 8 (P25 = 4, P75 = 12), ao se considerar todas as 19 drogas em análise (6 ITRN, 4 ITRNN e 9 IP). A tabela 12 mostra uma análise geral do perfil de resistência aos anti-retrovirais analisados.

Tabela 12. Perfil de resistência aos ARV por classe de drogas.

Classe de ARV	N Resistente		N Intermediária		N Sensível		Resistência às Classes ¹	
	média ²	mediana ³	média ²	mediana ³	média ²	mediana ³	N	%
ITRN (06)	3,22 (± 2,29)	3 (1-6)	1,19 (± 1,27)	1 (0-2)	1,64 (± 2,06)	1 (0-3)	98	40,3
ITRNN (04)	1,59 (± 1,44)	2 (0-3)	0,54 (± 0,64)	0 (0-1)	1,85 (± 1,89)	1 (0-4)	113	46,5
IP (09)	3,21 (± 2,88)	2 (0-6)	1,39 (± 1,07)	1 (1-2)	4,41 (± 3,9)	5 (1-8)	46	18,9
Todos ARV ⁴	8,03 (± 4,76)	8 (4-12)	3,19 (± 2,04)	3 (2-4)	7,9 (± 5,15)	8 (4-11)	.	.

N- número de drogas; ITRN- inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos; ITRNN- inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeo; IP- inibidores da protease; **entre () após as classes de antiretrovirais ARV-** o número de drogas em análise para cada classe; 1- resistência às classes de ARV, definida pela ausência de pelo menos 1 droga com atividade antiretroviral plena ("S") na classe; 2- média do número de drogas em cada nível de sensibilidade com desvio-padrão 3- mediana do número de drogas em cada nível de resistência com os respectivos P25 e P75 entre; 4- perfil de resistência considerando-se a soma de drogas das 3 classes de ARV (19 ARVs);

5.5.1 Perfil de Resistência por classe de ARV

As tabelas 13, 14 e 15 apresentam o perfil de resistência às drogas individualmente, em suas respectivas classes de ARV: ITRN, ITRNN e IP. Em cada tabela os ARV são apresentados em ordem decrescente na coluna de resistência total às drogas.

Tabela 13. Perfil de resistência aos ITRN

Droga	Resistente		Intermediária		Sensível	
	N	%	N	%	N	%
3TC	187	77	10	4,1	46	18,9
FTC	175	72	18	7,4	50	20,6
AZT	155	63,8	31	12,8	57	23,5
AZT+3TC	133	54,7	43	17,7	67	27,6
DDI	123	50,6	82	33,7	38	15,6
ABC	107	44	86	35,4	50	20,6
TDF	104	42,8	5	2,1	134	55,1
D4T	98	40,3	73	30	72	29,6
TDF+3TC	28	11,5	75	30,9	140	57,6

N / %- número absoluto/percentual de virus com perfil R-I-S para cada droga entre os 243 da amostra; ITRN - inibidor da transcriptase reversa análogo de nucleosídeo; AZT- zidovudina; D4T- estavudina; 3TC- lamivudina; FTC- entrecitabina; DDI- didanosina; TDF -tenofovir; ABC- abacavir.

Observa-se elevada prevalência de resistência ao 3TC, em 77% dos exames, e um perfil ligeiramente melhor do seu equivalente FTC, não disponível no Brasil. Interessante notar a melhora do perfil de resistência ao AZT quando associado ao

3TC (no contexto de alta prevalência da 184VI), com queda da prevalência de resistência total de 63,8% para 54,7%. Na comparação entre os análogos de timidínicos (AZT e D4T) houve pior perfil de resistência ao AZT. O TDF e o D4T foram semelhantes quanto ao perfil de resistência total, mas houve vantagem do TDF quando se observa a colunas de sensibilidade plena a droga.

Tabela 14. Perfil de resistência aos ITRNN

Droga	Resistente		Intermediária		Sensível	
	N	%	N	%	N	%
NVP	141	58	–	–	102	42
EFV	135	55,6	–	–	108	44,4
DLV	105	43,2	25	10,3	113	46,5
ETR	8	3,3	107	44	128	52,7

N / %- número absoluto/percentual de vírus com perfil R-I-S para cada droga entre os 243 da amostra; **ITRNN** - inibidor da transcriptase reversa não análogo de nucleosídeos; **EFV**- efavirenz; **NVP**- nevirapina; **ETR**- etravirina; **DLV**- delavirdina.

A tabela 14 indica superioridade da etravirina em relação aos demais ITRNN, mas esta vantagem concentra-se em melhorar o perfil de resistência total para intermediária como ilustrado no gráfico16 adiante. Para EFZ e NVP o perfil de resistência se restringiu aos extremos não havendo resistência intermediária para estas drogas.

Tabela 15. Perfil de resistência aos IP.

Droga	Resistente		Intermediária		Sensível	
	N	%	N	%	N	%
NFV	175	72	24	9,9	44	18,1
IDV	148	60,9	24	9,9	71	29,2
SQV	139	57,2	27	11,1	77	31,7
FPV	137	56,4	33	13,6	73	30
RTV	129	53,1	43	17,7	71	29,2
IDV-r	125	51,4	23	9,5	95	39,1
SQV-r	115	47,3	25	10,3	103	42,4
ATZ	110	45,3	19	7,8	114	46,9
ATZ-r	82	33,7	29	11,9	132	54,3
FPV-r	81	33,3	24	9,9	138	56,8
LPV-r	55	22,6	33	13,6	155	63,8
TPV-r	5	2,1	83	34,2	155	63,8
DRV-r	2	0,8	46	18,9	195	80,2

N / % - número absoluto e percentual de casos em relação ao total de genotipagens disponíveis; IP- inibidores da protease; ATV-atazanavir; DRV-darunavir; FPV- fos-amprenavir; LPV- lopinavir; NFV- nelvinavir; RTV- ritonavir em dose terapêutica; SQV- saquinavir; TPV- tipranavir; r- ritonavir em dose de reforço dos IP.

Na tabela 15 observa-se que em apenas 18,1% dos casos houve sensibilidade total ao nelvinavir, o IP mais freqüentemente usado no período em análise. Outro IP de uso freqüente foi o indinavir, geralmente sem associação com ritonavir como exposto na figura 1. De forma esperada, em 60,9% dos casos o IDV aparece com resistência total no laudo da RENAGENO. Os inibidores de protease mais novos e com maior barreira genética, FPV, LPV-r, TPV e DRV, sempre reforçados pelo ritonavir, apresentaram perfil de resistência mais favorável, e serão comparados em seção adiante. O gráfico 16 apresenta o perfil de resistência aos ARV de forma comparativa entre os níveis “sensível”, “intermediário” e “resistente” para cada fármaco. Os ARV estão agrupados por classe de ARV e em ordem crescente de sensibilidade total.

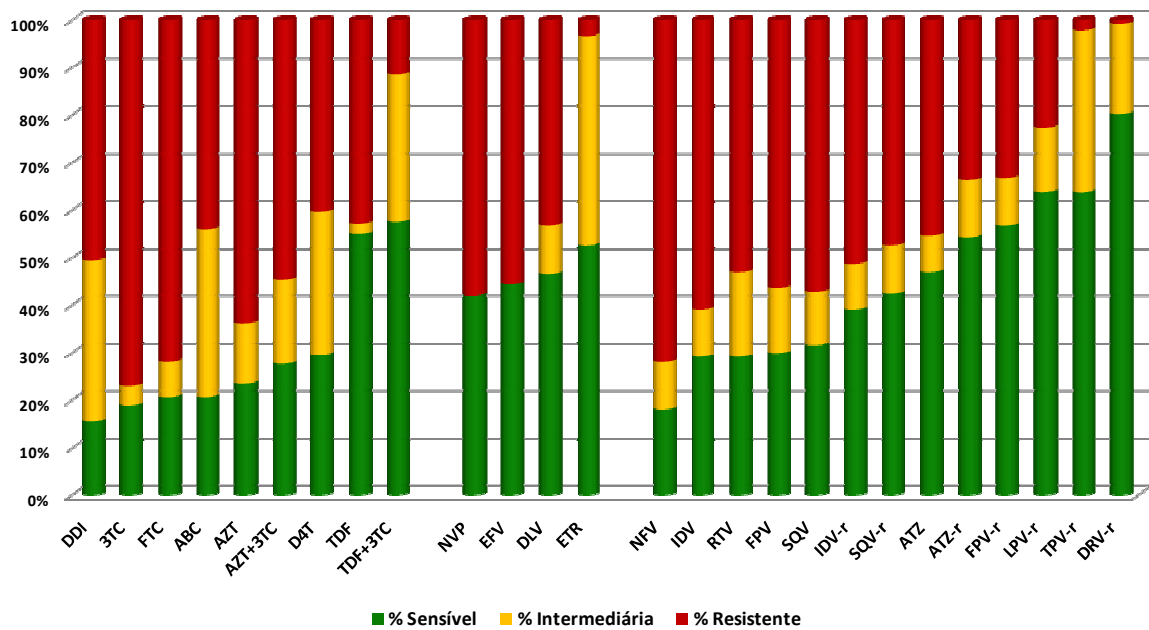


Gráfico 16. Comparação do perfil de resistência dos ARV agrupados por classe farmacológica em relação às 243 sequências avaliadas.

A prevalência da mutação 184VI foi, como esperado, bem elevada na amostra. É bem estabelecido que sua presença leva a grande redução da capacidade replicativa do HIV-1 e aumenta a sensibilidade viral ao D4T, AZT e TDF. No gráfico acima é possível perceber o benefício da associação de 3TC com TDF e com AZT. Interessante também notar, entre os IP, a melhora no perfil de resistência ao se adicionar a dose de reforço do ritonavir. Como esperado a prevalência de resistência ao TPV e DRV foi muito pequena.

5.5.2 Perfil de resistência aos ARV por subtipo viral

A fim de se comparar o impacto das mutações e resistência de acordo com o subtipo do HIV-1 foram utilizadas as duas categorias já expostas: subtipo B e não-B.. Entre os ITRN e ITRNN não houve diferença no perfil de resistência para nenhuma droga da classe de acordo com o subtipo viral, como mostram as tabelas 16 e 17.

Tabela 16. Perfil de resistência aos ITRN de acordo com subtipo viral do HIV-1.

Droga	Subtipo viral	Resistente		Intermediária		Sensível		p
		N	%	N	%	N	%	
AZT	Não-B	35	62,5	5	8,9	16	28,6	0,444 ^a
	B	117	63,6	26	14,1	41	22,3	
D4T	Não-B	21	37,5	18	32,1	17	30,4	0,926 ^a
	B	74	40,2	55	29,9	55	29,9	
3TC	Não-B	42	75	1	1,8	13	23,2	0,439 ^a
	B	142	77,2	9	4,9	33	17,9	
FTC	Não-B	40	71,4	2	3,6	14	25	0,348 ^a
	B	132	71,7	16	8,7	36	19,6	
DDI	Não-B	23	41,1	23	41,1	10	17,9	0,305 ^a
	B	97	52,7	59	32,1	28	15,2	
TDF	Não-B	19	33,9	1	1,8	36	64,3	0,25 ^b
	B	83	45,1	3	1,6	98	53,3	
ABC	Não-B	21	37,5	22	39,3	13	23,2	0,602 ^a
	B	83	45,1	64	34,8	37	20,1	
AZT+3TC	Não-B	33	58,9	7	12,5	16	28,6	0,52 ^a
	B	98	53,3	35	19	51	27,7	
TDF+3TC	Não-B	5	8,9	14	25	37	66,1	0,366 ^a
	B	23	12,5	59	32,1	102	55,4	

N, % - número absoluto e percentual de casos em relação ao total de genotipagens disponíveis; a- teste qui-quadrado; b- teste exato de Fisher; AZT- zidovudina; D4T- estavudina; 3TC- lamivudina; FTC- entrecitabina; DDI- didanosina; TDF-tenofovir; ABC- abacavir; subtipo não-B - subtipos do HIV-1 diferentes do B incluindo A1/F1/BF.

Tabela 17. Perfil de resistência aos ITRNN de acordo com subtipo do HIV-1

Droga	Subtipo viral	Resistente		Intermediária		Sensível		p
		N	%	N	%	N	%	
EFV	Não-B	32	57,1	–	–	24	42,9	0,822 ^a
	B	102	55,4	–	–	82	44,6	
NVP	Não-B	33	58,9	–	–	23	41,1	0,861 ^a
	B	106	57,6	–	–	78	42,4	
ETR	Não-B	2	3,6	26	46,4	28	50	0,912 ^a
	B	6	3,3	80	43,5	98	53,3	
DLV	Não-B	24	42,9	5	8,9	27	48,2	0,924 ^a
	B	81	44	19	10,3	84	45,7	

N / %- número absoluto/percentual de pacientes com perfil R-I-S para cada droga entre os subtipos B e não-B; subtipo não-B - subtipos do HIV-1 diferentes do B incluindo A1/F1/BF. ITRNN - inibidor da transcriptase reversa não análogo de nucleosídeos; EFV- efavirenz; NVP- nevirapina; ETR- etravirina; DLV- delavirdina; a- teste qui-quadrado.

Observou-se contudo, diferença significativa do perfil de resistência por subtipo B e não-B entre alguns IP (FPV, IDV-r, SQV, SQV-r e RTV dose terapêutica) como mostra a tabela 18. Para estes casos foi realizado o cálculo dos resíduos ajustados, indicados pela marcações em azul quando foram significativos, ou seja, maiores que +1,96 ou menores que -1,96. Assim é possível identificar-se entre quais caselas houve maior diferença, responsável pela significância estatística global. O

subtipo B mostrou perfil de resistência melhor para FPV, RTV, SQV com as diferenças mais acentuadas na categoria de sensibilidade total às drogas. Para IDV-r e SQV-r houve melhor perfil de resistência para o “subtipo não-B” com as diferenças concentradas apenas na categoria de resistência intermediária.

Tabela 18. Perfil de resistência aos IP de acordo com subtipo do HIV-1.

Droga	Subtipo	Resistente		Intermediária		Sensível		p
		N	%	N	%	N	%	
ATZ	Não-B	25	44,6	6	10,7	25	44,6	0,665 ^a
	B	83	45,1	13	7,1	88	47,8	
ATZ-r	Não-B	17	30,4	9	16,1	30	53,6	0,557 ^a
	B	63	34,2	20	10,9	101	54,9	
DRV-r	Não-B	0	0	11	19,6	45	80,4	0,909 ^b
	B	2	1,1	33	17,9	149	81	
FPV	Não-B	39	69,6	10	17,9	7	12,5	0,005 ^a
	B	96	52,2	23	12,5	65	35,3	
FPV-r	Não-B	17	30,4	9	16,1	30	53,6	0,224 ^a
	B	62	33,7	15	8,2	107	58,2	
IDV	Não-B	34	60,7	8	14,3	14	25	0,411 ^a
	B	112	60,9	16	8,7	56	30,4	
IDV-r	Não-B	24	42,9	11	19,6	21	37,5	0,012 ^a
	B	99	53,8	12	6,5	73	39,7	
LPV-r	Não-B	13	23,2	6	10,7	37	66,1	0,751 ^a
	B	40	21,7	27	14,7	117	63,6	
NFV	Não-B	43	76,8	6	10,7	7	12,5	0,483 ^a
	B	130	70,7	18	9,8	36	19,6	
RTV	Não-B	31	55,4	15	26,8	10	17,9	0,039 ^a
	B	96	52,2	28	15,2	60	32,6	
SQV	Não-B	34	60,7	11	19,6	11	19,6	0,018 ^a
	B	103	56	16	8,7	65	35,3	
SQV-r	Não-B	22	39,3	12	21,4	22	39,3	0,008 ^a
	B	91	49,5	13	7,1	80	43,5	
TPV-r	Não-B	0	0	16	28,6	40	71,4	0,312 ^b
	B	5	2,7	65	35,3	114	62	

N , % - número absoluto e percentual de casos em relação ao total de genotipagens disponíveis; **a**- teste qui-quadrado; **b**- teste exato de Fisher; **subtipo não-B** - subtipos do HIV-1 diferentes do B incluindo A1/F1/BF; **ATV**- atazanavir; **DRV**- darunavir; **FPV**- fos-amprenavir; **LPV**- lopinavir; **NFV**- nelinavir; **RTV**- ritonavir em dose terapêutica; **SQV**- saquinavir; **TPV**- tipranavir; **r**- ritonavir em dose de reforço dos IP; as marcas d'águas em azul indicam as caselas em que o cálculo dos resíduos ajustados foi significativo (maior que +1,96 ou menor que -1,96).

5.5.3 Perfil de resistência aos ITRN e Vias mutacionais – TAM

Na mesma linha das comparações anteriores, a tabela 19 apresenta a análise do perfil de resistência a cada um dos ITRN de acordo com a via mutacional para timidínicos selecionada (ver seção de definições na metodologia). A análise geral evidencia que há impacto diferenciado entre as 3 vias no perfil de resistência aos ITRN, sempre com significância estatística , p global. Posteriormente, as vias mutacionais foram confrontadas individualmente em análises múltiplas e seqüenciais. O nível de significância, para comparações múltiplas, foi redefinido através do método de Bonferroni para $p < 0,016$ ($0,05/3$).

Observando-se as 3 últimas colunas da tabela 19 é possível identificar entre quais vias mutacionais houve maior diferença no perfil de resistência aos ITRN. Paralelamente realizou-se a análise dos resíduos ajustados para cada casela da tabela (identificados pela marca d'água em azul, quando significativos). Somando-se as informações das análises individuais, com nível de significância redefinido, e a marcação das caselas com resíduos ajustados significativos (maiores que +1,96 ou menores que -1,96) é possível identificar entre quais vias, e em qual nível de resistência (R - I - S), se estabeleceram as maiores diferenças responsáveis pela significância estatística global observada em todas as drogas. Os valores dos resíduos ajustados de cada casela da tabela 19 encontra-se no anexo 8.

Tabela 19. Comparação do perfil de resistência aos ITRN e acordo com as vias mutacionais - TAM.

Droga	Via Mutacional	N	Sensível		Intermediária		Resistente		global p	TAM1x2 p	TAM1x12 p	TAM2x12 p
			n	%	n	%	n	%				
AZT	TAM 1	51	0	0	3	5,9	48	94,1	<0,001 ^a	<0,001 ^a	0,053 ^b	<0,001 ^a
	TAM 2	42	0	0	24	57,1	18	42,9				
	TAM1+2	83	0	0	0	0	83	100				
D4T	TAM 1	51	3	5,9	38	74,5	10	19,6	<0,001 ^b	0,026 ^a	<0,001 ^b	<0,001 ^b
	TAM 2	42	9	21,4	21	50	12	28,6				
	TAM1+2	83	0	0	13	15,7	70	84,3				
3TC	TAM 1	51	2	3,9	3	5,9	46	90,2	0,042 ^b	0,115 ^b	0,902 ^b	0,012 ^b
	TAM 2	42	7	16,7	1	2,4	34	81				
	TAM1+2	83	2	2,4	6	7,2	75	90,4				
FTC	TAM 1	51	1	2	7	13,7	43	84,3	0,005 ^b	0,001 ^b	0,488 ^b	0,01 ^b
	TAM 2	42	8	19	0	0	34	81				
	TAM1+2	83	6	7,2	10	12	67	80,7				
DDI	TAM 1	51	1	2	28	54,9	22	43,1	<0,001 ^b	0,33 ^b	<0,001 ^b	<0,001 ^b
	TAM 2	42	4	9,5	21	50	17	40,5				
	TAM1+2	83	0	0	9	10,8	74	89,2				
TDF	TAM 1	51	28	54,9	0	0	23	45,1	<0,001 ^b	<0,001 ^b	<0,001 ^a	<0,001 ^b
	TAM 2	42	36	85,7	3	7,1	3	7,1				
	TAM1+2	83	10	12	0	0	73	88				
ABC	TAM 1	51	6	11,8	28	54,9	17	33,3	<0,001 ^b	0,037 ^a	<0,001 ^b	0,010 ^a
	TAM 2	42	7	16,7	12	28,6	23	54,8				
	TAM1+2	83	2	2,4	21	25,3	60	72,3				
AZT/3TC	TAM 1	51	3	5,9	7	13,7	41	80,4	<0,001 ^b	<0,001 ^b	0,097 ^b	<0,001 ^b
	TAM 2	42	3	7,1	26	61,9	13	31				
	TAM1+2	83	0	0	10	12	73	88				
TDF/3TC	TAM 1	51	28	54,9	16	31,4	7	13,7	<0,001 ^a	<0,001 ^b	<0,001 ^b	<0,001 ^a
	TAM 2	42	40	95,2	1	2,4	1	2,4				
	TAM1+2	83	11	13,3	54	65,1	18	21,7				

ITRN- Inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos; **N**- número de genotipagens com a via mutacional indicada; **n / %** - número absoluto e percentual de casos, de acordo com perfil de resistência indicado, em relação ao total de genotipagens com a via mutacional da linha correspondente; **TAM1**- via mutacional 1 dos análogos a Timidínicos: 41L, 210W e 215Y; **TAM2**- via mutacional 2 dos análogos a Timidínicos: 67N, 70R, 215F, 219QE; **TAM1+2**- presença de qualquer combinação de mutações das duas vias TAM 1 e 2 aos análogos a Timidínicos: 41L, 215Y, 210W e 67N, 70R, 215F, 219QE; **a**- teste qui-quadrado; **b**- teste exato de Fisher; **AZT**- zidovudina; **D4T**- estavudina; **3TC**- lamivudina; **FTC**- entrecitamina; **DDI**- didanosina; **TDF**- tenofovir; **ABC**- abacavir; **p-global**- em relação ao teste aplicado às 3 vias concomitantemente; **pTAM12**- comparação entre as vias TAM1 e TAM2; **pTAM112**- comparação entre vias TAM1 e TAM1+2; **pTAM212**- comparação entre as vias TAM2 e TAM1+2; **c**- nível de significância para comparações múltiplas de 0,016 calculado pelo método de Bonferroni (0,05/3). As marcas azuis indicam as caselas nas quais a análise de resíduos ajustados apresentou valor significativo, ou seja, maior que +1,96 ou menor que -1,96.

Como exemplo observamos que, para o AZT, houve diferença entre as 3 vias comparadas (p global < 0,001). Nas análises múltiplas observa-se que a comparação individual entre as vias, não se mostrou significativamente diferente apenas entre TAM 1 e TAM 1+2 que nitidamente foram, ambas, mais fortemente relacionadas ao perfil de resistência total quando comparadas de forma individual à TAM 2. A análise de resíduos mostra que tal diferença se concentrou tanto no perfil de resistência intermediária como no de resistência total. É possível inferir assim que

as vias TAM 1 e TAM 1+2 foram significativamente mais relacionadas à resistência ao AZT comparativamente à TAM 2, concentrando-se a diferença nas colunas do perfil de resistência total e intermediária. Em outras palavras a presença de mutações da via TAM 1 parece ser mais fortemente relacionada a resistência ao AZT do que as da via TAM 2.

Para a associação AZT+3TC, com perfil de resistência um pouco melhor, novamente observa-se que as diferenças se concentram nas comparações TAM 1 *versus* TAM 2 e TAM 2 *versus* TAM 1+2. Pela análise de resíduos ajustados parece haver maior impacto da diferença observada nas caselas de resistência intermediária, especificamente pela comparação da via TAM 1, cuja análise de resíduos não foi significativa nas caselas do perfil de resistência total e de sensibilidade total.

Parece evidente que o D4T sofre menor impacto das TAM quando comparado ao AZT. Nas comparações múltiplas, ao se confrontar as vias TAM 1 x TAM 2, não houve diferença significativa. Há maior diferença quando se compara a presença de TAM das duas vias mutacionais juntas (TAM1+2) contra cada via separadamente. Pela análise dos resíduos ajustados observa-se que a diferença entre TAM 1+2 e TAM 2 se concentra no perfil de sensibilidade total enquanto para TAM 1+2 e TAM 1 no perfil de resistência intermediária. Ao se analisar o perfil de resistência total houve diferença nas duas comparações. Em suma, o D4T parece sofrer menor impacto das vias mutacionais TAM 1 e TAM 2 separadamente, sendo necessário a presença de mutações das 2 vias para reduzir sua ação de forma substancial: as da via TAM 1 impactando mais que as da via TAM 2 ao se observar os perfis de sensibilidade total (negativamente mais relacionadas à TAM 1) e intermediária (negativamente mais relacionadas à TAM 2).

5.5.4 Perfil de resistência à ETR e uso de EFZ e NVP

Foi comparado o impacto do uso prévio de efavirenz e/ou nevirapina no perfil de resistência à etravirina. Este foi avaliado tanto nos níveis de resistência viral (sensível, intermediário e resistente) quanto pelo número de mutações (0, 1, 2 ou 3) específicas para a droga (conforme indicadas no estudo DUET e apresentadas na seção de definições da metodologia). Não foi observado nenhum caso com mais de

3 mutações específicas à ETR. As tabelas 20 e 21 mostram o perfil de resistência à ETR nos desfechos acima mencionados, confrontando-se o uso prévio, em qualquer época do tratamento anti-retroviral, de EFZ, NVP ou ambos (em esquemas de TARV distintos naturalmente). Não foi observada diferença estatisticamente significativa no padrão de resistência à ETR, bem como não houve relação do número de mutações, específicas para ETR selecionadas, de acordo com o uso prévio dos ITRNN disponíveis.

Tabela 20. Número de mutações específicas para ETR de acordo com uso prévio dos ITRNN

ITRNN em esquemas prévios	N	Número de mutações para ETR				p ^a	Mediana (P25-P75) ¹	p ^b
		0 n (%)	1 n (%)	2 n (%)	3 n (%)			
EFV	98	42 (42,9)	30 (30,6)	19 (19,4)	7 (7,1)		1 (0-2)	
NVP	32	12 (37,5)	8 (25)	11 (34,4)	1 (3,1)	0,41	1 (0-2)	0,646
EFZ+NVP	20	6 (30)	9 (45)	3 (15)	2 (10)		1 (0-1,75)	

ETR- Etravirina; ITRNN - inibidor da transcriptase reversa não análogo de nucleosídeos; N -número absoluto de pacientes que usaram o ITRNN indicado; n (%) - número absoluto/percentual de pacientes com a quantidade de mutações para ETR indicada; 1- mediana de mutações para ETR e intervalo interquartilico; a- teste exato de Fisher; b- teste de Kruskal-Wallis;

Independentemente do ITRNN usado, o número de mutações para ETR foi pequeno; cerca de 70% das sequências virais analisadas apresentaram 1 ou nenhuma mutação específica para ETR.

Tabela 21. Perfil de resistência da ETR de acordo com uso prévio dos ITRNN

ITRNN em esquemas prévios	N	Resistente	Intermediária	Sensível	p ^a
		n (%)	n (%)	n (%)	
EFV	98	5 (5,1)	68 (69,4)	25 (25,5)	
NVP	32	1 (3,1)	21 (65,6)	10 (31,3)	0,81
EFZ+NVP	20	2 (10)	13 (65)	5 (25)	

ETR- Etravirina; ITRNN - inibidor da transcriptase reversa não análogo de nucleosídeos; N -número absoluto de pacientes que usou o ITRNN indicado; n (%) - número absoluto/percentual de pacientes com o perfil de resistência para ETR indicado; a- teste exato de Fisher.

Como já mencionado, a melhora no perfil de resistência da ETR comparado a EFZ e NVP concentrou-se na categoria de resistência intermediária e isto parece independe do tipo de ITRNN usado previamente. Importante observar que resistência total à ETR esteve presente em pequeno número, mas foi mais freqüente entre os que utilizaram EFZ e NVP (10%), ainda que sem diferença estatisticamente significativa.

Sabe-se que algumas mutações, em especial aquelas relacionadas aos ITRNN, podem “desaparecer” com o tempo (ficam arquivadas em populações virais minoritárias), uma vez que não haja mais a pressão seletiva da droga específica para dada mutação. Assim procedeu-se a mesma análise acima exposta, mas para o uso de EFZ ou NVP restrito ao último esquema TARV, ou seja, mantendo-se a referida pressão seletiva. Os resultados, também sem significância estatística, estão expostos nas tabelas 22 e 23.

Tabela 22. Número de mutações específicas para ETR de acordo com uso de ITRNN no último esquema ARV.

ITRNN no último esquema TARV	N	Número de mutações para ETR				p ^a	Mediana (P25-P75) ¹	p ^b
		0 n (%)	1 n (%)	2 n (%)	3 n (%)			
EFV	90	31 (34,4)	32 (35,6)	20 (22,2)	7 (7,8)	0,57	1 (0-2)	0,929
NVP	32	12 (37,5)	9 (28,1)	11 (31,3)	1 (3,1)		1 (0-2)	

ETR- Etravirina; ITRNN - inibidor da transcriptase reversa não análogo de nucleosídeos; N - número absoluto de pacientes que usou o ITRNN indicado; n (%) - número absoluto/percentual de pacientes com a quantidade de mutações para ETR indicada; 1- mediana de mutações para ETR e intervalo interquartilico; a- teste qui-quadrado; b- teste de Mann-Whitney;

Tabela 23. Perfil de resistência da ETR de acordo com uso de ITRNN no último esquema ARV.

ITRNN no último esquema TARV	N	Resistente	Intermediária	Sensível	p ^a
		n (%)	n (%)	n (%)	
EFV	90	7 (7,8)	67 (74,4)	16 (17,8)	0,154
NVP	32	0 (0)	23 (71,9)	9 (28,1)	

ETR- Etravirina; ITRNN - inibidor da transcriptase reversa não análogo de nucleosídeos; N - número absoluto de pacientes que usou o ITRNN indicado; n (%) - número absoluto/percentual de pacientes com o perfil de resistência para ETR indicado; a- teste Qui-quadrado.

5.5.5 Comparação do perfil de resistência entre os IP com alta barreira genética

Como evidenciado nos itens de perfil de resistência aos ARV, fica claro que os IP com maior barreira genética (DRV-r, FPV-r, LPV-r e TPV-r) tiveram, de acordo com o exame de genotipagem, melhor atividade antiviral para terapia de resgate. A seguir serão apresentadas tabelas onde esses fármacos são comparados, sempre considerando o laudo do IP reforçado com ritonavir, através do teste de simetria de McNemar-Browker. O nível de significância foi corrigido para o total de 6 comparações múltiplas, através do método de Bonferroni ($0,05/6=0,008$).

Em todas as comparações houve diferença estatisticamente significativa, com $p < 0,001$. A análise de contribuição, indicada abaixo de cada tabela por um sistema de letras e cores (S, I, R correspondente ao perfil de resistência), permite identificar entre quais caselas do perfil de resistência houve maior diferença entre as drogas em confronto. As caselas sem preenchimento de cor (diagonal principal das tabelas) correspondem à concordância quantitativa do perfil de resistência entre as drogas em comparação, ou seja, quantas vezes o laudo da RENAGENO (ou adaptado a partir do Stanford) foi igual (S, I ou R) para as duas drogas em comparação. Já as caselas com marca d'água em cores apresentam as diferenças observadas no perfil de resistência para as duas drogas em “espelho”.

Como exemplo, a marca em cinza da tabela 24 apresenta quantas vezes (número de sequências analisadas) houve resistência intermediária ao LPV-r e sensibilidade ao FPV+r, no mesmo laudo das mesmas sequências, comparado ao número de vezes que ocorreu o contrário, sensibilidade ao LPV-r e resistência intermediária ao FPV+r.

Tabela 24. Comparação do perfil de resistência genotípica entre lopinavir e fosamprenavir, com reforço de ritonavir

		LPV-r X FPV-r							
		LPV-r							
		Sensível		Intermediário		Resistente			
		n	%	n	%	n	%	Total	
FPV-r	Sensível	n	135	87,1	3	9,1	0	0	138
		%	97,8		2,2		0		
	Intermediário	n	17	11	6	18,2	1	1,8	24
		%	70,8		25		4,2		
	Resistente	n	3	1,9	24	72,7	54	98,2	81
		%	3,7		29,6		66,7		
Total		155		33		55		243	

n- número absoluto de casos em que as drogas apresentaram concordância no perfil de resistência indicado pelas linhas X colunas; %- número percentual de "n" em relação ao total da categoria S/R/I para para cada droga em comparação; **FPV-** fos-Amprenavir; **LPV-** lopinavir; **r-** ritonavir em dose de reforço aos IP.

Método comparativo: teste de simetria (McNemar-Bowker); Nível de significância (Bonferroni)=0,05/6= 0,008

X² = 33,96 p assintótico < 0,001 p exato < 0,001

Contribuição =	FPV(S)-LPV(I) & FPV(I)-LPV(S) =	9,8
	FPV(S)-LPV(R) & FPV(R)-LPV(S) =	3
	FPV(I)-LPV(R) & FPV(R)-LPV(I) =	21,16

Tabela 25. Comparação do perfil de resistência genotípica entre tipranavir e fosamprenavir, com reforço de ritonavir

		TPV-r X FPV-r							
		TPV-r							
		Sensível		Intermediário		Resistente			
		n	%	n	%	n	%	Total	
FPV-r	Sensível	n	132	85,2	6	7,2	0	0	138
		%	95,7		4,3		0		
	Intermediário	n	15	9,7	8	9,6	1	20	24
		%	62,5		33,3		4,2		
	Resistente	n	8	5,2	69	83,2	4	80	81
		%	9,9		85,2		4,9		
Total		155		83		5		243	

n- número absoluto de casos em que as drogas apresentaram concordância no perfil de resistência indicado pelas linhas X colunas; %- número percentual de "n" em relação ao total da categoria S/R/I para para cada droga em comparação; **FPV-** fos-Amprenavir; **TPV-** tipranavir; **r-** ritonavir em dose de reforço aos IP.

Método comparativo: teste de simetria (McNemar-Bowker); Nível de significância (Bonferroni)=0,05/6= 0,008

X² = 77,91 p assintótico < 0,001 p exato < 0,001

Contribuição =	TPV(S)-FPV(I) & TPV(I)-FPV(S) =	3,86
	TPV(S)-FPV(R) & TPV(R)-FPV(S) =	8
	TPV(I)-FPV(R) & TPV(R)-FPV(I) =	66,06

Tabela 26. Comparação do perfil de resistência genotípica entre darunavir e fosamprenavir, com reforço de ritonavir

		DRV-r X FPV-r							
		DRV-r							
		Sensível		Intermediário		Resistente			
		n	%	n	%	n	%	Total	
FPV-r	Sensível	n	137	70,3	1	2,2	0	0	138
		%	99,3		0,7		0		
	Intermediário	n	23	11,8	1	2,2	0	0	24
		%	95,8		4,2		0		
	Resistente	n	35	17,9	44	95,7	2	100	81
		%	43,2		54,3		2,5		
Total		195		46		2		243	

n - número absoluto de casos em que as drogas apresentaram concordância no perfil de resistência indicado pelas linhas x colunas; % número percentual de "n" em relação ao total da categoria S/R/I para para cada droga em comparação; **DRV-** darunavir; **FPV-** fosamprenavir; r- ritonavir em dose de reforço aos IP.

Método comparativo: teste de simetria (McNemar-Bowker); Nível de significância (Bonferroni)=0,05/6= 0,008

X² = 99,17 p assintótico < 0,001 p exato < 0,001

Contribuição =	DRV(I)-FPV(S) & DRV(S)-FPV(I) =	20,17
	DRV(S)-FPV(R) & DRV(R)-FPV(S) =	35
	DRV(I)-FPV(R) & DRV(R)-FPV(I) =	44

Nessas 3 primeiras tabelas apresentadas (24, 25 e 26) é evidente a inferioridade relativa do perfil de resistência genotípica do fosamprenavir quando comparado ao tipranavir, lopinavir e darunavir. Na comparação entre LPV e FPV fica explícito, pela análise de contribuição, que a diferença observada se concentra mais nas caselas que confrontam o perfil de resistência total e intermediária: o LPV apresenta-se freqüentemente com sensibilidade intermediária quando o FPV tem indicado resistência total. Em seguida, a contribuição pela diferença das drogas se aplica, às caselas que confrontam sensibilidade total e resistência intermediária: quando o FPV se apresenta "I" o LPV muitas vezes mostra-se "S". Já para a comparação dos extremos "R" versus "S" houve pouca diferença, ao contrário do que se pode observar na comparação do FPV com DRV, em que este é freqüentemente "S" mesmo quando o FPV mostra-se "R" no perfil de resistência.

Tabela 27. Comparação do perfil de resistência genotípica entre tipranavir e lopinavir, com reforço de ritonavir

		TPV-r X LPV-r							
		TPV-r							
		Sensível		Intermediário		Resistente			
		n	%	n	%	n	%	Total	
LPV-r	Sensível	n	143	92,3	11	13,3	1	20	155
		%	92,3		7,1		0,6		
	Intermediário	n	12	7,7	21	25,3	0	0	33
		%	36,4		63,6		0		
	Resistente	n	0	0	51	61,4	4	80	55
		%	0		92,7		7,3		
Total		155		83		5		243	

n- número absoluto de casos em que as drogas apresentaram concordância no perfil de resistência indicado pelas linhas x colunas; %- número percentual de "n" em relação ao total da categoria S/R/I para para cada droga em comparação; LPV- lopinavir; TPV- tipranavir; r- ritonavir em dose de reforço aos IP.

Método comparativo: teste de simetria (McNemar-Bowker); Nível de significância (Bonferroni)=0,05/6= 0,008

X² = 52,04 p assintótico < 0,001 p exato < 0,001

Contribuição =	TPV(S)-LPV(I) & TPV(I)-LPV(S) =	0,04
	TPV(S)-LPV(R) & TPV(R)-LPV(S) =	1
	TPV(I)-LPV(R) & TPV(R)-LPV(I) =	51

Tabela 28. Comparação do perfil de resistência genotípica entre darunavir e lopinavir, com reforço de ritonavir

		DRV-r X LPV-r							
		DRV/r							
		Sensível		Intermediário		Resistente			
		n	%	n	%	n	%	Total	
LPV-r	Sensível	n	155	79,5	0	0	0	0	155
		%	100		0		0		
	Intermediário	n	22	11,3	11	23,9	0	0	33
		%	66,7		33,3		0		
	Resistente	n	18	9,2	35	76,1	2	100	55
		%	32,7		63,6		3,6		
Total		195		46		2		243	

n- número absoluto de casos em que as drogas apresentaram concordância no perfil de resistência indicado pelas linhas x colunas; %- número percentual de "n" em relação ao total da categoria S/R/I para para cada droga em comparação; DRV- darunavir; LPV- lopinavir; r- ritonavir em dose de reforço aos IP.

Método comparativo: teste de simetria (McNemar-Bowker); Nível de significância (Bonferroni)=0,05/6= 0,008

X² = 75 p assintótico < 0,001 p exato < 0,001

Contribuição =	DRV(S)-LPV(I) & DRV(I)-LPV(S) =	22
	DRV(S)-LPV(R) & DRV(R)-LPV(S) =	18
	DRV(I)-LPV(R) & DRV(R)-LPV(I) =	35

Na tabela 27 o tipranavir e lopinavir apresentam-se com o mesmo número de laudos com sensibilidade total: 155 entre os 243 analisados. A superioridade observada do TPV, que confere significância estatística global à comparação, se deve especificamente as caselas que confrontam os perfis de resistência intermediária e total: freqüentemente o TPV mostra-se com resistência intermediária quando o LPV tem resistência total.

A tabela 28 mostra a superioridade do perfil de sensibilidade do darunavir sobre o lopinavir. A análise de contribuição indica que houve maior impacto das diferenças observadas quando o LPV mostra-se “R” e o DRV mantém pelo menos resistência intermediária. Ressalta-se que para as outras comparações também houve diferença significativa, ou seja, quando o LPV foi “I” o DRV manteve-se “S” com boa freqüência e de forma semelhante na comparação entre sensibilidade total contra resistência total.

Por fim comparou-se os dois IP que se mostraram superiores ao LPV e FPV: darunavir e tipranavir, na tabela 29. Fica evidente a superioridade do darunavir mas a análise de contribuição indica que tal vantagem foi restrita à comparação dos perfis de sensibilidade total e resistência intermediária; ou seja, o DRV consegue manter-se “S” na maioria das vezes em que o TPV apresenta-se com resistência Intermediária. Nas outras comparações “S” *versus* “R” e “I” *versus* “R” as drogas foram equivalentes. Chama atenção o fato de ambas apresentarem-se poucas vezes com perfil de resistência total: apenas 5 vezes para TPV e 2 para DRV entre as 243 genotipagens analisadas.

Tabela 29. Comparação do perfil de resistência genotípica entre darunavir e tipranavir, com reforço de ritonavir

		TPV-r X DRV-r							
		TPV/r						Total	
		Sensível		Intermediário		Resistente			
		n	%	n	%	n	%		
DRV-r	Sensível	n	152	98,1	42	50,6	1	20	195
		%	77,9		21,5		0,5		
	Intermediário	n	3	1,9	39	47	4	80	46
		%	6,5		84,8		8,7		
	Resistente	n	0	0	2	2,4	0	0	2
		%	0		100		0		
Total		155		83		5		243	

n- número absoluto de casos em que as drogas apresentaram concordância no perfil de resistência indicado pelas linhas x colunas; %- número percentual de "n" em relação ao total da categoria S/R/I para para cada droga em comparação; **DRV**- darunavir; **TPV**- tipranavir; **r**- ritonavir em dose de reforço aos IP.

Método comparativo: teste de simetria (McNemar-Bowker); Nível de significância (Bonferroni)=0,05/6= 0,008

X² = 35,47 p assintótico < 0,001 p exato < 0,001

Contribuição =	DRV(S)-TPV(I) & DRV(I)-TPV(S) =	33,8
	DRV(S)-TPV(R) & DRV(R)-TPV(S) =	1
	DRV(I)-TPV(R) & DRV(R)-TPV(I) =	0,67

6. DISCUSSÃO

6.1 Seleção dos casos e coleta de dados

Este foi um estudo retrospectivo que se propôs a avaliar o perfil dos subtipos virais do HIV-1, suas mutações e vias mutacionais associadas à resistência aos anti-retrovirais, através das genotipagens realizadas no período de janeiro de 2002 a dezembro de 2006, por pacientes em falha terapêutica do CTR-DIP Orestes Diniz.

Considerando-se que o total de genotipagens (em > 18 anos) realizadas no CTR-DIP Orestes Diniz entre 2002 e 2006 foi de 388, houve perda de informações ao serem analisadas 243 (62,2%) delas. Os principais motivos da exclusão de casos foram problemas técnicos ou inadequações das sequências de nucleotídeos *.fasta* e *.gt* a serem reanalisadas em banco de dados atuais, bem como o preenchimento inadequado ou insuficiente dos formulários de solicitação das genotipagens (“formulário A”). Em relação aos dados imunoviológicos, houve grande perda de informação uma vez que o SISCEL, principal fonte utilizada para coleta dos mesmos, estava em implantação neste período e não compreendia todos os exames. Em média, foram obtidos dados de 70% dos exames de LTCD4 e CV em cada data específica do total de 243 casos analisados.

Ainda assim, considerou-se que o número de pacientes avaliados foi significativo, principalmente quando se observam trabalhos relevantes já publicados, realizados com a mesma proposta de vigilância das mutações de resistência e subtipos virais, utilizando amostras semelhantes ou mesmo menores (CERQUEIRA, 2004; EYER-SILVA, 2005; GARCIA-GUERRERO, 2006; LIYNG, 2007; JIANPING SUN, 2007).

Para que fosse evitada a perda de informações, não foi realizada categorização precoce de variáveis. Por exemplo, as mutações de um mesmo códon foram coletadas separadamente de acordo com o nucleotídeo mutante, o que tornou factível a realização de todas as análises propostas inicialmente bem como outras idealizadas no decorrer do estudo.

6.2 Características gerais e uso de ARV

Aproximadamente 40% dos casos avaliados residiam no interior de Minas Gerais e os demais em Belo Horizonte na ocasião da realização da genotipagem. A relação entre homens e mulheres foi de 2,2:1 e a média de idade de 40 anos. Estes números concordam com os fenômenos epidemiológicos da epidemia de HIV-AIDS observados no Brasil nos últimos 15 anos: interiorização, feminilização e envelhecimento da população infectada (www.aids.gov.br).

A população analisada tinha considerável experiência à TARV. A mediana do número de ARV utilizados foi 5, com tempo mediano de uso entre 2 e 3 anos para as drogas mais comumente prescritas. Entretanto, percentual considerável utilizou terapia sub-ótima como monoterapia ou terapia dupla (40,3%) e uso de IP sem ritonavir (72,4%). É importante lembrar que, à época, não havia recomendações formais para a referida associação de IP com ritonavir e o nelfinavir foi utilizado por 110 (45,3%) pacientes, com mediana de 28 meses. Houve baixa frequência de uso de TDF, ABC, LPV-r, ATV e FPV por serem drogas mais recentes que foram incorporadas, em geral, nos esquemas de resgate após as genotipagens analisadas de 2002 a 2006. Os ARV mais utilizados foram AZT por 96,7% dos pacientes, 3TC (93,4%), DDI (60,9%), EFZ (48,6%) e NFV (45,3%). Assim, as elevadas prevalências de mutações de resistência na TR, em particular às TAM e na protease, devem ser interpretadas à luz deste contexto.

6.3 Evolução Imunoviológica

Este estudo não foi planejado para avaliar eficácia do controle imunoviológico através do uso de genotipagem para orientar a TARV de resgate. Não foi possível utilizar nenhum instrumento de medida de adesão nem avaliar o ajuste da TARV de resgate conforme as orientações da genotipagem à época. Entretanto, alguns pontos interessantes devem ser ressaltados. O primeiro foi o benefício inegável da TARV pela melhora dos níveis medianos de LTCD4 do nadir de 97 (8,1%) para 326 (16%), o melhor valor observado em tratamento ($p < 0,001$). Entretanto, apenas 24,8% dos pacientes atingiram CV menor que 400 cópias/mL em algum momento de TARV prévia à genotipagem, refletindo em parte, o uso de esquemas de tratamento com efetividade inferior aos disponíveis atualmente. Estudos recentes como KLEAN (ERON, 2006), CPCRA 058-FIRST (MACARTHUR, 2006) e ACTG 5142 (RIDDLER,

2008) mostram que entre 70 a 90% dos pacientes atingem CV indetectável (< 50 cópias/mL) no primeiro ano de TARV.

Nas avaliações posteriores à genotipagem houve ganho progressivo de LTCD4, quando os pacientes já utilizavam a terapia de resgate, sendo estatisticamente significativo na comparação entre o último LTCD4 antes da genotipagem com o 12º mês após ($p < 0,001$). A mediana da CV mais baixa antes da genotipagem foi menor que no 6º mês após a TARV de resgate ($p < 0,001$), mas não houve diferença na comparação com o 12º mês após a genotipagem ($p = 0,841$). Interessante observar que a interpretação muda ao se categorizar a variável com ponto de corte em 400 cópias/mL para indetecção. Neste caso observou-se que, 12 meses após o exame genotípico, 38,2% dos pacientes atingiram a meta de carga viral indetectável contra apenas 24,8% dos pacientes por ocasião do tratamento prévio à genotipagem, considerando-se o exame que indicava a CV mais baixa atingida. Ao se comparar as medianas da última CV antes da genotipagem com as realizadas posteriormente ao exame genotípico, observou-se que, aos 6 e 12 meses, houve ganho significativo no controle da multiplicação viral ($p < 0,001$). Todos os estudos de fase II ou III de novos ARV (TORO, RESIST, POWER, MOTIVATE, DUET, e BENCHMRK) utilizaram os exames de genotipagem e/ou fenotipagem para selecionar o melhor esquema de base para os pacientes. Como houve nestes ensaios a incorporação de novas drogas potentes, os desfechos virológicos foram melhores que os observados nesta amostra.

6.4 Prevalência de mutações aos ARV

6.4.1 Prevalência de mutações na TR

Em concordância com diversos estudos, a mutação M184VI foi a mais prevalente (70%), não só da TR como entre todas as analisadas (COUTO-FERNANDEZ, 2005; COSTAGLIOLA, 2007; SHAFER, 2008). Apesar da ampla resistência ao 3TC, a mutação 184VI desempenha importante papel ao se planejar qualquer esquema de resgate pois reduz o *fitness* viral e aumenta a suscetibilidade do vírus ao AZT, D4T e TDF. Evidências recentes apontam ainda que o 3TC preserva atividade antiviral residual na presença da M184VI. Vale lembrar seu

impacto relativo sobre ABC e DDI e que, quando associada com a mutação 74V presente em 10% dos casos neste estudo, determina alto nível de resistência a esses ARV (SHAFER, 2008).

Elevada prevalência também foi observada para as TAM: 215FY, 41L, 67N e 210W, enquanto a 70R e a 219QE foram as TAM menos frequentes. Esta distribuição das TAM é semelhante às apresentadas em outros estudos (COSTAGLIOLA, 2007). Entre as mutações relacionadas à multirresistência, o complexo 151M se destacou com prevalência de 3,3%. Este valor pode ser considerado elevado, já que a literatura aponta que o complexo 151M, teoricamente encontrado em 5% dos casos expostos a combinação de DDI com AZT ou D4T, é raramente observado nos laudos de genotipagem, ao se considerar que a mesma compromete significativamente a capacidade replicativa do vírus que passa a constituir população minoritária (SHAFER, 2008).

A fim de se avaliar o impacto de terapias menos eficazes (com menos de 3 ARV), foi feita uma análise da prevalência das TAM e complexo 151M de acordo com o uso ou não de monoterapia e/ou terapia dupla. O fato do complexo 151M não mostrar relação com uso dessas modalidades de TARV pode ter decorrido do pequeno número de casos (oito) para a análise estatística. Já para as TAM, com exceção da mutação 70R e da via TAM 2, em todos os casos houve maior frequência das mutações ou vias mutacionais quando o paciente foi exposto a tratamento com menos de 3 ARV. Em várias delas houve diferença estatisticamente significativa e nestas houve forte associação positiva entre exposição à monoterapia e/ou terapia dupla com a presença das mutações. Embora esses resultados não se apliquem aos pacientes que iniciaram TARV na conhecida era de “TARV altamente potente” (DEEKS, 2008), existem ainda muitos outros em tratamento que já se utilizaram de TARV menos eficaz e que serão submetidos à genotipagem e novos resgates terapêuticos. A inserção 69, observada esporadicamente e que costuma ocorrer na presença de múltiplas TAM (SHAFER, 2008), foi identificada em apenas um caso e não foi possível analisar sua relação com esquemas que continham menos de 3 ARV.

Entre as mutações para ITRNN, ressalta-se a elevada prevalência da K103NS em 32,5% dos casos, praticamente o triplo de outras mutações importantes da classe que apareceram com relativa frequência: 190ASE, 101EP, 181CI, 100I e

108I, todas com cerca de 10% de prevalência. Este perfil de mutações para ITRNN seguiu o padrão descrito em outros estudos em diversos países e em populações com diferentes particularidades (COUTO-FERNANDEZ, 2005; GARCIA-GUERRERO, 2006; COSTAGLIOLA, 2007; LYING, 2007;). Houve baixa prevalência de mutações específicas para ETR e não foi observado nenhum caso com mais de três mutações para esta droga.

6.4.2 Prevalência de mutações na PR

A mutação 90M foi a mais freqüente dentre as principais da PR, em concordância com o elevado percentual de uso do NFV na população analisada. Outras mutações relacionadas ao uso de NFV como 46IL, 30N e 88DS também foram bem prevalentes. A mutação do códon 54, capaz de alterar a sensibilidade a todos os inibidores da protease, foi a segunda mais freqüentemente observada entre as mutações principais. Possivelmente, a mutação do códon 50 foi a menos observada por ser específica de IP mais novos, como ATV (50L), DRV, LPV-r e FPV (50V), que tiveram baixa freqüência de uso no período em análise.

6.5 Mutações de resistência e prognóstico

Trabalho recente apontou que a emergência de mutações de resistência aos ARV, independentemente da classe, estaria relacionada à maior mortalidade com risco relativo de 1,75 (IC95% de 1,27 – 2,43). Quando estratifica-se a análise para ITRNN, o risco relativo aumentou para 3,02 (IC95% de 1,99-4,57) em relação as demais (HOGG, 2006). Esses dados ganham consistência pela qualidade do estudo: prospectivo com número significativo de pacientes (1138), todos virgens de TARV no início do seguimento e com prevalência de resistência transmitida de 7,8%. Os autores descrevem bem o modelo utilizado para a análise multivariada com propósito de anular outros fatores como LTCD4, CV, adesão, idade, sexo, entre outros, que poderiam confundir o desfecho em análise: a mortalidade. Comentam ainda outros estudos (LUCAS, 2004; RECSKY, 2004) que não mostraram relação de mutações com mortalidade apontando suas possíveis limitações e falhas

metodológicas. A presença da NAM 118I em 28,8% dos casos também foi significativa. Apesar de não figurar entre as mutações principais com maior impacto de resistência, ela frequentemente acompanha outras da via TAM 1 (SHAFER, 2008) e foi relacionada com doença avançada e progressão da AIDS (ZACCARELLI, 2007). De qualquer forma, novos dados devem ser aguardados para melhor se estabelecer as relações de mutações específicas com progressão da doença e mortalidade.

6.6 Subtipos do HIV-1 e mutações de resistência

O painel de mutações de resistência do IAS-USA entende como fundamental a avaliação de como a variabilidade genética do HIV-1 altera o perfil de sensibilidade aos ARV (HIRSCH, 2008). Segundo revisão da literatura recente no assunto, ainda há controvérsias sobre como e em que grau a diversidade genética do HIV-1 afeta a emergência de resistência anti-retroviral (MARTINEZ-CAJAS, 2008).

Um dos pontos centrais deste estudo foi explorar as possíveis diferenças dos subtipos B e “não-B” em relação à prevalência das mutações, suas vias mutacionais preferenciais e a resistência aos ARV. Uma possível limitação foi a determinação dos subtipos do HIV-1 através de similaridade pelo algoritmo da RENAGENO pela sequência em extensão *.fasta* (ver metodologia). O método não é acurado para caracterizar recombinantes inter-subtipos e, em alguns casos, as sequências da protease viral do subtipo B podem ser erroneamente classificadas como pertencentes ao subtipo D. Entretanto, tese de doutoramento realizada com genotipagens de pacientes do estado de Minas Gerais (incluindo o CTR-DIP Orestes Diniz) no período de 2002 a 2004, evidenciou mínima divergência na determinação dos subtipos entre as análises filogenéticas e as realizadas por similaridade através dos algoritmos (ALEIXO, 2006). A autora relata que houve discordância apenas pela presença de 2% de subtipos D que foram erroneamente identificados pelo algoritmo STANFORD quando, na verdade, tratavam de subtipos B na análise filogenética. A frequência dos subtipos B, F, BF encontradas foram de 77,1%, 19,6% e 2,2%, respectivamente. Ressalta-se que, na presente análise, o subtipo D não foi encontrado.

O Brasil é um país continental e apresenta diferenças na distribuição dos subtipos do HIV-1 em seu território (BRINDERO, 2003). Como esperado em nossa amostra, o subtipo B foi o mais prevalente com 75,7% do total. Entretanto, ao longo dos anos, houve aumento progressivo do subtipo F1 (14,4% dos casos) e do recombinante BF (8,2% dos casos). Outros autores apontam essa mesma tendência nas regiões Sudeste, Centro-oeste e Nordeste do Brasil (CERQUEIRA, 2004; TANURI, 2004; COUTO-FERNANDEZ, 2005; CAVALCANTI, 2007). Não houve caso com subtipo C, muito comum na região Sul do país e já descrito na região Sudeste por alguns autores (BRINDERO 2003, SUCUPIRA, 2004; COUTO-FERNANDEZ, 2005, DE SÁ-FILHO, 2008). Em outro estudo do nosso serviço, já foi identificado o subtipo C (ALEIXO, 2006).

Para as mutações aos ITRN houve diferença na prevalência entre os subtipos, estatisticamente significativa, em sete códons. Ser do subtipo B mostrou associação negativa com as mutações 228HR, 203DK e 221Y e associação positiva com as 118I, 44AD, 43EQN e 75TMA. Apesar dessas sete não pertencerem à lista das principais mutações aos ITRN, a 118I já foi apontada como forte marcadora de progressão para AIDS e doença avançada (ZACCARELLI, 2007). Ainda que com valor *p* não significativo, a mutação 210W foi menos freqüente nos subtipos não-B, predominantemente no F, comparado ao subtipo B (23,2% *versus* 33,2%), como aponta a literatura (DUMANS, 2004). Isso decorre das “diferenças sinônimas” entre o genótipo dos subtipos, ou seja, códons com um nucleotídeo distinto codificam o mesmo aminoácido (i.e. a valina na posição 106 é codificada pela trinca GTG no subtipo C e GTA no subtipo B). Para o caso exposto, o subtipo B necessita de apenas uma substituição de nucleotídeo, ao passo que o subtipo F necessita de duas alterações no códon para que a mutação L210W ocorra (HIRSCH, 2008).

Em relação aos ITRNN, houve diferença significativa apenas entre as mutações 90I e 135TM, a primeira com associação negativa e a segunda com associação positiva ao subtipo B do HIV-1. Cabe lembrar que, recentemente, a 90I assumiu maior importância após ser apontada como uma das mutações que contribuem para reduzir a ação do novo ITRNN, a etravirina (MADRUGA, 2007; LAZZARIN, 2007). O fato do perfil das mutações na TR ser semelhante entre os subtipos B e não-B e das poucas diferenças se restringirem às menos impactantes está em consonância com outros estudos nacionais citados nesta seção e recente

revisão da literatura (MARTÍNEZ-CAJA, 2008). Esta revisão destacou na TR apenas a menor prevalência da mutação 106AM no subtipo B, fato não observado em nossos dados, possivelmente pela baixa prevalência identificada desta mutação (2,5%).

Na protease viral, entre as mutações principais, apenas a do códon 84 apresentou diferença estatisticamente significativa e indicou associação positiva com o subtipo B. Alguns trabalhos indicam que os vírus do subtipo B, ao desenvolverem resistência para NFV, tendem a apresentar a mutação D30N, ao passo que outros subtipos não-B (notadamente C, F, G, CRF0_1AE) têm maior frequência da L90M (TUPINAMBÁS, 2003; SHAFER, 2008). Já os resultados do presente estudo indicaram o oposto, sem contudo haver diferença estatisticamente significativa nas comparações das frequências das mutações 30N e 90M entre os subtipos.

Para as mutações secundárias aos IP houve prevalência significativamente diferente entre os subtipos em sete códons: 20MRI, 36I, 89IMT, mais prevalentes entre os subtipos não-B, e 10FR, 63P, 71LTV, 77I, mais comuns no subtipo B, de maneira muito semelhante ao descrito por Couto-Fernandez em 2005. Em revisão do tema (MARTÍNEZ-CAJA, 2008), a mutação 89IMT é a mais destacada como atípica no subtipo B e, de forma correspondente, em nossos resultados mostrou-se com chance 8,3 vezes maior de ser observada no subtipo não-B. Vale ressaltar que essas diferenças se concentraram em sete das doze mais prevalentes mutações secundárias da PR.

Houve elevada prevalência de polimorfismos na protease, principalmente nos subtipos não-B em 98,2% dos casos, estatisticamente diferente do subtipo B com 83,2%, valor também muito elevado. As diferenças dos polimorfismos entre os subtipos B e não-B tem sido documentada em diversos estudos e revisões (KANTOR, 2003; KANTOR, 2005; HIRSCH, 2008). A maior frequência destes polimorfismos naturais pode afetar a suscetibilidade aos ARV, pois eles alteram a magnitude da resistência conferida por mutações principais aos IP e interferem na propensão da emergência de algumas mutações (MARTÍNEZ-CAJA, 2008). Por essas razões, diversos autores apontam ser necessário criar instrumentos otimizados para medir com precisão a suscetibilidade às drogas dos subtipos não-B, especialmente em relação à protease viral.

6.7 Perfil de resistência aos ARV

Considerando-se o perfil de resistência às classes de ARV o maior impacto se concentrou nos ITRN, fato que se reflete na prática clínica pela dificuldade em se configurar uma base adequada na composição do esquema anti-retroviral de resgate. A prevalência de multirresistência foi de 6,6% e a de resistência a duas classes foi de 31,3%, semelhante aos dados recentes de uma coorte francesa (COSTAGLIOLA, 2007).

Entre os ITRN, a maior prevalência de resistência foi ao 3TC (77%) devido à presença marcante da mutação 184VI. Vale notar a melhora da sensibilidade ao AZT e TDF quando associados ao 3TC na presença da M184VI, fato amplamente discutido e revisto pela literatura (SHAFER, 2008). Também ficou evidente que, apesar de seu maior potencial de toxicidade, o D4T apresenta melhor perfil de resistência quando comparado ao outro análogo timidínico, o AZT, e ainda constitui importante ferramenta na confecção dos esquemas terapêuticos de resgate.

Para os ITRNN, devido à baixa barreira genética, houve resistência total às drogas da classe em mais de 50% dos casos, mesmo com poucas mutações de resistência (mediana de 1,59). Para EFZ e NVP não houve resistência intermediária, confirmando o fenômeno de “tudo ou nada” já estabelecido na literatura.

Em relação à etravirina, seu melhor perfil de resistência em relação ao EFZ e à NVP se concentrou na categoria de resistência intermediária. A porcentagem de sensibilidade total à ETR (52,7%) não diferiu muito da observada para o EFZ (44,4%) e para a NVP (42%). Como discutido no próprio estudo DUET (MADRUGA, 2007; LAZZARIN, 2007), que testou a eficácia e segurança da ETR, parte dos benefícios observados decorreram do uso de darunavir por todos os pacientes no ensaio clínico. Persistem as dúvidas na literatura quanto às diferenças no perfil de resistência à ETR de acordo com uso prévio de EFZ ou NVP. No presente estudo, tal diferença não foi observada tanto para o perfil de resistência quanto para o número de mutações à ETR selecionadas, a partir do uso de EFZ, NVP ou ambos em esquemas terapêuticos distintos. Entretanto, uma subanálise do estudo FIRST incluiu pacientes randomizados e selecionados para receber EFZ ou NVP acrescidos de 2 ITRN. Entre os pacientes que falharam ao tratamento, houve maior frequência de mutações de resistência na TR no grupo que usou NVP (VAN DEN

BERG-WOLF, 2008), fato que poderia dificultar o resgate com ETR, mas que ainda requer novos estudos para confirmação. A maior propensão para falha com mutação no códon 181, mais impactante à ação da ETR, pelo uso de NVP comparativamente ao EFZ pode justificar esse temor.

Na comparação dos IP que mostraram melhor perfil de resistência, os resultados foram, em geral, condizentes com os já obtidos nos ensaios clínicos das novas drogas. Importante mencionar que o ATV+r não foi incluído nas comparações, por apresentar menor barreira genética e por não ter sido usado com frequência como o IP comparador nos estudos POWER e RESIST. Nestes ensaios, o esquema de base otimizado, bem como o IP comparador, foi definido por testes de resistência que geralmente indicavam o LPV-r ou FPV+r para esta função.

No presente estudo, o DRV+r foi o IP com melhor perfil de resistência genotípica, ou seja, mais robusto em manter a ação antiviral, mesmo na presença de resistência aos outros membros da classe. O TPV+r também apresentou bom perfil para terapia de resgate, superior ao LPV-r e FPV+r. Na comparação direta de ambos, DRV+r *versus* TPV+r, houve vantagem para o DRV+r. O desempenho clínico destes IP como drogas de resgate em pacientes multi-falhados foi avaliado pelos estudos POWER e RESIST, respectivamente. Apesar de não haver um ensaio clínico que os tenha comparado diretamente, o confronto dos seus estudos originais, que tiveram desenhos muito semelhantes, mostrou maior eficácia do DRV+r no controle virológico e ganho imunológico (HILL, 2008). Neste trabalho, os autores ainda pontuam possíveis desvantagens do TPV+r pelos critérios de exclusão do seu ensaio clínico (RESIST), tais como: não incluir pacientes com ≥ 2 mutações para alguns códons da protease relacionados à resistência ao TPV, não tolerar o uso de duplo IP no grupo comparador e excluir pacientes com ITRNN no esquema de base otimizado.

Ainda na análise de simetria entre os IP, o LPV-r mostrou-se superior ao FPV-r como droga de resgate, mas as diferenças foram as mais modestas entre todas as comparações aqui realizadas. Não há disponível ensaio clínico que as compare diretamente na estratégia de resgate terapêutico mas, pelo menos como opções de IP para primeiro esquema, elas parecem ter eficácia imunoviológica equivalente, como documenta o estudo KLEAN (ERON, 2006).

Outra comparação interessante foi entre LPV-r e DRV+r, a qual demonstrou nítida superioridade no perfil de resistência ao DRV, fortalecendo sua posição como IP mais robusto para resgate terapêutico. Tal resultado está em consonância com o estudo TITAN (MADRUGA, 2007), ensaio clínico que comparou diretamente essas drogas para compor o esquema de resgate otimizado por genotipagem e que mostrou superioridade nos desfechos virológicos para o DRV+r em relação ao LPV-r.

Em relação ao perfil de resistência de acordo com subtipo viral, as diferenças se concentraram em alguns inibidores da protease (IDV, FPV, RTV e SQV). De forma correspondente, as maiores diferenças entre as mutações por subtipo viral foram observadas no gene da protease. No trabalho de revisão já citado (MARTÍNEZ-CAJA, 2008), as diferenças de sensibilidade aos ARV entre os subtipos também foram relacionadas aos IP e, em concordância com os nossos resultados, houve geralmente pior perfil de resistência nos subtipos não-B. As diferenças apontadas por MARTÍNEZ-CAJA entretanto, concentraram-se para os subtipos A e G e, em nossa amostra, os subtipos “não-B” mais freqüentes foram o F1 e o recombinante BF.

7. Síntese dos resultados e Conclusões

A população em análise apresentou características basais condizentes com o perfil epidemiológico da infecção pelo HIV-1 no Brasil, referente a proporção homem/mulher, faixa etária e aumento de casos no interior.

Os pacientes, ao realizarem seu primeiro exame de genotipagem, apresentavam moderada experiência aos ARV com média de 5,29 drogas por paciente. Mais de um terço foi submetido à terapia com um ou dois ARV em algum momento da vida e mais de 70% utilizaram algum IP sem reforço de ritonavir com mediana de 34 meses.

A mediana da CV 12 meses após a realização do exame de genotipagem foi semelhante ao melhor valor mediano obtido nas terapias prévias à genotipagem. Ao se observar o percentual de paciente que atingiram CV < 400 cópias/mL, houve vantagem para o período de 12 meses após a genotipagem quando comparado com qualquer época prévia a este exame.

O subtipo B do HIV-1 é marcadamente o mais prevalente na população estudada, mas houve progressivo aumento da prevalência dos subtipos não-B ao longo dos anos, especificamente do subtipo F1 e o recombinante BF.

A prevalência das mutações nas três classes de ARV foi semelhante aos dados da literatura. Os destaques foram as mutações 184VI, as diversas TAM e a 103NS na TR e, a 90M, 54VALMTe 82AFST na protease. Entre os subtipos do HIV-1, B e não-B, as diferenças de prevalência das mutações concentraram-se na protease viral, especificamente nas mutações secundárias mais comuns e nos polimorfismos. De forma correspondente, o perfil de resistência diferiu entre os subtipos B e não-B apenas para alguns IP.

O uso de esquema antirretroviral com menos de 3 ARV em algum momento da vida foi significativamente associado a um pior perfil de resistência aos ITRN, especificamente à maior prevalência de TAM.

A frequência de resistência a toda uma classe de ARV foi maior para os ITRN e ITRNN quando comparada aos IP reforçados pelo ritonavir. A ocorrência de multirresistência (nas 3 classes de ARV) foi relativamente pequena, 6,2%, mas resistência a pelo menos 2 classes foi significativa (25,1%).

O DRV apresentou o maior percentual de sensibilidade total no laudo de resistência, entre todos os ARV analisados, e foi superior a qualquer IP na comparação direta de drogas pelo teste de simetria. Este mesmo teste apresentou superioridade no perfil de resistência genotípica do TPV em relação ao LPV e deste em relação ao FPV.

Não houve maior prevalência de mutações para ETR, ou pior perfil de resistência para esta droga de acordo com uso prévio de EFZ ou NVP. Isto foi independente do uso de EFZ ou NVP no último ou em qualquer esquema TARV prévio à genotipagem.

Em conclusão, o perfil de mutações de resistência nesta população foi condizente com o histórico do amplo uso de ARV aliado à algumas terapias sub-ótimas da época e, o padrão observado das mutações entre os subtipos virais do HIV-1 encontra consonância com dados da literatura mundial.

8. Perspectivas

A presença de resistência anti-retroviral é inerente ao uso de TARV em larga escala, na medida em que o ideal de adesão plena em todos os pacientes não pode ser atingido. Neste sentido, é um privilégio paradoxal para o Programa brasileiro de DST-AIDS conviver com essa realidade. A cada ano milhares de novos pacientes iniciam TARV no país e outros tantos, já experimentados, apresentam falha terapêutica por resistência aos anti-retrovirais. Com a incorporação de novos ARV na prática clínica, notadamente os inibidores de entrada (enfuvirtida e maraviroc) e o inibidor de integrase (raltegravir), faz-se necessário ampliar a discussão da adequação do exame de genotipagem para detectar mutações a estas novas classes de medicamentos.

Neste contexto é imprescindível a manutenção de estudos como este que objetivem o monitoramento da prevalência de mutações de resistência do HIV-1 bem como sua crescente variabilidade genética. Tal vigilância é fundamental no contexto de saúde pública, pela perspectiva da transmissão de cepas resistentes e para se avaliar a proporção de pacientes que necessitam de novas drogas. Da mesma forma o estudo e monitorização da variabilidade genética do HIV-1 são de suma importância, pois não se sabe ao certo, o impacto dos diferentes subtipos virais em relação ao diagnóstico, resposta terapêutica, emergência de mutações de resistência, prognóstico e desenvolvimento de vacinas.

9 Referências Bibliográficas

Accetturi CA, Diaz RS et al. Effects of CCR5 genetic polymorphism and HIV-1 subtype in antiretroviral response in Brazilian HIV-1 infected patients. *Journal of Acq Immune Syn and Hum Retrovirology* 2000, 24, 04: 399-400.

Alcorn TM, Faruki H. HIV resistance testing: Methods, utility, and limitations. *Mol Diag* 2000; 5:159-168.

Aleixo AW, Martins A, Tanuri A, et al. Drug resistance mutation (DRM) profile and accumulation kinetics in HIV+ individuals infected with subtype B and F failing highly active antiretroviral therapy (HAART) is influenced by different viral codon usage. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Aceito para publicação em nov 2008.

Aleixo AW. Análise de polimorfismo do gene pol em isolados de HIV-1 de pacientes residentes no estado de Minas Gerais e em falha terapêutica no período de 2002 a 2004. Tese de doutoramento defendida na Universidade Federal do Rio de Janeiro – CCS – Instituto de Biologia em 2006.

Arion D, Kaushik N, McCormick S et al. Phenotypic mechanism of HIV-1 resistance to 3'-azido-3'-deoxythymidine (AZT): increased polymerization and enhanced sensitivity to pyrophosphate of the mutant viral reverse transcriptase. *Biochemistry* 1998; 37:15908-17.

Arion D, Sluis-Cremer N, Parnial MA. Mechanism by which phosphonoformic acid resistance mutations restore 3'-azido-3'-deoxythymidine (AZT) sensitivity to AZT-resistance HIV-1 reverse transcriptase. *J Biol Chem* 2000; 275:9251-5.

Bannister WP, Cozzi-Lepri A, Clotet B, et al. Transmitted Drug Resistant HIV-1 and Association With Virologic and CD4 Cell Count Response to Combination Antiretroviral Therapy in the EuroSIDA Study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2008;48:324–333.

Barbour JD et al. Persistence of primary drug resistance among recently HIV-1 infected adults. *AIDS* 2004, Aug 20;18(12):1683-9.

Bartlett JA, Demasei R, Quinn J et al. Overview of the effectiveness of triple combination therapy in antiretroviral naïve HIV-1 infected adults. *AIDS* 2001, 15: 1369-1377.

Baxter JD, Mayers DL, Wentworth DN et al. A randomized study of antiretroviral management based on plasma genotypic antiretroviral resistance testing in patients failing therapy. *AIDS* 2000,14:F83-F93.

Baxter JD, Merigan TC, Wentworth DN et al. Both baseline HIV-1 resistance and antiretroviral drug levels are associated with short-term virologic responses to salvage therapy. *AIDS* 2002, 16: 1131-1138.

Bennett DE, Bertagnolio S, Sutherland D, Gilks CF. The World Health Organization's global strategy for prevention and assessment of HIV drug resistance. *Antivir Ther.* 2008;13 Suppl 2:1-13.

Blanco JL, Valdecillos G, Arroyo JR et al. A prospective randomized study on the usefulness of genotypic resistance tests versus real phenotypic resistance test in heavily pretreated patients with virological failure (VIHRES Study) (abstract TuPeB4624). Program and abstracts of the 14th International AIDS Conference (Barcelona). Barcelona, 2002.

Borroto-Esoda K et al. Baseline genotype as a predictor of virological failure in patients receiving entecavir once daily or efavirenz twice daily in combination with didanosine and efavirenz. 11th CROI, USA, Abstract 672

Boucher CA, O'Sullivan E, Mulder Jw et al. Ordered appearance of zidovudine resistance mutations during treatment of 18 human immunodeficiency virus-positive subjects. *J Infect Dis* 1992; 165:105-10.

Brenner B, Turner D, Oliveira M et al. A V106M mutation in HIV-1 clade C viruses exposed to efavirenz confers cross-resistance to non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *AIDS* 2003, 17:F1-F5.

Brindeiro RM et al. Brazilian Network for HIV drug resistance surveillance (HIV-BResNet): results from the first national survey, *AIDS* (2003), May 2;17(7):1063-1069

Burke DS. Recombination in HIV: an important viral evolutionary strategy. *Emerging Infectious Diseases.* 1997, 3; 253-257.

Cahn P, Villacian J, Lazzarin A, et al. Ritonavir-boosted tipranavir demonstrates superior efficacy to ritonavir-boosted protease inhibitors in treatment-experienced HIV-infected patients: 24-week results of the RESIST-2 trial. *Clin Infect Dis* 2006; 43:1347-56.

Casado G, Thomson MM, Sierra M, Najera R. Identification of a novel HIV-1 circulating ADG intersubtype recombinant form (CRF19_cpx) in Cuba. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005; 40:532-537.

Caseiro MM, Sa-Filho DJ, Soares MS. HIV type 1 *pol* gene diversity and antiretroviral drug resistance mutations in Santos, Brazil. *AIDS research and human retroviruses* volume 24, number 3, 2008.

Cavalcanti AMS, Lacerda HR, Brito AM, et al. Antiretroviral resistance in individuals presenting therapeutic failure and subtypes of the human immunodeficiency virus type 1 in the Northeast Region of Brazil Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 102(7): 785-792, November 2007 785.

Cerqueira DM, Amorim RMS, Silva RR et al. Antiretroviral Resistance and Genetic Diversity of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Isolates from the Federal District, Central Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 99(8): 877-882, December 2004.*

Chaix C, Grenier-Sennelier C, Clevenbergh P et al. Economic evaluation of drug resistance genotyping for the adaptation of treatment in HIV infected patients in the VIRADAPT study. *J Acquir Imm Defic Syndr* 2000. 24; 227-231.

Chen Z, Li Y, Schock HB et al. Three-dimensional structure of a mutant HIV-1 protease displaying cross-resistance to all protease inhibitors in clinical trials. *J Biol Chem* 1995; 270:21433-6.

Cingolani A, Antinori A, Rizzo MG et al. Usefulness of monitoring HIV drug resistance and adherence in individuals failing highly active antiretroviral therapy: a randomized study (ARGENTA). *AIDS* 2002, 16:369-379.

Clotet B, Ruiz L, Matinez-Picado J et al. Prevalence of HIV-1 Protease Mutations on Failure of Nelfinavir-Containing HARRT: A Retrospective Analysis of Four Clinical Studies and Two Observational Cohorts. *HIV Clin Trials* 2002; 3(4): 316-323.

Cohen CJ, Hunt S, Sension M, et al. A randomized trial assessing the impact of phenotypic resistance testing on antiretroviral therapy. *AIDS* 2002, 16:579-588.

Costagliola D, Descamps D, Assoumou L, et al. Prevalence of HIV-1 Drug Resistance in Treated Patients; A French Nationwide Study. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2007;00:000–000.

Couto-Fernandez et al. Human Immunodeficiency Virus type 1 (HIV-1) genotyping in Rio de Janeiro, Brazil: assessing subtype and drug-resistance associated mutations in HIV-1 infected individual failing highly active antiretroviral therapy. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 2005, Vol. 100(1): 73-78.

De Sá-Filho DJ, Soares MS, Candido V, et al. HIV Type 1 *pol* Gene Diversity and Antiretroviral Drug Resistance Mutations in Santos, Brazil. *AIDS research and Human Retroviruses* (2008); Vol 24, N 3; 347-353.

Deeks SG, Helmann NS, Grant RM et al. Novel four-drug salvage treatment regimens after failure of a human immunodeficiency virus type 1 protease inhibitor-containing regimen: antiviral activity and correlation of baseline drug susceptibility with virologic outcome. *J Infect Dis* 1999.

Deeks SG. Transmitted Minority Drug-Resistant HIV Variants: A New Epidemic?. *Plosmedicine*; July 2008, Volume 5, Issue 7;e164;disponível em www.plosmedicine.org

Degruttola V, Dix L, D'Áquila R, et al. 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. *Antiviral Ther* 2000; 5:5:41-8.

Delaugerre C et al. Persistence of multidrug-resistant HIV-1 without antiretroviral treatment 2 years after sexual transmission. *Antivir Ther* 2004, Jun;9(3):415-21.

Demeter L, Haubrich R. Phenotypic and Genotypic Resistance Assays: Methodology, Reliability, and interpretations. *JAIDS* 2001, 26 (Suppl. 1).

Dresser GK, Spence JD, Bailey DG. Pharmacokinetic-pharmacodynamic consequences and clinical relevance of cytochrome P450 3A4 inhibition. *Clin Pharmacokinet* 2000; 38:41-57

Dumans AT, Soares MA, Machado ES, et al. Synonymous genetic polymorphisms within Brazilian human immunodeficiency virus type 1 subtypes may influence mutational routes to drug resistance. *J Infect Dis* 2004; 189:1232–8.

Durant J, Clevenbergh P, Halfon P et al. Drug-resistance genotyping in HIV-1 therapy: the VIRADAPT randomised controlled trial. *The Lancet* 1999; 353:2195-99.

Durant J, Clevenbergh P, Garraffo R, et al. Importance of protease inhibitor plasma levels in HIV infected patients treated with genotypic-guided therapy: pharmacological data from the Viradapt Study. *AIDS* 2000; 14:1333-1339.

Eron J, Yeni P, Gathe J, et al. The KLEAN study of fosamprenavir-ritonavir versus lopinavir-ritonavir, each in combination with abacavir-lamivudine, for initial treatment of HIV infection over 48 weeks: a randomised non-inferiority trial. *Lancet* 2006; 368: 476–82.

Esté JA, Telenti A. HIV entry inhibitors. *Lancet* 2007; 370: 81–88.

Eyer-Silva W, Morgado MG. A genotyping study of human immunodeficiency virus type-1 drug resistance in a small Brazilian municipality. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, Vol. 100(8): 869-873, December 2005.

Fätkenheuer G, Nelson M, Lazzarin A, et al. Subgroup analyses of maraviroc in previously treated R5 HIV-1 infection. *N Engl J Med* 2008;359:1442-55.

Fellay J, Marzolini C, Meaden ER et al. Response to antiretroviral treatment in HIV-1 infected individuals with allelic variants of the multidrug resistance transporter 1: a pharmacogenetics study. *Lancet* 2002, 5:30-6.

Fox J et al. Transmitted drug-resistant HIV-1 in primary HIV-1 infection; incidence, evolution and impact on response to anti-retroviral therapy. *HIV Medicine* 2006, 7, 477-483

Frater AJ, Dunn DT, Beardall AJ, Ariyoshi K, Clarke JR, McClure MO, et al. Comparative response of African HIV-1- infected individuals to highly active antiretroviral.

Garcia-Guerrero J, Hoya PS, Portilla J et al. Prevalence of HIV-1 drug resistance mutations among Spanish prison inmates. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* (2006) 25:695–701.

Gathe J, Cooper DA, Farthing C, et al. Efficacy of the Protease Inhibitors Tipranavir plus Ritonavir in Treatment-Experienced Patients: 24-Week Analysis from the RESIST-1 Trial. *Clinical Infectious Diseases* 2006; 43:1337–46.

Gifford AG, Bormann JE, Shively MJ, et al. Predictors of Self-Reported Adherence and Plasma HIV concentrations in Patients on Multidrug Antiretroviral Regimens. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2000; 23: 386-395.

Goof S, Debouck C et al. Retroviral reverse transcriptase: synthesis and function. *J Acq Immune Def Syndr*. 1990. 3; 817-831.

Gotte M, Arion D, Parniak MA et al. The 184V mutation in the reverse transcriptase of human immunodeficiency virus type 1 impairs rescue of chain-terminated DAN synthesis. *J Virol* 2000; 74:3579-85.

Greene, WC, Peterlin BM et al. The molecular biology of immunodeficiency virus type 1 infection. *N Eng of Med*. 1991; 324; 308-315.

Grinsztejn B, Nguyen B-Y, Katlama C, et al. Safety and efficacy of the HIV-1 integrase inhibitor raltegravir (MK-0518) in treatment-experienced patients with multidrug-resistant virus: a phase II randomized controlled Trial. *Lancet* 2007; 369: 1261–69.

Gulick RM, Lalama CM, Ribaldo HJ, et al. Intensification of a triple-nucleoside regimen with tenofovir or efavirenz in HIV-1-infected patients with virological suppression. *AIDS* 2007, 21:813–823.

Gulick RM, Lalezari J, Goodrich J, et al. Maraviroc for previously treated patients with R5 HIV-1 infection. *N Engl J Med* 2008;359:1429-41.

Haubrich R, Keiser P, Kemper C et al. CCTG 575: a randomized prospective study of phenotype testing versus standard of care for patients failing antiretroviral therapy. Program and abstracts of the 5th International Workshop on HIV Drug Resistance and treatment strategies; June 4-8, 2001; Scottsdale, Arizona. Abstract 80.

Haubrich RH, Berger D, Chiliade P, et al. Week 24 efficacy and safety of TMC114/ritonavir in treatment-experienced HIV patients. *AIDS*. 2007;21: F11–F18.

Haubrich RH, Kemper CA, Hellmann NS et al. The clinical relevance of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor hypersusceptibility: a prospective cohort analysis. *AIDS* 2002; 16:F33-40.

Hazuda DF, Miller MD, Nguyen BY, Zhao J, for the P005 Study Team. Resistance to the HIV-integrase inhibitor raltegravir: analysis of protocol 005, a phase II study in patients with triple-class resistant HIV- 1 infection. *Antivir Ther* 2007; 12:S10.

Hemelaar J, Osmanov SA, et al. Global and regional distribution of HIV-1 genetic subtypes and recombinants in 2004. *AIDS* 2006, 20:W13–W23

Hertogs K, de Bethune M-P, Miller V, et al. A rapid method for simultaneous detection of phenotypic resistance to inhibitors of protease and reverse transcriptase

in recombinant human immunodeficiency virus type 1 isolates from patient treated with antiretroviral drugs. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42:269-76.

Hill A, Moyle G. Relative antiviral efficacy of ritonavir-boosted darunavir and ritonavir-boosted tipranavir vs. control protease inhibitor in the POWER and RESIST trials. *HIV Medicine* (2007), 8, 259–264.

Hirsch MS, Gunthard HF, Schapiro JM, et al. Antiretroviral drug resistance testing in adults with HIV infection: 2008 recommendations of an International AIDS Society – USA Panel. *Clinical Infectious Diseases* 2008; 47:266–85.

Hoetelmans RM. Pharmacological exposure and development of drug resistance in HIV. *Antiviral Therapy* 2001. 6(Suppl.2): 37-47

Hoetelmans RM. Sanctuary sites in HIV-1 infection. *Antivir Ther* 1998;3Suppl4:13-7

Hogg RS, Bangsberg DR, Lima VD et al. Emergence of Drug Resistance Is Associated with an Increased Risk of Death among Patients First Starting HAART. *Plosmedicine* September 2006 | Volume 3, Issue 9; e356.

Hsiou Y, Ding J, Das K et al. The Lys103Asn mutation of HIV-1 RT: a novel mechanism of drug resistance. *J Mol Biol* 2001; 309:437-45.

Huisman MT, Smit JW, Schinkel AH. Significance of P-glycoprotein for the pharmacology and clinical use of HIV protease inhibitors. *AIDS* 2000; 14:237-42.

Imamichi T, Sinha T, Imamichi H, Zhang YM, Metcalf JÁ, Falloon J, Lane HC. High-level resistance to 3-azido-3`-deoxythymidine due to a deletion in the reverse transcriptase gene of human immunodeficiency virus type 1. *J Virol*, 2000 Jan;74(2):1023-8.

Iversen AK, Shafer RW, Wehrly K et al. Multidrug-resistance human immunodeficiency virus type 1 strains resulting from combination antiretroviral therapy. *J Virol* 1996; 70:1086-90.

Japour AJ, Mayers DL, Johnson VA, et al. Standardized peripheral blood mononuclear cell culture assay for determination of drug susceptibilities of clinical human immunodeficiency virus type 1 isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37: 1095-1101.

Johnson VA, Brun-Ve´zinet F, Clotet B, et al. Update of the drug resistance mutations in HIV-1: 2007. *Top HIV Med* 2007; 15:119–25.

Kantor R, Katzenstein D. Polymorphism in HIV-1 non-subtype B protease and reverse transcriptase and its potential impact on drug susceptibility and drug resistance evolution. *AIDS Rev* 2003; 5:25–35.

Kantor R, Katzenstein DA, Efron B, et al. Impact of HIV-1 subtype and antiretroviral therapy on protease and reverse transcriptase genotype: results of a global collaboration. *PLoS Med* 2005; 2:e112.

Katlama C, Esposito R, Gatell JM, et al. Efficacy and safety of TMC114/ritonavir in treatment-experienced HIV patients: 24-week results of POWER 1. *AIDS* 2007, 21:395–402.

Kavlick MF, Wyvill K, Yarchoan R et al. Emergence of multidideoxynucleoside-resistance human immunodeficiency virus type-1 variants, viral sequence variation, and disease progression in patients receiving antiretroviral chemotherapy. *J Infect Dis* 1998; 177:1506-13.

Kellam P, Boucher CA, Larder BA. Fifth mutation in human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase contributes to the development of high-level resistance to zidovudine. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89:1934-8.

Kemper CA, Witt MD and Keiser PH et al. Sequencing of protease inhibitor therapy: insights from an analysis of HIV phenotypic resistance in patients failing protease inhibitors. *AIDS* 2001; 15:609-15.

Kijak GH, Rubio AE, Pampuro SE et al. Discrepant results in the interpretation of HIV-1 drug-resistance genotypic data among widely used algorithms. *HIV Medicine* 2003, 4, 72-78.

Koizumi Y, Yshimura H. Emergence of antiretroviral therapy resistance-associated primary mutations among drug-naive HIV-1-infected individuals in rural western Cameroon. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2006 Sep;43(1):15-22.

Korber B, Gaschen B, Yusim K, Thakallapally R, Kesmir C, Detours V. Evolutionary and immunological implications of contemporary HIV-1 variation. *Br Med Bull* 2001; 58:19–42.

Kozal M, Friedland G et al. Continuing High-risk sexual behavior and increasing antiretroviral resistance among HIV+ patients in care helps explain the rising prevalence of resistance among new HIV infections. 11th CROI, San Francisco, EUA, Abstract 35LB.

Kuritzkes D, Shugarts D, Bakhtiari M et al. Emergence of dual resistance to zidovudine and lamivudine in HIV-1 infected patients treated with zidovudine and lamivudine as initial therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2000; 23:26-34.

Lacerda HR, Medeiros LB, Cavalcanti AMS, et al. Comparison of the epidemiology, profile of mutations, and clinical response to antiretrovirals among subtypes B and F of the human immunodeficiency virus type 1. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, Vol. 102(6): 693-699, September 2007.

Lafeuillade A, Khiri H, Chadapand S et al. Persistence of HIV-1 resistance in lymph node mononuclear cell RNA despite effective HAART. *AIDS* 2001; 15:1965-9

Lafeuillade A, Solas C, Halfon P, Chadapaud S, Hittinger G, Lacarelle B. Differences in the detection of three HIV-1 protease inhibitors in non-blood compartments: clinical correlations. *HIV Clin Trials* 2002;3:27-35

Lalezari JP, Henry K, O'Hearn M, et al. Enfuvirtide, an HIV-1 fusion inhibitor, for drug-resistant HIV infection in North and South America. *N Engl J Med* 2003;348: 2175-85.

Larder BA, Bloor S, Kemp SD et al. A family of insertion mutations between codons 67 and 70 of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase confer multinucleoside analog resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43:1961-7.

Lauritsen JM, Bruus M. EpiData (version 3). A comprehensive tool for validated entry and documentation of data. The EpiData Association, Odense Denmark, 2003-2004.

Lazzarin A, Campbell T, Clotet B, et al. Efficacy and safety of TMC125 (etravirine) in treatment-experienced HIV-1 infected patients in DUET-2: 24 week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2007; 370: 39-48.

Lazzarin A, Clotet B, Cooper D, et al. Efficacy of enfuvirtide in patients infected with drug-resistant HIV-1 in Europe and Australia. *N Engl J Med* 2003;348:2186-95.

Lee CGL, Gottesman MM, Cardarelli CO et al. HIV-1 protease inhibitors are substrates for the MDR1 multidrug transporter. *Biochemistry* 1998;37:3594-3601.

Lennerstrand J, Hertogs K, Stammers DK et al. Correlation between viral resistance to zidovudine and resistance at the reverse transcriptase level for a panel of human immunodeficiency virus type 1 mutants. *J Virol* 2001; 75:7202-5.

Levy JA, Ramachandram B, Barker E et al. Plasma viral load, CD4+ cell counts, and HIV-1 production by cell. *Science* 1996; 271: 670-671.

Little SJ et al. Persistence of transmitted drug-resistant virus among subjects with primary HIV infection deferring antiretroviral therapy. 11th CROI, EUA, Abstract 36LB.

Lorenzi P, Opravil M, Hirschel B et al. Impact of drug resistance mutations on virologic response to salvage therapy. *AIDS* 1999; 13:F17-21.

Lorenzi P, Yerly S, Abderrakim K, et al. Toxicity, efficacy, plasma drug concentration and protease mutations in patients with advanced HIV infection treated with ritonavir and saquinavir. *AIDS* 1997; 11: F95-F99

Lucas GM, Gallant JE, Moore RD (2004) Relationship between drug resistance and HIV-1 disease progression or death in patients undergoing resistance testing. *AIDS* 18: 1539-1548.

Lying Ma, Jianping Sun, et al. Genotype and Phenotype Patterns of Drug-Resistant HIV-1 Subtype B' (Thai B) Isolated From Patients Failing Antiretroviral Therapy in China. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007;44:14-19.

MacArthur RD, Novak RM, Peng G. A comparison of three highly active antiretroviral treatment strategies consisting of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors,

protease inhibitors, or both in the presence of nucleoside reverse transcriptase inhibitors as initial therapy (CPCRA 058 FIRST Study): a long-term randomised Trial. *Lancet* 2006; 368: 2125–35.

Madruga JV, Berger D, McMurchie M, et al. Efficacy and safety of darunavir-ritonavir compared with that of lopinavir-ritonavir at 48 weeks in treatment-experienced, HIV-infected patients in TITAN: a randomised controlled phase III trial. *Lancet* 2007; 370: 49–58.

Madruga VJ, Cahn P, Grinsztejn B, et al. Efficacy and safety of TMC125 (etravirine) in treatment-experienced HIV-1-infected patients in DUET-1: 24-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2007; 370: 29–38.

Marins JR, Jamal LF, Chen SY et al. Dramatic improvement in survival among adult Brazilian Aids patients. *AIDS* 2003, 17:1675-1682.

Mark Nelson MA, Keikawus A, Clotet B, MD, PhD. Durable Efficacy of Enfuvirtide Over 48 Weeks in Heavily Treatment-Experienced HIV-1–Infected Patients in the T-20 Versus Optimized Background Regimen Only 1 and 2 Clinical Trials. *J Acquir Immune Defic Syndr* _ Volume 40, Number 4, December 1 2005.

Markowitz M, Nguyen B-Y, Gotuzzo E, et al. Rapid and Durable Antiretroviral Effect of the HIV-1 Integrase Inhibitor Raltegravir as Part of Combination Therapy in Treatment-Naive Patients With HIV-1 Infection Results of a 48-Week Controlled Study. (*J Acquir Immune Defic Syndr* 2007;46:125–133.

Martínez-Cajas JL, Pant-Pai N, Klein MB, et al. Role of genetic diversity amongst HIV-1 non-B subtypes in drug resistance: a systematic review of virologic and biochemical evidence. *AIDS Rev.* 2008 Oct-Dec;10(4):212-23.

Martinez-Picado J, Savara AV, Shi L et al. Fitness of human immunodeficiency virus type 1 protease inhibitor-selected single mutants. *Virology* 2000; 275:318-22.

Mellors JW, Munoz A, Giorgi JV, et al. Plasma viral load and CD4 lymphocytes as prognostic markers of HIV-1 infection. *Ann Intern Med* 1997; 126:946-954.

Mellors JW, Rinaldo CR, Gupta P et al. Prognosis in HIV-1 infection predicted by quantity of virus in plasma. *Science* 1996; 272: 1167-1170.

Meynard JL, Vray M, Morand-Joubert L, et al. Phenotypic or genotypic resistance testing for choosing antiretroviral therapy after treatment failure: a randomized trial. *AIDS* 2002, 16:727-736.

Meynard JL, Vray M, Morand-Joubert L, et al. Phenotypic or genotypic resistance testing for choosing antiretroviral therapy after treatment failure: a randomized trial. *AIDS* 2002, 16:727-736.

Ministério da Saúde - Brasil. Programa Nacional DST/Aids. Boletim epidemiológico. Disponível em www.aids.gov.br.

Ministério da Saúde - Brasil. Programa Nacional DST/Aids. Recomendações para Terapia anti-retroviral em Adultos e Adolescentes infectados pelo HIV, 2008. Disponível em www.aids.gov.br.

Molina JM, Andrade-Villanueva J, Echevarria J, et al, for the CASTLE Study Team. Once-daily atazanavir/ritonavir versus twice-daily lopinavir/ritonavir, each in combination with tenofovir and emtricitabine, for management of antiretroviral-naive HIV-1-infected patients: 48-week efficacy and safety results of the CASTLE study. *Lancet* 2008; 372: 646–55

Molina JM, Cohen C, Katlama C, et al. Safety and Efficacy of Darunavir (TMC114) With Low-Dose Ritonavir in Treatment-Experienced Patients 24-Week Results of POWER 3. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007;46:24–31.

Morgado MG, Guimarães ML, Galvão-Castro B et al. HIV-1 polymorphism: a challenge for vaccine development – a review. *Men Inst Oswaldo Cruz* 2002; 97: 143-150.

Morgado MG, Sabino EC, Shaper EG et al. V3 region polymorphisms in HIV-1 from Brazil: Prevalence of subtype B strains divergent from North American/Europe prototypes and detection of subtype F. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 1994. 10. 569-579.

Naeger LK, Largot NA, Miller MD et al. Increased drug susceptibility of HIV-1 reverse transcriptase mutants containing M184V and zidovudine-associated mutations: analysis of enzyme processivity, chain-terminator removal and viral replication. *Antivir Ther* 2001; 6:115-26.

Nijhuis M, Boucher CB, Schipper P et al. Stochastic processes strongly influence HIV-1 evolution during sub optimal protease-inhibitor therapy. *Proceedings of the National Academy of Science USA* 95(24) 1998; 14441-14446.

O'Brien WA, Hatigan PM, Daar ES, et al. Changes in plasma HIV-1 RNA and CD4-lymphocytes counts and the risk of progression to AIDS. *N Eng J Med* 1998; 338:853-860.

Palella FJ, Kathellen MD, Anne CM et al. Decline Morbidity among patients with Advanced Human Immunodeficiency Virus Infection. *N Engl J Med* 1998; 338: 853-860.

Paolucci S, Baldanti F, Tinelli M, Maga G, (2003). Detection of a new HIV-1 reverse transcriptase mutation (Q145M) conferring resistance to nucleoside and non-nucleoside inhibitors in a patient failing highly active antiretroviral therapy. *AIDS*, Apr 11;17(6):924-7.

Parikh U, Koontz D, Sluis-Cremer N, Hammond J, Bachelier L, Schinazi R, Mellors J (2004). A multinucleoside Resistance of Increasing Prevalence Exhibits Bi-directional Phenotypic Antagonism with TAM. In 11th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, San Francisco, CA, EUA, Abstract no K65R.

Paterson DL, Swindells S, Mohr J, et al. Adherence to Protease Inhibitor Therapy and Outcomes in Patients with HIV Infection. *Ann Intern Med*; 2000, 133:21-30

Peeters M, Gueye A, Mboup S. Geographical distribution of HIV-1 group O viruses in Africa. *AIDS*, 1997; 11, 493-498.

Perelson AS, Neumann AU, Markowitz M, et al. HIV-1 dynamics in vivo: virion clearance rate, infected cell life-span, and viral generation time. *Science* 1996; 271:1582-1586.

Pieniazek D, Rayfield M, Hu DJ, Nkengasong J, Wiktor SZ, Downing R, et al. Protease sequences from HIV-1 group M subtypes A–H reveal distinct amino acid mutation patterns associated with protease resistance in protease inhibitor-naive individuals worldwide. *AIDS* 2000; 14:1489–1495.

Raboud JM, Harris M, Rae S, Montaner JS. Impact of adherence on duration of virological suppression among patients receiving combination antiretroviral therapy. *HIV Med* 2002; 3:118-24.

Recsky MA, Brumme ZL, Chan KJ, Wynhoven B, Yip B, et al. (2004). Antiretroviral resistance among HIV-infected persons who have died in British Columbia, in the era of modern antiretroviral therapy. *J Infect Dis* 190: 285–292.

Reeves J, Han D, Wilkin T et al. An enhanced version of the trofile HIV co-receptor tropism assay predicts emergence of CXCR4 use in ACTG5211 vicriviroc trial samples [abstract 869]. In: Program and abstracts of the 15th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections 2008, Boston, MA.

Ribeiro, FA. Avaliação da duração e impacto do primeiro esquema antiretroviral altamente potente em pacientes portadores de SIDA em acompanhamento no setor de imunodeficiências do serviço de doenças infecciosas e parasitárias / Hospital das Clínicas do Centro de Treinamento e Referência em doenças infecciosas e parasitárias (CTR-DIP/UFMG-PBH) em belo Horizonte, MG. Dissertação. Julho de 2007. (Mestrado em Infectologia e Medicina Tropical) – Faculdade de Medicina da UFMG.

Riddler, AS; Haubrich, R, DiRienzo, G A, et al. Class-Sparing Regimens for Initial Treatment of HIV-1 Infection. *N Engl J Med* Volume 358(20), 15 May 2008, p 2095–2106

Robertson DL, Anderson JP, Bradac JA et al. HIV-1 Nomenclature Proposal. *Science* 2000, 288; 55-56.

RUCHANSKY, Dora, et al. Identification of a new HIV Type 1 Circulating Recombinant Form (CRF38_BF1) in Uruguay. *AIDS Research and Human Retroviruses* Volume 25, Number 3, p. 351-356, 2009.

Sabino EC, Diaz RS, Brigido LF, et al. Distribution of HIV-1 subtypes seen in an AIDS clinic in Sao Paulo City, Brazil. *AIDS*, 10, 1579-1584, 1996

Schoube, BD. AIDS & HIV In Perspective: A guide to understanding the virus and its consequences. New York: Cambridge University Press, 288 p., 1994.

Shafer RW, Gonzales MJ, Brun-Vezinet F. Online comparison of HIV-1 drug resistance algorithms identifies rates and causes of discordant interpretations [abstract 134]. *Antivir Ther* 2001; 6(Suppl 1):101.

Shafer RW, Rhee SY, Bennett D. Consensus drug resistance mutations for epidemiological surveillance: basic principles and potential controversies. *Antiviral Therapy* 2008, 13 Suppl 2:59-68.

Shafer RW, Rhee SY, Bennett D. HIV-1 protease and reverse transcriptase mutations for drug resistance surveillance. *AIDS* 2007, 21:215–223.

Shafer RW, Schapiro JM. HIV-1 Drug Resistance Mutations: an Updated Framework for the Second Decade of HAART. *AIDS Rev.* 2008;10:67-84.

Shafer RW. Genotypic testing for human immunodeficiency virus type 1 drug resistance. *Clin Microbiol Rev.* 2002. 15: 247-77

Shirasaka T, Kavlick MF, Ueno T. Emergence of human immunodeficiency virus type-1 variants with resistance to multiple dideoxynucleosides in patients receiving therapy with dideoxynucleosides. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92:2398-402

Shulman N, Zolopa AR, Passaro D et al. Phenotypic hypersusceptibility to non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors in treatment-experience HIV-infected patients: impact on virological response to efavirenz-based therapy. *AIDS* 2001; 15:1125-32.

Simon F, Mauclore P, Roques P et al. Identification of a new human immunodeficiency type 1 distinct from group M and O. *Nature* 1998; 4:1032-1037.

Soares MA, Tanuri A, Brindeiro RM,. Primary HIV-1 drug resistance in Brazil. *AIDS.* 2004 Jun;18 Suppl 3:S9-13

Soares MA, Soares AJM, Santos FA et al. Differential Drug Resistance Acquisition in HIV-1 of Subtypes B and C. *PloSmed, PLoS ONE* - www.plosone.org. August 2007; Issue 8: e730.

Soares MA, Esmeralda Soares AJM, Martínez AMB, et al. HIV-1 subtype C dissemination in southern Brazil. *AIDS* 2005, 19 (suppl 4):S81–S86.

Sucupira MCA et al. High levels of primary antiretroviral genotypic resistance and B/F recombinants in Santos-SP, Brazil. 11th CROI, EUA, abstracts 676.

Thiebaut F, Tsuro T, Hamada H et al. Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:7735-8.

Tupinambás U, Aleixo A, Greco DB. Características da genotipagem após falha com nelfinavir. Tema Livre 20. XII Congresso Brasileiro de Infectologia. Goiânia, 2003.

Tupinambás U, Ribeiro FA, Aleixo A, Greco DB. Treatment Switch Guided by HIV-1 Genotyping in Brazil. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases* 2006;10(2):82-88.

Tural C, Ruiz L, Holtzer C et al. Clinical utility of HIV-1 genotyping and expert advice: the Havana trial. *AIDS* 2002,16:209-218.

Turner D, Wainberg MA. HIV transmission and primary drug resistance. *AIDS Rev* 2006, 8 (1): 17-23

UNAIDS. Report on the global HIV/Aids epidemic 2007. Disponível em www.unaids.org ; acessado em agosto de 2008.

van den Berg-Wolf M, Hullsiek KH, Peng G, Virologic, et al. Immunologic, clinical, safety, and resistance outcomes from a long-term comparison of efavirenz-based versus nevirapine-based antiretroviral regimens as initial therapy in HIV-1-infected persons. *HIV Clin Trials*. 2008 Sep-Oct;9(5):324-36.

Wegner S, Wallace M, Tasker S et al. Long-term clinical efficacy of resistance testing: results of the CERT trial (abstract 158). *Antivir Ther* 2002; 7S:129.

Wensing AM, Keulen W, Buimer M et al. Analysis of the world-wide evaluation study on HIV-1 genotype interpretation; ENVA-3 [abstract 133]. *Antivir Ther* 2001; 6(Suppl 1): 101.

Whitcomb JM, Huang W, Fransen S, et al. Development and characterization of a novel single-cycle recombinant-virus assay to determine human immunodeficiency virus type 1 coreceptor tropism. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51:566–75.

Whitcomb JM, Huang W, Limoli K et al. Hypersusceptibility to non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors in HIV-1: clinical, phenotypic and genotypic correlates. *AIDS* 2002; 16:F41-7.

Wilkin TJ, Gulick RM. When to start Antiretroviral Therapy? *CID* 2008;47 (15 december);p1580-86.

Williams PL, Currier JS, Swindells S. Joint effects of HIV-1 RNA levels and CD4 lymphocyte cells on the risk of specific opportunistic infections. *AIDS* 1999 13:1035-1044.

Yerly et al. Infrequent transmission of HIV-1 drug-resistant variants. *Antivir Ther* 2004, Jun;9(3):375-84.

Zaccarelli M, Tozzi V, Lorenzini P, et al. The V118I mutation as a marker of advanced HIV infection and disease progression. *Antiviral Therapy* (2007);12:163-168.

Zachary KC, Hanna GJ, D'aquila TR. Human immunodeficiency virus type 1 hypersusceptibility to amprenavir in vitro can be associated with virus load response to treatment in vivo. *Clin Infect Dis* 2001; 33:2075-7.

Zhang Y-M, Imamichi H, Imamichi T et al. Drug resistance during indinavir therapy is caused by mutations in the protease gene and in its gag substrate cleavage sites. *J Virol* 1997; 71:6662-70.

9. Anexos

Anexo 1. Lista dos Aminoácidos e suas abreviaturas de uma e três letras

Aminoácido	Código com 3 letras	Código com 1 letra
Alanina	Ala	A
Arginina	Arg	R
Asparagina	Asn	N
Aspartato	Asp	D
Cisteína	Cys	C
Glutamina	Gln	Q
Glutamato	Glu	E
Glicina	Gly	G
Histidina	His	H
Isoleucina	Ile	I
Leucina	Leu	L
Lisina	Lys	K
Metionina	Met	M
Fenilalanina	Phe	F
Prolina	Pro	P
Serina	Ser	S
Treonina	Thr	T
Triptofano	Trp	W
Tirosina	Tyr	Y
Valina	Val	V

Anexo 2. Questionário / instrumento de coleta para dados das genotipagens

Dados das Genotipagens - CTR-DIP Orestes Diniz	Cod
1- Entrada (número no banco)	_____
2- SAME	_____
3- DIP – número	_____
4- Data de nascimento (dd/mm/aa)	__/__/__
5- Sexo: 1 –Masculino 2 -Feminino	__
6- Naturalidade: _____	__
7- Procedência: _____ (local de residência)	__
8- Data de início do 1º esquema ARV (dd/mm/aa)	__/__/__
9- Nadir de linfócitos CD4+ (valor absoluto)	_____
10- Nadir de linfócitos CD4+ (valor relativo % - 1 casa decimal)	_____
11- Data do exame (dd/mm/aa)	__/__/__
12- Carga viral mais alta já apresentada (cópias/mL)	_____
13- Carga viral mais alta já apresentada (Log - 2 casas decimais)	_____
14- Data do exame (dd/mm/aa)	__/__/__
15- Número de trocas por falha terapêutica	__
16- Número de trocas por intolerância a algum ARV	__
17- Número de trocas de algum ARV por outro motivo	__
18- Monoterapia prévia 1-sim 2- não	__
19- Tempo de Monoterapia (em meses)	_____
20- Terapia Dupla prévia 1- sim 2- não	__
21- Tempo de terapia dupla (em meses)	_____
22- Uso de NNTR 1- sim 2- não	__
23- Tempo de exposição a NNTR (em meses)	_____
24- Uso de IP sem RTV (inclui RTV em dose terapêutica) 1-sim 2- não	__
25- Tempo de exposição a IP sem RTV (em meses)	_____
Esquema (1)	
26- Data de início – esquema 1	__/__/__
27- NTR1(1):	__
28- Meses de exposição ao NTR1(1)	_____
29- NTR2(1):	__
30- Meses de exposição ao NTR2(1)	_____
31- NTR3(1):	__
32- Meses de exposição ao NTR3(1)	_____
33- NNTR (1):	__
34- Meses de exposição ao NNTR(1)	_____

35- IP1(1):	□□□
36- Meses de exposição ao IP1(1)	□□□□
37- IP2(1):	□□□
38- Meses de exposição ao IP2(1)	□□□□
Esquema (2)	
39- Data de início – esquema 2	□□/□□/□□□□
40- NTR1(2):	□□□
41- Meses de exposição ao NTR1(2)	□□□□
42- NTR2(2):	□□□
43- Meses de exposição ao NTR2(2)	□□□□
44- NTR3(2):	□□□
45- Meses de exposição ao NTR3(2)	□□□□
46- NNTR (2):	□□□
47- Meses de exposição ao NNTR(2)	□□□□
48- IP1(2):	□□□
49- Meses de exposição ao IP1(2)	□□□□
50- IP2(2):	□□□
51- Meses de exposição ao IP2(2)	□□□□
52- T20: 1-sim 2- Não	□□
53- Meses de exposição ao T20(2)	□□□□
Esquema (3)	
54- Data de início – esquema 3	□□/□□/□□□□
55- NTR1(3):	□□□
56- Meses de exposição ao NTR1(3)	□□□□
57- NTR2(3):	□□□
58- Meses de exposição ao NTR2(3)	□□□□
59- NTR3(3):	□□□
60- Meses de exposição ao NTR3(3)	□□□□
61- NNTR (3):	□□□
62- Meses de exposição ao NNTR(3)	□□□□
63- IP1(3):	□□□
64- Meses de exposição ao IP1(3)	□□□□
65- IP2(3):	□□□
66- Meses de exposição ao IP2(3)	□□□□
67- T20: 1-sim 2- Não	□□
68- Meses de exposição ao T20(3):	□□□□
Esquema (4)	
69- Data de início – esquema 4	□□/□□/□□□□
70- NTR1(4):	□□□
71- Meses de exposição ao NTR1(4)	□□□□

72- NTR2(4):	□□□□
73- Meses de exposição ao NTR2(4)	□□□□
74- NTR3(4):	□□□□
75- Meses de exposição ao NTR3(4)	□□□□
76- NNTR (4):	□□□□
77- Meses de exposição ao NNTR(4)	□□□□
78- IP1(4):	□□□□
79- Meses de exposição ao IP1(4)	□□□□
80- IP2(4):	□□□□
81- Meses de exposição ao IP2(4)	□□□□
82- T20: 1-sim 2- Não	□□
83- Meses de exposição ao T20(4):	□□□□
Esquema (5) Pré-Genotipagem	
84- Data de início – esquema pré-geno	□□/□□/□□□□
85- NTR1(5):	□□□□□
86- Meses de exposição ao NTR1(5)	□□□□□
87- NTR2(5):	□□□□□
88- Meses de exposição ao NTR2(5)	□□□□□
89- NTR3(5):	□□□□□
90- Meses de exposição ao NTR3(5)	□□□□□
91- NNTR (5):	□□□□□
92- Meses de exposição ao NNTR(5)	□□□□□
93- IP1(5):	□□□□□
94- Meses de exposição ao IP1(5)	□□□□□
95- IP2(5):	□□□□□
96- Meses de exposição ao IP2(5)	□□□□□
97- T20: 1-sim 2- Não	□□
98- Meses de exposição ao T20(5):	□□□□□
Tempo Total de Exposição a cada ARV (em meses)	
99- AZT (Zidovudina)	□□□□□
100- D4T (Estavudina)	□□□□□
101- 3TC (Lamivudina)	□□□□□
102- FTC (Entrecitabina)	□□□□□
103- DDI (Didanosina)	□□□□□
104- TDF (Tenofovir)	□□□□□
105- ABC (Abacavir)	□□□□□
106- DDC (Zalcitabina)	□□□□□
107- EFZ (Efavirenz)	□□□□□
108- NVP (Nevirapina)	□□□□□
109- DLV (Delavirdina)	□□□□□

110- ATV (Atazanavir)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
111- ATV-r (Atazanavir + Ritonavir)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
112- AMP (e/ou fos-AMP) (Amprenavir)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
113- AMP-r (e/ou fosAMP-r) (Amprenavir + Ritonavir)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
114- LPV-r (Lopinavir-ritonavir)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
115- SQV (Saquinavir)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
116- SQV-r (Saquinavir + Ritonavir)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
117- IDV (Indinavir)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
118- IDV-r (Indinavir + Ritonavir)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
119- NFV (Nelvinavir)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
120- RTV (Ritonavir - dose terapêutica)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
121- T20 ou ENF (Enfuvirtida)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Exames Pré-geotipagem	
122- Primeiro CD4+ no esquema pré-geo (valor absoluto)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
123- Primeiro CD4+ no esquema pré-geo (valor relativo % - 1 casa decimal)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
124- Data do exame (dd/mm/aa)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
125- CD4+ mais alto no esquema pré-geo (valor absoluto)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
126- CD4+ mais alto no esquema pré-geo (valor relativo % - 1 casa decimal)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
127- Data do exame (dd/mm/aa)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
128- CD4+ mais baixo no esquema pré-geo (valor absoluto)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
129- CD4+ mais baixo no esquema pré-geo (valor relativo % - 1 casa decimal)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
130- Data do exame (dd/mm/aa)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
131- Último CD4+ no esquema pré-geo (valor absoluto)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
132- Último CD4+ no esquema pré-geo (valor relativo % - 1 casa decimal)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
133- Data do exame (dd/mm/aa)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
134- Primeira Carga viral do esquema pré-geo (cópias/mL)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
135- Primeira Carga viral do esquema pré-geo (log – 2 casa decimais)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
136- Data do exame (dd/mm/aa)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
137- Carga viral mais baixa do esquema pré-geo (cópias/mL)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
138- Carga viral mais baixa do esquema pré-geo (log – 2 casas decimais)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
139- Data do exame (dd/mm/aa)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
140- Última carga viral do esquema pré-geo (cópias/mL)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
141- Última carga viral do esquema pré-geo (log – 2 casas decimais)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
142- Data do exame (dd/mm/aa)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Dados da Genotipagem	
143- Data do exame de genotipagem (~1 mês após o pedido)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
144- Sub-tipo viral (via algoritmo) _____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
145- Sub-tipo viral (via filogenia) _____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Mutações relacionadas aos NTR (circular o AA)	
146- "Vírus selvagem" em relação aos NRT? 1- sim 2- não	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

147- Mutação 41 L	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
148- Mutação 43 E Q N	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
149- Mutaç�o 44 A D	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
150- Mutaç�o 62 V	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
151- Mutaç�o 65 N	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
152- Mutaç�o 65 R	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
153- Mutaç�o 67 N	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
154- Mutaç�o 67 G E S T H	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
155- Mutaç�o DELEÇ�O 67	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
156- Mutaç�o 69 D N A S I G E	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
157- Mutaç�o INSERÇ�O 69	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
158- Mutaç�o DELEÇ�O 69	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
159- Mutaç�o 70 E G	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
160- Mutaç�o 70 R	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
161- Mutaç�o 70 N T S	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
162- Mutaç�o 74 I	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
163- Mutaç�o 74 V	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
164- Mutaç�o 75 T	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
165- Mutaç�o 75 M	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
166- Mutaç�o 75 I	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
167- Mutaç�o 75 A L S	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
168- Mutaç�o 77 L	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
169- Mutaç�o 115 F	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
170- Mutaç�o 116 Y	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
171- Mutaç�o 118 I	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
172- Mutaç�o 145 M	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
173- Mutaç�o 151 L K	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
174- Mutaç�o 151 M	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
175- Mutaç�o 157 S	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
176- Mutaç�o 184 V I	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
177- Mutaç�o 203 D K	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
178- Mutaç�o 208 Y	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
179- Mutaç�o 210 W	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
180- Mutaç�o 210 F S	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
181- Mutaç�o 214 L	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
182- Mutaç�o 215 F	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
183- Mutaç�o 215 Y	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
184- Mutaç�o 215 C D S I V E N	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
185- Mutaç�o 218 E	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>
186- Mutaç�o 219 Q E	1- sim 2- n�o	<input type="checkbox"/>

187- Mutação 219 N R T W	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
188- Mutação 221 Y	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
189- Mutação 223 Q	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
190- Mutação 228 H R	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
191- Mutações OUTRAS _____	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
Mutações relacionadas à RNase-H		
192- Mutação 333 E D	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
193- Mutação 348 I	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
194- Mutação 360 T	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
195- Mutação 371 V	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
Mutações relacionadas aos NNTR (circular o AA)		
196- Vírus selvagem para NNTR?	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
197- Mutação 90 I	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
198- Mutação 98 G	1-sim 2-não	<input type="checkbox"/>
199- Mutação 98 S	1-sim 2-não	<input type="checkbox"/>
200- Mutação 100 I	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
201- Mutação 100 V	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
202- Mutação 101 E	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
203- Mutação 101 P	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
204- Mutação 101 Q R H N	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
205- Mutação 103 N S	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
206- Mutação 103 R T Q E	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
207- Mutação 106 A	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
208- Mutação 106 M	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
209- Mutação 106 I L	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
210- Mutação 108 I	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
211- Mutação 135 T M	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
212- Mutação 138 K	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
213- Mutação 179 D	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
214- Mutação 179 E	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
215- Mutação 179 F	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
216- Mutação 179 I T G A M	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
217- Mutação 181 C	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
218- Mutação 181 I	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
219- Mutação 181 V	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
220- Mutação 181 S	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
221- Mutação 188 C	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
222- Mutação 188 H	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
223- Mutação 188 L	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
224- Mutação 190 A	1-sim 2-não	<input type="checkbox"/>


225- Mutação 190 S	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
226- Mutação 190 E	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
227- Mutação 190 C Q V T	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
228- Mutação 225 H	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
229- Mutação 227 C	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
230- Mutação 227 L	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
231- Mutação 227 S Y	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
232- Mutação 230 L	1-sim	2- não	<input type="checkbox"/>
233- Mutação 234 I	1-sim	2- não	<input type="checkbox"/>
234- Mutação 236 L	1-sim	2- não	<input type="checkbox"/>
235- Mutação 236 S	1-sim	2- não	<input type="checkbox"/>
236- Mutação 238 T	1-sim	2- não	<input type="checkbox"/>
237- Mutação 238 N	1-sim	2- não	<input type="checkbox"/>
238- Mutação 238 R	1-sim	2- não	<input type="checkbox"/>
239- Mutação 283 I	1-sim	2- não	<input type="checkbox"/>
240- Mutação 318 F	1-sim	2- não	<input type="checkbox"/>
241- Mutações OUTRAS _____	1- sim	2- não	<input type="checkbox"/>
Mutações relacionadas aos IP (em negrito as principais)			
242- Vírus selvagem para IP?	1- sim	2- não	<input type="checkbox"/>
243- Mutação 23 I	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
244- Mutação 24 F	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
245- Mutação 24 I	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
246- Mutação 30 N	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
247- Mutação 32 I	1- sim	2- não	<input type="checkbox"/>
248- Mutação 32 Y	1- sim	2- não	<input type="checkbox"/>
249- Mutação 33 F	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
250- Mutação 33 I	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
251- Mutação 46 I	1- sim	2-não	<input type="checkbox"/>
252- Mutação 46 L	1- sim	2-não	<input type="checkbox"/>
253- Mutação 46 V	1- sim	2-não	<input type="checkbox"/>
254- Mutação 47 A	1- sim	2- não	<input type="checkbox"/>
255- Mutação 47 V	1- sim	2- não	<input type="checkbox"/>
256- Mutação 48 M	1- sim	2- não	<input type="checkbox"/>
257- Mutação 48 V	1- sim	2- não	<input type="checkbox"/>
258- Mutação 50 L	1- sim	2- não	<input type="checkbox"/>
259- Mutação 50 V	1- sim	2-não	<input type="checkbox"/>
260- Mutação 53 L	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
261- Mutação 53 Y	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
262- Mutação 54 A	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
263- Mutação 54 L	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>

264- Mutaçao 54 M	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
265- Mutaçao 54 S	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
266- Mutaçao 54 T	1- sim	2- não	<input type="checkbox"/>
267- Mutaçao 54 V	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
268- Mutaçao 73 S	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
269- Mutaçao 73 T	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
270- Mutaçao 76 V	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
271- Mutaçao 82 A	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
272- Mutaçao 82 F	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
273- Mutaçao 82 L	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
274- Mutaçao 82 S	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
275- Mutaçao 82 T	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
276- Mutaçao 82 I M C	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
277- Mutaçao 84 A	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
278- Mutaçao 84 C	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
279- Mutaçao 84 V	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
280- Mutaçao 88 D	1- sim	2-não	<input type="checkbox"/>
281- Mutaçao 88 S	1- sim	2-não	<input type="checkbox"/>
282- Mutaçao 88 G	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
283- Mutaçao 88 T	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
284- Mutaçao 90 M	1- sim	2-não	<input type="checkbox"/>
285- Mutaçao 10 I V	1- sim	2-não	<input type="checkbox"/>
286- Mutaçao 10 F R	1- sim	2-não	<input type="checkbox"/>
287- Mutaçao 10 Y	1- sim	2-não	<input type="checkbox"/>
288- Mutaçao 11 I F T C	1- sim	2-não	<input type="checkbox"/>
289- Mutaçao 13 V	1- sim	2-não	<input type="checkbox"/>
290- Mutaçao 16 A E	1- sim	2-não	<input type="checkbox"/>
291- Mutaçao 20 M I R T V L	1- sim	2-não	<input type="checkbox"/>
292- Mutaçao 33 F I V	1- sim	2-não	<input type="checkbox"/>
293- Mutaçao 34 Q	1- sim	2-não	<input type="checkbox"/>
294- Mutaçao 35 G	1- sim	2-não	<input type="checkbox"/>
295- Mutaçao 36 I L V T A	1- sim	2-não	<input type="checkbox"/>
296- Mutaçao 43 R T	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
297- Mutaçao 45 I	1-sim	2-não	<input type="checkbox"/>
298- Mutaçao 55 R	1- sim	2-não	<input type="checkbox"/>
299- Mutaçao 58 E	1- sim	2- não	<input type="checkbox"/>
300- Mutaçao 60 E	1- sim	2-não	<input type="checkbox"/>
301- Mutaçao 62 V	1- sim	2-não	<input type="checkbox"/>
302- Mutaçao 63 P	1- sim	2-não	<input type="checkbox"/>
303- Mutaçao 69 K	1- sim	2- não	<input type="checkbox"/>

304- Mutaçao 71 I L	1- sim 2-não	<input type="checkbox"/>
305- Mutaçao 71 T V	1- sim 2-não	<input type="checkbox"/>
306- Mutaçao 73 A C T S	1-sim 2-não	<input type="checkbox"/>
307- Mutaçao 74 P	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
308- Mutaçao 74 A S	1- sim 2-não	<input type="checkbox"/>
309- Mutaçao 75 I	1- sim 2-não	<input type="checkbox"/>
310- Mutaçao 77 I	1- sim 2-não	<input type="checkbox"/>
311- Mutaçao 79 A S	1- sim 2-não	<input type="checkbox"/>
312- Mutaçao 83 D	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
313- Mutaçao 85 V	1- sim 2-não	<input type="checkbox"/>
314- Mutaçao 89 V	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
315- Mutaçao 89 I M T	1- sim 2-não	<input type="checkbox"/>
316- Mutaçao 91 S	1- sim 2-não	<input type="checkbox"/>
317- Mutaçao 92 K	1- sim 2-não	<input type="checkbox"/>
318- Mutaçao 93 L M	1- sim 2-não	<input type="checkbox"/>
319- Mutaçao 95 F	1- sim 2-não	<input type="checkbox"/>
320- Mutaçoes OUTRAS _____	1- sim 2- não	<input type="checkbox"/>
Resistência por Droga na GENO (S / I / R)		
321- AZT (Zidovudina)		<input type="checkbox"/>
322- D4T (Estavudina)		<input type="checkbox"/>
323- 3TC (Lamivudina)		<input type="checkbox"/>
324- FTC (Entrecitabina)		<input type="checkbox"/>
325- DDI (Didanosina)		<input type="checkbox"/>
326- TDF (Tenofovir)		<input type="checkbox"/>
327- ABC (Abacavir)		<input type="checkbox"/>
328- AZT+3TC (Biovir ou Combivir)		<input type="checkbox"/>
329- TDF+3TC (ou FTC)		<input type="checkbox"/>
330- EFZ (Efavirenz)		<input type="checkbox"/>
331- NVP (Nevirapina)		<input type="checkbox"/>
332- ETR (Etravirina)		<input type="checkbox"/>
333- DLV (Delavirdina)		<input type="checkbox"/>
334- ATV (Atazanavir)		<input type="checkbox"/>
335- ATV-r (Atazanavir + ritonavir)		<input type="checkbox"/>
336- fos-AMP (fos-Amprenavir)		<input type="checkbox"/>
337- fos-AMP-r (fos-Amprenavir + ritonavir)		<input type="checkbox"/>
338- LPV-r (Lopinavir + ritonavir)		<input type="checkbox"/>
339- SQV (Saquinavir)		<input type="checkbox"/>
340- SQV-r (Saquinavir + ritonavir)		<input type="checkbox"/>
341- IDV (Indinavir)		<input type="checkbox"/>
342- IDV-r (Indinavir + ritonavir)		<input type="checkbox"/>

343- NFV (NelvinaVir)	□□
344- RTV (Ritonavir - dose terapêutica)	□□
345- DRV-r (Darunavir + ritonavir)	□□
346- TPV-r (Tipranavir + ritonavir)	□□
347- T20 ou ENF (Enfuvirtida)	□□
Drogas S na GENO (considerar apenas drogas "S")	
348- Número de drogas NTR sensíveis na Genotipagem	□□
349- Número de drogas NNTR sensíveis na Genotipagem	□□
350- Número de drogas IP sensíveis na Genotipagem	□□
351- Número total de drogas sensíveis na Genotipagem	□□□
Drogas I na GENO (considerar apenas drogas "I")	
352- Número de drogas NTR Intermediárias na Genotipagem	□□
353- Número de drogas NNTR Intermediárias na Genotipagem	□□
354- Número de drogas IP Intermediárias na Genotipagem	□□
355- Número total de drogas Intermediárias na Genotipagem	□□□
Drogas R na GENO (considerar apenas drogas "R")	
356- Número de drogas NTR Resistentes na Genotipagem	□□
357- Número de drogas NNTR Resistentes na Genotipagem	□□
358- Número de drogas IP Resistentes na Genotipagem	□□
359- Número total de drogas Resistentes na Genotipagem	□□□
1ª Avaliação clínica e laboratorial após a troca (nos primeiros 6 meses)	
360- Em acompanhamento -1 Óbito-2 Perda de seguimento-3	□□
361- Linfócitos CD4+ após a troca (absoluto)	□□□□
362- Linfócitos CD4+ após a troca (relativo % – 1 casa decimal)	□□□□
363- Data de realização do exame	□□/□□/□□□□
364- Carga viral após a troca (cópias/mL)	□□□□□□□□
365- Carga viral após a troca (log – 2 casas decimais)	□□□□
366- Data de realização do exame	□□/□□/□□□□
2ª Avaliação clínica e laboratorial após a troca (entre 6 e 12 meses)	
367- Em acompanhamento -1 Óbito-2 Perda de seguimento-3	□□
368- Linfócitos CD4+ após a troca (absoluto)	□□□□
369- Linfócitos CD4+ após a troca (relativo % - 1 casa decimal)	□□□□
370- Data de realização do exame	□□/□□/□□□□
371- Carga viral após a troca (cópias/mL)	□□□□□□□□
372- Carga viral após a troca (log – 2 casas decimais)	□□□□
373- Data de realização do exame	□□/□□/□□□□
374- Data deste levantamento	□□/□□/□□□□

Anexo 3. Formulário A para solicitação do exame de genotipagem do HIV-1

 Ministério da Saúde Secretaria de Vigilância em Saúde Programa Nacional de DST/Aids Sistema de Controle de Exames de Genotipagem – SISGENO		Formulário para Solicitação de Exame de Genotipagem Formulário A			
1. Instituição solicitante (carimbo padrão)		2. CNPJ			
DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE					
3. Nome			4. Data de Nascimento		5. Sexo
			/ /		Masculino <input type="checkbox"/> Feminino <input type="checkbox"/>
6. Cidade de nascimento			7. UF	8. Raça/Cor	
				<input type="checkbox"/> 1-branca 2-preta 3-amarela 4-parda <input type="checkbox"/> 5-indígena 6-não informado 7-ignorada	
9. Número de Identidade		10. CPF		11. Escolaridade	
				<input type="checkbox"/> 1. nenhuma / 2. De 1 a 3 / 3. De 4 a 7 / 4. De 8 a 11 <input type="checkbox"/> 5 - De 12 e mais / 6 não informado / 9 ignorado	
12. Número SISCEL	13. Cartão Nacional de Saúde - CNS	14. Gestante		15. Telefone do Paciente	16. Prontuário
		Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>			
17. Nome do Responsável (se o paciente for menor de idade)			18. CPF do Responsável (se o paciente for menor de idade)		
19. Nome da mãe			20. Endereço do paciente		
21. Bairro	22. CEP	23. Cidade de residência do paciente		24. UF	25. Cod. IBGE Município
DADOS CLÍNICOS					
26. Diagnóstico sorológico da infecção pelo HIV (mês/ano).		27. Paciente compareceu às últimas 3 consultas médicas de retorno agendadas?		28. História patológica pregressa Doença definidora de Aids?	
/ / IGN <input type="checkbox"/>		Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> IGN <input type="checkbox"/>		Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>	
				29. Estado Clínico atual.	
				<input type="checkbox"/> Assintomático <input type="checkbox"/> Sintomático. Especificar: _____	
				30. Genotipagem Anterior	
				Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>	
31. As condições clínicas do paciente ou uso de medicamentos contra-indicam a utilização de algum medicamento a ser utilizado em esquema ARV futuro? Quais?					
32. Resultado de Linfócitos T CD4+ (cél/mm ³) e (%)				33. Resultado de Carga Viral (cópias/ml e log)	
Situação	Data da Coleta	CD4 (µl)	% CD4	Técnica	
Último:	/ /				Carga Viral imediatamente anterior ao esquema ARV atual
Penúltimo:	/ /				Carga Viral mais baixa durante o esquema ARV atual
Mais baixo:	/ /				Última Carga Viral realizada
34. Medicamentos Anti-Retrovirais já utilizados e atualmente em uso:					
Esquema: <input type="checkbox"/> Paciente <input type="checkbox"/> TV ¹ (MÃE) <input type="checkbox"/> TV ¹ (MÃE) TARV ² não conhecida		Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)	Motivo da Troca	
				FT	INT
				Outros	
1º		/ /	/ /		
2º		/ /	/ /		
3º		/ /	/ /		
4º		/ /	/ /		
5º		/ /	/ /		
6º		/ /	/ /		
7º		/ /	/ /		
8º		/ /	/ /		
9º		/ /	/ /		
Zidovudina (ZDV) - Zalcitabina (ddC) - Abacavir (ABC) - Delavirdina (DLV) - Efavirenz (EFZ) - Ritonavir (RTV) - Nelfinavir (NFV) - Lopinavir/ritonavir (LPV/r) - Indinavir/ritonavir (IDV/RTV 800/200) - Didanosina (ddI) - Lamivudina (3TC) - Estavudina (d4T) - Nevirapina (NVP) - Saquinavir (SQV) - Indinavir (IDV) - Amprenavir (APV) - Indinavir/ritonavir (IDV/RTV 800/100) - Tenofovir (TDF) - Atazanavir (ATV) - Darunavir (DRV)					
JUSTIFICATIVA DO PROCEDIMENTO / SOLICITAÇÃO					
35. CID 10	36. Nome do Profissional Solicitante		37. Documento (CNS/CPF) do Profissional Solicitante		38. Assinatura e Carimbo do Médico Solicitante
			CNS <input type="checkbox"/> CPF <input type="checkbox"/>		
39. CRM (Nº Registro do Conselho)		40. Data do Preenchimento		Número:	
UF/CRM: / /		/ / /			

¹ TV – Transmissão Vertical, ²TARV – Terapia Anti-Retroviral

Anexo 4. Prevalência das mutações para ITRN entre os subtipos do HIV-1

Prevalência das mutações para ITRN entre os Subtipos B e não B e destes em cada mutação											
Mutação	N	Subtipo Não-B (56)			Subtipo B (184)			p	OR	IC 95%	
		n	% coluna	%linha	n	% coluna	%linha				
184VI	sim	168	39	69,6	23,2	129	70,1	76,8	0,947 ^a		
	não	72	17	30,4	23,6	55	29,9	76,4			
215FY	sim	140	34	60,7	24,3	106	57,6	75,7	0,758 ^a		
	não	100	22	39,3	22	78	42,4	78			
41L	sim	108	23	41,1	21,3	85	46,2	78,7	0,5 ^a		
	não	132	33	58,9	25	99	53,8	75			
67N	sim	98	20	35,7	20,4	78	42,4	79,6	0,373 ^a		
	não	142	36	64,3	25,4	106	57,6	74,6			
210W	sim	74	13	23,2	17,6	61	33,2	82,4	0,159 ^a		
	não	166	43	76,8	25,9	123	66,8	74,1			
118I	sim	69	10	17,9	14,5	59	32,1	85,5	0,04 ^a	2,17	1,03 - 4,60
	não	171	46	82,1	26,9	125	67,9	73,1			
70R	sim	66	14	25,0	21,2	52	28,3	78,8	0,632 ^a		
	não	174	42	75,0	24,1	132	71,7	75,9			
219QE	sim	58	15	26,8	25,9	43	23,4	74,1	0,601 ^a		
	não	182	41	73,2	22,5	141	76,6	77,5			
44AD	sim	53	7	12,5	13,2	46	25,0	86,8	0,048 ^a	2,33	0,99 - 5,51
	não	187	49	87,5	26,2	138	75,0	73,8			
228HR	sim	49	16	28,6	32,7	33	17,9	67,3	0,084 ^a	0,55	0,27 - 1,09
	não	191	40	71,4	20,9	151	82,1	79,1			
203DK	sim	43	16	28,6	37,2	27	14,7	62,8	0,018 ^a	0,43	0,21 - 0,87
	não	197	40	71,4	20,3	157	85,3	79,7			
208Y	sim	33	7	12,5	21,2	26	14,1	78,8	0,756 ^a		
	não	207	49	87,5	23,7	158	85,9	76,3			
69DNASIG	sim	29	5	8,9	17,2	24	13,0	82,8	0,408 ^a		
	não	211	51	91,1	24,2	160	87,0	75,8			
43EQN	sim	27	2	3,6	7,4	25	13,6	92,6	0,038 ^a	4,25	1,00 - 38,01*
	não	213	54	96,4	25,4	159	86,4	74,6			
215CDSIVE	sim	23	4	7,1	17,4	19	10,3	82,6	0,479 ^b		
	não	217	52	92,9	24	165	89,7	76			
75TMALS	sim	21	1	1,8	4,8	20	10,9	95,2	0,033 ^b	6,71	1,02 - 282,9*
	não	219	55	98,2	25,1	164	89,1	74,9			
74VI	sim	22	6	10,7	27,3	16	8,7	72,7	0,647 ^b		
	não	218	50	89,3	22,9	168	91,3	77,1			
218E	sim	12	2	3,6	16,7	10	5,4	83,3	0,737 ^b		
	não	228	54	96,4	23,7	174	94,6	76,3			
62V	sim	12	1	1,8	8,3	11	6,0	91,7	0,304 ^b		
	não	228	55	98,2	24,1	173	94,0	75,9			
67GESTH	sim	12	2	3,6	16,7	10	5,4	83,3	0,737 ^b		
	não	228	54	96,4	23,7	174	94,6	76,3			
75I	sim	12	1	1,8	8,3	11	6,0	91,7	0,304 ^b		
	não	228	55	98,2	24,1	173	94,0	75,9			
223Q	sim	10	3	5,4	30	7	3,8	70	0,702 ^b		
	não	230	53	94,6	23	177	96,2	77			
77L	sim	8	0	0,0	0	8	4,3	100	0,204 ^b		
	não	232	56	100,0	24,1	176	95,7	75,9			
151M	sim	8	0	0,0	0	8	4,3	100	0,204 ^b		
	não	232	56	100,0	24,1	176	95,7	75,9			
116Y	sim	6	0	0,0	0	6	3,3	100	0,341 ^b		
	não	234	56	100,0	23,9	178	96,7	76,1			
221Y	sim	4	3	5,4	75	1	0,5	25	0,041 ^b	0,1	0,01 - 1,24*
	não	236	53	94,6	22,5	183	99,5	77,5			
65R	sim	2	0	0,0	0	2	1,1	100	1 ^b		
	não	238	56	100,0	23,5	182	98,9	76,5			
Ins69	sim	1	0	0,0	0	1	0,5	100	1 ^b		
	não	239	56	100,0	23,4	183	99,5	76,6			

N - número absoluto total de casos com e sem a mutação da linha; n - número absoluto de casos com e sem a mutação por subtipo; % linha- n/N ou prevalência dos subtipos em cada mutação; %coluna- n/ total do subtipo (56 ou 184) ou prevalência das mutações em cada subtipo; subtipo não-B - subtipos do HIV-1 diferentes do B incluindo A1/F1/BF. ITRN - inibidor da transcriptase reversa análogo de nucleosídeos; a- teste qui-quadrado; b- teste exato de Fisher; OR - razão das chances a a partir do subtipo B ("exposição"), IC95% - intervalo de confiança (assintótico ou exato*).

Anexo 5. Prevalência de TAM e 151M de acordo com tipos de TARV

Presença de TAM, suas vias mutacionais e complexo 151M de acordo com uso prévio de monoterapia/terapia dupla							
Mutações	Total	Monoterapia ou Terapia dupla ^c		p	Odds Ratio	IC-95%	
		não (145) n (%)	sim (98) n (%)				
41L	não	133	95 (65,5)	38(38,8)	< 0,001 ^a	3	1,71 - 5,29
	sim	110	50(34,5)	60(61,2)			
67N	não	142	90 (62,1)	52 (53,1)	0,162 ^a		
	sim	101	55 (37,9)	46 (46,9)			
70R	não	174	101 (69,7)	73 (74,5)	0,412 ^a		
	sim	69	44 (30,3)	25 (25,5)			
210W	não	168	109 (75,2)	59 (60,2)	0,013 ^a	2	1,11 - 3,61
	sim	75	36 (24,8)	39 (39,8)			
215F	não	206	126 (86,9)	80 (81,6)	0,263 ^a		
	sim	37	19 (13,1)	18 (18,4)			
215Y	não	134	93 (64,1)	41 (41,8)	0,001 ^a	2,49	1,42 - 4,36
	sim	109	52 (35,9)	57 (58,2)			
215FY	não	100	75 (51,7)	25 (25,5)	<0,001 ^a	3,13	1,73 - 5,69
	sim	143	70 (48,3)	73 (74,5)			
219QE	não	182	112 (77,2)	70 (71,4)	0,305 ^a		
	sim	61	33 (22,8)	28 (28,6)			
TAM	não	67	53 (36,6)	14 (14,3)	<0,001 ^a	3,46	1,71 - 7,06
	sim	176	92 (63,4)	84 (85,7)			
TAM1	não	192	120 (82,8)	72 (73,5)	0,081 ^a	1,73	0,89 - 3,38
	sim	51	25 (17,2)	26 (27,5)			
TAM2	não	201	117 (80,7)	84 (85,7)	0,31 ^a		
	sim	42	28 (19,3)	14 (14,3)			
TAM1+2	não	160	106 (73,1)	54 (55,1)	0,004 ^a	2,21	1,24 - 3,95
	sim	83	39 (26,9)	44 (44,9)			
151M	não	235	141 (97,2)	94 (95,9)	0,718 ^b		
	sim	8	4 (2,8)	4 (4,1)			

n(%)- número de mutações e prevalência das mutações em cada grupo: uso e não uso da mono/terapia dupla; TAM- presença de qualquer uma das mutações aos análogos timidínicos; TAM1- via mutacional 1 das TAM (41L, 210W, 215Y); TAM2- via mutacional 2 das TAM (67N, 70R, 215F, 219QE); TAM1+2- presença de mutações das vias 1 e 2 em um mesmo caso; a- teste qui-quadrado; b- teste exato de Fisher; c- geralmente a terapia continha AZT e DDI.

Anexo 6. Prevalência das mutações para ITRNN de acordo com subtipo do HIV-1

Prevalência de todas as mutações para ITRNN entre os Subtipos B e não-B e destes nas mutações											
Mutação		N	Subtipo Não-B (56)			Subtipo B (184)			p	OR	IC 95%
			n	% coluna	% linha	n	% coluna	% linha			
135TM	sim	107	9	16,1	8,4	98	53,3	91,6	<0,001 ^a	5,95	2,76 - 12,85
	não	133	47	83,9	35,3	86	46,7	64,7			
103NS	sim	79	19	33,9	24,1	60	32,6	75,9	0,854 ^a		
	não	161	37	66,1	23	124	67,4	77			
179ITGAM	sim	36	6	10,7	16,7	30	16,3	83,3	0,305 ^a		
	não	204	50	89,3	24,5	154	83,7	75,5			
190ASE	sim	31	4	7,1	12,9	27	14,7	87,1	0,141 ^a		
	não	209	52	92,9	24,9	157	85,3	75,1			
101QRHN	sim	28	7	12,5	25	21	11,4	75	0,824 ^a		
	não	212	49	87,5	23,1	163	88,6	76,9			
90I	sim	18	12	21,4	66,7	6	3,3	33,3	<0,001 ^b	0,12	0,04-0,38*
	não	222	44	78,6	19,8	178	96,7	80,2			
101EP	sim	24	5	8,9	20,8	19	10,3	79,2	0,76 ^a		
	não	216	51	91,1	23,6	165	89,7	76,4			
190E	sim	1	0	0,0	0	1	0,5	100	1 ^b		
	não	239	56	100,0	23,4	183	99,5	76,6			
181CI	sim	22	6	10,7	27,3	16	8,7	72,7	0,647 ^a		
	não	218	50	89,3	22,9	168	91,3	77,1			
179DEF	sim	7	0	0,0	0	7	3,8	100	0,205 ^a		
	não	233	56	100,0	24	177	96,2	76			
100I	sim	21	4	7,1	19	17	9,2	81	0,79 ^b		
	não	219	52	92,9	23,7	167	90,8	76,3			
108I	sim	20	7	12,5	35	13	7,1	65	0,266 ^b		
	não	220	49	87,5	22,3	171	92,9	77,7			
283I	sim	20	5	8,9	25	15	8,2	75	0,788 ^b		
	não	220	51	91,1	23,2	169	91,8	76,8			
225H	sim	15	4	7,1	26,7	11	6,0	73,3	0,755 ^b		
	não	225	52	92,9	23,1	173	94,0	76,9			
106IL	sim	14	4	7,1	28,6	10	5,4	71,4	0,744 ^b		
	não	226	52	92,9	23	174	94,6	77			
188LH	sim	14	3	5,4	21,4	11	6,0	78,6	1 ^b		
	não	226	53	94,6	23,5	173	94,0	76,5			
98G	sim	12	4	7,1	33,3	8	4,3	66,7	0,482 ^b		
	não	228	52	92,9	22,8	176	95,7	77,2			
238NT	sim	10	2	3,6	10	8	4,3	80	1 ^b		
	não	230	54	96,4	23,5	176	95,7	76,5			
101P	sim	8	1	1,8	12,5	7	3,8	87,5	0,685 ^b		
	não	232	55	98,2	23,7	177	96,2	76,3			
103RTQE	sim	8	0	0,0	0	8	4,3	100	0,204 ^b		
	não	232	56	100,0	24,1	176	95,7	75,9			
106AM	sim	6	1	1,8	16,7	5	2,7	83,3	1 ^b		
	não	234	55	98,2	23,5	179	97,3	76,5			
318F	sim	5	2	3,6	40	3	1,6	60	0,332 ^b		
	não	235	54	96,4	23	181	98,4	77			
227L	sim	3	1	1,8	33,3	2	1,1	66,6	0,551 ^b		
	não	237	55	98,2	23,2	182	98,9	76,8			
138K	sim	1	0	0,0	0	1	0,5	100	1 ^b		
	não	239	56	100,0	23,4	183	99,5	76,6			
230L	sim	1	1	1,8	100	0	0,0	0	0,233 ^b		
	não	239	55	98,2	23	184	100,0	77			
236L	sim	1	0	0,0	0	1	0,5	100	1 ^b		
	não	239	56	100,0	23,4	183	99,5	76,6			
Polimorfismos	sim	61	12	21,4	19,7	49	26,6	80,3	0,434 ^b		
	não	179	44	78,6	24,6	135	73,4	75,4			

N - número absoluto total de casos com e sem a mutação da linha; n- número absoluto de casos com e sem a mutação por subtipo; % linha- n/N ou prevalência dos subtipos em cada mutação; %coluna- n/ total do subtipo (56 ou 184) ou prevalência das mutações em cada subtipo; subtipo não-B - subtipos do HIV-1 diferentes do B incluindo A1/F1/BF. ITRNN - inibidor da transcriptase reversa não análogo de nucleosídeos; a- teste qui-quadrado; b- teste exato de Fisher; OR - razão das chances a partir do subtipo B ("exposição"), IC95% - intervalo de confiança (assintótico ou exato*).

Anexo 7. Prevalência das mutações principais para IP de acordo com subtipo do HIV-1

Prevalência das mutações principais para IP entre os Subtipos B e não-B e destes entre as mutações											
Mutação	N	Subtipo Não-B (56)			Subtipo B (184)			p	OR	IC 95%	
		n	% coluna	% linha	n	% coluna	% linha				
90M	sim	67	12	21,4	17,9	55	29,9	82,1	0,216 ^a		
	não	173	44	78,6	25,4	129	70,1	74,6			
46IL	sim	57	11	19,6	19,3	46	25,0	80,7	0,409 ^a		
	não	183	45	80,4	24,6	138	75,0	75,4			
54VTLM	sim	60	15	26,8	25	45	24,5	75	0,724 ^a		
	não	180	41	73,2	22,8	139	75,5	77,2			
82AFST	sim	54	12	21,4	22,2	42	22,8	77,8	0,826 ^a		
	não	186	44	78,6	23,7	142	77,2	76,3			
30N	sim	31	8	14,3	25,8	23	12,5	74,2	0,727 ^a		
	não	209	48	85,7	23	161	87,5	77			
73ACTS	sim	29	3	5,4	10,3	26	14,1	89,7	0,078 ^a	2,91	0,84 - 15,5*
	não	211	53	94,6	25,1	158	85,9	74,9			
88DS	sim	31	7	12,5	22,6	24	13,0	77,4	0,915 ^a		
	não	209	49	87,5	23,4	160	87,0	76,6			
84V	sim	22	1	1,8	4,5	21	11,4	95,5	0,029 ^a	7,09	1,08 - 298,2*
	não	218	55	98,2	25,2	163	88,6	74,8			
24I	sim	15	3	5,4	20	12	6,5	80	1 ^b		
	não	225	53	94,6	23,6	172	93,5	76,4			
53L	sim	14	5	8,9	35,7	9	4,9	64,3	0,326 ^b		
	não	226	51	91,1	22,6	175	95,1	77,4			
33FI	sim	11	2	3,6	18,2	9	4,9	81,8	1 ^b		
	não	229	54	96,4	23,6	175	95,1	76,4			
85V	sim	11	1	1,8	9,1	10	5,4	90,9	0,465 ^b		
	não	229	55	98,2	24	174	94,6	76			
47V	sim	5	0	0,0	0	5	2,7	100	0,593 ^b		
	não	235	56	100,0	23,8	179	97,3	76,2			
55R	sim	5	2	3,6	40	3	1,6	60	0,332 ^b		
	não	235	54	96,4	23	181	98,4	77			
48V	sim	3	1	1,8	33,3	2	1,1	66,7	0,551 ^b		
	não	237	55	98,2	23,2	182	98,9	76,8			
23I	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b		
	não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4			
32I	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b		
	não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4			
76V	sim	3	1	1,8	33,3	2	1,1	66,7	0,551 ^b		
	não	237	55	98,2	23,2	182	98,9	76,8			
50L	sim	2	0	0,0	0	2	1,1	100	1 ^b		
	não	238	56	100,0	23,5	182	98,9	76,5			

N - número absoluto total de casos com e sem a mutação da linha; n- número absoluto de casos com e sem a mutação por subtipo; % linha- n/N ou prevalência dos subtipos em cada mutação; %coluna- n/ total do subtipo (56 ou 184) ou prevalência das mutações em cada subtipo; subtipo não-B - subtipos do HIV-1 diferentes do B incluindo A1/F1/BF. IP - inibidor da protease; a- teste qui-quadrado; b- teste exato de Fisher; OR - razão das chances a partir do subtipo B ("exposição"), IC95% - intervalo de confiança (assintótico ou exato*).

Anexo 8. Prevalência das mutações secundárias para IP de acordo com subtipo do HIV-1

Prevalência das mutações secundárias para IP entre os Subtipos B e não-B e destes entre as mutações																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																			
Mutação		N	Subtipo Não-B			Subtipo B			p	OR	IC 95%																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																								
			n	% coluna	% linha	n	% coluna	% linha																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
63P	sim	149	14	25,0	9,4	135	73,4	90,6	<0,001 ^a	8,27	4,16 - 16,4																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																								
	não	90	42	75,0	46,2	49	26,6	53,8				36ILVTA	sim	131	55	98,2	42	76	41,3	58	<0,001 ^a	0,01	0 - 0,08*	não	109	1	1,8	0,9	108	58,7	99,1	10FRVI	sim	126	32	57,1	25,4	94	51,1	74,6	0,427 ^a			não	114	24	42,9	21,1	90	48,9	78,9	10FR	sim	15	0	0,0	0	15	8,2	100	0,025 ^b	indefinido	?	não	225	56	100,0	24,9	169	91,8	75,1	20MIRTLV	sim	97	38	67,9	39,2	59	32,1	60,8	<0,001 ^a	0,22	0,12-0,42	não	143	18	32,1	12,6	125	67,9	87,4	62V	sim	91	20	35,7	22	71	38,6	78	0,766 ^a			não	148	35	62,5	23,6	113	61,4	76,4	71ILTV	sim	84	11	19,6	13,1	73	39,7	86,9	0,007 ^a	2,69	1,31 - 5,54	não	155	44	78,6	28,4	111	60,3	71,6	93LM	sim	81	15	26,8	18,5	66	35,9	81,5	0,208 ^a			não	159	41	73,2	25,8	118	64,1	74,2	77I	sim	68	4	7,1	5,9	64	34,8	94,1	<0,001 ^a	6,93	2,38 - 27,4*	não	172	52	92,9	30,2	120	65,2	69,8	13V	sim	63	14	25,0	22,2	49	26,6	77,8	0,808 ^a			não	177	42	75,0	23,7	135	73,4	76,3	60E	sim	36	10	17,9	27,8	26	14,1	72,2	0,494 ^a			não	204	46	82,1	22,5	158	85,9	77,5	16AE	sim	31	8	14,3	25,8	23	12,5	74,2	0,727 ^a			não	209	48	85,7	23	161	87,5	77	89IMT	sim	28	18	32,1	64,3	10	5,4	35,7	<0,001 ^a	0,12	0,05 - 0,28	não	212	38	67,9	17,9	174	94,6	82,1	74AS	sim	24	7	12,5	29,2	17	9,2	70,8	0,476 ^a			não	216	49	87,5	22,7	167	90,8	77,3	43RT	sim	13	4	7,1	30,8	9	4,9	69,2	0,508 ^b			não	227	52	92,9	22,9	175	95,1	77,1	58E	sim	12	1	1,8	8,3	11	6,0	91,7	0,304 ^b			não	228	55	98,2	24,1	173	94,0	75,9	85V	sim	11	1	1,8	9,1	10	5,4	90,9	0,465 ^b			não	229	55	98,2	24	174	94,6	76	35G	sim	6	1	1,8	16,7	5	2,7	83,3	1 ^b			não	234	55	98,2	23,5	179	97,3	76,5	92K	sim	6	2	3,6	33,3	4	2,2	66,7	0,626 ^b			não	234	54	96,4	23,1	180	97,8	76,9	55R	sim	5	2	3,6	40	3	1,6	60	0,332 ^b			não	235	54	96,4	23	181	98,4	77	75I	sim	4	0	0,0	0	4	2,2	100	0,576 ^b			não	236	56	100,0	23,7	180	97,8	76,3	83D	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	89V	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	11FITC	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	79AS	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	91S	sim	3	1	1,8	33,3	2	1,1	66,7	0,551 ^b			não	237	55	98,2	23,2	182	98,9	76,8	95F	sim	2	0	0,0	0	2	1,1	100	1 ^b			não	238	56	100,0	23,5	182	98,9	76,5	69K	sim	2	1	1,8	50	1	0,5	50	0,413 ^b			não	238	55	98,2
36ILVTA	sim	131	55	98,2	42	76	41,3	58	<0,001 ^a	0,01	0 - 0,08*																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																								
	não	109	1	1,8	0,9	108	58,7	99,1				10FRVI	sim	126	32	57,1	25,4	94	51,1	74,6	0,427 ^a			não	114	24	42,9	21,1	90	48,9	78,9	10FR	sim	15	0	0,0	0	15	8,2	100	0,025 ^b	indefinido	?	não	225	56	100,0	24,9	169	91,8	75,1	20MIRTLV	sim	97	38	67,9	39,2	59	32,1	60,8	<0,001 ^a	0,22	0,12-0,42	não	143	18	32,1	12,6	125	67,9	87,4	62V	sim	91	20	35,7	22	71	38,6	78	0,766 ^a			não	148	35	62,5	23,6	113	61,4	76,4	71ILTV	sim	84	11	19,6	13,1	73	39,7	86,9	0,007 ^a	2,69	1,31 - 5,54	não	155	44	78,6	28,4	111	60,3	71,6	93LM	sim	81	15	26,8	18,5	66	35,9	81,5	0,208 ^a			não	159	41	73,2	25,8	118	64,1	74,2	77I	sim	68	4	7,1	5,9	64	34,8	94,1	<0,001 ^a	6,93	2,38 - 27,4*	não	172	52	92,9	30,2	120	65,2	69,8	13V	sim	63	14	25,0	22,2	49	26,6	77,8	0,808 ^a			não	177	42	75,0	23,7	135	73,4	76,3	60E	sim	36	10	17,9	27,8	26	14,1	72,2	0,494 ^a			não	204	46	82,1	22,5	158	85,9	77,5	16AE	sim	31	8	14,3	25,8	23	12,5	74,2	0,727 ^a			não	209	48	85,7	23	161	87,5	77	89IMT	sim	28	18	32,1	64,3	10	5,4	35,7	<0,001 ^a	0,12	0,05 - 0,28	não	212	38	67,9	17,9	174	94,6	82,1	74AS	sim	24	7	12,5	29,2	17	9,2	70,8	0,476 ^a			não	216	49	87,5	22,7	167	90,8	77,3	43RT	sim	13	4	7,1	30,8	9	4,9	69,2	0,508 ^b			não	227	52	92,9	22,9	175	95,1	77,1	58E	sim	12	1	1,8	8,3	11	6,0	91,7	0,304 ^b			não	228	55	98,2	24,1	173	94,0	75,9	85V	sim	11	1	1,8	9,1	10	5,4	90,9	0,465 ^b			não	229	55	98,2	24	174	94,6	76	35G	sim	6	1	1,8	16,7	5	2,7	83,3	1 ^b			não	234	55	98,2	23,5	179	97,3	76,5	92K	sim	6	2	3,6	33,3	4	2,2	66,7	0,626 ^b			não	234	54	96,4	23,1	180	97,8	76,9	55R	sim	5	2	3,6	40	3	1,6	60	0,332 ^b			não	235	54	96,4	23	181	98,4	77	75I	sim	4	0	0,0	0	4	2,2	100	0,576 ^b			não	236	56	100,0	23,7	180	97,8	76,3	83D	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	89V	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	11FITC	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	79AS	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	91S	sim	3	1	1,8	33,3	2	1,1	66,7	0,551 ^b			não	237	55	98,2	23,2	182	98,9	76,8	95F	sim	2	0	0,0	0	2	1,1	100	1 ^b			não	238	56	100,0	23,5	182	98,9	76,5	69K	sim	2	1	1,8	50	1	0,5	50	0,413 ^b			não	238	55	98,2	23,1	183	99,5	76,9																
10FRVI	sim	126	32	57,1	25,4	94	51,1	74,6	0,427 ^a																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																										
	não	114	24	42,9	21,1	90	48,9	78,9				10FR	sim	15	0	0,0	0	15	8,2	100	0,025 ^b	indefinido	?	não	225	56	100,0	24,9	169	91,8	75,1	20MIRTLV	sim	97	38	67,9	39,2	59	32,1	60,8	<0,001 ^a	0,22	0,12-0,42	não	143	18	32,1	12,6	125	67,9	87,4	62V	sim	91	20	35,7	22	71	38,6	78	0,766 ^a			não	148	35	62,5	23,6	113	61,4	76,4	71ILTV	sim	84	11	19,6	13,1	73	39,7	86,9	0,007 ^a	2,69	1,31 - 5,54	não	155	44	78,6	28,4	111	60,3	71,6	93LM	sim	81	15	26,8	18,5	66	35,9	81,5	0,208 ^a			não	159	41	73,2	25,8	118	64,1	74,2	77I	sim	68	4	7,1	5,9	64	34,8	94,1	<0,001 ^a	6,93	2,38 - 27,4*	não	172	52	92,9	30,2	120	65,2	69,8	13V	sim	63	14	25,0	22,2	49	26,6	77,8	0,808 ^a			não	177	42	75,0	23,7	135	73,4	76,3	60E	sim	36	10	17,9	27,8	26	14,1	72,2	0,494 ^a			não	204	46	82,1	22,5	158	85,9	77,5	16AE	sim	31	8	14,3	25,8	23	12,5	74,2	0,727 ^a			não	209	48	85,7	23	161	87,5	77	89IMT	sim	28	18	32,1	64,3	10	5,4	35,7	<0,001 ^a	0,12	0,05 - 0,28	não	212	38	67,9	17,9	174	94,6	82,1	74AS	sim	24	7	12,5	29,2	17	9,2	70,8	0,476 ^a			não	216	49	87,5	22,7	167	90,8	77,3	43RT	sim	13	4	7,1	30,8	9	4,9	69,2	0,508 ^b			não	227	52	92,9	22,9	175	95,1	77,1	58E	sim	12	1	1,8	8,3	11	6,0	91,7	0,304 ^b			não	228	55	98,2	24,1	173	94,0	75,9	85V	sim	11	1	1,8	9,1	10	5,4	90,9	0,465 ^b			não	229	55	98,2	24	174	94,6	76	35G	sim	6	1	1,8	16,7	5	2,7	83,3	1 ^b			não	234	55	98,2	23,5	179	97,3	76,5	92K	sim	6	2	3,6	33,3	4	2,2	66,7	0,626 ^b			não	234	54	96,4	23,1	180	97,8	76,9	55R	sim	5	2	3,6	40	3	1,6	60	0,332 ^b			não	235	54	96,4	23	181	98,4	77	75I	sim	4	0	0,0	0	4	2,2	100	0,576 ^b			não	236	56	100,0	23,7	180	97,8	76,3	83D	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	89V	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	11FITC	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	79AS	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	91S	sim	3	1	1,8	33,3	2	1,1	66,7	0,551 ^b			não	237	55	98,2	23,2	182	98,9	76,8	95F	sim	2	0	0,0	0	2	1,1	100	1 ^b			não	238	56	100,0	23,5	182	98,9	76,5	69K	sim	2	1	1,8	50	1	0,5	50	0,413 ^b			não	238	55	98,2	23,1	183	99,5	76,9																																				
10FR	sim	15	0	0,0	0	15	8,2	100	0,025 ^b	indefinido	?																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																								
	não	225	56	100,0	24,9	169	91,8	75,1				20MIRTLV	sim	97	38	67,9	39,2	59	32,1	60,8	<0,001 ^a	0,22	0,12-0,42	não	143	18	32,1	12,6	125	67,9	87,4	62V	sim	91	20	35,7	22	71	38,6	78	0,766 ^a			não	148	35	62,5	23,6	113	61,4	76,4	71ILTV	sim	84	11	19,6	13,1	73	39,7	86,9	0,007 ^a	2,69	1,31 - 5,54	não	155	44	78,6	28,4	111	60,3	71,6	93LM	sim	81	15	26,8	18,5	66	35,9	81,5	0,208 ^a			não	159	41	73,2	25,8	118	64,1	74,2	77I	sim	68	4	7,1	5,9	64	34,8	94,1	<0,001 ^a	6,93	2,38 - 27,4*	não	172	52	92,9	30,2	120	65,2	69,8	13V	sim	63	14	25,0	22,2	49	26,6	77,8	0,808 ^a			não	177	42	75,0	23,7	135	73,4	76,3	60E	sim	36	10	17,9	27,8	26	14,1	72,2	0,494 ^a			não	204	46	82,1	22,5	158	85,9	77,5	16AE	sim	31	8	14,3	25,8	23	12,5	74,2	0,727 ^a			não	209	48	85,7	23	161	87,5	77	89IMT	sim	28	18	32,1	64,3	10	5,4	35,7	<0,001 ^a	0,12	0,05 - 0,28	não	212	38	67,9	17,9	174	94,6	82,1	74AS	sim	24	7	12,5	29,2	17	9,2	70,8	0,476 ^a			não	216	49	87,5	22,7	167	90,8	77,3	43RT	sim	13	4	7,1	30,8	9	4,9	69,2	0,508 ^b			não	227	52	92,9	22,9	175	95,1	77,1	58E	sim	12	1	1,8	8,3	11	6,0	91,7	0,304 ^b			não	228	55	98,2	24,1	173	94,0	75,9	85V	sim	11	1	1,8	9,1	10	5,4	90,9	0,465 ^b			não	229	55	98,2	24	174	94,6	76	35G	sim	6	1	1,8	16,7	5	2,7	83,3	1 ^b			não	234	55	98,2	23,5	179	97,3	76,5	92K	sim	6	2	3,6	33,3	4	2,2	66,7	0,626 ^b			não	234	54	96,4	23,1	180	97,8	76,9	55R	sim	5	2	3,6	40	3	1,6	60	0,332 ^b			não	235	54	96,4	23	181	98,4	77	75I	sim	4	0	0,0	0	4	2,2	100	0,576 ^b			não	236	56	100,0	23,7	180	97,8	76,3	83D	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	89V	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	11FITC	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	79AS	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	91S	sim	3	1	1,8	33,3	2	1,1	66,7	0,551 ^b			não	237	55	98,2	23,2	182	98,9	76,8	95F	sim	2	0	0,0	0	2	1,1	100	1 ^b			não	238	56	100,0	23,5	182	98,9	76,5	69K	sim	2	1	1,8	50	1	0,5	50	0,413 ^b			não	238	55	98,2	23,1	183	99,5	76,9																																																								
20MIRTLV	sim	97	38	67,9	39,2	59	32,1	60,8	<0,001 ^a	0,22	0,12-0,42																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																								
	não	143	18	32,1	12,6	125	67,9	87,4				62V	sim	91	20	35,7	22	71	38,6	78	0,766 ^a			não	148	35	62,5	23,6	113	61,4	76,4	71ILTV	sim	84	11	19,6	13,1	73	39,7	86,9	0,007 ^a	2,69	1,31 - 5,54	não	155	44	78,6	28,4	111	60,3	71,6	93LM	sim	81	15	26,8	18,5	66	35,9	81,5	0,208 ^a			não	159	41	73,2	25,8	118	64,1	74,2	77I	sim	68	4	7,1	5,9	64	34,8	94,1	<0,001 ^a	6,93	2,38 - 27,4*	não	172	52	92,9	30,2	120	65,2	69,8	13V	sim	63	14	25,0	22,2	49	26,6	77,8	0,808 ^a			não	177	42	75,0	23,7	135	73,4	76,3	60E	sim	36	10	17,9	27,8	26	14,1	72,2	0,494 ^a			não	204	46	82,1	22,5	158	85,9	77,5	16AE	sim	31	8	14,3	25,8	23	12,5	74,2	0,727 ^a			não	209	48	85,7	23	161	87,5	77	89IMT	sim	28	18	32,1	64,3	10	5,4	35,7	<0,001 ^a	0,12	0,05 - 0,28	não	212	38	67,9	17,9	174	94,6	82,1	74AS	sim	24	7	12,5	29,2	17	9,2	70,8	0,476 ^a			não	216	49	87,5	22,7	167	90,8	77,3	43RT	sim	13	4	7,1	30,8	9	4,9	69,2	0,508 ^b			não	227	52	92,9	22,9	175	95,1	77,1	58E	sim	12	1	1,8	8,3	11	6,0	91,7	0,304 ^b			não	228	55	98,2	24,1	173	94,0	75,9	85V	sim	11	1	1,8	9,1	10	5,4	90,9	0,465 ^b			não	229	55	98,2	24	174	94,6	76	35G	sim	6	1	1,8	16,7	5	2,7	83,3	1 ^b			não	234	55	98,2	23,5	179	97,3	76,5	92K	sim	6	2	3,6	33,3	4	2,2	66,7	0,626 ^b			não	234	54	96,4	23,1	180	97,8	76,9	55R	sim	5	2	3,6	40	3	1,6	60	0,332 ^b			não	235	54	96,4	23	181	98,4	77	75I	sim	4	0	0,0	0	4	2,2	100	0,576 ^b			não	236	56	100,0	23,7	180	97,8	76,3	83D	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	89V	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	11FITC	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	79AS	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	91S	sim	3	1	1,8	33,3	2	1,1	66,7	0,551 ^b			não	237	55	98,2	23,2	182	98,9	76,8	95F	sim	2	0	0,0	0	2	1,1	100	1 ^b			não	238	56	100,0	23,5	182	98,9	76,5	69K	sim	2	1	1,8	50	1	0,5	50	0,413 ^b			não	238	55	98,2	23,1	183	99,5	76,9																																																																												
62V	sim	91	20	35,7	22	71	38,6	78	0,766 ^a																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																										
	não	148	35	62,5	23,6	113	61,4	76,4				71ILTV	sim	84	11	19,6	13,1	73	39,7	86,9	0,007 ^a	2,69	1,31 - 5,54	não	155	44	78,6	28,4	111	60,3	71,6	93LM	sim	81	15	26,8	18,5	66	35,9	81,5	0,208 ^a			não	159	41	73,2	25,8	118	64,1	74,2	77I	sim	68	4	7,1	5,9	64	34,8	94,1	<0,001 ^a	6,93	2,38 - 27,4*	não	172	52	92,9	30,2	120	65,2	69,8	13V	sim	63	14	25,0	22,2	49	26,6	77,8	0,808 ^a			não	177	42	75,0	23,7	135	73,4	76,3	60E	sim	36	10	17,9	27,8	26	14,1	72,2	0,494 ^a			não	204	46	82,1	22,5	158	85,9	77,5	16AE	sim	31	8	14,3	25,8	23	12,5	74,2	0,727 ^a			não	209	48	85,7	23	161	87,5	77	89IMT	sim	28	18	32,1	64,3	10	5,4	35,7	<0,001 ^a	0,12	0,05 - 0,28	não	212	38	67,9	17,9	174	94,6	82,1	74AS	sim	24	7	12,5	29,2	17	9,2	70,8	0,476 ^a			não	216	49	87,5	22,7	167	90,8	77,3	43RT	sim	13	4	7,1	30,8	9	4,9	69,2	0,508 ^b			não	227	52	92,9	22,9	175	95,1	77,1	58E	sim	12	1	1,8	8,3	11	6,0	91,7	0,304 ^b			não	228	55	98,2	24,1	173	94,0	75,9	85V	sim	11	1	1,8	9,1	10	5,4	90,9	0,465 ^b			não	229	55	98,2	24	174	94,6	76	35G	sim	6	1	1,8	16,7	5	2,7	83,3	1 ^b			não	234	55	98,2	23,5	179	97,3	76,5	92K	sim	6	2	3,6	33,3	4	2,2	66,7	0,626 ^b			não	234	54	96,4	23,1	180	97,8	76,9	55R	sim	5	2	3,6	40	3	1,6	60	0,332 ^b			não	235	54	96,4	23	181	98,4	77	75I	sim	4	0	0,0	0	4	2,2	100	0,576 ^b			não	236	56	100,0	23,7	180	97,8	76,3	83D	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	89V	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	11FITC	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	79AS	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	91S	sim	3	1	1,8	33,3	2	1,1	66,7	0,551 ^b			não	237	55	98,2	23,2	182	98,9	76,8	95F	sim	2	0	0,0	0	2	1,1	100	1 ^b			não	238	56	100,0	23,5	182	98,9	76,5	69K	sim	2	1	1,8	50	1	0,5	50	0,413 ^b			não	238	55	98,2	23,1	183	99,5	76,9																																																																																																
71ILTV	sim	84	11	19,6	13,1	73	39,7	86,9	0,007 ^a	2,69	1,31 - 5,54																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																								
	não	155	44	78,6	28,4	111	60,3	71,6				93LM	sim	81	15	26,8	18,5	66	35,9	81,5	0,208 ^a			não	159	41	73,2	25,8	118	64,1	74,2	77I	sim	68	4	7,1	5,9	64	34,8	94,1	<0,001 ^a	6,93	2,38 - 27,4*	não	172	52	92,9	30,2	120	65,2	69,8	13V	sim	63	14	25,0	22,2	49	26,6	77,8	0,808 ^a			não	177	42	75,0	23,7	135	73,4	76,3	60E	sim	36	10	17,9	27,8	26	14,1	72,2	0,494 ^a			não	204	46	82,1	22,5	158	85,9	77,5	16AE	sim	31	8	14,3	25,8	23	12,5	74,2	0,727 ^a			não	209	48	85,7	23	161	87,5	77	89IMT	sim	28	18	32,1	64,3	10	5,4	35,7	<0,001 ^a	0,12	0,05 - 0,28	não	212	38	67,9	17,9	174	94,6	82,1	74AS	sim	24	7	12,5	29,2	17	9,2	70,8	0,476 ^a			não	216	49	87,5	22,7	167	90,8	77,3	43RT	sim	13	4	7,1	30,8	9	4,9	69,2	0,508 ^b			não	227	52	92,9	22,9	175	95,1	77,1	58E	sim	12	1	1,8	8,3	11	6,0	91,7	0,304 ^b			não	228	55	98,2	24,1	173	94,0	75,9	85V	sim	11	1	1,8	9,1	10	5,4	90,9	0,465 ^b			não	229	55	98,2	24	174	94,6	76	35G	sim	6	1	1,8	16,7	5	2,7	83,3	1 ^b			não	234	55	98,2	23,5	179	97,3	76,5	92K	sim	6	2	3,6	33,3	4	2,2	66,7	0,626 ^b			não	234	54	96,4	23,1	180	97,8	76,9	55R	sim	5	2	3,6	40	3	1,6	60	0,332 ^b			não	235	54	96,4	23	181	98,4	77	75I	sim	4	0	0,0	0	4	2,2	100	0,576 ^b			não	236	56	100,0	23,7	180	97,8	76,3	83D	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	89V	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	11FITC	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	79AS	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	91S	sim	3	1	1,8	33,3	2	1,1	66,7	0,551 ^b			não	237	55	98,2	23,2	182	98,9	76,8	95F	sim	2	0	0,0	0	2	1,1	100	1 ^b			não	238	56	100,0	23,5	182	98,9	76,5	69K	sim	2	1	1,8	50	1	0,5	50	0,413 ^b			não	238	55	98,2	23,1	183	99,5	76,9																																																																																																																				
93LM	sim	81	15	26,8	18,5	66	35,9	81,5	0,208 ^a																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																										
	não	159	41	73,2	25,8	118	64,1	74,2				77I	sim	68	4	7,1	5,9	64	34,8	94,1	<0,001 ^a	6,93	2,38 - 27,4*	não	172	52	92,9	30,2	120	65,2	69,8	13V	sim	63	14	25,0	22,2	49	26,6	77,8	0,808 ^a			não	177	42	75,0	23,7	135	73,4	76,3	60E	sim	36	10	17,9	27,8	26	14,1	72,2	0,494 ^a			não	204	46	82,1	22,5	158	85,9	77,5	16AE	sim	31	8	14,3	25,8	23	12,5	74,2	0,727 ^a			não	209	48	85,7	23	161	87,5	77	89IMT	sim	28	18	32,1	64,3	10	5,4	35,7	<0,001 ^a	0,12	0,05 - 0,28	não	212	38	67,9	17,9	174	94,6	82,1	74AS	sim	24	7	12,5	29,2	17	9,2	70,8	0,476 ^a			não	216	49	87,5	22,7	167	90,8	77,3	43RT	sim	13	4	7,1	30,8	9	4,9	69,2	0,508 ^b			não	227	52	92,9	22,9	175	95,1	77,1	58E	sim	12	1	1,8	8,3	11	6,0	91,7	0,304 ^b			não	228	55	98,2	24,1	173	94,0	75,9	85V	sim	11	1	1,8	9,1	10	5,4	90,9	0,465 ^b			não	229	55	98,2	24	174	94,6	76	35G	sim	6	1	1,8	16,7	5	2,7	83,3	1 ^b			não	234	55	98,2	23,5	179	97,3	76,5	92K	sim	6	2	3,6	33,3	4	2,2	66,7	0,626 ^b			não	234	54	96,4	23,1	180	97,8	76,9	55R	sim	5	2	3,6	40	3	1,6	60	0,332 ^b			não	235	54	96,4	23	181	98,4	77	75I	sim	4	0	0,0	0	4	2,2	100	0,576 ^b			não	236	56	100,0	23,7	180	97,8	76,3	83D	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	89V	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	11FITC	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	79AS	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	91S	sim	3	1	1,8	33,3	2	1,1	66,7	0,551 ^b			não	237	55	98,2	23,2	182	98,9	76,8	95F	sim	2	0	0,0	0	2	1,1	100	1 ^b			não	238	56	100,0	23,5	182	98,9	76,5	69K	sim	2	1	1,8	50	1	0,5	50	0,413 ^b			não	238	55	98,2	23,1	183	99,5	76,9																																																																																																																																								
77I	sim	68	4	7,1	5,9	64	34,8	94,1	<0,001 ^a	6,93	2,38 - 27,4*																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																								
	não	172	52	92,9	30,2	120	65,2	69,8				13V	sim	63	14	25,0	22,2	49	26,6	77,8	0,808 ^a			não	177	42	75,0	23,7	135	73,4	76,3	60E	sim	36	10	17,9	27,8	26	14,1	72,2	0,494 ^a			não	204	46	82,1	22,5	158	85,9	77,5	16AE	sim	31	8	14,3	25,8	23	12,5	74,2	0,727 ^a			não	209	48	85,7	23	161	87,5	77	89IMT	sim	28	18	32,1	64,3	10	5,4	35,7	<0,001 ^a	0,12	0,05 - 0,28	não	212	38	67,9	17,9	174	94,6	82,1	74AS	sim	24	7	12,5	29,2	17	9,2	70,8	0,476 ^a			não	216	49	87,5	22,7	167	90,8	77,3	43RT	sim	13	4	7,1	30,8	9	4,9	69,2	0,508 ^b			não	227	52	92,9	22,9	175	95,1	77,1	58E	sim	12	1	1,8	8,3	11	6,0	91,7	0,304 ^b			não	228	55	98,2	24,1	173	94,0	75,9	85V	sim	11	1	1,8	9,1	10	5,4	90,9	0,465 ^b			não	229	55	98,2	24	174	94,6	76	35G	sim	6	1	1,8	16,7	5	2,7	83,3	1 ^b			não	234	55	98,2	23,5	179	97,3	76,5	92K	sim	6	2	3,6	33,3	4	2,2	66,7	0,626 ^b			não	234	54	96,4	23,1	180	97,8	76,9	55R	sim	5	2	3,6	40	3	1,6	60	0,332 ^b			não	235	54	96,4	23	181	98,4	77	75I	sim	4	0	0,0	0	4	2,2	100	0,576 ^b			não	236	56	100,0	23,7	180	97,8	76,3	83D	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	89V	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	11FITC	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	79AS	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	91S	sim	3	1	1,8	33,3	2	1,1	66,7	0,551 ^b			não	237	55	98,2	23,2	182	98,9	76,8	95F	sim	2	0	0,0	0	2	1,1	100	1 ^b			não	238	56	100,0	23,5	182	98,9	76,5	69K	sim	2	1	1,8	50	1	0,5	50	0,413 ^b			não	238	55	98,2	23,1	183	99,5	76,9																																																																																																																																																												
13V	sim	63	14	25,0	22,2	49	26,6	77,8	0,808 ^a																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																										
	não	177	42	75,0	23,7	135	73,4	76,3				60E	sim	36	10	17,9	27,8	26	14,1	72,2	0,494 ^a			não	204	46	82,1	22,5	158	85,9	77,5	16AE	sim	31	8	14,3	25,8	23	12,5	74,2	0,727 ^a			não	209	48	85,7	23	161	87,5	77	89IMT	sim	28	18	32,1	64,3	10	5,4	35,7	<0,001 ^a	0,12	0,05 - 0,28	não	212	38	67,9	17,9	174	94,6	82,1	74AS	sim	24	7	12,5	29,2	17	9,2	70,8	0,476 ^a			não	216	49	87,5	22,7	167	90,8	77,3	43RT	sim	13	4	7,1	30,8	9	4,9	69,2	0,508 ^b			não	227	52	92,9	22,9	175	95,1	77,1	58E	sim	12	1	1,8	8,3	11	6,0	91,7	0,304 ^b			não	228	55	98,2	24,1	173	94,0	75,9	85V	sim	11	1	1,8	9,1	10	5,4	90,9	0,465 ^b			não	229	55	98,2	24	174	94,6	76	35G	sim	6	1	1,8	16,7	5	2,7	83,3	1 ^b			não	234	55	98,2	23,5	179	97,3	76,5	92K	sim	6	2	3,6	33,3	4	2,2	66,7	0,626 ^b			não	234	54	96,4	23,1	180	97,8	76,9	55R	sim	5	2	3,6	40	3	1,6	60	0,332 ^b			não	235	54	96,4	23	181	98,4	77	75I	sim	4	0	0,0	0	4	2,2	100	0,576 ^b			não	236	56	100,0	23,7	180	97,8	76,3	83D	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	89V	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	11FITC	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	79AS	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	91S	sim	3	1	1,8	33,3	2	1,1	66,7	0,551 ^b			não	237	55	98,2	23,2	182	98,9	76,8	95F	sim	2	0	0,0	0	2	1,1	100	1 ^b			não	238	56	100,0	23,5	182	98,9	76,5	69K	sim	2	1	1,8	50	1	0,5	50	0,413 ^b			não	238	55	98,2	23,1	183	99,5	76,9																																																																																																																																																																																
60E	sim	36	10	17,9	27,8	26	14,1	72,2	0,494 ^a																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																										
	não	204	46	82,1	22,5	158	85,9	77,5				16AE	sim	31	8	14,3	25,8	23	12,5	74,2	0,727 ^a			não	209	48	85,7	23	161	87,5	77	89IMT	sim	28	18	32,1	64,3	10	5,4	35,7	<0,001 ^a	0,12	0,05 - 0,28	não	212	38	67,9	17,9	174	94,6	82,1	74AS	sim	24	7	12,5	29,2	17	9,2	70,8	0,476 ^a			não	216	49	87,5	22,7	167	90,8	77,3	43RT	sim	13	4	7,1	30,8	9	4,9	69,2	0,508 ^b			não	227	52	92,9	22,9	175	95,1	77,1	58E	sim	12	1	1,8	8,3	11	6,0	91,7	0,304 ^b			não	228	55	98,2	24,1	173	94,0	75,9	85V	sim	11	1	1,8	9,1	10	5,4	90,9	0,465 ^b			não	229	55	98,2	24	174	94,6	76	35G	sim	6	1	1,8	16,7	5	2,7	83,3	1 ^b			não	234	55	98,2	23,5	179	97,3	76,5	92K	sim	6	2	3,6	33,3	4	2,2	66,7	0,626 ^b			não	234	54	96,4	23,1	180	97,8	76,9	55R	sim	5	2	3,6	40	3	1,6	60	0,332 ^b			não	235	54	96,4	23	181	98,4	77	75I	sim	4	0	0,0	0	4	2,2	100	0,576 ^b			não	236	56	100,0	23,7	180	97,8	76,3	83D	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	89V	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	11FITC	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	79AS	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	91S	sim	3	1	1,8	33,3	2	1,1	66,7	0,551 ^b			não	237	55	98,2	23,2	182	98,9	76,8	95F	sim	2	0	0,0	0	2	1,1	100	1 ^b			não	238	56	100,0	23,5	182	98,9	76,5	69K	sim	2	1	1,8	50	1	0,5	50	0,413 ^b			não	238	55	98,2	23,1	183	99,5	76,9																																																																																																																																																																																																				
16AE	sim	31	8	14,3	25,8	23	12,5	74,2	0,727 ^a																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																										
	não	209	48	85,7	23	161	87,5	77				89IMT	sim	28	18	32,1	64,3	10	5,4	35,7	<0,001 ^a	0,12	0,05 - 0,28	não	212	38	67,9	17,9	174	94,6	82,1	74AS	sim	24	7	12,5	29,2	17	9,2	70,8	0,476 ^a			não	216	49	87,5	22,7	167	90,8	77,3	43RT	sim	13	4	7,1	30,8	9	4,9	69,2	0,508 ^b			não	227	52	92,9	22,9	175	95,1	77,1	58E	sim	12	1	1,8	8,3	11	6,0	91,7	0,304 ^b			não	228	55	98,2	24,1	173	94,0	75,9	85V	sim	11	1	1,8	9,1	10	5,4	90,9	0,465 ^b			não	229	55	98,2	24	174	94,6	76	35G	sim	6	1	1,8	16,7	5	2,7	83,3	1 ^b			não	234	55	98,2	23,5	179	97,3	76,5	92K	sim	6	2	3,6	33,3	4	2,2	66,7	0,626 ^b			não	234	54	96,4	23,1	180	97,8	76,9	55R	sim	5	2	3,6	40	3	1,6	60	0,332 ^b			não	235	54	96,4	23	181	98,4	77	75I	sim	4	0	0,0	0	4	2,2	100	0,576 ^b			não	236	56	100,0	23,7	180	97,8	76,3	83D	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	89V	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	11FITC	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	79AS	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	91S	sim	3	1	1,8	33,3	2	1,1	66,7	0,551 ^b			não	237	55	98,2	23,2	182	98,9	76,8	95F	sim	2	0	0,0	0	2	1,1	100	1 ^b			não	238	56	100,0	23,5	182	98,9	76,5	69K	sim	2	1	1,8	50	1	0,5	50	0,413 ^b			não	238	55	98,2	23,1	183	99,5	76,9																																																																																																																																																																																																																								
89IMT	sim	28	18	32,1	64,3	10	5,4	35,7	<0,001 ^a	0,12	0,05 - 0,28																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																								
	não	212	38	67,9	17,9	174	94,6	82,1				74AS	sim	24	7	12,5	29,2	17	9,2	70,8	0,476 ^a			não	216	49	87,5	22,7	167	90,8	77,3	43RT	sim	13	4	7,1	30,8	9	4,9	69,2	0,508 ^b			não	227	52	92,9	22,9	175	95,1	77,1	58E	sim	12	1	1,8	8,3	11	6,0	91,7	0,304 ^b			não	228	55	98,2	24,1	173	94,0	75,9	85V	sim	11	1	1,8	9,1	10	5,4	90,9	0,465 ^b			não	229	55	98,2	24	174	94,6	76	35G	sim	6	1	1,8	16,7	5	2,7	83,3	1 ^b			não	234	55	98,2	23,5	179	97,3	76,5	92K	sim	6	2	3,6	33,3	4	2,2	66,7	0,626 ^b			não	234	54	96,4	23,1	180	97,8	76,9	55R	sim	5	2	3,6	40	3	1,6	60	0,332 ^b			não	235	54	96,4	23	181	98,4	77	75I	sim	4	0	0,0	0	4	2,2	100	0,576 ^b			não	236	56	100,0	23,7	180	97,8	76,3	83D	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	89V	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	11FITC	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	79AS	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	91S	sim	3	1	1,8	33,3	2	1,1	66,7	0,551 ^b			não	237	55	98,2	23,2	182	98,9	76,8	95F	sim	2	0	0,0	0	2	1,1	100	1 ^b			não	238	56	100,0	23,5	182	98,9	76,5	69K	sim	2	1	1,8	50	1	0,5	50	0,413 ^b			não	238	55	98,2	23,1	183	99,5	76,9																																																																																																																																																																																																																																												
74AS	sim	24	7	12,5	29,2	17	9,2	70,8	0,476 ^a																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																										
	não	216	49	87,5	22,7	167	90,8	77,3				43RT	sim	13	4	7,1	30,8	9	4,9	69,2	0,508 ^b			não	227	52	92,9	22,9	175	95,1	77,1	58E	sim	12	1	1,8	8,3	11	6,0	91,7	0,304 ^b			não	228	55	98,2	24,1	173	94,0	75,9	85V	sim	11	1	1,8	9,1	10	5,4	90,9	0,465 ^b			não	229	55	98,2	24	174	94,6	76	35G	sim	6	1	1,8	16,7	5	2,7	83,3	1 ^b			não	234	55	98,2	23,5	179	97,3	76,5	92K	sim	6	2	3,6	33,3	4	2,2	66,7	0,626 ^b			não	234	54	96,4	23,1	180	97,8	76,9	55R	sim	5	2	3,6	40	3	1,6	60	0,332 ^b			não	235	54	96,4	23	181	98,4	77	75I	sim	4	0	0,0	0	4	2,2	100	0,576 ^b			não	236	56	100,0	23,7	180	97,8	76,3	83D	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	89V	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	11FITC	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	79AS	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	91S	sim	3	1	1,8	33,3	2	1,1	66,7	0,551 ^b			não	237	55	98,2	23,2	182	98,9	76,8	95F	sim	2	0	0,0	0	2	1,1	100	1 ^b			não	238	56	100,0	23,5	182	98,9	76,5	69K	sim	2	1	1,8	50	1	0,5	50	0,413 ^b			não	238	55	98,2	23,1	183	99,5	76,9																																																																																																																																																																																																																																																																
43RT	sim	13	4	7,1	30,8	9	4,9	69,2	0,508 ^b																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																										
	não	227	52	92,9	22,9	175	95,1	77,1				58E	sim	12	1	1,8	8,3	11	6,0	91,7	0,304 ^b			não	228	55	98,2	24,1	173	94,0	75,9	85V	sim	11	1	1,8	9,1	10	5,4	90,9	0,465 ^b			não	229	55	98,2	24	174	94,6	76	35G	sim	6	1	1,8	16,7	5	2,7	83,3	1 ^b			não	234	55	98,2	23,5	179	97,3	76,5	92K	sim	6	2	3,6	33,3	4	2,2	66,7	0,626 ^b			não	234	54	96,4	23,1	180	97,8	76,9	55R	sim	5	2	3,6	40	3	1,6	60	0,332 ^b			não	235	54	96,4	23	181	98,4	77	75I	sim	4	0	0,0	0	4	2,2	100	0,576 ^b			não	236	56	100,0	23,7	180	97,8	76,3	83D	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	89V	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	11FITC	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	79AS	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	91S	sim	3	1	1,8	33,3	2	1,1	66,7	0,551 ^b			não	237	55	98,2	23,2	182	98,9	76,8	95F	sim	2	0	0,0	0	2	1,1	100	1 ^b			não	238	56	100,0	23,5	182	98,9	76,5	69K	sim	2	1	1,8	50	1	0,5	50	0,413 ^b			não	238	55	98,2	23,1	183	99,5	76,9																																																																																																																																																																																																																																																																																				
58E	sim	12	1	1,8	8,3	11	6,0	91,7	0,304 ^b																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																										
	não	228	55	98,2	24,1	173	94,0	75,9				85V	sim	11	1	1,8	9,1	10	5,4	90,9	0,465 ^b			não	229	55	98,2	24	174	94,6	76	35G	sim	6	1	1,8	16,7	5	2,7	83,3	1 ^b			não	234	55	98,2	23,5	179	97,3	76,5	92K	sim	6	2	3,6	33,3	4	2,2	66,7	0,626 ^b			não	234	54	96,4	23,1	180	97,8	76,9	55R	sim	5	2	3,6	40	3	1,6	60	0,332 ^b			não	235	54	96,4	23	181	98,4	77	75I	sim	4	0	0,0	0	4	2,2	100	0,576 ^b			não	236	56	100,0	23,7	180	97,8	76,3	83D	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	89V	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	11FITC	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	79AS	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	91S	sim	3	1	1,8	33,3	2	1,1	66,7	0,551 ^b			não	237	55	98,2	23,2	182	98,9	76,8	95F	sim	2	0	0,0	0	2	1,1	100	1 ^b			não	238	56	100,0	23,5	182	98,9	76,5	69K	sim	2	1	1,8	50	1	0,5	50	0,413 ^b			não	238	55	98,2	23,1	183	99,5	76,9																																																																																																																																																																																																																																																																																																								
85V	sim	11	1	1,8	9,1	10	5,4	90,9	0,465 ^b																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																										
	não	229	55	98,2	24	174	94,6	76				35G	sim	6	1	1,8	16,7	5	2,7	83,3	1 ^b			não	234	55	98,2	23,5	179	97,3	76,5	92K	sim	6	2	3,6	33,3	4	2,2	66,7	0,626 ^b			não	234	54	96,4	23,1	180	97,8	76,9	55R	sim	5	2	3,6	40	3	1,6	60	0,332 ^b			não	235	54	96,4	23	181	98,4	77	75I	sim	4	0	0,0	0	4	2,2	100	0,576 ^b			não	236	56	100,0	23,7	180	97,8	76,3	83D	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	89V	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	11FITC	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	79AS	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	91S	sim	3	1	1,8	33,3	2	1,1	66,7	0,551 ^b			não	237	55	98,2	23,2	182	98,9	76,8	95F	sim	2	0	0,0	0	2	1,1	100	1 ^b			não	238	56	100,0	23,5	182	98,9	76,5	69K	sim	2	1	1,8	50	1	0,5	50	0,413 ^b			não	238	55	98,2	23,1	183	99,5	76,9																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
35G	sim	6	1	1,8	16,7	5	2,7	83,3	1 ^b																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																										
	não	234	55	98,2	23,5	179	97,3	76,5				92K	sim	6	2	3,6	33,3	4	2,2	66,7	0,626 ^b			não	234	54	96,4	23,1	180	97,8	76,9	55R	sim	5	2	3,6	40	3	1,6	60	0,332 ^b			não	235	54	96,4	23	181	98,4	77	75I	sim	4	0	0,0	0	4	2,2	100	0,576 ^b			não	236	56	100,0	23,7	180	97,8	76,3	83D	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	89V	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	11FITC	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	79AS	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	91S	sim	3	1	1,8	33,3	2	1,1	66,7	0,551 ^b			não	237	55	98,2	23,2	182	98,9	76,8	95F	sim	2	0	0,0	0	2	1,1	100	1 ^b			não	238	56	100,0	23,5	182	98,9	76,5	69K	sim	2	1	1,8	50	1	0,5	50	0,413 ^b			não	238	55	98,2	23,1	183	99,5	76,9																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																
92K	sim	6	2	3,6	33,3	4	2,2	66,7	0,626 ^b																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																										
	não	234	54	96,4	23,1	180	97,8	76,9				55R	sim	5	2	3,6	40	3	1,6	60	0,332 ^b			não	235	54	96,4	23	181	98,4	77	75I	sim	4	0	0,0	0	4	2,2	100	0,576 ^b			não	236	56	100,0	23,7	180	97,8	76,3	83D	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	89V	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	11FITC	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	79AS	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	91S	sim	3	1	1,8	33,3	2	1,1	66,7	0,551 ^b			não	237	55	98,2	23,2	182	98,9	76,8	95F	sim	2	0	0,0	0	2	1,1	100	1 ^b			não	238	56	100,0	23,5	182	98,9	76,5	69K	sim	2	1	1,8	50	1	0,5	50	0,413 ^b			não	238	55	98,2	23,1	183	99,5	76,9																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																				
55R	sim	5	2	3,6	40	3	1,6	60	0,332 ^b																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																										
	não	235	54	96,4	23	181	98,4	77				75I	sim	4	0	0,0	0	4	2,2	100	0,576 ^b			não	236	56	100,0	23,7	180	97,8	76,3	83D	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	89V	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	11FITC	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	79AS	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	91S	sim	3	1	1,8	33,3	2	1,1	66,7	0,551 ^b			não	237	55	98,2	23,2	182	98,9	76,8	95F	sim	2	0	0,0	0	2	1,1	100	1 ^b			não	238	56	100,0	23,5	182	98,9	76,5	69K	sim	2	1	1,8	50	1	0,5	50	0,413 ^b			não	238	55	98,2	23,1	183	99,5	76,9																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																								
75I	sim	4	0	0,0	0	4	2,2	100	0,576 ^b																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																										
	não	236	56	100,0	23,7	180	97,8	76,3				83D	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	89V	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	11FITC	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	79AS	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	91S	sim	3	1	1,8	33,3	2	1,1	66,7	0,551 ^b			não	237	55	98,2	23,2	182	98,9	76,8	95F	sim	2	0	0,0	0	2	1,1	100	1 ^b			não	238	56	100,0	23,5	182	98,9	76,5	69K	sim	2	1	1,8	50	1	0,5	50	0,413 ^b			não	238	55	98,2	23,1	183	99,5	76,9																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
83D	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																										
	não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7				89V	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b			não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7	11FITC	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	79AS	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	91S	sim	3	1	1,8	33,3	2	1,1	66,7	0,551 ^b			não	237	55	98,2	23,2	182	98,9	76,8	95F	sim	2	0	0,0	0	2	1,1	100	1 ^b			não	238	56	100,0	23,5	182	98,9	76,5	69K	sim	2	1	1,8	50	1	0,5	50	0,413 ^b			não	238	55	98,2	23,1	183	99,5	76,9																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																
89V	sim	4	1	1,8	25	3	1,6	75	1 ^b																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																										
	não	236	55	98,2	23,3	181	98,4	76,7				11FITC	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	79AS	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	91S	sim	3	1	1,8	33,3	2	1,1	66,7	0,551 ^b			não	237	55	98,2	23,2	182	98,9	76,8	95F	sim	2	0	0,0	0	2	1,1	100	1 ^b			não	238	56	100,0	23,5	182	98,9	76,5	69K	sim	2	1	1,8	50	1	0,5	50	0,413 ^b			não	238	55	98,2	23,1	183	99,5	76,9																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																				
11FITC	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																										
	não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4				79AS	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b			não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4	91S	sim	3	1	1,8	33,3	2	1,1	66,7	0,551 ^b			não	237	55	98,2	23,2	182	98,9	76,8	95F	sim	2	0	0,0	0	2	1,1	100	1 ^b			não	238	56	100,0	23,5	182	98,9	76,5	69K	sim	2	1	1,8	50	1	0,5	50	0,413 ^b			não	238	55	98,2	23,1	183	99,5	76,9																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																								
79AS	sim	3	0	0,0	0	3	1,6	100	1 ^b																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																										
	não	237	56	100,0	23,6	181	98,4	76,4				91S	sim	3	1	1,8	33,3	2	1,1	66,7	0,551 ^b			não	237	55	98,2	23,2	182	98,9	76,8	95F	sim	2	0	0,0	0	2	1,1	100	1 ^b			não	238	56	100,0	23,5	182	98,9	76,5	69K	sim	2	1	1,8	50	1	0,5	50	0,413 ^b			não	238	55	98,2	23,1	183	99,5	76,9																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
91S	sim	3	1	1,8	33,3	2	1,1	66,7	0,551 ^b																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																										
	não	237	55	98,2	23,2	182	98,9	76,8				95F	sim	2	0	0,0	0	2	1,1	100	1 ^b			não	238	56	100,0	23,5	182	98,9	76,5	69K	sim	2	1	1,8	50	1	0,5	50	0,413 ^b			não	238	55	98,2	23,1	183	99,5	76,9																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																
95F	sim	2	0	0,0	0	2	1,1	100	1 ^b																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																										
	não	238	56	100,0	23,5	182	98,9	76,5				69K	sim	2	1	1,8	50	1	0,5	50	0,413 ^b			não	238	55	98,2	23,1	183	99,5	76,9																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																				
69K	sim	2	1	1,8	50	1	0,5	50	0,413 ^b																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																										
	não	238	55	98,2	23,1	183	99,5	76,9																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											

34Q	sim	1	0	0,0	0	1	0,5	100	1 ^b		
	não	239	56	100,0	23,4	183	99,5	76,6			
45I	sim	1	0	0,0	0	1	0,5	100	1 ^b		
	não	239	56	100,0	23,4	183	99,5	76,6			
Polimorfismo	sim	208	55	98,2	26,4	153	83,2	73,6	0,004 ^a	0,09	0 - 0,57*
	não	32	1	1,8	3,1	31	16,8	96,9			

N - número absoluto total de casos com e sem a mutação da linha; **n** - número absoluto de casos com e sem a mutação por subtipo; **% linha**- n/N ou prevalência dos subtipos em cada mutação; **%coluna**- n/ total do subtipo (56 ou 184) ou prevalência das mutações em cada subtipo; **subtipo não-B** - subtipos do HIV-1 diferentes do B incluindo A1/F1/BF. **IP** - inibidor da protease; **a**- teste qui-quadrado; **b**- teste exato de Fisher; **OR** - razão das chances a partir do subtipo B ("exposição"), **IC95%** - intervalo de confiança (assintótico ou exato*).

Anexo 9. Resíduos ajustados da análise de comparação entre perfil de resistência aos ITRN e vias mutacionais

Cálculo dos resíduos ajustados na comparação do perfil de resistência aos ITRN de acordo com a via mutacional selecionada (correspondente à tabela 19)			
Droga X Vias mutacionais	Sensível	Intermediária	Resistente
AZT			
TAM 1	-	-2,2241	2,2241
TAM 2	-	8,6151	-8,6151
TAM 1+2	-	-5,3351	5,3351
D4T			
TAM 1	-0,3146	5,7911	-5,5417
TAM 2	4,3052	1,3733	-3,5244
TAM 1+2	-3,3902	-6,4355	8,0456
3TC			
TAM 1	-0,8151	0,0734	0,5563
TAM 2	3,1962	-1,0590	-1,6304
TAM 1+2	-1,9884	0,8376	0,8866
FTC			
TAM 1	-1,9915	1,1665	0,5483
TAM 2	2,7996	-2,4286	-0,1667
TAM 1+2	-0,5807	1,0136	-0,3559
DDI			
TAM 1	-0,4489	3,9566	-3,7239
TAM 2	2,9876	2,6934	-3,6762
TAM 1+2	-2,1431	-5,8955	6,5232
TDF			
TAM 1	2,2070	-1,1159	-1,9050
TAM 2	6,5705	3,1205	-7,3523
TAM 1+2	-7,6161	-1,6504	8,0092
ABC			
TAM 1	0,9839	3,6046	-4,0177
TAM 2	2,1663	-0,9501	-0,3083
TAM 1+2	-2,7439	-2,4645	3,9145
AZT + 3TC			
TAM 1	1,1550	-2,1114	1,5565
TAM 2	1,5282	6,4774	-6,8282
TAM 1+2	-2,3545	-3,6121	4,4159
TDF + 3TC			
TAM 1	1,7064	-1,5491	-0,2501
TAM 2	7,5189	-5,7470	-2,5938
TAM 1+2	-7,9710	6,3151	2,4421

