

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS**

**PREVALÊNCIA DE MUTAÇÕES DO HIV-1 E AVALIAÇÃO DE SUBTIPOS VIRAIS  
EM FALHA TERAPÊUTICA NO ESTADO DO PARÁ**

CARMEN ANDRÉA FREITAS LOPES

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Sprinz

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, UFRGS, como requisito para obtenção do título de Doutor.

Porto Alegre, setembro de 2014

**Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP) –  
Biblioteca da Faculdade de Medicina da UFRGS**

---

Lopes, Carmen Andréa Freitas.

Prevalência de mutações do HIV-1 e avaliação de subtipos virais em falha terapêutica no estado do Pará, Brasil / Carmen Andréa Freitas Lopes. – 2014

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Sprinz.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto Alegre, 2014.

1. AIDS (Doença). 2. HIV (Virus). I. Sprinz, Eduardo, orient. II. Título.

CDD: 23. ed. 616.9792

---

## **Agradecimentos**

A **DEUS**, pois a vontade Dele foi feita: superei adversidades em momentos que jamais pensei que fossem surgir. Desse modo, alcancei mais uma etapa de minha formação extremamente importante ao aprendizado de outros, para cuidar das pessoas que vivem com o vírus da imunodeficiência humana.

A minha mãe, Vera Lúcia, que sempre apoiou a minha vida profissional e, sem restrições ou questionamentos, foi avó e mãe dos meus filhos em todas as minhas ausências, em razão desta longa jornada.

À amiga Edna Porfírio, pelo incentivo à busca do conhecimento, sem jamais nos acomodarmos. Por intermédio dela, iniciei essa jornada e, com ela, caminhei até a reta final.

Ao Prof. Dr. Eduardo Sprinz, por aceitar me conduzir neste projeto, de forma inesperada, e me dar direção necessária para que as etapas fossem concluídas.

Aos professores e alunos do DINTER, que, sem fronteiras, assumiram o ensino e o aprendizado em meio a tantas “diferenças significativas”, que, paradoxalmente, unem e distanciam Norte e Sul do País.

À pesquisadora do Instituto Evandro Chagas Dra. Olinda Macêdo, ao infectologista Dr. José Ricardo e à assistente social Dra. Roseana Cardoso, da Secretaria de Estado de Saúde Pública do Pará, parceiros na questão da Aids, no estado.

Às pessoas que vivem com o vírus da imunodeficiência humana, motivo de aprendizado para uma assistência melhor.

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

John Quincy Adams

## Resumo

**Introdução:** Resistência aos antirretrovirais pode limitar opções de tratamento, principalmente em pacientes com acúmulo de falhas terapêuticas, o que pode comprometer resultados clínicos. **Objetivos:** caracterizar o perfil de mutações na transcriptase reversa e protease do HIV-1 de pacientes em falha ao tratamento. Secundariamente, avaliar associação entre mutações e número de falhas terapêuticas, associação entre mutações e subtipos do HIV-1 e apresentar a evolução temporal da prevalência dos subtipos do HIV-1, no estado do Pará, ao Norte do Brasil. **Método:** Estudo transversal, no qual se avaliam genotipagens, entre janeiro de 2004 a dezembro de 2013, com dados obtidos de formulário de solicitação do exame padronizado pela RENAGENO e de impressos dos resultados, ambos arquivados em quatro serviços de atendimento especializados. Foram incluídos os testes realizados por laboratório da RENAGENO, em maiores de 18 anos, e o primeiro exame daqueles que o realizaram em mais de um momento, totalizando 377 amostras. As mutações são descritas de acordo com o banco de dados de resistência do HIV da Universidade de Stanford (<http://hivdb.stanford.edu>), estimam-se suas prevalências e avaliam-se mutações de resistência de acordo com o número de falhas no momento da genotipagem, bem como diferenças de mutações entre subtipos B e não-B do HIV-1. **Resultados:** A mutação M184V foi a mais prevalente (80,1%), seguida da K130N (40,6%) e TAM. Em pacientes multiexperimentados previamente à genotipagem, resistência a ZDV, d4T e TDF foi associada às mutações M41L, D67N, V118I, L210W, K219Q e T69D; bem como resistência a todos os IP/r associou-se às mutações principais M46I, V82A, L90M, I54V, I84V, M46L e L76V. O subtipo B é o predominante no Pará (90,7%) e diferenças de prevalência de mutações entre subtipos ocorreram entre as mutações L63P e A71T *versus* subtipo B, enquanto as mutações L76V, M36I, K20R, L10V, L89M e F53L associaram-se ao subtipo não-B. **Conclusão:** A seleção de mutações de resistência do HIV-1 relacionada aos antirretrovirais é similar ao descrito em literatura. O acúmulo de falhas ao tratamento favorece a emergência de mutações, o que reforça o monitoramento de falha virológica, seguida de genotipagem para minimizar o impacto de resistência. Estudos adicionais de epidemiologia molecular são necessários para avaliar melhor a questão da prevalência de subtipos de HIV-1 no estado e possíveis associações com mutações de resistência do HIV-1.

**PALAVRAS-CHAVE:** HIV. Resistência às Drogas. Genotipagem. Subtipos. Mutações de Resistência. Resistência Genotípica.

## Abstract

**Introduction:** Resistance to antiretroviral treatment can limit treatment options, especially in patients with accumulation of therapeutic failures, which may compromise clinical outcomes. **Objectives:** characterizing the profile of mutations in the protease and reverse transcriptase of HIV-1 patients in the treatment failure. Secondly to evaluate the association between mutations and the number of treatment failures, association between mutations and subtypes of HIV-1 and present the temporal evolution of the prevalence of subtypes of HIV-1 in the state of Pará in northern Brazil. **Method:** cross-sectional study in which genotyping is evaluated between January, 2004 and December, 2013 with data obtained from the standardized application form for the examination RENAGENO and printed the results, both filed in four specialty care services. We included those by laboratory RENAGENO in 18 years and the first examination in those who underwent more than one time, totaling 377 samples. Mutations are described according to the database of HIV resistance at Stanford University (<http://hivdb.stanford.edu>), estimated their prevalence and resistance is evaluated according to the number of failures at the time of genotyping as well as differences between mutations and subtype B and non-B HIV-1. **Results:** The M184V mutation was the most prevalent (80.1%), followed by K130N (40.6%) and TAM. In patients who received at least three treatments prior to genotyping, resistance to ZDV, d4T and TDF was associated with mutations M41L, D67N, V118I, L210W, K219Q and T69D; well as resistance to all PI / r was associated with the major mutations M46I, V82A, L90M, I54V, I84V M46L and L76V. HIV-1 subtype B was the most prevalent (90.7%) and there were differences between subtypes B versus mutations: L63P and A71T were more frequent in the subtype B, whereas mutations L76V, K20R, L10V, L89M and F53L were in non-B subtypes. **Conclusion:** The selection of resistance mutations in HIV-1 related to antiretroviral is similar to that described in the literature. The accumulation of failures to treatment favors the emergence of mutations, reinforcing the monitoring and evaluation of virologic failure by genotyping to minimize the impact resistance. Additional molecular epidemiological studies are needed to better assess the issue of prevalence of subtypes of HIV-1 in the state and possible associations with resistance mutations in HIV-1.

**Keywords:** HIV. Drug Resistance. Genotyping. Subtypes. Resistance Mutations. Genotypic Resistance.

## Lista de Figuras e Tabelas

<b>Tabela 1 –</b>	Antirretrovirais discriminados por classe terapêuticas e seu licenciamento pelo FDA –EUA .....	20
<b>Table 1.</b>	Characteristics of patients failing cART .....	57
<b>Figure 1.</b>	Prevalence of resistance-associated mutations to the NRTIs (A) and NNRTIs (B). Major mutations (C) and accessory mutations related resistance to the PI (D) .....	68
<b>Figure 2.</b>	Resistance profile of the NRTIs after genotypic analysis using the stanford database stratified by subset of therapeutic failure .....	69
<b>Figure 3.</b>	Resistance profile of the NNRTIs after genotypic analysis using the stanford database stratified by subset of therapeutic failure .....	69
<b>Figure 4.</b>	Resistance profile of the PI after genotypic analysis using the stanford database stratified by subset of therapeutic failure .....	70

## Lista de Abreviaturas

3TC:	lamivudina
ABC:	abacavir
ACTG:	<i>Aids Clinical Trial Group</i>
Aids:	<i>acquired immunodeficiency syndrome</i>
APV:	amprenavir
ARV:	antirretroviral (s)
ATV:	atazanavir
AZT ou ZDV:	azidotimidina ou zidovudina
BENCHMRK:	<i>Blocking integrase in treatment experienced patients with a novel compound against HIV, Merck</i>
CV:	carga viral
CRF:	<i>circulating recombinant forms</i> ; formas recombinantes circulante
DDC:	zalcitabina
DDI:	didanosina
d4T:	estavudina
DRV:	darunavir
DHHS:	<i>Department of Health and Human Services</i>
DLV:	delavirdina
DNA:	<i>deoxyribonucleic acid</i> ; ácido desoxirribonucleico
DUET:	<i>TMC125 to Demonstrate Undetectable viral load in patients Experienced with ARV Therapy</i>
EACS:	<i>European Aids Clinical Society</i>
EFV:	efavirenz
ENF ou T-20:	enfuvirtida
ETR:	etravirina
ENV:	envelope
FC:	<i>fold change</i> ; variação na concentração
FDA:	<i>Food and Drug Administration</i>
FPV:	fos-amprenavir
FTC:	entricitabina
Gag:	<i>group antigen</i> ; antígeno de grupo
gp 120:	glicoproteína 120 do envelope do HIV
gp 41:	glicoproteína 41 do envelope do HIV
HAART:	<i>highly active antiretroviral therapy</i> ; terapia antirretroviral altamente ativa



HIV:	<i>Humanimmunodeficiency vírus</i> ; vírus da imunodeficiência humana
HIV-1:	<i>Humanimmunodeficiency vírus type1</i> ; vírus da imunodeficiência humana tipo 1
IAS:	<i>International AIDS Society</i>
IN:	integrase
IDV:	indinavir
IP:	inibidor de protease
IP/r:	inibidor de protease reforçado com ritonavir
ITRN:	inibidor de transcriptase reversa nucleosídeo
ITRNN:	inibidor de transcriptase reversa não-nucleosídeo
Kb:	kilo bases
LPV:	Lopinavir
LTCD4+:	linfócitos T CD4+
LTRs:	<i>long terminal repeats</i>
MONET:	Monotherapy in Europe with TMC114
NAM:	mutações associadas aos análogos nucleosídeos
NFV:	nelfinavir
NVP:	nevirapina
OMS:	Organização Mundial de Saúde
Pol:	polymerase
POWER:	<i>Performance of TMC114/rwhen evaluated in treatment-experienced patients with PI resistance</i>
PR:	protease
PVHA:	peças vivendo com HIV-Aids
“/r”:	ritonavir em dose de reforço de inibidor da protease
RAL:	raltegravir
RAM:	<i>Resistance associated mutations</i> ; mutações associadas a resistência
RNA:	<i>ribonucleicacid</i> ; ácido ribonucleico
RENAGENO:	Rede Nacional de Genotipagem
RTV:	ritonavir em dose terapêutica plena
SAE:	serviço de atendimento especializado
SQV:	saquinavir
Sida:	síndrome da imunodeficiência adquirida
TAM:	mutações associadas aos análogos da timidina
TARC:	terapia antirretroviral combinada
TDF:	tenofovir
TORO:	<i>T-20 versus Optimized Regimen Only</i>

TPV: tipranavir  
TR: transcriptase reversa  
UNAIDS: The Joint United Nations Programme on HIV/Aids  
URF: *uniquerecombinantforms*; formas recombinantes única

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>13</b>
<b>2.1</b>	<b>Estratégia de Busca e Base de Dados Consolidada .....</b>	<b>13</b>
<b>2.2</b>	<b>HIV-1, replicação e diversidade genética .....</b>	<b>14</b>
<b>2.3</b>	<b>Tratamento Antirretroviral .....</b>	<b>19</b>
<b>2.4</b>	<b>Falha Terapêutica .....</b>	<b>23</b>
<b>2.5</b>	<b>Resistência do HIV-1 .....</b>	<b>27</b>
2.5.1	Resistência Primária ou Transmitida .....	28
2.5.2	Resistência Secundária ou Adquirida .....	29
2.5.3	Mutações de resistência do HIV-1 .....	32
2.5.3.1	<i>Resistência aos ITRN</i> .....	32
2.5.3.2	<i>Resistência aos ITRNN</i> .....	33
2.5.3.3	<i>Resistência aos IP</i> .....	34
<b>2.6</b>	<b>Teste de Genotipagem para o HIV-1 .....</b>	<b>36</b>
<b>3</b>	<b>JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>38</b>
<b>4.</b>	<b>MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>39</b>
<b>5.</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>40</b>
<b>5.1</b>	<b>Objetivo Geral .....</b>	<b>40</b>
<b>5.2</b>	<b>Objetivos Específicos .....</b>	<b>40</b>
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS DA REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>41</b>
<b>7</b>	<b>ARTIGO EM INGLÊS .....</b>	<b>53</b>
<b>8</b>	<b>CONSIDERAÇÕES GERAIS .....</b>	<b>71</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A efetividade do tratamento antirretroviral, apesar de avanços em novos medicamentos, pode ser limitada pelo desenvolvimento da resistência do HIV-1 às drogas. O monitoramento com carga viral é ferramenta indispensável na detecção precoce de falha virológica em pacientes experimentando tratamento inicial ou subsequente. A falha virológica aliada ao perfil genético do vírus, que é obtido por meio da genotipagem, e a disponibilidade de drogas de segunda linha permitem estruturar um novo tratamento supressivo em conformidade com o perfil de sensibilidade sugerido pelo teste de resistência.

Muito embora os perfis de resistência, especialmente para tratamentos de primeira linha que combinam ITRN e ITRNN, sejam esperados. Na falta de dados de resistência transmitida, geralmente limitada por recurso econômico em muitos locais, é prudente, ainda, que, na primeira falha, a troca para esquema subsequente seja subsidiada com teste de resistência, sob pena de mutações pré-existentes impactarem em reduzir a sensibilidade aos antirretrovirais. Em pacientes com múltiplas falhas, padrões de resistência são mais complexos e podem limitar ainda mais o tratamento.

A genotipagem também assume papel importante na determinação de subtipos de HIV-1, os quais têm distribuição global complexa. Embora o subtipo B seja o mais disperso mundialmente, o subtipo C é o predominante e, ainda que o subtipo B seja o prevalente no Brasil, ao Norte do País, dados são escassos. A discussão é ampla na literatura quanto à questão do impacto clínico de tamanha diversidade sem, contudo, um consenso.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 – Estratégia de Busca e Base de Dados Consolidada

Esta revisão de literatura considera resistência do HIV-1 e subtipos virais, com ênfase na falha terapêutica e seleção de mutações de resistência relacionadas aos antirretrovirais. Foi realizada por meio de pesquisa na base de dados Pubmed, limitada a humanos e aos últimos dez anos, utilizando-se as palavras-chave: HIV, *drug resistance*, *genotyping*, *subtypes*, *resistance mutations* and *genotypic resistance*. De acordo com a combinação entre HIV e outra palavra-chave, os artigos foram obtidos. Assim, HIV *versus drug resistance* resultou em 6424 artigos; HIV *versus subtypes*, em 1637 artigos; HIV *versus resistance mutations*, em 1512 artigos; HIV *versus genotyping*, em 940 artigos e HIV *versus genotypic resistance*, em 470 artigos.

Estudos observacionais, a maioria coortes, e alguns ensaios clínicos randomizados, revisões sistemáticas e metanálises subsidiaram esta revisão. Os desfechos de interesse foram prevalência de mutações na transcriptase reversa e protease do HIV-1 na resistência adquirida, o efeito cumulativo de mutações de resistência relacionadas à frequência de falha terapêutica e diferenças de prevalências de mutações entre subtipos virais. Definições de falha virológica, multidroga resistência, resistência (secundária, cruzada e transmitida) e barreira genética foram buscadas. Pesquisas referenciadas pelos artigos selecionados também foram acrescentadas.

Artigos recuperados, pelos termos de busca combinados, que não tinham relação com o assunto não estavam incluídos no nível de evidência descrito anteriormente e aqueles duplicados foram excluídos. Ao final, a revisão foi constituída por 133 artigos.

## 2.2 – HIV-1, replicação e diversidade genética.

A descoberta do retrovírus HIV (*human immune deficiency virus*) em 1984, como causador da epidemia da AIDS (*Acquired Immunodeficiency Syndrome*), impactou em alta morbimortalidade até que o tratamento combinado pudesse ser efetivo e mudasse o cenário da Aids. Atualmente, a morbimortalidade reduziu, entretanto ainda há transmissão viral entre milhões de pessoas mundialmente, de acordo com dados da *Joint United Nations Programme on HIV/AIDS* (UNAIDS) <sup>1</sup>.

O genoma do HIV possui aproximadamente 9,7 Kb e é constituído por genes que codificam as proteínas estruturais: *gag* (*groupantigen*), *pol* (*polymerase*), *env* (*envelop*) e mais seis genes: *tat*, *rev* (regulatórios) e os acessórios: *vif*, *vpu*, *vpr*, *nef*. Há uma sequência intercalada entre esses genes e, nas extremidades do genoma viral, encontram-se as LTRs (*long terminal repeats*), cuja função é auxiliar a integração viral ao DNA celular. O gene *gag* codifica as proteínas do capsídeo viral, o *env*, as do envelope e o *pol*, as enzimas responsáveis pela replicação viral: protease (p10), transcriptase reversa (p66/p51) e integrase (p31), alvos importantes do tratamento antirretroviral combinado (TARC) <sup>2</sup>.

A replicação do HIV abrange a entrada do vírus na célula, transcrição reversa do RNA viral em DNA para integração ao genoma celular, transcrição das proteínas virais e, finalmente, maturação destas. Inicialmente, a ligação do HIV à célula é mediada pelo complexo glicoproteico viral *gp120 - gp41*, pelo qual, a *gp120* une-se ao receptor celular de linfócitos TCD4+ (LTCD4+) e induz a uma alteração conformacional, o que possibilita sua ligação a um dos correceptores celulares (CCR5 ou CXCR4). Isso permite modificações estruturais na *gp 41* e, então, ocorre exposição do peptídeo de fusão nela contido, acontecendo, então, a fusão das membranas viral e celular, estabelecendo-se a entrada do vírus na célula <sup>3</sup>.

Ao penetrar na célula hospedeira por meio da transcriptase reversa (TR), o HIV faz transcrição das fitas de RNA viral em DNA e este é transportado até o núcleo celular, onde, por meio da enzima integrase (IN), é incorporado formando o genoma pró-viral. Ocorre, então, transcrição em RNA viral e produção subsequente de proteínas funcionais e estruturais do HIV regulada pelas LTRs. Em seguida as proteínas virais sofrem clivagem pela enzima protease (PR), tornam-se maduras e brotam na superfície celular como vírus infectantes <sup>3</sup>.

As mutações no genoma do HIV são geradas já na etapa inicial da replicação do vírus, em razão da transcrição imprecisa da TR. Há um posicionamento incorreto de nucleotídeos, que ocorre a cada 10.000 – 30.000 pares de base durante a formação da fita complementar de DNA. Como o genoma do HIV tem, aproximadamente, 10.000 pares de base, em média, uma mutação ocorre cada vez que este é replicado <sup>4,5</sup>.

A elevada capacidade replicativa do HIV, associada a erros inatos da TR geram, independentemente do uso de antirretrovirais, elevada variabilidade genética viral. Surgem variantes virais distintas, mas geneticamente relacionadas, pois são oriundas de uma população viral inicial homogênea ao infectar um indivíduo, denominadas *quasiespécies* do HIV <sup>6-8</sup>

Outro fator importante na seleção de variantes virais diferentes, que pode contribuir para resistência do HIV-1, é a recombinação genética, que se dá por infecção das células por mais de um vírus, representando *quasiespécies* distantes. A TR, ao acaso, “salta” de uma fita de RNA para outra, durante a replicação viral, trocando segmentos de informação gênica entre os genomas virais <sup>5-7</sup>.

A terapia antirretroviral, portanto, não produz resistência, e sim seleciona variantes virais pré-existentes. Replicação viral contínua irá proporcionar competitividade entre as espécies, com consequente adaptação dos vírus mais capacitados. Adaptação viral significa capacidade suficiente para este replicar em tempo hábil e garantir a transmissão de seu

material genético a gerações subsequentes, mesmo em presença de pressão seletiva de um meio <sup>5,6</sup>

Diante do exposto, epidemiologicamente, o HIV possui grande diversidade genética, assim, é classificado em HIV-1 e HIV-2. O HIV-1 tem alto grau de variabilidade genética e é globalmente difundido em subtipos nos Grupos M (*Major*), O (*Outlier*) e N (*Nonmajor e nonoutlier*) <sup>9,10</sup>. Mais recentemente, em Cameronianos, foi descrito um novo grupo reportado como P <sup>11</sup>.

O Grupo M é o predominante e inclui subtipos nomeados por letras e subsubtipos por números. Assim, abrange subtipos A-D, F-H, J e K; e subsubtipos, como A (A1, A2, A3, A4 e A5) e F (F1 e F2). Variações genéticas dentro dos subtipos ocorrem em 15-20% e, entre os subtipos, em 25-35%. Portanto, a recombinação viral amplia a diversidade do HIV que ocorre quando uma pessoa é infectada com subtipos diferentes na mesma célula, gerando *circulating recombinant forms* (CRF) e *unique recombinant forms* (URF). A recombinação identificada em três ou mais pessoas sem vínculo epidemiológico, portanto, que se propagam na população, é chamada CRF e, quando não há este vínculo, URF <sup>9-11</sup>.

A distribuição global de subtipos de HIV-1 é complexa e dinâmica <sup>12</sup>. Entretanto o subtipo B é o mais disperso mundialmente e prevalece nas Américas, na Europa Ocidental, no Japão e na Austrália. Mas, o subtipo C é o predominante no mundo, principalmente na África Subsaariana e na Índia, com tendência de propagação mundial <sup>10</sup>.

No período entre 2000 – 2011, em 51 países da África, 85% de novos infectados foram reportados por serem subtipos não-B (A, C, CRF02\_AG eD) <sup>11</sup>. Nos Estados Unidos, a prevalência de não-B com alta variabilidade genética aumentou de 0, em 2004, para 4,12%, em 2011 <sup>13</sup>. Na região sul da Austrália, entre 2000 – 2010, a prevalência de subtipos não-B aumentou, embora sem significância estatística (p 0.3), com 74% das aquisições no exterior<sup>14</sup>.



No Reino Unido, CRF aumentou, semelhantemente, em diferentes grupos demográficos, quanto à etnia e exposição sexual <sup>15</sup>.

A associação de subtipos de HIV com aspectos demográficos é sugerida por Abecasis et al., 2013<sup>16</sup>, em países da Europa, destacando a imigração como fator primordial para diferentes subtipos virais não-B.

Dados utilizados para definir mutações associadas à resistência (RAM) têm sido gerados normalmente para subtipo B, muito embora subtipos não-B sejam dominantes e estejam aumentando em países nos quais o subtipo B prevalece. É discutido o impacto das RAM, relacionado à diversidade genética do HIV-1, mas dados de estudos clínicos não são bem compreendidos para subtipos não-B, geralmente, limitados por pequenas amostras e de grande diversidade, o que justifica análises de diferenças entre B e não-B, em vez de subtipos não-B individualizados <sup>10,17-19</sup>.

A magnitude de resistência observada entre subtipos diferentes de HIV, avaliada por meio de cultura de tecido, sob pressão seletiva dos antirretrovirais (ARV), mostra algumas particularidades inerentes ao tipo de mutação e o momento de sua emergência. Assim, para os inibidores de transcriptase reversa nucleosídeos (ITRN), a emergência da K65R é mais rápida no subtipo C em relação ao B. Quanto aos inibidores de transcriptase reversa não nucleosídeos (ITRNN), a aquisição da V106M pelo subtipo C, comparada à V106A pelo B confere ampla resistência cruzada dentro da classe. E é sugerido que polimorfismos na protease em não-B podem ser selecionados como mutações de resistência secundária aos inibidores de protease (IP) ou ainda vir a hipersensibilizar alguns ARV, como a I93L no subtipo C, em relação ao lopinavir/ritonavir <sup>10,19</sup>.

De acordo com Kantor et al. 2005 <sup>20</sup>, mutações de resistência na PR e TR em subtipo B são também selecionadas entre os não-B. Mais recentemente, respostas ao tratamento em subtipos diferentes mostram também ser similares <sup>21</sup>. De acordo com Lessllset al., 2012 <sup>22</sup>,

não há evidências convincentes que subtipos devam ser considerados para escolha do tratamento inicial ou de segunda linha. Para Touloumi et al., 2013 <sup>23</sup>, taxas de resposta virológica e ganhos em LTCD4+ são similares entre pacientes com subtipo B e não-B em TARC, mas o poder estatístico limitou este resultado pela raridade de subtipos não-B na amostra estudada.

Em relação à evolução de doença, o impacto em maior progressão para morte foi observado na África, para o subtipo D <sup>9</sup>. Semelhante resultado foi encontrado também em revisão sistemática por Pant Pai et al., 2012 <sup>24</sup>, na qual, o subtipo C e algumas CRF impactaram em morte em pacientes virgens de tratamento. Na Inglaterra, o subtipo D foi associado a um declínio maior de LTCD4+ e à falha virológica <sup>25</sup>.

É importante a identificação do subtipo viral do HIV-1 em estágio inicial da infecção, de acordo com Pant Pai et al., 2012 <sup>24</sup>. Isso reforça a discussão do amplo diagnóstico da infecção pelo HIV, com reconhecimento de subtipos virais e acesso ao tratamento, sobretudo em locais de maior prevalência de subtipos não-B.

De acordo com estudos brasileiros em pacientes virgens de tratamento <sup>26-29</sup> ou sob o uso de TARC <sup>30-34</sup>, o subtipo B é o predominante, seguindo-se dos subtipos C, F e da recombinação B/F <sup>27,33,35-37</sup>. Esporadicamente, na Região Norte do País, em recém-diagnosticados, têm sido descritos os subtipos C e F, o que denota tendência de propagação para esta região <sup>38</sup>.

Entretanto Salemi et al., em 2005 <sup>39</sup>, alertaram que, sobretudo na Região Sul do País, o subtipo C teria uma expansão em torno de duas vezes maior que na África do Sul. Isso é evidenciado com dados recentes de Graf e Pinto 2013 <sup>40</sup>, que descrevem mais de 50% do subtipo C do País concentrado na Região Sul brasileira. Estudos adicionais serão necessários para avaliar o impacto de tamanha expansão e sua propagação ao restante do País, como já observado nas demais regiões.

### 2.3 – Tratamento Antirretroviral

O tratamento antirretroviral objetiva inibir a replicação viral, retardar a progressão para imunodeficiência e restaurar tanto quanto possível a imunidade, melhorando a qualidade e o tempo de vida de pessoas vivendo com HIV-AIDS (PVHA). Apenas uma minoria de pacientes chamados controladores de elite, espontaneamente, mantém viremia baixa e alta contagem de LTCD4+ na ausência de tratamento <sup>41</sup>.

A zidovudina (ZDV) foi o primeiro ARV aprovado pelo *Food and Drug Administration* (FDA) e disponível para uso clínico em 1987. Entretanto o primeiro grande impacto com o tratamento ocorreu em 1996, quando este combinou três ARV de duas a três classes diferentes, a chamada *Highly active antirretroviral therapy* (HAART), o que proporcionou regimes com supressão viral duradoura <sup>41,42</sup>.

Mas a resistência dentro das três classes iniciais de tratamento ITRN, ITRNN e IP, entendida como multidroga resistência (MDR), surge já na primeira década de HAART <sup>42</sup>, e o clássico tratamento precisa ser ampliado, o que ocorre a partir de 2003. Assim, nesse ano, o inibidor de fusão enfuvirtida é licenciado para uso clínico e, em um curto espaço de tempo, entre 2005 – 2008, tipranavir, darunavir, maraviroque, raltegravir e etravirina. Este acontecimento caracterizou o segundo momento de grande impacto no tratamento: supressão viral mesmo em pacientes multiexperimentados e com perfil de resistência às classes terapêuticas iniciais <sup>43,44</sup>. A tabela 1 mostra os ARV disponibilizados para uso clínico conforme licenciamento pelo FDA ([www.fda.gov](http://www.fda.gov)).

Na busca de comodidade posológica, o que favorece a adesão, surgem também formulações combinadas para o tratamento do HIV. Encontram-se disponíveis associações de dois ITRN, entre dois ITRN e um ITRNN (FTC, TDF e rilpivirina) e, mais recentemente, em 2012, a dose fixa combinada inibidor da integrase elvitegravir mais o inibidor do citocromo

P450 3A4 cobicistat, e os ITRN FTC e TDF <sup>45</sup>. Embora haja vantagem de comodidade posológica para adesão, o custo limita a utilização dessas associações.

Tabela 1 – Antirretrovirais discriminados por classe terapêuticas e seu licenciamento pelo FDA – EUA.

<b>Classe Terapêutica</b>	<b>ARV</b>	<b>Sigla</b>	<b>Data de aprovação pelo FDA</b>
		AZT ou	
ITRN	Azidotimidina ou zidovudina	ZDV	19 março, 1987
ITRN	Didanosina	DDI	9 outubro, 1991
ITRN	Estavudina	d4T	24 junho, 1994
ITRN	Lamivudina	3TC	17 novembro, 1995
IP	Mesilato de Saquinavir	SQV	6 dezembro, 1995
IP	Ritonavir	RTV	1 março, 1996
IP	Indinavir	IDV	13 março, 1996
ITRNN	Nevirapina	NVP	21 junho, 1996
IP	Nelfinavir	NFV	14 março, 1997
ITRNN	Delavirdina	DLV	4 abril, 1997
IP	Saquinavir	SQV	7 novembro, 1997
ITRNN	Efavirenz	EFV	17 setembro, 1998
ITRN	Abacavir	ABC	17 dezembro, 1998
IP	Amprenavir	APV	15 abril, 1999
IP	Lopinavir/ritonavir	LPV/r	15 setembro, 2000
ITRN	Didanosina revestimento entérico	DDI EC	31 outubro, 2000
ITRN	Tenofovir	TDF	26 outubro, 2001
Inibidor de fusão	Enfuvirtida	T-20	13 março, 2003
IP	Atazanavir	ATV	20 junho, 2003
ITRN	Emtricitabina	FTC	2 julho, 2003
IP	Fosamprenavir	FOS-APV	20 outubro, 2003
IP	Tipranavir	TPV	22 junho, 2005
IP	Darunavir	DRV	23 junho, 2006
Antagonista do co-receptor CCR5	Maraviroc	MVC	6 agosto, 2007
INSTI	Raltegravir	RAL	12 outubro, 2007
ITRNN	Etravirina	ETR	18 janeiro, 2008
ITRNN	Rilpivirina	RPV	20 maio, 2011
INSTI	Dolutegravir	DTG	12 agosto, 2013

FDA, *FoodandDrugAdministration*; ITRN, inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos; ITRNN, inibidores da transcriptase reversa não-análogos de nucleosídeos; IP, inibidores da protease; INSTI, inibidores da integrase.

Entretanto, apesar de avanços terapêuticos, ainda não é possível erradicar o HIV, pois *pool* de LTCD4+ de memória funciona como reservatórios latentes de vírus <sup>46</sup>. Felizmente, como já referido, elevada taxa de supressão viral, na atualidade, pode ser alcançada mesmo

em pacientes experimentados a tratamentos na era pré-HAART ou estruturados com IP de primeira geração, sem o reforço de RTV, que, portanto, foram mais predispostos à resistência viral<sup>42,47</sup>.

Apesar de discussão pertinente à sustentabilidade de testagem e tratamento universal para PVHA por Wagner B.G. e Blower S. 2012<sup>48</sup>, presentemente, estabeleceu-se, em unanimidade, o tratamento universal como prevenção da infecção pelo HIV. Mas um efeito em cascata deve ser construído para alcance desta meta: ampliar o diagnóstico, garantir vínculo das PVHA a um serviço de saúde e estimular o tratamento<sup>1,49</sup>. Isso demanda custo financeiro, o que abrange também programas de adesão, estes indispensáveis em contribuir para a supressão viral duradoura e, assim, minimizar morbimortalidade, transmissibilidade e desenvolvimento de resistência<sup>50</sup>.

De acordo com Montaner 2013<sup>51</sup>, tratar precocemente a infecção pelo HIV impacta em melhor recuperação de LTCD4+, aumento significativo da supressão viral, redução de transmissibilidade e não há risco de resistência relevante. Os estudos observacionais pertinentes ao tratamento precoce da infecção viral ganharam maior evidência com os resultados do grande ensaio clínico randomizado HIV *Prevention Trial Network* 052 (ECR HPTN052), que motivou grandemente o tratamento subsequente ao diagnóstico<sup>52-54</sup>.

A avaliação interina do ECR HPTN052 mostrou uma redução em 96% de transmissão sexual do HIV entre heterossexuais sorodiscordantes (RR 0,04; IC 95% 0,01-0,27, com  $p < 0,001$ ) e em fase 3, redução de morbimortalidade incluindo não relacionada à Aids (RR 0,59; IC 95% 0,4-0,88), quando o tratamento foi iniciado com LTCD4+ entre 350 e 550 células em relação àqueles cujo tratamento foi postergado para um LTCD4+ inferior a 250 células/mm<sup>3</sup><sup>52,54</sup>.

O Brasil é destaque mundial no cenário de assistência terapêutica aos pacientes infectados pelo HIV. Até dezembro de 2012, cerca de 313.000 PVHA receberam TARC e,

destes, 76% estavam com CV  $\leq 50$  cópias de HIV RNA/ml <sup>49</sup>, o que alcança um dos indicadores de alerta precoce de resistência ao HIV norteados pela Organização Mundial de Saúde (OMS) <sup>50</sup>. É consensual no País a política do uso racional e sequencial de terapias alternativas na falha terapêutica. O Ministério da Saúde disponibiliza exames de genotipagem para subsidiar troca do tratamento diante da falha, definida por critérios da Rede Nacional de Genotipagem (RENAGENO), e também pré-tratamento para grávidas infectadas pelo HIV e para aqueles que são parceiros de PVHA em uso de TARC <sup>55</sup>.

Pelo presente protocolo brasileiro <sup>55</sup>, à semelhança de diretrizes internacionais <sup>56,57</sup>, deve-se estimular o início da TARC independentemente do estado imunológico do paciente. Com base na eficácia, na tolerância e no perfil de toxicidade dos ARV, o regime inicial de tratamento associa dois ITRN a um ITRNN ou um IP/r <sup>55</sup>, podendo ser, ainda, um inibidor da integrase ou até, raramente, um antagonista do CCR5 <sup>56</sup>.

Normalmente, os ITRN recomendados são o TDF mais 3TC ou FTC e o ITRNN EFV, preferencialmente em formulações combinadas, o que torna possível uma dose fixa diária, a exemplo de FTC, TDF e EFV disponível nas comunidades europeia e norte-americana <sup>56-58</sup>. Esquemas estruturados com IP/r são alternativos aos com ITRNN, sugerindo-se ATV/r ou DRV/r por diretrizes norte-americanas <sup>56,57</sup> e Européia <sup>58</sup>. Contudo, pelo Protocolo Brasileiro, LPV/r é o IP/r preferido, justificado por ser o único IP coformulado com RTV e com mais estudos enfatizando a duração da supressão viral prolongada <sup>55</sup>.

No Brasil, de acordo com o Departamento de DST-AIDS e Hepatites Virais, encontram-se disponíveis para uso clínico: 1- ITRN: ABC, DDI, 3TC, ZDV ou AZT, a formulação combinada AZT+3TC e um análogo ao nucleotídeo, o TDF. 2- ITRNN: EFV, NVP e ETR. 3- IP: ATV, APV, DRV, FOS-APV, IDV, LPV/r, RTV, SQV e TPV. 4- O inibidor da integrase raltegravir. 5- O inibidor de fusão ENF ou T-20 e 6- O inibidor de CCR5 MVC <sup>55</sup>.

Os antirretrovirais ETR, RAL, DRV/r, TPV/r, MVC e T-20, pela política brasileira, são medicamentos de uso restrito para pacientes em falha terapêutica aos ITRN, ITRNN e IP. Esta falha deverá ser comprovada com o exame de genotipagem da transcriptase reversa e protease do HIV demonstrando mutações de resistência dentro das três classes. As mutações devem impossibilitar um novo regime com pelo menos dois ou três ARV com plena atividade<sup>55</sup>.

A enfuvirtida, droga que impactou em aumento na sobrevida de pacientes MDR<sup>42</sup>, ultimamente, é reservada para aqueles sem outras opções que permitam estruturar um regime de resgate<sup>55</sup>. É adequado também enfatizar que o benefício clínico do maraviroque ocorre em vírus com tropismo para o correceptor CCR5, portanto, é necessário teste comprobatório deste tropismo<sup>42</sup>. A partir da disponibilização de ARV que atuam em novos alvos de replicação viral, a RENAGENO ampliou a genotipagem da TR e PR do HIV para os novos alvos, o que inclui a glicoproteína 41 do HIV-1, que avalia mutações relacionadas ao T-20, e o teste de tropismo, para identificar os pacientes com HIV CCR5 trópicos<sup>59</sup>.

Embora a duração da efetividade tratamentos com NVP na Europa tenha sido sugerida ser semelhante à dos constituídos por EFV ou LPV/r<sup>60</sup>, o risco de perda da atividade de regimes terapêuticos com ITRNN comparados à estruturados com IP/r foi estimado em 13,3 IC 95% (4,1 – 42,8, p <0,001), de acordo com Scherrer, 2012<sup>61</sup>, e metanálise recente, realizada por Pilay P 2013<sup>62</sup>, conclui que EFV, na primeira linha de tratamento, é significativamente menos propenso à falha virológica que NVP, o que dá base para o EFV ser preferível à utilização de NVP em tratamentos iniciais.

## **2.4 – Falha Terapêutica**

O TARC reduz CV a limites inferiores de detecção dos testes mais sensíveis, freando a progressão de doença e mortalidade relacionada ou não à Aids<sup>63,64</sup>. Mas supressão viral pode

não ocorrer e diretrizes de tratamento são implementadas mundialmente no monitoramento da falha terapêutica, em conformidade com políticas de saúde global, nacional, regional e local <sup>55-58</sup>. Entre essas diretrizes, a quantificação viral é ferramenta indispensável no reconhecimento da falha <sup>65</sup>.

Falha ao tratamento pode ser percebida clinicamente pela progressão de doença, ser imunológica pelo declínio ou não recuperação de LTCD4+ ou ainda ser virológica, quando a supressão viral não ocorre ou há recuperação viral plasmática após supressão <sup>66</sup>.

Crterios clnico ou imunolgico tm baixa sensibilidade para sugerir falha virolgica <sup>67,68</sup>, o que pode retardar condutas clnicas mediante falha, ou favorecer trocas de tratamento desnecessrias. Entretanto, independente do critrio utilizado, se correto, poder minmizar a mortalidade. Isso sugido por coortes realizadas na Regio Subsaariana da rfrica, cuja prevalncia de mortalidade foi alta, cerca de 11,7%, naqueles que, a despeito de falha imunolgica e virolgica, o tratamento inicial foi mantido, contrastando com 4,2% de mortes quando houve falha e o TARC foi substitudo <sup>69</sup>.

De acordo com Gallant J. E. 2007 <sup>66</sup>, considera-se falha virolgica quando em 24 semanas de tratamento, a mensurao plasmtica de HIV for superior a 400 cpias/ml ou se na 48<sup>a</sup> semana de tratamento, a CV estiver detectvel acima de 50 cpias/ml. Bogoch I. e Walmsley S. 2009 <sup>70</sup> concordam com esta definio, mas acrescentam neste conceito a recuperao virolgica, aps confirmao de nveis de HIV-RNA superiores a 50 cpias/ml. E, de acordo com Sarmiento-Castro R. et al. 2011 <sup>71</sup>, falha virolgica g determinada com nveis de HIV-RNA superiores a 50 cpias/ml j aps a 24<sup>a</sup> semana de tratamento.

A no supresso do HIV pode ser atribu da baixa potncia do TARC, ao HIV na presena de resistncia transmitida e a inmeros fatores relacionados ao paciente, que interferem diretamente na adesao <sup>72</sup>.



Cada esquema ARV deve combinar potência, eficácia e boa tolerância. O uso de tratamentos subótimos, na década de 90 e no início da década de 2000, foram fatores importantes que explicaram grande parte da falha terapêutica<sup>73-75</sup>. Além disso, baixa barreira genética das drogas utilizadas é um fator que predispõe a insucesso ao tratamento. Assim, os regimes estruturados com ITRNN em relação aos IP/r, embora tenham potência similar, são mais propensos à falha, pela menor barreira genética<sup>61,72</sup>.

Detectar falha virológica mais cedo durante o tratamento impacta em menor resistência viral e maior possibilidade de reestruturar um novo tratamento, como sugere a metanálise realizada por Gupta R. K. et al. 2009<sup>76</sup>. Neste estudo, os tratamentos tiveram por base os ITRNN e a resistência foi significativamente maior na falha virológica em infreqüentemente monitorados, com quantificação viral 88,3%, *versus* freqüentemente monitorados, 61%.

É igualmente importante rastrear resistência transmitida em início de tratamento, diante do risco de falha por mutações pré-existentes. Estudo de múltiplas coortes na Europa, em regime inicial de tratamento, mostrou, aos 12 meses de tratamento, falha virológica significativa a favor do grupo identificado com resistência transmitida, no qual nenhuma das drogas utilizadas apresentava atividade antirretroviral. Estimou-se um *hazard ratio* de diferença em falha virológica de 3,13 (IC 95% 2,33 – 4,20, p <0,0001) entre pacientes com resistência transmitida mais resistência a pelo menos uma droga e aqueles sem resistência transmitida, o que reforça o benefício que a genotipagem possa ter previamente ao tratamento<sup>77</sup>.

Estudos provenientes da Região Subsaariana da África, Ásia e América Latina foram compilados em uma metanálise por Gupta et al., 2012<sup>78</sup>. Apenas na América Latina, não houve modificação na prevalência de resistência transmitida ao longo de 8 anos de implantação da TARC. Na África, significativo aumento de resistência ocorreu, chegando em

torno de 30% ao ano para ITRNN. Mais de 50% dos pacientes infectados pelo HIV, contendo RAM para ITRNN, já traziam consigo a mutação K103N, o que impacta negativamente na utilização de ARV desta classe. Isso é preocupante, é causa de falha, além de demandar custos com a utilização de IP e drogas de outras classes, sobretudo em países com baixa renda <sup>79</sup>.

Inúmeros fatores interferem na adesão ao tratamento. O impacto de eventos adversos (EA) dos antirretrovirais, específicos ou não, aumenta o risco em não supressão viral. Entretanto nem todos os EA levam a não adesão e a relevância de cada um deve ser identificada de modo a permitir intervenção apropriada em favor da adesão <sup>80</sup>.

Múltiplas doses de medicamentos podem comprometer resposta a um tratamento. E, em se tratando de infecção pelo HIV, doença de evolução crônica, o avançar da idade predispõe comorbidades e necessidade de tratamentos adicionais como o uso de hipolipemiantes <sup>81</sup>. Então, os antirretrovirais coformulados surgem com a expectativa de minimizar a não adesão <sup>82</sup>. Mas estes podem ser inviáveis para uso clínico de alguns, em face de custos e contraindicações, como acontece com o TDF, que, a despeito de suas várias coformulações, é contraindicado na insuficiência renal <sup>81</sup>.

Um escore de risco de falha foi desenvolvido por Robbins G.K. et al. 2010 <sup>83</sup>, por meio das variáveis aderência subótima, LTCD4+ inferior a 100 células, uso de drogas ou álcool, utilização de vários ARV, perda de seguimento em consultas e falha virológica prévia. O risco foi estimado em baixo (inferior a 5%), médio (risco entre 5 – 15%) e alto (risco maior que 15%) se até uma variável, duas a três, e quatro ou mais, respectivamente, foram encontradas.

Mas estimar risco de falha é difícil. As variáveis utilizadas, bem como a mensuração delas devem ser adequadas a peculiaridades das amostras ou populações estudadas para que o *score* possa impactar em alguma significância clínica e em medidas de saúde pública. Diante

disso, coortes tentam estimar falha virológica, bem como explicar ou prever os fatores relacionados a ela, de acordo com as particularidades de cada amostra analisada <sup>84-86</sup>.

A prevalência de falha aos ITRN, ITRNN e IP é estimada de 2,1% a 16%, de acordo com Francesca Cossarini et al., 2013 <sup>87</sup>. Desse modo, na possibilidade de resistência às três classes, o que leva a multidroga resistência, ampliar genotipagem para a integrase e para a glicoproteína 41 é recomendado, além de se instituir o tropismo viral do HIV, por meio do teste de tropismo. Os resultados desta conduta podem ampliar a possibilidade de combinação de ARV plenamente ativo <sup>87,88</sup>.

## 2.5 – Resistência do HIV-1

A resistência do HIV-1 ao tratamento pode ser celular ou viral. A primeira ocorre quando há interferência na penetração ou ativação da droga no meio celular e a seguinte pode ser compreendida como resistência primária ou transmitida e ainda resistência secundária ou adquirida ao uso dos ARV <sup>43</sup>.

Os pacientes infectados pelo HIV portando mutações de resistência provenientes de um indivíduo já exposto aos ARV possuem resistência transmitida <sup>43,72</sup>. Essas mutações podem persistir em cronicamente infectados <sup>89</sup>, a despeito de relatos de declínio em anos mais recentes <sup>90</sup>. Já as mutações de resistência secundária surgem em decorrência da pressão seletiva dos ARV <sup>72</sup> e podem não ser detectadas na ausência dos antirretrovirais pela reemergência da população viral selvagem <sup>8</sup>.

A genotipagem é o teste de resistência normalmente disponível na prática clínica. Por meio dele são detectadas substituições, inserções ou deleções de aminoácidos na sequência de nucleotídeos do genoma do HIV, o que caracteriza as mutações. Outro teste, a fenotipagem mensura a redução da atividade *in vitro* do ARV analisado. A quantidade de droga necessária para inibir a replicação do HIV é avaliada em *fold change*, o que significa dizer variação da

concentração do ARV, capaz de impactar na replicação viral comparada ao que seria necessário para inibir o vírus selvagem <sup>8</sup>.

Vigilância da resistência do HIV-1 é recomendada pela OMS em pacientes com infecção recente e naqueles em tratamento, objetivando intervenções para garantir redução de transmissibilidade e sucesso terapêutico. A prevalência de resistência transmitida pode ser estimada em população recentemente infectada como baixa, se inferior a 5%; moderada, se entre 5 e 15%; e elevada, quando acima de 15% <sup>72</sup>; e naqueles em tratamento, a mesma pode ser monitorada por meio de indicadores de alarme precoce de resistência do HIV às drogas <sup>50</sup>.

#### 2.5.1 – Resistência Primária ou Transmitida

O impacto de resistência transmitida em pacientes de países desenvolvidos comparado àqueles de países de baixo ou médio recurso econômico é menor, pois o acesso à genotipagem prévia ao tratamento, em países desenvolvidos, possibilita estruturar tratamentos em conformidade com a sensibilidade encontrada pelo teste de resistência <sup>91</sup>.

Contrariamente, em países de escasso recurso econômico como os da Região Subsaariana da África, CV e genotipagem são pouco disponibilizados. Isso contribui para um limitado conhecimento da falha terapêutica, das mutações de resistência e do aumento de resistência transmitida, esta, reconhecidamente, crescente para ITRNN nesses países <sup>92</sup>. Somando-se a isso, é previsto que a mortalidade seja significativa se tratamentos alternativos não forem disponibilizados amplamente para essas regiões <sup>93</sup>.

Com o propósito de comparar taxas de resistência transmitida em períodos distintos e em regiões diferentes e, assim, intensificar medidas preventivas na propagação das mutações de resistência, a OMS instituiu um programa global de vigilância de resistência genotípica do HIV-1. Esta vigilância toma por base uma lista de mutações na PR e TR que causam

resistência do HIV-1 às drogas, não ocorrem sob pressão seletiva dos ARV e são comuns aos subtipos de HIV <sup>94-96</sup>.

Porém estimar a prevalência de RAM é difícil, sobretudo em países em condição socioeconômica desfavorável, nos quais a ampliação do TARC não foi acompanhada de infraestrutura laboratorial para monitorar falha e identificar padrões mutacionais <sup>91,93</sup>. Nestes, geralmente, apenas o parâmetro clínico e ou imunológico subsidia a troca de tratamento, não permitindo detectar mutações de resistência e, portanto, avaliar sua prevalência <sup>93</sup>.

Alguns autores sugerem que a genotipagem prévia ao tratamento pode ser custo efetivo em locais cuja prevalência de resistência transmitida é alta, considerando a associação de resistência e não supressão <sup>97</sup>. Mas o impacto econômico de resistência transmitida, sobretudo para ITRNN, utilizada frequentemente como primeira linha de tratamento, é discutido sem, contudo, uma compreensão de suas consequências econômicas <sup>98</sup>.

Estudos mostram haver estabilização ou declínio de taxas de resistência transmitida para os países da Europa, 8,4% entre 2002 – 2005 <sup>99</sup>, em Nova York, 11% entre 2006 – 2010, <sup>100</sup> e na Ásia, em países mais desenvolvidos, como o Taiwan e Hong Kong, porém com aumento no Japão <sup>101</sup>.

Entretanto, de acordo com Castro et al., 2013 <sup>89</sup>, persistência de mutações de resistência transmitida enfatizando ITRN representadas pelas TAM M41L, D67N, L210W e K219Q/N prevaleceu sobre mutações relacionadas a ITRNN e IP, o que pode impactar no pilar do tratamento antirretroviral que são os ITRN.

### 2.5.2 – Resistência Secundária ou Adquirida

A quantidade ou a facilidade com que as mutações emergem e determinam resistência aos ARV significam barreira genética <sup>8,43</sup>. Esta é elevada quanto maior a necessidade do HIV

em acumular mutações para se tornar resistente a um determinado ARV, o que significa maior potência da droga <sup>3</sup>, tal como é observado em relação a alguns ARV mais recentemente incorporados para o uso clínico <sup>102</sup>.

O HIV tem habilidade para se adaptar ao meio em que se encontra e, assim, ter capacidade de replicar: do inglês *fitness*, o que é mensurado indiretamente na prática clínica pela CV plasmática. As mutações de resistência geralmente determinam um impacto negativo nesta replicação, contudo temporariamente, pois mutações compensatórias ou acessórias, como observado na TR, PR e IN, podem surgir e recuperar o *fitness* do vírus <sup>3,46</sup>.

Padrões de resistência detectável na primeira falha combinando ITRN e ITRNN são previsíveis e têm um baixo risco de comprometer uma segunda linha de tratamento, se identificada a falha até 12 meses do início do tratamento <sup>103,104</sup>.

Uma proporção de 76 a 90% de PVHA em tratamento de primeira linha com ITRNN alcança supressão viral aos 12 meses de TARC. Em não suprimidos, em igual período, cerca de 60 a 72% são identificados com resistência, o que contribui para que aproximadamente 22% daqueles que recebem o tratamento de segunda linha não alcancem supressão viral aos 6 meses <sup>104</sup>.

Em geral, os tratamentos com base em ITRNN ou com IP sem incremento do RTV em relação àqueles estruturados com IP e reforçados com ritonavir, designados por “/r”, são mais susceptíveis à resistência <sup>91</sup>.

Ravindra Gupta et al., 2008 <sup>105</sup>, compararam ECR de regimes terapêuticos de primeira linha compostos por ITRNN e IP/r e observaram que, embora não tenha ocorrido diferença em risco de falha virológica entre os grupos de tratamento, a mutação M184V em experimentados a ITRNN foi significativamente prevalente em relação ao grupo IP/r. Resultados semelhantes foram descritos em metanálise mais recente em 2013, realizada por Hill et al., 2013 <sup>106</sup>. Nesta, significativa prevalência de K65R e M184V/I foi achada naqueles

tratados com ITRNN em relação aos tratados com IP/r, o que corrobora a maior barreira genética para IP/r.

O acúmulo de mutações restaura progressivamente a capacidade de replicação viral e, na ausência de tratamento supressivo, pode haver impacto clínico negativo, como aconteceu ao fim da primeira década de HAART, em relação à morbimortalidade <sup>73-75</sup>

Diferentes estratégias foram utilizadas no manuseio à resistência a multidroga resistência. Desta forma, a utilização de regimes incluindo dois IP, a interrupção estruturada de tratamento e até tratamentos conhecidos como mega-HAART foram utilizados até que ECR (TORO, RESIST, POWER, DUET, BENCHMRK e MOTIVATE) subsidiados com testes de resistência puderam comprovar a eficácia de novos ARV na supressão viral <sup>42</sup>.

Mais recentemente, um grande estudo avaliou a tendência de resultados clínicos e virológicos em pacientes com falha virológica e resistência às três classes iniciais ao tratamento do HIV na última década. O PLATO II mostrou que houve um aumento na proporção de resposta virológica de 19,5% em 2000, para 57,9% em 2009 ( $p < 0,0001$ ), além de diminuição em taxas de incidência de Aids e mortalidade, embora para mortalidade não tenha sido significativa <sup>107</sup>.

Observam-se, com a introdução de novos antirretrovirais nas classes antigas, ARV combinados e novas classes de tratamento, possibilidades adicionais de supressão para pacientes extensamente experimentados, que alcançam taxas de supressão viral semelhantes em pacientes iniciando tratamento <sup>88,108</sup>.

Tendência para o declínio de mutações de resistência do HIV-1 foi registrada nos Estados Unidos, entre 2003 – 2010 <sup>109</sup>. E estudos mostram uma tendência de redução significativa da prevalência de MDR em países desenvolvidos, como observado em Portugal, entre 2001 – 2012 <sup>110</sup>, e em outros países da Europa, como Suécia e França <sup>46</sup>.

### 2.5.3- Mutações de resistência do HIV-1

As mutações que ocorrem no genoma viral selvagem originam cepas virais capazes de se replicarem na presença dos antirretrovirais <sup>111</sup>. Normalmente, os testes de genotipagem reproduzem uma sequência completa de 297 nucleotídeos ou 99 aminoácidos na PR e 40 a 240 posições de aminoácidos na TR. A última contém a maioria das mutações relacionadas a ITRN e ITRNN <sup>43</sup>.

#### 2.5.3.1 – Resistência aos ITRN

Os ITRN são estruturalmente parecidos com os nucleosídeos verdadeiros: DDI e TDF assemelham-se à adenosina; ABC, à guanosina; 3TC e FTC, à citosina; e ZDV mais D4T, à timidina. Por conseguinte, as drogas atuam competitivamente com esses nucleosídeos e interrompem a formação do DNA pró-viral, processo conhecido como terminação da cadeia de DNA <sup>43</sup>.

Um dos mecanismos que explicam a resistência aos ITRN ocorre quando a TR diferencia o ITRN do nucleosídeo verdadeiro e faz a incorporação do nucleosídeo verdadeiro em vez do ARV, o que mantém a síntese do DNA viral <sup>112</sup>. As mutações M184V, Q151M, L74V e K65R emergem por este mecanismo <sup>43,113</sup>.

Pirofosforólise via adenosina trifosfato ou excisão nucleotídica é outro mecanismo de resistência aos ITRN <sup>112</sup>. A TR tem a habilidade em remover o ITRN já fixado ao final da cadeia e permitir que a síntese da cadeia de DNA viral seja retomada. As mutações dos análogos da timidina (TAM) M41L, D67N, K70R, T215F/Y, K219Q/E, por grande afinidade às pirofosfatases celulares, levam a pirofosforólise dos análogos de nucleosídeos e consequente desprendimento das drogas da cadeia de DNA <sup>43,113</sup>.



A pressão seletiva de diferentes drogas da classe seleciona mutações específicas. Desse modo, a M184V emerge do uso do 3TC e FTC, a L74V pelo DDI, a K65R pelo TDF e as TAM pelos análogos da timidina ZDV e D4T. Entretanto resistência cruzada, que ocorre quando há diminuição de susceptibilidade a algum ARV da mesma classe, sem ainda ter sido utilizado, é comum aos ITRN. Dessa maneira, as TAM estendem resistência ao TDF, ABC e DDI<sup>43,94</sup>. Por outro lado, mutação pode ainda ser benéfica, assim M184V atenua o impacto de resistência *in vitro* ao AZT, D4T e TDF<sup>94</sup>.

A emergência das TAM pode seguir vias mutacionais distintas: via mutacional TAM 1 (M41L, L210W e T215Y) e via TAM 2 (D67N, K70R, T215F e K219Q/E). Isso gera impacto de resistência diferente do HIV-1 aos ITRN<sup>112</sup>. A via TAM 1 proporciona ampla resistência cruzada do HIV-1 dentro da classe, o que pode comprometer o TDF, ainda que na presença de M184V, mutação implicada em redução do *fitness* do HIV<sup>94</sup>. A emergência de 4 ou 5 TAM mais a M184V é um padrão mutacional frequente, que causa ampla resistência aos ITRN<sup>43</sup>. Somando-se ao exposto, os vírus que possuem TAM, ao sofrerem pressão seletiva pelo TDF, ABC e DDI, são mais propensos a selecionar mais TAM que propriamente a K65R<sup>94,112</sup>.

Padrões de multirresistência aos ITRN ocorrem pela presença do complexo Q151M (presença desta mutação e um grupo de mutações acessórias), complexo de inserção no códon 69 (caracteristicamente T69S, seguida da inserção de dois ou mais aminoácidos) e pela presença de TAM, como descrito anteriormente<sup>94,114</sup>. A substituição Q151M vem precedida geralmente de A62V, V75I, F77L e F116Y, ocorrendo este complexo em apenas 5% dos multirresistentes<sup>94</sup>.

#### 2.5.3.2 – Resistência aos ITRNN

Os ITRNN atuam especificamente contra o HIV-1. Esses medicamentos agem diretamente na enzima TR determinando sua inativação. Uma única mutação impacta em resistência aos ITRNN de primeira geração e, como geralmente as mutações são selecionadas em códons comuns aos fármacos do grupo, há resistência ampla à classe <sup>113</sup>.

A baixa barreira genética, e uma lenta reversão destas mutações na ausência de droga contribuem para a transmissão e a estabilidade de resistência aos ITRNN de primeira geração <sup>112</sup>. Felizmente, o paradigma da baixa barreira genética dos ITRNN, definido por não ter atividade residual e ter ampla resistência na classe, foi modificado com o licenciamento para uso clínico do ITRNN de segunda geração etravirina, em 2008 <sup>45,113</sup>.

As mutações mais comuns aos ITRNN são L100I, K101E/P, K103N/S, V106A/M, Y181C/I/V, Y188L, G190A/S/E e M230L. Todas elas, à exceção da L100I, causam alto grau de resistência a NVP e, à exceção da V106A e Y181C/I/V, as demais impactam em moderado a alto grau de resistência ao EFV <sup>43</sup>.

Tratamentos estruturados com NVP selecionam mais a Y181C e aqueles com EFV mais a K103N. A primeira mutação implica em resistência a etravirina, medicamento para o qual a seleção de duas ou mais mutações é necessária para impactar em reduzida sensibilidade, normalmente avaliada por escore ponderado de mutações <sup>43,115</sup>. A ETR é um ITRNN de segunda geração ativo em vírus que contém a K103N, a mutação mais frequente relacionada aos ITRNN de primeira geração, que causa resistência cruzada a classe <sup>113</sup>.

#### 2.5.3.3 – Resistência aos IP

Os IP ocupam o sítio ativo da protease, impedindo que as poliproteínas virais lhes sejam fixadas para maturação viral. No entanto mutações associadas à resistência na PR diminuem o tempo de ligação da droga ao sítio ativo da enzima e retomam o processo de replicação do vírus <sup>43</sup>. Mecanismo adicional desta resistência é explicado por mutações no

sítio de clivagem da protease, codificada pelo gene *gag* e normalmente não avaliada pelos testes de genotipagem convencionais utilizados na prática clínica, o que pode subestimar resistência na protease <sup>43,46</sup>.

Estrategicamente, com intuito de inibir o citocromo P450 (CYP) 3A e aumentar o nível sérico de outros IP, utiliza-se o ritonavir em baixas doses consideradas de reforço. Desse modo, LPV/r, AMP/r, DRV/r e TPR/r produzem melhor supressão viral e impactam em menos mutações na PR <sup>43,45</sup>.

As mutações principais selecionadas pelos IP, comparadas às acessórias, causam grande impacto na protease. As acessórias, por sua vez, podem estar presentes como polimorfismos comuns na protease em pacientes virgens de tratamento. A importância delas relaciona-se à capacidade que possuem para compensar a perda do *fitness* do vírus pela presença das mutações principais, o que mantém a estabilidade de resistência às drogas <sup>114,116,117</sup>.

De acordo com Tang e Shafer 2012 <sup>43</sup>, as mutações principais que comprometem a susceptibilidade aos IP são: D30N, V32I, M46IL, G48VM, I50V/L, I54V/T/A/L/M, L76V, V82A/F/T/S, I84V, N88S e L90M. À exceção da D30N, mutação de resistência do NFV e I50L à do atazanavir, há necessidade de uma ou mais mutações principais, uma ou mais mutações acessórias e mutações no sítio de clivagem da protease para determinar resistência, o que explica a elevada barreira genética para IP reforçada com ritonavir, como LPV/r, DRV/r e TPV/r.

O espectro de mutações relacionadas a esta classe é muito diverso e sua interpretação pode ser difícil quando muitas mutações coexistem em um mesmo vírus ou algum padrão não usual é encontrado <sup>94,114</sup>.

Aos IP mais antigos: saquinavir, nelfinavir, indinavir e ritonavir, há um elevado grau de resistência cruzada, em decorrência de substituições em códons afins, como o 82, 84 e 90

<sup>94</sup>. Para o LPV/r e DRV/r, IP com melhor barreira genética, requerem-se, no mínimo, 3 ou 4 mutações para que resistência se estabeleça ao LPV/r e mais mutações para determinar resistência ao DRV/r. Mutações para estes IP podem aumentar a susceptibilidade ao TPV/r, este frequentemente ativo em vírus resistentes ao LPV/r e ocasionalmente ativo em vírus resistentes ao DRV/r <sup>43</sup>.

Darunavir/ritonavir foi superior ao LPV/r, tanto em pacientes virgens como em experimentados ao tratamento de acordo com Madruga et al., 2007 <sup>118</sup>, havendo menor perda de sensibilidade e menor acúmulo de mutações, respectivamente. O *score* de mutações que confere resistência ao DRV/r incluiu 3 mutações ou mais para impactar em resposta reduzida, e sua ótima resposta fenotípica é associada com um *fold change* menor ou igual a 10.

Os estudos MONET <sup>119</sup> e MONOI <sup>120</sup> comprovam não inferioridade do DRV/r como monoterapia. Entretanto os pacientes, inicialmente, foram tratados com esquemas combinados com três drogas e, após supressão viral, seus tratamentos foram simplificados para monoterapia com DRV/r mantendo altas taxas de supressão viral contínua.

## 2.6 - Teste de Genotipagem para o HIV-1

A partir de 2003, em pacientes multiexperimentados com poucas possibilidades de tratamento, a genotipagem reveste-se como uma ferramenta indispensável em ensaios clínicos para novos ARV. Por meio de escores de sensibilidade genotípica, combinados ou não a escores de sensibilidade fenotípica, terapia de base otimizada (TBO) foi estruturada para os estudos e, dessa maneira, as novas drogas associadas à TBO foram analisadas e incorporadas para uso clínico: enfuvirtida <sup>121,122</sup>, tipranavir <sup>123,124</sup>, darunavir <sup>125</sup>, etravirina <sup>126,127</sup>, raltegravir <sup>128</sup> e maraviroque <sup>129</sup>.

Entretanto a genotipagem também apresenta limitações. Uma delas recai sobre a baixa sensibilidade dos testes, atualmente disponíveis na prática clínica, para detectar variantes

minoritárias resistentes, que podem impactar em falha ao tratamento <sup>91</sup>. Estas têm sido detectadas principalmente na exposição à dose única de nevirapina, previamente, ao início de tratamento à base de ITRNN e até em vírus com tropismo CXCR4, o que pode predispor falha ao maraviroque <sup>130</sup>.

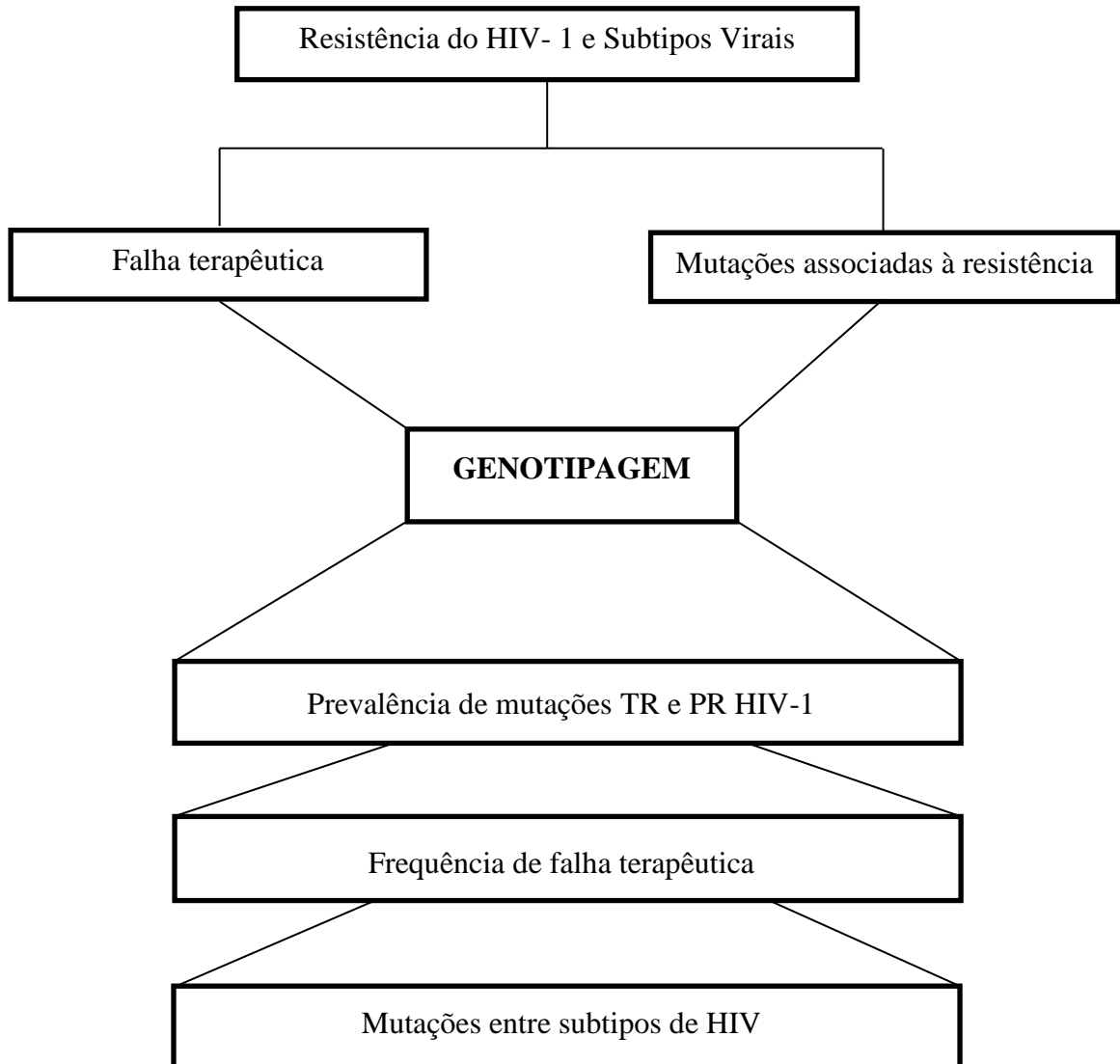
As dificuldades na interpretação do teste de resistência são um grande desafio. Resultados dos testes de genotipagem são interpretados, geralmente, por meio de listas de mutações <sup>94,114</sup> ou por meio de banco de dados computadorizados, como o da Universidade de Stanford, por regras que classificam o vírus como “susceptível”, “baixo grau de resistência”, “resistência intermediária” e “alto grau de resistência”<sup>131</sup>.

A construção de algoritmos para a interpretação das mutações é um processo que requer atualização frequente em face da grande diversidade viral, desconhecendo-se o seu real impacto em resposta terapêutica, e variações podem existir entre os diferentes algoritmos <sup>132</sup>. Uma forma de avaliar e comparar a predição de resistência que os algoritmos fazem é por meio da resposta virológica frente à modificação do tratamento que toma por base a resistência sugerida pelo algoritmo. Utilizando esta metodologia, Frentz et al., 2010 <sup>133</sup> observaram resistência semelhante entre os sistemas mais utilizados globalmente *Agence Nationale de recherches sur le SIDA (ANRS)*, Rega e Stanford HIVdb.

### 3 JUSTIFICATIVA

A Região Norte do Brasil apresenta taxas crescentes de Aids nos últimos anos e o estado do Pará concentra grande parte de seus municípios com as maiores taxas, incluindo sua capital, Belém, a cidade mais populosa do Norte do País. Dados publicados acerca do perfil de resistência do HIV-1 daqueles que falham ao tratamento antirretroviral no Pará são escassos e com pequenas amostras. Da mesma forma, registros epidemiológicos da propagação de subtipos do HIV-1 no estado não têm sido avaliados. É importante, em nível de saúde pública, conhecer o perfil de resistência e os subtipos circulantes, para fins de adoção de medidas que auxiliem supressão viral duradoura e possam prevenir transmissibilidade de cepas virais resistentes.

## 4 MARCO TEÓRICO



## **5 OBJETIVOS**

### **5.1 – Objetivo Geral**

Caracterizar as mutações de resistência do HIV-1 aos antirretrovirais.

### **5.2 – Objetivos Específicos**

- Avaliar o efeito cumulativo de falhas terapêuticas e resistência viral.
- Avaliar associação de mutações entre os subtipos B e não-B do HIV-1
- Apresentar a evolução temporal da prevalência dos subtipos B e não-B do HIV-1.



## 6 REFERÊNCIAS DA REVISÃO DE LITERATURA

1. UNAIDS. GLOBAL REPORT: UNAIDS report on the global AIDS epidemic 2013.; 2013. Available at: [www.unaids.gov](http://www.unaids.gov).
2. Cleghorn. Principles and Practice of Infectious Diseases. 2005:2133.
3. Michaud V, Bar-Magen T, Turgeon J, Flockhart D, Desta Z, Wainberg M a. The dual role of pharmacogenetics in HIV treatment: mutations and polymorphisms regulating antiretroviral drug resistance and disposition. *Pharmacol Rev.* 2012 July;64(3):803–33.
4. Hu W-S, Hughes SH. HIV-1 reverse transcription. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012 June;2(10).
5. Winters MA, Grant RM. Mechanisms of HIV-1 drug resistance. *AIDS.* 2006;15 Suppl 5:S27–34.
6. Coffin JM. HIV population dynamics in vivo: implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy. *Science.* 1995 Jan.;267(5197):483–9.
7. Simon V, Ho DD, Abdool Karim Q. HIV/AIDS epidemiology, pathogenesis, prevention, and treatment. *Lancet.* 2006 Aug.;368(9534):489–504.
8. Paredes R, Clotet B. Clinical management of HIV-1 resistance. *Antiviral Res.* 2010 Apr.;85(1):245–65.
9. Taylor BS, Hammer SM. The challenge of HIV-1 subtype diversity. *N Engl J Med.* 2008 Aug.;359(18):1965–6.
10. Wainberg MA, Brenner BG. The Impact of HIV Genetic Polymorphisms and Subtype Differences on the Occurrence of Resistance to Antiretroviral Drugs. *Mol Biol Int.* 2012 Apr.;2012:256982.
11. Lihana RW, Ssemwanga D, Abimiku A, Ndembu N. Update on HIV-1 diversity in Africa: a decade in review. *AIDS Rev.* 2012 Apr./June;14(2):83–100.
12. Aldrich C, Hemelaar J. Global HIV-1 diversity surveillance. *Trends Mol Med.* 2012 Dec.;18(12):691–4.
13. Pyne MT, Hackett J, Holzmayer V, Hillyard DR. Large-scale analysis of the prevalence and geographic distribution of HIV-1 non-B variants in the United States. *J Clin Microbiol.* 2013 Aug.;51(8):2662–9.
14. Hawke KG, Waddell RG, Gordon DL, Ratcliff RM, Ward PR, Kaldor JM. HIV non-B subtype distribution: emerging trends and risk factors for imported and local infections newly diagnosed in South Australia. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2013 Feb.;29(2):311–7.

15. Uk T, Group C, Resistance HIVD. The increasing genetic diversity of HIV-1 in the UK, 2002-2010. *AIDS*. Nov. 2014;(October 2013):773–780.
16. Abecasis AB, Wensing AMJ, Paraskevis D, et al. HIV-1 subtype distribution and its demographic determinants in newly diagnosed patients in Europe suggest highly compartmentalized epidemics. *Retrovirology*. 2013 Jan.;10:7.
17. Kantor R. Impact of HIV-1 pol diversity on drug resistance and its clinical implications. *Curr Opin Infect Dis*. 2006 Dec.;19(6):594–606.
18. Brenner BG. Resistance and viral subtypes: how important are the differences and why do they occur? *Curr Opin HIV AIDS*. 2007 Mar.;2(2):94–102.
19. Martínez-Cajas JL, Pant-Pai N, Klein MB, Wainberg MA. Role of genetic diversity amongst HIV-1 non-B subtypes in drug resistance: a systematic review of virologic and biochemical evidence. *AIDS Rev*. 2008 Dec.;10(4):212–23.
20. Kantor R, Katzenstein D a, 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 Apr.;2(4):e112.
21. Franzetti M, Violin M, Casazza G, et al. Human immunodeficiency virus-1 B and non-B subtypes with the same drug resistance pattern respond similarly to antiretroviral therapy. *Clin Microbiol Infect*. 2012 Mar.;18(3):E66–70.
22. Lessells RJ, Katzenstein DK, de Oliveira T. Are subtype differences important in HIV drug resistance? *Curr Opin Virol*. 2012 Oct.;2(5):636–43.
23. Touloumi G, Pantazis N, Chaix M-L, et al. Virologic and immunologic response to cART by HIV-1 subtype in the CASCADE collaboration. *PLoS One*. 2013 July;8(7):e71174.
24. Pant Pai N, Shivkumar S, Cajas JM. Does genetic diversity of HIV-1 non-B subtypes differentially impact disease progression in treatment-naïve HIV-1-infected individuals? A systematic review of evidence: 1996-2010. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2012 Apr.;59(4):382–8.
25. Easterbrook PJ, Smith M, Mullen J, et al. Impact of HIV-1 viral subtype on disease progression and response to antiretroviral therapy. *J Int AIDS Soc*. 2010 Feb.;13:4.
26. Inocencio L a, Pereira A a, Sucupira MC a, et al. Brazilian Network for HIV Drug Resistance Surveillance: a survey of individuals recently diagnosed with HIV. *J Int AIDS Soc*. 2009 May;12:20.

27. Sprinz E, Netto EM, Patelli M, et al. Primary antiretroviral drug resistance among HIV type 1-infected individuals in Brazil. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2009 Feb.;25(9):861–7.
28. Gaspareto KV, Mello FMMDA, Dias JRC, et al. Genetic diversity and primary resistance among HIV-1-positive patients from Maringá, Paraná, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2012 Aug.;54(4):207–213.
29. Arruda E, Simões L, Sucupira C, et al. Intermediate prevalence of HIV type 1 primary antiretroviral resistance in Ceará State, Northeast Brazil. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2011 Feb.;27(2):153–6.
30. Couto-Fernandez JC, Silva-de-Jesus C, Veloso VG, et al. Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) genotyping in Rio de Janeiro, Brazil: assessing subtype and drug-resistance associated mutations in HIV-1 infected individuals failing highly active antiretroviral therapy. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2005 Feb.;100(1):73–8.
31. Cavalcanti AMS, Lacerda HR, Brito AM De, Pereira S, Medeiros D, Oliveira S. 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*. 2007 Nov.;102(7):785–92.
32. Machado LFA, Ishak MOG, Vallinoto ACR, et al. Molecular epidemiology of HIV type 1 in northern Brazil: identification of subtypes C and D and the introduction of CRF02\_AG in the Amazon region of Brazil. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2009;25(10):961–6.
33. Toledo PVM, Carvalho DS de, Romagnoli L, et al. HIV-1 genotypic resistance profile of patients failing antiretroviral therapy in Paraná, Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2010 Feb.;14(4):360–71.
34. Westin MR, Biscione FM, Fonseca M, et al. Resistance-associated mutation prevalence according to subtypes B and non-B of HIV type 1 in antiretroviral-experienced patients in Minas Gerais, Brazil. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2011 Sept.;27(9):981–7.
35. Bermúdez-Aza EH, Kerr LRFS, Kendall C, et al. Antiretroviral drug resistance in a respondent-driven sample of HIV-infected men who have sex with men in Brazil. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2011 Aug.;57 Suppl 3:S186–92.
36. Almeida SE, de Medeiros RM, Junqueira DM, et al. Temporal dynamics of HIV-1 circulating subtypes in distinct exposure categories in southern Brazil. *Virol J*. 2012;9:306.

37. Alcalde R, Guimarães ML, Duarte AJS, Casseb J. Clinical, epidemiological and molecular features of the HIV-1 subtype C and recombinant forms that are circulating in the city of São Paulo, Brazil. *Virol J.* 2012 Dec.;9:156.
38. Carvalho BC, Cardoso LPV, Damasceno S, Stefani MM de A. Moderate prevalence of transmitted drug resistance and interiorization of HIV type 1 subtype C in the inland North State of Tocantins, Brazil. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2011 Oct.;27(10):1081–7.
39. Salemi M, de Oliveira T, Soares M a, et al. Different epidemic potentials of the HIV-1B and C subtypes. *J Mol Evol.* 2005 May;60(5):598–605.
40. Gräf T, Pinto AR. The increasing prevalence of HIV-1 subtype C in Southern Brazil and its dispersion through the continent. *Virology.* 2013 Jan.;435(1):170–8.
41. Palmisano L, Vella S. A brief history of antiretroviral therapy of HIV infection: success and challenges. *Ann Ist Super Sanita.* 2011;47(1):44–8.
42. Harris M, Nosyk B, Harrigan R, Lima VD, Cohen C, Montaner J. Cost-Effectiveness of Antiretroviral Therapy for Multidrug-Resistant HIV: Past, Present, and Future. *AIDS Res Treat.* 2012;2012:595762.
43. Tang MW, Shafer RW. HIV-1 antiretroviral resistance: scientific principles and clinical applications. *Drugs.* 2012 June;72(9):e1–25.
44. Yazdanpanah Y. Multidrug resistance: a clinical approach. *Curr Opin HIV AIDS.* 2009;4(6):499–506.
45. Menéndez-Arias L. Molecular basis of human immunodeficiency virus type 1 drug resistance: overview and recent developments. *Antiviral Res.* 2013 Apr.;98(1):93–120.
46. Siliciano JD, Siliciano RF. Recent trends in HIV-1 drug resistance. *Curr Opin Virol.* 2013 Oct.;3(5):487–94.
47. Vidal JE, Song ATW, Matos ML, et al. High rate of virologic suppression with darunavir/ritonavir plus optimized background therapy among highly antiretroviral-experienced HIV-infected patients: results of a prospective cohort study in São Paulo, Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2013 May/June;17(1):41–7.
48. Wagner BG, Blower S. Universal access to HIV treatment versus universal “test and treat”: transmission, drug resistance & treatment costs. *PLoS One.* 2012 Sept.;7(9):e41212.
49. Brasil. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico HIV/AIDS. 2013:64.
50. Bennett DE, Jordan MR, Bertagnolio S, et al. HIV drug resistance early warning indicators in cohorts of individuals starting antiretroviral therapy between 2004 and

- 2009: World Health Organization global report from 50 countries. *Clin Infect Dis*. 2012 May;54 Suppl 4(Suppl 4):S280–9.
51. Montaner JSG. Treatment as prevention: toward an AIDS-free generation. *Top Antivir Med*. 2013 July/Aug.;21(3):110–4.
  52. Cohen MS, Chen YQ, McCauley M, et al. Prevention of HIV-1 infection with early antiretroviral therapy. *N Engl J Med*. 2011 Aug.;365(6):493–505.
  53. Cohen MS, McCauley M, Gamble TR. HIV treatment as prevention and HPTN 052. *Curr Opin HIV AIDS*. 2012 Mar.;7(2):99–105.
  54. Grinsztejn B, Hosseinipour MC, Ribaldo HJ, et al. Effects of early versus delayed initiation of antiretroviral treatment on clinical outcomes of HIV-1 infection: results from the phase 3 HPTN 052 randomised controlled trial. *Lancet Infect Dis*. 2014 Mar.;14(4):281–90.
  55. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST Aids e HV. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para manejo da infecção pelo HIV em adultos. 2013. Disponível em : [http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2013/55308/protocolo\\_13\\_3\\_2014\\_pdf\\_28003.pdf](http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2013/55308/protocolo_13_3_2014_pdf_28003.pdf).
  56. Thompson MA, Aberg JA, Hoy JF, et al. Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2012 recommendations of the International Antiviral Society-USA panel. *JAMA*. 2012 July;308(4):387–402.
  57. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-infected adults and adolescents. 2013 May:79–104.
  58. European AIDS Clinical Society (EACS). October 2013. 2013;(October):0–81. Available at: <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:October+2013#1>. Accessed May 6, 2014.
  59. Brasil. Ministério da Saúde. Política brasileira de enfrentamento da aids. Brasília: MS, 2012.
  60. Reekie J, Reiss P, Ledergerber B, et al. A comparison of the long-term durability of nevirapine, efavirenz and lopinavir in routine clinical practice in Europe: a EuroSIDA study. *HIV Med*. 2011 May;12(5):259–68.
  61. Scherrer AU, Böni J, Yerly S, et al. Long-lasting protection of activity of nucleoside reverse transcriptase inhibitors and protease inhibitors (PIs) by boosted PI containing regimens. *PLoS One*. 2012 June;7(11):e50307.

62. Pillay P, Ford N, Shubber Z, Ferrand R a. Outcomes for efavirenz versus nevirapine-containing regimens for treatment of HIV-1 infection: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2013 July;8(7):e68995.
63. Bracciale L, Di Giambenedetto S, Colafigli M, et al. Virological suppression reduces clinical progression in patients with multiclass-resistant HIV type 1. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2009 Mar.;25(3):261–7.
64. Broder S. The development of antiretroviral therapy and its impact on the HIV-1/AIDS pandemic. *Antiviral Res*. 2010 Jan.;85(1):1–18.
65. Bonner K, Mezocho A, Roberts T, Ford N, Cohn J. Viral load monitoring as a tool to reinforce adherence: a systematic review. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2013 Sept.;64(1):74–8.
66. Gallant JE. Approach to the treatment-experienced patient. *Infect Dis Clin North Am*. 2007 Mar.;21(1):85–102, viii–ix.
67. Ferreyra C, Yun O, Eisenberg N, et al. Evaluation of clinical and immunological markers for predicting virological failure in a HIV/AIDS treatment cohort in Busia, Kenya. *PLoS One*. 2012 Nov.;7(11):e49834.
68. Ingole N, Mehta P, Pazare A, Paranjpe S, Sarkate P. Performance of immunological response in predicting virological failure. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2013 Mar.;29(3):541–6.
69. Keiser O, Tweya H, Braitstein P, et al. Mortality after failure of antiretroviral therapy in sub-Saharan Africa. *Trop Med Int Health*. 2010 Feb.;15(2):251–8.
70. Bogoch I, Walmsley S. First-line regimen failure of antiretroviral therapy: a clinical and evidence-based approach. *Curr Opin HIV AIDS*. 2009 Nov.;4(6):493–8.
71. Sarmiento-Castro R, Vasconcelos C, Aguas MJ, Marques R, Oliveira J. Virologic suppression in treatment-experienced patients after virologic rebound or failure of therapy. *Curr Opin HIV AIDS*. 2011 Dec.;6 Suppl 1(Table 1):S12–20.
72. WHO. HIV drug resistance report 2012. Washington: WHO, 2012.
73. 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. *PLoS Med*. 2006 Sept.;3(9):e356.
74. Napravnik S, Keys JR, Quinlivan EB, Wohl D a, Mikeal O V, Eron JJ. Triple-class antiretroviral drug resistance: risk and predictors among HIV-1-infected patients. *AIDS*. 2007 Apr.;21(7):825–34.

75. Zaccarelli M, Tozzi V, Lorenzini P, et al. Multiple drug class-wide resistance associated with poorer survival after treatment failure in a cohort of HIV-infected patients. *AIDS*. 2005 July;19(10):1081–9.
76. Gupta RK, Hill A, Sawyer AW, et al. Virological monitoring and resistance to first-line highly active antiretroviral therapy in adults infected with HIV-1 treated under WHO guidelines: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2009 July;9(7):409–417.
77. Wittkop L, Günthard HF, de Wolf F, et al. Effect of transmitted drug resistance on virological and immunological response to initial combination antiretroviral therapy for HIV (EuroCoord-CHAIN joint project): a European multicohort study. *Lancet Infect Dis*. 2011 July;11(5):363–71.
78. Gupta RK, Jordan MR, Sultan BJ, et al. Global trends in antiretroviral resistance in treatment-naïve individuals with HIV after rollout of antiretroviral treatment in resource-limited settings: a global collaborative study and meta-regression analysis. *Lancet*. 2012 Oct.;380(9849):1250–8.
79. Hamers RL, Sigaloff KCE, Wensing AM, et al. Patterns of HIV-1 drug resistance after first-line antiretroviral therapy (ART) failure in 6 sub-Saharan African countries: implications for second-line ART strategies. *Clin Infect Dis*. 2012 June;54(11):1660–9.
80. Al-Dakkak I, Patel S, McCann E, Gadkari A, Prajapati G, Maiese EM. The impact of specific HIV treatment-related adverse events on adherence to antiretroviral therapy: a systematic review and meta-analysis. *AIDS Care*. 2013;25(4):400–14.
81. Edelman EJ, Gordon KS, Glover J, McNicholl IR, Fiellin D a, Justice AC. The next therapeutic challenge in HIV: polypharmacy. *Drugs Aging*. 2013 Aug.;30(8):613–28.
82. Llibre JM, Arribas JR, Domingo P, et al. Clinical implications of fixed-dose coformulations of antiretrovirals on the outcome of HIV-1 therapy. *AIDS*. 2011 Sept.;25(14):1683–90.
83. Robbins GK, Johnson KL, Chang Y, et al. Predicting virologic failure in an HIV clinic. *Clin Infect Dis*. 2010 Mar.;50(5):779–86.
84. Fox MP, Cutsem G Van, Giddy J, et al. Rates and predictors of failure of first-line antiretroviral therapy and switch to second-line ART in South Africa. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2012 Aug.;60(4):428–37.
85. Ribeiro FA, Tupinambás U, Fonseca MO, Greco DB. Durability of the first combined antiretroviral regimen in patients with AIDS at a reference center in Belo Horizonte, Brazil, from 1996 to 2005. *Braz J Infect Dis*. 2012 Jan./Feb.;16(1):27–33.

86. Messou E, Chaix M, Gabillard D, et al. Association between medication possession ratio, virologic failure and drug resistance in HIV-1-infected adults on antiretroviral therapy in Côte d'Ivoire. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2011 Apr.;56(4):356–64.
87. Cossarini F, Spagnuolo V, Gianotti N, Carbone A, Lazzarin A, Castagna A. Management of HIV infection after triple class failure. *New Microbiol*. 2013 Jan.;36(1):23–39.
88. Imaz A, Falcó V, Ribera E. Antiretroviral salvage therapy for multiclass drug-resistant HIV-1-infected patients: from clinical trials to daily clinical practice. *AIDS Rev*. 2011 Jul/Sept.;13(3):180–93.
89. Castro H, Pillay D, Cane P, et al. Persistence of HIV-1 transmitted drug resistance mutations. *J Infect Dis*. 2013 Nov.;208(9):1459–63.
90. Oette M, Reuter S, Kaiser R, et al. Epidemiology of transmitted drug resistance in chronically HIV-infected patients in Germany: the RESINA study 2001-2009. *Intervirology*. 2012;55(2):154–9.
91. Pennings PS. HIV Drug Resistance: Problems and Perspectives. *Infect Dis Rep*. 2013 Jan.;5(Suppl 1):e5.
92. Hamers RL, Sigaloff KCE, Kityo C, Mugenyi P, de Wit TFR. Emerging HIV-1 drug resistance after roll-out of antiretroviral therapy in sub-Saharan Africa. *Curr Opin HIV AIDS*. 2013 Jan.;8(1):19–26.
93. Cambiano V, Bertagnolio S, Jordan MR, Lundgren JD, Phillips A. Transmission of drug resistant HIV and its potential impact on mortality and treatment outcomes in resource-limited settings. *J Infect Dis*. 2013 Jun.;207 Suppl (Suppl 2):S57–62.
94. Shafer RW, Schapiro JM. HIV-1 drug resistance mutations: an updated framework for the second decade of HAART. *AIDS Rev*. 2008 Apr./June;10(2):67–84.
95. Bennett DE, Myatt M, Bertagnolio S, Sutherland D, Gilks CF. Recommendations for surveillance of transmitted HIV drug resistance in countries scaling up antiretroviral treatment. *Antivir Ther*. 2008 Apr.;13 Suppl 2:25–36.
96. Bennett DE, Camacho RJ, Otelea D, et al. Drug resistance mutations for surveillance of transmitted HIV-1 drug-resistance: 2009 update. *PLoS One*. 2009 Mar.;4(3):e4724.
97. Gagliani LH, Alkmim Maia WT, Sá-Filho D, et al. The association between primary antiretroviral resistance and HAART virologic failure in a developing set. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2011 Mar.;27(3):251–6.



98. Snedecor SJ, Khachatryan A, Nedrow K, et al. The prevalence of transmitted resistance to first-generation non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors and its potential economic impact in HIV-infected patients. *PLoS One*. 2013 Aug.;8(8):e72784.
99. Vercauteren J, Wensing AMJ, van de Vijver D a MC, et al. Transmission of drug-resistant HIV-1 is stabilizing in Europe. *J Infect Dis*. 2009 Nov.;200(10):1503–8.
100. Torian L V, Forgione L a. Transmitted antiretroviral drug resistance in New York City, 2006-2010: the first five years of routine genotype surveillance. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2013 July;63(3):e119–22.
101. Sohn AH, Srikantiah P, Sungkanuparph S, Zhang F. Transmitted HIV drug resistance in Asia. *Curr Opin HIV AIDS*. 2013 Jan.;8(1):27–33.
102. Von Wyl V, Yerly S, Böni J, et al. Incidence of HIV-1 drug resistance among antiretroviral treatment-naïve individuals starting modern therapy combinations. *Clin Infect Dis*. 2012 Jan.;54(1):131–40.
103. Barth RE, van der Loeff MFS, Schuurman R, Hoepelman AIM, Wensing AMJ. Virological follow-up of adult patients in antiretroviral treatment programmes in sub-Saharan Africa: a systematic review. *Lancet Infect Dis*. 2010 Mar.;10(3):155–66.
104. Hosseinipour MC, Gupta RK, Van Zyl G, Eron JJ, Nachega JB. Emergence of HIV drug resistance during first- and second-line antiretroviral therapy in resource-limited settings. *J Infect Dis*. 2013;207 Suppl (Suppl 2):S49–56.
105. Gupta R, Hill A, Sawyer AW, Pillay D. Emergence of drug resistance in HIV type 1-infected patients after receipt of first-line highly active antiretroviral therapy: a systematic review of clinical trials. *Clin Infect Dis*. 2008 Sept.;47(5):712–22.
106. Hill A, McBride A, Sawyer a W, Clumeck N, Gupta RK. Resistance at virological failure using boosted protease inhibitors versus nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors as first-line antiretroviral therapy--implications for sustained efficacy of ART in resource-limited settings. *J Infect Dis*. 2013 June;207 Suppl (Suppl 2):S78–84.
107. Costagliola D, Ledergerber B, Torti C, et al. Trends in virological and clinical outcomes in individuals with HIV-1 infection and virological failure of drugs from three antiretroviral drug classes: a cohort study. *Lancet Infect Dis*. 2012 Feb.;12(2):119–27.
108. Imaz A, Llibre JM, Mora M, et al. Efficacy and safety of nucleoside reverse transcriptase inhibitor-sparing salvage therapy for multidrug-resistant HIV-1 infection based on new-class and new-generation antiretrovirals. *J Antimicrob Chemother*. 2011 Sept.;66(2):358–62.

109. Miller MD, Haddad M, Su C, Gibbs C, McColl DJ, Guyer B. Trends in HIV-1 reverse transcriptase resistance-associated mutations and antiretroviral prescription data from 2003-2010. *Antivir Ther.* 2012;17(6):993–9.
110. Vercauteren J, Theys K, Carvalho AP, et al. The demise of multidrug-resistant HIV-1: the national time trend in Portugal. *J Antimicrob Chemother.* 2013 Apr.;68(4):911–4.
111. Cortez KJ, Maldarelli F. Clinical management of HIV drug resistance. *Viruses.* 2011 Apr.;3(4):347–78.
112. Arts EJ, Hazuda DJ. HIV-1 antiretroviral drug therapy. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012 Apr.;2(4):a007161.
113. Asahchop EL, Wainberg M a, Sloan RD, Tremblay CL. Antiviral drug resistance and the need for development of new HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012 Oct.;56(10):5000–8.
114. Johnson V a, Calvez V, Gunthard HF, et al. Update of the drug resistance mutations in HIV-1: March 2013. *Top Antivir Med.* 2013 Feb./Mar.;21(1):6–14.
115. Vingerhoets J, Tambuyzer L, Azijn H, et al. Resistance profile of etravirine: combined analysis of baseline genotypic and phenotypic data from the randomized, controlled Phase III clinical studies. *AIDS.* 2010;24(4):503–14.
116. Chang MW, Torbett BE. Accessory mutations maintain stability in drug-resistant HIV-1 protease. *J Mol Biol.* 2011 July;410(4):756–60.
117. Arts EJ. Commentary on the role of treatment-related HIV compensatory mutations on increasing virulence: new discoveries twenty years since the clinical testing of protease inhibitors to block HIV-1 replication. *BMC Med.* 2012 Oct;10(1):114.
118. 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(9581):49–58.
119. Arribas JR, Horban A, Gerstoft J, et al. The MONET trial: darunavir/ritonavir with or without nucleoside analogues, for patients with HIV RNA below 50 copies/ml. *AIDS.* 2010 Jan.;24(2):223–30.
120. Katlama C, Valantin M a, Algarte-Genin M, et al. Efficacy of darunavir/ritonavir maintenance monotherapy in patients with HIV-1 viral suppression: a randomized open-label, noninferiority trial, MONOI-ANRS 136. *AIDS.* 2010 Sept.;24(15):2365–74.

121. 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 Sept;348(22):2175–85.
122. 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 May;348(22):2186–95.
123. Gathe J, Cooper D a, Farthing C, et al. Efficacy of the protease inhibitors tipranavir plus ritonavir in treatment-experienced patients: 24-week analysis from the RESIST-1 trial. *Clin Infect Dis*. 2006 Nov.;43(10):1337–46.
124. 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 Nov.;43(10):1347–56.
125. Clotet B, Bellos N, Molina J-M, et al. Efficacy and safety of darunavir-ritonavir at week 48 in treatment-experienced patients with HIV-1 infection in POWER 1 and 2: a pooled subgroup analysis of data from two randomised trials. *Lancet*. 2007 Apr.;369(9568):1169–78.
126. Madruga JV, 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 July;370(9581):29–38.
127. 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 July;370(9581):39–48.
128. Steigbigel RT, Cooper DA, Kumar PN, et al. Raltegravir with optimized background therapy for resistant HIV-1 infection. *N Engl J Med*. 2008 July;359(4):339–54.
129. Gulick RM, Lalezari J, Goodrich J, et al. Maraviroc for previously treated patients with R5 HIV-1 infection. *N Engl J Med*. 2008 Oct.;359(14):1429–41.
130. Li JZ, Kuritzkes DR. Clinical implications of HIV-1 minority variants. *Clin Infect Dis*. 2013 Oct.;56(11):1667–74.
131. Tang MW, Liu TF, Shafer RW. The HIVdb system for HIV-1 genotypic resistance interpretation. *Intervirology*. 2012;55(2):98–101.

132. 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 Sept.;46(1):12–8.
133. Frenz D, Boucher C a B, Assel M, et al. Comparison of HIV-1 genotypic resistance test interpretation systems in predicting virological outcomes over time. *PLoS One.* 2010 July;5(7):e11505.

## 7 ARTIGO EM INGLÊS

O artigo científico original a seguir será submetido ao periódico *Retrovirology*.

### **Genotypic Profile of HIV-1 Mutations Related to Antiretroviral Treatment in the North Region of Brazil.**

Carmen Andréa F. Lopes<sup>a</sup>, Eduardo Sprinz<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Medical Sciences Post-graduate Program, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil;

<sup>b</sup> Infectious Diseases Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, 2350 Ramiro Barcelos Street, 90035-903, Porto Alegre, Brazil.

\*Corresponding author: Infectious Diseases Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, 2350 Ramiro Barcelos Street, 90035-903, Porto Alegre, Brazil.

E-mail adress: [Eduardo.sprinz@gmail.com](mailto:Eduardo.sprinz@gmail.com)

## ABSTRACT

**Background:** HIV-1 is capable of developing mutations associated to drug resistance which impairs treatment impact and can be associated to decreased susceptibility to other antiretroviral or even cross-resistance. There is lack of data about patterns of HIV mutations in persons failing HIV treatment in the north region of Brazil. The objective of the study is to evaluate the development of these mutations in association to antiretroviral use, number of previous treatments, and HIV-1 subtypes in the north region of Brazil.

**Results:** We investigated the HIV-1 profile of resistance in patients under therapeutic failure in the North of Brazil during a whole decade. Data on resistance-associated mutations were obtained from genotyping results and further evaluated through the algorithm of Stanford University. In general, HIV patterns of resistance were similar to worldwide reports and were related to antiretroviral exposure. In the reverse transcriptase gene, the M184V mutation was the most prevalent one (80.1%), followed by K130N (40.6%) and thymidine associated mutations M41L, T215Y, D67N, K70R, T215F, L210W and K219Q, which were more frequent in multi-failed patients. The most common mutations associated to drug resistance in the protease gene were as follows: M46I, V82A, I54V, L90M, I84V, M46L, and L76V. HIV-1 subtype B was the most prevalent (90.7%) and there were differences between subtypes B versus non-B mutations: L63P and A71T were more frequent in the subtype B, whereas mutations L76V, K20R, L10V, L89M and F53L were in non-B subtypes.

**Conclusions:** We document for the first time the patterns of HIV resistance-associated mutations in the north region of Brazil. Our results reveal that the selection of HIV-1 mutations in this geographic area is quite similar to other regions of the world, and was related to the antiretroviral used and number of treatment failures. Also, for the first time we have identified HIV A1 subtype circulating in this area.

**Keywords:** HIV, drug resistance, genotype, HIV subtypes, Brazil, and resistance mutations.

## Background

The use of highly active antiretroviral therapy (HAART) has dramatically changed the natural course of HIV infection in little more than 30 years of its existence <sup>1,2</sup>. Although potentially fatal, HIV infection is now considered a chronic and treatable infection <sup>3-6</sup>. However, the success of treatment is closely related to the continuous use of drugs in order to assure permanent plasma viral load (VL) suppression <sup>7,8</sup>.

As HAART cannot eradicate HIV infection <sup>9</sup>, drugs should be friendly to the patient, easy to take and with reduced or ideally without side effects. Therefore, treatment success is directly related to a very good adherence to treatment without viral replication in plasma <sup>10</sup>. Incomplete HAART viral suppression (due to adherence problems or low potency of the combined medications) is related to the development of viral failure <sup>11</sup>. The continuous replication of HIV under the selective pressure of antiretrovirals (ARV) will eventually lead to the selection of HIV mutations associated with resistance <sup>12</sup>. The accumulation of mutations further compromises HIV treatment and limits future options if cross-resistance to other ARV is developed <sup>13,14</sup>. Therefore, early detection of viral failure is extremely important. The persistence or rebound to detectable levels of HIV VL in plasma could be a sign mostly related to low adherence or the existence of resistance <sup>15</sup>. The longer the patient is exposed to such treatment, the higher will be the chance to accumulate mutations and develop resistance <sup>16</sup>.

An important tool to identify HIV drug resistance mutations is the genotyping test <sup>14</sup>. Although specific patterns of HIV resistance are well established according to the ARV used, they can vary depending on the HIV genetic form (subtype or circulating recombinant form) <sup>17,18</sup>.

There are no more than a few Brazilian reports on acquired drug resistance<sup>19-22</sup>, transmitted drug resistance<sup>23-27</sup> and characterization of the HIV-1 genetic variability. HIV-1 subtype B is prevalent throughout the country<sup>19-22</sup>, whereas subtypes C, F and their recombinants are relevant in the South and Southeast regions, respectively<sup>28-32</sup>. However, there is scarce data on the circulation of subtypes in the north region of Brazil<sup>33,34</sup>. The objective of this study was to evaluate the emergence of HIV drug resistance and its patterns associated with circulating subtypes and ARVs utilized in a population in Pará, one of the largest states in the north region of Brazil.

## Results

Overall, 377 genotypings were analyzed. The mean age of the patients was 40.7 years ( $\pm$  9.43) and most samples were from men ( $n = 250$ ; 66.3%). The main characteristics of the population in which the tests have been performed can be seen in Table 1. There were 332 (88.1%), 247 (65.5%), and 164 (43.5%) mutations associated to resistance to NRTIs, NNRTIs and PIs, respectively. For 18 cases (4.8%) no mutation associated to resistance was identified.

Considering HIV subtype, the vast majority of cases were B ( $n = 301$ ; 90.7%), and amongst the non-B, F1 was the most frequent (19 cases; 5.7%). There was no significant difference in the proportion of failures between HIV subtypes during the years studied. Moreover, there was no association between the presence of mutations and sex or age.



**Table. 1 Characteristics of patients failing cARV**

<b>Characteristics</b>	<b>Total (377)</b>
<b>Age in years</b>	
Mean (SD)	40.73 ( $\pm$ 9.43)
<b>Gender</b>	
Male	250 (66.3%)
Female	127 (33.7%)
<b>CD4+ count (cells/<math>\mu</math>l)</b>	
Mean (SD)	199.93 ( $\pm$ 173.36)
<b>HIV RNA level (log<sub>10</sub> copies/ml)</b>	
Mean (SD)	5.005 ( $\pm$ 5.509)
<b>Number of therapeutic regimens</b>	
First treatment	91 (24.2%)
Second treatment	85 (22.5%)
Multi-experienced	201 (53.3%)
<b>ARVs at genotyping</b>	
NRTIs + NNRTIs	177 (46.9%)
NRTIs + PI/r	131 (34.8%)
NRTIs + PI	53 (14.1%)
NRTIs + NNRTIs + PI/r	12 (3.2%)
NRTIs + double-boosted PI	2 (0.5%)
NRTIs only	2 (0.5%)
<b>Municipality</b>	
Belém	229 (60,7%)
Inland of State	148 (39,3%)

Combination Antiretrovirals (cARV). Nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs). Nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs). Protease inhibitors (PI). Boosted protease inhibitors (PI/r).

All patients were taking NRTIs at the time the genotyping test was done (Table 1). The most prevalent mutations related to NRTIs were M184V (80.1%), followed by M41L (31.8%), T215Y (30.2%), D67N (25.5%), K70R (24.4%), T215F (18.3%), L210W (15.1%) and the V118I (15.1%) (Figure 1A). Taken into account multiple mutations together, the thymidine analog mutations (TAM) pathway 1 (including M41L, L210W and T215Y) was selected in 40.8% of the patients, whereas TAM-2 (including D67N, K70R, T215F and

K219Q/E) was present in 42.2%. The M41L, D67N, V118I, L210W, K219Q and T69D mutations were more prevalent in experienced patients. The higher the number of ARV regimens prescribed, the higher was the chance of having multiple mutations associated with resistance to zidovudine (ZDV), stavudine (d4T) and tenofovir (TDF) ( $p = 0.011$ ,  $0.010$  and  $< 0.001$ , respectively) (Figure 2).

Half of the patients (50.1%) were on use of NNRTIs at the time of genotyping and most of those (83.6%) were on efavirenz (EFV) (Table 1). The K103N mutation (40.6%), followed by P225H (10.6%), were the most prevalent mutations. (Figure 1B). At the time of the analysis, K103N ( $p < 0.001$ ) and P225H ( $p = 0.037$ ) were associated to the first regimen failure, while G190S ( $p = 0.013$ ) and M230L ( $p = 0.008$ ), were associated to the second failure. EFV and nevirapine (NVP) had a higher prevalence of resistance in the first failure ( $p < 0.001$  for both).(Figure 3).

Approximately half of the patients (52.6%) were taking PIs at the moment of the genotyping test (Table 1). The most prevalent major PI mutations were as follows: M46I (21%), V82A (17%), I54V (16.4%), L90M (13.5%), I50L (8.2%), I84V (5.8%), D30N 22 (5.8%), and M46L (5%) (Figure 1C). With respect to accessory or secondary mutations, the most frequent were: L63P (60.7%), M36I (41.1%), I93L (40.1%), I62V (39%), V77I (35.8%), A71V (24.9%) and L10I (24.7%) (Figure 1D). Again, the number of ARV regimens prescribed was positively correlated with the chance of having multiple mutations associated to resistance. In the sub-group experienced, at least seven major (M46I, V82A, I54V, L90M, I84V, M46L and L76V) and 15 accessory mutations (I62V, A71V, L10I, L10V, K20R, L33F, Q58E, K20T, L10F, T74S, F53L, K43T, G73S, I85V and A71I) were associated to resistance ( $p < 0.05$ ) (Figure 4).

There were some differences regarding the selection of mutations in relation to HIV subtypes (B versus non-B). In the reverse transcriptase gene, the T215F mutation was significantly more selected in non-B subtypes ( $p = 0.023$ ). As for the protease gene, only one major mutation, L76V, was selected more frequently in non-B subtypes ( $p = 0.041$ ). In contrast, several secondary mutations were found to differ between B and non-B subtypes: L63P ( $p < 0.001$ ) and A71T ( $p = 0.021$ ) were higher in subtype B, and M36I ( $p < 0.001$ ), K20R ( $p < 0.001$ ), L10V ( $p = 0.004$ ), L89M ( $p < 0.001$ ) and F53L ( $p = 0.011$ ) in non-B subtypes.

## **Discussion**

Knowledge about HIV resistance mutations associated with antiretroviral therapy enables a salvage treatment. Brazilian data on resistance are estimated thanks to implementation of the Rede Nacional de Genotipagem (RENAGENO) (National Genotyping Net), currently composed of 22 performers laboratories distributed throughout the country, which also allows the monitoring of HIV subtypes circulating in Brazil ([www.aids.gov.br/pagina/2010/sistema-e-informacao-para-rede-de-genotyping-sisgeno](http://www.aids.gov.br/pagina/2010/sistema-e-informacao-para-rede-de-genotyping-sisgeno)).

In the present study we tried to identify, for the first time with a more consistent data, the patterns of HIV resistance according to ARVs used and HIV subtypes in an unexplored geographical region from the north of Brazil. Belém of Pará ranks in eighth Brazilian capital with the highest number of aids cases in the country <sup>35</sup>. Although the RENAGENO has started in 2001 and the inclusion of the state of Pará only took place in 2004, with restrictions

on the number of tests in the first years, we think our study is representative because it concentrated 81% of the total genotyping analyses performed in the state.

The profile of resistance-associated mutations found here shows a high prevalence of M184V, TAMs and K103N in RT. This is in agreement with studies correlating them with the expanded access to HAART in the last decade<sup>8,36,37</sup>. Resistance to NRTIs in multi-failed patients relates to the presence of TAMs M41L, D67N, L210W and K219Q. The accumulation of TAMs, generally over 4, and the TAM-1 mutational pathway have generated wide cross-resistance to nucleoside analogues, including TDF, which may prevent NRTI usage in the composition of subsequent therapeutic rescue regimen<sup>14,38</sup>.

First-generation NNRTIs have low genetic barrier towards drug resistance and select for cross-class resistance profiles<sup>14</sup>. These drugs were part of HAART in 50.1% of the sample (Table 1). The high prevalence of the K103N (40.6%) and the P225H (10.6%) mutations detected were associated with high-level resistance to efavirenz and nevirapine in the very first antiretroviral treatment, confirming the easiness to which resistance mutations emerge to this class of drugs<sup>39</sup>. Although our patients did not use the second-generation NNRTI etravirine (ETR), cross-resistance to this drug was significant in regimens of second failure (31.9%) and association was found with the G190S and M230L mutations. Mutations associated with resistance to ETR have different impact and are usually analyzed by a weighted score of mutations. M230L alone produces moderate resistance to ETR, while G190S requires at least another mutation of equal weight to establish resistance<sup>40</sup>. Fortunately, the prevalence of these mutations was low (< 5%), which is in accordance to other studies<sup>41,42</sup>.

Ritonavir-boosted protease inhibitors (PIs) possess high genetic barrier towards resistance, requiring a larger number of mutations to present resistance<sup>14,38</sup>. The group

studied here has little experienced with PIs and this, allied to the high genetic barrier, may explain the low prevalence of major PI mutations observed in initial failures. However, seven major PI mutations associated to resistance were documented in multi-failed patients: M46I, V82A, I54V, L90M, I84V, M46L and L76V. Despite the reduced exposure of the studied patients to atazanavir (ATV/r; 21.9%), a large proportion of multi-failed patients (56%) displayed genotypic resistance to that drug. Amprenavir/ritonavir (APV/r) was used prior to the genotyping test in only two cases (1%), both multi-failed patients, and is not likely to explain the high rate of resistance found (48%) to this drug. Previous PI-based treatments might have contributed to the emergence of PI major mutations M46I, V82A, L90M, I84V, M46L and L76V, associated with resistance to APV/r.

The selection of the I84V mutation is common to all PIs, including those with the highest genetic barrier, DRV/r and TPV/r <sup>38</sup>. Despite being multi-failed patients, DRV/r would be the best PI to rescue HIV treatment, as only (10.9%) of the samples demonstrated resistance to the drug. The same was not true with TPV/r, which had documented resistance in 22.1% of the samples. This finding is somehow in accordance to other reports <sup>43</sup>. We think, however, that the Q58E mutation, together with other accessory mutations L10V, L33F and K43T may have contributed to the higher prevalence of resistance in relation to DRV/r observed in our study.

HIV-1 subtype B is reported as the predominant viral genetic form in the State of Pará <sup>33</sup>, and we corroborate those reports in our study, with a high prevalence of this subtype (90.7%). Indeed, a temporal distribution analysis of B and non-B subtypes during the ten years of the study failed to show significant variation ( $p$  0.280), providing evidence for a stabilized HIV epidemic in terms of diversity in the state of Pará. However, our study reports the presence of subtype A1 for the first time in the state. This subtype is highly prevalent in several African countries and disseminated worldwide <sup>44</sup>, but with anecdotal reports in

southeastern Brazil <sup>19</sup>. Non-B subtypes as F1 (5 cases; 1.5%) and C (2 cases; 0.6%) are congruent to the low prevalence reported previously <sup>33</sup>.

In our study, the L76V PI-associated mutation was the only one that differed significantly in prevalence between B and non-B subtypes, being more frequent in the latter. Specific accessory PI mutations were associated with B and non-B subtypes. L63P and A71T were associated to subtype B, whereas L10V, K20R, M36I, F53L and L89M were linked to non-B subtypes. Our results are in agreement with previous studies conducted in Brazil that studied the association of PI-related polymorphisms with specific HIV genetic forms <sup>19,22</sup>, but the relevance of such differences to treatment failure still deserves further investigation.

## **Conclusion**

The prevalence of mutations in the TR of HIV-1 is similar to data reported elsewhere. There was a relevant emergence of M184V and TAMs, related to NRTIs, and of K103N, related to the NNRTIs. In PR, mutations M46I/L, I54V, L76V, V82A, I84V and L90M were associated to PI/r resistance in multi-failed patients. The accumulation NRTIs and PI/r related mutations was associated with resistance in multi-failure, confirming the hypothesis that failure to treatment results from the cumulative acquisition of resistance mutations. HIV-1 subtype B is prevalent in the state of Pará, and over the decade studied there is evidence of stabilization of this subtype in the state, and the impact of differences in the prevalence of mutations among the subtypes require additional studies with more expressive samples of non-B subtypes.

## Methods

This was an cross-sectional study, retrospective study that evaluated HIV genotyping results from individuals with virologic failure (VL greater than 5,000 copies/mL until 2007, and greater than 2,000 copies/mL after 2008), followed at four public specialized HIV clinic in Belém city, the capital of Pará state, the most populous state of the north of Brazil. Data was collected from January 2004 through December 2013, from the standardized Brazilian HIV genotyping national network of the Ministry of Health (RENAGENO), ([www.aids.gov.br/pagina/2010/sistema-e-informacao-para-rede-de-genotipagem-sisgeno](http://www.aids.gov.br/pagina/2010/sistema-e-informacao-para-rede-de-genotipagem-sisgeno)). The HIV genotyping assay conducted was the ViroSeq HIV-1 Genotype System® from Celera Diagnostics (Alameda, CA, U.S.A.) in the period of 2004 to 2008 and the TRUGENE® System (Siemens, Munich, Germany) from 2009 to 2013. Patients above 18 years of age were enrolled in the study. Only the first available exam was included in those with more than one HIV genotyping text performed.

From the total 464 exams retrieved, 87 were excluded for the following reasons: 19 were conducted in non-RENAGENO laboratories, 12 were from patients under 18 years-old, 49 were duplicated and seven presented incomplete or unreadable results. Therefore, 377 cases remained available for evaluation in the study.

Mutations were described according to the Stanford University HIV Drug Resistance Database (<http://hivdb.stanford.edu>). Genotypic resistance was defined as the presence of one or more resistance-related mutations as specified by this database, and were further classified according to the ARV class to which they confer reduced susceptibility: nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs), non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs) and protease inhibitors (PIs).

Clinical cases were classified according to the number of regimen failures as follows: first failure, second failure (two treatments), and multi-failed (when three or more treatments were experimented prior to genotyping). We also analyzed the association between the mutations observed and the associated HIV-1 subtype (B versus non-B).

The sample size was estimated with the statistical package Winpepi (v.11.37). A prevalence of 82% for subtype B was considered according to Cavalcante et al.<sup>20</sup>, with a standard error of 4% and a confidence level of 95%, estimating a minimum size of 355 genotypes for the study. Qualitative variables were evaluated by the Pearson's Chi-square Test, Fisher's Exact Test or Monte Carlo Exact Significance and the level of significance was established to 0.05. Data were analyzed in SPSS v.18.0.

The protocol of the study was elaborated according to the resolution no. 466 of December 12, 2012 from Conselho Nacional de Saúde (National Health Council) for scientific research in humans and was approved by Comitê de Ética em Pesquisa do Núcleo de Medicina Tropical de Belém do Pará (Ethics Committee in Research of the Nucleus of Tropical Medicine of Belém, Pará) under the number 212.966.

### **Special Thanks**

Dr. Olinda Macedo, researcher from Instituto Evandro Chagas do Pará and to Dr José Ricardo Mourão, Reference Physician in Genotyping (MRG) in the State of Pará. Both were of a great help to minimize the losses in the databank.



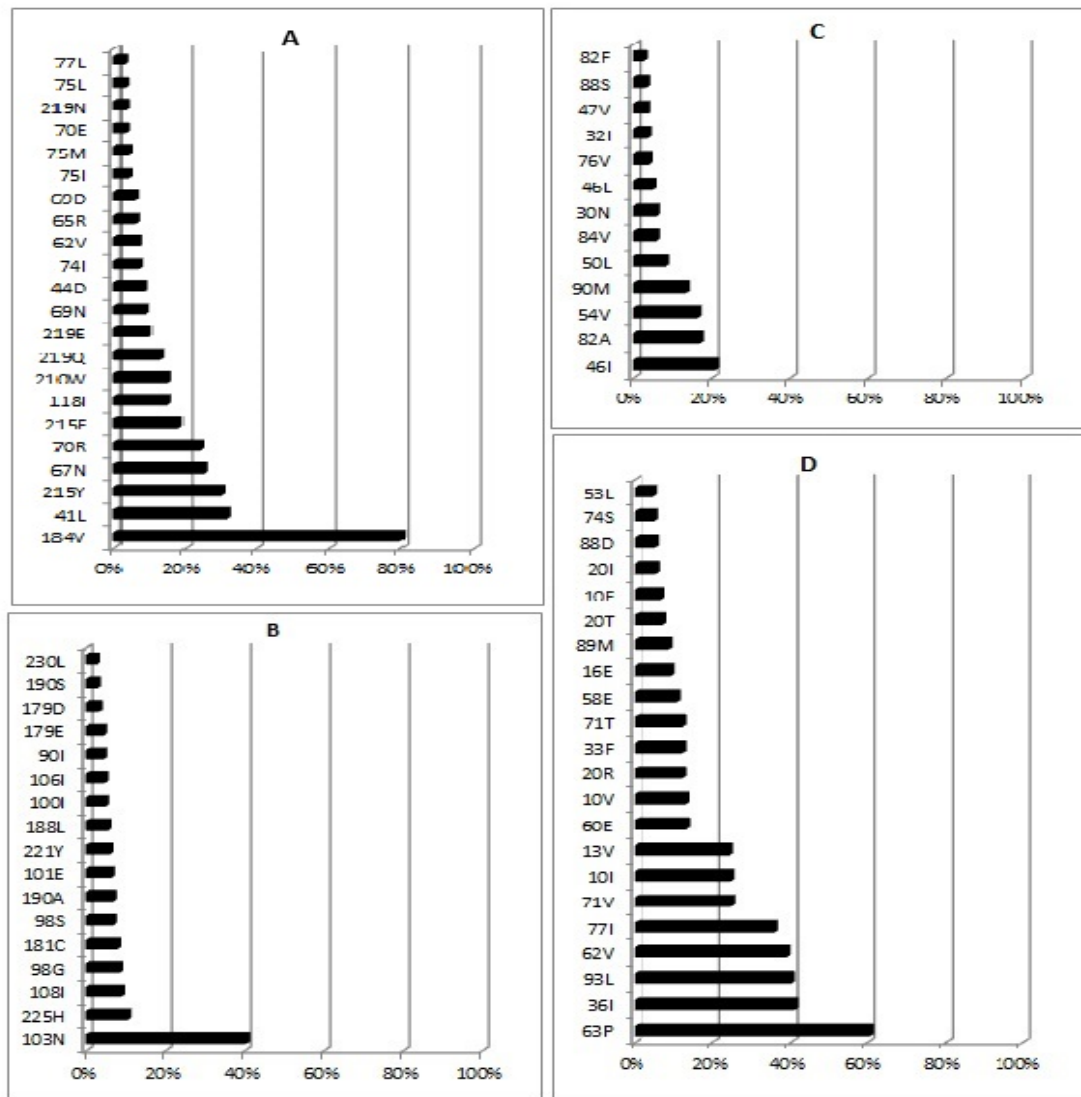
## References

1. UNAIDS. GLOBAL REPORT: UNAIDS report on the global AIDS epidemic 2013; 2013. [www.unaids.gov].
2. Costagliola D, Ledergerber B, Torti C, et al. **Trends in virological and clinical outcomes in individuals with HIV-1 infection and virological failure of drugs from three antiretroviral drug classes: a cohort study.** *Lancet Infect Dis.* 2012;**12**(2):119–27.
3. Doherty M, Ford N, Vitoria M, Weiler G, Hirsch G. **The 2013 WHO guidelines for antiretroviral therapy: evidence-based recommendations to face new epidemic realities.** *Curr Opin HIV AIDS.* 2013;**8**(6):528–34.
4. **European AIDS Clinical Society (EACS).** October 2013:0–81.[http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:October+2013#1].
5. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. **Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-infected adults and adolescents.** 2013:79–104.
6. Thompson MA, Aberg JA, Hoy JF, Telenti A, Benson C, Cahn P, et al. **Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2012 recommendations of the International Antiviral Society-USA panel.** *JAMA.* 2012;**308**(4):387–402.
7. Barth RE, van der Loeff MFS, Schuurman R, Hoepelman AIM, Wensing AMJ. **Virological follow-up of adult patients in antiretroviral treatment programmes in sub-Saharan Africa: a systematic review.** *Lancet Infect Dis.* 2010;**10**(3):155–66.
8. Hosseinipour MC, Gupta RK, Van Zyl G, Eron JJ, Nachega JB. **Emergence of HIV drug resistance during first- and second-line antiretroviral therapy in resource-limited settings.** *J Infect Dis.* 2013;**207**(Suppl 2):S49–56.
9. Siliciano JD, Siliciano RF. **Recent trends in HIV-1 drug resistance.** *Curr Opin Virol.* 2013;**3**(5):487–94.
10. Al-Dakkak I, Patel S, McCann E, Gadkari A, Prajapati G, Maiese EM. **The impact of specific HIV treatment-related adverse events on adherence to antiretroviral therapy: a systematic review and meta-analysis.** *AIDS Care.* 2013;**25**(4):400–14.
11. WHO. **HIV drug resistance report 2012.** 2012. [http://www.who.int/hiv/pub/drugresistance/report2012/en/].
12. Arts EJ, Hazuda DJ. **HIV-1 antiretroviral drug therapy.** *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012;**2**(4):a007161.
13. Medeiros MS, Arruda EAG, Guerrant RL, Brown CC, Lima AAM. **Impact of the number of failed therapeutic regimes on the development of resistance mutations to HIV-1 in northeast Brazil.** *Braz J Infect Dis.* 2007;**11**(5):451–5.
14. Tang MW, Shafer RW. **HIV-1 antiretroviral resistance: scientific principles and clinical applications.** *Drugs.* 2012;**72**(9):e1–25.
15. Bonner K, Mezochow A, Roberts T, Ford N, Cohn J. **Viral load monitoring as a tool to reinforce adherence: a systematic review.** *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2013;**64**(1):74–8.
16. Gupta RK, Hill A, Sawyer AW, Cozzi-Lepri A, von Wyl V, Yerly Sabine, et al. **Virological monitoring and resistance to first-line highly active antiretroviral therapy in adults infected with HIV-1 treated under WHO guidelines: a systematic review and meta-analysis.** *Lancet Infect Dis.* 2009;**9**(7):409–417.
17. Martínez-Cajas JL, Pant-Pai N, Klein MB, Wainberg MA. **Role of genetic diversity amongst HIV-1 non-B subtypes in drug resistance: a systematic review of virologic and biochemical evidence.** *AIDS Rev.* 2008;**10**(4):212–23.
18. Wainberg MA, Brenner BG. **The Impact of HIV Genetic Polymorphisms and Subtype Differences on the Occurrence of Resistance to Antiretroviral Drugs.** *Mol Biol Int.* 2012:256982.

19. Couto-Fernandez JC, Silva-de-Jesus C, Veloso VG, et al. **Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) genotyping in Rio de Janeiro, Brazil: assessing subtype and drug-resistance associated mutations in HIV-1 infected individuals failing highly active antiretroviral therapy.** *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2005;**100**(1):73–8.
20. Cavalcanti AMS, Lacerda HR, Brito AM, Pereira S, Medeiros D, Oliveira S. **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.* 2007;**102**(7):785–92.
21. Toledo PVM, Carvalho DS, Romagnoli L, et al. **HIV-1 genotypic resistance profile of patients failing antiretroviral therapy in Paraná, Brazil.** *Braz J Infect Dis.* 2010;**14**(4):360–71.
22. Westin MR, Biscione FM, Fonseca M, et al. **Resistance-associated mutation prevalence according to subtypes B and non-B of HIV type 1 in antiretroviral-experienced patients in Minas Gerais, Brazil.** *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2011;**27**(9):981–7.
23. Inocencio LA, Pereira AA, Sucupira MCA, Fernandez JCC, Jorge, CP, Souza, DFC, et al. **Brazilian Network for HIV Drug Resistance Surveillance: a survey of individuals recently diagnosed with HIV.** *J Int AIDS Soc.* 2009; **12**:20.
24. Sprinz E, Netto EM, Patelli M, Lima JS, Furtado JJ, da Eira M et al. **Primary antiretroviral drug resistance among HIV type 1-infected individuals in Brazil.** *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2009;**25**(9):861–7.
25. Carvalho BC, Cardoso LPV, Damasceno S, Stefani MMA. **Moderate prevalence of transmitted drug resistance and interiorization of HIV type 1 subtype C in the inland North State of Tocantins, Brazil.** *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2011;**27**(10):1081–7.
26. Arruda E, Simões L, Sucupira C, Medeiros M, Arruda E, Diaz RS, Lima A. **Intermediate prevalence of HIV type 1 primary antiretroviral resistance in Ceará State, Northeast Brazil.** *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2011;**27**(2):153–6.
27. Gaspareto KV, Mello FMMDA, Dias JRC, Meneguetti VA, Storti ME, Ferreira JL, et al. **Genetic diversity and primary resistance among HIV-1-positive patients from Maringá, Paraná, Brazil.** *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2012;**54**(4):207–213.
28. Soares EAJM, Martínez AMB, Souza TM, Santos AF, Da Hora V, Silveira J, et al. **HIV-1 subtype C dissemination in southern Brazil.** *AIDS.* 2005;**19** (Suppl 4):S81–6.
29. Munerato P, Sucupira MC, Oliveros MPR, et al. **HIV type 1 antiretroviral resistance mutations in subtypes B, C, and F in the City of São Paulo, Brazil.** *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2010Mar;**26**(3):265–73.
30. Almeida SE, de Medeiros RM, Junqueira DM, Gräf T, Passaes CPB, Bello G, et al. **Temporal dynamics of HIV-1 circulating subtypes in distinct exposure categories in southern Brazil.** *Viol J.* 2012;**9**:306.
31. Alcalde R, Guimarães ML, Duarte AJS, Casseb J. **Clinical, epidemiological and molecular features of the HIV-1 subtype C and recombinant forms that are circulating in the city of São Paulo, Brazil.** *Viol J.* 2012;**9**:156.
32. Gräf T, Pinto AR. **The increasing prevalence of HIV-1 subtype C in Southern Brazil and its dispersion through the continent.** *Virology.* 2013;**435**(1):170–8.
33. Machado LFA, Ishak MOG, Vallinoto ACR, Lemos JA, Azevedo VN, Moreira MR, et al. **Molecular epidemiology of HIV type 1 in northern Brazil: identification of subtypes C and D and the introduction of CRF02\_AG in the Amazon region of Brazil.** *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2009;**25**(10):961–6.
34. Macêdo O, Ferreira LM, Lopes CAF, Sousa RCM, Araújo JRM, Vasconcelos PFDC. **Distribution of HIV-1 subtypes in patients with HAART therapeutic failure in the States of Pará and Amazonas, Brazil: 2002 to 2006.** *Rev Pan-Amazônica Saúde.* 2012;**3**(2):11–16.

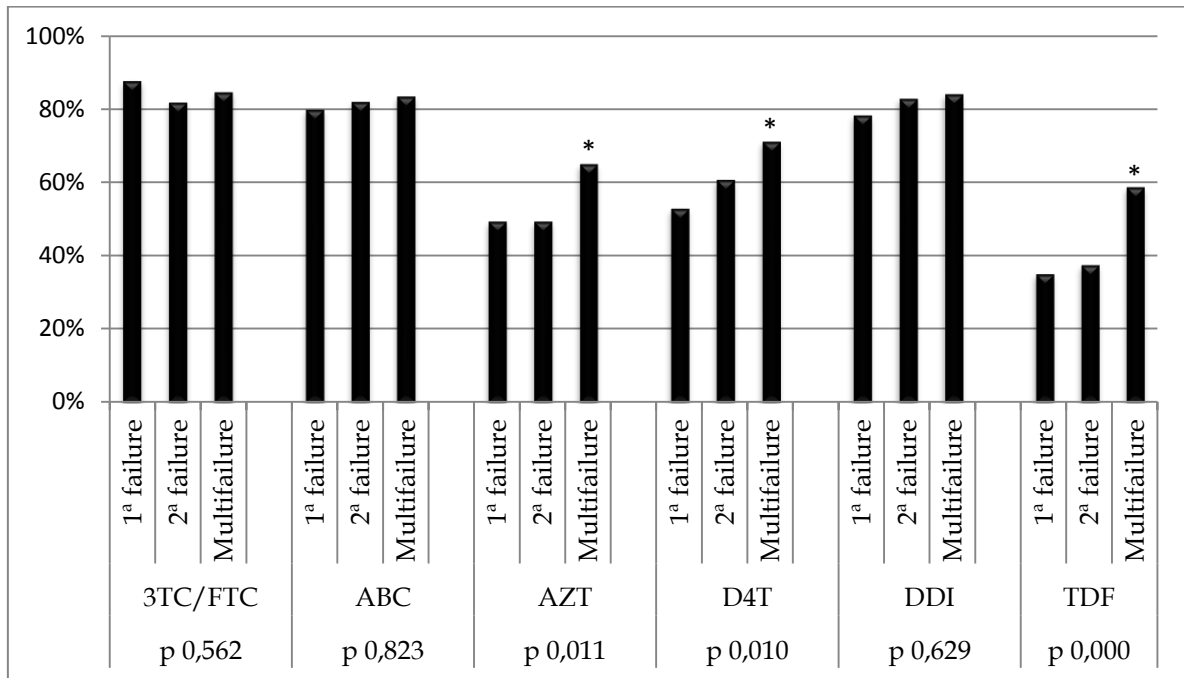
35. Brasil. Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico HIV/AIDS**. 2013:64.
36. Hamers RL, Sigaloff KCE, Wensing AM, Wallis CL, Kityo C, Siwale M, et al. **Patterns of HIV-1 drug resistance after first-line antiretroviral therapy (ART) failure in 6 sub-Saharan African countries: implications for second-line ART strategies**. *Clin Infect Dis*. 2012;**54**(11):1660–9.
37. Hill A, McBride A, Sawyer a W, Clumeck N, Gupta RK. **Resistance at virological failure using boosted protease inhibitors versus nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors as first-line antiretroviral therapy--implications for sustained efficacy of ART in resource-limited settings**. *J Infect Dis*. 2013;**207** (Suppl 2):S78–84.
38. Johnson VA, Calvez V, Gunthard HF, Paredes R, Pillay D, Shafer RW, et al. **Update of the drug resistance mutations in HIV-1: March 2013**. *Top Antivir Med*. 2013;**21**(1):6–14.
39. Shafer RW, Schapiro JM. **HIV-1 drug resistance mutations: an updated framework for the second decade of HAART**. *AIDS Rev*. 2008;**10**(2):67–84.
40. Vingerhoets J, Tambuyzer L, Azijn H, Hoogstoel A, Nijs S, Peeters M, et al. **Resistance profile of etravirine: combined analysis of baseline genotypic and phenotypic data from the randomized, controlled Phase III clinical studies**. *AIDS*. 2010;**24**(4):503–14.
41. Libre JM, Santos JR, Puig T, Moltó J, Ruiz L, Paredes R, Clotet B. **Prevalence of etravirine-associated mutations in clinical samples with resistance to nevirapine and efavirenz**. *J Antimicrob Chemother*. 2008;**62**(5):909–13.
42. Martins AN, Arruda MB, Aleixo AW, Pires AF, Greco DB, de M Brindeiro R, Tanuri A. **Prevalence of etravirine-associated mutations in clinical samples with genotypic resistance to nevirapine and efavirenz in Brazilian clinics**. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2011;**57** Suppl 3:S193–6.
43. Vidal JE, Song ATW, Matos ML, Bartmann D, Anjos GD, Miranda ÉJ, et al. **High rate of virologic suppression with darunavir/ritonavir plus optimized background therapy among highly antiretroviral-experienced HIV-infected patients: results of a prospective cohort study in São Paulo, Brazil**. *Braz J Infect Dis*. 2013;**17**(1):41–7.
44. Lihana RW, Semwanga D, Abimiku A, Ndembu N. **Update on HIV-1 diversity in Africa: a decade in review**. *AIDS Rev*. 2012;**14**(2):83–100.

Figure 1



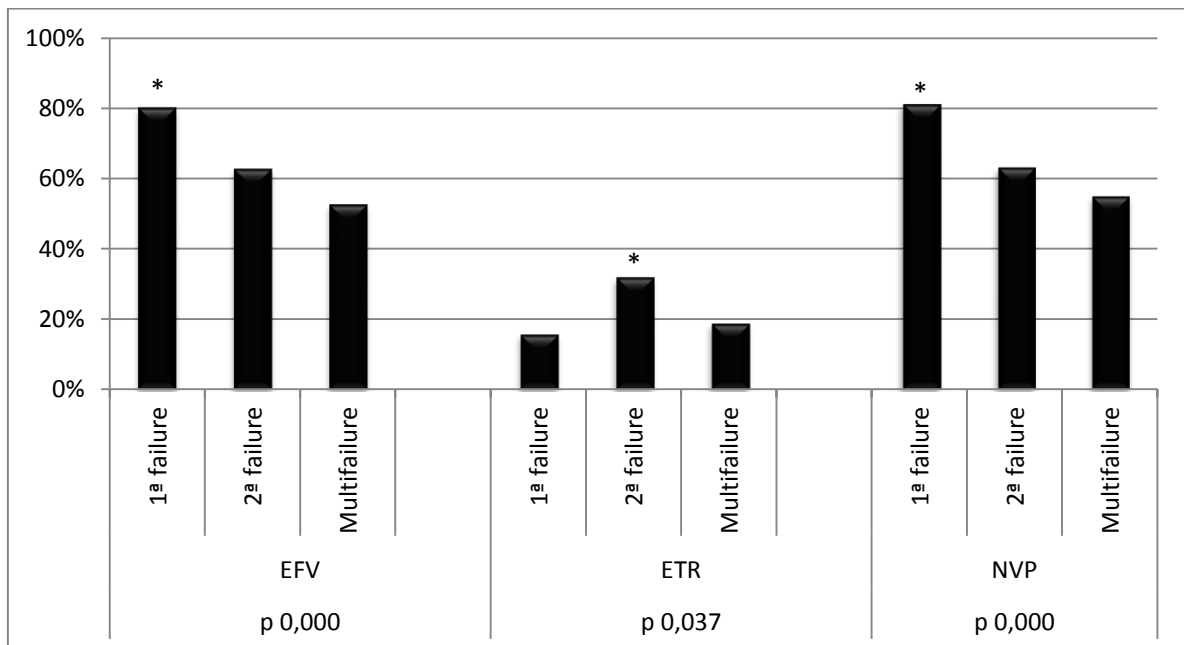
Prevalence of resistance mutations to the NRTIs (A) and NNRTIs (B). Major mutations (C) and accessory mutations related resistance to the PI (D). N=377.

**Figure 2**



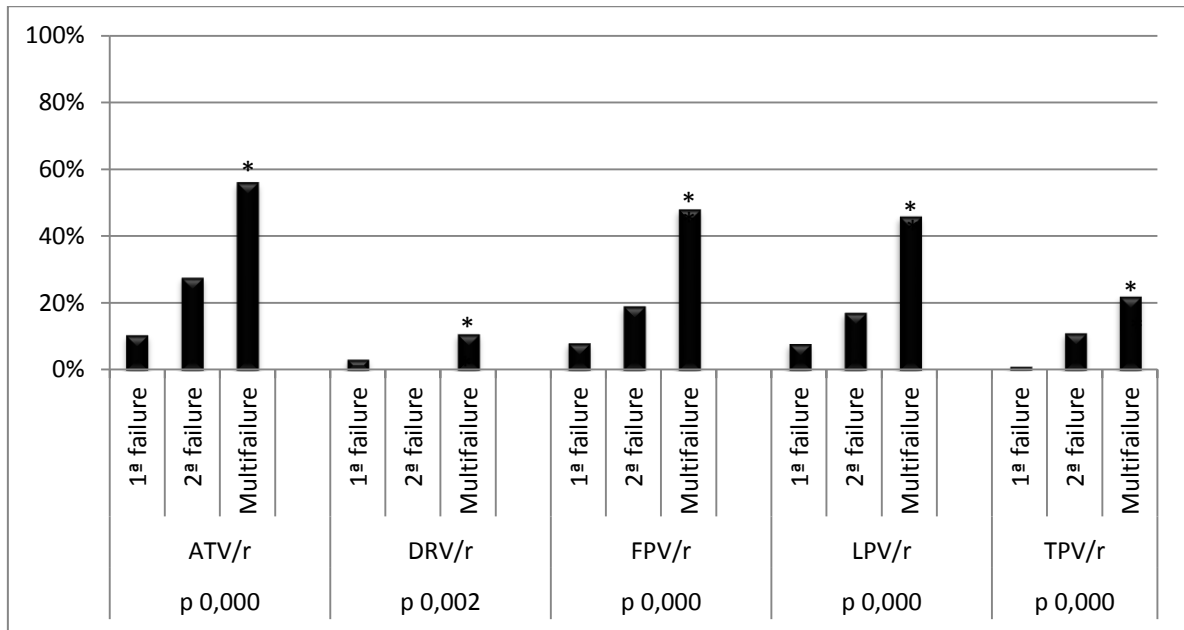
**Resistance profile of the NRTIs after genotypic analysis using the stanford database stratified by subset of therapeutic failure (N=377).**

**Figure 3**



**Resistance profile of the NNRTIs after genotypic analysis using the stanford database stratified by subset of therapeutic failure (N=377).**

Figure 4



Resistance profile of the PI after genotypic analysis using the stanford database stratified by subset of therapeutic failure (N=377).

## 8 CONSIDERAÇÕES GERAIS

O impacto de boa resposta virológica pressupõe boa resposta clínica se não imunológica, com repercussão em declínio de transmissibilidade e resistência do HIV. Mas, alcançar esta meta em um estado com tamanha extensão territorial e diversidade socioeconômica como o Pará, exige discussão sobre as maiores taxas de detecção de casos de Aids do norte do país concentrarem no estado. Dados do Boletim Epidemiológico em HIV-Aids 2013 revelam que 11 municípios do estado do Pará estão entre os 20 municípios da região com as maiores taxas de Aids por 100 mil habitantes.

O acesso universal ao tratamento atualmente ganhou o incentivo de ser independente dos níveis de LTCD4+. Mapear possíveis falhas nos SAE quanto à dispensação de ARV, monitoramento com carga viral e LTCD4+, programas de adesão e acesso a genotipagem são necessários. O diagnóstico de falha virológica pode estar sendo retardado e a resistência pode estar sendo subestimada. Para tal estudos epidemiológicos precisam continuar para avaliar os fatores associados à falha, a prevalência de mutações de resistência e os subtipos circulantes. De extrema importância também são as pesquisas de epidemiologia molecular que são mais acuradas na determinação dos subtipos de HIV-1.

A caracterização epidemiológica da população e sua associação com parâmetro clínico precisa ser estabelecida. Para isso há necessidade de mudança no registro da informação que ainda permanece em arquivos manuscritos, sujeitos ao desgaste com o tempo. Esta questão inviabiliza pesquisas com dados mais consistentes, apesar de retrospectivos, mas que podem dar base para futuras respostas ainda desconhecidas ao Norte do País.